

# 17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯联合 $\gamma$ 射线照射对不同品系小鼠的抑瘤作用

王月英 王小春 吴红英 李德冠 张恒 宋娜玲 褚丽萍 路璐 杜丽清 王彦孟爱民

**【摘要】** 目的 对比观察 17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯(DHEA)对不同品系小鼠肺腺癌的抑瘤作用及探讨合用  $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$  射线照射是否具有抑瘤增效作用。方法 将 LA795 肺腺癌细胞用生理盐水稀释为浓度约  $3.5 \times 10^7/\text{ml}$  瘤细胞, 接种于近交系 IRM-1 和 IRM-2 小鼠腋下, 0.2 ml/只, 24 h 后分别将 IRM-1 和 IRM-2 荷瘤小鼠随机分为 8 组: 对照组、单照组、DHEA(低、中、高剂量)组和 DHEA(低、中、高剂量)联合照射组。DHEA 组与 DHEA 联合照射组采取腹腔给药, 每日 1 次, 连续 7 d。其中, DHEA 联合照射组于给药的第 4 日进行全身 1 Gy 照射, 每日 1 次, 连续 5 d。观察 DHEA 联合  $\gamma$  射线照射对小鼠肺腺癌的抑瘤效果及对相关免疫学指标的影响。结果 DHEA 低、中、高剂量组对 IRM-1 荷瘤小鼠的抑瘤率分别为 38.05%、49.33%和 48.18%, 与对照组比较差异有统计学意义( $t=3.417, 4.929$  和  $4.889, P$  均  $<0.01$ ), 联合  $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$  射线照射后的抑瘤率分别为 56.98%、64.44%和 62.72%, 与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=5.475, 5.770$  和  $6.165, P$  均  $<0.01$ )。DHEA 低、中、高剂量组对 IRM-2 小鼠的抑瘤率分别为 42.73%、70.91%和 67.73%, 其中, 中、高剂量组与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=3.239$  和  $3.062, P$  均  $<0.01$ ), 联合  $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$  射线照射后的抑瘤率分别为 63.63%、75.00%和 68.64%, 与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=2.834, 3.426$  和  $3.156, P$  分别为  $<0.05, <0.01$  和  $<0.01$ )。结论 DHEA 对不同品系小鼠肺腺癌细胞均有抑制作用, 联合  $\gamma$  射线照射后的抑瘤疗效比单纯 DHEA 组更为明显。

**【关键词】**  $\gamma$  射线; 肺肿瘤; 17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯; IRM-1 小鼠; IRM-2 小鼠

**Inhibitory effects of 17 $\alpha$ -D-homo ethynylestradiol-3-acetate combined with  $\gamma$ -ray irradiation on adenocarcinoma of the lung in different mice strains** WANG Yue-ying, WANG Xiao-chun, WU Hong-ying, LI De-guan, ZHANG Heng, SONG Na-ling, CHU Li-ping, LU Lu, DU Li-qing, WANG Yan, 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 study the inhibitory effects of 17 $\alpha$ -D-homo ethynylestradiol-3-acetate (DHEA) combined with  $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$ -ray irradiation on adenocarcinoma of the lung in different mice strains. **Methods** The LA795 tumor were diluted by saline to the cell suspension at the concentration of  $3.5 \times 10^7/\text{ml}$ . Each IRM-1 and IRM-2 mice was transplanted by armpit injection of 0.2 ml cell suspension. After 24 h, the mice were randomly divided into control group, radiation alone group, DHEA treated groups (high, middle and low dose respectively) and DHEA combined with irradiation groups. Mice in DHEA treated groups and combination groups were intraperitoneally injected with DHEA daily for 7 days. Mice in the combination groups were irradiated with 1 Gy per day for 5 days after injected with DHEA for 4 days. The anti-tumor

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2012.02.010

作者单位: 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, 11JCZDJC19100)

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)

effects of DHEA combined with irradiation on different group were measured. **Results** The tumor inhibitory ratios of IRM-1 mice in DHEA treated groups were 38.05% (low dose), 49.33% (middle dose) and 48.18% (high dose) respectively, while in combination groups were 56.98% (low dose), 64.44% (middle dose) and 62.72% (high dose). Compared with control group, the tumor inhibitory ratios in DHEA treated groups ( $t=3.417, 4.929$  and  $4.889$ , all  $P<0.01$ ) and combination groups ( $t=5.475, 5.770$  and  $6.165$ , all  $P<0.01$ ) were elevated. The tumor inhibitory ratios of IRM-2 mice in DHEA treated groups were 42.73% (low dose), 70.91% (middle dose) and 67.73% (high dose) respectively, while in combination groups were 63.63% (low dose), 75.00% (middle dose) and 68.64% (high dose). Compared with control group, the tumor inhibitory ratios in DHEA treated groups (middle and high dose) ( $t=3.239$  and  $3.062$ , both  $P<0.01$ ) and combination groups ( $t=2.834, 3.426$  and  $3.156$ ,  $P<0.05, <0.01$  and  $<0.01$ ) were elevated. **Conclusions** DHEA showed tumor inhibitory effects on different mice strain transplanted with tumor. The synergistic anti-tumor effects of DHEA and  $\gamma$ -ray irradiation were more effective than DHEA alone.

**[Key words]** Gamma rays; Lung neoplasms;  $17\alpha$ -D-homo ethynylestradiol-3-acetate; IRM-1 mouse; IRM-2 mouse

放疗是肿瘤治疗中的一项重要手段,但放疗的主要不良反应表现为骨髓抑制,往往造成正常组织的辐射损伤。因此,如何增强抑瘤效果、减小不良反应已成为放射肿瘤学研究的重要课题<sup>[1]</sup>。 $17\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯( $17\alpha$ -D-homo ethynylestradiol-3-acetate, DHEA)是本研究所合成的一种新型辐射防护剂,前期的药效学实验已证实: DHEA 具有放射防护效价高<sup>[2]</sup>、不良反应小的特点。本研究按照国家一类新药报批要求<sup>[3]</sup>,通过建立近交系 IRM-1 和 IRM-2 小鼠的肿瘤模型,对比观察 DHEA 对不同品系小鼠肺腺癌的抑瘤作用,并探讨 DHEA 联合  $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$  射线照射是否具有抑瘤增效作用,为其在肿瘤治疗中的应用研究提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

IRM-1 和 IRM-2 小鼠为我所培育的近交系小鼠,共 160 只,雌雄各半,平均体质量为  $(22\pm 1)$  g。LA795 肺腺癌细胞株由天津市药品检验所提供。 $^{137}\text{Cs}$   $\gamma$  射线照射源由加拿大原子能有限公司提供,剂量率为  $0.84$  Gy/min。茶油由天津市氨基酸公司提供, DHEA 由我所合成,分别配制成  $5$  mg/kg、 $7.5$  mg/kg、 $10$  mg/kg 的低、中、高剂量。

### 1.2 动物模型的制备及分组

肺腺癌细胞株用生理盐水按 1:3 的比例制成细胞悬液,浓度约  $3.5 \times 10^7/\text{ml}$  瘤细胞,于小鼠前肢腋窝皮下接种,  $0.2$  ml/只,观察 24 h 后分别将 IRM-1 和 IRM-2 两种荷瘤鼠随机分为 8 组:对照

组、单照组、DHEA (低、中、高剂量) 组、DHEA (低、中、高剂量) 联合照射组,每组 10 只。DHEA 组、DHEA 联合照射组采取腹腔给药,每日 1 次,  $0.2$  ml/只,连续给药 7 d,对照组注射等量茶油, DHEA 联合照射组于给药的第 4 天进行全身  $1$  Gy  $\gamma$  射线照射,每日 1 次,连续 5 d。

### 1.3 肿瘤抑制率计算

小鼠于末次给药后第 3 天称重并处死,取瘤体称重,计算肿瘤抑制率: 肿瘤抑制率 = (对照组瘤重 - 实验组瘤重) / 对照组瘤重  $\times 100\%$ 。观察各组小鼠的肿瘤抑制率、胸腺和脾脏指数,比较各组间的差别。

### 1.4 骨髓有核细胞计数

取小鼠 1 侧股骨,冲洗骨髓腔,收集骨髓细胞制成悬液,用台盼蓝鉴定细胞活性在 95% 以上,对骨髓有核细胞进行计数。

### 1.5 统计学方法

所有数据结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组数据间的比较采用  $t$  检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DHEA 对 IRM-1 荷瘤鼠肺腺癌的抑制作用

DHEA 对 IRM-1 荷瘤鼠肺腺癌的抑制作用结果见表 1。DHEA 低、中、高剂量组对肺腺癌的生长均有抑制作用,抑瘤率分别为 38.05%、49.33% 和 48.18%,与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=3.417, 4.929$  和  $4.889$ ,  $P$  均  $<0.01$ )。DHEA 低、中、高剂量联合照射组对肺腺癌的抑瘤率分别为

56.98%、64.44%和 62.72%，与对照组比较差异有统计学意义( $t=5.475, 5.770$  和  $6.165, P$  均  $<0.01$ )，DHEA 低、中、高剂量联合照射组与单照射组比较差异有统计学意义( $t=3.892, 4.309$  和  $4.620, P$  均  $<0.01$ )。DHEA联合照射组比单照射组和单纯DHEA 组的抑瘤效果更好。

### 2.2 DHEA 对 IRM-2 荷瘤鼠肺腺癌的抑制作用

DHEA 对 IRM-2 荷瘤鼠肺腺癌的抑制作用见表 2，DHEA 低、中、高剂量组对肺腺癌的生长均有抑制作用，抑瘤率分别为 42.73%、70.91%和 67.73%，其中，DHEA 中、高剂量组与对照组比较差异有统计学意义( $t=3.239$  和  $3.062, P$  均  $<0.01$ )，但低剂量组与对照组比较差异无统计学意义( $t=1.931, P>0.05$ )。DHEA 低、中、高剂量联合照射组对肺腺癌的抑瘤率分别为 63.63%、75.00%和 68.64%，与对照组比较差异有统计学意义( $t=2.834, 3.426$  和  $3.156, P$  分别为  $<0.05, <0.01$  和  $<0.01$ )，DHEA 低、中、高剂量联合照射组与单照射组比较差异有统计学意义 ( $t=2.632, 4.250$  和  $3.690, P$  分别为  $<0.05, <0.01$  和  $<0.01$ )。

### 2.3 DHEA 对 IRM-1 荷瘤鼠免疫器官及造血功能的影响

DHEA 低、中、高剂量组小鼠的胸腺指数、脾脏指数及骨髓有核细胞数与对照组比较有所提高(表 3)，其中，DHEA 低、中、高剂量组的骨髓有核细胞数与对照组比较差异有统计学意义( $t=4.231, 6.312$  和  $4.776, P$  均  $<0.01$ )，中、高剂量组脾脏指数与对照组比较差异有统计学意义( $t=5.508$  和  $3.178, P$  均  $<0.01$ )。DHEA 低、中剂量组胸腺指数与对照组比较差异有统计学意义( $t=3.467$  和  $5.345, P$  均  $<0.01$ )。

### 2.4 DHEA 对 IRM-2 荷瘤鼠免疫器官及造血功能的影响

DHEA 低、中剂量组小鼠骨髓有核细胞数与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=2.608$  和  $2.938, P$  分别为  $<0.05$  和  $<0.01$ )，DHEA 低、中、高剂量组小鼠的胸腺指数与对照组比较差异有统计学意义 ( $t=3.378, 2.482$  和  $3.987, P$  分别为  $<0.01, <0.05$  和  $<0.01$ )。DHEA 低、中、高剂量组小鼠的脾脏指数均高于对照组，但差异均无统计学意义( $t=2.228, 0.638$  和  $0.354, P$  均  $>0.05$ )(表 4)。

表 1 DHEA 联合  $\gamma$  射线照射对 IRM-1 小鼠肺腺癌的抑制作用

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	22.57 $\pm$ 1.28	27.13 $\pm$ 1.25	0.523 $\pm$ 0.159	0
低剂量 DHEA 组	10	22.78 $\pm$ 1.11	27.25 $\pm$ 1.47	0.324 $\pm$ 0.093	38.05
中剂量 DHEA 组	10	23.15 $\pm$ 1.26	28.15 $\pm$ 2.23	0.265 $\pm$ 0.046	49.33
高剂量 DHEA 组	10	22.52 $\pm$ 1.66	27.92 $\pm$ 2.14	0.271 $\pm$ 0.036	48.18
单照射组	10	23.27 $\pm$ 1.18	26.22 $\pm$ 2.25	0.420 $\pm$ 0.144	19.69
低剂量 DHEA 联合照射组	10	23.18 $\pm$ 1.41	25.58 $\pm$ 1.25	0.225 $\pm$ 0.066	56.98
中剂量 DHEA 联合照射组	10	22.28 $\pm$ 1.64	26.12 $\pm$ 1.34	0.186 $\pm$ 0.094	64.44
高剂量 DHEA 联合照射组	10	23.13 $\pm$ 1.20	26.13 $\pm$ 2.12	0.195 $\pm$ 0.055	62.72

注：表中，DHEA：17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯。

表 2 DHEA 联合  $\gamma$  射线照射对 IRM-2 小鼠肺腺癌的抑制作用

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	23.57 $\pm$ 1.18	27.73 $\pm$ 2.25	0.220 $\pm$ 0.151	0
低剂量 DHEA 组	10	23.78 $\pm$ 1.11	26.85 $\pm$ 1.77	0.126 $\pm$ 0.030	42.73
中剂量 DHEA 组	10	23.85 $\pm$ 1.26	27.50 $\pm$ 2.89	0.064 $\pm$ 0.020	70.91
高剂量 DHEA 组	10	23.42 $\pm$ 1.66	27.22 $\pm$ 2.54	0.071 $\pm$ 0.035	67.73
单照射组	10	23.58 $\pm$ 1.41	25.28 $\pm$ 1.95	0.140 $\pm$ 0.060	36.36
低剂量 DHEA 联合照射组	10	23.78 $\pm$ 1.64	26.02 $\pm$ 1.64	0.080 $\pm$ 0.040	63.63
中剂量 DHEA 联合照射组	10	23.58 $\pm$ 1.90	25.38 $\pm$ 2.42	0.055 $\pm$ 0.020	75.00
高剂量 DHEA 联合照射组	10	23.62 $\pm$ 1.92	25.36 $\pm$ 0.91	0.069 $\pm$ 0.010	68.64

注：表中，DHEA：17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯。

表3 DHEA对IRM-1荷瘤鼠免疫器官及造血功能的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	动物数	胸腺指数(mg/g)	脾脏指数(mg/g)	骨髓有核细胞数[( $\times 10^6$ )/股骨]
对照组	10	1.58 $\pm$ 0.18	10.62 $\pm$ 0.96	12.35 $\pm$ 1.22
低剂量DHEA组	10	1.83 $\pm$ 0.14	11.24 $\pm$ 0.64	15.53 $\pm$ 2.04
中剂量DHEA组	10	2.51 $\pm$ 0.52	13.19 $\pm$ 1.12	16.84 $\pm$ 1.89
高剂量DHEA组	10	1.73 $\pm$ 0.23	12.18 $\pm$ 1.22	16.11 $\pm$ 2.17

注:表中,DHEA:17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯。

表4 DHEA对IRM-2荷瘤鼠免疫器官及造血功能的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	动物数	胸腺指数(mg/g)	脾脏指数(mg/g)	骨髓有核细胞数[( $\times 10^6$ )/股骨]
对照组	10	1.38 $\pm$ 0.18	7.62 $\pm$ 1.46	14.35 $\pm$ 3.22
低剂量DHEA组	10	1.81 $\pm$ 0.36	8.74 $\pm$ 0.63	17.52 $\pm$ 2.10
中剂量DHEA组	10	1.71 $\pm$ 0.38	7.94 $\pm$ 0.62	17.84 $\pm$ 1.89
高剂量DHEA组	10	1.71 $\pm$ 0.19	7.85 $\pm$ 1.45	17.12 $\pm$ 3.74

注:表中,DHEA:17 $\alpha$ -D-高炔雌二醇-3-乙酯。

### 3 讨论

本研究选用近交系IRM-1和IRM-2小鼠,采用相同的实验方法、用药剂量和照射条件,得出DHEA在不同剂量下对两种品系小鼠的抑瘤率趋势是相同的,但由于动物的品系不同,其生理、病理特点及对不同剂量DHEA刺激的反应也不尽相同。本研究结果显示,IRM-1小鼠比IRM-2小鼠对肺腺癌瘤株更敏感,因此其瘤重大于IRM-2小鼠,原因可能是IRM-2小鼠具有辐射抗性的特点,因此,在抗肿瘤药物筛选以及肿瘤放疗的实验中,IRM-2小鼠均能满足实验研究所要求的条件和观察时间,是较理想的动物模型。

免疫系统是机体发病、抗肿瘤反应中最主要的防御系统,肿瘤的发生、发展与机体的免疫功能密切相关,低剂量照射可激活这一系统。对已有的临床资料的观察证实,低剂量照射可增强肿瘤局部照射的抑瘤效果<sup>[4-6]</sup>。本研究的结果表明:DHEA联合 $\gamma$ 射线照射的抑瘤率比单纯给予DHEA的抑瘤率有所提高,对肿瘤的抑制能力加强,说明DHEA联合 $\gamma$ 射线照射能提高疗效。机体的免疫功能状态是影响肿瘤治疗转归的重要因素。胸腺为中枢淋巴器官,是T细胞分化和成熟的场所,是机体抗肿瘤免疫的主要器官,因此,胸腺和脾脏指数在一定程度上反

映了机体免疫功能的强弱。造血功能的恢复是辐射预后的关键因素<sup>[7]</sup>。本研究中,DHEA能提高免疫器官胸腺和脾脏的脏器指数及骨髓有核细胞的数量,说明其有促进荷瘤小鼠机体恢复、改善荷瘤小鼠免疫功能的作用,同时也有改善造血功能的作用。

### 参 考 文 献

- [1] 封丽,王林超,侯殿俊,等.低剂量预照射对荷瘤大鼠抗瘤效果的研究.中华放射医学与防护杂志,2007,27(6):543-545.
- [2] 王月英,王汝勤,赵忠萍.E838对小鼠辐射防护作用的研究.中华放射医学与防护杂志,2005,24(1):39-40.
- [3] 中华人民共和国卫生部药政局.新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学、毒理学).1993.
- [4] Takai Y, Ogawa Y, Yamada S, et al. Two-color analysis of peripheral blood lymphocytes in patients with malignant tumours after low dose half (or total) body irradiation—a pilot study. Nihon Gan Chiryō Gakkai Shi, 1989, 24(6): 1288-1295.
- [5] 李涛,郎锦义,卢铀,等.低剂量分次照射脾脏对食管癌放疗患者细胞免疫功能的影响.临床肿瘤学杂志,2003,8(3):173-175.
- [6] 李德锐,许少彦,陈世坚,等.鼻咽癌患者脾区低剂量照射对外周血T-淋巴细胞亚群的影响.汕头大学医学院学报,2000,13(1):23-25.
- [7] 徐文清,高文远,沈秀,等.银耳多糖注射剂保护辐射损伤小鼠造血功能的研究.国际放射医学核医学杂志,2006,30(2):114-116.

(收稿日期:2012-01-19)