

第三卷

抗癌药物研究与实验技术

RESEARCH AND DEVELOPMENT
OF ANTICANCER DRUGS
AND EXPERIMENTAL
TECHNIQUES

北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

1
R979.1
HR

Yx89/09

抗癌药物研究与实验技术

Research and Development of Anticancer Drugs
and Experimental Techniques

主编 韩 锐

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

抗癌药物研究与实验技术/韩锐主编. —北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996

ISBN 7-81034-688-1

I. 抗… I. 韩… III. ①抗癌药-研究②抗癌药-实验-技术 IV. R979.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (96) 第 22140 号

抗癌药物研究与实验技术

韩 锐 主 编

责任编辑: 陈永生 袁 钟

责任校对: 李爱萍

*

北京医科大学 联合出版社出版
中国协和医科大学

航空工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

787×1092 毫米 1/10 印张 29.75 千字 736

1997 年 4 月第一版 1997 年 4 月北京第一次印刷

印数: 1—3000

ISBN 7-81034-688-1/R·686

定 价: 68.00 元

抗 癌 药 物 研 究
实 验 与 技 术

吴阶平



编辑委员名单

- 韩 锐 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所药理学教授、博士生导师，中国抗癌协会常务理事，Biochemical Pharmacology 杂志编辑顾问委员会委员
- Jean-Pierre Armand 法国 Gustave Roussy 研究所内科主任，欧洲临床肿瘤(EJCO)杂志主编
- 王振义 中国工程院院士，上海第二医科大学内科教授，博士生导师，上海第二医科大学前校长
- 孙 燕 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤内科学教授、博士生导师，WHO 肿瘤项目顾问，中国癌症研究基金会副理事长
- 鞠利雅 (Ju Liya) Laboratoire d'Immunogenetique moleculaire, Institut Biomedical des Cordeliers 研究员，瑞士 Debiopharm 公司中国部主任，医学博士
- 林仁混 (Jen-Kun Lin) 台湾大学生物化学教授，生物化学研究所原所长
- 景永奎 美国 Mount Sinai 医学院肿瘤中心博士后研究员
- 孙士勇 美国德州大学 M. D. Anderson 医院及肿瘤研究所博士后研究员
- 施 波 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所药理学副教授，医学博士
- 许锦文 (Kam M. Hui) 新加坡大学细胞及分子生物学研究所教授，新加坡总医院顾问
- 甄永苏 中国医学科学院、中国协和医科大学医药生物技术研究
所教授、博士生导师
- Kevin J. Scanlon Cancer Gene Therapy 主编
美国 Berlex Biosciences 公司副总裁，肿瘤研究部主任
- 汤仲明 中国军事医学科学院药理学教授、博士生导师，中国药理学及毒理学杂志副主编
- 徐承熊 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所教授，药理一室主任
- 籍秀娟 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所教授
- 陈晓光 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所药理学副教授，医学博士
- 高 进 中国医学科学院、中国协和医科大学基础医学研究所教授、博士生导师
- 李 林 美国 Washington University 医学院博士后研究员

其他编者

- Catherine Terret Department of Medicine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- Corinne Couteau Department of Medicine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- Alice Bexon Department of Medicine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- Toshiya Suzuki Department of Cancer Research, Berlex Biosciences, California, USA
- Tsukasa Ohkawa Department of Cancer Research, Berlex Biosciences, California, USA
- Akira Irie Department of Cancer Research, Berlex Biosciences, California, USA
- David Y. Bouffard Department of Cancer Research, Berlex Biosciences, California, USA
- Lisa D. Curcio Department of General and Oncologic Surgery, City of Hope National Medical Center, USA
- 颜春洪 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 曹西华 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 雷小虹 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 袁守军 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 陈明 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 刘红岩 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 傅招娣 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 李燕 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所
- 沈宏略 中国科学院生物物理研究所
- 何小庆 Laboratory of Experimental Carcinogenesis, NIH, USA
- 周春水 中国医学科学院、中国协和医科大学医药生物技术研究所
- 贺延春 Washington University, USA
- 张俊才 中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所

序

癌症严重威胁着人类的生命，据世界卫生组织报告，全世界每年死于癌症的病人约500万，预测到2000年死亡人数将增加至800万。可见，癌症的防治任务还十分艰巨。药物治疗是癌症的三大疗法之一。近年来，随着科学技术的迅猛发展及对癌发生、发展机理的深入认识，抗癌药已不仅仅囿于以核酸及其组成成分为靶点的细胞毒药物，新型作用机理的抗癌药物不断涌现；癌研究的实验方法、技术日新月异。这样，跟踪抗癌药物研究的动态和肿瘤化疗的前沿，掌握癌研究的新技术、新方法，对于肿瘤研究者、药物研究人员及临床医生至关重要，不仅意味着跟上时代发展的步伐，而且可以站在“巨人”的肩膀上，进一步创新和发展。

《抗癌药物研究与实验技术》是由韩锐教授主编、几十位国内外著名教授和专业人员集体编写的结晶，是韩锐教授继《恶性肿瘤化学预防及药物治疗》专著之后的又一部力作。本书上编汇总了国际、国内的大量最新资料，较全面地评述了肿瘤化疗及抗癌药物研究的最新成果和研究动态，从战略高度阐述抗癌药物研究、开发的途径和策略及今后发展的方向。下编介绍了抗癌药研究的技术与方法，步骤具体，切实可行；既包括经典方法，又有最新技术。鉴于国内还没有一本系统介绍抗癌药物研究技术的专著，本书的适时出版对我国抗癌药物的研究、开发将起到积极的推动作用。

巴德年
一九九三年二月

前 言

肿瘤化学治疗的发展与新抗肿瘤药物的发现息息相关。分子肿瘤学与分子药理学的不断发展,使我们对肿瘤的发生与发展有了越来越多的了解。这些新知识为肿瘤治疗及新抗肿瘤药的研究与开发提供了新的研究前沿及靶点。一位好的临床医生应当熟习这些新知识,才能赶上时代的步伐,提高治疗水平。为了使临床医生及与医药研究人员熟习这些最新成就,特邀请国际上著名的有关专家评述了传统的细胞毒型抗肿瘤药的最新进展,介绍了癌细胞分化诱导剂的研究与发展及我国科学家在人急性早幼粒细胞白血病的分化治疗研究的开创性工作。多年来,对癌症的研究侧重于病因、诊断及治疗,对癌前病变的治疗则注意不够。大量的基础及临床研究证明,许多癌是在癌前疾病的基础上发展起来的,因此,治愈癌前疾病或阻断其向癌的方向发展,将可明显降低癌的发病率。这就是为什么近年来癌的化学预防及癌化学预防药物研究获得世界范围重视的原因。对食物与癌的关系本书有较详细的评述。我国的化学预防研究虽起步较晚,但已开过两次全国性学术讨论会,引起各方的注意,在化学预防药的研究与癌高发现场人群干预方面取得了可喜的成果。最近,食管癌高发现场的综合防治研究项目被国家科委评为一九九五年全国十大科技成就。

癌的侵袭与转移是癌细胞的两大重要特性,如能早期预防或抑制侵袭将可减少或预防转移的发生。西方国家近年来这方面的研究发展很快,金属蛋白酶抑制剂及血管生成抑制剂不断被发现。研究的技术、方法也在不断进步。癌的基因治疗、单克隆抗体靶向治疗、免疫治疗及生物工程药物不仅在理论上有了长足的进展,在实用上也迈出了重要的一步,应引起国内同行的重视。国际著名癌化疗专家 Armand 教授介绍了欧洲抗癌药研究的最新进展,相信会对读者有重要启发。癌的治疗的根本出路在于综合治疗及合理地使用现有抗肿瘤药物,在本书中,有关专家深入地介绍了综合治疗的原则、方法以及抗肿瘤药物的药代动力学的有关知识。

鉴于抗肿瘤药研究的方法与技术日新月异,目前国内还没有一本较全面的大型参考书,本书特请有关专家编写了有关细胞毒型抗肿瘤药物、癌细胞分化诱导剂、癌化学预防药、癌的侵袭与转移药、靶向治疗及细胞程序性死亡的研究的方法与技术。内容力求新颖、实用。对于研究工作者来说,熟习有关实验动物的知识,熟练地掌握阅读及撰写研究论文的技巧也是非常重要的。为了帮助临床医生、医药院校的高年级大学生、硕士生、博士生及医药研究单位的研究、技术人员更好地进行实验研究,我们还编写了人与动物间药物剂量外推的换算方法、常用的抗肿瘤药物一览表以及必须掌握的一些实验室技巧及相关知识,新药报批的有关参考资料做为附录供读者参考。

我要十分感谢国内外各著名专家的大力支持,感谢他们在百忙中亲自执笔并及时寄来高水平的具有权威性的文稿。法国 Gustave Roussy 研究所内科主任 Armand 教授,美国 Berlex 生物科学公司副总裁兼肿瘤部主任、肿瘤基因治疗杂志(Cancer Gene Therapy)主编 Scanlon 博士,中国台湾大学生化学研究所前所长林仁混教授、新加坡大学细胞及分子生物学研究所许锦文教授、瑞士 Debiopham 公司中国部主任鞠利雅博士的贡献使本书增辉。

本书在编写过程中还得到了联合出版社副社长袁钟博士的大力支持，得到本所不少同事的支持，特别是施波副研究员、雷小虹女士及李燕女士的大力帮助，在此一并致谢。

最后，我要特别感谢中国科学院院士、中国工程院院士、中国医学科学院名誉院长吴阶平教授及中国工程院院士巴德年院长在百忙中为本书题字、作序。

韩 锐

1996年7月，北京

目 录

上编 恶性肿瘤防治新策略及肿瘤药理研究新进展

第一章 抗肿瘤药研究的进展	(3)
一、抗肿瘤药及肿瘤化疗研究的现状.....	(4)
二、植物来源的抗癌药物.....	(5)
三、癌化学预防药的研究.....	(10)
四、癌细胞分化诱导剂的寻找及癌的分化治疗.....	(14)
五、抗癌侵袭、抗癌转移药物.....	(15)
第二章 欧洲新抗癌药物开发的临床经验 (Chapter 2 Development of New Anticancer Drugs: Clinical Experiences in Europe)	(19)
1. 引言	(19)
2. 主要的药物类型	(19)
3. 具有新作用机理的抗癌药	(33)
4. 抗癌药物发展的新方向	(37)
第三章 人急性早幼粒细胞性白血病的分化治疗	(48)
一、白血病诱导分化的实验研究.....	(48)
二、13-顺式维甲酸的临床应用	(50)
三、全反式维甲酸 (ATRA) 治疗 APL	(50)
四、ATRA 治疗 APL 的机制	(59)
五、新维甲类药物的研制.....	(63)
第四章 肿瘤综合治疗的进展	(67)
一、概述.....	(67)
二、肿瘤综合治疗的原则.....	(69)
三、综合治疗的几种模式.....	(71)
四、常见肿瘤的综合治疗结果.....	(72)
五、展望.....	(78)
第五章 抗癌生物工程药物研究、开发的现状及展望	(82)
一、肽类抗癌药.....	(82)
二、蛋白抗癌药.....	(86)
三、基因抗癌药.....	(93)
第六章 食物与癌的化学预防	(100)
一、癌症化学预防剂之作用原理.....	(100)
二、个别食物与癌的化学预防.....	(104)
第七章 癌化学预防药研究的进展	(108)

一、癌化学预防研究的方法及其策略	(109)
二、癌化学预防药物	(112)
三、癌化学预防药研究、开发的步骤及其特点	(114)
四、结束语	(114)
第八章 癌细胞分化诱导剂的寻找和癌分化诱导治疗的进展	(116)
一、维生素甲类化合物	(116)
二、二甲基亚砷及 HMBA 类衍生物	(128)
三、环核苷酸衍生物	(130)
四、佛波酯及其它促癌物	(132)
五、维生素丁类化合物	(134)
六、蛋白激酶抑制剂	(136)
七、醋酸苯酯和苯丁酸钠	(138)
八、抗肿瘤药物	(138)
九、其它分化诱导剂	(140)
十、分化诱导剂的联合应用	(144)
十一、抗肿瘤药抗药细胞的分化诱导	(146)
第九章 细胞毒型抗肿瘤药物筛选的策略	(153)
一、抗癌药物筛选历史的回顾	(153)
二、国外抗癌药物筛选现状	(155)
三、针对机理的抗癌药物筛选	(157)
四、90 年代抗癌药筛选的特点及趋势	(158)
五、国内外抗癌药物筛选的差距与对策	(160)
第十章 抗癌侵袭、抗癌转移药物研究现状	(163)
一、肿瘤侵袭、转移的基本步骤	(163)
二、抗侵袭、抗转移药物的作用靶点与研究现状	(164)
三、展望	(171)
第十一章 癌的免疫治疗研究进展	(174)
一、人的免疫系统	(174)
二、癌的免疫学	(180)
三、癌的基因治疗	(180)
四、基因转移的载体	(182)
五、用同种异基因 MHC DNA 和阳离子脂质体进行免疫治疗	(184)
第十二章 肿瘤导向治疗的现状与展望	(188)
一、主要的研究进展	(188)
二、存在问题与解决途径	(190)
三、研究趋向与前景	(192)
第十三章 癌的基因治疗 (Chapter 13 Gene Therapy of Cancer)	(196)
1. 引言	(196)
2. 癌基因治疗的载体系统	(196)

3. 基于寡核苷酸的基因治疗	(201)
4. 基于基因的癌的基因治疗	(212)
5. 癌基因疗法的临床应用	(215)
6. 结论	(217)
第十四章 抗癌药药代动力学研究及方法	(235)
一、测定药物和代谢物的方法	(235)
二、抗癌药药代动力学的研究内容、概念、方法和相关参数	(236)
三、药代动力学理论和相关参数	(240)
四、影响药代动力学的因素	(244)
五、药代动力学和药效学关系及抗癌药的优化治疗	(245)
六、各种抗癌药的药代动力学	(247)

下编 抗癌药物药理研究的新方法、新技术

第十五章 细胞毒型抗癌药的研究方法	(271)
一、肿瘤细胞的体外实验方法	(271)
(一) 肿瘤细胞培养的基本技术	(271)
(二) 体外培养常用的肿瘤细胞株	(276)
(三) 用癌细胞进行体外实验时的一些特点	(279)
(四) 用染料排斥试验测定药物的抗癌作用	(281)
(五) 用生长曲线测定药物对癌细胞的抑制作用	(282)
(六) 用集落形成法测定药物对肿瘤克隆原细胞的抑制作用	(283)
(七) MTT 法测定药物对癌细胞杀伤作用的选择	(284)
(八) SRB 法测定药物对癌细胞杀伤作用的选择性	(286)
(九) 抗癌药物的效能比测定	(288)
(十) 抗微管药物的实验方法	(290)
(十一) 以 DNA 拓扑异构酶 I 为靶点的抗癌药筛选方法	(293)
二、动物移植性肿瘤的体内实验法	(295)
(一) 常用的动物移植性肿瘤瘤株	(295)
(二) 动物移植性肿瘤实验法	(297)
(三) 人体肿瘤裸鼠异种移植法	(299)
第十六章 癌化学预防药的研究方法	(301)
一、体外实验法	(301)
(一) 细胞转化试验	(301)
(二) 抗 Ames 试验	(303)
(三) 鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 活性测定	(305)
(四) 细胞色素 P-450 诱导的苯并芘代谢活化试验	(306)
(五) 快速测定 DNA 损伤方法	(308)
(六) 程序外 DNA 合成抑制试验	(309)
(七) 单细胞凝胶电泳法检测羟自由基对 DNA 的损伤	(312)

(八) 细胞间隙连接通讯抑制实验	(313)
(九) ESR 自旋捕捉自由基测定方法	(315)
二、体内实验法	(316)
(一) DMBA/巴豆油诱发小鼠皮肤乳头状瘤形成实验	(316)
(二) 苯并芘诱发 A/J 小鼠肺腺瘤形成实验	(317)
(三) 巴豆油致小鼠耳肿胀抑制实验	(318)
(四) 抗小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成实验	(319)
第十七章 癌分化诱导剂的研究方法	(322)
一、体外实验法	(322)
(一) HL-60 细胞分化诱导实验	(322)
(二) NB ₄ 细胞分化诱导实验	(329)
(三) 小鼠髓单核白血病细胞 WEHI3BD ⁺ (NEO) 的分化诱导	(333)
(四) K562 细胞分化诱导实验	(335)
(五) 肝癌 Bel 7402 细胞分化诱导实验	(336)
(六) 神经母细胞瘤 LA-N-5 细胞的分化诱导试验方法	(338)
(七) 人结肠癌 HT-29 细胞分化诱导实验方法	(339)
(八) 小鼠黑色素瘤 B16 细胞分化诱导实验	(340)
(九) 小鼠 Friend 红白血病细胞分化诱导实验方法	(341)
(十) 人横纹肌肉瘤细胞分化诱导实验	(342)
(十一) 流式细胞术在肿瘤药理研究中的应用	(346)
(十二) 研究肿瘤细胞代谢的 ³¹ P NMR 谱测定	(347)
二、体内实验法	(349)
(一) 人肿瘤细胞小鼠肾囊膜下移植实验法	(349)
(二) 小鼠髓单核白血病细胞体内实验法	(350)
第十八章 抗癌细胞侵袭、转移药物研究方法	(353)
一、体外实验法	(353)
(一) 重组基底膜侵袭实验	(353)
(二) 肿瘤细胞与基底膜成分的粘附能力测定	(355)
(三) 药物对肿瘤细胞分泌明胶酶影响的分析方法	(356)
(四) 明胶酶活性的测定方法	(359)
(五) 瘤细胞趋化性运动能力的测定	(361)
(六) 肿瘤细胞球样聚集体对鸡胚心肌组织的侵袭实验	(362)
(七) 药物对鸡胚尿囊膜血管生成的影响	(364)
(八) 大鼠动脉无血清培养形成微血管样结构的测定方法	(366)
二、体内实验法	(368)
(一) B16-BL6 小鼠黑色素瘤自发性转移模型	(368)
(二) U14 小鼠子宫颈癌肾侵袭模型	(369)
(三) Lewis 肺癌自发性肺转移模型	(370)
(四) Walker256 癌骨侵袭大鼠模型	(372)

(五) 黑色素瘤 B16-F10 人工肺转移小鼠模型	(373)
(六) 小鼠子宫颈癌 U14 脾内移植后肝转移模型	(375)
第十九章 单抗导向药物相关技术与方法	(377)
一、聚乙二醇融合法制备小鼠 B 淋巴细胞杂交瘤	(377)
二、杂交瘤腹水的制备及单克隆抗体的纯化	(379)
三、间接 ELISA 法筛选阳性杂交瘤及测定单抗亲和常数	(380)
四、双功能偶联剂制备单抗与抗肿瘤抗生素偶联剂	(382)
五、重组噬菌体抗体库技术构建、克隆基因工程抗肿瘤单链抗体 (scFv) 及 scFv 在大肠杆菌中的可溶性表达	(383)
第二十章 细胞凋亡的研究方法	(389)
一、富集或分离 apoptosis 细胞	(389)
二、形态学检测	(391)
(一) 光学显微镜观察	(391)
(二) 荧光显微镜观察	(393)
(三) 电子显微镜观察	(395)
三、DNA 降解断裂检测法	(395)
(一) 琼脂糖电泳分析	(396)
(二) 流式细胞光度术分析	(399)
四、部分 apoptosis 检测试剂盒简介	(404)
第二十一章 药理研究与实验动物	(406)
一、有关实验动物的一些基本知识	(406)
二、实验动物对实验结果的影响	(408)
三、实验动物在寻找新抗癌药物中的贡献	(409)
四、实验动物研究的现状及展望	(411)
五、动物室的设计与管理	(412)
第二十二章 抗肿瘤新药研究、开发中的若干问题	(416)
一、新药研究中的选题	(416)
二、如何阅读科学论文	(416)
三、如何撰写科学论文	(418)
四、怎样做实验记录	(419)
五、新药申报与新药审批	(419)
附 录	(423)
1. 常用抗肿瘤药物一览表	(423)
2. 抗癌药国内外主要生产厂家的	(438)
3. 人及各种动物体表面积、体重换算表	(439)
4. 人与实验动物间剂量外推换算表	(440)
5. 实验动物常用的生物学数据	(441)
6. 人及实验动物心电图正常值	(447)

7. 抗肿瘤药实验治疗时参考剂量	(447)
8. 抗肿瘤药体外实验时参考浓度及 IC_{50}	(447)
9. 国内外可供索取、购买标准培养细胞株的单位	(448)
10. 国外著名医学院校、肿瘤研究中心及某些奖学金一览.....	(448)
11. 细胞毒抗肿瘤药物药效学指导原则.....	(450)
12. 细胞毒抗肿瘤药毒理研究指导原则.....	(453)
13. 抗肿瘤药物临床研究指导原则.....	(453)

上 编

**恶性肿瘤防治新策略及肿瘤
药理研究新进展**

