

bFGF 及其抗体对裸鼠皮下移植膀胱癌生长影响的研究

谢庆祥¹, 周最明², 韩聪祥¹, 林吓聪¹

Influence of bFGF and Its Antibody on the Growth of Bladder Tumor in Nude Mice

XIEQing-xiang¹, ZHOUZui-ming², HANCon-g-xiang¹, LINXia-cong¹

1. Department of Urology, the 175th Hospital of PLA, Zhanzhou 363000, China; 2. The Second Affiliated Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510280

Abstract: Objective To investigate the effects of basic fibroblast

growth factor (bFGF) and its antibody on xenograft bladder tumor in nude mice and elucidate their mechanisms.

Methods The animal model of xenografted bladder cancer of EJ cell line was established in 40 nude mice and was randomly divided into following groups: bFGF group and control group, anti-bFGF antibody group and control group. The expressions of PCNA and microvessel density (MVD) in tumor tissue were assessed by immunohistochemistry. **Results** (1) The volume and weight of tumor, PCNA index and MVD of tumor tissue in bFGF treated group were significantly higher than those in control group, respectively; (2) The volume and weight of tumor, PCNA index and MVD of tumor tissue in anti-bFGF antibody treated group were significantly lower than those in control group, respectively. **Conclusion** bFGF can promote growth of bladder cancer while anti-bFGF antibody has antitumor effect on bladder cancer, and that at least in part, the important mechanisms of their action involve regulating bladder cancer cell growth and angiogenesis.

Keywords: Bladder neoplasms; Fibroblast growth factor, basic; Proliferating cell nuclear antigen; Angiogenesis

摘要: 目的 探讨碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)及其抗体对裸鼠人膀胱癌移植瘤生长的影响和作用机制。方法 建立膀胱癌 EJ 细胞裸鼠皮下移植瘤动物模型,观察 bFGF 和 bFGF 抗体对裸鼠皮下瘤生长状况的影响;应用免疫组织化学方法检测肿瘤组织中增殖细胞核抗原(PCNA)和血管相关抗原的表达。结果 (1) bFGF 治疗组皮下瘤体积和重量分别比对照组显著增多,瘤组织中 PCNA 指数和微血管密度(MVD)也显著提高;(2) bFGF 抗体治疗组皮下瘤体积和重量比对照组均显著减少,瘤组织中 PCNA 指数和 MVD 也显著降低。结论 bFGF 能够促进膀胱癌生长而 bFGF 抗体具有抑制肿瘤的作用,其作用机制与调控肿瘤细胞增殖和血管形成有关。

关键词: 膀胱肿瘤;碱性成纤维细胞生长因子;增殖细胞核抗原;血管形成

中图分类号:R737.14 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2004)09-0521-02

0 引言

碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是一种具有促进细胞分化、增殖和血管形成等多种生物学活性的多肽生长因子,研究表明其与恶性肿瘤生长、转移等有密切关系^[1,2]。我们采用荷瘤裸鼠模型研究 bFGF 及其抗体对膀胱癌生长的影响,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料 Balb/c 裸鼠 40 只,5~6 周龄,性别不限,体重 18~20g,无菌条件下饲养,并保持室内一定的湿度和温度(25~28)。人膀胱癌 EJ

细胞株用含水 10% 小牛血清、100U/ml 青霉素及 100μg/ml 链霉素的 RPMI1640 培养基常规条件培养。bFGF 及其抗体购自 Sigma 公司。

1.2 荷瘤裸鼠模型的建立 将细胞浓度为 10⁷/ml 的膀胱癌 EJ 细胞悬液 0.1 ml 接种于裸鼠右股部外侧皮下,观察接种部位有无溢出、肿瘤生长及荷瘤裸鼠状况,待 1 周时皮下瘤可明显触及时分组实验。

1.3 bFGF 及其抗体对荷瘤裸鼠皮下移植膀胱癌生长的影响 将荷瘤裸鼠随机分成 4 组,每组 10 只。A 组:每日荷瘤裸鼠腹部皮下注射 100ng/0.1 ml 的 bFGF;B 组:每日荷瘤裸鼠腹部皮下注射 0.1 ml 的 PBS 液;C 组:每日荷瘤裸鼠瘤内注射 100μg/0.1 ml 的 bFGF 抗体;D 组:每日荷瘤裸鼠瘤内注射 0.1 ml 的普通小鼠血清。每周测量肿瘤大小 2 次,

收稿日期:2003-08-15;修回日期:2003-10-23

基金项目:漳州市科技计划项目基金资助项目(Z01085)

作者单位:1.363000 福建漳州市解放军第 175 中心医院泌尿外科;2. 广州第一军医大学二附院

取最大径 (a) 和最小径 (b) ,计算肿瘤体积 $= ab^2/2$ 。观察治疗 4 周后将荷瘤裸鼠断颈处死,剥离出肿瘤并称重,肿瘤组织放入液氮中保存、备用。

1.4 免疫组织化学方法 采用 SABC 方法,冰冻组织切片。增殖细胞核抗原 (PCNA) 单克隆抗体、因子相关抗原多克隆抗体和 SABC 试剂盒均购自武汉博士德公司。DAB 显色。

1.5 结果判断 即:(1) PCNA 指数 (PI%) :计数至少 500 个肿瘤细胞中阳性细胞的百分比。(2) 微血管密度 (MVD) : 因子相关抗原阳性染色的微血管呈棕黄色或棕褐色,按 Weinder 法计算 MVD, 即先在低倍镜 ($\times 100$) 观察并选择 5 个 MVD 最多的区域,而后在高倍镜 ($\times 400$) 下计数,取平均值。

1.6 统计方法 采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 bFGF 对荷瘤裸鼠皮下移植膀胱癌生长的影响 治疗 4 周后,治疗组 (A 组) 肿瘤体积为 $(8.84 \pm 0.47) \text{ mm}^3$, 显著大于对照组 (B 组) 的 $(5.36 \pm 0.32) \text{ mm}^3$, $P < 0.001$; 治疗组肿瘤瘤重为 $(2.74 \pm 0.39) \text{ g}$, 显著重于对照组的 $(1.65 \pm 0.27) \text{ g}$, $P < 0.001$; 治疗组肿瘤组织 PI 值为 $(79.8 \pm 13.7) \%$, 显著高于对照组的 $(54.5 \pm 10.6) \%$, $P < 0.05$; 治疗组肿瘤组织 MVD 为 14.6 ± 3.8 , 显著高于对照组的 6.2 ± 2.3 , $P < 0.001$ 。

2.2 bFGF 抗体对荷瘤裸鼠皮下移植膀胱癌生长的影响 治疗 4 周后,治疗组 (C 组) 肿瘤体积为 $(1.83 \pm 0.17) \text{ mm}^3$, 显著小于对照组 (D 组) 的 $(4.83 \pm 0.25) \text{ mm}^3$, $P < 0.001$, 但未发现 bFGF 抗体有明显的消瘤作用; 治疗组肿瘤瘤重为 $(0.43 \pm 0.13) \text{ g}$, 显著轻于对照组的 $(1.38 \pm 0.24) \text{ g}$, $P < 0.001$; 治疗组肿瘤组织 PI 值为 $(22.6 \pm 7.1) \%$, 显著低于对照组的 $(46.4 \pm 9.8) \%$, $P < 0.01$; 治疗组肿瘤组织 MVD 为 2.5 ± 1.4 , 显著高于对照组的 5.4 ± 2.1 , $P < 0.001$ 。

3 讨论

血管生成是恶性肿瘤生长和转移的先决条件,肿瘤组织中促血管形成因子的大量表达是诱导肿瘤新生血管形成的重要原因之一^[3]。以往研究表明膀胱癌的发生、发展与包括 bFGF 在内的多种血管形成因子作用有密切关系^[2,3]。

bFGF 是成纤维细胞生长因子家族中较早发现的成员,是一种具有多功能的促有丝分裂原,是诱导血管形成重要因子之一^[1]。研究表明 bFGF 可能通过以下两种主要机制参与肿瘤的形成和发展:一方面通过表达 bFGF 而以自分泌或旁分泌方式促进细胞过度增殖和肿瘤生长,另一方面通过促进新生血管形成,为肿瘤细胞生长提供丰富营养^[4]。

本组通过建立裸鼠皮下移植膀胱癌动物模型进

行研究,发现 bFGF 治疗 4 周后肿瘤体积较对照组增大 64.9%,肿瘤体重也增加了 65.4%,提示 bFGF 对膀胱癌的生长有显著促进作用,这也证实以往一些研究的推测,表明 bFGF 在膀胱癌发病过程中重要作用^[5,6]。本组对移植瘤组织进行免疫组织化学方法检测,发现 bFGF 治疗组 PI 和 MVD 均显著高于对照组,研究显示人膀胱癌组织中 bFGF 的表达与微血管密度及细胞增殖指数密切相关^[5,6],表明 bFGF 主要通过促进膀胱癌细胞增殖和诱导血管形成两种机制参与膀胱癌发生、发展。

以新生血管作为靶点对肿瘤进行生物治疗已成为新的研究热点。Rofstad 等^[7] 研究显示 bFGF 抗体能够抑制鼠移植黑色素瘤的生长、血管形成和转移。有关膀胱癌体内动物实验也显示,一些细胞因子对膀胱癌生长的抑制与减少 bFGF 的表达有密切关系^[8]。本组研究则显示 bFGF 抗体能够显著抑制裸鼠皮下移植膀胱癌的生长,治疗 4 周后治疗组肿瘤体积和体重分别较对照组减少达 64.5% 和 72.8%,同时肿瘤组织中 PI 和 MVD 也显著低于对照组,提示 bFGF 抗体对膀胱癌的生长具有明显抑制作用,其主要通过抑制膀胱癌细胞增殖和减少肿瘤血管形成的途径而在荷瘤裸鼠体内发挥抗肿瘤作用,这为今后膀胱癌的预防和治疗提供新的手段。但治疗组并没有出现消瘤现象,这可能与膀胱癌发病是多因素有关。

参考文献:

- [1] Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, et al. Biologic roles of fibroblast growth factor-2 [J]. Endocr Rev, 1997, 18 (1): 26-45.
- [2] Steiner MS. Review of peptide growth factors in benign prostatic hyperplasia and urological malignancy [J]. J Urol, 1995, 153 (4): 1085-1096.
- [3] Campbell SC. Advances in angiogenesis research: relevance to urological oncology [J]. J Urol, 1997, 158 (5): 1663-1674.
- [4] Dow JK, White RW. Fibroblast growth factor-2: its structure and property, paracrine function, tumor angiogenesis and prostate-related mitogenic and oncogenic functions [J]. Urology, 2000, 55 (6): 800-806.
- [5] 谢庆祥, 林福地, 韩聪祥. 膀胱癌中 bFGF 和血管形成的研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2000, 5 (4): 245-247.
- [6] 谢庆祥, 汪鸿, 缪友仁, 等. 膀胱癌碱性成纤维细胞生长因子表达的意义及其与增殖细胞核抗原的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 1998, 15 (5): 431-432.
- [7] Rofstad EK, Halsor EF. Vascular endothelial growth factor, interleukin-8, platelet-derived endothelial cell growth factor, and basic fibroblast growth factor promote angiogenesis and metastasis in human melanoma xenografts [J]. Cancer Res, 2000, 60 (17): 4932-4938.
- [8] Dinney CP, Bielenberg DR, Perrotte P, et al. Inhibition of basic fibroblast growth factor expression, angiogenesis, and growth of human bladder carcinoma in mice by systemic interferon-alpha administration [J]. Cancer Res, 1998, 58 (4): 808-814.

[编辑:周永红;校对:刘红武]