

COX-2 选择性抑制剂 Celecoxib 治疗胶质瘤的体内实验研究

杨武双¹, 刘金凤², 杨德林³, 岳武¹

The Effect of a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor Celecoxib on C6 Glioma in Vivo

YANG Wu-shuang¹, LIU Jin-feng², YANG De-lin³, YUE Wu¹

1. Department of Neurosurgery, The 1st Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China; 2. The 8th Hospital of Harbin; 3. The Pudong New District People Hospital of Shanghai

Abstract: **Objective** To investigate celecoxib's function of suppressing the growth of C6 glioma and inducing apoptosis in vivo. **Methods** C6 glioma mice were divided into control and celecoxib group, used HE staining, curve of tumor volume, PGE₂ and electron microscope to observe the effect of celecoxib on C6 glioma. **Results** HE staining and electron microscopy showed vascular injury, cell necrosis and apoptosis in celecoxib group, PGE₂ and tumor volume between two groups through t-test had a statistical meaning, $P < 0.05$. **Conclusion** Celecoxib can inhibit COX-2, decrease synthesis of PGE₂, there was a inhibition of proliferation on C6 glioma by celecoxib.

Key words: Celecoxib; Glioma; Inhibitory

摘要: **目的** 探讨选择性环氧酶-2 抑制剂 Celecoxib (塞来昔布) 对 C6 胶质瘤生长抑制的体内实验研究。 **方法** 将成瘤小鼠分为对照组和治疗组, 应用肿瘤 HE 染色法、肿瘤生长曲线、前列腺素 E₂ (PGE₂) 检测及电镜检查方法观察 Celecoxib 对小鼠移植瘤的作用。 **结果** HE 染色和电镜可见治疗组血管破坏、细胞坏死和凋亡, PGE₂ 检测及肿瘤生长曲线分析有统计学意义, $P < 0.05$ 。 **结论** Celecoxib 能够抑制 COX-2 活性, 降低 PGE₂ 合成, Celecoxib 对 C6 胶质瘤生长具有抑制作用, 对胶质瘤的治疗有重要意义。

关键词: 塞来昔布; 胶质瘤; 抑制作用

中图分类号: R730.264 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)02-0067-03

0 引言

近年来, 很多研究显示环氧酶-2 (COX-2) 与胶质瘤密切相关, Celecoxib 属非甾体类抗炎药 (NSAIDs), 是 COX-2 的选择抑制剂, 对于胶质瘤作用方面的研究未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 大鼠 C6 胶质瘤细胞系购于中国科学院上海细胞库。

1.1.2 小鼠 昆明种雄性小鼠, 体重 18~24 克, 哈尔滨医科大学附属第一医院动物中心提供并饲养。

1.1.3 主要试剂及仪器 RPMI1640 培养基购于 Gibco 公司, 小牛血清购自哈尔滨兽医研究所, Celecoxib 为美国西尔制药公司分装, 透射电子显微镜 1220 型 (日本), 碘标 PGE₂ 检测试剂盒。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 C6 胶质瘤细胞常规培养于含 10% 灭活小牛血清的 RPMI1640 培养液中, 加青霉素 100 IU/ml, 链霉素 100 μg/ml, 置 37°C, 5% CO₂ 孵箱内培养。

1.2.2 小鼠移植瘤 取对数生长期的 C6 胶质瘤细胞腋前皮下接种 10⁶/0.2 ml, 待肿瘤直径长至 10 mm 后, 随机分成 2 组, 每组 10 只, 治疗组给予 Celecoxib 20 mg/kg 每日 1 次灌胃, 对照组予以生理盐水溶液, 共计 10 天。

1.2.3 HE 染色 切取标本后 10% 甲醛固定, 常规 HE 染色。

1.2.4 PGE₂ 测定 按照试剂盒要求由哈尔滨医科大学附属第一医院放射检测中心完成, 每组 4 例。

1.2.5 绘制肿瘤生长曲线 用游标卡尺测量肿瘤结节大小, 每周 3 次, 肿瘤体积 $V = [L \times W^2] \times 0.5$, 其中 V 为肿瘤体积, L 为肿瘤长径, W 为肿瘤宽径^[1]。

1.2.6 透射电子显微镜检查 标本用 2.5% 戊二醛固定, 送哈尔滨医科大学电镜中心检查。

收稿日期: 2003-12-29; 修回日期: 2004-03-25

作者单位: 1. 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院临床医院神经外科; 2. 哈尔滨市第八医院; 3. 上海浦东新区人民医院

1.3 统计学处理

所有实验数据取均数 ±标准差,用 *t* 检验法,以 $P < 0.05$ 为差异性显著,以 SASS6.12 软件处理。

2 结果

2.1 HE 染色 对照组细胞呈梭型,核浓染,多见分裂相,肿瘤内血管丰富;治疗组大范围坏死区,呈嗜酸性染色,细胞核呈固缩状态,可见分裂相较对照组少,肿瘤内血管破坏(图略)。

2.2 PGE₂ 的测定 对照组 PGE₂ 含量 (520.12 ± 20.38) pg/ml,治疗组 (431.80 ± 30.25) pg/ml,经 *t* 检验两组有统计学意义, $P < 0.05$ 。

2.3 肿瘤生长曲线 治疗组肿瘤生长明显受到抑制,两组相比有统计学意义, $P < 0.05$,见图 1。

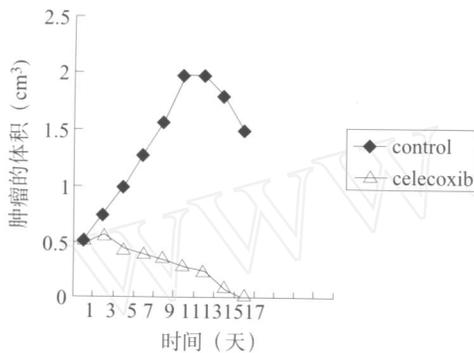


图 1 肿瘤生长曲线

2.4 电镜检查 对照组可见癌巢,肿瘤细胞核大,间质组织清晰;治疗组细胞坏死及凋亡,间质组织消失,见图 2。

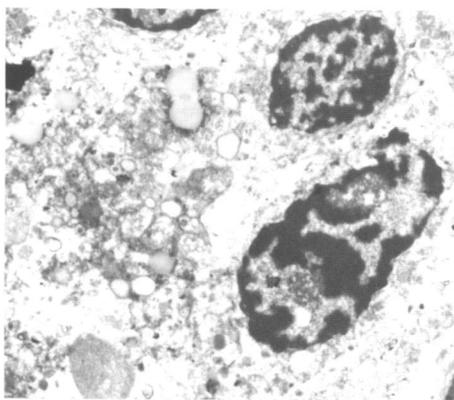


图 2 治疗组电镜 (×8000)

3 讨论

近年来,流行病学发现 NSAIDs 能够预防结肠癌的发生,推测可能和 COX-2 活性被抑制有关,进一步研究发现前列腺素和 COX-2 在肿瘤发展中起重要的作用,很多肿瘤都有 COX-2 表达,并且与分期及预后关系密切^[2]。前列腺素在很多肿瘤中含量

明显高于正常组织,其增加原因是因 COX-2 活性增加及花生四烯酸(乃前列腺素合成的底物)释放增加引起的。脑肿瘤患者血浆前列腺素水平与脑肿瘤的恶性程度有一定关系^[3],Loh 等^[4]发现脑肿瘤患者血浆中 PGE₂ 水平手术前明显高于肿瘤切除后,二者有显著性差异,无论是恶性、良性脑肿瘤 PGE₂ 水平在肿瘤切除后明显降低。所以抑制前列腺素合成,能够破坏肿瘤的新生血管和其对肿瘤的保护作用。本实验中治疗组 PGE₂ 水平明显低于对照组,具有统计学意义,说明了 COX-2 活性受到了抑制, PGE₂ 合成受到抑制,这也许是 Celecoxib 治疗肿瘤的机制之一。

Celecoxib 是 COX-2 选择性抑制剂,1999 年经美国 FDA 批准上市的最新 NASIDs,其在肿瘤治疗方面的研究还不多,Harris 等^[5]首次发现 Celecoxib 对乳腺癌发生具有较强的化学预防作用,而在胶质瘤方面的应用国内外未见报道。胶质瘤 COX-2 呈阳性表达,Joki 等^[6]用免疫组织化学方法研究了 50 例神经胶质瘤和 3 例正常标本中 COX-2 蛋白表达,不论组织学恶性程度高低,在所有正常大脑和神经胶质瘤标本中均观察到 COX-2 蛋白表达,与低度恶性神经胶质瘤和正常大脑标本相比,高度恶性神经胶质瘤的阳性率明显增加。Shonn 等^[7]分析了 66 例胶质瘤发现随着胶质瘤分级的增高,COX-2 阳性表达增加,并且与预后关系密切。

在实验中发现,HE 染色及电镜检查发现治疗组细胞出现大片坏死,血管破坏、闭塞及减少,Celecoxib 对 C6 胶质瘤的治疗效果非常显著,在用药过程中肿瘤体积就开始逐渐缩小,当用药结束后肿瘤体积不易触及,并且未见副作用;对照组肿瘤生长非常快,在第 11 天时达最大体积。治疗组与对照组相比有统计学意义, $P < 0.05$ 。

NSAIDs 治疗肿瘤的机理还不清楚,Masferrer 等^[8]证明 COX-2 衍生的前列腺素通过诱导可维持肿瘤细胞活性和生长及新血管形成,引起肿瘤生长,而且应用 Celecoxib 可以抑制角膜血管形成。从 HE 染色的组织病理切片上可以看出对照组的血管非常丰富,而治疗组的血管很少,并且有破坏。因此可以肯定的是抑制 COX-2 活性和破坏血管生长是其治疗肿瘤的重要机制。NASIDs 诱导凋亡的确切机制还不十分清楚,可能的机理是(1)选择性环氧化酶-2 抑制剂抑制了 COX-2 活性,减少了 PGE₂ 合成;(2)直接诱导细胞凋亡,具体途径不清楚;(3)肿瘤组织血管破坏。

Celecoxib 与其他 NSAIDs 相比,具有副作用小的优点,服用方便,有广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] Sheng H, Shao J, Kirkland SC, et al. Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2 [J]. *J Clin Invest*, 1997, 99(9): 2254-2259.
- [2] 王中华, 徐兵河. 环氧酶-2 与肿瘤关系的研究进展[J]. *国外医学肿瘤学分册*, 2003, 30(8): 252-255.
- [3] 陈卫国, 李自成, 袁先厚. 脑肿瘤患者血浆前列环素和血栓素 A₂ 水平的探讨[J]. *中国肿瘤临床*, 1992, 19(6): 425-427.
- [4] Loh J K, Hwang SL, Lieu AS, et al. The alteration of prostaglandin E₂ levels in patients with brain tumors before and after tumor removal[J]. *J Neurooncol*, 2002, 57(2): 147-150.
- [5] Harris RE, Alshafie GA, Seibert K. Chemoprevention of breast cancer in rats by celecoxib, a cyclooxygenase 2 inhibitor [J]. *Cancer Research*, 2000, 60(8): 2101-2103.
- [6] Joki T, Heese O, Black PM. Expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) in human glioma and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398 [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4926-4931.
- [7] Shonn T, Philip J, Tofilon JM, et al. Cyclooxygenase-2 expression in human gliomas [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(1): 4375-4381.
- [8] Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(5): 1306-1311.

[编辑: 贺文; 校对: 刘红武]

www.cnki.net