

## 脂肪乳剂对肿瘤细胞抑制作用的体外观察

贡东卫<sup>1</sup> 叶古祥<sup>1</sup> 孙国娣<sup>2</sup> 潘芳芳<sup>2</sup> 范珍妮<sup>2</sup> 赵宜宝<sup>2</sup>

**摘要:**目的 体外测定化疗药物和脂肪乳剂对肿瘤细胞的抑制作用,为化疗期间同时使用脂肪乳剂作营养支持提供依据。方法 本研究应用胃癌细胞株与阿霉素和脂肪乳剂单独或共同培养不同天数,用噻唑兰(MTT)法,体外测定化疗药物和脂肪乳剂对胃癌细胞株增殖的抑制作用。结果 本研究结果表明:抗癌药与癌细胞培养时间愈长,抑制率显著增加;不同浓度脂肪乳剂对癌细胞均有极轻微的抑制作用,但数天后就无抑制作用;不同浓度脂肪乳剂与抗癌药联合使用,均不影响抗癌药抑制癌细胞的作用。结论 化疗期间脂肪乳剂和抗癌药联合使用,并不影响抗癌药抑制癌细胞的增殖作用,本体外观察的初步结果可为化疗期间同时使用脂肪乳剂作营养支持提供了依据。

**关键词:** 脂肪乳剂; 肿瘤细胞; 化疗; 噻唑兰法

**Observation of the inhibitive effects on tumor cells by fat emulsion in vitro** GONG Dongwei, YE Guxiang, SUN Guodi, et al. (Department of General Surgery, The Central Hospital of Yangpu District, Shanghai 200090)

**Abstract: Objective** To investigate the inhibitive effects on tumor cells by fat emulsion in vitro. **Methods** The effects of combined use of chemotherapeutic drugs and fat emulsion on gastric carcinoma cells were studied with MTT assay method. **Results** The results indicated: (1) the inhibitive rate on tumor cells by chemotherapeutic drugs was obviously enhanced with prolongation of culture time, (2) a mild inhibition on the proliferation of tumor cells in culture was observed when treated with fat emulsion alone and the combined use of anti-tumor drugs and different concentrations of fat emulsion did not affect the anti-tumor activity of drugs. **Conclusion** Fat emulsion does not intervene the anti-tumor activity of chemotherapeutic drugs on the proliferation of gastric carcinoma cells, therefore fat emulsion can be used as nutrition supply in patients during chemotherapy.

**Key words:** Fat emulsion; Tumor cells; Chemotherapy; MTT

恶性肿瘤患者约50%以上存在营养不良,因此,在化疗期间努力营养支持可以改善肿瘤患者的营养状况,增强机体免疫功能,但不适当的营养支持会促进肿瘤细胞增殖。本研究应用噻唑兰(MTT)法,体外测定化疗药物和脂肪乳剂对肿瘤细胞的抑制作用,为化疗期间使用脂肪乳剂作营养支持提供依据。

### 材料与方法

一、材料 1. 用RPMI1640培养基将SGC7901胃癌细胞株(中国科学院上海细胞研究所提供)稀释至 $40 \times 10^4$ /ml浓度。

2. 取96孔板,每块板除3个空白对照孔以外,每孔加入200 $\mu$ l稀释好的细胞,37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>孵箱培养24h。离心10min(1000r/min),弃上清液。

3. 取新配制的培养基,将阿霉素(ADM)制备成0.4 $\mu$ g/ml终浓度的抗癌药物溶液。将2%脂肪乳剂(FE)(华瑞公司生产的2% Intralipid)稀释成系列浓度的营养液,FE的系列终浓度分别为0.2%、0.1%、0.05%、0.025%、0.0125%和0.00625% 6种。分成阿霉素(ADM)、脂肪乳剂(FE)、阿霉素+脂肪乳剂(ADM+FE)3组,FE和ADM+FE组根据脂肪乳剂浓度又分为6个亚组,按组向各孔加入相应药物,药物总体积为100 $\mu$ l,再加100 $\mu$ l 1640培养基,培养2天,4天和6天。

4. 向培养2天的96孔板的每孔中加入10mg/ml的MTT 20 $\mu$ l,在同样条件下保温4h。

5. 取出后离心(2000r/min)10min,弃上清,每孔加入200 $\mu$ l三联试剂,37 $^{\circ}$ C保温过夜。在540nm下测OD值。

6. 按下式计算抑制率:抑制率=[1-(加药组OD值-不加细胞组OD值)/不加药物对照组OD值]×100%。

作者单位:1. 上海杨浦区中心医院外科(上海200090)

2. 外科实验室

7. 培养 4 天和 6 天的 96 孔板取出后离心 (2000r/min) 10min, 弃上清, 按原方案加入新鲜制备的相应药物和培养基, 培养 2 天。然后培养 4 天的 96 孔板按步骤 4~6 操作。

8. 培养 6 天的 96 孔板继续孵箱培养 2 天后取出离心 (2000r/min) 10min, 弃上清, 按原方案加入新鲜制备的相应药物和培养基, 继续孵箱培养 2 天。然后按步骤 4~6 操作。

9. 实验数据采用方差分析。

### 结 果

各组不同培养天数的抑制率见附表。经统计分析显示, ADM 组和 ADM+ FE 组两组不同时间 (2、4 和 6 天) 抑制率差异高度显著 ( $P < 0.01$ ), 提示抗癌药与癌细胞培养时间愈长, 抑制率显著增加。

FE 组 2 天和 4 天的抑制率差异无显著性 ( $P > 0.05$ ), 但 FE 组 2 天和 4 天的抑制率均与 6 天的差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 提示 FE 对癌细胞有轻微的抑制作用, 数天后就无抑制作用。

无论癌细胞与抗癌药培养 2、4 和 6 天, ADM 和 ADM+ FE 组均与 FE 组有高度显著的差异 ( $P < 0.01$ ), 而 ADM 和 ADM+ FE 组两者之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 提示 FE 与抗癌药联合使用, 并不影响抗癌药抑制癌细胞的作用。

虽然 FE 和 ADM+ FE 组内 6 个亚组的 FE 浓度不同, 但它们对癌细胞的抑制作用相互之间均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

附表 各组不同培养天数的抑制率

组 别	培 养 天 数		
	2 天	4 天	6 天
ADM	41.12 ± 2.14	65.78 ± 0.91	75.3 ± 2.53
FE	15.11 ± 10.57	14.98 ± 11.74	0.5 ± 1.22
ADM+ FE	41.92 ± 10.31	61.12 ± 4.88	71.83 ± 2.93

### 讨 论

在化疗期间, 应用营养支持改善化疗患者的营

养不良, 减轻毒性反应, 提高患者对化疗的敏感性和生存率已得到广泛关注<sup>[1]</sup>。然而, 对恶性肿瘤患者营养支持的主要顾虑, 在于各种营养措施和营养物质对肿瘤生长具有刺激作用。应用脂肪乳剂似可无此顾虑, 因为恶性肿瘤组织不能如正常组织那样氧化脂肪而提供能量; 甘油三酯中的长链多不饱和脂肪酸可通过改变恶性肿瘤细胞的膜流动性提高对治疗的敏感性; 甘油三酯通过对自由基和脂质过氧化增强作用直接杀伤肿瘤细胞;  $\omega-3$  长链多不饱和脂肪酸还可通过调节前列腺素产量来调节免疫过程抑制肿瘤或者直接抑制肿瘤增殖<sup>[2]</sup>。因此本研究选用脂肪乳剂作为营养支持, 观察化疗期间脂肪乳剂对肿瘤细胞抑制作用的影响。

本研究结果提示 FE 与抗癌药联合使用, 并不影响抗癌药抑制癌细胞的作用, 且抗癌药抑制癌细胞的作用亦不受 FE 浓度的影响。因此, 若在化疗同时给予恶性肿瘤患者脂肪乳剂, 则可改善宿主的营养而不刺激肿瘤的生长。

体外测定肿瘤细胞对化疗药物敏感性的方法很多, 本研究采用 MTT 法<sup>[3,4]</sup> 观察化疗期间脂肪乳剂对肿瘤细胞抑制作用的影响。然而本研究毕竟是体外试验, 在体内癌细胞增殖与宿主的代谢、与体内的药物相互作用是非常复杂的, 受到多种因素的调控, 所以化疗期间的营养支持还有待进一步研究。

### 参 考 文 献

[1] Samlowski WE, Wiebke G, McMurry M, et al. Effects of total parental nutrition (TPN) during high-dose interleukin-2 treatment for metastatic cancer[J]. J Immunother, 1998, 21(1): 65

[2] 张栋林, 王文治. 脂肪在恶性肿瘤治疗中的作用[J]. 中国临床营养杂志, 1995, 3(2): 69

[3] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. Immunol Methods, 1983, 65(1-2): 55

[4] 曾庆华, 吕新生, 汤辉焕. MTT 测定恶性肿瘤细胞对化疗药物的敏感性[J]. 中国普通外科杂志, 2000, 9(6): 552

(收稿日期: 2001-06-27 修回日期: 2001-10-06)

作者简介: 贡东卫, 男, 大学本科, 主治医师。

(本文编辑: 严勤华)