

5'-脱氧氟尿苷联合干扰素对转染TP基因 结肠癌细胞株裸鼠实验模型的影响

方 耿, 王绮雯, 张继民

广州医科大学附属第二医院胃肠外科, 广东 广州 510260

[摘要] **背景与目的:** 人结肠癌细胞基本无胸苷磷酸化酶(thymidine phosphorylase, TP)表达。本实验主要探讨人结肠癌细胞株LS174T转染TP基因后, 在裸鼠肿瘤组织中对抗癌药物5'-脱氧氟尿苷(5'-deoxy-5-fluorouridine, 5'-DFUR)、氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)和干扰素- α 2a(interferon- α 2a, INF- α 2a)干预效果的影响。**方法:** 以慢病毒为载体转染TP基因至结肠癌细胞株LS174T, 得到稳定传代的高TP表达株。将96只BALB/c裸鼠分成2组, 分别应用野生型及转染TP基因后的LS174T细胞株接种裸鼠背部皮下, 制成结肠癌TP低、高表达模型。每组再随机分为6组, 分别应用0.9%NaCl溶液、INF- α 2a、5-FU、5-FU+INF- α 2a、5'-DFUR和5'-DFUR+INF- α 2a干预5 d, 2周后处死裸鼠, 分离肿瘤称重后, 分别应用鼠抗人CD34、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和抗PD-ECGF单克隆抗体进行免疫组织化学染色。判定是否有TP表达及对微血管进行计数。**结果:** 在野生型LS174T裸鼠荷瘤模型中, 使用抗肿瘤药物的3~6组肿瘤质量与对照组相比均明显降低, 抑癌率分别为48%、27%、48%和57%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。其中5'-DFUR组(48%)与5'-DFUR+INF- α 2a组(57%)、5-FU+INF- α 2a组与5'-DFUR+INF- α 2a组(27%与57%)相比, 抑癌率差异有统计学意义($P<0.05$)。在LS174T-TP细胞株裸鼠模型中, 5'-DFUR组和5'-DFUR+INF- α 2a组抑癌率分别为27%和48%, 而使用5-FU的两组未显示出良好的抗肿瘤效果(7%和3%)。免疫组织化学染色显示, 野生型LS174T接种形成的肿瘤组织中TP表达阴性, 微血管数目较少, 而转染TP基因后, 肿瘤组织中TP表达明显上升, 微血管密度明显增多($P<0.05$)。**结论:** 结肠癌细胞株LS174T转染TP基因后, 在裸鼠实验肿瘤模型中, TP表达明显增加, 使细胞内激活抗癌药物5'-DFUR的抗癌作用明显增强, 联合应用INF- α 2a能进一步增强这种抗癌作用。而转染TP基因或联合应用INF- α 2a对常规抗癌药物5-FU的抗癌效果无明显影响。

[关键词] 结肠癌; LS174T; 胸苷磷酸化酶; 5'-脱氧氟尿苷; 干扰素- α 2a

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.11.003

中图分类号: R735.3+5 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)11-0853-07

The anti-tumor effects of 5'-DFUR combined with interferon on nude mice transplanted with colorectal cancer cell line LS174T carrying thymidine phosphorylase cDNA FANG Geng, WANG Qiwen, ZHANG Jimin (Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, Guangdong Province, China)

Correspondence to: ZHANG Jimin E-mail: jimin0820@163.com

[Abstract] **Background and purpose:** In colorectal cancer tissues, little thymidine phosphorylase (TP) expression was detected. In this study, the inhibitory effects of 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) and 5-fluorouracil (5-FU) combined with interferon- α 2a (INF- α 2a) on nude mice transplanted with colorectal cancer cell line LS174T carrying TP cDNA were investigated. **Methods:** TP cDNA was transfected into human colorectal cancer cell line LS174T with lentiviral vector, and the LS174T cell line with high TP expression was obtained. Then 96 BALB/c nude mice were randomly divided into two groups. Wild LS174T and TP-transfected LS174T (LS174T-TP) cells were inoculated hypodermically into the nude mice back respectively to obtain the colorectal cancer graft models. Two days later, each group was randomly divided into 6 groups again, and different drug interventions were performed

continuously for 5 days with normal saline, INF- α 2a, 5-FU, 5-FU+INF- α 2a, 5'-DFUR and 5'-DFUR+INF- α 2a, respectively. All the nude mice were executed after 2 weeks, and tumor tissues were dissected and weighed. The tumor tissue specimens were immunohistochemically stained using the mouse anti-human CD34, VEGF and PD-ECGF monoclonal antibodies. And then the positive cells and microvessels were quantified respectively. **Results:** In all of the nude mice transplanted with wild LS174T, the tumor weights of those nude mice injected with antitumor drugs (group 3-6) were significantly lower compared with the control (normal saline), and their tumor inhibition rates were 48%, 27%, 48% and 57% ($P<0.05$), respectively. Also the inhibition rates of those mice injected with 5'-DFUR, 5'-DFUR+INF- α 2a were 48% and 57%, respectively ($P<0.05$). The inhibition rates of the mice injected with 5-FU+INF- α 2a and 5'-DFUR+INF- α 2a were 27% and 57%, respectively ($P<0.05$). In LS174T-TP-transplanted nude mice, the tumor inhibition rates of the mice injected with 5'-DFUR, 5'-DFUR+INF- α 2a were 27% and 48%, respectively ($P<0.05$). However, there was no efficacious antitumor effect on the mice injected with 5-FU and 5-FU+INF- α 2a. Immunohistochemical staining showed that in tumor tissues of the mice transplanted with wild LS174T, TP expression was negative and the number of microvessels was significantly less than that in TP-transfected tissues ($P<0.05$), in which the TP expression was also significantly positive. **Conclusion:** After colorectal cancer cell line LS174T was transfected with TP cDNA, the TP expression in tumor graft tissues of nude mice was significantly higher than in tumor tissues of those transplanted with wild LS174T. The antitumor effect of 5'-DFUR was significantly enhanced on the nude mice transplanted with LS174T carrying TP cDNA, and it could be further powered by combination with INF- α 2a. However, the antitumor effect of 5-FU, even combined with INF- α 2a, was not increased on these nude mouse models.

[**Key words**] Colorectal cancer; LS174T; Thymidine phosphorylase; 5'-deoxy-5-fluorouridine; Interferon- α 2a

胸苷磷酸化酶(thymidine phosphorylase, TP)在组织内具有促血管新生活性, 对肿瘤细胞的发生、生长及转移起重要作用。同时还是氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)前体类药物, 如5'-脱氧氟尿苷(5'-deoxy-5-fluorouridine, 5'-DFUR)、卡培他滨(capecitabine)等在人体内转化为具有细胞毒作用5-FU的关键限速酶。已有研究表明, TP在人乳腺癌、胃癌及结直肠癌组织中高表达^[1], 但在结直肠癌组织中, TP主要表达于肿瘤相关巨噬细胞的细胞质颗粒而非癌细胞。我们的前期研究已经通过给结肠癌细胞株转染TP基因建立了TP高表达结肠癌细胞株^[2]。本研究旨在探索结肠癌TP高、低表达细胞株在裸鼠实验模型中肿瘤组织生长差异及对5-FU、5'-DFUR并联合干扰素- α 2a(interferon- α 2a, INF- α 2a)进行干预的不同影响。

1 材料和方法

1.1 细胞系、实验动物与主要试剂

人结直肠肿瘤细胞系LS174T购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研

究所细胞库。BALB/c裸小鼠购自广东省医学实验动物中心, 共96只, 雄性, 5~6周, 18~20 g。DMEM培养基、胎牛血清、0.25%胰酶和乙二胺四乙酸购自美国Gibco公司, TP基因慢病毒载体购自美国Invitrogen公司, 5-FU和5'-DFUR购自美国Sigma公司, INF- α 2a购自瑞士Roche公司, 鼠抗人CD34、PD-ECGF(SPM322)购自美国Santa Cruz公司, S-P二步法免疫组织化学检测试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 基因转染

结肠癌细胞系LS174T计数铺板, 24 h细胞贴壁后, 按MOI=20计算病毒液体积加入, 同时加入终浓度为8 μ g/mL的凝聚胺, 温育8 h后更换完全培养基。病毒感染48 h后, 放入培养瓶中培养到第2天用含有杀稻瘟菌素8 μ g/mL的培养基进行筛选, 每3天换液1次, 持续筛选2周, 于培养瓶中培养传代, 传5代以上得到稳定转染的细胞株, 通过流式细胞仪检测细胞中表达荧光蛋白细胞的百分比, 从而得出慢病毒的感染效率。

1.2.2 裸鼠皮下荷瘤模型建立

选用人结肠癌LS174T细胞株, 通过转染

TP cDNA, 得到可以稳定传代的高TP表达细胞株^[2]。在含有10%胎牛血清的DMEM培养液中, 于37℃、CO₂体积分数为5%的条件下培养。取对数生长期的细胞用0.25%的胰蛋白酶消化, 收集细胞, 调节浓度为 1×10^7 个/mL。将96只裸鼠分为2组, 每组48只分别接种LS174T及LS174-TP细胞。每只裸鼠右前肢背部皮下注射细胞悬液0.2 mL。3 d后接种部位可触及肿瘤组织。

1.2.3 分组干预

将分别接种LS174T及LS174-TP细胞的48只裸鼠再随机分成6组, 每组8只, 接种后2 d开始给药干预, 连续5 d。① 对照组: 每天腹腔注射0.9%NaCl溶液0.4 mL; ② INF- α 2a组: 第1天INF- α 2a 2 μ g皮下注射1次, 并每天腹腔注射0.9%NaCl溶液0.4 mL; ③ 5-FU组: 每天腹腔注射5-FU 15 mg/kg; ④ 5-FU+INF- α 2a组: 第1天INF- α 2a 2 μ g皮下注射1次, 并每天腹腔注射5-FU 15 mg/kg; ⑤ 5'-DFUR组: 每天腹腔注射5'-DFUR 20 mg/kg; ⑥ 5'-DFUR+INF- α 2a组: 第1天INF- α 2a 2 μ g皮下注射1次, 每天腹腔注射5'-DFUR 20 mg/kg。

1.2.4 观测指标及处死留取标本

所有裸鼠于接种结肠癌细胞2 d后开始给药干预。从给药当天开始每天测量体质量, 给药结束次日(第6天)计算给药前后裸鼠的体质量变化, 体质量变化值=给药后体质量-给药前体质量, 体质量比接种前增加的数值标记为正值, 降低的标记为负值。第14天处死全部裸鼠后分离皮下肿瘤组织, 称取重量并记录。抑癌率= [(对照组肿瘤质量均值-处理组肿瘤质量均值) \div 对照组肿瘤质量均值] \times 100%。切除的肿瘤标本置于4%甲醛溶液中固定, 制成石蜡块准备行免疫组织化学检测。

1.2.5 免疫组织化学染色分析

将全部接种LS174T和LS174-TP细胞的裸鼠肿瘤标本石蜡块切成厚5 μ m的切片, 分别应用表达TP的鼠抗人PD-ECGF和表达微血管的鼠抗人CD34、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的单克隆抗体,

按即用型S-P二步法试剂盒说明进行免疫组织化学染色。PD-ECGF阳性细胞主要表现为细胞质或细胞核黄染, 偶尔也可以看到单独细胞核黄染。TP表达水平的判断标准为一个视野中阳性细胞数达50%以上则认为该标本为阳性标本。CD34和VEGF阳性的微血管计数标准为任何1个单个黄染细胞或一串可与其他细胞明确分开的内皮细胞集团, 判定为1个单独的血管。先在200倍视野下选择5处阳性细胞或微血管最密集区, 然后在400倍视野下(0.062 5 mm²)分别进行计数, 计算出每份标本微血管的 $\bar{x} \pm s$ 。

1.3 统计学处理

各组裸鼠体质量及肿瘤质量采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 应用SPSS 13.0软件进行数据统计分析。两组数据之间比较采用 t 检验, 3组以上组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物模型观察

96只裸鼠接种结肠癌细胞后全部存活, 3 d后即可在接种部位皮下触及肿瘤结节, 成瘤率为100%(图1)。干预给药后对照组、INF- α 2a组一般情况与给药前差异不显著, 但其余4组均出现不同程度的精神萎靡、腹泻及体质量减轻。



图1 裸鼠接种细胞株后2周处死时肿瘤模型

Fig. 1 The tumor graft in nude mouse after transplanted LS174T for 2 weeks

2.2 裸鼠体质量变化

干预给药前, 各组裸鼠体质量之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。5 d给药结束后, 与对照组相比, 5-FU组与5-FU+INF- α 2a组体质量明显减

轻, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。5'-DFUR组与5'-DFUR+INF- α 2a组体质量也轻度降低, 但与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1, 图2、3)。

表 1 实验裸鼠药物干预5天后体质量变化

Tab. 1 The weight varieties of nude mice intervened by antitumor agents 5 days later

Group (n=6)	(m/g, $\bar{x} \pm s$)	
	Inoculate LS174T	Inoculate LS174T-TP
0.9%NaCl	0.97±0.39	0.65±1.13
INF- α 2a	1.40±0.66	1.31±1.21
5-FU	-1.83±0.71*	-0.93±1.34*
5-FU+INF- α 2a	-3.45±0.73*	-1.76±2.07*
5'-DFUR	-0.90±2.90	-0.81±3.26
5'-DFUR+INF- α 2a	-0.67±2.24	0.54±0.90

*: $P < 0.05$, compared with control group

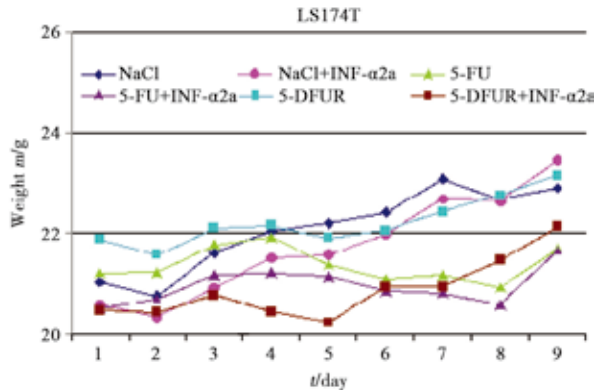


图 2 接种LS174T细胞株后各组裸鼠体质量变化

Fig. 2 The weight varieties in each group of LS174T transplanted nude mice intervened by antitumor agents

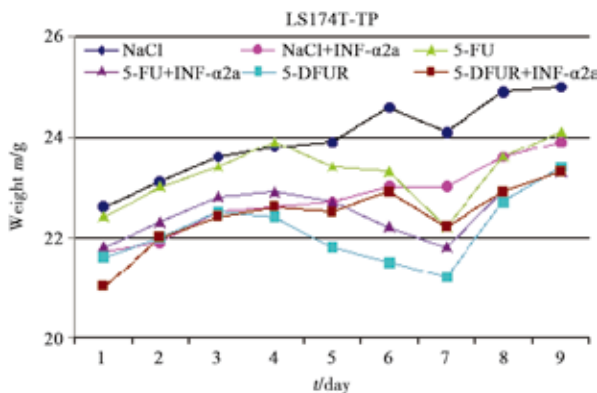


图3 接种LS174T-TP细胞株后各组裸鼠体质量变化

Fig. 3 The weight varieties in each group of LS174T-TP transplanted nude mice intervened by antitumor agents

2.3 肿瘤质量比较

分别接种转染TP基因LS174T-TP和野生型LS174T的两组实验裸鼠中, 仅注射0.9%NaCl溶液的两组肿瘤质量分别为(0.41±0.06) g和(0.92±0.15) g, 转染TP基因后的肿瘤质量明显大于野生细胞组($P < 0.05$)。在野生型细胞裸鼠荷瘤模型中, 应用INF- α 2a组裸鼠肿瘤质量比对照组肿瘤质量轻度降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。而应用5-FU组、5'-DFUR组及5'-DFUR+INF- α 2a组肿瘤质量与对照组相比均明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2)。其中5'-DFUR+INF- α 2a组肿瘤减轻作用最为明显, 抑癌率高达57%。而5-FU组和5-FU+INF- α 2a组的抑癌率也分别为48%和27%, 与对照组相比差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。单纯比较5-FU组与5'-DFUR组抑癌率均为48%, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 接种LS174T细胞裸鼠不同药物干预后肿瘤质量

Tab. 2 The tumor weights in LS174T-transplanted nude mice intervened by antitumor

Group (n=6)	Tumor weight m/g	Tumor-inhibition rate/%
0.9%NaCl	0.41±0.06	0
INF- α 2a	0.31±0.06	24
5-FU	0.21±0.05*	48
5-FU+INF- α 2a	0.30±0.02*	27
5'-DFUR	0.21±0.19*	48
5'-DFUR+INF- α 2a	0.18±0.02**	57

*: $P < 0.05$, compared with control group; **: $P < 0.05$, compared with other groups

在转染型LS174T-TP细胞株裸小鼠荷瘤模型中, 注射5-FU和5-FU+INF- α 2a的两组抑癌率分别为7%和3%, 与对照组相比并未显示出良好的抗肿瘤效果($P > 0.05$)。而5'-DFUR组和5'-DFUR+INF- α 2a组肿瘤质量明显减少, 抑癌率分别为27%和48%, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05 , 表3)。

2.4 肿瘤组织中TP表达及微血管生成

接种LS174T原代细胞的裸鼠肿瘤组织中, TP表达为阴性(图4A), 联合应用INF- α 2a组的

TP表达亦未见明显增加(图4B)。而接种转染TP基因的LS174T-TP细胞组(图4C)和同时应用INF-α2a组(图4D)的TP表达均呈强阳性。单纯接种LS174T细胞及联合应用INF-α2a裸鼠肿瘤组织中有VEGF表达,也有新生血管生成,但VEGF阳性细胞数量及微血管数量差异无统计学意义($P>0.05$)。但接种转染TP基因LS174T细胞裸鼠肿瘤组织中,VEGF阳性细胞和新生血管数目均明显增多,与接种原代细胞裸鼠肿瘤组织相比,差异有统计学意义($P<0.05$),但接种LS174T-TP细胞并联合应用INF-α2a后,VEGF阳性细胞、微血管数目与未用INF-α2a组差异无统计学意义($P>0.05$,图5,表4)。

表3 接种LS174T-TP细胞裸鼠不同药物干预后肿瘤质量

Tab. 3 The tumor weight of TP-transfected nude mice intervened by antitumor agents

Group (n=6)	Tumor weight m/g	Tumor-inhibition rate/%
0.9%NaCl	0.92±0.15	0
INF-α2a	0.96±0.06	0
5-FU	0.85±0.11	7
5-FU+ INF-α2a	0.89±0.07	3
5'-DFUR	0.67±0.04*	27
5'-DFUR+ INF-α2a	0.47±0.02*	48

*: $P<0.05$, compared with 0.9% NaCl group

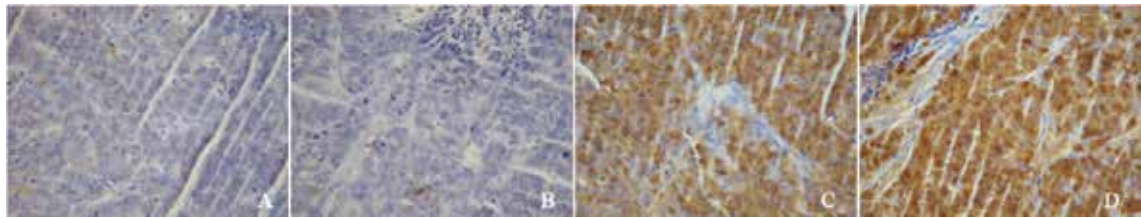


图4 裸鼠肿瘤组织中TP表达

(×400)

Fig. 4 The TP expression in tumor tissues of nude mice

A: Transplanted with wild LS174T; B: Transplanted with wild LS174T and intervened by INF-α2a; C: Transplanted with TP cDNA-transfected LS174T; D: Transplanted with TP cDNA-transfected LS174T and intervened by INF-α2a

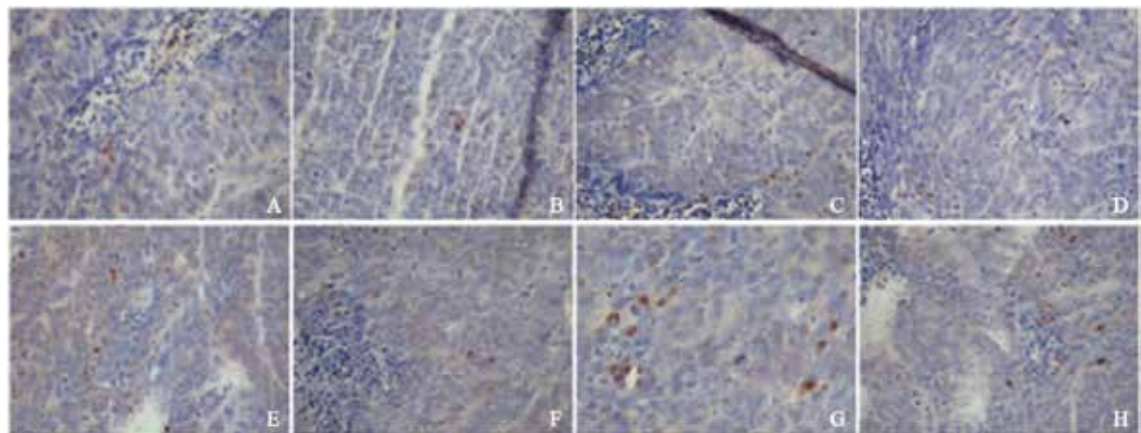


图5 肿瘤组织中VEGF、CD34表达

(×400)

Fig. 5 The expression of VEGF, CD34 in tumor tissues

Among these, A, B, C, D were VEGF; E, F, G, H were CD34; A, E: Transplanted with wild LS174T; B, F: Transplanted with wild LS174T and intervened by INF-α2a; C, G: Transplanted with TP cDNA-transfected LS174T; D, H: Transplanted with TP cDNA-transfected LS174T and intervened by INF-α2a

表 4 裸鼠肿瘤组织中VEGF阳性细胞和微血管数量

Tab. 4 The numbers of VEGF-positive cells and microvessels in tumor tissues of LS174T/LS174T-TP-transplanted nude mice

Group	(/0.062 5 mm ² , $\bar{x}\pm s$)	
	VEGF	CD34
LS174T	5.8±1.2	5.0±0.9
LS174T+INF- α 2a	5.5±1.0	5.2±1.2
LS174T-TP	10.0±1.3*	9.5±1.4*
LS174T-TP+INF- α 2a	10.3±1.9*	10.0±2.1*

*: $P < 0.05$, compared with LS174T transplanted tumor tissue

3 讨 论

TP是核酸代谢过程中的关键酶, 分子结构是由两条多肽链构成的同源二聚体。目前研究结果普遍认为TP与PD-ECGF是同一物质, 在体内具有促进血管生成作用, 其高表达与结直肠癌肿瘤的增殖、浸润及转移等不良预后相关^[3]。既往研究表明, TP在肿瘤组织内的表达明显高于周围正常组织, 但在结直肠癌组织中是肿瘤细胞表达还是间质细胞表达尚无定论。Zhang等^[4]曾对40例结直肠癌手术切除标本进行免疫组织化学染色分析发现, 结直肠癌组织中的TP活性明显高于周围正常组织, 但结直肠癌细胞本身基本无表达, 而主要由癌巢周边肿瘤相关巨噬细胞表达。对6株结肠癌细胞系采用ELISA法测定TP蛋白水准也证实上述推断。此外, TP还是5-FU前体类药物5'-DFUR、CAP等在人体内活化的关键酶, 此类药物自身没有抑制肿瘤细胞的作用, 需要在肿瘤组织内TP的催化下转化为5-FU从而发挥抗肿瘤作用, 因此, 提高结直肠癌组织内TP的表达可以提高5'-DFUR等化疗药物的敏感性, 在临床治疗上具有重要的作用。Ogata等^[5]曾对45例转移性结直肠癌患者服用5'-DFUR联合低剂量伊立替康的研究显示, 5'-DFUR在TP高度表达的患者中有效率为47%, 明显高于低表达患者的19%。

由于结肠癌细胞很少表达TP, 为增强5-FU前体类药物在结肠癌细胞中的抗癌效应, 我们在前期研究中一直尝试各种方法增强结肠癌细胞的TP表达, Zhang等^[6]最早把6株结肠癌细

胞株同类巨噬细胞株THP-1和U937一起培养, 结果使6株结肠癌细胞株的TP蛋白水准明显提高, 并且使5'-DFUR的半数有效剂量分别下降到原来的5.4%~41.8%。之后夏强等^[7]应用IFN- α 2a刺激人结肠癌细胞株LOVO和SW480, 使其TP mRNA水平分别增高了1.59倍和4.85倍, 并且在体外实验中明显增强5'-DFUR抗结肠癌细胞活性。刘剑等^[8]、高庆等^[9]和叶钊均等^[10]利用慢病毒作为载体分别转染TP基因给结肠癌细胞SW480、LOVO、HT29和LS174T, 结果4株细胞内TP mRNA和TP蛋白表达均明显增高, 使5'-DFUR的抗癌活性明显增加。刘奇等^[11]进一步针对转染TP基因的结肠癌细胞, 在应用5'-DFUR干扰的同时, 同时应用INF- α 2a, 使细胞内TP蛋白表达进一步增高, 5'-DFUR的抗癌活性进一步增强。以上前期研究结果均为细胞实验, 而转染TP基因的结肠癌细胞株在实验动物模型的癌组织中, 是否可增高TP表达进而增强5'-DFUR的抗癌活性, INF- α 2a是否可以进一步上调TP表达并增强5'-DFUR抗癌活性, 目前国内外尚无文献报道。

本研究将人结肠癌细胞株LS174T转染TP基因, 得到可以稳定传代的TP高表达细胞株后, 分别应用原代细胞株及转染TP基因的细胞株制作裸鼠皮下荷瘤模型。通过对肿瘤组织进行免疫组织化学染色发现, 转染TP基因的裸鼠肿瘤组织中TP表达量显著提高, 肿瘤组织中的微血管密度增加, Sivridis等^[12]认为通过提高TP表达水平能够促进血管新生进而促进肿瘤的生长。药物干预组中所有裸鼠的体质量与对照组及干扰素组相比均下降, 但是应用5-FU组及5-FU+干扰素组的比重下降比较明显($P < 0.05$), 提示5-FU对生理的干扰明显大于5'-DFUR。在抗肿瘤效果方面, 单独应用5-FU或5'-DFUR对原代LS174T细胞接种的裸鼠肿瘤组织均有抑制生长作用($P < 0.05$), 而转染TP基因的LS174T-TP裸鼠模型则仅对5'-DFUR敏感, 提示当结直肠癌肿瘤细胞即便高表达TP, 但5-FU在细胞内的含量无改变, 增多的新生血管促进肿瘤细胞生长, 部分抵消了5-FU的细胞抑制作用。而5'-DFUR则由增高的TP表达增多了肿瘤细胞内转

化的5-FU使其更具有靶向治疗作用。当单独应用5'-DFUR及联合INF- α 2a时,对两种裸鼠肿瘤模型生长均具有抑制作用,并且肿瘤质量较其他各组都显著减小($P < 0.05$)。本实验结果也得到了临床试验的验证, Ishii等^[13]曾在Ⅲ期胃癌的临床试验中证实,在TP高表达的患者中,服用5'-DFUR者比服用5-FU者生存期更长。Zhu等^[14]的研究证明了INF- α 2a能激活ERK信号通路,上调胃癌细胞株的TP蛋白表达从而增强5'-DFUR诱导细胞凋亡的能力。即干扰素能够上调肿瘤组织中TP的表达量从而与5'-DFUR发挥协同抗肿瘤生长的作用。免疫组织化学检测结果显示,使用INF- α 2a的裸鼠模型中肿瘤组织TP表达较对照组有提高的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),可能是由于我们样本量不够大或免疫组织化学不足以显示出这种差异所致。单独应用5-FU及联合INF- α 2a时,两者联合用药抑制肿瘤的效果没有表现出比单用5-FU更好的抗癌效果,肖永胜等^[15]也在裸鼠肝癌模型上证实了INF- α 2a与5-FU之间在抗肿瘤方面无协同作用,Link等^[16]的一项临床试验也发现,在5-FU+左旋咪唑化疗方案中,同时应用INF- α 2a并不能延长总生存期。

本研究发现,在结直肠癌细胞株LS174T的裸鼠荷瘤模型中,通过转染TP基因能够提高TP在肿瘤中的表达,使5'-DFUR能够发挥更好的抗肿瘤作用,而联用INF- α 2a能使5'-DFUR的抗肿瘤效果进一步增加。提示对于结直肠癌患者,尤其是在TP高表达患者中,口服5'-DFUR、卡培他滨等5-FU前体类化疗药物的同时联用INF- α 2a有可能获得更好的疗效。但是转染TP基因也可使肿瘤组织内新生血管增多,有利于肿瘤生长,如何权衡其双向作用,达到有效抑制肿瘤生长尚需进一步研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] 姜丽娜,于世英,熊慧华,等. 胸苷磷酸化酶在癌组织中表达的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2004, 26(5): 297-299.
- [2] 王绮雯,刘 剑,叶钿均,等. 基于基因转染法的胸苷磷酸化酶高表达结肠癌细胞株的建立[J]. 广东医学, 2015, 36(1): 30-34.
- [3] YOSHIMOTO K, KAWAHARA H, KOBAYASHI S, et al.

- Importance of thymidine phosphorylase expression at the invasive front of T₃ rectal cancer as a prognostic factor [J]. Dig Surg, 2006, 23(5-6): 331-335.
- [4] ZHANG J M, MIZOI T, SHIIBA K, et al. Expression of thymidine phosphorylase by macrophages in colorectal cancer tissues [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(4): 545-549.
- [5] OGATA Y, SASATOMI T, MORI S, et al. Significance of thymidine phosphorylase in metronomic chemotherapy using CPT-11 and doxifluridine for advanced colorectal carcinoma [J]. Anticancer Res, 2007, 27(4C): 2605-2611.
- [6] ZHANG J M, MIZOI T, HARADE N, et al. Thymidine phosphorylase expressed in macrophage enhances antitumor effect of 5'-deoxy-5-fluorouridine in human colorectal cancer cells [J]. Anticancer Res, 2003, 23(1A): 323-329.
- [7] 夏 强,王绮雯,张继民. 干扰素 α 2a对人结肠癌细胞胸苷磷酸化酶表达和5'脱氧氟尿苷抗癌活性的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2012, 15(7): 719-722.
- [8] 刘 剑,张继民,高 庆,等. 转染胸苷磷酸化酶基因对5'-脱氧氟尿苷抗结肠癌细胞株活性的影响[J]. 中华外科杂志, 2013, 51(7): 636-640.
- [9] 高 庆,张继民,刘 剑,等. 转染胸苷磷酸化酶基因对5'-脱氧氟尿苷抑制结肠癌细胞影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(4): 370-375.
- [10] 叶钿均,王绮雯,张继民,等. 慢病毒转染胸苷磷酸化酶基因增强5'-脱氧氟尿苷抗结肠癌细胞活性[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 18-24.
- [11] 刘 奇,王绮雯,张继民,等. 转染胸苷磷酸化酶基因联合干扰素 α 2a增强5'-脱氧氟尿苷对结肠癌细胞株的细胞毒作用[J]. 中华普通外科杂志, 2015, 30(5): 386-390.
- [12] SIVRIDIS E, GIATROMANOLAKI A, ANASTASIADIS P, et al. Angiogenic co-operation of VEGF and stromal cell TP in endometrial carcinomas [J]. J Pathol, 2002, 196(4): 416-422.
- [13] ISHII R, TAKIGUCHI N, ODA K, et al. Thymidine phosphorylase expression is useful in selecting adjuvant chemotherapy for stage III gastric cancer [J]. Int J Oncol, 2001, 19(4): 717-722.
- [14] ZHU Y, XU L, FAN Y, et al. Interferon- α enhances 5'-deoxy-5-fluorouridine-induced apoptosis by ERK-dependant upregulation of thymidine phosphorylase [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 132793.
- [15] 肖永胜,汤钊猷,樊 嘉,等. 卡培他滨联合干扰素- α 抑制裸鼠肝癌生长的实验研究[J]. 中国临床医学, 2003, 10(3): 288-290.
- [16] LINK K H, KORNMANN M, STAIB L, et al. Increase of survival benefit in advanced resectable colon cancer by extent of adjuvant treatment: results of a randomized trial comparing modulation of 5-FU+levamisole with folinic acid or with interferon- α [J]. Ann Surg, 2005, 242(2): 178-187.

(收稿日期: 2017-06-10 修回日期: 2017-10-12)