

·放射生物学·

小鼠不同肿瘤模型对放化疗敏感性的研究

王月英 吴红英 李德冠 王小春 宋娜玲 路璐 张俊伶 孟爱民

【摘要】目的 建立人食管癌及小鼠不同移植瘤模型,比较放、化疗对小鼠的不同肿瘤模型的抑制作用。**方法** 动物模型建立24 h后,将不同肿瘤细胞(淋巴瘤、肉瘤 S180、肝癌 H22、白血病 L1210)的荷瘤 IRM-2 近交系小鼠随机分为对照组、照射组、环磷酰胺组,每组 10 只。环磷酰胺组于接种隔日腹腔注射环磷酰胺(25 mg/kg)1 次,0.2 ml/只,共 4 次。照射组于接种后第 4 天进行全身 1 Gy 照射,每日 1 次,连续 5 d。将食管癌 EC901 荷瘤裸鼠随机分为对照组、照射组、5-氟尿嘧啶组,每组 5 只。照射组于接种后第 4 天和第 8 天对肿瘤局部进行 2 Gy 照射,5-氟尿嘧啶组于接种后隔日腹腔注射 5-氟尿嘧啶(25 mg/kg)1 次,0.2 ml/只,共 4 次。所有小鼠于第 12 天处死,解剖瘤块称重,计算抑瘤率。**结果** 裸鼠及 IRM-2 近交系小鼠皮下移植瘤模型的成瘤率均为 100%,放疗对淋巴瘤、肉瘤 S180、肝癌 H22、白血病 L1210 荷瘤小鼠的肿瘤有显著的抑制作用,抑瘤率分别为 34.57%、32.69%、31.31%和 18.32%,与对照组比较差异有统计学意义($t=4.130$ 、 3.222 、 3.581 和 2.713 , P 分别为 <0.01 、 <0.01 、 <0.01 、 <0.05)。放疗对食管癌 EC901 的抑瘤率为 22.99%,但与对照组比较差异无统计学意义($t=1.235$, $P>0.05$)。化疗对淋巴瘤、肉瘤 S180、肝癌 H22、白血病 L1210、食管癌 EC901 荷瘤小鼠的抑瘤率分别为 74.47%、72.59%、69.12%、77.53%和 56.32%,与对照组比较差异有统计学意义($t=12.694$ 、 12.208 、 7.223 、 11.964 和 5.266 , P 均 <0.01)。**结论** 放、化疗对小鼠的不同肿瘤模型均有抑制作用。由于小鼠的品系和瘤源不同,对放、化疗的敏感性也存在差异。

【关键词】 淋巴瘤;肉瘤 180;肝肿瘤;白血病 L1210;食管肿瘤;模型;动物;放射疗法;药物疗法

The radiation sensitivities of different mice tumor model to radiotherapy and chemotherapy WANG Yue-ying, WU Hong-ying, LI De-guan, WANG Xiao-chun, SONG Na-ling, LU Lu, ZHANG Jun-ling, MENG Ai-min. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

Corresponding author: MENG Ai-min, Email: ai_min_meng@126.com

【Abstract】 Objective To set up the models of human esophageal cancer in nude mice and the models of different xenograft tumors in IRM-2 mice, observe the effects of chemotherapy and radiotherapy on the tumors. **Methods** Twenty-four hours after setting up the models, all the mice carrying tumors including lymphoma, hepatic carcinoma H22, leukemia L1210 and sarcoma S180 were randomly divided into 3 groups: control group, radiotherapy group and cyclophosphamidum group, 10 mice per group. Mice in cyclophosphamidum group were injected cyclophosphamidum (25 mg/kg) by intraperitoneal 4 times every other day; mice in radiotherapy group were given total body irradiation at the fourth day and last for 5 days. Mice with human esophageal cancer were randomly divided into 3 groups: control group, radiotherapy group and 5-fluorouracil group, 5 mice per group. Mice in radiotherapy group were given local body irradiation at the fourth day and the eighth day. Mice in 5-fluorouracil group were injected 5-fluorouracil (25 mg/kg) by intraperitoneal 4 times every other day. All the mice were killed at the twelfth day and the rates of tumor inhibition

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2012.05.006

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2011CB964800-G); 国家自然科学基金(81072237, 81102873); 天津市自然科学基金(12JCQNJC09100, 11JCZDJC9100)

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所, 天津市分子核医学重点实验室

通信作者: 孟爱民(Email: ai_min_meng@126.com)

were calculated. **Results** The tumor inhibitory rates of IRM-2 mice in radiotherapy group were 34.57% (lymphoma), 32.69%(sarcoma S180), 31.31%(hepatic carcinoma H22) and 18.32%(leukemia L1210) respectively, and there were significant difference compared with control group($t=4.130, 3.222, 3.581$ and $2.713, P<0.01, <0.01, <0.01$ and <0.05). The tumor inhibitory rates of nude mice with human esophageal cancer in radiotherapy group was 22.99%, but there was no significant difference compared with control group($t=1.235, P>0.05$). The tumor inhibitory rates in radiotherapy group were 74.47%(lymphoma), 72.59%(sarcoma S180), 69.12%(hepatic carcinoma H22), 77.53%(leukemia L1210) and 56.32%(human esophageal cancer), and there were significant difference compared with control group($t=12.694, 12.208, 7.223, 11.964$ and 5.266 , all $P<0.01$). **Conclusions** There were inhibitory effects of chemotherapy and radiotherapy on all types of tumors. However, the efficiency depends on the mouse strains and the type of tumor.

【Key words】 Lymphoma; Sarcoma 180; Liver neoplasms; Leukemia L1210; Esophageal neoplasms; Models, animal; Radiotherapy; Drug therapy

恶性肿瘤是一类严重危害人类生命健康的疾病,近年来,其发病率逐年上升。恶性肿瘤的治疗包括手术治疗、放疗、化疗和生物治疗。其中,放、化疗是肿瘤治疗的重要手段之一,但影响放疗疗效的因素多种多样,对于不同的肿瘤也多不相同^[1]。随着小鼠肿瘤模型的建立,人们可以根据研究目的建立最适合的小鼠肿瘤模型,从而获得相关疾病的模型,因此,动物肿瘤模型已成为研究人类病因学、发病机制、生化免疫特征、病理生理改变、细胞和分子生物学特性及进行实验治疗的有力工具^[2]。本研究通过建立小鼠不同的肿瘤模型,观察放、化疗对不同荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用,为放、化疗对恶性肿瘤的治疗及其研究提供有实用意义的参考依据。

1 材料和方法

1.1 动物

IRM-2 近交系小鼠由本研究所培育,共 120 只,雄性,体质量为 21~27 g。BALB/c-nu 裸鼠由中国医学科学院动物研究所提供,共 15 只,雄性,体质量为 20~22 g。小鼠饲料为清洁级全价鼠料,由北京科奥协力饲料有限公司提供。

1.2 瘤株

小鼠肉瘤 S180 瘤株、肝癌 H22 瘤株由天津市药品检验所提供。白血病 L1210 瘤株由中国医学科学院药物研究所提供。人食管癌 EC901 瘤株由天津医科大学提供。淋巴瘤瘤株为 IRM-2 小鼠自发瘤。

1.3 仪器

poch-100i 全自动血液分析仪为日本 sysmex 公司产品,¹³⁷Cs γ 射线照射源由加拿大原子能有限公

司提供,照射剂量分别为 1 Gy (剂量率为 0.84 Gy/min) 和 2 Gy (剂量率为 0.75 Gy/min)。

1.4 试剂

环磷酰胺为上海华联制药有限公司产品,用生理盐水配制剂量为 25 mg/kg,5-氟尿嘧啶注射液由天津金耀氨基酸有限公司生产,用生理盐水配制剂量为 25 mg/kg。

1.5 动物模型的建立

将不同的肿瘤细胞(肉瘤 S180、肝癌 H22、白血病 L1210、淋巴瘤)接种到 IRM-2 小鼠的腋部皮下,每只小鼠接种 0.2 ml,细胞数约 5×10^7 个/ml。选取 BALB/c-nu 裸鼠 15 只,取人食管癌 EC901 细胞悬液 0.1 ml,细胞数约 1×10^7 个/ml,接种于每只裸鼠腋部皮下。

1.6 分组及处理

动物模型建立 24 h 后,分别将不同肿瘤细胞(肉瘤 S180、肝癌 H22、白血病 L1210、淋巴瘤)的荷瘤小鼠随机分为对照组、照射组、环磷酰胺组,每组 10 只。环磷酰胺组隔日给药 1 次,共 4 次,照射组于接种后第 4 天进行全身 1 Gy 照射,每日 1 次,连续 5d。将人食管癌 EC901 荷瘤小鼠随机分为对照组、照射组、5-氟尿嘧啶组,每组 5 只,照射组于接种后第 4 天和第 8 天对肿瘤局部进行 2 Gy 照射,5-氟尿嘧啶组隔日 1 次腹腔注射 5-氟尿嘧啶,0.2 ml/只,共 4 次。所有小鼠于第 12 天处死,称重,计算抑瘤率。

1.7 统计学方法

所有数据结果采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组数据间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 放、化疗对淋巴瘤荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

放、化疗对淋巴瘤荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用结果见表 1。放、化疗对淋巴瘤荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤率分别为 34.57%、74.47%，与对照组比较差异有统计学意义($t=4.130$ 和 12.694 , P 均 <0.01)。

2.2 放、化疗对肉瘤 S180 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

放、化疗对肉瘤 S180 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用结果见表 2。放、化疗对肉瘤 S180 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤率分别为 32.69%、72.59%，与对照组比较差异有统计学意义($t=3.222$ 和 12.208 , P 均 <0.01)。

2.3 放、化疗对肝癌 H22 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

放、化疗对肝癌 H22 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作

用结果见表 3。放、化疗对肝癌 H22 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤率分别为 31.31%、69.12%，与对照组比较差异有统计学意义($t=3.581$ 和 7.223 , P 均 <0.01)。

2.4 放、化疗对白血病 L1210 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

放、化疗对白血病 L1210 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用结果见表 4。放、化疗对白血病 L1210 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤率分别为 18.32%、77.53%，与对照组比较差异有统计学意义($t=2.713$ 和 11.964 , P 分别为 <0.05 和 <0.01)。

2.5 放、化疗对人食管癌 EC901 荷瘤裸鼠的抑瘤作用

放、化疗对人食管癌 EC901 荷瘤裸鼠的抑瘤作用结果见表 5。放疗对人食管癌 EC901 荷瘤裸鼠的抑瘤率为 22.99%，与对照组比较差异无统计学意义($t=1.235$, $P>0.05$)。化疗对人食管癌 EC901 荷瘤裸鼠的抑瘤率为 56.32%，与对照组比较差异

表 1 放、化疗对淋巴瘤荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

组别	动物数	开始体质量($\bar{x}\pm s$,g)	结束体质量($\bar{x}\pm s$,g)	瘤重($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	10	26.00 \pm 3.50	32.00 \pm 4.30	1.88 \pm 0.42	0
照射组	10	26.18 \pm 2.71	31.68 \pm 2.12	1.23 \pm 0.31	34.57
环磷酰胺组	10	27.60 \pm 2.90	30.50 \pm 3.40	0.48 \pm 0.16	74.47

表 2 放、化疗对肉瘤 S180 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

组别	动物数	开始体质量($\bar{x}\pm s$,g)	结束体质量($\bar{x}\pm s$,g)	瘤重($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	10	22.34 \pm 5.35	30.73 \pm 5.76	2.08 \pm 0.33	0
照射组	10	21.96 \pm 5.52	26.30 \pm 4.64	1.40 \pm 0.58	32.69
环磷酰胺组	10	22.56 \pm 4.52	25.72 \pm 4.12	0.57 \pm 0.21	72.59

表 3 放、化疗对肝癌 H22 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

组别	动物数	开始体质量($\bar{x}\pm s$,g)	结束体质量($\bar{x}\pm s$,g)	瘤重($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	10	23.20 \pm 1.51	26.87 \pm 2.72	0.92 \pm 0.16	0
照射组	10	23.18 \pm 1.71	26.68 \pm 3.57	0.63 \pm 0.20	31.31
环磷酰胺组	10	23.25 \pm 2.39	25.85 \pm 2.56	0.28 \pm 0.23	69.12

表 4 放、化疗对白血病 L1210 荷瘤 IRM-2 小鼠的抑瘤作用

组别	动物数	开始体质量($\bar{x}\pm s$,g)	结束体质量($\bar{x}\pm s$,g)	瘤重($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	10	23.51 \pm 1.82	33.73 \pm 2.35	3.96 \pm 0.56	0
照射组	10	23.78 \pm 1.35	31.25 \pm 3.22	2.63 \pm 0.45	18.32
环磷酰胺组	10	23.15 \pm 2.13	30.66 \pm 2.98	0.89 \pm 0.33	77.53

表 5 放、化疗对人食管癌 EC901 荷瘤裸鼠的抑瘤作用

组别	动物数	开始体质量($\bar{x}\pm s$,g)	结束体质量($\bar{x}\pm s$,g)	瘤重($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	5	21.93 \pm 1.42	23.58 \pm 1.48	0.87 \pm 0.17	0
照射组	5	21.28 \pm 1.48	23.78 \pm 0.91	0.67 \pm 0.32	22.99
5-氟尿嘧啶组	5	21.28 \pm 1.63	22.90 \pm 1.86	0.38 \pm 0.12	56.32

有统计学意义($t=5.266$, $P<0.01$)。

3 讨论

肿瘤模型对研究肿瘤的病因、发病机制、抗癌药物筛选及肿瘤防治等具有非常重要的意义。移植性肿瘤模型是目前抗癌药物研究、药效学研究及肿瘤治疗中使用最多的一类动物肿瘤模型。动物白血病模型的研究和开发一直是白血病实验性研究中的热点^[2]。自1969年Rygard等^[3]首次将人结肠癌移植于裸鼠并获得成功以后,裸鼠更广泛地应用于人类肿瘤的基础理论和临床治疗的实验性研究中。人肿瘤移植瘤裸鼠模型模拟了体内肿瘤的特点,更接近人体内情况。裸鼠不仅具有T淋巴细胞免疫缺陷的特点,而且因为其具有近交系特点,个体间可保持相同的遗传学和生物学特性,最大限度地减少了个体间差异,使实验结果更加准确可靠,可比性和重复性更好^[4]。

目前,放疗和化疗仍然是治疗癌症的主要方法。虽然放、化疗在癌症治疗中都发挥了重要作用,但是放、化疗往往导致机体正常细胞的损伤,尤其是破坏了人体的免疫系统^[5]。通过前期的实验研究我们发现了放疗对肺腺癌有较好的抑制作用,其抑瘤率为36.36%^[6]。本研究选用了较常用的自发型和移植型肿瘤,建立了人食管癌EC901^[7-8]、肉瘤S180、肝癌H22、白血病L1210、淋巴瘤的肿瘤模型,裸鼠及IRM-2近交系小鼠的成瘤率均为100%,研究结果发现荷瘤小鼠肿瘤明显缩小。其

中,淋巴瘤对放疗较为敏感,而放疗对白血病L1210及食管癌EC901的疗效次之。另外,本研究还发现化疗对白血病L1210的抑瘤率最高。综上所述,我们认为移植性肿瘤模型可以较好地反映放、化疗的治疗效果,其研究结果对肿瘤治疗的实验研究提供了重要的依据,并为肿瘤放、化疗的基础研究提供了良好的动物模型。

参 考 文 献

- [1] 曹建忠,罗京伟,徐国镇.红细胞生成素在肿瘤放疗中的研究现状.中华放射肿瘤学杂志,2006,15(4):267-269.
- [2] 蔡学瑜,陈志哲.同种移植性小鼠白血病模型的建立及应用.医学综述,2007,13(16):1222-1224.
- [3] Rygaard J, Povlsen CO. Heterotransplantation of a human malignant tumour to "Nude" mice. Acta Pathol Microbiol Scand, 1969, 77(4):758-760.
- [4] 蒲才秀,常淑芳,孙江川,等.2种人卵巢癌裸鼠移植瘤模型的生物学特性比较研究.重庆医科大学学报,2011,36(11):1343-1346.
- [5] 王月英,吴红英,李德冠,等.E838保护放化疗小鼠造血功能的疗效观察.陕西医学杂志,2009,38(2):1443-1447.
- [6] 王月英,王小春,吴红英,等.17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯联合 γ 射线照射对不同品系小鼠的抑瘤作用.国际放射医学核医学杂志,2012,36(2):95-98.
- [7] Lin DC, Du XL, Wang MR. Protein alterations in ESCC and clinical implications: a review. Dis Esophagus, 2009, 22(1):9-20.
- [8] 王小春,刘金剑,王月英,等.SKP2表达对食管癌细胞辐射敏感性的影响.国际放射医学核医学杂志,2012,36(2):103-106.

(收稿日期:2012-06-29)

·消息·

第98届北美放射协会年会通知

2012年第98届北美放射协会年会将于2012年11月25日至30日在美国芝加哥举行。此次会议的亮点是将展示更多的创新和实践研讨。为了更好地与中国放射领域的专家、学者交流,促进国际合作,富沃思(北京)国际医学会议管理有限公司作为本次会议的组团推广机构,负责组团及征稿工作。有关会议的具体事宜请见网站(http://www.rsna.org/Annual_Meeting.aspx)。参会咨询联系人:武玉欣:13341077913、010-64135075转8007。