

PHA体外增强某些抗肿瘤药物对小鼠 肝癌细胞DNA合成的抑制作用

吴乃允 桂治宁 张怀德 吴润桂*

(核医学教研室)

提要 本文通过 ^3H -TdR体外参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成抑制实验结果表明, PHA 体外有增强肿节风和胍唑等抗肿瘤药物对小鼠癌细胞DNA合成的抑制作用, 其抑制率与 PHA浓度(0.025—0.4mg/ml)无明显关系; 而当PHA先与癌细胞悬液混合保温1小时后再加入抗肿瘤药物(胍唑)继续保温1.5小时, 则比PHA、抗肿瘤药物(胍唑)和癌细胞悬液三者同时进行保温的抑制率有明显增高, 两者有显著性差异($p < 0.01$)。

关键词 植物血球凝集素 体外参入 移植性肝癌 肿节风 胍唑

植物血球凝集素(PHA)是一种非特异性免疫刺激剂。本文通过 ^3H -TdR 体外参入小鼠移植性肝癌细胞的实验, 借以了解 PHA 能否增强肿节风和胍唑等抗肿瘤药物体外对小鼠肝癌细胞DNA合成的抑制作用。

材料与方 法

1. **动物** 非纯种小鼠, 雌雄兼有, 体重18~20克。

2. **药物** 肿节风注射液: 每2ml 含1克浸膏(相当于草药10克), 上海信谊厂产品。

10%胍唑注射液: 广州市医工所产品。

植物血球凝集素(PHA): 广州市医工所产品。

^3H -TdR (^3H -胸腺嘧啶核苷): 北京原子能所产品(比放射性18~23Ci/m mole)。

3. **滤膜** 9999型玻璃纤维滤纸, 上海虹光造纸厂产品。

4. **小鼠肝癌(腹水型)瘤株** 来源于中山医科大学肿瘤研究所。小鼠接种后7~8天进行实验。

5. **实验方法** ^3H -TdR 对小鼠肝癌细胞体外参入实验。每毫升细胞悬液加 ^3H -TdR 1 μCi /50 μl 。详见前文^[1]。

实验结果以平均抑制率表示。

^3H -胸苷参入的平均抑制率

$$= \frac{\text{对照组计数总均值} - \text{用药组计数总均值}}{\text{对照组计数总均值}} \times 100\%$$

实验结果

一、PHA 体外增强抗肿瘤药物对小鼠肝癌细胞DNA合成的抑制作用

1.25mg 肿节风与1ml癌细胞悬液混合保温1.5小时后, 对 ^3H -TdR参入的平均抑制率(下文简称平均抑制率)为 $79.83 \pm 6.41\%$; 而当癌细胞悬液先与0.1mg PHA 混合保温1小时后, 再加入1.25mg 肿节风继续保温1.5小时, 则参入的平均抑制率增到 $92.45 \pm 3.29\%$ (表1)。

以同样的方法对胍唑进行了实验。单一胍唑0.25mg或0.5mg经保温后平均抑制率分别为 $70.93 \pm 8.09\%$ 及 $74.01 \pm 9.82\%$; 而胍唑0.25mg或0.5mg与PHA0.1mg混合保温后的平均抑制率分别为 $83.32 \pm 7.39\%$ 及 $87.67 \pm 4.43\%$ (表2)。

*吴润桂, 已调广东省东莞市太平人民医院工作

表1 PHA体外增强肿节风对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成的抑制作用

药物浓度 (mg/ml)	动物数 (只)	保温时间 (小时)	对照组样品测量总均值 (CPm)	用药组样品测量总均值 (CPm)	平均抑制率 (%)	P 值
肿节风1.25	14	1.5	12765.07 ± 6914.89	2413.86 ± 2350.48	79.83 ± 6.41	<0.01
PHA 0.1		2.5				
肿节风1.25	14	1.5	12765.07 ± 6914.89	878.64 ± 529.68	92.45 ± 3.29	

表2 PHA体外增强胍唑对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成的抑制作用

药物浓度 (mg/ml)	动物数 (只)	保温时间 (小时)	对照组样品测量总均值 (CPm)	用药组样品测量总均值 (CPm)	平均抑制率 (%)	P 值
胍唑0.25	14	1.5	12765.07 ± 6914.89	3673.14 ± 2356.58	70.93 ± 8.09	<0.01
PHA 0.1		2.5				
胍唑0.25	29	1.5	12765.07 ± 814.89	2242.21 ± 2014.16	83.32 ± 7.39	
胍唑0.5	18	1.5	15798.15 ± 8148.68	4025.72 ± 2496.93	74.01 ± 9.82	<0.01
PHA 0.1		2.5				
胍唑0.5	28	1.5	18540.76 ± 11093.63	2113.63 ± 1365.53	87.67 ± 4.43	

胍唑与肿节风联用时平均抑制率为 93.25 ± 2.20%；当再加PHA0.1mg 后的三药联用时的平均抑制率为95.32 ± 2.46% (表3)。

二、PHA提前投入时体外增强抗肿瘤药物对小鼠肝癌细胞DNA合成的抑制作用

PHA和胍唑与肝癌细胞悬液混合后同时保温1.5小时的平均抑制率为74.64 ± 8.1%，而当PHA先与肝癌细胞悬液保温1小时后，再加入胍唑继续保温1.5小时，平均抑制率为84.02

± 5.27%；当PHA先与胍唑保温3小时后，再加入胍唑继续保温1.5小时其平均抑制率为84.22 ± 12.36% (表4)。

三、不同浓度PHA与胍唑0.25mg混合保温后对小鼠肝癌细胞DNA合成的抑制作用

六组不同浓度(0.025~0.4mg/ml)的PHA分别加入0.25mg胍唑，保温后的平均抑制率为81.71 ± 5.23~86.60 ± 2.90% (表6)。

表3 PHA体外增强胍唑和肿节风联用时对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成的抑制作用

药物浓度 (mg/ml)	动物数 (只)	保温时间 (小时)	对照组样品测量总均值 (CPm)	用药组样品测量总均值 (CPm)	平均抑制率 (%)	P 值
胍唑0.25	9	1.5	12765.07 ± 6914.84	1032.22 ± 610.28	93.25 ± 2.30	>0.05
肿节风1.25		1.5				
PHA 0.1		2.5				
胍唑0.25	14	1.5	12765.07 ± 6914.89	504.0 ± 223.4	95.32 ± 2.46	
肿节风1.05		1.5				

表4 PHA不同保温时间体外增强胍唑对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成的抑制作用

编号	PHA保温时间(小时)	胍唑保温时间(小时)	动物数(只)	对照组样品测量总均值(gCpm)	用药组样品测量总均值(CPm)	平均抑制率(%)	P值
1	1.5	1.5	18	15789.15±8148.22	3959.02±2524.94	74.64±8.10	2:1
2	2.5 [△]	1.5	18	15801.0±10953.78	2307.71±1620.25	84.02±5.27	P<0.01
3	4.5 ^{△△}	1.5	18	19349.93±8897.68	2928.82±3078.12	84.22±12.36	2:3 P>0.05

[△] 比胍唑提前保温1小时

PHA浓度 0.1mg/ml

^{△△} 比胍唑提前保温3小时

胍唑浓度 0.25mg/ml

表5 PHA不同保温时间体外对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞合成DNA的抑制作用

保温时间(小时)	动物数(只)	对照组样品测量总均值(Cpm)	用药组样品测量总均值(CPm)	平均抑制率(%)	P值
1.5	18	15798.15±8148.22	7146.89±4018.55	54.26±11.03	各时间组相比 均无显著性差异
2.5	18	16634.91±11186.65	6433.5±4021.2	59.03±8.70	
4.5	18	19349.93±8897.68	6828.22±3655.02	61.85±8.74	

PHA浓度为0.1mg/ml

表6 不同浓度PHA体外增强胍唑对³H-TdR参入小鼠移植性肝癌细胞DNA合成的抑制作用

药物浓度(mg/ml)	动物数(只)	保温时间(小时)	对照组样品测量总均值(CPm)	用药组样品测量总均值(CPm)	平均抑制率(%)	P值
PHA 0.025	14	2.5	12765.07±6914.89	2340.29±1543.70	81.71±5.23	各组相比 均无显著性差异
胍唑 0.25		1.5				
PHA 0.05	14	2.5	同上	2181.29±1337.03	82.45±6.72	
胍唑 0.25		1.5				
PHA 0.1	14	2.5	同上	2242.21±2014.16	83.32±7.39	
胍唑 0.25		1.5				
PHA 0.1	14	2.5	同上	1742.29±983.92	85.94±3.14	
胍唑 0.25		1.5				
PHA 0.4	14	2.5	同上	1662.64±924.90	86.60±2.90	
胍唑 0.25		1.5				

讨 论

肿节风对肿瘤细胞株有抑制作用^[2]及PHA用于治疗肿瘤^[3]已有报告。胍唑有延长小鼠L₁₂₁₀白血病的生存期^[4]及对人的急性白血病有一定缓解作用^[5]也已有报道。

肿节风与PHA联用时的平均抑制率比肿节

风单独使用时的平均抑制率增高12.64%，两者有显著性差异(P<0.01)(表1)；PHA与0.25mg胍唑联用的平均抑制率比胍唑单独使用的平均抑制率增高12.39%，有显著性差异(P<0.01)(表2)；胍唑与肿节风联用时平均抑制率比单一胍唑或单一肿节风的平均抑制率已有较大的提高，当再添加PHA后的三

药联用时的平均抑制率又有所提高(表3), 这都提示PHA有增强肿节风和胍唑等抗肿瘤药物对小鼠肝癌细胞DNA合成的抑制作用。

表2结果表明, 0.25mg 胍唑与PHA联用时的平均抑制率(83.32%)比单一0.5mg 胍唑的平均抑制率(74.01%)提高9.31%, 提示此结果若在动物体内获得同样证明, 则胍唑与PHA联用, 或许能减少胍唑剂量, 从而减轻胍唑对机体的毒性反应。

PHA明显抑制³H-TdR 参入小鼠肝癌细胞, 提示PHA有抑制肝癌细胞DNA合成的作用, 其抑制作用与PHA保温时间无明显关系(表5); 结果也提示, PHA在一定浓度范围(0.025~0.4mg/ml)内对胍唑抑制癌细胞DNA合成作用也无明显关系(表6)。

小 结

PHA 体外有增强胍唑和肿节风等抗肿瘤药物抑制小鼠肝癌细胞DNA合成的作用。当

PHA 先与癌细胞悬液混合保温1小时后, 再加入抗肿瘤药物(胍唑)继续保温1.5小时的抑制率比PHA、胍唑和癌细胞悬液同一时间进行保温的抑制率有明显提高; PHA 增强胍唑抑制癌细胞DNA合成作用与PHA浓度无明显关系。

参 考 文 献

- [1] 吴乃允, 等。新鱼腥草素对小鼠移植性肝癌抑制作用的研究。中山医学院学报 1984; 5(2):34。
- [2] 遵义医学院病生肿瘤小组。肿节风抗癌作用的初步实验研究— I、肿节风对615细胞的直接破坏作用。遵义医学院学报 1978; (1):30。
- [3] 新华通讯社编印。癌病神医。参考消息1986年9月24日第三板。
- [4] Brockman R w, et al. Inhibition of Ribonucleotide Reductase, DNA Synthesis, and L1210 Leukemia by Guanazole. Cancer Res 1970; 30:2358.
- [5] Yaker D, et al. Clinical pharmacological trial of Guanazole. Cancer Res; 1973;33:972.

The Enhancing Effect of PHA on the Inhibition of DNA Synthesis of Hepatocarcinoma Cells of Mice *in vitro* by Some Antitumor Drugs

Wu Naiyuan Gui Zhining Zhang Huaide Wu Rungui
(Department of Nuclear Medicine)

Abstract

PHA is a kind of nonspecific immunostimulator, it enhances the immunoactivity in organism. In this report, the method of incorporation of ³H-TdR in transplantable tumor cells of mice *in vitro* was used. The experimental result showed that PHA could enhance the effect of some antitumor drugs, i.e. *Herbae Sarcandrae* and Guanazole. It also showed that there was marked enhancement of antitumor effect of these drugs when PHA was added before or simultaneuosly to the cell suspension with the drugs. No significant difference was found between the different concentration of PHA(0.025~0.4mg/ml).

Key words: PHA DNA Synthesis Hepatocarcinoma cells