

新鱼腥草素对小鼠移植型肝癌 抑制作用的研究

吴乃允 桂治宁 吴润桂 张怀德 胡少贞

(核医学教研室)

新鱼腥草素(Neo-Houttuyninum)化学名为十二酰乙醛亚硫酸氢钠,结构式为

$$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\overset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{CH}}}\text{SO}_3\text{Na}$$

临床上多用于治疗各种感染性疾病^{〔1〕},也有用于治疗孢子丝菌病^{〔2〕}。为探索新鱼腥草素对肿瘤的治疗作用,本文试用于体外抑制小鼠移植型肝癌(腹水型)细胞及新鱼腥草素瘤苗对小鼠移植型肝癌(皮下型)抑制作用观察。

材 料 与 方 法

1.动物:本实验采用非纯种小鼠,雌雄兼有,体重18~20克。

2.药物:

新鱼腥草素系中山医学院制药厂研制合成,广东郁南制药厂生产;

〔甲基-³H〕胸腺嘧啶核苷(³H-TdR,比放射性18~23Ci/mM)、〔5-³H〕尿嘧啶核苷(³H-UR,比放射性为20Ci/mM、³H-甘氨酸(比放射性5Ci/mM)均系中国原子能研究所产品。

3.滤膜:9999型玻璃纤维滤纸系上海红光造纸厂产品。

4.小鼠移植型肝癌模型来自中山医学院肿瘤研究所。

5.实验方法、步骤及实验结果的表示方法

(1)³H-TdR、³H-UR、³H-甘氨酸对小鼠肝癌(腹水型)细胞的体外参入试验。

肝癌小鼠的腹水以RPMI—1640(日本)培养液稀释成每毫升含10⁶个癌细胞悬液,每管加入此细胞悬液1毫升。用药组加入不同浓度的新鱼腥草素;对照组则加入同容积的生理盐水。经保温2小时后,各管分别加入³H-TdR或³H-UR或³H-甘氨酸1μCi/50μl,继续保温0.5小时。用滤膜法收集癌细胞,并用LKB-1210液体闪烁计数器进行放射性测量。实验结果以平均抑制率表示。

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

(2) 新鱼腥草素体外对小鼠肝癌(腹水型)细胞的杀灭试验——伊红染色法。

以0.01%伊红1小滴与肝癌细胞悬液混匀,计数500个癌细胞红染率。然后将此细胞悬液分为用药组及对照组。用药组加入不同浓度的新鱼腥草素,对照组则加入同容积的生理盐水。置37℃恒温箱中保温2小时(经此处理的癌细胞悬液称为新鱼腥草素瘤苗)后,分别计数用药组及对照组的癌细胞红染率并进行比较。

(3) 新鱼腥草素在半体内法的抑瘤作用。

将经上述实验(2)处理的新鱼腥草素瘤苗按常规方法给每只小鼠右腋皮下注射0.2毫升作为用药组;另将加生理盐水保温2小时后的癌细胞悬液用同法接种于另一组小鼠作为对照组。两组均于接种后的第7天处死动物,分别称量两组动物瘤重。以用药组瘤重及对照组瘤重进行比较,求得新鱼腥草素体外作用后的抑瘤率。

结 果 和 讨 论

1. 新鱼腥草素体外对³H-TdR、³H-UR、³H-甘氨酸参入癌细胞的作用 TdR(胸腺嘧啶脱氧核苷)为DNA的前身物,细胞DNA复制时需要TdR参与。

DNA复制是细胞进入分裂的必要条件。当DNA复制受到抑制时,细胞分裂也会受到抑制。因此,目前预测肿瘤对于抗肿瘤药物的敏感性,多倾向于测定其抑制DNA合成的程度〔4〕。

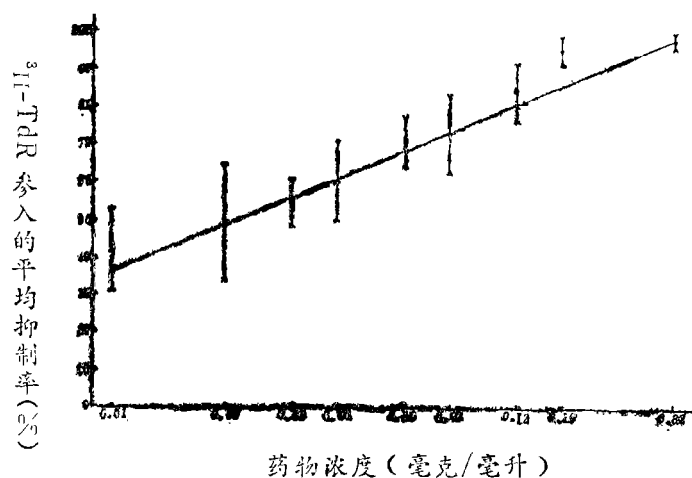
观察药物对DNA的标记前身物³H-TdR参入癌细胞的有关研究,是了解药物敏感性的一个简便又迅速的方法〔5〕,是预测药物疗效的一个良好指标〔3,6,8〕。它有助于临床抗肿瘤药物的选择和评价〔7〕。

实验表明,新鱼腥草素体外对³H-TdR参入小鼠肝癌细胞有明显的抑制作用;浓度为0.01毫克/毫升时,平均抑制率为41.92±10.25%;浓度为0.16毫克/毫升时,平均抑制率为95.44±3.84%;浓度为0.32毫克/毫升时,平均抑制率为97.67±1.56%。其抑制作用程度随药物浓度的加大而增强(表1)。平均抑制率与药物浓度呈直线关系,如药物浓度与³H-TdR参入抑制率关系图。

表2表明,新鱼腥草素除对DNA合成有明显抑制作用(97.99±2.51%)外,对RNA(UR为其前身物)亦有明显的抑制作用(94.58±2.77%),但对嘌呤(甘氨酸为其前身物)合成的抑制作用(72.26±12.49%)不及前两者显著,且不稳定。

2. 新鱼腥草素体内法的抑瘤作用 表3表明,含新鱼腥草素0.32毫克/毫升的小鼠肝癌细胞悬液在体外作用2小时后,癌细胞红染率由实验开始时的3.4~9.0%增到73.1~98.2%。接受该瘤苗的小鼠的抑瘤率在93.33~100.00%之间,这提示新鱼腥草素可能有直接杀死小鼠肝癌细胞的作用。接种含新鱼腥草素0.16毫克/毫升的瘤苗的抑制率为8.57

%, 表明新鱼腥草素瘤苗的抑制作用与药物浓度有关。



药物浓度与 ^3H -TdR 参入的平均抑制率的关系

由于该药毒副作用很小^[1], 体外参入癌细胞试验有明显的抑制作用, 且半体内法的抑瘤率也很高, 值得进一步深入探讨。

表 1 新鱼腥草素对 ^3H -TdR 体外参入小鼠肝癌细胞的抑制作用

浓 度 (毫克/毫升)	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 (%)
0.01	8	2	75392.46±18175.90	39296.46±16336.08	41.92±10.12
0.02	30	2	37920.46±13883.44	20052.42±10127.96	48.64±15.51
0.03	8	2	75392.46±18175.90	30851.79± 4646.01	54.30± 5.90
0.04	30	2	37920.46±13883.44	17271.84±12320.18	60.27± 9.77
0.06	8	2	75392.46±18175.90	21131.42± 5955.90	71.39± 6.30
0.08	30	2	37920.46±13883.44	10432.63± 5440.77	72.68± 9.14
0.12	8	2	75392.46±18175.90	11889.18± 6752.39	84.19± 6.99
0.16	10	2	72387.30±28274.19	4821.73± 4039.70	95.44± 3.84
0.32	10	2	72387.30±28274.19	1626.67± 1458.92	97.67± 1.56

表 2 新鱼腥草素对核酸前体体外参入小鼠肝癌细胞的抑制作用

标记物	浓 度 (毫克/毫升)	动物数 (只)	对 照 组		用 药 组		平均抑制率 (%)
			样品测量总均值 (cpm)		样品测量总均值 (cpm)		
³ H-TdR	0.16	15	32890.39±14805.67		563.13±311.77	98.25±0.68	
³ H-UR	0.16	15	14231.73±4773.54		763.93±410.16	94.58±2.77	
³ H-甘氨酸	0.16	14	684.45±154.67		181.37±39.29	72.26±12.49	

表 3 新鱼腥草素癌苗对小鼠肝癌的抑制作用

批 次	浓 度 毫克/毫升	癌细胞红染率(%)			动 物 数(只)		平均瘤重(克)		抑瘤率 (%)	P 值
		开 始	保温 2 小时		开 始 给药/对照	结 束 给药/对照	给药组	对照组		
			对照	给药						
1	0.32	3.4	3.8	98.2	10/10	10/10	0	0.09	100.00	$P<0.01$
2	0.32	7.7	6.9	87.2	10/10	10/10	0	0.06	100.00	$P<0.01$
3	0.16	2.0	7.3	20.0	10/10	10/10	0.35	0.49	28.57	$P>0.05$
4	0.32	9.0	7.2	73.1	6/6	5/5	0.01	0.15	93.33	$P<0.01$

小 结

1. 本文通过 ^3H -TdR、 ^3H -UR、 ^3H -甘氨酸体外参入法、伊红染色法及半体内法观察新鱼腥草素对小鼠移植型肝癌的抑制作用。

2. 新鱼腥草素体外对 ^3H -TdR及 ^3H -UR参入小鼠肝癌细胞有明显的抑制作用, 而 ^3H -甘氨酸参入的抑制作用却低于前两者, 且 ^3H -TdR的抑制作用随药物浓度的加大而增强。

3. 新鱼腥草素体外可能有直接杀死小鼠肝癌细胞的作用。

参 考 文 献

〔1〕 邱翠琴等: (合成)新鱼腥草素的研究和临床疗效的初步观察. 新医学(12):

601, 1979

- [2] 李松初等: 新鱼腥草素对孢子丝菌病的临床疗效及体外抗真菌试验报告。广东医学 (2): 22, 1981
- [3] 傅乃武: 预测肿瘤药物治疗效应的动向。国外医学 (11): 514, 1979
- [4] 许立功: 抗肿瘤化疗药物敏感度预测的现状。国外医学肿瘤学分册 (4): 150, 1982
- [5] 方福德等: 抑制DNA药物作用方式的简易测定法。药学学报 16(3): 238, 1981
- [6] Bicks I J et al: In vitro estimation of individual tumor sensitivity to anticancer agents. Cancer 19: 103, 1966
- [7] Glynn P Wheeler et al: Inhibition of mitosis and anticancer activity against experimental by ethyl-5-amino-1, 2-dihydro-3 [(N-methylamino) methyl] —pyrido [3,4—6]pyrazin—7—ylcarbamate (NSC181928). Cancer Res 42(3): 791, 1982
- [8] Frances E knock et al: In vitro estimate of sensitivity of individual human tumors to antitumor agents. Oncology 30: 1, 1974

The Study of the Inhibition of Transplantable Hepatocarcinoma of Mice by Neo-houttuyninum

Wu Naiyuan Gui Zhining Wu Rungui

Zhang Huaide Hu Xiaozhen

(Department of Nuclear Medicine, Zhongshan Medical College)

Abstract

The inhibition of transplantable hepatocarcinoma of mice by neo-houttuyninum was studied by the methods of ^3H -TdR, ^3H -UR, ^3H -glycine incorporation in vitro, eosin staining method and in vitro-in vivo tumor transplantation method, ^3H -TdR incorporation method test showed mark inhibition of neo-houttuyninum to tumor cells (rate of inhibition was $97.6 \pm 1.5\%$ under the conc. of 0.32 mg/ml). The rate of inhibition of incorporation increased as the concentration of drug increased the inhibition of ^3H -UR incorporation was near to those of ^3H -TdR, but the inhibition of ^3H -

gly-cine incorporation was lower than those of ^3H -TdR and ^3H -UR. It was shown that the drug treated tumor cells have high eosin staining rate. The transplantation tumor cells treated by neo-houttuynunum showed a tumor inhibition rate of 93.33~100% ($P < 0.01$) as compared to untreated tumor cell transplantation. The experimental results indicated a direct inhibitory effect of neo-houttuynunum on the hepatocarcinoma cells.