

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000399

顺铂联合紫杉醇分次给药抑制卵巢癌细胞 SKOV3 的种群恢复

何 欢, 李雪梅, 成 敏, 令狐华

(重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016)

【摘要】目的:比较顺铂(cisplatin, CDDP)与紫杉醇(paclitaxel, PTX)不同的给药方案对卵巢癌细胞种群恢复的影响。**方法:**(1) CDDP、PTX 或 CDDP 联合 PTX 分别于第 1 天(D1)或 D1 及 D8 处理卵巢癌 SKOV3 细胞;(2)倒置显微镜观察不同处理组中, SKOV3 细胞凋亡与种群恢复的情况;(3)CCK-8 法分别测定不同处理组在 D7 和 D21 时 SKOV3 细胞的吸光度(absorbance, A)值。**结果:**(1)单用 CDDP 组中, 单次给药组与分次给药组相比较, 二者对 SKOV3 细胞的凋亡与种群恢复的影响无明显差异($P=0.970$);(2)单用 PTX 组中, 与单次给药组相比, 分次给药组明显抑制了 SKOV3 细胞的种群恢复($P=0.000$);(3)CDDP 联合 PTX 组中, 分次给药组较单次给药组对 SKOV3 细胞的种群恢复明显抑制($P=0.000$), 并且在分次给药组中, CDDP 联合 PTX 组较单用 PTX 组明显抑制 SKOV3 细胞的种群恢复($P=0.000$)。**结论:**CDDP 联合 PTX 分次给药较单次给药可能通过抑制卵巢癌细胞的种群恢复从而抑制卵巢癌的耐药或复发。

【关键词】顺铂; 紫杉醇; 单次给药; 分次给药; SKOV3

【中图分类号】R711.75

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-04-08

Dose-dense administration of combinative paclitaxel and cisplatin might suppress the repopulation of ovarian cancer cell SKOV3

He Huan, Li Xuemei, Cheng Min, Linghu Hua

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To compare the impact of different dosage regimens of cisplatin(CDDP) or/and paclitaxel(PTX) on the repopulation of ovarian cancer cells. **Methods:** (1) SKOV3 cells were treated with CDDP, PTX or CDDP combined with PTX respectively, each arm treated with fractional dose regimen(the total dosage was dividedly administration on d1 and d8) or single dose regimen (the total dosage was administration on d1); (2) The apoptosis and repopulation of SKOV3 cells were observed under microscope; (3) The cell survival on d7 and d21 in each group was detected by CCK-8 method. **Results:** (1) In CDDP groups, no significant difference was found between the two regimens($P=0.970$); (2) In PTX groups, the repopulation of SKOV3 cells in fractional dose regimen was significantly inhibited compared with that of single dose regimen($P=0.000$); (3) Fractional schedule significantly inhibited the repopulation of SKOV3 cells in CDDP+PTX groups($P=0.000$), and such suppressive efficiency was even more evident in CDDP+PTX group than in PTX monotherapy group($P=0.000$). **Conclusion:** CDDP+PTX with fractional dose regimen might prevent resistance or recurrence of ovarian cancer cells through significantly inhibiting the repopulation of ovarian cancer cells.

【Key words】 cisplatin; paclitaxel; single dose regimen; fractional dose regimen; SKOV3

卵巢癌是妇科肿瘤中致死率最高的恶性肿瘤^[1], 起病隐匿, 进展快, 大多数患者在诊断时已发展为晚期。据调查, 晚期卵巢癌患者的中位无进展生存期为 16~28 个月, 中位总体生存期为 32~57 个月^[2-7]。

目前, 顺铂(cisplatin, CDDP)联合紫杉醇(paclitaxel, PTX)的每 3 周疗法是治疗卵巢癌的一线化疗方案^[8], 尽管初始化疗反应率达 60%~75%, 但多数患者仍会复发, 继而死亡^[9]。有研究指出, 除肿瘤细胞耐药性的产生以外, 种群恢复或者称为肿瘤细胞的再生可能成为癌细胞耐药及卵巢癌复发的重要原因之一^[10]。

由于一定剂量的化疗药物往往只能杀死一定比例的肿瘤细胞, 在细胞毒性制剂治疗过程中或之

作者介绍: 何 欢, Email: hh_hehuan0113@163.com,

研究方向: 妇科肿瘤学。

通信作者: 令狐华, Email: linghu_hua@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81072120)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000399.html>

后,总有一部分肿瘤细胞会幸存下来并继续增殖,这就是种群恢复或称为肿瘤细胞的再生。长期以来,种群恢复被认为是在放疗间期影响肿瘤局部病灶控制的重要因素。放射性治疗通常为每日疗法,平均治疗周期为 5~7 周,而卵巢癌的化疗间期为 3 周,相比之下,种群恢复可能对化疗疗效的影响更大。研究表明,化疗间期肿瘤细胞的种群恢复可导致肿瘤再生,却不会改变肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。然而,种群恢复也是骨髓及其他正常组织在化疗后的恢复过程。因此,在不影响正常组织恢复的情况下,选择性地抑制化疗间期肿瘤细胞的种群恢复,可能为临床提供更佳的治疗方案^[10]。

近年来,为了延长卵巢癌患者生存期,一些研究提出一线化疗药物联合其他药物的治疗方案,但疗效并不理想^[11-13]。另有研究提出 PTX 每周疗法联合卡铂的每 3 周疗法,即 PTX 的剂量密集疗法,可提高卵巢癌患者的无进展生存率和总体生存率^[8]。剂量密集疗法即缩短每次化疗的间期^[14],研究表明,暴露时间是 PTX 细胞毒活性的重要决定因素,适当降低药物浓度并延长暴露时间可充分发挥 PTX 的细胞毒性^[15-16]。然而,由于 PTX 剂量密集疗法中卵巢癌患者的中性粒细胞减少症及Ⅲ~Ⅳ级贫血等副反应发生率较传统化疗方案高^[8],制定一种更安全有效的化疗方案也是很有必要的。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源 实验用 SKOV3 细胞系从重庆医科大学病理教研室获得。

1.1.2 主要试剂及实验器材 用 0.9% NaCl 分别配制 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的 CDDP(齐鲁制药)储存液及 0.06 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的 PTX(太极制药)储存液避光保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。胎牛血清(康源生物);RPMI1640 培养基(Gibco,美国);磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)(武汉博士德);胰酶(Invitrogen,美国);CCK-8 试剂盒(Dojindo,日本);371 型 CO_2 孵育箱(Thermo Forma,美国);CKX41 倒置显微镜(Olympus,日本);全波长酶标仪(Thermo,芬兰)。

1.2 方法

1.2.1 人卵巢癌细胞 SKOV3 的培养 SKOV3 细胞株培养于含 10% 灭活胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,细胞密度达 80%~90%时,用 0.1%胰酶消化传代,培养于 37 $^{\circ}\text{C}$,含 5% CO_2 的恒温孵育箱中。

1.2.2 实验分组 将实验分组为:(1)单用 CDDP 处理组,包括:A.分次给药组:分别于 D1、D8 以 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ CDDP 处理细

胞 1 h 后,换不含药物的普通培养基继续培养;B.单次给药组:仅于 D1 以 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ CDDP 处理细胞 1 h 后^[17-18],换普通培养基继续培养。(2)单用 PTX 处理组,包括:A.分次给药组:分别于 D1、D8 以 50 nmol/L PTX 处理细胞 3 h 后,换普通培养基继续培养;B.单次给药组:仅于 D1 以 100 nmol/L PTX 处理细胞 3 h 后^[17-18],换普通培养基继续培养。(3)CDDP、PTX 联合处理组,包括:A.分次给药组:分别于 D1、D8 以 50 nmol/L PTX 处理细胞 2 h 后,再加入 CDDP 使培养液中的 CDDP 浓度为 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$,共同处理 1 h 后换普通培养基继续培养;B.单次给药组:仅于 D1 以 100 nmol/L PTX 处理细胞 2 h 后,再加入 CDDP 使培养液中 CDDP 浓度为 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$,共同处理 1 h 后换普通培养基继续培养。(4)对照组:仅加入不含药物的培养基。总观察时间为 21 d。

1.2.3 倒置显微镜观察细胞的生长情况 取对数期生长的 SKOV3 细胞,用 RPMI1640 培养基配制成浓度为 1×10^5 个/ml 的细胞悬液接种于 50 ml 培养瓶,每瓶中加入细胞悬液 5 ml。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育箱中培养 16 h 贴壁后,用含 RPMI1640 培养基分别配制 3、6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 CDDP 处理液及 50、100 nmol/L 的 PTX 处理液。按照以上分组处理分别处理每瓶细胞,每个培养瓶加入 5 ml 处理液。于倒置显微镜下观察细胞生长情况,并分别于 D1、D7、D14、D21 拍照。

1.2.4 CCK-8 法测定细胞吸光度(absorbance, A)值 取对数期生长的 SKOV3 细胞,用 RPMI1640 培养基配制成 2.5×10^4 个/ml 的细胞悬液接种于 48 孔板,每孔加入 200 μl 细胞悬液。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育箱中培养 16 h 贴壁后,用含 10%灭活胎牛血清的 RPMI1640 培养液分别配制 3、6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 CDDP 处理液及 50、100 nmol/L 的 PTX 处理液。按照以上分组处理细胞,每组设 4 个副孔,每孔加入 200 μl 处理液。分别于 D7、D21 每孔加入 RPMI1640 培养基 200 μl 后,再加入 20 μl CCK-8 试剂,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育箱中继续培养 1 h 后,于全波长酶标仪在 450 nm 波长处测定 A 值。通过比较各组 A 值,从而比较不同处理方案对 SKOV3 细胞存活与种群恢复的影响。

1.3 统计处理

实验数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,统计方法采用析因设计的方差分析,组间再分别用单因素方差分析进行单独效应分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 单用 CDDP 组中,单次给药组与分次给药组对 SKOV3 细胞种群恢复的影响无明显差异

为了研究 CDDP 单次给药与分次给药对卵巢癌 SKOV3 细胞种群恢复的影响,观察到单用 CDDP 组中,在 D7 时,分次给药组与单次给药组中均存在大片状的存活细胞,且与对照组相比似乎无明显差异(见图 1);在 D14,2 组中的细胞均已长满培养瓶(见图 1),故未继续观察细胞的生长情况;对 CCK-8 结果进行析因分析(2×3),发现不同处理组在不同时间点对细胞生存的影响不同(见表 1)。进一步行单独效应分

析,发现在 D7 时,对照组、分次给药组及单次给药组 3 组间 A 值无明显差异($F=1.014, P=0.401$) (见图 2A);在 D21 时,对照组、分次给药组及单次给药组 3 组间 A 值差异有统计学意义($F=70.421, P=0.000$),两两比较进一步得出分次给药组与单次给药组间无明显差异($P=0.970$),但与对照组相比,2 组中 A 值均较其明显降低($P=0.000, P=0.000$)。见图 2B。

2.2 单用 PTX 组中,分次给药较单次给药明显抑制 SKOV3 细胞的种群恢复

为了研究 PTX 单次给药与分次给药对 SKOV3 细胞种群恢复的影响,观察到单用 PTX 组中,分次给药组与单次给药组中均有一定数量的细胞凋亡,在 D7 时,单次给药组中的

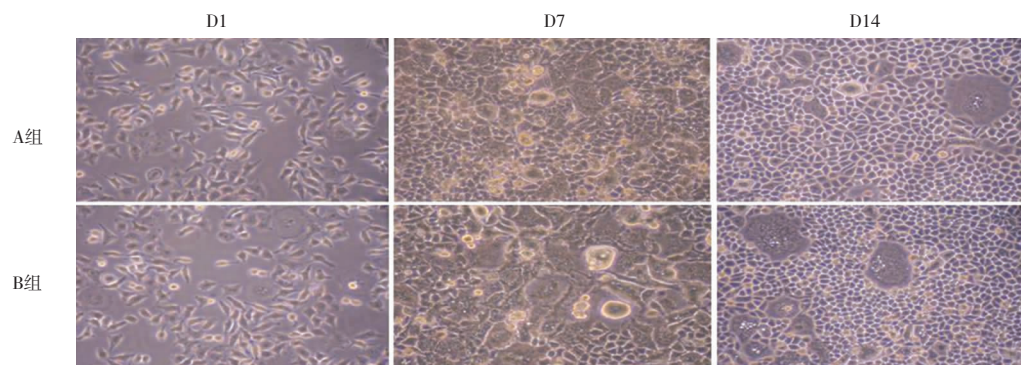
存活细胞量较分次给药组明显减少;而在 D14 时,单次给药组中,成片的细胞克隆团几乎长满培养瓶,分次给药组中仅出现数个小而亮的单细胞克隆(见图 3 所示);在 D21 时,分次给药组中也形成了数个细胞克隆团(见图 6),因单次给药组在 D14 已长满培养瓶,故未继续观察该组细胞的生长情况。对 CCK-8 结果进行析因分析(2×3),提示不同处理组在不同时间点对细胞生长的影响不同(见表 2)。进一步行单独效应分析,发现在 D7 时,对照组、分次给药组及单次给药组 3 组中 A 值差异有统计学意义($F=36.251, P=0.000$),两两比较进一步得出单次给药组较分次给药组 A 值明显降低($P=0.000$),与对照组相比,分次给药组中 A 值降低不明显($P=$

表 1 单用 CDDP 组中处理因素与时间因素对细胞生存的影响

Tab.1 Effect of treatment or/and time factors on the cell survival in CDDP group

时间(B)	处理分组(A)			合计	F 值	P 值
	对照组(A1)	分次给药组(A2)	单次给药组(A3)			
D7(B1)	1.328 ± 0.042	1.286 ± 0.053	1.267 ± 0.082	1.294 ± 0.062	1.014 ^a	0.401 ^a
D21(B2)	3.182 ± 0.056	2.720 ± 0.034	2.721 ± 0.088	2.874 ± 0.235	70.421 ^a	0.000 ^a
合计	2.255 ± 0.992	2.003 ± 0.767	1.994 ± 0.781	2.084 ± 0.825	44.835 ^b	0.000 ^b
F 值	2 779.429 ^a	2 069.983 ^a	581.143 ^a	3 831.266 ^c		28.831 ^d
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^c		0.000 ^d

注:a,单因素方差分析的 F 值和 P 值;b,分组因素的 F 值和 P 值;c,时间因素的 F 值和 P 值;d,交互效应的 F 值和 P 值



A组.分次给药:总剂量分为 D1 及 D8 给药;B组.单次给药:于 D1 给予总剂量。因单次给药组在 D14 已长满培养瓶,故未继续观察该组细胞的生长情况(200×)

图 1 单用 CDDP 组中分次给药与单次给药对细胞种群恢复的影响

Fig.1 Effect of single dose regimen and fractional dose regimen on the repopulation of cells in CDDP group

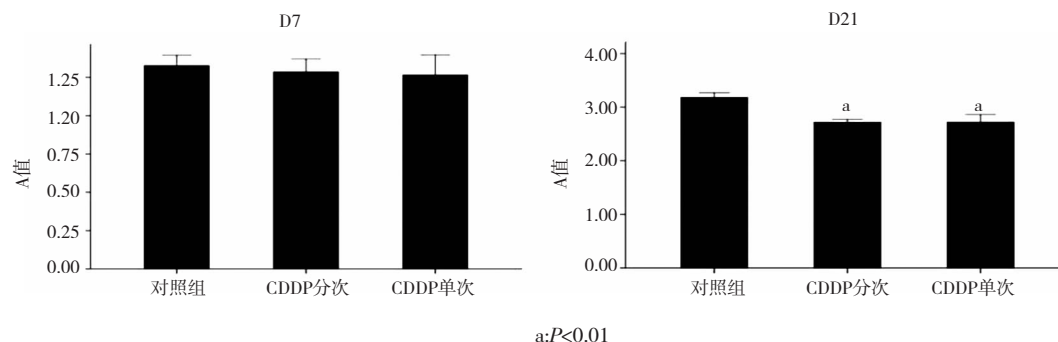


图 2 CCK-8 法测定单用 CDDP 分次给药与单次给药组中细胞的 A 值

Fig.2 Survival of cells treated with single dose regimen and fractional dose regimen in CDDP group detected by CCK-8 method

0.194),而单次给药组中 A 值明显降低($P=0.000$)(见图 4A);在 D21 时,对照组、分次给药组及单次给药组 3 组的 A 值差异有统计学意义($F=1\ 872.275,P=0.000$),两两比较进一步得出分次给药组及单次给药组中细胞的 A 值均明显低于对照组($P=0.000,P=0.000$),且分次给药组较单次给药组 A 值降低更明显($P=0.000$)(见图 4B)。以上结果表明 PTX 分次给药可抑制 SKOV3 细胞的种群恢复。

2.3 CDDP 联合 PTX 组中,分次给药组较单次给药组显著抑制 SKOV3 细胞的种群恢复,且在分次给药组中,CDDP 联合 PTX 较单用紫杉醇明显抑制 SKOV3 细胞的种群恢复

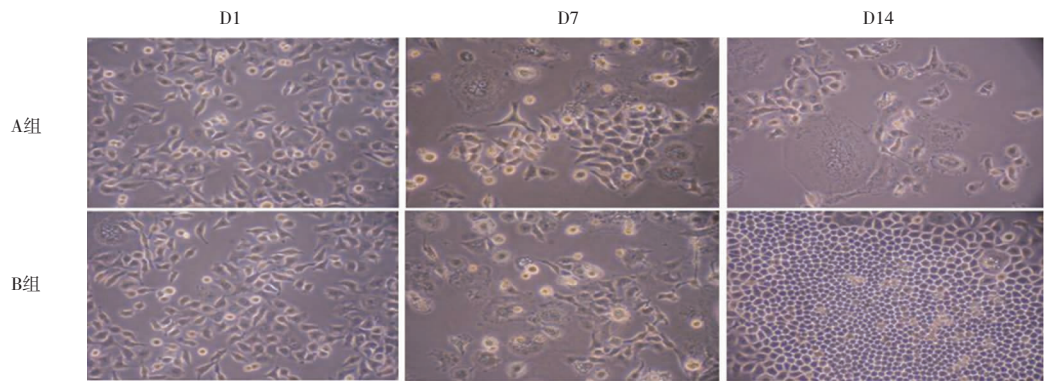
为了研究 CDDP 联合 PTX 单次给药与分次给药对

SKOV3 细胞种群恢复的影响,观察到在 D7 时,CDDP 联合 PTX 单次给药组中出现满视野的凋亡细胞,而分次剂量给药组中,仍有一定数量的活细胞团簇存在;在 D14 时,单次给药组中已有数个细胞克隆团形成,而分次给药组中却呈现出满视野的凋亡细胞;在 D21 时,单次给药组中,细胞克隆团面积明显增大,而分次给药组中,仅出现数个小而亮的单细胞克隆(见图 5)。另外,在分次给药组中,在 D7、D21 时 CDDP 联合 PTX 组中细胞存活量均少于单用 PTX 组(见图 6)。对 CCK-8 结果进行析因分析(2×3),提示对照组、CDDP 联合 PTX 分次给药组与单次给药组在不同时间点对细胞生存的影响有差异(见表 3)。进一步行单独效应分析发现在 D7 时,对照

表 2 单用 PTX 组中处理因素与时间因素对细胞生存的影响
Tab.2 Effect of treatment or/and time factors on the cell survival in PTX group

时间 (B)	处理分组 (A)			合计	F 值	P 值
	对照组 (A1)	分次给药组 (A2)	单次给药组 (A3)			
D7 (B1)	1.328 ± 0.042	1.224 ± 0.037	0.739 ± 0.172	1.097 ± 0.284	36.251 ^a	0.401 ^a
D21 (B2)	3.182 ± 0.056	0.798 ± 0.067	2.718 ± 0.051	2.233 ± 1.079	1 872.275 ^a	0.000 ^a
合计	2.255 ± 0.992	1.011 ± 0.233	1.728 ± 1.064	1.665 ± 0.966	436.015 ^b	0.000 ^b
F 值	2779.429 ^a	125.499 ^a	486.586 ^a	1 081.879 ^c	512.548 ^d	
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^c	0.000 ^d	

注:a,单因素方差分析的 F 值和 P 值;b,分组因素的 F 值和 P 值;c,时间因素的 F 值和 P 值;d,交互效应的 F 值和 P 值



A组.分次给药:总剂量分为 D1 及 D8 给药;B 组.单次给药:于 D1 给予总剂量。因单次给药组在 D14 已长满培养瓶,故未继续观察该组细胞的生长情况(200×)

图 3 单用 PTX 组中分次给药与单次给药对细胞种群恢复的影响

Fig.3 Effect of single dose regimen and fractional dose regimen on the repopulation of cells in PTX group

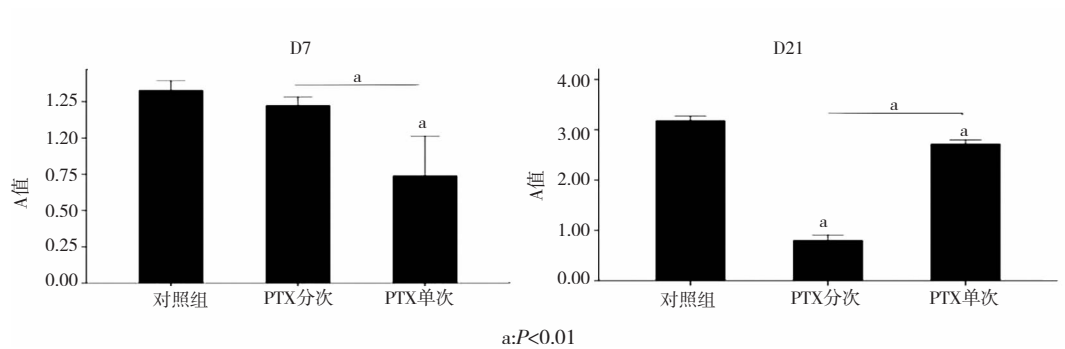


图 4 CCK-8 法测定单用 PTX 分次给药与单次给药组中细胞的 A 值

Fig.4 Survival of cells treated with single dose regimen and fractional dose regimen in PTX group detected by CCK-8 method

组、CDDP 联合 PTX 分次给药组与单次给药组 3 组中 A 值差异有统计学意义 ($F=188.367, P=0.000$), 两两比较进一步发现 CDDP 联合 PTX 分次给药组与单次给药组中细胞的 A 值均较对照组明显降低 ($P=0.000, P=0.000$), 且单次给药组较分次给药组 A 值明显降低 ($P=0.000$) (见图 7A); 在 D21 时, 对照组、CDDP 联合 PTX 分次给药组与单次给药组 3 组间 A 值存在明显差异 ($F=1\ 633.565, P=0.000$), 两两比较进一步发现 CDDP 联合 PTX 分次给药组与单次给药组 A 值均较对照组明显降低 ($P=0.000, P=0.000$), 且分次给药组 A 值较单次给药组降低更明显 ($P=0.000$) (见图 7B)。另外, 本课题组发现对照组、CDDP 联合 PTX 分次给药组与单用 PTX 分次给

药组在不同时间点对细胞生存的影响也存在明显差异 (见表 4)。进一步行单独效应分析, 发现在 D7、D21 时, 对照组、CDDP 联合 PTX 分次给药组与单用 PTX 分次给药组 3 组间 A 值差异均有统计学意义 ($F=162.978, P=0.000; F=2\ 500.464, P=0.000$)。两两比较进一步发现, 在 D7、D21 时, CDDP 联合 PTX 分次给药组与单用 PTX 分次给药组中 A 值均较对照组降低 ($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$), 且 CDDP 联合 PTX 分次给药组 A 值均明显低于单用 PTX 分次给药组 ($P=0.000, P=0.000$) (见图 8)。以上结果表明 CDDP 联合 PTX 分次给药可抑制 SKOV3 细胞的种群恢复, 且其抑制作用较单用 PTX 分次给药明显。

表 3 CDDP 联合 PTX 组中处理因素与时间因素对细胞生存的影响
Tab.3 Effect of treatment or/and time factors on the cell survival in CDDP +PTX group

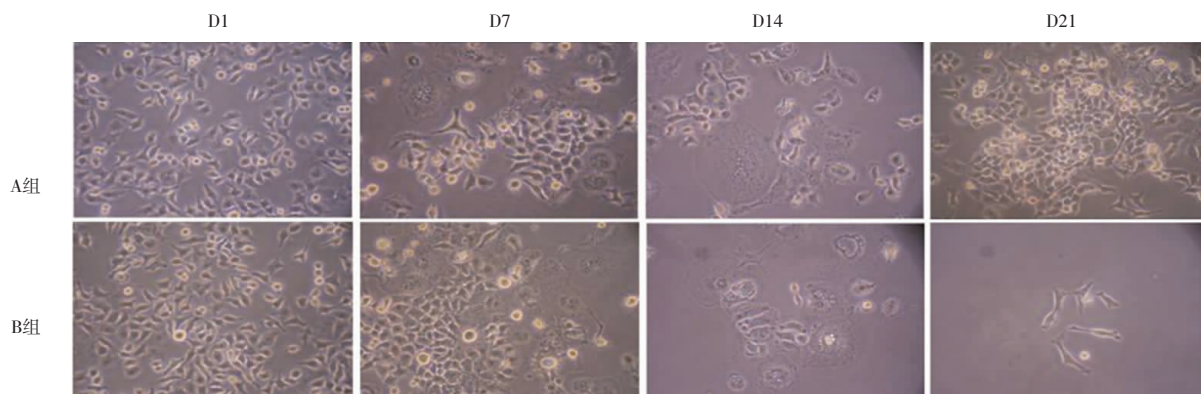
时间 (B)	处理分组 (A)			合计	F 值	P 值
	对照组 (A1)	分次给药组 (A2)	单次给药组 (A3)			
D7 (B1)	1.328 ± 0.042	0.840 ± 0.042	0.587 ± 0.074	0.918 ± 0.325	188.367 ^a	0.401 ^a
D21 (B2)	3.182 ± 0.056	0.291 ± 0.062	1.758 ± 0.091	1.744 ± 1.235	1 633.565 ^a	0.000 ^a
合计	2.255 ± 0.992	0.565 ± 0.298	1.172 ± 0.631	1.331 ± 0.979	1 441.498 ^b	0.000 ^b
F 值	2 779.429 ^a	217.665 ^a	395.465 ^a	1 005.927 ^c	755.399 ^d	
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^c	0.000 ^d	

注: a, 单因素方差分析的 F 值和 P 值; b, 分组因素的 F 值和 P 值; c, 时间因素的 F 值和 P 值; d, 交互效应的 F 值和 P 值

表 4 分次给药组中处理因素与时间因素对细胞生存的影响
Tab.4 Effect of treatment or/and time factors on the cell survival in fractional schedule groups

时间 (B)	处理分组 (A)			合计	F 值	P 值
	对照组 (A1)	分次给药组 (A2)	单次给药组 (A3)			
D7 (B1)	1.328 ± 0.042	1.224 ± 0.037	0.840 ± 0.042	1.131 ± 0.222	162.978 ^a	0.401 ^a
D21 (B2)	3.182 ± 0.056	0.798 ± 0.067	0.291 ± 0.062	1.424 ± 1.318	2 500.464 ^a	0.000 ^a
合计	2.255 ± 0.992	1.011 ± 0.233	0.565 ± 0.298	1.277 ± 0.936	2 258.912 ^b	0.000 ^b
F 值	2 779.429 ^a	125.499 ^a	217.665 ^a	189.629 ^c	1 350.231 ^d	
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^c	0.000 ^d	

注: a, 单因素方差分析的 F 值和 P 值; b, 分组因素的 F 值和 P 值; c, 时间因素的 F 值和 P 值; d, 交互效应的 F 值和 P 值



A组. 分次给药: 总剂量分为 D1 及 D8 给药; B 组. 单次给药: 于 D1 给予总剂量 (200 ×)

图 5 CDDP + PTX 组中分次给药与单次给药对细胞种群恢复的影响

Fig.5 Effect of single dose regimen and fractional dose regimen on the repopulation of cells in CDDP + PTX group

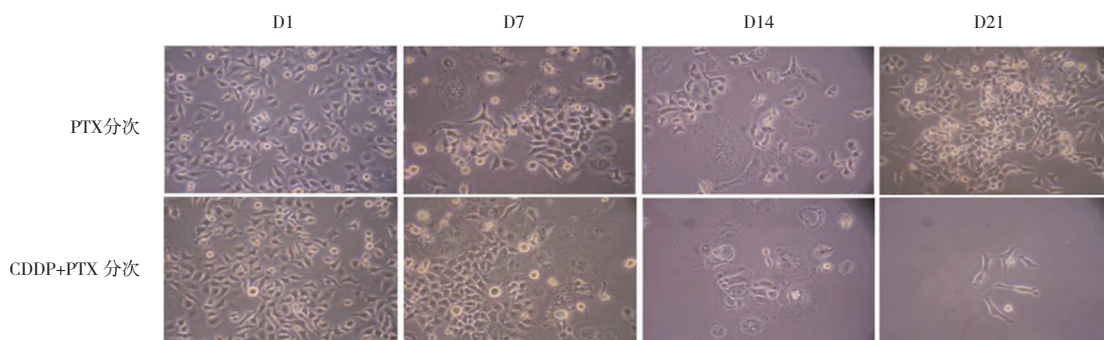


图 6 单用 PTX 与 CDDP + PTX 分次给药对细胞种群恢复的影响 (200 ×)

Fig.6 Effect of fractional schedule on the repopulation of cells in PTX monotherapy group and CDDP+PTX group (200 ×)

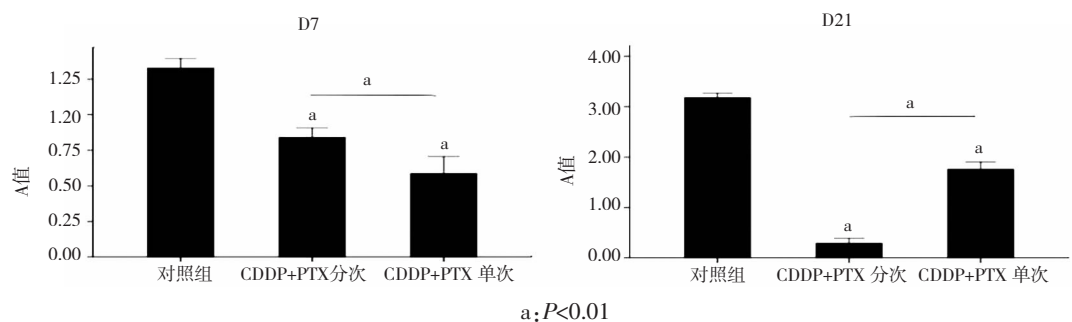


图 7 CCK-8 法测定 CDDP + PTX 分次给药与单次给药组中细胞的 A 值

Fig.7 Survival of cells treated with single dose regimen and fractional dose regimen in CDDP + PTX group detected by CCK-8 method

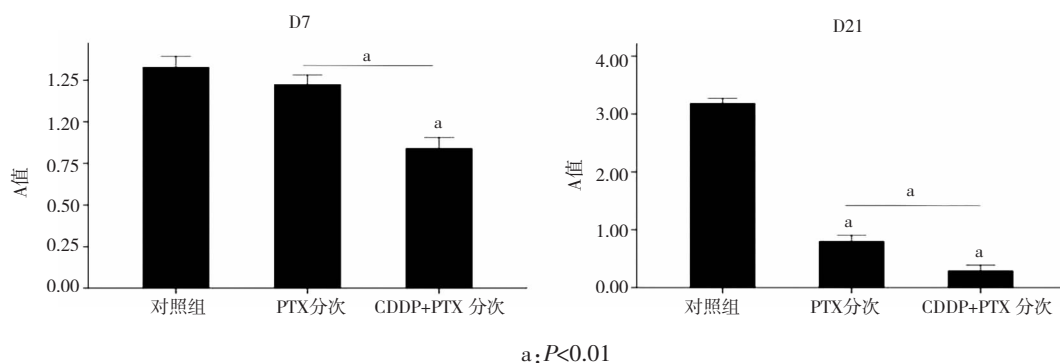


图 8 CCK-8 法测定单用 PTX 与 CDDP+PTX 分次给药组中细胞的 A 值

Fig.8 Survival of cells treated with fractional dose regimen in PTX monotherapy group and CDDP+PTX group detected by CCK-8 method

3 讨论

目前,治疗卵巢癌的一线化疗方案仍为 PTX 联合铂类为基础的化疗法,标准化疗间隙期为 3 周,目的是为了给予正常组织,如骨髓、胃肠道黏膜的恢复的时间。化疗药物的细胞毒性仅存在于体内数小时,而后虽然以较低的抑制细胞增殖的浓度存在于体内较长时间,但仍短于化疗间歇的时间。因此,在化疗间期,幸存的肿瘤细胞可能得以增殖、种群恢复,从而成为癌细胞耐药及肿瘤复发的基础和前提^[10]。

为了有效抑制化疗间期卵巢癌细胞的种群恢复,近年来一些研究提出了剂量强度疗法,即通过增加化疗药物剂量或缩短化疗间期来提高剂量强度。研究发现增加传统化疗方案中每个周期 PTX 的剂量,并不能延长患者的总体生存期^[19-20],另有研究指出,缩短 PTX 化疗间期的剂量密集疗法可提高患者的化疗反应率,延长无进展生存期及总体生存期^[8,21]。然而,在接受剂量密集疗法的患者中,血液学毒性反应的发生率较传统化疗方案高,且反应更重,结果是患者的耐受性降低从而导致治疗延迟或中断,反而降低疗效。而目前尚未制定出最佳的 PTX

与铂类的剂量密集治疗方案。

本研究通过比较在总剂量不变的前提下,PTX 与 CDDP 单次给药或分为 D1 和 D8 分次给药后,卵巢浆液性癌细胞 SKOV3 的生长情况,以 3 周为观察期,发现 CDDP 联合 PTX 分次给药较单用 PTX 分次给药对细胞种群恢复的抑制作用更明显。CDDP 联合 PTX 单次给药后,虽然大多数细胞很快发生凋亡,但在短时间内便出现存活细胞迅速增殖,使种群恢复;而在分次给药组中,第 1 次给药后细胞凋亡虽然无单次给药明显,但在第 2 次给药后,大量在第 1 次给药后存活的细胞出现凋亡,直至第 3 周末仅出现数个单细胞克隆。另外,在临床中观察到 CDDP 联合 PTX 分次给药可使铂类耐药复发性和难治性卵巢癌患者获得较好的化疗反应性(数据整理中,尚未发表)。结合本文的细胞学实验证据提示,与每周疗法相比,这种 CDDP 联合 PTX 分次给药方案既能适当地延长化疗间隙的时间,为正常组织修复赢得时间,也能达到较单次给药方案更为明显的治疗效果,有助于降低患者的毒副反应率或提高其耐受力,希望能为卵巢癌患者提供更科学有效的治疗方案。

目前该治疗方案的提出及临床应用均无类似文献报道,该细胞学实验结果还缺乏相关的机制研究,同时其临床实用性也需要更多临床病例资料的进一步佐证,这些都是本课题组目前正在进行的工作。

参 考 文 献

- [1] Dou J, Jiang C, Wang J, et al. Using ABCG2-molecule-expressing side population cells to identify cancer stem-like cells in a human ovarian cell line[J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(3): 227-234.
- [2] du Bois A, Luck HJ, Meier W, et al. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer[J]. *J Natl Cancer Ins*, 2003, 95(17): 1320-1329.
- [3] McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334(1): 1-6.
- [4] Neijt JP, Engelholm SA, Tuxen MK, et al. Exploratory phase III study of paclitaxel and cisplatin versus paclitaxel and carboplatin in advanced ovarian cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2000, 18(17): 3084-3092.
- [5] Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(17): 3194-3200.
- [6] Piccart MJ, Bertelsen K, Stuart G, et al. Long-term follow-up confirms a survival advantage of the paclitaxel-cisplatin regimen over the cyclophosphamide-cisplatin combination in advanced ovarian cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2003, 13(S2): 144-148.
- [7] Vergote I, Trope CG, Amant F, et al. Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIc or IV ovarian cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(10): 943-953.
- [8] Katsumata N, Yasuda M, Takahashi F, et al. Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2009, 374(9698): 1331-1338.
- [9] McGuire WP 3rd, Markman M. Primary ovarian cancer chemotherapy: current standards of care[J]. *Br J Cancer*, 2003, 89(S3): S3-S8.
- [10] Davis AJ, Tannock JF. Repopulation of tumour cells between cycles of chemotherapy: a neglected factor[J]. *Lancet Oncol*, 2000(1): 86-93.
- [11] Bookman MA, Brady MF, McGuire WP, et al. Evaluation of new platinum-based treatment regimens in advanced-stage ovarian cancer: a Phase III Trial of the Gynecologic Cancer Intergroup[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(9): 1419-1425.
- [12] du Bois A, Weber B, Rochon J, et al. Addition of epirubicin as a third drug to carboplatin-paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a prospectively randomized gynecologic cancer intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group and the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(7): 1127-1135.
- [13] Armstrong DK, Bookman MA, McGuire W, et al. A phase I study of paclitaxel, topotecan, cisplatin and Filgrastim in patients with newly diagnosed advanced ovarian epithelial malignancies: a gynecologic oncology group study[J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 105(3): 667-671.
- [14] Katsumata N. Dose-dense therapy is of benefit in primary treatment of ovarian cancer? In favor[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(s8): viii29-viii32.
- [15] Lopes NM, Adams EG, Pitts TW, et al. Cell kill kinetics and cell cycle effects of taxol on human and hamster ovarian cell lines[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1993, 32(3): 235-242.
- [16] Jordan MA, Wendell K, Gardiner S, et al. Mitotic block induced in HeLa cells by low concentrations of paclitaxel (Taxol) results in abnormal mitotic exit and apoptotic cell death[J]. *Cancer Res*, 1996, 56(4): 816-825.
- [17] Gamarrá-Luques CD, Goyeneche AA, Hapon MB, et al. Mifepristone prevents repopulation of ovarian cancer cells escaping cisplatin-paclitaxel therapy[J]. *BMC Cancer*, 2012(12): 200.
- [18] Karlsson MO, Molnar V, Freijs A, et al. Pharmacokinetic models for the saturable distribution of paclitaxel[J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(10): 1220-1223.
- [19] Bolis G, Scarfone G, Polverino G, et al. Paclitaxel 175 or 225 mg per meters squared with carboplatin in advanced ovarian cancer: a randomized trial[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(4): 686-690.
- [20] Omura GA, Brady MF, Look KY, et al. Phase III trial of paclitaxel at two dose levels, the higher dose accompanied by filgrastim at two dose levels in platinum-pretreated epithelial ovarian cancer: an intergroup study[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(15): 2843-2848.
- [21] Markman M, Hall J, Spitz D, et al. Phase II trial of weekly single-agent paclitaxel in platinum/paclitaxel-refractory ovarian cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(9): 2365-2369.

(责任编辑:冉明会)