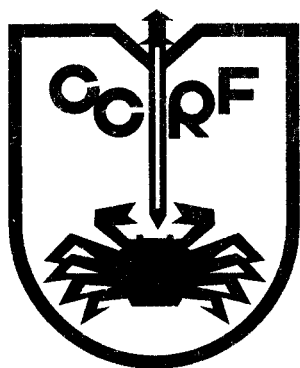




主编：王文亮

责任编辑：吉 达

中国癌症研究进展

暨南大学出版社

致谢

日本中外制药株式会社资助本书出版，特此致谢。

主 编 王文亮 陈运贤
副 主 编 李保荣 钟雪云 刘绍基（特约）
学术秘书 钟均行 毕 贺

中国癌症研究基金会学术委员会委员（按姓氏笔划排列）

王文亮	闵华庆	汤钊猷	陆士林
李 昆	吴秉铨	徐永华	陈 汉
郑 树	张友会	张荫昌	张燮良
董志伟	郝德治	赵体平	胥 彬
姚开泰	高玉堂	顾美皎	韩 锐
童坦君	廖美琳	鲍云华	戴旭东

特约编辑 杨允贵
英文审校 潘启超

前 言

中国癌症研究基金会第四届学术大会于 1998 年 5 月 6 日至 9 日在广州市召开,大会的主要目的是交流自 1996 年第三届学术大会以来我国肿瘤防治研究的新成果、新进展,以便促进我国肿瘤事业的发展和研究水平的提高。本届学术大会共收到论文 413 篇,其中选出 80 篇具有代表性的论文编成本卷,基本反映了我国近年来肿瘤防治研究的水平和进展情况。

肿瘤分子生物学和分子免疫学较广泛用于肿瘤学的研究,对肿瘤的发生发展、肿瘤转移、肿瘤诊断及治疗等研究水平有所提高,反映了我国当前肿瘤基础研究的新动向,如肿瘤细胞信号传导的研究,丙型及乙型肝炎病毒核酸及其相关抗原在肝癌的表达,大肠癌 APC 基因突变的检测,人脑胶质瘤 SHG-44 cDNA 文库的构建,HER-2 基因打靶对 Hela 细胞增殖的影响,肿瘤细胞凋亡的研究,以及某些癌基因及抑癌基因在胃癌、肝癌、肺癌、大肠癌、乳腺癌、喉癌、鼻咽癌中的表达等,这些都反映了当前肿瘤研究的热点。在肿瘤基因及肿瘤流行病学研究方面有新的发展,如人原发性肝内胆管细胞癌的病因及发病机理,肿瘤侵袭及转移,中国胃癌高发区自然人口的普查,维、哈、蒙和汉族人肝癌遗传易感性与癌基因突变相关的研究等。

肿瘤诊治的实验和临床研究水平有所提高,反映了我国当前肿瘤诊断、治疗和预防的新趋势,如¹³¹I 肝癌单抗 Fab 段偶合物体内放射免疫显像及导向药物研究,³²P 胶体磷酸铬腔内介入与顺铂腔内注射治疗肿瘤的研究,在临床治疗方面,强调手术、化疗、放疗、介入等综合治疗为主,如小肝癌早期诊断和外科治疗,抗肿瘤药物研究进展和发展趋势。乳腺癌内分泌治疗中的问题与对策,超声导向下肺癌的直接介入治疗等,这些研究成果及实践经验有较大的实用及参考价值。

在本届学术大会上交流的论文,无论是基础研究或是临床研究,其水平均较上届有所提高。入选本卷的论文具有先进性和代表性,为广大肿瘤研究者提供了有价值的参考资料。由于本卷篇幅所限,不能将所有参加大会交流的论文入选本卷,请见谅。

我相信在 2000 年跨世纪的第五届学术大会上将会看到更多、更高水平的肿瘤研究成果。让我们在 21 世纪伊始,继续努力,顽强探索,攻克癌症,

造福于人类。

应广大读者的要求，本届大会论文专辑《中国癌症研究进展》第四卷将与大家见面，使与会者及广大肿瘤研究工作者能尽快看到大会论文，达到广泛交流的目的，进一步促进我国肿瘤的研究。由于时间紧迫，编辑中难免出现差错，敬请读者谅解与指正。

本届学术大会的召开得到了广东省、广州市有关方面的大力支持，中山大学医科大学肿瘤防治中心及《癌症》杂志编辑部协助出版此专辑，对此，我谨代表大会表示衷心感谢和诚挚的敬意。

中国癌症研究基金会第四届学术委员会主席

王文亮

中国癌症研究基金会第四届学术大会执行主席

陈运贤

一九九八年四月

目 录

研究进展

抗肿瘤药物研究的进展与发展趋势	胥 彬 (1)
乳腺癌内分泌治疗中的问题与对策	赵体平 (10)
妇科肿瘤与内分泌	顾美皎 (13)
外周血造血干细胞移植的研究进展	陈运贤 等 (20)
肝去动脉疗法治疗肝脏恶性肿瘤	陈 汉 等 (27)
腹膜癌	张燮良 等 (36)
家族聚集性相对危险度统计方法的研究进展	项永兵 等 (42)

基础研究

中国胃癌高发区庄河地区 5 万自然人口胃癌普查报告	袁 媛 等 (48)
人原发性肝内胆管细胞癌病因及发病机理的研究	王文亮 等 (53)
丙型、乙型肝炎病毒核酸及其相关抗原在肝细胞肝癌中 分布的研究	王春杰 等 (60)
乙型肝炎病毒基因组中 p53 应答成分结合序列的确定及意义	朱明华 等 (66)
细胞信号传导分子 p36 在人肝细胞癌中的表达及意义	顾广玉 等 (74)
外源性 p21 ^{WAF1/CIP1} 过表达对人肝癌细胞系恶性表型和 细胞凋亡的影响	杨 帆 等 (78)
p21 基因转染 HCC - 9204 细胞系后 DNA 图象分析	朱晓慧 等 (84)
抗肝癌单链抗体基因的构建及其在肝癌细胞内的 抑制作用	刘彦仿 等 (87)
双特异抗体对荷人肝癌裸鼠的抑制作用	王 茜 等 (91)
癌基因 c-erbB - 2、H-rasp21、p53 蛋白和 PCNA 在 原发性肝癌中的表达	林国跃 等 (94)
维吾尔、哈萨克、蒙古和汉族人肝癌的癌基因突变表达	林国跃 等 (103)
CD 95 (Fas/APO - 1) 抗原在肝硬变和肝细胞肝癌组织中的 分布及其意义	李 江 等 (109)
人肝癌组织中失活的肿瘤抑制基因和/或相关基因的筛选	余焱林 等 (114)
HER - 2 基因打靶对 Hela 细胞增殖的影响	王向东 等 (120)
人鼻咽癌中几种抑癌基因变化的研究	黄光琦 等 (129)
Fas/FasL 在甲状腺癌中的表达及意义	曹广亚 等 (135)
ErbB - 2 过度表达的抑制与胃癌细胞增殖调控	姜 琨 等 (138)
影响肺癌组织上皮生长因子受体基因表达的因素	孙喜文 等 (145)
胃幽门螺杆菌 (HP) 感染胃疾病与 p16 蛋白的表达	高 华 等 (149)
癌基因 C-erbB ₂ 、抗癌基因 p53 表达与卵巢肿瘤 生物学行为的关系	孙 慧 等 (154)

抑癌基因 p16 在喉癌组织中的表达及意义	王剑波 等 (159)
Adenovirus-Mediated p53 Gene Therapy	
in Nasopharyngeal Cancer	Zeng Yixin, et al. (162)
大鼠骨髓增生异常综合征 (MDS) 基因治疗研究	冯宝章 等 (171)
基质金属蛋白酶及其抑制物对人癌细胞侵袭转移的影响	方伟岗 等 (176)
噬菌体抗体库的构建及抗人脑胶质瘤单抗的筛选	许志元 等 (181)
天然植物诱导瘤细胞和转化细胞凝集表型逆转和	
基因表达下调研究	陈剑经 等 (186)
腺苷基蛋氨酸合成酶表达在紫杉醇诱发的乳癌细胞	
凋亡中的作用	陈丽荣 等 (192)
前体药物甲氨喋呤 - α - 肽对前列腺癌的作用	郝晓柯 等 (198)
几种药物对 Swarm 大鼠软组织肉瘤在小鼠肾囊膜下生长的	
抑制作用	马仲才 等 (205)
天花粉蛋白对白血病细胞 K562 杀伤作用及其机制的初步研究 ..	柯一保 等 (213)
β - 榄香烯对小鼠 B16 黑色素瘤肺转移的抑制作用	陈龙邦 等 (218)
胃泌素受体拮抗剂丙谷胺对人大肠癌 SW480 细胞株的	
作用及机理	何双梧 等 (223)
胶质瘤细胞的 ERCC - 2 基因表达和氯乙基亚硝脲耐药	黄 强 等 (228)
¹³¹ I - 肝癌单克隆抗体 Fab 片段偶合物体内	
放射免疫显像研究	隋延仿 等 (234)
胃癌淋巴结转移与微转移灶的检测	刘丽江 等 (240)
淋巴结反应性增生和非何杰金氏淋巴瘤和针吸细胞学及	
电镜观察	刘铭球 等 (245)
喉鳞癌组织中增殖细胞核抗原的免疫组化研究	马福成 等 (250)
癌胚抗原、波形蛋白在浆膜腔积液中转移性腺癌和	
恶性间皮瘤鉴别诊断的应用	杨 莉 等 (253)
恶性肿瘤患者血清 TSGF 的测定及其应用价值的评估	曾小澜 等 (256)
全腹照射后大鼠的肠粘膜病理损害及防治	张占书 等 (260)

临床研究

非小细胞肺癌生物学特性检测的临床意义	廖美琳 等 (264)
肿瘤 DNA 含量、p53 和 PCNA 表达对预测食管癌预后的意义	戎铁华 等 (270)
非小细胞肺癌外科治疗中几个有争议问题的处理	吴一龙 等 (277)
选择性支气管动脉灌注抗癌药治疗晚期肺癌	朱爱群 等 (283)
超声导向下肺癌的直接介入治疗	庄英帜 等 (287)
NVmP 和 IVDP 方案治疗晚期非小细胞肺癌	乐 翔 等 (294)
长期口服鬼臼乙叉甙治疗晚期非小细胞肺癌	江 澜 (298)
肺癌手术的死因分析	吴怀申 等 (303)
³² P - 胶体磷酸铬腔内介入与顺铂腔内注射治疗癌性胸水	

疗效比较	杨永国 等 (307)
肺癌患者血液心钠素、胃泌素及癌胚抗原的对照研究	高建飞 等 (311)
中晚期食管癌术前新辅助化疗	任 宏 等 (316)
妊娠期及哺乳期乳腺癌的治疗	陈国际 等 (321)
乳腺良恶性病变 C - erbB - 2 测定的临床应用	张振国 等 (326)
小肝癌早期诊断及外科治疗	周信达 等 (330)
晚期肝癌的放疗、综合治疗及其预后	金冶宁 等 (335)
介入加外放射与单纯外放射治疗肝癌的疗效比较	易 成 等 (343)
碘标记肝癌放射免疫导向药物的研究与应用	陈志南 等 (347)
细胞间粘附分子 - 1 与肝癌侵袭转移关系的研究	孙婧景 等 (350)
胃大部切除术后食管癌的手术治疗	余志廉 等 (356)
大肠肿瘤 APC 基因突变的快速检测及其特征研究	黄 建 等 (360)
1011 例结直肠癌根治术远期疗效分析	万德森 等 (368)
术中腹腔内温热灌注化疗对肝细胞超微结构影响的观察	李肖龙 等 (376)
术前腹腔、静脉卡铂化疗肿瘤组织药物聚积浓度的比较	王 娟 等 (381)
胃肠道多原发恶性肿瘤 35 例分析	张立力 等 (384)
家族性骨髓细胞非随机染色体丢失与白血病发生	冯宝章 等 (390)
择时给药高剂量化疗自体骨髓移植治疗恶性肿瘤临床研究	王兰苹 等 (396)
皮下埋植式动脉化疗合用咖啡因治疗骨与软组织肉瘤	李鼎锋 等 (401)
VP - 16 和 5 - Fu + KSM 联合化疗治疗滋养细胞肿瘤	袁永群 等 (407)
卵巢癌淋巴结微转移的检测及其临床意义	梁元姣 等 (411)
盐酸格雷西龙防治化疗所致的消化道反应	钱志英 等 (417)
甲孕酮联合止吐药物对化疗所致胃肠道反应的疗效观察	王晓红 等 (422)
三阶梯口服止痛药治疗癌痛	刘惠萍 (425)
X - 刀治疗脑转移瘤 45 例	刘原照 等 (428)

Contents

Recent Advances and New Trends in Antitumor Drug Research	Xu Bin (1)
Unsolved Problems and Possible Solutions in the Hormonal Therapy of	
Breast Cancer	Zhao Tiping (10)
The Relationship of Endocrinology and Gynecological Tumors	Gu Meijiao (13)
Advance of Peripheral Blood Stem Cell Transplantation	Chen Yunxian, et al. (20)
Hepatic Dearterialization Treatment of Malignant Liver Tumors	Chen Han, et al. (27)
Carcinoma of the Peritoneum (Extraovarian Peritoneal Papillary	
Carcinoma)	Zhang Xieliang, et al. (36)
Development of Statistical Methods for the Estimation of Familiar	
Aggregation Relative Risk in Epidemiologic Studies	Xiang Yong-bing, et al. (42)
Gastrocarcinoma Screening in 16 Villages of Zhuanghe Region——A Screening	
Report from High Risk Area of Stomach Cancer in China	Yuan Yuan, et al. (48)
Etiological and Pathogenetic Study of Human Primary Intrahepatic	
Cholangiocarcinoma	Wang Wenliang, et al. (53)
Distribution of Hepatitis C Virus、Hepatitis B Virus Nucleotide and	
Their Related Antigens in Hepatocellular Carcinoma	Wang Chunjie, et al. (60)
Significance and Identification of p53 Response Element Binding Sequence	
in the Genome of Hepatitis B Virus	Zhu Minghua, et al. (66)
Expression and Significance of Cell Signal Conducting Molecule p36 in	
Human Hepatocellular Carcinoma	Gu Guangyu, et al. (74)
Effects of Overexpression of p21WAF1/CIP1 on the Malignant Phenotype and	
Apoptosis of Human Hepatocellular Carcinoma Cells	Yang Fan, et al. (78)
Morphometrologic Determination of p21 Transfected HCC – 9204	
Cells	Zhu Xiaohui, et al. (84)
The Construction of Single Chain Antibody Gene to Hepatocellular Carcinoma	
and TTS Effect on Hepatocellular Carcinoma Cell Line	Liu Yanfang, et al. (87)
Targeting Human Monocytes/Macrophages with Bispecific Monoclonal Antibodies	
to React against Human Hepatoma Growing in Nude Mice	Wang Qian, et al. (91)
Study on Expression of c – erbB – 2, H – rasp21, p53 Oncogene	
Protein and Proliferating Cell Nuclear Antigen in Primary	
Hepatic Carcinoma	Lin Guoyue, et al. (94)
Mutant Expression of Oncogene in Primary Hepatocellular Carcinoma	

from Among Uigur, Kazak, Mongolia and Han Nationalities	··· Lin Guoyue, et al.	(103)
Distribution of CD95 (Fas/APO – 1) Antigen in the Tissues of Liver		
Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma	····· Li Jiang, et al.	(109)
Identification of the Tumor Associated Suppressor Genes Inactivated in		
Human Hepatocellular Carcinoma	····· Yu Yanlin, et al.	(114)
Effect on Hela Cell Growth by HER – 2 Gene Targeting	····· Wang Xiangdong, et al.	(120)
Alterations of Tumor Suppressor Genes in Nasopharyngeal		
Carcinoma	····· Huang Guangqi, et al.	(129)
The Expression and Significance of Fas/Fas Ligand in Carcinoma of		
Throid	····· Cao Guangah, et al.	(135)
Ralationship between the Down – Regulation of ErbB – 2 Expression and the		
Proliferational Regulation of Gastric Cancer Cells	····· Jiang Kun, et al.	(138)
The Study of some Factors that Affecting Expression of EGFR Gene in		
Lung Cancer	····· Sun Xiwen, et al.	(145)
The Research of P16 Protein Expression in Helicobacter Pylori Relative		
Gastric Diseases	····· Gao Hua, et al.	(149)
Expression of C – erB ₂ and p53 Proteien in Tumor of the Ovary	····· Sun Hui, et al.	(154)
Expression and Significance of Suppressor Gene p16 in Laryngeal		
Squamous Cell Carcinoma Tissue	····· Wang Jianbo, et al.	(159)
Adenovirus-Mediated p53 Gene Therapy in Nasopharyngeal		
Cancer	····· Zeng Yixin, et al.	(162)
Gene Therapy for Rat Myelodysplastic Syndrome (MDS)	····· Feng Baozhang, et al.	(171)
Effects of MMPs and TIMPs on Invasion and Metastasis of Human		
Carcinomas	····· Fang Weigang, et al.	(176)
Preliminary Screening of Monoclonal Antibody Specific for Human Brain		
Glioma From Phage Antibody Library	····· Xu Zhiyuan, et al.	(181)
Natural Plant Extract Induces the Agglutinative Phenotype Reversal and		
the Gene Expression Down-regulation of the Tumor or Transforming		
Cell Lines	····· Chen Jianjing, et al.	(186)
Effect of Up-regulation S-AdoMet Synthetase on Taxol-induced Apoptosis		
in Human Breast Cancer Cells	····· Chen Lirong, et al.	(192)
Research of Efficacy of Prodrugs MTX-a-Peptides on Prostatic		
Cancer	····· Hao Xiaoke, et al.	(198)
Effects of Several Drugs on the Growth of Swarm Rat Chondrosarcoma		
Implanted into Subrenal Capsule of Mice	····· Ma Zhongcai, et al.	(205)
The Primary Study of the Injurious Effect of Trichosanthin on K562		
Cells and Its Mechanism	····· Ke Yibao, et al.	(213)
Suppressive Effect of β – elemene on Lung Metastasis of Mice B16		

Melanoma	Chen Longbang, et al. (218)
The Effect of Gastrin Receptor Antagonist-Proglumide on Human Large Intestine Carcinoma SW480 Cell Line	He Shuangwu, et al. (223)
ERCC - 2 Gene Expression and Chloroethylni Trosoureas Resistance in Human Glioma Cell Lines	Huang Qiang, et al. (228)
Radioimmunoimaging of Hepatocellular Carcinoma with ¹³¹ I Labeled Antihepatoma Monoclonal Antibody Fab Fragment	Sui Yanfang, et al. (234)
Detection of Lymphnode Metastasis and Micrometastasis in Patients with Gastric Carcinoma	Liu Lijiang, et al. (240)
The Cytologic Em Observation of Lymphadeno-hyperplasia and Non-Hodgkin's Lymphoma	Liu Mingqiu, et al. (245)
Immunohistochemical Stain of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Tissues	Ma Fucheng, et al. (250)
The Application of Carcinoma Embryonal Antigen (CEA) and Vimentin in the Diagnosis of Metastatic Adenocarcinoma and Malignant Mesothelioma of Pleural and Abdominal Effusion	Yang Li, et al. (253)
The Assay of Tumor Specific Growth Factor in Patients with Malignant Tumors and its Applicable Value	Zeng XiaoLan, et al. (256)
Pathological Lesions of Bowel Mucosa of Rats after Whole Abdominal Radiation and its Prevention and Treatment	Zhang Jianxu, et al. (260)
The Clinical Significance of Biological Characters on Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC)	Liao Meilin, et al. (264)
DNA Content, p53 Expression and PCNA Expression as Prognosti Factors in Esophageal Carcinoma	Rong Tiehua, et al. (270)
Some Contentious Problems of Surgery for Non-Small Cell Lung Cancer	Wu Yilong, et al. (277)
Results of Selective Bronchial Artery Chemotherapy Infusion for Bronchogenic Carcinoma	Zhu Aiqun, et al. (283)
Direct Interventional Treatment of Lung Cancer under Ultrasonic Guidance	Zhuang Yingzhi, et al. (287)
NVmp and IVDP Chemotherapy Regimens for Non-small Cell Lung Cancer	Yue Xiang, et al. (294)
Prolonged Administration of Oral Etoposide in 50 Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer	Jiang Lan (298)
To Further Reduce the Operative Mortality of Lung Cancer	Wu Huishen, et al. (303)
Treatment Carcinomatous Pleural Effusion in Transcavity Intervention with ³² P Colloid Chromium Phosphate	Yang Yongguo, et al. (307)
Comparative Observation of Blood ANP、Gastrin、CEA in Patients with	

Lung Cancer	Gao Jianfei, et al. (311)
Clinical Application of Preoperative Chemotherapy of Advanced	
Esophageal Carcinoma	Ren Hong, et al. (316)
Treatment of Breast Cancer Associated with Pregnancy and	
Lactation	Chen Guoji, et al. (321)
The Clinical Usage of Detection of C-erbB-2 in Breast Benign and	
Malignant Diseases	Zhang Zhenguo, et al. (326)
Early Diagnosis and Surgical Treatment of Small Primary Liver	
Cancer	Zhou Xinda, et al. (330)
Analysis of the Prognostic Factors of Tue Advanced Hepatocellular	
Carcinoma (HCC) Treated by Radiotherapy and Combination	
Modality Therapy	Jin Yening, et al. (335)
Comparasion of Interventional Therapy Plus Radiotherapy with Radiotherapy	
in the Treatment Effects on Stage II Primary Liver Cancer	Yi Cheng, et al. (343)
Studies of the Application and Targeting Drug Iodine Labelled	
McAb against Hepatoma	Chen Zhinan, et al. (347)
Study on the Relationship between Intercellwar Adhesion Molecule – 1 and	
Liver Cancer Metastasis	Sun Jingjing, et al. (350)
Surgical Treatment of Esophgeal Cancer in Post-Subtotal Gastrectomy	
Patients	She Zhi, et al. (356)
Rapid Detection of APC Gene Mutation and Analysis of its Mutational	
Feature	Huang Jian, et al. (360)
Analysis on Long-term Results after Radical Resection in 1011	
Patients with Colorectal Cancer	Wan Desen, et al. (368)
An Observation of the Effect of Intraperitoneal Hyperthermic	
Perfusion Chemotherapy during Operation on the Hepatic Cell	
Ultrastructure	Li Xiaolong, et al. (376)
The Comparative Study of Carboplatin Accamulation in Tumor Tissues by	
Preoperative Intraperitoneal and Intravenous Chemotherapy	Wang Juan, et al. (381)
An Analysis of 35 Cases of Multiple Gastrointestinal Cancers	Zhang Lili, et al. (384)
Relationship between the Familial Nonrandom Chromosome Loss (NLL) and	
Leukomogenesis	Feng Baozhang, et al. (390)
High – dose Chronochemothrapy with Autologus Bone Marrow Transplantation	
for Various Malignacies	Wang Lanping, et al. (396)
Subdermal Implantable Apparatus for Intraarterial Chemotherapy Combined with	
Caffeina Treatment for Bone and Soft Tissue Sarcoma	Li Dingfeng, et al. (401)
Single Oral Etoposide and 5 – FU、KSM Combination Chemotherapy for Tropholastic	
Tumors	Yuan Yongchuan, et al. (407)

Detection of Micrometastases in Pelvic Lymph Nodes of Patients with	
Ovarian Cancer and its Clinical Significance	Liang Yuanjiao, et al. (411)
Clinical Observation of Domestic Granisetron on the Prevention of	
Gastrointestinal Reactions Induced by Cancer Chemotherapy	
.....	Qian Zhiying, et al. (417)
Evaluation of MPA Combined with Vomit-controlled Drug for Gastrointestinal	
Reaction Induced by Cancer Chemotherapy	Wang Xiaohong, et al. (422)
Linear Stereotatic Radiosurgery for Brain Metastasis: Analysis of 45	
Patients	Liu Yuanzhao (428)

几种药物对 Swarm 大鼠软骨肉瘤在小鼠肾囊膜下生长的抑制作用

马仲才 何庚华 胥 彬

中国科学院上海药物研究所 (上海·200031)

Swarm 大鼠软骨肉瘤 (Swarm rat chondrosarcoma, SCS) 是由在一只 18 个月的雌性 Sprague-Dawley 大鼠中形成的自发肿瘤经过连续传代分离建株而成^[1], 在形态学上与分化较好 (I 级) 的人软骨肉瘤相似, 是研究人软骨肉瘤的一个良好的实验模型。

双炔失碳酯 (anordrin, ANO) 是一种 A 环失碳的雄甾烷衍生物 (图 1), 对雌激素受体有部分拮抗活性, 作为抗着床避孕药物已在国内普遍应用。我们首先发现它在体内外对多种肿瘤模型有抑制作用, 其抗肿瘤活性主要来自其 α -异构体^[2]。

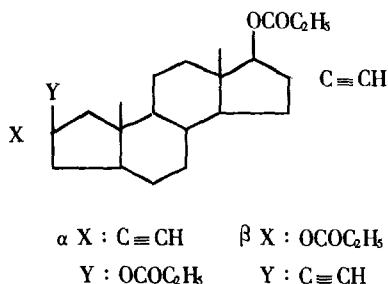


Fig 1 Chemical configurations of α - and β - anordrin

我们观察了 ANO 及其 α -异构体, 三苯氧胺 (TAM), 顺铂 (CDDP), 高三尖杉酯碱 (HHRT) 等药物对 SCS 在小鼠肾囊膜下和体外生长的影响, 并对 ANO 抑制 SCS 生长的机制作了一些研究。

材料和方法

一、材料

1. 药物与试剂: ANO, 上海第十九制药厂生产, α -异构体由本所植化室用氧化铝低压柱层析法分离制备^[3], 先用 DMSO 溶解, 使用时稀释至所需浓度, DMSO 的终浓度要低于 1% (V/V); CDDP, 齐鲁制药厂生产; HHRT, 杭州第一制药厂生产; TAM, 上海华联制药厂生产; 甲基四唑蓝 (MTT), Fluka 产品; 阿尔新蓝 8GX, Chroma 产品; II 型胶原酶, Sigma 产品; 胰蛋白酶, Serva 产品; DMEM 培养基, Gibco 产品; 小牛血清,

华东理工大学产品；对硝基苯酚磷酸酯，Merck 产品；Hepes，Merck 产品；其他为国产分析纯试剂。

2. 瘤株：SCS 由中国医科院药物研究所引种。Wistar 大鼠皮下接种，每 6 周传代一次。

3. 动物：昆明种小鼠，23 - 25 克，雌性；Wistar 大鼠，80 - 90 克，雌性，均由中国科学院上海实验动物中心提供。

二、方法

1. 小鼠肾囊膜下移植 SCS 及药物治疗^[4]：实验前一天给小鼠腹腔注射环磷酰胺 (150 mg/kg) 作免疫抑制，选取生长 4 周的 SCS，无菌条件下在 DMEM (含 15% 小牛血清) 中剪成 2mm³ 左右大小备用。取 23 - 25 克雌性小鼠先用水合氯醛 (430 mg/kg) 麻醉，从背部暴露肾脏，用 16 号穿刺针将瘤块移植到肾囊膜下，在装有目镜测微尺的解剖镜下测量瘤块的最长径 (a) 和最短径 (b)。

然后随机分组，第二天开始给药，剂量和给药途径见附表，共 5 天，第 7 天观察结果，同上测量 a 值和 b 值，计算理论瘤重 (mg) = $ab^2/2$ ，并计算肿瘤生长抑制率。

2. 病理学观察：10% 福尔马林固定，常规包埋切片。阿尔新蓝染色参照 Steedman 法^[5]，略有改动 1% 阿尔新蓝 8GX (溶于 3% 乙酸中) 20 ~ 30 分钟，1% 中性红复染 30 - 40 秒，常规脱水，透明，中性树胶封片。

VonKossa 法显示钙盐沉淀，参照文献 [6]，稍有改动。5% 硝酸银孵育，紫外灯下照射 30 ~ 40 分钟，5% 硫代硫酸钠 3 ~ 5 分钟，中性红复染。

3. 药物对 SCS 细胞体外生长的影响：SCS 单细胞分离^[7]：在靠近边缘，无坏死，无瘀血区域无菌条件下剪取生长 5 周的 SCS 10 克左右，去除包膜等结缔组织，剪成 2mm³ 左右小块。采用两步酶消化法：先用 0.5% (W/V) 胰蛋白酶 (含等体积 1mmol/L EDTA) 37℃ 消化 1 小时，再用胶原酶 (160 U/ml) 37℃ 消化 3 - 4 小时，然后用 100 目和 400 目滤网过滤，收集滤液，用 DMEM (含 15% 小牛血清，15mmol/L Hepes) 洗 3 次，计数，稀释到 10⁶/ml 培养。台盼蓝染色证明 90% 以上为活细胞。

MTT 药敏实验：采用文献改良法^[8]。96 孔培养板每孔接种 90 μ l SCS 细胞 (3×10^5 /ml)，4 小时后加入待试药物 10 μ l，培养 48 小时后加入 MTT (5 mg/ml) 20 μ l，继续培养 4 小时后加三联液 (10% SDS - 5% 异丁醇 - 0.012 mol/L - HCl, W/V/V) 100 μ l，过夜，570 nm 处测 OD 值。

4. 药物对 SCS 细胞中碱性磷酸酯酶活性 (ALPase) 的影响

参照文献^[9]报道。药物处理 96 小时后收集等量 SCS 细胞，用 0.9% NaCl 溶液 (含 0.2% 吐温 X - 100) 悬浮，0℃ 匀浆，12000g 离心 15 分钟，上清中包含了 95% 以上的酶活力。取上清与 0.01 mol/L Tris - HCl 反应缓冲液 (pH9.0，包含 0.5 mmol/L 对硝基苯酚磷酸酯，0.5 mmol/L MgCl₂) 混匀，37℃ 保温 30 分钟，用 0.25 体积的 1N NaOH 终止反应，在 410nm 处测 OD 值。用对硝基苯酚作标准曲线。一个酶活力单位 (unit) 定义为在 37℃ 和 pH9.0 条件下以对硝基苯酚磷酸酯为底物 30 分钟内水解释放出 1 μ mol/L 对硝基苯酚的酶量。

结 果

一、药物对 SCS 在小鼠肾囊膜下生长的抑制作用

结果见附表,在几种药物中,顺铂作用最强,抑制率可达 88.5%, α -ANO 次之,混合体 ANO 和 TAM 也有一定的抑制作用,HHRT 对 SCS 的作用最弱,若剂量大于 1 mg/kg,则动物体重下降明显,出现毒副作用。

附表 ANO 等对 SCS 在小鼠肾囊膜下生长的作用

药物	剂量 (mg/kg)	用法	平均体重 (g, 始/末)	动物数	瘤重 (mg, $\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
对照			22.5/23.1	12	29.7 $\pm$ 11.4	
ANO	100	po $\times$ 5	23.2/20.8	11	14.4 $\pm$ 4.8	51.5*
ANO	250	po $\times$ 5	23.4/20.1	10	9.2 $\pm$ 4.3	69.0*
α -ANO	20	po $\times$ 5	23.6/21.6	11	6.1 $\pm$ 1.8	79.4*
对照			24.7/26.3	11	34.5 $\pm$ 10.7	
CDDP	1.5	ip $\times$ 5	23.3/20.4	12	3.9 $\pm$ 0.8	88.5*
TAM	20	po $\times$ 5	22.8/22.6	10	15.6 $\pm$ 3.6	54.8*
HHRT	1.0	po $\times$ 5	23.7/21.2	12	20.8 $\pm$ 4.2	39.7*

与对照比较, * $p < 0.01$

二、药物作用后 SCS 的病理学变化

阿尔新蓝染色表明,药物治疗后 SCS 中阿尔新蓝阳性的细胞外基质减少,能被中性红着色的区域增多,表明 SCS 合成胞外基质粘多糖的能力下降,说明 SCS 的分裂和生长受到抑制。在治疗有效的肿瘤中,双核细胞和多核细胞数减少,细胞体积增大,表明 SCS 的恶性化程度降低。在 ANO 治疗组中, Von Kossa 法显示有黑色颗粒,表明有钙盐沉积,经 α -ANO 治疗的肿瘤尤为显著,而在其他药物治疗的肿瘤中无此现象。

三、药物对 SCS 细胞体外生长的抑制作用

几种药物抑制 SCS 细胞体外生长的量效曲线见图 2~4。结果表明,顺铂在体外对 SCS 的细胞毒作用最强,与其体内作用基本平行,而 TAM, ANO 及其 α 异构体的体外作用较弱,与其体内作用不平行,ANO 在 100 μ mol/L 浓度以下的作用基本相同,没有明显抑制作用,只有在 100 μ mol/L 以上时才有较弱的抑制作用,并且无明显剂量依赖性, α -ANO 的作用比混合体强,但明显弱于顺铂;TAM 对 SCS 的直接细胞毒作用比 α -ANO 强;HHRT 对 SCS 的细胞毒作用比 CDDP 弱,但比 TAM, α -ANO 和 ANO 强,与体内结果不一致。