

β -谷甾醇对人自然杀伤细胞杀伤胰腺癌 SW-1990 细胞的影响

程 静^{1,2}, 刘军权³, 陈复兴³, 吕小婷³, 费素娟^{1△}, 杨 阳³ (1. 徐州医学院附属医院消化内科, 江苏徐州 221002; 2. 徐州医学院附属连云港东方医院老年科, 江苏连云港 222042; 3. 中国人民解放军第 97 医院实验科, 江苏徐州 221004)

【摘要】 目的 研究 β -谷甾醇对人自然杀伤(NK)细胞和人胰腺癌细胞株 SW-1990 增殖率和功能的影响, 并探讨其可能的作用机制。**方法** 采用本室建立的专用培养液培养 NK 细胞。不同浓度的 β -谷甾醇作用于 NK 细胞及胰腺癌 SW-1990 细胞, 四甲基偶氮唑蓝法测定 β -谷甾醇对 NK 细胞及胰腺癌 SW-1990 细胞生长的影响; 流式细胞仪检测胰腺癌 SW-1990 细胞生长周期和凋亡情况; 乳酸脱氢酶法评价经不同浓度 β -谷甾醇干预后, NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞杀伤活性的变化。**结果** 浓度为 1.25~10.00 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后, NK 细胞生长抑制率呈负数, 较对照组明显降低 ($P<0.05$), 但浓度增加到 40~80 $\mu\text{g/mL}$ 后, NK 细胞生长抑制率较对照组显著增高 ($P<0.05$); 浓度为 10~80 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇对胰腺癌 SW-1990 细胞生长有明显抑制作用 ($P<0.05$); 浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用后胰腺癌 SW-1990 细胞凋亡率为 27.18%, 较对照组及低浓度组明显增加 ($P<0.05$); β -谷甾醇使 SW-1990 细胞周期主要停滞于 S 期; 浓度为 1.25 及 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后, NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤活性显著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 1.25 $\mu\text{g/mL}$ 时达最高峰 (76.3%); 当 β -谷甾醇浓度大于 5 $\mu\text{g/mL}$, NK 细胞的杀伤活性随药物浓度的增加逐渐下降。**结论** β -谷甾醇能够有效提高 NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤能力。

【关键词】 β -谷甾醇; 自然杀伤细胞; 胰腺癌 SW-1990 细胞株; 细胞凋亡; 杀伤活性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.24.020 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)24-3078-03

Effects of the human Natural Killer (NK) cells on pancreatic cancer cell lines SW-1990 treated by β -sitosterol CHENG Jing^{1,2}, LIU Jun-quan³, CHEN Fu-xing³, LV Xiao-ting³, FEI Su-juan^{1△}, YANG Yang³ (1. Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Jiangsu 221002, China; 2. Department of Gerontology, East Hospital of Lianyungang, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Lianyungang, Jiangsu 222042, China; 3. Laboratory, No. 97 Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu 221004, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of β -sitosterol on the proliferation of NK cells and human pancreatic cancer cell line SW-1990, and to discuss the possible mechanism of action. **Methods** The NK cells were cultured in special culture established by our laboratory. After culturing the NK cells and SW-1990 cell line with different concentrations of β -sitosterol, the effect of β -sitosterol on growth of NK cells and SW-1990 cell line was detected by MTT assay, cell cycle and apoptosis of SW-1990 cell line were analyzed by Flow Cytometry (FCM). In addition, the cytotoxic activity of NK cells in SW-1990 cell line induced by β -sitosterol in different concentrations was evaluated with LDH method. **Results** After culturing with 1.25 to 10 $\mu\text{g/mL}$ of β -sitosterol for 48 hours, the growth inhibition rate of NK cells was minus, decreased significantly compared with the control group ($P<0.05$), when the concentration of β -sitosterol was increased to 40~80 $\mu\text{g/mL}$, the growth inhibition rate of NK cells increased significantly compared with the control group ($P<0.05$). 10~80 $\mu\text{g/mL}$ of β -sitosterol can significant inhibit the growth of SW-1990 ($P<0.05$), apoptosis rate of SW-1990 cell line was 27.18% when β -sitosterol was 10 $\mu\text{g/mL}$, increased significantly compared with the control group and the low concentration group ($P<0.05$). Cell cycle of SW-1990 was arrested in S-phase induced by β -sitosterol. After culturing with 1.25 and 2.5 $\mu\text{g/mL}$ of β -sitosterol for 48 hours, the cytotoxic activity of NK cells on SW-1990 increased significantly when compared with the control group ($P<0.05$), and reached a peak (76.3%) in 1.25 $\mu\text{g/mL}$. When the concentration of β -sitosterol above 5 $\mu\text{g/mL}$, the cytotoxic activity of NK cells decreased with increasing drug concentration. **Conclusion** The β -sitosterol could strengthen the cytotoxicity of NK cells against human pancreatic cancer cells SW-1990.

【Key words】 β -sitosterol; NK cells; Pancreatic cancer cell line SW-1990; Apoptosis; Cytotoxic activity

近年发现的基因干扰和靶向治疗,使胰腺癌的防治工作有了突破性进展。从植物中提取天然活性物质进行综合调节治疗胰腺癌也成为近年研究的热点。 β -谷甾醇是植物甾醇类成分之一,具有许多重要的生理功能。近年来有研究报道, β -谷

甾醇对乳腺癌、大肠癌、胃癌、肺癌、宫颈癌等肿瘤细胞的生长有一定抑制作用^[1]。还有研究发现, β -谷甾醇可诱导淋巴细胞增殖,提高机体细胞的免疫力^[2]。目前,国内外针对 β -谷甾醇的研究多集中在宫颈癌、结肠癌等方面,而对胰腺癌作用的报

道很少。故本课题拟对 β -谷甾醇在自然杀伤(NK)细胞杀伤胰腺癌 SW-1990 细胞作用中的影响进行初步研究,为临床治疗胰腺癌提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料 β -谷甾醇(含量 $>98\%$,本实验室制备);SW-1990 人胰腺癌细胞株(中国科学院上海细胞生物学研究所,本室液氮保存);RPMI 1640、胎牛血清(Gibco 公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲亚砜(DMSO)(Sigma 公司);乳酸脱氢酶试剂盒(日本世诺临床诊断制品株式会社);IL-2 抗体(厦门特宝生物公司);FITC 和 PCP 标记的抗人 CD3, FITC 标记的抗人 CD16/CD56, PE 标记的抗人 CD3 抗体均购自杭州联科生物。Encore 自动生化分析仪(北京希亚克技术有限公司);流式细胞分析仪(BECTONDICKINSON 公司);流式细胞仪分析软件为 CellQuest, 每个标本分析细胞数大于或等于 1×10^4 ;恒温 CO_2 培养箱(Herscuas 公司),倒置显微镜(德国 Wilovert 公司),ST-360 酶标仪(上海科华实验系统有限公司)等。

1.2 方法

1.2.1 人 NK 细胞的培养和鉴定 采集健康人外周血液 100 mL,加入等量 pH 7.4 磷酸盐缓冲液(PBS),将外周血单核细胞(PBMC)悬浮后加入淋巴细胞分离液,以 2 000 r/min 离心 15 min,吸取 PBMC,生理盐水洗涤 3 遍(1 500 r/min 离心,10 分钟/次),使用 NK 细胞专用培养液(含 10% 胎牛血清、2 mmol/L 谷氨酰胺、20 mmol/L 磷酸盐缓冲液(HEPES)、青链双抗)将细胞配成 5×10^8 /L 的细胞悬液,置于 75 cm^2 细胞培养瓶中,置 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养,隔天换液并调整细胞密度至 1×10^6 /L。在每个时间段使用倒置显微镜观察 NK 细胞形态及生长情况。收集培养 10 d 的贴壁细胞进行细胞表面标志物检测和相关实验。

1.2.2 人胰腺癌 SW-1990 细胞培养 从液氮中取胰腺癌细胞株 SW-1990 于 37°C 水温箱复苏,置含 10% 的小牛血清 RPMI-1640 培养液中,于 37°C 、5% CO_2 条件下扩增培养,取对数生长期的贴壁细胞进行相关试验。

1.2.3 MTT 法检测 β -谷甾醇对 NK 细胞和 SW-1990 细胞生长的影响 取培养 10 d 的 NK 细胞和对数生长期的 SW-1990 细胞,配成 4×10^5 /mL,分别接种于 96 孔板中,每孔 0.2 mL,于 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养,24 h 后加入 β -谷甾醇(终浓度分别为 0.15、0.3、0.6、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$),设不加药物的对照组及空白组,每组设 5 个复孔。继续培养 48 h 后每孔加入 MTT 20 μL ,4 h 后弃上清液,加入 150 μL DMSO,轻轻振荡 10 min,待其沉淀产物完全溶解;酶标仪 492 nm 处测定各孔光密度(A)值,求其平均值;同时计算细胞生长抑制率,并绘制生长抑制率曲线。细胞生长抑制率($\%$)=[(对照 A-空白 A)-(实验 A-空白 A)]/(对照 A-空白 A) $\times 100\%$ 。每组实验重复 3 次,取平均值。

1.2.4 流式细胞术(FCM)检测 β -谷甾醇对胰腺癌 SW-1990 细胞周凋亡和周期的影响 收集对数生长期 SW-1990 细胞以每孔 1×10^6 接种于 6 孔板,按实验分组,每组设 3 个复孔,实验组分别加入不同浓度的 β -谷甾醇(根据 MTT 检测结果选择药物浓度,使其终浓度为 0.3、1.25、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),同时设对照组。诱导培养 24 h 后收集细胞,PBS 将细胞密度调整为 1×10^6 /mL,取其细胞悬液 0.1 mL,1 500 r/min,离心 5 min,70% 冷乙醇固定,轻轻振荡,PBS 洗涤 3 次,每次洗涤后 800 r/min,离心 2~3 min 去上清液。加入 PI 染液 1 mL(生理盐水 129.6 mL,PI 100 μg ,RNA 酶 2 mg,Triton-X-100 1 mL,枸橼酸钠

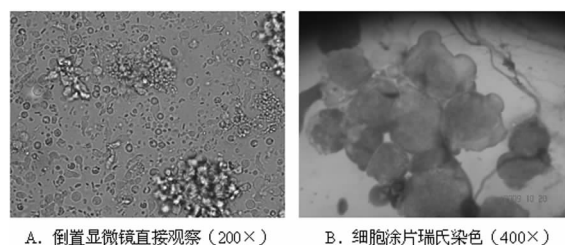
200 mg,加双蒸水至 200 mL), 4°C 避光染色 30 min,FCM 检测,记录激发波长 488 nm 处的红色荧光。每个样本分析 10 000 个细胞。每检测样本重复 3 遍,取平均值。

1.2.5 乳酸脱氢酶(LDH)释放法检测 NK 细胞对 SW-1990 细胞的杀伤活性 按刘军权等^[3]建立的 LDH 释放法进行。取培养 10 d 的 NK 细胞配成 4×10^5 /mL,加入 6 孔细胞培养板中,每孔 3 mL,加入不同浓度的 β -谷甾醇(终浓度为 0.15、0.3、0.6、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$),同时设对照组。继续培养 48 h 后收集 NK 细胞,洗涤 2 次,配成 4×10^6 /mL 的细胞悬液为效应细胞;收集对数生长期的 SW-1990 细胞洗涤 2 次后,配成 4×10^5 /mL 的细胞悬液为靶细胞,靶细胞比 10:1,500 r/min,离心 3 min,置 37°C 、5% CO_2 培养箱中孵育 5 h 后将细胞混匀,再以 1 500 r/min 离心 10 min,收集上清液,用 LDH 试剂盒按说明书要求操作,靶细胞自然释放组,靶细胞最大释放组,效应细胞自然释放组,实验组,每组设 5 个复管。放入 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 4 h,轻轻混匀细胞,1 500 r/min 离心 10 min,收集上清液。在 Encore 全自动生化分析仪 340nm 波长下测定吸光度值(A)。杀伤活性($\%$)=(A 实验组-A 效应细胞自然释放组)/(A 靶细胞最大释放组-A 靶细胞自然释放组) $\times 100\%$ 。每检测样本重复 3 遍,取平均值。

1.3 统计学处理 所有数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS16.0 统计分析软件进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NK 细胞形态学观察和纯度鉴定 PBMC 在 NK 细胞培养基中培养 24 h 即可见贴壁生长,48 h 后集落开始变大,10 d 后可见大的集落和单个贴壁生长细胞。培养 10 d 的 NK 细胞涂片行瑞姬氏染色(瑞姬氏染色)发现大多数细胞直径为 10~16 μm ,圆形或椭圆形,亦有不规则形者。细胞核偏位,椭圆形、肾形或有切迹,紫红色,染色质致密,块状,无核仁。胞浆丰富,着色较浅,淡蓝色,有的细胞胞浆着色不均匀,核周界不明显。胞浆中均含有紫红色的嗜天青颗粒,其大小为 0.1~0.7 μm ,数量和分布不一。FCM 检测结果显示,培养的 NK 细胞 CD3⁺CD16⁺CD56⁺ 阳性率为 68.6%(图 1)。



A. 倒置显微镜直接观察(200 $\times$) B. 细胞涂片瑞姬氏染色(400 $\times$)

图 1 培养 10 d 后 NK 细胞形态

2.2 β -谷甾醇对 NK 细胞和胰腺癌 SW-1990 细胞生长的影响 当浓度为 1.25~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后,NK 细胞生长抑制率为负数,较对照组明显降低($P<0.05$),提示此浓度范围的 β -谷甾醇能够促进 NK 细胞增殖;但浓度增加到 40~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,NK 细胞生长抑制率较对照组显著增高($P<0.05$),提示此浓度的 β -谷甾醇对 NK 细胞具有杀伤作用;其余浓度的 β -谷甾醇作用后 NK 细胞生长抑制率与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。浓度为 0.15~5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后,胰腺癌 SW-1990 细胞的生长抑制率与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);而浓度为 10~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 β -谷甾醇作用后,胰腺癌 SW-1990 细胞生长

抑制率均较对照组显著增高($P<0.05$),且随着 β -谷甾醇浓度的逐渐增加,胰腺癌 SW-1990 细胞的生长抑制率逐渐上升,经 SPSS16.0 相关性分析, β -谷甾醇浓度与胰腺癌 SW-1990 细胞生长抑制率呈正相关($P<0.05$)。

2.3 β -谷甾醇对胰腺癌 SW-1990 细胞周期和凋亡的影响 当 β -谷甾醇分别在 0.3、1.25、5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时,与对照组比较,胰腺癌 SW-1990 细胞凋亡率,差异无统计学意义($P>0.05$); β -谷甾醇浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 时,胰腺癌 SW-1990 细胞凋亡率较对照组显著增加(27.18%和 19.54%, $P<0.05$,见表 1),提示较高浓度(10 $\mu\text{g/mL}$)的 β -谷甾醇能够促进胰腺癌 SW-1990 细胞凋亡。另外, β -谷甾醇浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 时,S 期细胞比例较对照组明显增加($P<0.05$),而其他浓度组与对照组比较,S 期细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$),表明较高浓度(10 $\mu\text{g/mL}$)的 β -谷甾醇能够将胰腺癌 SW-1990 细胞周期阻滞于 S 期(表 2)。

表 1 不同浓度 β -谷甾醇对胰腺癌 SW-1990 细胞凋亡的影响($n=9,\bar{x}\pm s$)			
β -谷甾醇浓度($\mu\text{g/mL}$)	细胞总数	凋亡细胞数	凋亡率(%)
0(对照组)	3 260 $\pm$ 315.3	637 $\pm$ 66.1	19.54 $\pm$ 1.6
0.3	3 329 $\pm$ 326.1	657 $\pm$ 53.5	19.74 $\pm$ 1.9
1.25	3 366 $\pm$ 297.8	669 $\pm$ 49.8	19.88 $\pm$ 1.3
5	3 370 $\pm$ 229.4	675 $\pm$ 69.3	20.03 $\pm$ 1.5
10	3 458 $\pm$ 345.6	940 $\pm$ 76.2	27.18 $\pm$ 1.7*

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表 2 不同浓度 β -谷甾醇对胰腺癌细胞株 SW-1990 细胞周期的影响($n=9,\bar{x}\pm s$)				
β -谷甾醇浓度($\mu\text{g/mL}$)	G1	G2	S	G2/G1
0(对照组)	39.63 $\pm$ 3.6	0.05 $\pm$ 0.01	60.32 $\pm$ 6.1	2.21 $\pm$ 0.03
0.3	35.23 $\pm$ 3.5	0.48 $\pm$ 0.04	64.29 $\pm$ 6.2	2.33 $\pm$ 0.02
1.25	26.40 $\pm$ 2.6	1.95 $\pm$ 0.02	71.65 $\pm$ 6.8	2.52 $\pm$ 0.02
5	24.94 $\pm$ 2.4	2.07 $\pm$ 0.02	72.99 $\pm$ 6.9	2.64 $\pm$ 0.03
10	14.90 $\pm$ 1.6	2.52 $\pm$ 0.03	82.59 $\pm$ 7.3*	3.05 $\pm$ 0.03

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

2.4 β -谷甾醇对 NK 细胞杀伤 SW-1990 细胞活性的影响 浓度为 1.25 及 2.50 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后,NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤活性明显增强,均显著高于对照组($P<0.05$),且在 1.25 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时达最高峰(76.3%);当浓度大于 5 $\mu\text{g/mL}$ 时,随着药物浓度的增加,NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤活性逐渐下降。

3 讨 论

本研究所用 β -谷甾醇为头花蓼提取物。头花蓼为蓼科蓼属植物,又名四季红、石莽草、红酸杆、太阳草、水绣球,多年生草本,为贵州特有的苗药,全草入药,味苦、辛,性凉,归肾、膀胱经,具有清热利湿、解毒止痛、和血散瘀、利尿通淋的功效^[4]。 β -谷甾醇也是植物界最普遍存在的甾醇,主要的植物来源有豆油、棉子油、玉米油等,其药理作用主要有:抗炎、降血胆固醇、抗癌、止咳等^[5-6]。Rathee 等^[5]研究发现,从中药中分离的 β -谷甾醇对人体正常细胞毒性较低。Baskar 等^[7]报道, β -谷甾醇可防止脂质过氧化,提高抗氧化状态,减少 1,2-二甲胂诱导的

大鼠大肠癌发生。近期还有研究发现, β -谷甾醇能通过 c-myc 基因阻滞 MCF-7 和 A549 细胞的细胞周期,使细胞阻滞在 G2/M 期,并提高细胞的凋亡率^[8]。目前有关 β -谷甾醇抗肿瘤作用机制的初步研究结果包括:对细胞膜的作用、诱导肿瘤细胞凋亡、影响细胞信号转导途径、影响免疫系统和对性激素的调节作用等^[9]。Hsu 等^[10]还发现,从独角彩叶草中提取的 β -谷甾醇主要是通过阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡而抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖。

目前针对 β -谷甾醇的研究大多集中在宫颈癌、结肠癌等方面,而对胰腺癌作用的报道很少,故本文对 β -谷甾醇在胰腺癌细胞增殖、凋亡以及 NK 细胞对其杀伤作用中的影响进行了初步研究。本实验应用 β -谷甾醇分别作用于 NK 细胞和胰腺癌 SW-1990 细胞,MTT 法检测发现,浓度在 10~80 $\mu\text{g/mL}$ 时 β -谷甾醇能有效抑制胰腺癌 SW-1990 细胞的增殖,而对 NK 细胞增殖则具有双向调节作用,浓度为 1.25~10.00 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇能促进 NK 细胞增殖,浓度为 40 及 80 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇能抑制 NK 细胞增殖。

活化的 NK 细胞可合成和分泌多种细胞因子,发挥调节免疫以及直接杀伤靶细胞的作用。NK 细胞因能迅速溶解某些肿瘤细胞而成为近年来抗肿瘤研究的热点。本实验中,浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用于胰腺癌 SW-1990 细胞 24 h 后,S 期细胞比例为 82.59%,与对照组比较显著增高,提示胰腺癌 SW-1990 细胞主要被阻滞在 S 期,从而影响细胞周期进程。

从本组实验结果可以看出, β -谷甾醇在某些浓度范围不仅能够促进 NK 细胞的增殖,而且能够提高 NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤活性。浓度为 1.25 $\mu\text{g/mL}$ 的 β -谷甾醇作用 48 h 后 NK 细胞的杀伤活性最强。大于 1.25 $\mu\text{g/mL}$ 时,其杀伤活性则呈下降趋势,说明 β -谷甾醇对 NK 细胞的作用有浓度窗现象,为进一步研究提供了依据。

本实验中应用 β -谷甾醇作用于 NK 细胞,结果显示, β -谷甾醇能够有效提高 NK 细胞对胰腺癌 SW-1990 细胞的杀伤能力,其机制可能与 β -谷甾醇促进 NK 细胞增殖,阻滞胰腺癌 SW-1990 细胞周期和诱导细胞凋亡有关,为 β -谷甾醇在辅助治疗胰腺癌的临床应用中提供了一定的理论基础。但是, β -谷甾醇增强 NK 细胞杀伤活性的途径及抑制胰腺癌 SW-1990 细胞增殖的机制仍需进一步研究。

参考文献

[1] Malek SN, Lee GS, Hong SL, et al. Phytochemical and cytotoxic investigations of Curcuma mangga rhizomes[J]. Molecules, 2011, 16(6): 4539-4548.

[2] O'Callaghan YC, Foley DA, O'Connell NM, et al. Cytotoxic and apoptotic effects of the oxidized derivatives of stigmasterol in the U937 human monocytic cell line[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(19): 10793-10798.

[3] 刘军权, 韩慧敏, 陈复兴. 用乳酸脱氢酶试剂盒检测 LAK 细胞活性[J]. 临床医学检验, 1995, 13(2): 83.

[4] 费喜佳, 徐德昌. Hela 细胞的 microRNA 芯片分析及 β -谷甾醇的抑癌路径预测[J]. 生物医学信息, 2012, 10(1): 20-26.

[5] Rathee P, Rathee D, Rathee D, et al. In-vitro cytotoxic activity of β -Sitosterol triacontenate isolated from Capparis decidua (Forsk.) Edgew [J]. Asian Pac J Trop Med, 2012, 5(3): 225-230.

(下转第 3082 页)

疗后为 9.0 分,降低了 61.2%。治疗前后细菌清除情况:观察组治疗后细菌清除率为 60%;对照组治疗细菌清除率为 66.7%。以上 3 个方面治疗前后两组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 不良反应 观察组和对照组无 1 例因不良反应而停止治疗。观察组中 2 例患者出现局限性皮炎,未经特殊处理即痊愈。对照组中 8 例患者出现不同程度的胃肠道反应和恶心不适,1 例全身多处皮肤出现皮疹,有瘙痒症状,给予息斯敏口服后消退。

3 讨 论

慢性前列腺炎病因复杂,发病机制至今仍不甚清楚,导致临床上对它的治疗也存在诸多争议,因而治疗效果欠佳,对慢性前列腺炎的治疗成了一个棘手的难题。目前治疗上强调综合治疗和个体化原则。对于慢性细菌性前列腺炎,临床上对这类患者以抗菌治疗为主,同时根据个体不同症状给予抗炎和改善症状的综合治疗。药物治疗的给药途径多为口服和注射,存在用药时间长、起效慢、不良反应多的缺点,同时由于前列腺坚韧的包膜,到达前列腺组织中的血药浓度较低,治疗效果相对较差。

超声电导靶向经皮给药技术是近年国外出现的一种经皮药物渗透的新方法^[1]。它通过电致孔、超声空化和现代离子导入技术的综合应用,首先产生药物透入的人工通道,继而在物理能的驱动下透入体内,可使药物在组织中有效浓集和浸润,提高了药物对靶组织的作用,而进入血液中的药物浓度很低,可被迅速地排泄^[2-6]。同时促进药物分子由细胞外向细胞内的转运,使一些细胞内作用的药物疗效大大提高,如抗肿瘤药物、部分抗菌药物等。现代经皮给药技术被称为口服和注射之后的第 3 代给药途径,它可避免药物在肝脏的“首过效应”和胃肠道的降解破坏,减少血药浓度的峰谷变化,减少个体差异和毒副作用^[7],是对传统给药观念的突破,具有无痛、无创、方便安全的特点。这一方法现已广泛应用于癌痛、实体瘤局部化疗、血栓性疾病和一些局灶性疾病的局部药物治疗。在泌尿疾病的治疗上,该方法除可用于急、慢性前列腺炎外,同样适用于精囊炎、前列腺增生以及附睾炎炎症等。

本研究中观察组所用药物为抗菌药物、改善微循环药物、非甾体类消炎药和 α 受体阻滞剂的混合制剂,药物间无配伍禁

忌。该给药方法提高了药物生物利用度,所用剂量仅为常用剂量的 1/4 左右。药物在超声电导作用下经皮直达前列腺组织中,起效快,作用直接,组织中药物浓度稳定,副反应轻微。

本研究中观察组的治疗有效率、CPSI 评分下降情况及细菌清除率与对照组相似,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$),但观察组副反应的发生率明显低于对照组,患者的平均治疗疗程也短于对照组。作者认为,超声电导经皮靶向给药作为一种新型的给药方法,用于治疗慢性细菌性前列腺炎具有较好的效果,与口服给药治疗效果相似,但该给药方式安全、方便而有效,由此可认为是慢性前列腺炎治疗方法上的一个有益的选择。

参考文献

[1] 童华,胡晋红,范国荣. 低频超声导入法透皮给药研究进展[J]. 国外医药,2002,23(6):366-369.
[2] Pliquett U. Mechanistic studies of molecular transdermal transport due to skin electroporation[J]. Adv Drug Deliv Rev,1999,35(1):41-60.
[3] Tang H,Wang CC,Blankschtein D,et al. An investigation of the role of cavitation in low-frequency ultrasound-mediated transdermal drug transport[J]. Pharm Res,2002,19(8):1160-1169.
[4] 许景峰. 药物经皮离子导入与皮肤电化学的研究进展[J]. 解放军药学学报,2003,19(4):283-284.
[5] Doan N,Reher P,Meghji S,et al. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation,protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts,osteoblasts,and monocytes[J]. Oral Maxillofac Surg,1999,57(4):409-419.
[6] Ng KY,Liu Y. Therapeutic ultrasound:its application in drug delivery[J]. Med Res Rev,2002,22(2):204-223.
[7] Habermacher GM,Chason JT,Schaeffer AJ. Prostatitis / chronic pelvic pain syndrome[J]. Annu Rev Med,2006,57:195.

(收稿日期:2012-008-07)

(上接第 3080 页)

[6] Nirmal SA,Pal SC,Mandal SC,et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of β -sitosterol isolated from Nyctanthes arbortristis leaves[J]. Inflammopharmacology,2012,20(4):219-224.
[7] Baskar AA,Al Numair KS,Gabriel Paulraj M,et al. β -Sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer[J]. J Med Food,2012,15(4):335-343.
[8] Sundarraj S,Thangam R,Sreevani V,et al. γ -Sitosterol from Acacia nilotica L. induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through c-Myc suppression in MCF-7 and

A549 cells[J]. J Ethnopharmacol,2012,141(3):803-809.
[9] Grajales-García EM,Osorio-Díaz P,Goñi I,et al. Chemical composition, starch digestibility and antioxidant capacity of tortilla made with a blend of quality protein maize and black bean[J]. Int J Mol Sci,2012,13(1):286-301.
[10] Hsu HF,Huang KH,Lu KJ. Typhonium blumei extract inhibits proliferation of human lung adenocarcinoma A549 cells via induction of cell cycle arrest and apoptosis[J]. J Ethnopharmacol,2011,135(2):492-500.

(收稿日期:2012-07-15)