

· 药理学 ·

他莫昔酚对耐药细胞系 K562/DOX 多药耐药逆转作用的研究

梁延春, 王秀丽(解放军第 150 医院, 洛阳 471031)

摘要:目的:寻找有效的多药耐药逆转剂。方法:以他莫昔酚作为耐药逆转剂,用[溴化-3(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基四唑氮]MTT 法体外药物敏感试验,观察他莫昔酚对多药耐药白血病细胞株 K562/DOX 的药物敏感性的影响。结果:他莫昔酚可增强阿霉素(DOX)对 K562/DOX 的细胞毒作用,对 K562 细胞无影响。结论:他莫昔酚是一种有效的多药耐药逆转剂。

关键词:他莫昔酚;药物耐受性;耐药逆转剂

中图分类号:R979.1*9

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2001)05-0264-02

Study on the reversing effect of tamoxifen on multidrug resistant cell line K562/DOX

LIANG Yan-chun, WANG Xiu-li(The 150th Hospital of PLA, Luoyang 471031, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE:To develop effect of tamoxifen on resistance modulators. **METHODS:**The effects of tamoxifen on drug sensitivity in multidrug resistant human leukemic cell line K562/DOX were studied by MTT colorimetric assay. **RESULTS:**Tamoxifen enhanced the cytotoxicity of doxorubicin (DOX) to K562/DOX and had no effect on efflux of DOX in K562 cells. **CONCLUSION:**Tamoxifen is an effective reversal agent of multidrug resistance.

KEY WORDS:tamoxifen; drug tolerance; effective reversal agent

白血病细胞对化疗药物产生耐受性,耐药性是导致化疗最终失败的主要原因。研究表明,阿霉素与许多抗肿瘤药存在交叉耐药性,本实验以阿霉素作为用药对象,在体外建立了白血病 K562 细胞耐药系。他莫昔酚作为一种抗肿瘤药,现在又被作为耐药逆转剂加以研究,本文重点观察了他莫昔酚在非细胞毒作用浓度下对 K562/DOX 耐药细胞的逆转作用。

1 材料和方法

1.1 细胞株培养

K562 细胞由解放军第 307 医院临床药理科提供,应用多步骤逐渐增大体外培养液中 DOX 浓度的办法建立对 DOX 耐药的细胞株^[1]。以白血病 K562 细胞为亲本细胞,逐渐增加体外培养液中 DOX 的浓度,7~10d 为 1 周期,经过约 6mo 的筛选,分别得到一系列对 DOX 耐受程度不等的 K562/DOX 耐药细胞。

1.2 药物

他莫昔酚(tamoxifen, Tam, Sigma)难溶于水,以二甲基亚砷溶解后制备为母液,浓度为 20mmol/L;

阿霉素(DOX,中国浙江海门制药厂)。

1.3 细胞与药物相互作用

1.3.1 测定方法 按设计要求将药物稀释为不同浓度。将细胞悬液(1.5×10^4 /ml)180 μ l,加入 96 孔板中,37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养 1d 后,添加药物至 200 μ l,一式 3 份,37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养 3d 后进行 MTT 测定,测定方法详见文献^[2]。

1.3.2 K562/DOX 对 DOX 的耐药性测定 用 MTT 法测定 K562/DOX 对 DOX 的耐药性。对 K562 细胞,DOX 最终浓度为 0,0.005,0.05,0.25,0.5 μ g/ml。对 K562/DOX 细胞,DOX 最终浓度为 0,0.1,0.5,1,2,10 μ g/ml。

1.3.3 他莫昔酚对 K562 和 K562/DOX 毒性 在无 DOX 存在条件下,用 MTT 法测定他莫昔酚对 K562, K562/DOX 细胞毒性。用生理盐水将他莫昔酚母液分别稀释为 12.5,25,50,100,200 μ mol/L 后加入 96 空板,最终浓度为 1.25,2.5,5,10,20 μ mol/L。二甲亚砷最高浓度为 0.1%。

1.3.4 他莫昔酚对 K562/DOX 的耐药逆转 他莫昔酚与 DOX 同时作用于 K562, K562/DOX 细胞,观

察他莫昔酚对 K562/DOX 的耐药逆转。对 K562 细胞, DOX 最终浓度为 0, 0.005, 0.05, 0.25, 0.5 μg/ml。对 K562/DOX 细胞, DOX 最终浓度为 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 10 μg/ml。

2 结果

2.1 K562/DOX 细胞对 DOX 的耐药性

人白血病 K562 细胞易产生对 DOX 的耐药性, 通过本实验筛选, DOX 对获得的 K562 细胞半数致死量为 7.125×10^{-1} μg/ml, 而对敏感细胞的半数致死量为 3.25×10^{-2} μg/ml, 耐药倍数为 22 倍。

2.2 他莫昔酚对 K562 和 K562/DOX 细胞毒性

他莫昔酚作为一种抗肿瘤药, 其本身对 K562, K562/DOX 均有毒性。实验结果表明他莫昔酚对 K562 细胞的半数致死量为 4.47 μmol/L, 对 K562/DOX 细胞的半数致死量为 4.375 μmol/L。

2.3 他莫昔酚对 K562 和 K562/DOX 细胞耐药性逆转

Tam 1.25; 2.5 μmol/L 浓度能增强 DOX 对 K562/DOX 的细胞毒性作用, 而不增强 DOX 对敏感细胞株 K562 的细胞毒作用(见表 1)。

表 1 Tam 与 DOX 对 K562/DOX、K562 细胞的细胞毒作用

Tam (μmol/L)	K562		K562	
	DOX IC ₅₀ (μg/ml)	SR*	DOX IC ₅₀ (μg/ml)	SR*
0	3.25×10^{-2}	1.0	7.125×10^{-1}	1.0
1.25	2.8×10^{-2}	1.16	9.5×10^{-2}	7.5
2.5	2.9×10^{-2}	1.12	3.2×10^{-2}	22.6
5	2.6×10^{-4}	125	3.5×10^{-3}	203
10	3.4×10^{-6}	9558	1.1×10^{-5}	6477

* SR (sensitivity ratio) 指敏感比率

3 讨论

寻找逆转肿瘤细胞多药抗性的途径是当今肿瘤化疗研究领域的一个热点。白血病细胞易产生耐药性。K562/DOX 为 Mdr⁻¹ 基因表达增高的多药耐药细胞株。

我们研究发现, 当 Tam 浓度为 1.25; 2.5 μmol/L 时, 单独应用 Tam 对细胞无明显抑制作用, 细胞存活率均大于 90%, 差异无统计学意义。但与 DOX 联合应用时, Tam 能显著性增强 DOX 对 K562/DOX 耐药细胞毒性, 而对敏感细胞 K562 毒性增加不明显, 证实 Tam 1.25; 2.5 μmol/L 是适用于临床的有效化疗增敏剂量。Tam 作为一种抗肿瘤药, 其本身具有一定毒性。本实验结果表明, Tam 对 K562, K562/DOX 的 IC₅₀ 分别为 4.47 μmol/L 及 4.375 μmol/L, 当 Tam ≥ 5 μmol/L, 与 DOX 联合应用时, K562, K562/DOX 细胞对 DOX 的敏感性均成百倍增加。显示此时 Tam 已表现出了过强的细胞毒作用。

对于化学增敏剂的作用机制, 许多研究分析认为是化疗增敏剂或逆转剂直接与 P 糖蛋白 (p-gp) 结合, 竞争性抑制细胞膜表面 ATP 依赖性药物泵, 从而提高耐药细胞内药物浓度。为了探讨 Tam 作为耐药逆转剂的作用机制, 我们拟开展 Tam 对 K562/DOX 细胞药物积聚和外排的影响的研究, 以期发现 Tam 的某些作用机制, 为临床应用打下基础。

参考文献

- [1] Chu E, Drake JC, Koeller DM. Induction of thymidylate synthase associated with multidrug resistance in human breast and colon cancer cell lines[J]. Mol Pharmacol, 1991, 39: 136.
- [2] 王楠, 汤仲明. MTT 法测定培养细胞抗药水平的评价[J]. 中国药理学通报, 1996, 12(5): 421.

收稿日期: 2000-11-20

欢迎订阅《中国药房》杂志

《中国药房》杂志是由国家卫生部主管、卫生部医政司和重庆市卫生局主办的国家级科技期刊。

本刊创刊于 1990 年 1 月, 系“中国科技论文统计源期刊”、“中国学术期刊综合评价数据库来源期刊”。

本刊面向全国各级各类医院药房(药剂科)、社会药房(店), 药品研制、生产、经营、临床应用及监督管理部门, 以沟通药品研制、生产、经营、临床应用及监督管理间的桥梁及纽带为己任。特别是侧重技术, 兼顾管理。读者对象主要为从事医院药房(药剂科)、社会药房(店)工作的各级各类人员, 药品研制、生产、经营、临床应用及监督管理人员。本刊每期内容分为医院药房和社会药房两大专栏。其中, 医院药房专栏下设: 药业专论、市场透视、实验研究、药房管理、医院制剂、微机应用、药物经济学、用药分析、临床药学、药物与临床、合理用药、药品监督、药品检验、不良反应监察、综述讲座、国外药讯、药师之友、中药房之窗等栏目; 社会药房专栏下设: OTC 在线、OTC 指南、OTC 讲座、药房大观等栏目。

《中国药房》杂志为月刊, 大 16 开 64 页, CN50-1055/R, ISSN 1001-0408, 印刷精美, 每期定价 6.20 元, 全年 74.40 元。国内邮发代号: 78-33 国外代号: 4703BM

编辑部地址: 重庆市大坪正街 129 号四环大厦 8 层 联系电话: (023) 68586827, 68586727 邮政编码: 400042

E-mail: info@china-pharmacy.com.cn