

[文章编号] 1007-385X(2007)01-0047-06

· 论 著 ·

## Herceptin 与卡铂联合应用对宫颈癌细胞的抑制及其机制

王 巍<sup>1</sup>, 辛晓燕<sup>1</sup>, 刘 玉<sup>1</sup>, 李璞媛<sup>2</sup>, 丁 焯<sup>3</sup>(1. 第四军医大学 西京医院 妇产科, 西安 710033; 2. 第四军医大学 基础医学部 微生物学教研室, 西安 710032; 3. 北京武警总队 第三医院, 北京 100039)

**[摘要]** **目的:** 探讨 Herceptin( Her )对宫颈腺癌 HeLa、鳞癌 SiHa 细胞的抑制差异, 以及与卡铂( carboplatin, CBP )的协同作用及其机制。 **方法:** 以 Her 5、10、20、40、80  $\mu\text{g/ml}$  和 CBP 0.5、1、2、4、8  $\mu\text{g/ml}$  分别组成单药组和 Her + CBP 联合用药组 [ ( 10 + 1 )、( 20 + 2 )、( 40 + 4 )  $\mu\text{g/ml}$  ], 另设不加药对照组, 分别作用于 HeLa 和 SiHa 细胞。MTT 法检测 Her 对 HeLa、SiHa 细胞增殖的抑制作用及与 CBP 的协同作用, 透射电镜观察肿瘤细胞的超微结构改变, 流式细胞术检测用药后的细胞凋亡率及细胞周期, RT-PCR 法检测细胞用药后 *her-2/neu* 和 *ras* mRNA 的表达, Western blotting 和免疫组化方法检测 HER-2/neu 和 Ras 蛋白的表达。 **结果:** Her 能明显抑制宫颈癌细胞生长, 与 CBP 联合具有协同作用或相加作用 (  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  )。Her 能诱导细胞凋亡, 使细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub> 期; 与 CBP 联合作用后凋亡率更高, 使细胞周期进一步阻滞于 G<sub>2</sub> 期, 同时降低 S 期比例。用药后 *her-2/neu* 和 *ras* mRNA 及其蛋白的表达也显著降低 (  $P < 0.05$  )。药物的抑制作用在宫颈腺癌 HeLa 细胞中更明显些。 **结论:** Her 单药或与 CBP 联合应用能明显抑制宫颈癌 HeLa、SiHa 细胞生长, Her 与 CBP 的协同作用与细胞周期的双重阻滞有关, 且在腺癌 HeLa 细胞中更明显; Her 通过抑制 Ras/MAPK 通路抑制宫颈癌细胞的增殖。

**[关键词]** Herceptin; *her-2/neu*; *ras*; 卡铂; 宫颈癌细胞

**[中图分类号]** R737.33 **[文献标志码]** A

## Herceptin combined with carboplatin inhibiting cervical cancer cells and the related mechanism

WANG Wei<sup>1</sup>, XIN Xiao-yan<sup>1</sup>, LIU Yu<sup>1</sup>, LI Pu-yuan<sup>2</sup>, DING Ye<sup>3</sup>(1. Department of Obstetrics & Gynecology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China; 2. Department of Microbiology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China; 3. No. 3 Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the inhibitory effect of Herceptin on HeLa, SiHa cells and to investigate the synergistic mechanism of Herceptin and Carboplatin. **Methods:** HeLa and SiHa cells were treated with Herceptin ( at 5, 10, 20, 40, and 80  $\mu\text{g/ml}$  ), Carboplatin ( at 0.5, 1, 2, 4, and 8  $\mu\text{g/ml}$  ), and Her + CBP [ ( 10 + 1 ), ( 20 + 2 ), and ( 40 + 4 )  $\mu\text{g/ml}$  ] separately. The untreated cells were taken as control. SP immunohistochemical method was used to detect the protein expression of HER-2/neu and downstream Ras oncogene. MTT method was used to study the inhibition effect of Herceptin on HeLa, SiHa cells and its synergetic effect with carboplatin. FCM was used to detect the cell apoptosis and cell cycle. The mRNA expression of *her-2/neu* and *ras* were assessed by RT-PCR; the protein expression of HER-2/neu and Ras were studied by Western blotting. **Results:** Herceptin significantly inhibited cervical cancer cells proliferation, and there was a synergistic effect when combined with carboplatin (  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  ). Herceptin induced cell apoptosis and arrested cell at G<sub>1</sub> phase. When combined with Carboplatin, Herceptin induced more severe apoptosis and arrested cell at G<sub>2</sub> phase; meanwhile, the cells of S and also decreased. The mRNA and protein expressions of HER-2/neu and Ras were decreased after treated with Herceptin alone and in combination with Carboplatin (  $P < 0.05$  ). The inhibitory effect of Herceptin and Carboplatin was more obvious on HeLa cells. **Conclusion:** Herceptin alone or in combination with Carboplatin can greatly inhibit the growth to HeLa and SiHa cells. The synergistic mechanism of Herceptin with Carboplatin is related to the double blockage of cell cycle. The inhibitory effect is more obvious on HeLa cells. Herceptin inhibits proliferation of cervical cancer cells by restraining Ras/MAPK pathway.

**[基金项目]** 陕西省科技攻关项目 [ 2005K09 - G12( 14 ) ]

**[作者简介]** 王 巍 ( 1980 - ), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士研究生, 主要从事妇科肿瘤防治方面的研究, E - mail: tyun0619@163.com

**[通讯作者]** 辛晓燕, E - mail: gynobs@fmmu.edu.cn

[ **Key words** ] herceptin; *her-2/neu*; *ras*; carboplatin; cervical cancer

[ Chin J Cancer Biother, 2007, 14(1): 47-52 ]

近年来宫颈腺癌的发病呈持续上升趋势。由于宫颈腺癌对放疗不很敏感,临床上常规化疗方案的治疗效果欠佳,故而寻找一种合理的治疗方案在临床上具有重要意义。Herceptin( Her, 商品名为赫赛汀)是针对 HER-2/*neu* 胞外区的人源化单克隆抗体,主要成分为 trastuzumab,临床上广泛用于治疗 *her-2/neu* 过表达的乳腺癌。研究<sup>[1-3]</sup>表明,Her 分别与多柔比星、环磷酰胺、紫杉醇和铂类联合使用可以提高乳腺癌患者生存期,延缓病情进展。考虑到人体内的腺癌发病存在某种相似性,本研究试图将 Her 引入到宫颈腺癌的治疗中,实验以宫颈腺癌 HeLa、鳞癌 SiHa 细胞作为靶细胞,观察 Her 对该两种细胞的抑制差异,及其与卡铂( carboplatin, CBP )的协同抑制效应,同时通过检测 *her-2/neu* 下游的 *ras* 癌基因变化来探讨 Her 对宫颈癌细胞的抑制机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 细胞与试剂

Her 购自上海罗氏公司, CBP 购自齐鲁制药厂, HER-2/*neu* 单克隆抗体购自上海长岛公司, Ras 多克隆抗体购自武汉博士德公司。S-P 试剂盒、DAB 购自北京中杉金桥有限公司, Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自北京宝赛公司, Biozol RNA 提取试剂购自 BioFlux 公司, RT-PCR 试剂盒购自 MBI 公司。TaqDNA 聚合酶和 dNTP 购自天为时代有限公司。引物由上海生工合成。宫颈癌细胞株 HeLa( 腺癌 )、SiHa( 鳞癌 )由本实验室保存。

### 1.2 MTT 法检测药物对肿瘤细胞增殖的抑制

取对数生长期 HeLa、SiHa 细胞,以  $5 \times 10^3$ /孔的密度接种于 96 孔板,培养 24 h 后加入药物。实验分组: Her 组药物剂量分别为 5、10、20、40、80  $\mu\text{g/ml}$ ; CBP 组药物剂量分别为 0.5、1、2、4、8  $\mu\text{g/ml}$ ; Her + CBP 组药物剂量分别为:( 10 + 1 )、( 20 + 2 )、( 40 + 4 )  $\mu\text{g/ml}$ ; 对照组不加药。每个剂量设 3 个复孔,加药后分别培养 24、48、72、96 h,用酶标仪( 波长 490 nm )测定各孔的 *D* 值,计算细胞增殖抑制率。抑制率( % ) = ( 对照组 *D* 值 - 实验组 *D* 值 ) / 对照组 *D* 值  $\times 100\%$ 。采用协同作用 *q* 值判断 Her 和 CBP 联用的性质。*q* 值的计算公式为:  $q = E(AB) / (EA + EB - EA \times EB)$ 。式中 EA 和 EB 为各药单用抑制率, E( AB ) 为两药合用抑制率。 $q > 1.15$  为协同作用,  $0.85 \leq q \leq 1.15$  为相加作用,  $q < 0.85$

为拮抗作用。

### 1.3 透射电镜观察肿瘤细胞的超微结构

收集 40  $\mu\text{g/ml}$  Her 作用 48、72 h 后的 HeLa、SiHa 细胞,胰酶消化后以 2 000 r/min 离心 10 min,加入戊二醛 4  $^{\circ}\text{C}$  固定,再用锇酸固定 2 h,乙醛脱水、渗透、环氧树脂包埋,切片,透射电镜下观察。

### 1.4 流式细胞术检测肿瘤细胞凋亡率

两种细胞分别以 Her 40  $\mu\text{g/ml}$ 、Her 40  $\mu\text{g/ml}$  + CBP 4  $\mu\text{g/ml}$  培养 72 h 后,收集细胞,加入 10  $\mu\text{l}$  Annexin V-FITC 和 5  $\mu\text{l}$  的 PI,避光室温反应 15 min,流式细胞术检测。

### 1.5 流式细胞术检测肿瘤细胞周期变化

细胞培养时间及药物剂量同上,收集细胞,加入 1 ml PBS 和 2 ml 无水乙醇,4  $^{\circ}\text{C}$  固定 3 h,上流式细胞仪做细胞周期分析。

### 1.6 RT-PCR 检测 *her-2/neu* 和 *ras* mRNA 的表达

Biozol 法提取细胞总 RNA,按反转录试剂盒说明进行反转录并用分光光度计定量。引物序列: HER-2/*neu* 上游引物, 5'-CTG TTT GCC GTG CCA CCC TGA GT-3'; 下游引物, 5'-CTT CTG CTG CCG TCG CTT GAT GAG-3', 共 367 bp; Ras 上游引物, 5'-ATG ACG GAA TAT AAG CTG G-3'; 下游引物, 5'-TCA GGA GAG CAC ACA CTT G-3', 共 570 bp; 内参  $\beta$ -actin 上游引物, 5'-GGC CGG CAC CTG ACT GAC TAC-3'; 下游引物, 5'-TCT TTG CGG ATG TCC ACG TC -3', 共 312 bp。HER-2/*neu* RT-PCR 的反应条件: 94  $^{\circ}\text{C}$  1 min 变性, 56.3  $^{\circ}\text{C}$  1 min 退火, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min 延伸, 35 个循环。Ras RT-PCR 的反应条件: 94  $^{\circ}\text{C}$  1 min 变性, 60  $^{\circ}\text{C}$  1 min 退火, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min 延伸, 35 个循环。最后行琼脂糖凝胶电泳。

### 1.7 免疫组化检测 HER-2/*neu*、Ras 蛋白的表达

宫颈癌 HeLa、SiHa 细胞培养于 10% 小牛血清的 DMEM 中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  温箱孵育。胰酶消化后做细胞爬片,乙醇固定,按 S-P 法染色。各取 10 张细胞爬片,每张玻片在双目显微镜 200 倍放大下任选 20 个视野。阳性对照选用表达 HER-2/*neu* 蛋白的 SK-BR3 细胞<sup>[4]</sup>; 阴性对照用 PBS 替代一抗染色。阳性结果判断按 FDA 推荐的 HER-2/*neu* 蛋白染色强度分级: (-), 未着色或 < 10% 的肿瘤细胞膜着色; (+), > 10% 的肿瘤细胞膜呈弱着色,且仅为细胞膜的不完整着色; (++) , > 10% 的肿瘤细胞膜呈中度完全着色; (+++), > 10% 的肿瘤细胞膜呈强的完

全着色。( - )~( + )为阴性表达,( ++ )~( +++ )为阳性表达<sup>[5]</sup>。Ras 蛋白主要以细胞膜内侧和细胞质出现棕黄色颗粒为阳性,阳性细胞数 >10% 为阳性结果,反之为阴性结果。HER-2/neu 工作液配制为 1:100;Ras 工作液配制为 1:80。

### 1.8 Western blotting 检测 HER-2/neu、Ras 的表达

收集各组细胞,加入细胞裂解液,冰上放置 15 min,4 ℃ 离心机 5 000 × *g* 离心 20 min,取上清,紫外分光光度计定量后置 -20 ℃ 保存。配置 5% 和 12% 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶,常规电泳,转膜,封闭。一抗(1:100)4 ℃ 孵育过夜,二抗(1:5 000)室温避光孵育 90 min,荧光激发下观察结果。

### 1.9 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS12.0 统计软件进行 *t* 检验, $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Her 与 CBP 单独及联合使用对宫颈癌细胞生长的抑制作用

MTT 结果显示,Her + CBP 组在各时间点均能抑制 HeLa 和 SiHa 细胞生长,较单用 Her 或 CBP 组细胞抑制率明显增高,Her + CBP 组对两种细胞的抑制率分别为后两组的 1.5~2.3 倍,具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );其抑制率在 72 h 达峰值,至 96 h 下降。其中 *q* 值在 48 和 72 h 分别为 1.16、1.26 和 1.18、1.21,表现为协同作用,其余为相加作用(图 1,表 1)。因此,选取 Her 40 μg/ml + CBP 4 μg/ml 为最佳剂量,72 h 为最佳时间。96 h 细胞长满平板底部,出现接触性抑制,因此抑制率降低。

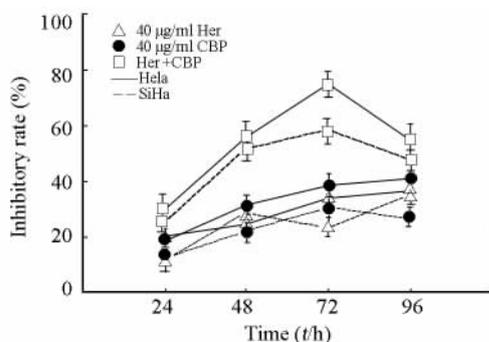


图 1 Her 和 CBP 单独及联合作用下宫颈癌细胞增殖的抑制

Fig. 1 Inhibition of cervix cells by Herceptin and Carboplatin alone or together

### 2.2 药物作用下宫颈癌细胞超微结构的变化

经 Her 作用 48、72 h 后两种细胞均出现凋亡改

变。48 h 时 HeLa 细胞中已有明显的早期凋亡细胞,而 SiHa 细胞中仅出现轻微凋亡改变。72 h 后 HeLa 细胞中典型的凋亡细胞多见,表现为:细胞表面微绒毛消失,胞质浓缩成块状聚集在核膜边缘成新月形,细胞内部有空泡,可能为扩张的内质网;胞质电子密度增高;可见凋亡小体。72 h 后 SiHa 细胞中早期凋亡细胞较多,细胞微绒毛消失,空泡明显,胞核异染色质增多,沿核膜排列(图 2)。

表 1 Her 与 CBP 对肿瘤细胞协同作用的 *q* 值

Tab. 1 *q* value of synergetic effect of Herceptin and Carboplation on tumor cells

Groups ( $\rho_B/\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	Hela (t/h)				SiHa (t/h)			
	24	48	72	96	24	48	72	96
Her + CBP(10 + 1)	0.94	0.86	0.98	0.87	1.05	1.02	0.94	0.87
Her + CBP(20 + 2)	0.86	0.92	1.07	0.90	1.06	0.97	1.08	1.05
Her + CBP(40 + 4)	0.86	1.16	1.26	0.88	1.08	1.18	1.21	0.91

### 2.3 Her 和 CBP 作用致宫颈癌细胞凋亡变化

经 Her 单药或与 CBP 联合作用后,HeLa、SiHa 细胞凋亡率均较对照组升高。SiHa 细胞加入 Her 后的凋亡率为 5.5%,联合用药组升高至 13.6%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );HeLa 细胞加入 Her 后的凋亡率为 30.9%,联合用药组升高更为明显,达 51.3%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。同时,与 SiHa 细胞相比,HeLa 细胞用药后的凋亡率升高幅度更大,尤其是联合用药组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,图 3)。值得注意的是,MTT 法检测中,Her 单药对 HeLa 细胞的抑制率并不高,但凋亡检测中此时却出现较高的凋亡率,可能是由于流式细胞术检测对早期、晚期凋亡细胞均比较敏感,而 MTT 法只能检测到晚期凋亡的细胞。

### 2.4 Her 和 CBP 作用致宫颈癌细胞周期变化

SiHa 细胞加入 Her 单药后  $G_1$  期比例增高,但只增加 6.2%,而 HeLa 细胞却升高了 17.4%。在联合应用 CBP 后两者均出现  $G_2$  期比例增高,SiHa 细胞由对照组的 11.3% 升至 39.1%,HeLa 细胞由 3.1% 增加到 63.4%。此外,在 HeLa 细胞中 Her 还明显降低 S 期比例,与 CBP 合用后 S 期比例也较对照组有所降低(图 4)。可见 Her 可以不同程度地使细胞阻滞于  $G_1$  期,而与 CBP 联合应用后细胞周期又被进一步阻滞于  $G_2$  期;Her 还能降低 HeLa 细胞 S 期细胞比例,使肿瘤细胞 DNA 合成减少,抑制细胞生长,一定程度上促进凋亡,这有助于解释凋亡检测中 Her 单药作用于 HeLa 细胞时出现的高凋亡率。

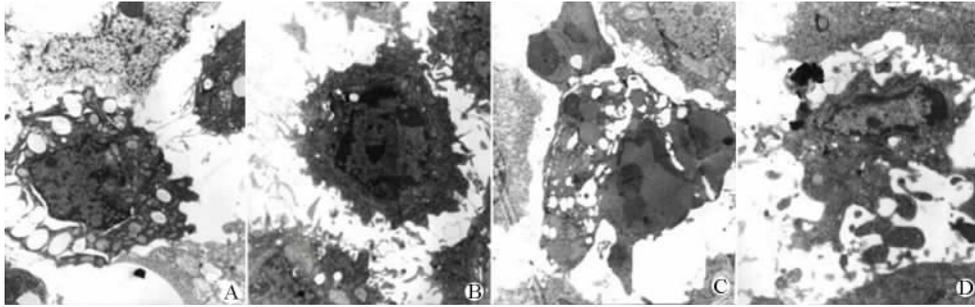


图2 Her 作用后 HeLa 和 SiHa 细胞的超微结构变化(透射电镜)

Fig.2 Ultrastructure changes of HeLa and SiHa cells after treated with Herceptin (transmission electron microscope)

A: HeLa cell treated with Herceptin for 48 h (×5 000); B: SiHa cell treated with Herceptin for 48 h (×7 500); C: HeLa cell treated with Herceptin for 72 h (×6 000); D: SiHa cell treated with Herceptin for 72 h (×10 000)

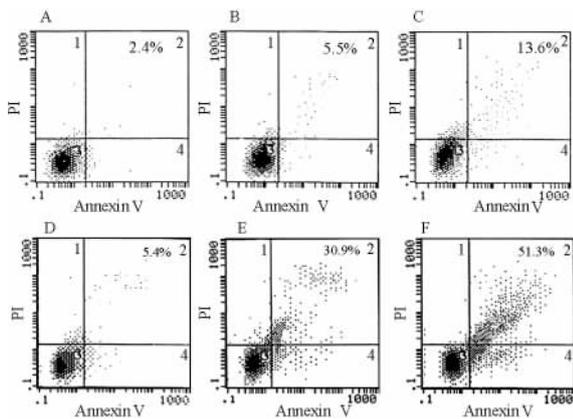


图3 SiHa、HeLa 细胞经 Her 单药或与 CBP 联合作用后的凋亡情况

Fig.3 Apoptoses of SiHa and HeLa cells after treated with Herceptin alone or in combination with Carboplatin

A: SiHa in control group; B: SiHa in Herceptin-treated group; C: SiHa in combination treatment group; D: HeLa in control group; E: HeLa in Herceptin-treated group; F: HeLa in combination treatment group

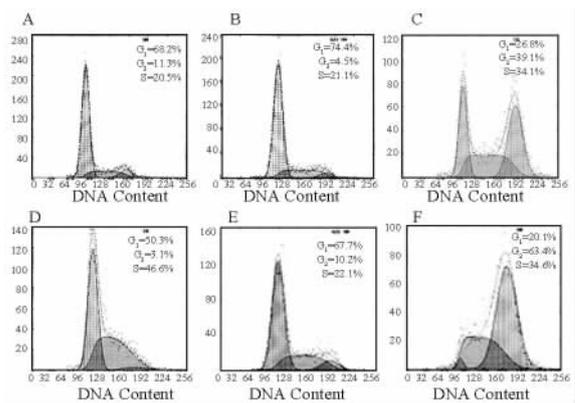


图4 SiHa、HeLa 细胞经 Her 单药或与 CBP 联合作用后的周期变化

Fig.4 Cell cycle of SiHa, HeLa cells after treated with Herceptin alone or in combination with Carboplatin

A: SiHa in control group; B: SiHa in Herceptin-treated group; C: SiHa in combination treatment group; D: HeLa in control group; E: HeLa in Herceptin-treated group; F: HeLa in combination treatment group

2.5 药物作用后 her-2/neu 和 ras mRNA 表达变化

RT-PCR 检测结果显示,加入 her-2/neu 引物的样本均在 367 bp 处出现特异性条带,加入 ras 引物的样本均在 570 bp 处出现特异性条带,各组均出现 312 bp 的内参照 beta-actin 条带。采用目的条带和 beta-actin 的灰度比值表示目的基因表达水平。HeLa 细胞中 her-2/neu mRNA 的表达,联合用药组比对照组和单药组明显降低 (P < 0.05); ras mRNA 用药组降低更明显 (P < 0.01)。SiHa 细胞联合用药后 ras mRNA 的表达比对照组明显降低 (P < 0.05, 表 2)。可见宫颈癌细胞中 her-2/Ras/MAPK 信号通路过度激活更甚,因此也就对 Her 的抑制更敏感,使 her-2/neu 和 ras mRNA 的表达量同步降低。

2.6 HER-2/neu 和 Ras 蛋白在 HeLa、SiHa 细胞中的表达

以免疫组化 S-P 法检测,宫颈癌 HeLa 细胞中 HER-2/neu 和 Ras 蛋白的阳性表达率为 33.0% 和 71.5%,分别显著高于鳞癌 SiHa 细胞中的 12.5% 和 39.5% (P < 0.01, 图 5)。

2.7 药物作用下 HER-2/neu 和 Ras 蛋白表达的变化

与对照组相比,经 Her 单独作用后两种细胞蛋白含量表达减少,联合用药后蛋白表达水平降低更为明显,与 mRNA 检测结果一致(图 6)。

表 2 SiHa, HeLa 细胞中 *her-2/neu* 和 *ras* mRNA 表达的变化  
 Tab.2 Changes of expression of *her-2/neu* and *ras* mRNA in SiHa, HeLa cells

Groups	HeLa		SiHa	
	<i>Her-2/neu</i> mRNA	<i>Ras</i> mRNA	<i>Her-2/neu</i> mRNA	<i>Ras</i> mRNA
Control	1.064 ± 0.026	0.909 ± 0.016	0.974 ± 0.006	0.861 ± 0.011
Her	0.998 ± 0.035	0.577 ± 0.015 *	0.994 ± 0.013	0.822 ± 0.012
Her + CBP	0.763 ± 0.019 * <sup>△</sup>	0.341 ± 0.014 ** <sup>△</sup>	0.905 ± 0.012	0.625 ± 0.019 *

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group; <sup>△</sup>  $P < 0.05$  vs Her group

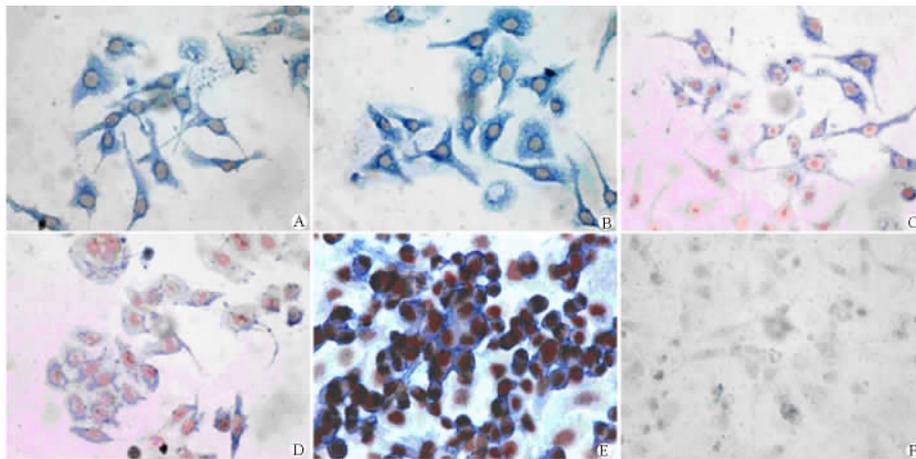


图 5 HER-2/neu 和 Ras 蛋白在宫颈癌 HeLa 及 SiHa 细胞中的表达 (S-P, ×400)

Fig. 5 Expression of HER-2/neu and Ras protein in HeLa and SiHa cells (S-P, ×400)

A: Expression of HER-2/neu in HeLa cells; B: Expression of Ras in HeLa cells; C: Expression of HER-2/neu in SiHa cells; D: Expression of Ras in SiHa cells; E: HER-2/neu positive control in SK-BR3 cells; F: Negative control

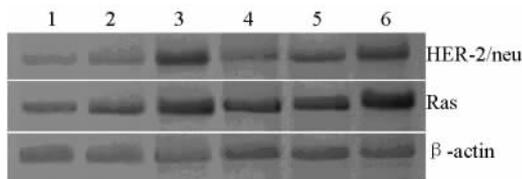


图 6 HeLa, SiHa 细胞经 Her 单药或与 CBP 联用后 HER-2/neu 和 Ras 蛋白的表达

Fig. 6 Differences of protein expression of HER-2/neu and Ras in SiHa, HeLa cells after treated with Herceptin alone or in combination with Carboplatin

1-3: HeLa cells; 4-6: SiHa cells; 1, 4: Treated with herceptin + CBP for 72 h; 2, 5: Treated with herceptin for 72 h; 3, 6: Control

### 3 讨论

Her 是被美国 FDA 批准为唯一治疗转移性乳腺癌的抗体药物<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7-8]</sup>表明, HER-2 可以活化多条信号转导通路, 包括 Ras/MAPK 和 PI<sub>3</sub>K/AKT

途径, 而 Her 可以通过上调周期素依赖性蛋白激酶 (CDK) 抑制剂 p27<sup>kip1</sup>, 并抑制 cyclinE/CDK2 复合物, 使细胞不能进入 S 期而被阻滞于 G<sub>1</sub> 期。本实验结果显示, 两种细胞经 Her 作用后 G<sub>1</sub> 期比例均有升高, 而且 HeLa 细胞中升高更为显著。在 Her 和 CBP 联合作用后细胞均出现 G<sub>2</sub> 期阻滞, 而 G<sub>2</sub> 期正是铂类诱导凋亡的重要时期<sup>[9-10]</sup>。联合用药后细胞的凋亡率升高和 Her 单独作用 HeLa 细胞后出现的较高凋亡率均表明, Her 在诱导高凋亡率上起到重要作用。分析此现象是因为部分细胞因 Her 的作用被阻滞于 G<sub>1</sub> 期, 部分细胞因 CBP 的作用而被阻滞于 G<sub>2</sub> 期, DNA 复制、修复和细胞分裂受到双重抑制, 这可能是 Her 和 CBP 发挥协同作用的基础。RT-PCR 和 Western blotting 结果提示, 经 Her 作用后细胞 *her-2/neu* 和 *ras* mRNA 及蛋白的表达水平均降低, 证实 Her 是通过抑制 Ras/MAPK 通路来抑制宫颈癌细胞的增殖。免疫组化结果表明, 腺癌细胞中

*her-2/neu*和 *ras* 同时存在过表达,即腺癌细胞中 Her-2/Ras/MAPK 通路过度激活,很好地说明了无论 Her 单药或与 CBP 联合都对 HeLa 细胞的抑制作用更强,细胞凋亡率更高。研究<sup>[11]</sup>发现,HER-2/*neu*在食管腺癌中扩增和过表达的程度也大于鳞癌,在一定程度上说明机体内可能普遍存在腺癌中 HER-2/*neu* 的表达高于鳞癌的现象。

近年宫颈癌总体发病率与病死率分别降低 4% 和 7%,而腺癌(包括腺鳞癌)却无明显下降,50 岁以下的妇女反而升高 40%<sup>[12]</sup>。宫颈腺癌的生物行为决定了它对治疗的反应与鳞癌不同。宫颈腺癌细胞具有细胞周期长的特点,相对射线较敏感的 G<sub>2</sub>~M 期和晚 G<sub>1</sub> 期细胞所占比例不高,故而对射线敏感性较低<sup>[13]</sup>。本实验中 Her 和 CBP 联合作用可以使细胞更多地停留于 G<sub>1</sub> 期和 G<sub>2</sub> 期,因此再结合放疗可以大大提高患者的反应率,改善肿瘤进展期。目前,临床上已开展 Her 与多种化疗药物结合使用的研究,体外实验证明 Her 与紫杉烷类、铂类(TCH)联合有极高的协同作用<sup>[14-16]</sup>。Her 不仅应用于乳腺癌的治疗,在卵巢癌、非小细胞肺癌、胃癌和膀胱癌的治疗中也已开展研究<sup>[17-20]</sup>,其可能成为新一代高反应率的抗癌药物。

## [参考文献]

- [1] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER-2[J]. *New Engl J Med*, 2001, 34(4): 783-792.
- [2] Pegram MD, Lopez A, Konecny G, *et al.* Trastuzumab and chemotherapeutics: Drug interactions and synergies[J]. *Semin Oncol*, 2000, 27(6): 21-25.
- [3] Robert N, Leyland-Jones B, Asmar L, *et al.* Phase III comparative study of trastuzumab and paclitaxel with and without carboplatin in patients with HER2/Neu positive advanced breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2002, 7(6): 35-45.
- [4] Leirdal M, Shadidy M, Roso KO, *et al.* Identification of genes differentially expressed in breast cancer cell line SKBR3: Potential identification of new prognostic biomarkers[J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(2): 217-222.
- [5] Chavez-Blanco A, Perez-Sanchez V, Gonzalez-Fierro A, *et al.* HER-2 expression in cervical cancer as a potential therapeutic target[J]. *BMC Cancer*, 2004, 9(4): 59-69.
- [6] Nahta R, Esteva FJ. Herceptin: Mechanisms of action and resistance[J]. *Cancer Lett*, 2006, 232(2): 123-128.
- [7] Le XF, Claret FX, Lammayot A, *et al.* The role of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 in anti-HER2 antibody-induced G1 cell cycle arrest and tumor growth inhibition[J]. *Biol Chem*, 2003, 27(8): 23441-23450.
- [8] Lane HA, Beuvink I, Motoyama AB, *et al.* ErbB2 potentiates breast tumor proliferation through modulation of p27(Kip1)-Cdk2 complex formation: Receptor overexpression does not determine growth dependency[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(3): 3210-3223.
- [9] Bose RN. Biomolecular targets for platinum antitumor drugs[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2002, 2(2): 103-111.
- [10] Buraczewska I, Bouzyk E, Kuduk-Jaworska J, *et al.* Differential anti-proliferative properties of novel hydroxydicarboxylatoplatinum(II) complexes with high or low reactivity with thiols[J]. *Chem Biol Interact*, 2000, 129(3): 297-315.
- [11] Reichelt U, Duesedau P, Tsourlakis MCh, *et al.* Frequent homogeneous HER-2 amplification in primary and metastatic adenocarcinoma of the esophagus[J]. *Mod Pathol*, 2007, 20(1): 120-129.
- [12] Davy ML, Dodd TJ, Luke CG, *et al.* Cervical cancer: Effect of glandular cell type on prognosis, treatment, and survival[J]. *Obstet Gynecol*, 2003, 101(1): 38-45.
- [13] 山崎正明. 宫颈腺癌的化疗及其预后[J]. *日本医学介绍*, 2000, 21(3): 110-111.
- [14] Pegram MD, Konecny GE, Callaghan CO, *et al.* Rational combinations of trastuzumab with chemotherapeutic drugs used in the treatment of breast cancer[J]. *Natl Cancer Inst*, 2004, 9(6): 739-749.
- [15] Konecny G, Fritz M, Untch M, *et al.* HER-2/*neu* overexpression and *in vitro* chemosensitivity to CMF and FEC in primary breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2001, 6(9): 53-63.
- [16] Pegram MD, Lopez A, Konecny G, *et al.* Trastuzumab and chemotherapeutics: Drug interactions and synergies[J]. *Semin Oncol*, 2000, 27(1): 21-25.
- [17] 李爱华, 靳卫国, 刘薇, 等. Herceptin 联合顺铂对高表达 HER-2/*neu* 卵巢癌移植瘤鼠的治疗作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(1): 50-53.
- [18] Nakamura H, Takamori S, Fujii T, *et al.* Cooperative cell-growth inhibition by combination treatment with ZD1839 (Iressa) and trastuzumab (Herceptin) in non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2005, 230(1): 33-46.
- [19] Rebischung C, Barnoud R, Stefani L, *et al.* The effectiveness of trastuzumab (Herceptin) combined with chemotherapy for gastric carcinoma with overexpression of the c-erbB-2 protein[J]. *Gastric Cancer*, 2005, 8(4): 249-252.
- [20] Salzberg M, Borner M, Bauer JA, *et al.* Trastuzumab (Herceptin) in patients with HER-2-overexpressing metastatic or locally advanced transitional cell carcinoma of the bladder: Report on 7 patients[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(15): 2660-2661.

[收稿日期] 2006-11-05

[修回日期] 2006-12-19

[本文编辑] 韩丹