

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.007

塞来昔布促进 T 细胞淋巴瘤对化疗药物的敏感性

马鸣^a, 刘丽华^b, 赵连梅^b, 杜彦艳^a, 杨兴肖^c, 单保恩^b (河北医科大学第四医院 a. 检验科; b. 科研中心; c. 感染管理科, 河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 研究塞来昔布对 T 细胞淋巴瘤细胞化疗敏感性的影响, 并探讨其作用机制。 **方法:** MTT 法检测不同浓度塞来昔布分别作用 24、48 和 72 h, 对 T 细胞淋巴瘤细胞株 Jurkat 和 Hut78 增殖活性的影响; MTT 法检测化疗药物 [顺铂 (cisplatin, DDP)、表柔比星 (epirubicin, EPI) 及长春新碱 (vincristine, VCR)] 联合塞来昔布对 Jurkat 和 Hut78 细胞增殖活性的影响; 并计算 IC₅₀ 值; 流式细胞术检测塞来昔布联合化疗药对 Jurkat 和 Hut78 细胞凋亡水平的影响; Real-time PCR 及 Western blotting 技术分别从 mRNA 及蛋白水平检测塞来昔布对 Jurkat 和 Hut78 细胞表达 MDR1、MRP1、LRP 及 Topo II 的影响。 **结果:** 塞来昔布对 T 细胞淋巴瘤细胞株 Jurkat 和 Hut78 增殖活性具有一定抑制作用, 且可明显增强化疗药物对 Jurkat 和 Hut78 细胞的杀伤作用; 在塞来昔布作用下 Jurkat 和 Hut78 细胞的凋亡水平明显增加 ($P < 0.01$); 与塞来昔布共培养的 Jurkat 和 Hut78 细胞, Topo II mRNA 和蛋白的表达水平均明显增加, 而 MDR1、MRP1、LRP mRNA 及蛋白的表达水平均明显下降 ($P < 0.05$)。 **结论:** 塞来昔布可通过调控耐药相关基因的表达而增强 T 淋巴瘤细胞对化疗药物的敏感性, 因此在 T 细胞淋巴瘤的临床治疗中具有良好应用前景。

[关键词] T 细胞淋巴瘤; 塞来昔布; 化疗敏感性; 多药耐药

[中图分类号] R733.4; R730.54

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)04-0498-08

Celecoxib promotes drug sensitivity of T cell lymphoma to chemotherapy

MA Ming^a, LIU Lihua^b, ZHAO Lianmei^b, DU Yanyan^a, YANG Xingxiao^c, SHAN Baoen^b (a. Department of Laboratory; b. Center of Scientific Research; c. Department of Infection Management, Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of celecoxib on chemotherapy sensitivity of T cell lymphoma and the possible mechanism. **Methods:** The proliferation activities of Jurkat and Hut78 cell lines treated with celecoxib at different concentrations for 24, 48 and 72 h were detected by MTT method. The inhibition effect of chemotherapy drugs [cisplatin (DDP), epirubicin (EPI), and vinblastine (VCR)] associated with celecoxib at different doses on the proliferation of Jurkat and Hut78 cell lines was also detected using MTT method, meanwhile, the IC₅₀ value was calculated. The apoptotic rates of Jurkat and Hut78 cells co-cultured with different chemotherapy drugs associated with celecoxib at different doses were analyzed by Flow Cytometry. Meanwhile, the effect of celecoxib on the expression of MDR1, MRP1, LRP and Topo II at the level of mRNA and protein in Jurkat and Hut78 cells were investigated by Real-time PCR and Western blotting respectively. **Results:** After the treatment of celecoxib, the proliferation activity of Jurkat and Hut78 cells was inhibited in a dose-and time-dependent manner, and the killing effect of chemotherapy drugs on Jurkat and Hut78 cells was also obviously enhanced ($P < 0.05$); in addition, the apoptotic rate of Jurkat and Hut78 cells was significantly elevated ($P < 0.01$). The results of Real-time PCR and Western blotting showed that the expressions of MDR1, MRP1 and LRP were down-regulated and Topo II was up-regulated at both mRNA and protein levels in Jurkat and Hut78 cell lines treated with celecoxib at different doses, compared with control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Celecoxib can enhance the chemotherapy sensitivity of T lymphoma cells by regulating the expression of multidrug resistance (MDR) related genes; Thus, it has

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题资助项目 (No. 20150305)。Project supported by the Medical Scientific Research Key Program of Hebei Province (No. 20150305)

[作者简介] 马鸣 (1983 -), 男, 河北石家庄人, 博士生, 主管技师, 主要从事肿瘤分子诊断学研究, E-mail: maming19830419@163.com

[通信作者] 单保恩 (SHAN Baoen, corresponding author), E-mail: shanbaoen@163.com

a wide application prospect in the clinical treatment of T cell lymphoma.

[**Key words**] T cell lymphoma; celecoxib; sensitivity of chemotherapy; multidrug resistance (MDR)

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(4): 498-505. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.007]

淋巴瘤在我国发病率呈逐年增高的趋势,根据免疫表型可分为 B 细胞型及 T/NK 细胞型。目前,临床上治疗淋巴瘤的各种新方法不断涌现,但主要治疗手段仍以常规化疗为主。肿瘤细胞多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 的出现是造成淋巴瘤化疗失败的主要原因之一,特别是 T 细胞型淋巴瘤,MDR 的发生率更高、疗效更差。因而寻找有效的化疗增敏剂,改善 T 细胞淋巴瘤的疗效已成为国内、外的研究热点^[1-2]。近年来,大量研究表明非甾体类抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 特别是选择性 COX-2 抑制剂对多种肿瘤具有抑制作用^[1-2]。塞来昔布是 COX-2 的选择性抑制剂,作为非甾体类抗炎镇痛药物在临床上广泛用于治疗类风湿性关节炎等骨关节疾病,最近其抗肿瘤作用受到广泛关注。研究^[2-3]表明,塞来昔布对多种肿瘤细胞具有明显抑制作用,然而其对肿瘤化疗敏感性的影响及其机制研究较少,尤其是其对 T 细胞淋巴瘤的作用,至今国内尚未见报道。本研究采用 T 细胞淋巴瘤 Jurkat 及 Hut78 细胞株作为对象,研究塞来昔布对该细胞多种化疗药敏感性的影响,并探讨其作用机制,以期塞来昔布应用于临床 T 细胞淋巴瘤 MDR 的防治提供科学依据。

1 材料及方法

1.1 细胞株、试剂及药物

人 T 细胞淋巴瘤 Jurkat 及 Hut78 细胞株均由河北医科大学第四医院科研中心保存;塞来昔布粉剂购自美国辉瑞公司(批号:L61633);RPMI 1640 培养基购自 Gibco 公司;胎牛血清 (FBS) 购自杭州四季青公司;cDNA 反转录试剂盒购自 Thermo 公司;兔抗人 P-gp、MRP1、LRP 及 Topo II 单抗均购自 Abcam 公司;AnnexinV 及 PI 双标凋亡检测试剂盒及 MTT 试剂盒均购自 Sigma 公司;Real-time PCR 扩增试剂盒购自 Promage 公司;顺铂 (cisplatinum, DDP;批号 1WA2A1501008) 购自齐鲁药业有限公司;表柔比星 (epirubicin, EPI;批号 1140102A) 购自浙江海正药业股份有限公司;长春新碱 (vincristine, VCR;批号 1406V3) 购自深圳万乐药业有限公司;PHA 及 LPS 均购自 Sigma 公司。

1.2 MTT 法检测塞来昔布对 Jurkat、Hut78 细胞增殖活性的影响

塞来昔布粉剂溶于 DMSO 中,用 RPMI 1640 培养基调整药物浓度,使 DMSO < 0.1%,Jurkat 及 Hut78 株细胞接种于 96 孔板中 (1×10^6 /ml),实验组每孔分别加入终浓度为 10、20、40、80 及 160 $\mu\text{mol/L}$ 的塞来昔布溶液,对照组只加含终浓度 0.1% DMSO 的 RPMI 1640 培养基,各组反应体系均为 200 μl ,每组 9 个复孔,分别于刺激 24、48 及 72 h 后,MTT 法用酶标仪检测波长 492 nm 处各孔的光密度 (*D*) 值,计算抑制率 (inhibitory rate, IR)。抑制率 (%) = [(实验组平均 *D* 值 - 对照组平均 *D* 值) / 对照组平均 *D* 值] $\times 100\%$ 。

1.3 MTT 法检测塞来昔布对正常人外周血单个核细胞 (mononuclear cells, MNC) 活性及 T、B 细胞增殖水平的影响

无菌条件下,密度梯度法分离健康成年人外周血 MNC,接种于 96 孔板 (5×10^6 /孔) 中,不加入刺激源或加入 T、B 细胞的刺激源 PHA (5 mg/ml) 及 LPS (20 mg/ml),实验组每孔分别加终浓度为 20、40 及 80 $\mu\text{mol/L}$ 的塞来昔布溶液,对照组只加含终浓度为 0.1% DMSO 的 RPMI 1640 培养基,各组反应体系均为 200 μl ,48 h 后,检测波长 492 nm 处 *D* 值,以 *D* 值反映 MNC 细胞活性及 T、B 淋巴细胞增殖水平。

1.4 MTT 法检测塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞化疗药物敏感性的影响

Jurkat 及 Hut78 细胞接种于 96 孔板 (10^6 /ml) 中,联合用药组每孔加不同浓度的 DDP (0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/L)、EPI (0.01、0.1、1.0、10.0 和 100.0 mg/L) 和 VCR (0.25、0.5、1.0、2.0 和 4.0 mg/L) 同时,分别加不同浓度的塞来昔布 (20、40 及 80 $\mu\text{mol/L}$);单独化疗药组每孔加联合用药组相同浓度的 DDP、EPI 和 VCR,不加塞来昔布,只加含终浓度为 0.1% DMSO 的 RPMI 1640 培养基,作为联合用药组的对照,每组 3 个复孔,培养体系为 200 μl 含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基。于刺激 24 h 后,MTT 法计算抑制率,以含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基空白孔调零,方法同 1.2,用 Origin 75 软件计算 IC_{50} 。

1.5 流式细胞术检测塞来昔布单独或联合化疗药物对 Jurkat 及 Hut78 细胞凋亡的影响

Jurkat 及 Hut78 细胞接种于六孔板 (1×10^6 /ml) 中,单独塞来昔布组仅加入不同浓度塞来昔布 (20、40 及 80 $\mu\text{mol/L}$)。联合用药组分别加入不同

浓度的 DDP、EPI 和 VCR 的同时, 分别加入不同浓度塞来昔布(20、40 及 80 $\mu\text{mol/L}$)。单独应用化疗药组作为对照, 分别加入 CDDP(1.0 mg/L)、EPI(0.1 mg/L)和 VCR(0.5 mg/L)。各组反应体系均为 2.5 ml, 每组 3 个复孔, 刺激 24 h 后, 收集细胞, $560 \times g$ 离心 5 min 后, 与 Annexin V 及 PI 共培养 15 min, 上机检测细胞凋亡水平。

1.6 Real-time PCR 法检测塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 MDR1、MRP1、LRP 及 Topo II mRNA 表达水平的影响

取 10^6 个与方法 1.4 中不同浓度塞来昔布培养 24 h 后的各组细胞, 常规两步法提取细胞总 RNA, 进行 Real-time PCR 检测, 检测体系及步骤均按照说明书进行, 以不加塞来昔布组作为对照。cDNA 序列根据 Gene bank 并参考文献[4]设计, MDR1 引物: 上游 5'-CAGAGGGGATGCTCAGTGT-3', 下游 5'-CGTGTTGGCAAACAATACAG-3'; 多药耐药相关蛋白 1(multidrug resistance-related protein 1, MRP1) 编码基因引物: 上游 5'-CGCTGAGTTCCTGCGTACC-3', 下游 5'-TCTGCGGTGCTGTGTGG-3'; β -actin 引物: 上游 5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3', 下游 5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'; 拓扑异构酶 II (Topoisomerase II, Topo II) 引物: 上游 5'-GGCTCGATTGTTATTTCCAC-3', 下游 5'-GGTTGTAGAATTAAGAATAGC-3'; 肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)引物: 上游 5'-GTCTTCGGGCCTGAGCTG GTGTCCG-3', 下游 5'-CTTGGGGGTCTCTTGGGGGTCCTT-3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 代表各指标相对表达水平的强度, $\Delta\Delta Ct = (\text{实验组靶基因 Ct 值} - \text{实验组内参 Ct 值}) - (\text{对照组靶基因 Ct 值} - \text{对照组内参 Ct 值})$, 实验重复 3 次, 求均值。

1.7 Western blotting 检测塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 P-gp、MRP1、LRP 及 Topo II 蛋白表达水平的影响

收集方法 1.5 中制备的细胞, 用总蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白。分别取一定量蛋白进行 SDS-PAGE, 然后转移至 PVDF 膜, 1% 脱脂牛奶封闭 60 min 后, 依次加兔抗人 P-gp、MRP1、LRP 及 Topo II 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 加鼠抗兔二抗, 室温避光孵育 1 h, 用 Odyssey 双色红外荧光扫描系统进行检测及灰度分析, 以目标蛋白显色条带与 β -actin 条带的灰度比值作为目标蛋白的表达相对量, 实验重复 3 次, 求平均值。

1.8 流式细胞术检测塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 Rhodamine-123 积累能力的影响

细胞处理及实验分组同 1.5, 不同浓度塞来昔布作用后的 Jurkat 及 Hut78 细胞分别与 Rhodamine-123 共培养 30 min, 上流式细胞仪检测, 以荧光强度 (X-mean) 值表示 Rhodamine-123 胞内积累量。

1.9 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计分析软件进行实验数据的分析和处理, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组样本均数之间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 塞来昔布抑制 T 表型淋巴瘤细胞株增殖水平

MTT 检测结果(图 1)显示, 与对照组相比, 各浓度塞来昔布均对 Jurkat 和 Hut78 细胞增殖活性具有明显抑制作用, 且该作用随着浓度和时间的增加而增强。

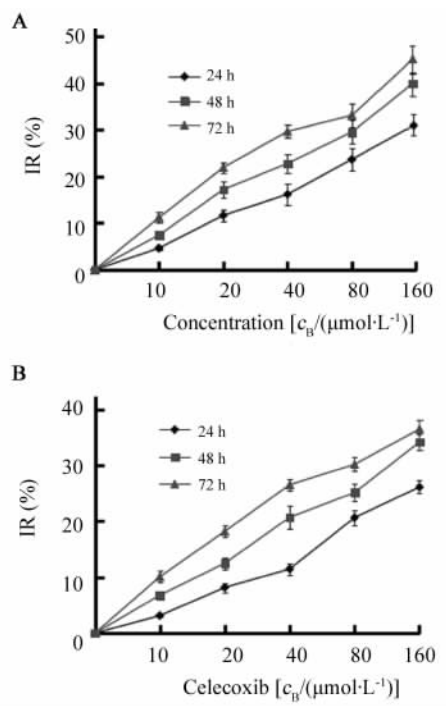


图 1 塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞增殖活性的影响

Fig. 1 Effect of celecoxib on proliferations of the Jurkat and Hut78 cells

A: Jurkat cells; B: Hut78 cells

2.2 塞来昔布对正常人外周血 MNC 细胞活性及 T、B 细胞的增殖没有影响

MTT 检测结果(图 2)显示, 与不同浓度塞来昔布共培养的正常人外周血 MNC 细胞活性及 T、B 细胞分别在 PHA 及 LPS 刺激下的增殖水平和对照组比较, 均无明显改变 ($P > 0.05$)。

2.3 塞来昔布增强 Jurkat 及 Hut78 细胞对化疗药物的敏感性

MTT 检测结果(图 3)显示,各种化疗药联合各浓度塞来昔布作用 24 h 后,对 Jurkat 和 Hut78 细胞增殖活性的抑制作用均较各浓度单独化疗组明显增高,同时,在不同浓度塞来昔布作用下,各种化疗药的 IC_{50} 值明显低于单独化疗药组 ($P < 0.05$),且该作用随塞来昔布浓度增加而增强。

2.4 塞来昔布联合化疗药物促进淋巴瘤细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图 4)显示,与不同浓度塞来昔布共培养的 Jurkat 和 Hut78 细胞 AnnexinV⁺ 细胞比例比对照组明显增加 ($P < 0.01$),提示塞来昔布具有促进 Jurkat 和 Hut78 细胞凋亡的作用。同时,化疗药联合不同浓度塞来昔布共培养的 Jurkat 和 Hut78 细胞的 AnnexinV⁺ 细胞比例亦较塞来昔布

单独培养的细胞凋亡水平明显增加 ($P < 0.01$),且该作用随着浓度和时间的增加而增强。

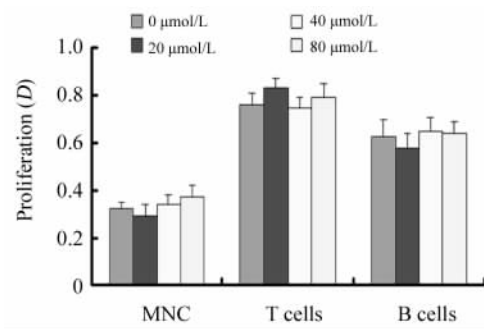


图 2 塞来昔布对外周血 MNC 细胞活性及 T、B 细胞增殖水平的影响

Fig. 2 Effect of celecoxib on cell activity of MNC and proliferation of T and B cells in peripheral blood

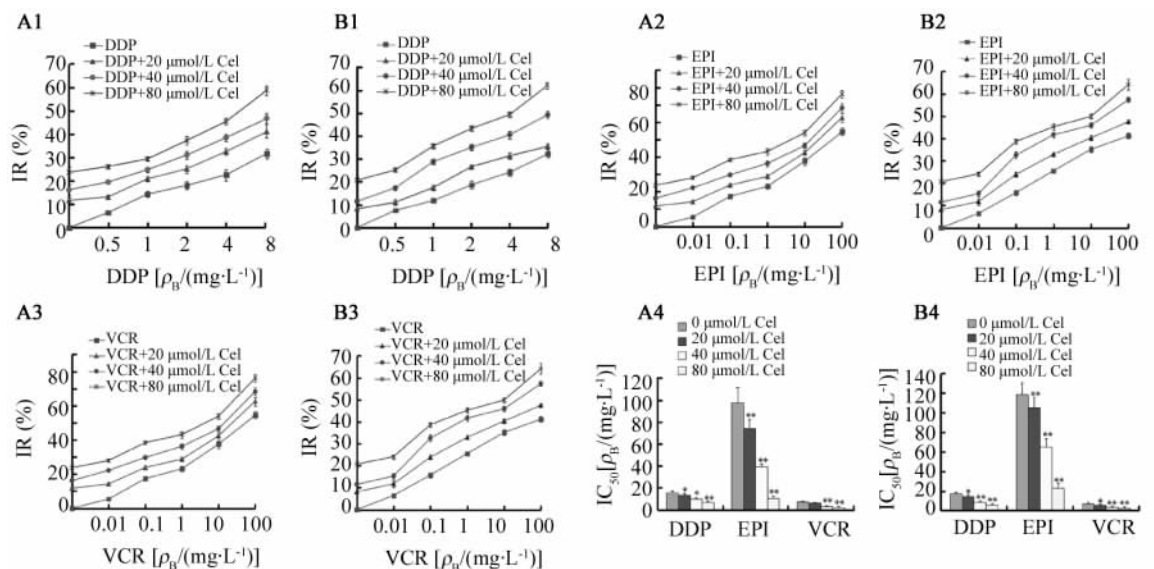


图 3 塞来昔布对 Jurkat 和 Hut78 细胞增殖活性的影响

Fig. 3 Effect of celecoxib on proliferations of Jurkat and Hut78 cells

A1-A4: Jurkat cells; B1-B4: Hut78 cells; Cel: Celecoxib

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 mol/L celecoxib

2.5 塞来昔布抑制 Jurkat 和 Hut78 细胞 MDRI、LRP、MRP1 mRNA 的表达,但提高 Topo II mRNA 的表达

Western blotting 检测结果(图 5)显示,与不同浓度塞来昔布共培养 24 h 的 Jurkat 和 Hut78 细胞 MDRI、MRP1、LRP mRNA 表达水平均较对照组明显减低 ($P < 0.05$),而 Topo II mRNA 表达水平则较对照组明显增高 ($P < 0.05$),且该作用随塞来昔布浓

度增加而增强。

2.6 塞来昔布抑制 Jurkat 及 Hut78 细胞 P-gp、MRP1 和 LRP 蛋白表达,但增加 Topo II 蛋白表达

Western blotting 检测结果(图 6)显示,与不同浓度塞来昔布共培养 24 h 的 Jurkat 和 Hut78 细胞, P-gp、MRP1、LRP 蛋白表达水平均随塞来昔布浓度增加较对照组逐渐降低 ($P < 0.05$),而 Topo II 蛋白表达水平则较对照组明显增高 ($P < 0.05$)。

2.7 塞来昔布增强 Jurkat 及 Hut78 细胞株积累 Rhodamine-123 的能力

流式细胞术检测结果(图 7)显示,与不同浓度

塞来昔布共培养 24 h 的 Jurkat 和 Hut78 细胞,其胞内 Rhodamine-123 积累水平较对照组明显增高($P < 0.01$),且该作用随着塞来昔布浓度的增加而增强。

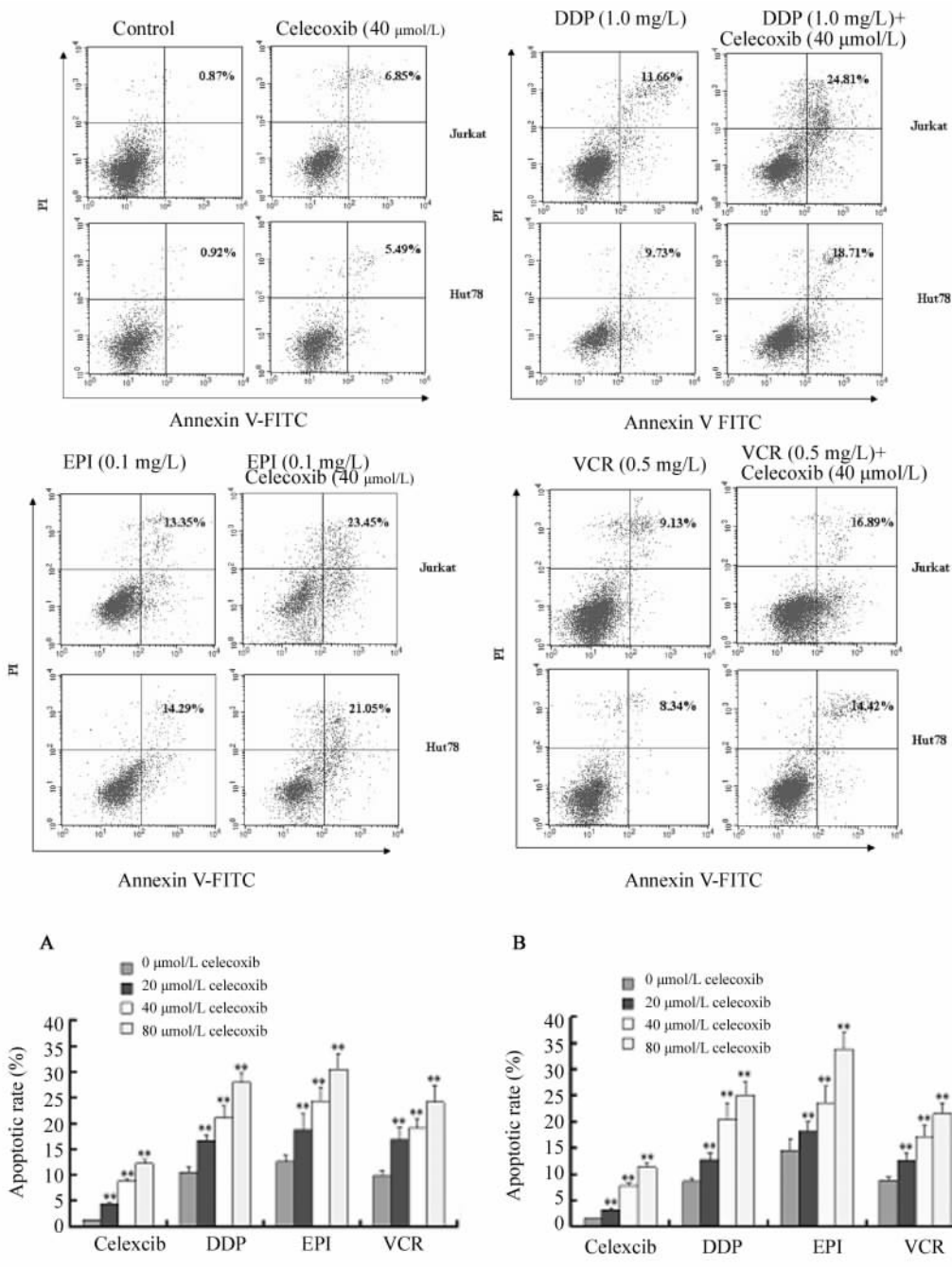


图 4 塞来昔布对 Jurkat 和 Hut78 细胞凋亡水平的影响

Fig. 4 Effect of celecoxib on apoptosis of Jurkat and Hut78 cells

A: Jurkat cell; B: Hut78 cell; ** $P < 0.01$ vs 0 μmol/L celecoxib

3 讨论

目前,NSAIDs 对恶性肿瘤作用的研究已取得了可喜的成绩,但整体而言,该类药物对各类肿瘤治疗

中的作用仍处于试验和探索阶段。塞来昔布作为一种新型 NSAIDs,临床上主要用于各种原因引起的发热及风湿类疾病的治疗,它对血液肿瘤的作用目前相关研究依然较少,特别是对 T 细胞淋巴瘤化疗敏

感性的影响及其作用机制,至今国内仍未见报道。

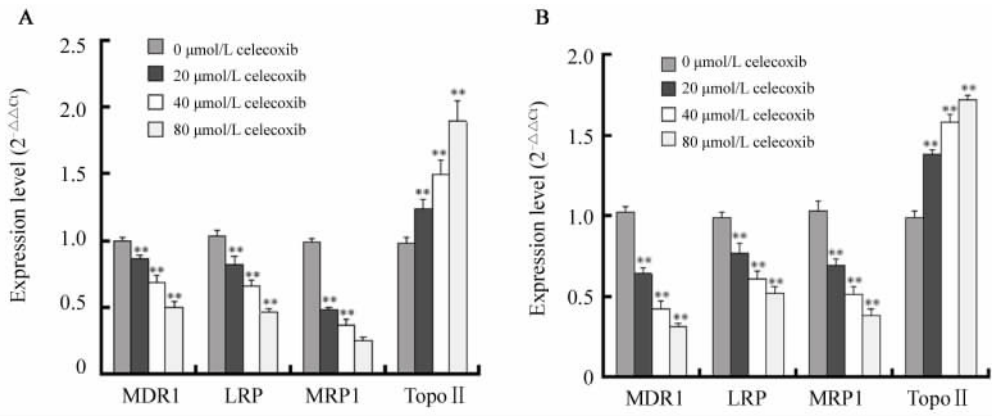


图5 塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 *MDR1*、*MRP1*、*LRP* 及 *Topo II* mRNAs 表达的影响
 Fig. 5 Effect of celecoxib on expressions of *MDR1*, *MRP1*, *LRP* and *Topo II* mRNAs in Jurkat and Hut78 cells

A: Jurkat cells; B: Hut78 cells; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib

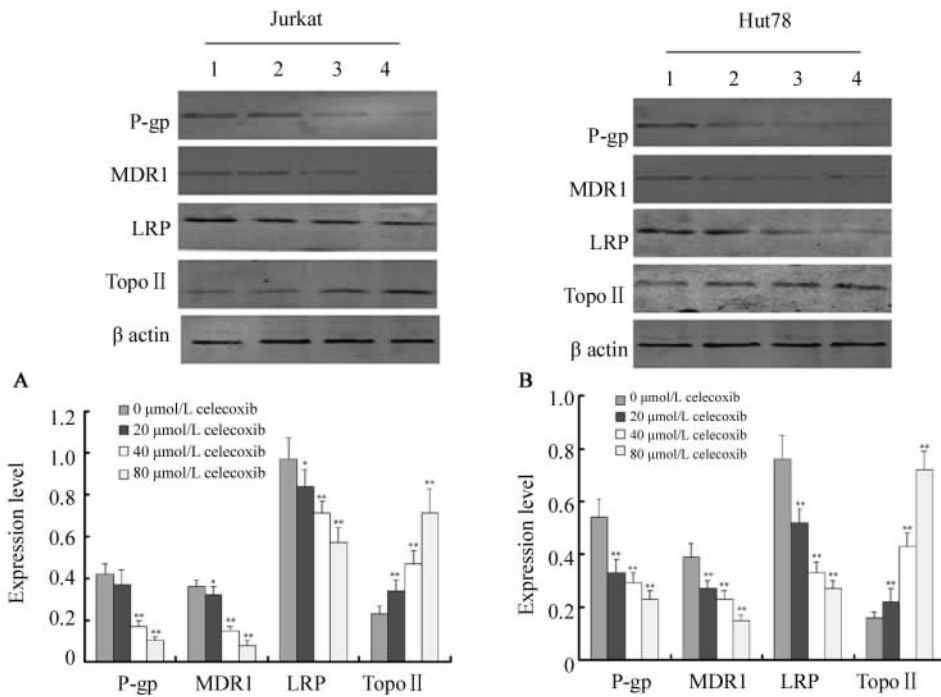


图6 塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 P-gp、MRP1、LRP 及 Topo II 蛋白表达水平的影响
 Fig. 6 Effect of celecoxib on expressions of P-gp, MRP1, LRP and Topo II proteins in Jurkat and Hut78 cells

A: Jurkat cells; B: Hut78 cells; 1: 0 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib; 2: 20 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib; 3: 40 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib; 4: 80 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib

为了解塞来昔布对 T 细胞淋巴瘤增殖及化疗敏感性的影响,本研究通过体外培养人 T 细胞淋巴瘤 Jurkat 及 Hut78 细胞系,观察了塞来昔布单独或联合临床常用化疗药 CDDP、表柔比星及 VCR 对 T 细胞淋巴瘤增殖、凋亡的影响。结果发现,塞来昔布

对 T 细胞淋巴瘤增殖呈明显时间、剂量依赖性抑制。同时,塞来昔布联合化疗药物 CDDP、表柔比星及 VCR,可明显增强这些化疗药物对 Jurkat 及 Hut78 细胞的抑制作用,且这些化疗药物的 IC_{50} 值随塞来昔布浓度增加而下降,同时两种细胞的凋亡

水平均随塞来昔布浓度的增高而显著增加,说明塞来昔布能够有效促进 T 细胞淋巴瘤 Jurkat 及 Hut78 系细胞对化疗药物的敏感性,因而提示塞来昔布具备作为化疗增敏剂的潜力,故在 T 细胞淋巴瘤临床治疗中可能具有防治 MDR 发生的作用。而且,塞

来昔布对正常人外周血 MNC 细胞活性及 T、B 淋巴细胞的增殖能力均无明显影响,说明该药用于 T 细胞淋巴瘤治疗可能对正常免疫细胞毒副作用较低,因此临床应用具有较高的安全性。

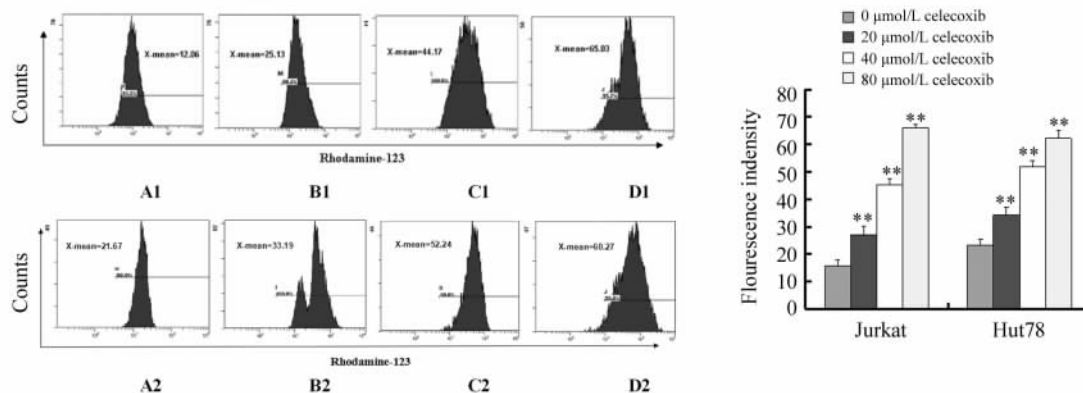


图 7 塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞 Rhodamine-123 积累能力的影响

Fig. 7 Effect of celecoxib on intracellular accumulation of Rhodamine-123 in the Jurkat and Hut78 cells

A1, A2: 0 μmol/L celecoxib; B1, B2: 20 μmol/L celecoxib; C1, C2: 40 μmol/L celecoxib; D1, D2: 80 μmol/L celecoxib
A1, B1, C1 and D1: Jurkat cell line; A2, B2, C2 and D2: Hut78 cell line; ** $P < 0.01$ vs 0 mol/L celecoxib

肿瘤细胞耐药相关蛋白编码基因 *MDR1*、*MRP1*、*LRP* 及 *Topo II* 的异常表达是造成肿瘤细胞对化疗药物敏感性下降并导致 MDR 发生的重要机制。P-gp 由 *MDR1* 基因编码,其主要功能是将肿瘤细胞内的多种化疗药物泵出,防止药物的胞质内聚集^[5-7];MRP1 作用机制与 P-gp 类似,它可有效识别肿瘤细胞中偶联于谷胱甘肽的化疗药物,并将其排出至胞外^[8-9]。有研究^[9]指出,T 细胞淋巴瘤中 P-gp 及 MRP1 的高表达往往提示临床化疗疗效较差;所以不同浓度塞来昔布作用后,其可通过下调 P-gp 及 MRP1 蛋白的表达而增加胞内药量聚集而促进化疗药对肿瘤细胞的杀伤作用。LRP^[7, 10]是细胞内一种核质转运蛋白,可通过外排作用有效抑制胞核内药物聚集。有研究^[7]表明,其表达水平往往与 P-gp 呈明显正相关,因而可能在肿瘤 MDR 的发生过程中与 P-gp 等耐药相关蛋白发挥协同作用。Topo II 主要分布在胞核内,它是细胞内重要的核酶类物质,具有 DNA 内切及连接酶功能,并参与细胞的有丝分裂,它也是多种化疗药物的重要靶点,其表达下调会明显抑制 DNA 酶解离复合物的形成,进而降低化疗药物对肿瘤细胞的毒性作用^[11-14]。本研究发现,塞来昔布作用后,*MDR1*、*MRP1* 及 *LRP* mRNA 及其编码蛋白表达水平均明显减低,而 *Topo II* mR-

NA 表达水平明显增高,因此,塞来昔布可通过作用于多个靶点增强 T 细胞淋巴瘤对化疗药物的敏感性。

此外,本实验还通过 Rhodamine-123 聚集实验检测塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞内 Rhodamine-123 含量的影响,以间接反映细胞外排化疗药物的能力^[10, 15],结果发现,塞来昔布作用后的 Jurkat 及 Hut78 细胞内 Rhodamine-123 含量明显高于对照组,这从另外一个角度,说明塞来昔布能够显著抑制 T 细胞淋巴瘤对化疗药物的外排作用,进一步解释了塞来昔布对 Jurkat 及 Hut78 细胞的化疗增敏作用。

总之,本研究发现塞来昔布可通过调节 Jurkat 及 Hut78 细胞耐药相关蛋白编码基因的表达,促进化疗药物在瘤细胞内的聚集,进而增加化疗药物对瘤细胞的诱导凋亡作用,提示塞来昔布在 T 细胞淋巴瘤多药耐药治疗方面具有更为广泛的潜在应用空间。

[参 考 文 献]

[1] 李杰, 薛丽英, 王超, 等. 塞来昔布对 NB4 细胞增殖凋亡及 VEGF 表达的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(2): 147-150. DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2013.02.006.
[2] 郑荣立, 姜玉杰, 王欣. 非霍奇金淋巴瘤耐药相关 microRNA 研究进展 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(5): 1490-1494.

- DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2014.05.059.
- [3] 张德庆,祝建红,陈卫昌. 塞来昔布联合 5-FU 抑制裸鼠结肠癌生长及其机制的探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(1): 15-20. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2013.01.009.
- [4] 孙静,孔冉,赵修世,等. RNAi 逆转淋巴瘤 LRP 和 Pgp 介导的多药耐药研究[J]. 现代医药卫生, 2012, 28(4): 481-484. DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2012.04.01t.
- [5] OHSAWA M, IKURA Y, FUKUSHIMA H, et al. Immunohistochemical expression of multidrug resistance proteins as a predictor of poor response to chemotherapy and prognosis in patients with nodal diffuse large B-cell lymphoma[J]. Oncology, 2005, 68(4/6): 422-431. DOI:10.1016/0009-2509(94)00216-E.
- [6] MA M, ZHAO L M, SUN G G, et al. Mda-7/IL-24 enhances sensitivity of B cell lymphoma to chemotherapy drugs[J]. Oncol Rep, 2016, 35(5): 3122-3130. DOI: 10.3892/or.2016.4622.
- [7] 袁凯,付荣湛,孙勇. P-糖蛋白和肺耐药蛋白在浸润性乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中华乳腺病杂志, 2010, 4(4): 410-416. DOI:10.3969/j.issn.1674-0807.2010.04.009.
- [8] CREA F, DUHAGON SERRAT M A, HURT E M, et al. BMI1 silencing enhances docetaxel activity and impairs antioxidant response in prostate cancer[J]. Int J Cancer, 2011, 128(8): 1946-1954. DOI: 10.1002/ijc.25522.
- [9] 王轶楠,李红民,马守东,等. P-gp170、GST- π 、TopoII 在外周 T 细胞淋巴瘤中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(8): 1543-1546. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2009.08.056.
- [10] 马鸣,杨兴肖,赵连梅,等. Mda-7/IL-24 对 B 细胞淋巴瘤化疗敏感性的影响[J]. 免疫学杂志, 2016, 32(2): 187-144. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20160029.
- [11] TOKINIWA H. Topoisomerase II alpha expression and the Ki-67 labeling index correlate with prognostic factors in estrogen receptor-positive and human epidermal growth factor type-2-negative breast cancer[J]. Breast Cancer, 2011, 19(4): 309-314. DOI: 10.1007/s12282-011-0291-4.
- [12] LU D, SHI H C, WANG Z X, et al. Multidrug resistance associated biomarkers PGP, GST- π , Topo-II and LRP as prognostic factors in primary ovarian carcinoma[J]. Br J Biomed Sci, 2011, 68(2): 69-74. DOI: 10.1097/00005392-199608000-00072.
- [13] ZHU W Y, HUNAG Y Y, LIU X G, et al. Prognostic evaluation of CapG, Gelsolin, P-gp, GSTP1, and Topo-II proteins in non-small cell lung cancer[J]. Anat Rec, 2012, 295(2): 208-214. DOI: 10.1002/ar.21523.
- [14] 楚慧丽,关雅萍,王俊. RNA 结合蛋白 HuR 在肿瘤耐药及药物敏感性中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(6): 707-711. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2014.06.020.
- [15] ZHU D, WAN X, HUANG H, et al. Knockdown of Bmi1 inhibits the stemness properties and tumorigenicity of human bladder cancer stem cell-like side population cells[J]. Oncol Rep, 2014, 31(2): 727-736. DOI:10.3892/or.2013.2919.
- [收稿日期] 2015-12-03 [修回日期] 2016-04-30
[本文编辑] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

坚决贯彻执行国家七部委联合发布的《发表学术论文“五不准”》的规定

为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,抵制学术不端行为,端正学风,维护风清气正的良好学术生态环境,重申和明确科技人员在发表学术论文过程中的科学道德行为规范,中国科协、教育部、卫生计生委、中科院、工程院和自然科学基金委等七部委联合下发了《发表学术论文“五不准”》的通知。本刊坚决贯彻执行“五不准”规定,加强对学术论文学术不端行为的审查和处罚措施。希望广大科技工作者、读者和作者,以及本刊的编委专家、审稿专家和相关工作人员都应加强学术道德自律,共同努力,捍卫学术尊严,维护良好学风。现将发表学术论文“五不准”摘录如下:

1. 不准由“第三方”代写论文。科技工作者应自己完成论文撰写,坚决抵制“第三方”提供论文代写服务。
2. 不准由“第三方”代投论文。科技工作者应学习、掌握学术期刊投稿程序,亲自完成提交论文、回应评审意见的全过程,坚决抵制“第三方”提供论文代投服务。
3. 不准由“第三方”对论文内容进行修改。论文作者委托“第三方”进行论文语言润色,应基于作者完成的论文原稿,且仅限于对语言表达方式的完善,坚决抵制以语言润色的名义修改论文的实质内容。
4. 不准提供虚假同行评审人信息。科技工作者在学术期刊发表论文如需推荐同行评审人,应确保所提供的评审人姓名、联系方式等信息真实可靠,坚决抵制同行评审环节的任何弄虚作假行为。
5. 不准违反论文署名规范。所有论文署名作者应事先审阅并同意署名发表论文,并对论文内容负有知情同意的责任;论文起草人必须事先征求署名作者对论文全文的意见并征得其署名同意。论文署名的每一位作者都必须对论文有实质性学术贡献,坚决抵制无实质性学术贡献者在论文上署名。

(本刊编辑部)