

· 论 著 ·

喷他脒对人卵巢癌 CAOV3 细胞的抑制作用研究

吴岩印, 张明月, 丁 虹, 孙国栋, 唐艳超, 杨 敏, 范茂丹

[摘要] **目的** 探讨喷他脒对人卵巢癌 CAOV3 细胞的抑制作用。**方法** 用比色实验法检测不同浓度喷他脒对人卵巢癌 CAOV3 细胞抑制作用。**结果** 低浓度喷他脒对人卵巢癌 CAOV3 细胞有轻微抑制作用; 高浓度喷他脒对人卵巢癌 CAOV3 细胞抑制作用明显, 且与作用时间密切相关。**结论** 经不同浓度的喷他脒处理后, 卵巢癌 CAOV3 细胞生长明显受到抑制, 且这种抑制作用呈时间及浓度依赖性。

[关键词] 喷他脒; CAOV3 细胞; 比色法

[中图分类号] R969.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2012)01-0027-02

The study of inhibition effect of Pentamidine on human ovarian cancer cell CAOV3

WU Yan-yin, ZHANG Ming-yue, DING Hong, SUN Guo-dong, TANG Yan-chao, YANG Min, FAN Mao-dan. Naval Convalescent Zone, Hangzhou Sanatorium, Nanjing Military Command, Hangzhou, Zhejiang 310002, China

[Abstract] **Objective** To study the inhibitive effect of pentamidine on human ovarian carcinoma CAOV3 cell. **Methods** The inhibitive effect of pentamidine in different concentrations on human ovarian carcinoma CAOV3 cell was observed by using a MTT assay. **Results** The growth of human ovarian cancer cell CAOV3 was slightly inhibited with a low concentrations of pentamidine, and was obviously inhibited with a high concentration of pentamidine. The inhibitive effect was closely related to the time of treatment. **Conclusion** The growth of ovarian cancer CAOV3 cell was inhibited in different concentrations of pentamidine, and the inhibition was related with time of treatment.

[Key words] pentamidine; CAOV3 cell; MTT

喷他脒是一种抗肺孢子虫类药物, 国外研究报道喷他脒对肿瘤细胞亦有杀伤抑制作用^[1]。喷他脒通过双重抑制细胞有丝分裂蛋白和肝再生磷酸酶-2(phosphatase of regenerating liver, PRL-2), 降低肿瘤生长活性, 减少肿瘤新生血管生成, 使细胞丧失增殖能力。本研究通过观察不同浓度的喷他脒对上皮性卵巢癌 CAOV3 细胞株的影响, 探讨其抗肿瘤的可能性。

1 材料与方法

1.1 实验材料 ①卵巢癌 CAOV3 细胞株(由浙江大学医学院附属妇产医院赠送); ②喷他脒(批号: X02040000217, 河南新乡制药公司)。

1.2 仪器与试剂 噻唑蓝(MTT)(Sigma), 二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)(Sigma), RPMI-1640 培养液(Thermo), 胎牛血清(Gibco), CO₂ 细

胞培养箱(Thermo Scientific HERA)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 用含 10% 灭活小牛血清、青霉素 100IU/ml 和链霉素 100IU/ml 的 RPMI-1640 培养液培养细胞, 置 37℃、5% CO₂ 培养箱内, 用 0.02% 乙二胺四乙酸(EDTA)消化传代, 选用对数生长期细胞, 调整细胞悬液浓度, 分别于 96 孔板, 每孔加 100 μl, 5000 ~ 6000 个/孔。置 37℃、5% CO₂ 恒温箱培养 24 h。

1.3.2 喷他脒储存液的配制 称取喷他脒 300 mg, 加入 5 ml 二甲基亚砷, -20℃ 保存备用。

1.3.3 在细胞样品中加入不同浓度的喷他脒 实验组分别为喷他脒 0.10 μmol/L、1.00 μmol/L、10.00 μmol/L、100.00 μmol/L 组, 同时设置空白组(培养基、MTT、DMSO), 对照组(细胞、喷他脒溶解介质、培养液、MTT、DMSO), 每组 6 个复孔, 并分别培养 24 h、48 h、72 h。小心吸去上清, 加入 80 μl 新鲜 RPMI 1640 培养液, 再加入 20 μl MTT 溶液, 继续培养 4 h。吸掉上清, 每孔加入 150 μl DMSO, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。使用酶标仪测定 492 nm 处各孔的吸光值。

基金项目: 南京军区医药卫生面上课题(09MA107)

作者简介: 吴岩印(1966-), 男, 浙江永康人, 硕士研究生, 副主任医师, 从事军事医学方面的临床和科研工作

作者单位: 310002 浙江杭州, 南京军区杭州疗养院海勤疗养院区

1.3.4 计算抑制率 抑制率 = [(对照组 - 空白组) - (实验组 - 空白组)] / (对照组 - 空白组) × 100%。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件包进行统计分析,检测数据以均数 ± 标准差表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

不同浓度的喷他脒处理卵巢癌 CAOV3 细胞后,细胞生长受到以时间及浓度依赖方式的抑制。其中低浓度的喷他脒(0.10 $\mu\text{mol/L}$ 、1.00 $\mu\text{mol/L}$)作用 24 h 后只表现出对细胞的生长存在着轻微的抑制作用。但随着喷他脒浓度的增加,卵巢癌 CAOV3 细胞的生长受到不同程度的抑制,表现为细胞生长抑制率明显上升。而且高浓度组喷他脒的抑制率与低浓度组喷他脒的抑制率差异具有统计学意义($P < 0.05$),作用不同时间各组间抑制率差异也具有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

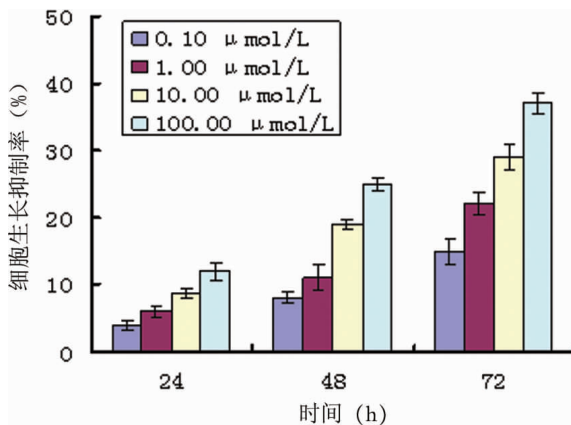


图 1 喷他脒对 CAOV3 细胞生长抑制实验

3 讨论

近年,临床卵巢癌的治疗已有许多进展,但进展期卵巢癌的死亡率仍超过女性其他生殖部位肿瘤之和,因此寻找治疗卵巢癌的新药正在成为研究的热点问题。

喷他脒又称戊烷脒(Pentamidine),是一种抗寄生虫药,为芳香双脒类化学合成药物,半衰期为 0.5 ~ 1 h。喷他脒可用于治疗利士曼原虫^[2]、艾滋病卡氏肺囊虫感染等疾病,目前为治疗引发卡氏肺囊虫继发性肺炎的首选药,被广泛应用于艾滋病的治疗,

尤其是艾滋病合并卡氏肺囊虫感染的患者^[3-4]。目前已有学者发现喷他脒有抗肿瘤作用^[5]。

在体外试验中,喷他脒有选择性地杀伤癌细胞的能力^[6-8]。也有实验证实喷他脒可以在体外抑制包括恶性黑色素瘤、前列腺癌、直肠癌和乳腺癌等多种肿瘤细胞的增值能力^[9-11]。

这些体内、体外的数据说明喷他脒可能是一个新的有效的抗肿瘤药物。本研究从体内体外两方面证实了喷他脒对卵巢癌细胞的抗肿瘤作用,这个结果为喷他脒治疗卵巢癌提供了一定的实验依据。

【参考文献】

- [1] Barrett SV, Barrett MP. Anti-sleeping sickness drugs and cancer chemotherapy[J]. Parasitol Today, 2006, 1(16): 7-9.
- [2] Coelho AC, Messier N, Ouellette M, et al. Role of the ABC transporter PRP1 (ABCC7) in pentamidine resistance in leishmania amastigotes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(8): 3030-3032.
- [3] Helweg-Larsen J, Benfield T, Atzori C, et al. Clinical efficacy of first- and second-line treatments for HIV-associated pneumocystis jirovecii pneumonia: a tri-centre cohort study[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 64(6): 1282-1290.
- [4] Watanabe M, Aoki Y, Kurata H, et al. Pneumocystis carinii pneumonia in a patient with stage IV ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2002, 11(87): 225-227.
- [5] Nordenberg J, Fenig E, Landau M, et al. Effects of psycho-tropic drugs on cell proliferation and differentiation[J]. Biochem Pharmacol, 1999, 58(8): 221-229.
- [6] Chow TY, Alaoui-Jamali MA, Yeh C, et al. The DNA double-stranded break repair protein endo-exonuclease as a therapeutic target for cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2004, 8(3): 911-919.
- [7] Smith J, Stewart BJ, Glaysher S, et al. The effect of pentamidine on melanoma ex vivo[J]. Anticancer Drugs, 2010, 21(2): 181-185.
- [8] Pathak MK, Dhawan D, Lindner DJ, et al. Pentamidine is an inhibitor of PRL phosphatases with anticancer activity[J]. Mol Cancer Ther, 2002, 1(14): 1255-1264.
- [9] 李月红, 易建平, 王晓燕. 喷他脒对人宫颈癌细胞株 Hela 细胞增殖和诱导凋亡的作用[J]. 军医进修学院学报, 2008, 2(29): 23-24.
- [10] Jarak I, Marjanović M, Piantanida I, et al. Novel pentamidine derivatives: synthesis, anti-tumor properties and polynucleotide-binding activities[J]. Eur J Med Chem, 2011, 46(7): 2807-2815.
- [11] 刘小珊, 蒋纪恺. 喷他脒增强 K562 细胞对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体诱导凋亡敏感性[J]. 中国癌症杂志, 2007, 12(17): 951-954.

(收稿日期: 2011-08-08; 修回日期: 2011-11-17)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)