

# 磷脂苯芥与手术合并治疗家兔 Brown-Pearce 癌的研究

楊 金 龍   胥   彬

(中国科学院药物研究所, 上海)

**提要** 磷脂苯芥为本所合成的新抗癌药物。它对实验肿瘤有较强的抑制效能, 对人体某些肿瘤也有一定疗效。本文进一步研究磷脂苯芥与手术合并治疗 Brown-Pearce 癌的作用, 以给临床试用时参考。获得的主要结果如下:

(1) 磷脂苯芥对家兔 Brown-Pearce 癌转移有一定的抑制作用, 它对肝、肺和肾脏的肿瘤转移灶分别有 24—41, 27—33 和 28—30% 的抑制率。手术切除原发灶对转移无明显影响。手术后合用磷脂苯芥治疗, 对肝和肺脏转移的抑制作用能明显提高。

(2) 手术合并磷脂苯芥治疗, 其给药时间不同能影响疗效。手术中期给药, 即在手术前后 3 天以及手术当天每天给药一次的效果较好。

(3) 磷脂苯芥, 手术以及手术合用磷脂苯芥治疗, 对血红蛋白、红细胞数影响不大; 手术合用磷脂苯芥治疗, 可使白细胞数略有下降。

作者曾报告过磷脂苯芥 [磷双( $\beta$ -氯乙基)-氨基-苯丙氨酸盐酸盐] (实验室编号为 AT-581) 具有较强的抗肿瘤作用<sup>[1,2]</sup>, 经临床初步试用, 证明对肺部肿瘤及神经胶质细胞瘤的病情均有一定程度的缓解作用。

Aoki 等<sup>[3]</sup>把静脉接种肿瘤看作是人工转移的方法, 并研究了药物对转移瘤的影响。我们发现, 磷脂苯芥能显著延长静脉内种有 Brown-Pearce 癌 (简称 B-P 癌) 细胞的家兔的寿命<sup>[4]</sup>。本工作进一步观察磷脂苯芥及其与手术合并治疗对家兔睾丸内接种 B-P 癌的疗效及对转移形成的影响, 同时对给药时间作了探讨。

## 材 料 与 方 法

**动物** 选用睾丸发育良好的成年雄性家兔, 体重 1.5—2.5 公斤。每只家兔都单独饲养。

**肿瘤** 取睾丸内接种后 2—3 周的 B-P 癌组织, 按前文方法<sup>[4]</sup>制成肿瘤匀浆, 以 5.3% 葡萄糖溶液或生理盐水 1:1 稀释。

**手术** 以 2.5% 戊巴比妥钠和乙醚麻醉动物, 于手术局部去毛后用碘酒和酒精消毒。在睾丸上方切开皮肤及肌层, 在距睾丸 1 厘米处结扎精索切除睾丸, 随即缝合皮肤。

**药物** 磷脂苯芥为白色粉末, 由本所合成室供给<sup>[5]</sup>。以灭菌生理盐水配成浓度为 0.7 毫克/毫升溶液, 供静脉注射用。

**疗效指标** 在手术或停药后,密切注意动物的一般情况,死亡后进行解剖,检查肝、肺和肾脏重量及转移病灶数。体重增减是由实验结束时的重量与实验开始时比较求得。

**血象检查** 家兔 10 只,在接种肿瘤后第 8 天分成三组。第一组家兔 3 只,于静脉内注射磷脂苯芥 0.7 毫克/公斤,每天 1 针,共 7 针。第二组家兔 4 只,施行手术切除原发灶。第三组家兔 3 只,在手术以后按第一组方法注射磷脂苯芥。在手术或给药前后,每隔 2—4 天,以家兔耳缘静脉取血一次,检查血红蛋白、红细胞、白细胞数和计算颗粒白细胞百分数。

## 结 果

### (一) 磷脂苯芥及其与手术合并治疗

家兔 96 只,分成 8 组,每组 12 只。于每只家兔的右侧睾丸内接种 B-P 癌匀浆 0.4 毫升。实验分二部分进行。第一部分有家兔 4 组,在接种后第 4 天开始,于第一组家兔的静脉内注射磷脂苯芥 0.7 毫克/公斤,每天 1 针,共 7 针;第二组注射生理盐水作对照。另外二组,在接种肿瘤后第 4 天切除肿瘤侧睾丸,于手术后 3—5 小时开始,按上述方法注射磷脂苯芥和生理盐水。结果非手术组,用磷脂苯芥治疗后,肝、肺和肾脏的肿瘤转移灶数与对照组比较,无显著差异(表 1)。手术合用磷脂苯芥治疗组与手术后注射生理盐水组比较,其肝、肺和肾脏的肿瘤转移病灶均有显著的减少。从表 1 中可以看出,手术加磷脂苯芥治疗的疗效比单用磷脂苯芥治疗有所提高,其中尤以治疗肝脏转移的效果最为明显。第二部分实验是接种后第 8 天开始治疗的。未经手术组,用磷脂苯芥治疗后,肝、肺和肾脏的肿瘤转移与对照组相比,无显著差异。经手术切除后再用磷脂苯芥治疗,结果肝、肺和肾脏的肿瘤转移灶相当于对照组的 11, 6 和 48%,三者都明显减少。

表 1 磷脂苯芥以及手术合并治疗 B-P 癌转移的影响  
(每组 12 只家兔)

手术或开始给药 时间(接种后)	脏 器	转移病灶数相当对照组的%		两 者 比 较 P 值
		单用磷脂苯芥	手术+磷脂苯芥	
第 4 天	肝	59	13**	<0.01
	肺	67	11**	<0.05
	肾	70	46*	>0.05
第 8 天	肝	76	11**	<0.01
	肺	73	6**	<0.01
	肾	72	48*	>0.05

\* 为显著; \*\* 与对照组比较,差异非常显著( $P < 0.01$ )。

单独使用手术切除,无论在接种后 4 天或 8 天进行,都不能起治疗作用,对肝和肺脏的肿瘤转移反而略有促进的影响(表 2)。

从治愈率来看,接种后第 4 天开始用磷脂苯芥治疗的 12 只家兔中,有 4 只治愈;而用生理盐水作对照的,12 只无一例治愈。经手术切除原发灶后再用磷脂苯芥治疗,结果 12 只中有 9 只治愈;而对照组也无一例治愈。接种后第 8 天开始治疗,单独用磷脂苯芥组,12 只家兔中有 2 只肿瘤治愈;手术后合用磷脂苯芥治疗,12 只中有 5 只肿瘤治愈(表 3)。

表 2 手术切除原发灶对肿瘤转移的影响

手术时间 (接种后)	组 别	兔 数	转移病灶相当率		
			肝	肺	肾
第 4 天	对 照	12	100	100	100
	手 术	12	105	100	78
第 8 天	对 照	12	100	100	100
	手 术	12	116	117	89

表 3 磷脂苯芥以及手术合并治疗对 B-P 癌家兔的治疗效能

接 种 后	原 发 灶	药 物	兔 数	治 愈 数
第 4 天	未 手 术	生 理 盐 水	12	0
		磷 脂 苯 芥	12	4
	手 术	生 理 盐 水	12	0
		磷 脂 苯 芥	12	9
第 8 天	未 手 术	生 理 盐 水	12	0
		磷 脂 苯 芥	12	2
	手 术	生 理 盐 水	12	0
		磷 脂 苯 芥	12	5

本批实验还观察了家兔的生存时间,结果单独用磷脂苯芥治疗,生存时间比对照组延长 36%,实验结束时,对照组家兔体重下降 20%,而治疗组无下降。手术切除原发灶后再用磷脂苯芥治疗,结果平均生存时间为 55 天,比对照组延长 50%,体重增加 4%。

### (二) 手术前、中、后用磷脂苯芥治疗的结果

家兔 48 只,分成 4 组,每组 12 只。于每只家兔右侧辜丸内接种肿瘤匀浆 0.4 毫升,在接种后 11 天切除肿瘤侧辜丸。手术前给药即在手术前 7 天内,每天静脉注射磷脂苯芥 0.7 毫克/公斤。手术后给药是在手术后次日开始,每天给予同样剂量 1 针,共 7 天。手术中给药则在手术前后各注射 3 针,手术当天还给予 1 针,结果如图 1。手术中给药的肝转移灶相当于对照组的 14%,术前和术后组相当于对照组的 36% 左右。对肺转移灶的影响,术前、术中和术后给药分别相当于对照组的 35, 20 和 29%。肾脏的转移灶相当于对照组的 61%, 58% 和 73%。以上结果,除术后给药组对肾脏转移灶无显著影响外,其它组与对照组比较,均有非常显著的差异。

给药时间不同,也可影响 B-P 癌家兔的生存时间,结果如表 4。单独手术组平均生存时间为 25 天,术前给药组的生存时间延长到 40 天;手术中给药可延至 45 天。当手术以后给药时,则无明显疗效。体重以术中给药组下降最少。

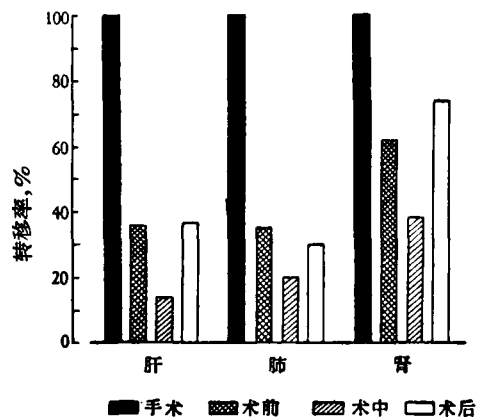


图 1 手术前、中、后给磷脂苯芥对 Brown-Pearce 癌转移的影响

表 4 手术前、中、后给邻脂苯芥对 B-P 癌家兔生存时间的影响

给 药 时 间*	兔 数	生存时间 ± 标准差 天	与 手 术 组 比 较		体 重 变 化 %
			延 长 %	P 值	
—	12	25 ± 7.3	—	—	-32
术 前	12	40 ± 10.7	60	<0.01	-26
术 中	12	45 ± 13.3	80	<0.01	-9
术 后	12	32 ± 10.6	28	>0.05	-27

\* 术前指在手术前 7 天内,每天静脉注射磷脂苯芥 0.7 毫克/公斤;  
 术中指在手术前和后各三天以及手术当天,每天注射 1 针;  
 术后指在手术后 7 天内,每天注射 1 针。

### (三) 手术和磷脂苯芥治疗对血象的影响

1. 对血红蛋白及红细胞的影响 实验分成磷脂苯芥、手术以及手术合用磷脂苯芥治疗三组,结果如图 2。用磷脂苯芥治疗组,血红蛋白略有下降,下降幅度为 1 克,在停药后一个月即恢复到正常。用磷脂苯芥治疗对红细胞数无明显影响。经手术治疗的家兔,其血红蛋白在手术时略有上升,但红细胞数变化不大。当手术合用磷脂苯芥时,给药后第 3 天血红蛋白有下降,到第 7 天时下降达 2 克左右,以后即回升,此时红细胞数也有下降趋势,但一般在一个月內都能恢复正常。

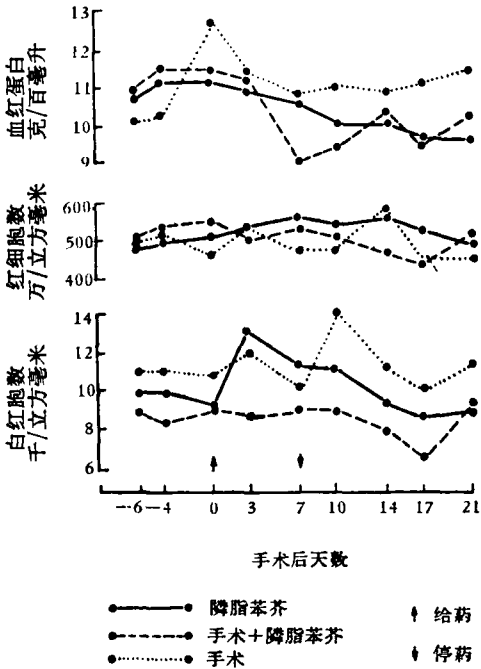


图 2 手术和磷脂苯芥治疗对血红蛋白、红细胞及白细胞数的影响

2. 对白细胞的影响 从图 2 中可以看出,在注射磷脂苯芥后 3 天内白细胞有增加现象,从 9300 增至 13000,此时淋巴细胞与颗粒细胞的比例无改变。随之逐渐下降,到第 14 天时接近给药前数值。单独手术治疗时,在术后 3 天内白细胞也有增加现象,3 天后下降,10 天时出现第二个高峰,此时颗粒细胞由 47% 增加到 53%,以后即逐渐恢复。当手术后应用磷脂苯芥治疗时,白细胞下降出现于停药之后,最低值为 6500/毫米<sup>3</sup>,但颗粒细胞的百分比变化不大,以后逐渐恢复。

## 讨 论

许多资料表明,长有肿瘤的器官,不仅可以从它输出的静脉血中检得癌细胞,而且也能在外周血液中找到<sup>[6-8]</sup>。因此,外科手术作为癌症根除的手段,受到很大的限制。Tokuyama 等<sup>[9]</sup>和我们过去的实验<sup>[1]</sup>证明,药物能控制血流中癌细胞的生长,也有人把药物治疗作为手术后的常规治疗方法<sup>[10,11]</sup>。本工作表明,单独使用磷脂苯芥可使睾丸内接种 B-P 癌家兔的生存时间延长,对脏器肿瘤转移灶虽有抑制,但不显著。若单独施行手术治疗,

不仅不能延长家兔的寿命,反而似有增加转移的趋势。正象 Schatten<sup>[12]</sup> 报告的,外科切除能促进肿瘤细胞的散布。如果在手术以后加用邻脂苯芥治疗,能明显减少脏器的肿瘤转移,使家兔生存时间显著延长,而且有一半以上动物的肿瘤获得治愈。此结果与 Chirigos 等<sup>[13-15]</sup>利用小鼠腺癌 755 所得的结果是一致的。Shapiro 等<sup>[16,17]</sup>认为,肿瘤越大时,化疗效果越差。我们的实验有接种后第 4 天和第 8 天开始治疗的两组,结果第 4 天开始治疗组的效果略比第 8 天组的结果为好。在手术合并化疗方面,药物开始给予的时间很重要<sup>[15]</sup>。本工作将给药时间分成术前、术中和术后的三部分,结果证明术前和术中给药效果较好,能延长肿瘤家兔的生存时间 60—80%,其中以术中给药更佳。这一方面与给药早迟有关,另一方面可能与原发病灶释放瘤栓多少以及手术增加血液中癌细胞有联系。我们推测,术前给药仅能控制原发病灶的瘤栓释放,术后给药仅能控制因手术所增加的血中癌细胞,而术中给药(即手术前后各给 3 针及手术当天 1 针),既可控制原发灶释放癌细胞,又能减少因手术引起的肿瘤布散。

本实验在进行药物合并手术治疗研究中还注意到家兔血象的变化。发现给予治疗剂量的邻脂苯芥对家兔血红蛋白及红细胞数都无太大影响;对白细胞的影响,在给药初期,细胞数略有增加,停药后逐渐恢复到正常。过去在研究邻脂苯芥对癌细胞核分裂的影响时曾发现给药初期对核分裂有刺激作用,本工作中所见到的在给药初期有白细胞增加现象也可能是刺激作用所致。手术切除后白细胞增加,这也许是手术本身引起的。手术合并邻脂苯芥治疗时,血红蛋白在停药时比原来水平下降 2 克/100 毫升血;白细胞也下降,下降主要出现在停药以后,最低在停药后 10 天,但也在 6000 个/毫米<sup>3</sup> 以上,而且二周内即恢复。由此可见,手术合并药物治疗,能有助于肿瘤的控制,而对机体防围机制无明显的影响。

**致谢** 邻脂苯芥由任云峯先生供给,吕腓理、王龙江参加部分技术工作,谨致谢意。

## 参 考 文 献

- [1] 杨金龙、任范友、胥 彬: 抗肿瘤药物的研究 XIX. 几种药物对家兔 Brown-Pearce 癌的影响, 药学报, 1964, 11, 609—616.
- [2] 杨金龙、胥 彬: 邻脂苯芥对家兔 Brown-Pearce 癌的疗效及对细胞核分裂的影响, 药学报 1965, 12, 9—16.
- [3] Aoki, T. and Fukuoka, F.: Chemotherapeutic Tests Using Pulmonary Tumor Formation by Intravenous Injections of Cancer Cells, *Gann*, 1959, 50, 47—50.
- [4] 杨金龙、任范友、胥 彬: 家兔 Brown-Pearce 癌的一些生长特性, 天津医学杂志(肿瘤学附刊), 1964, 2, 225—229.
- [5] Jen Yun-feng, Wu Te-cheng, Chen Jui-ting, Kao Yee-sheng and Hsu Bin.: Tumour Chemotherapy VII. Synthesis of *p*-, *m*- and *o*- Bis-(2-Chloroethyl)-Aminomethyl-Phenylalanine Dihydrochloride and Their Antitumour Action, *Scientia Sinica*, 1962, 11, 1085—1096.
- [6] McDonald, G. O., Livingston, C., Boyles, C. F. and Cole, W. H.: The Prophylactic Treatment of Malignant Disease With Nitrogen Mustard and Triethylenethiophosphoramidate (Thio-TEPA), *Ann. Surg.*, 1957, 145, 624—629.
- [7] Moore, G. E., Sandberg, A. A. and Watne, A. L.: The Comparative Size and Structure of Tumor Cells and Clumps in the Blood, Bone Marrow and Tumor Imprints, *Cancer*, 13, 111—117, 1960.
- [8] Engel, H. C.: Cancer Cells in the Blood (A Five to Nine Year Follow-up Study), *Ann. Surg.*, 1959, 149, 457—461.
- [9] Tokuyama, H., Tokuoka, J., Mizota, S., Saton, H., Tsumenatsu, T. and Yamada, A.: Critical Considerations on the Treatment of Cancer: Effect of the Administration of Anticancer Agents Before,

- During, or After Surgical Operation, *Gann*, 1963, 54, 71—83.
- [10] Martin, D. S., Fugmann, R. A. and Hayworth, P.: Surgery, Cancer Chemotherapy, Host Defenses, and Tumor Size, *J. Nat. Cancer Inst.*, 1962, 29, 817—834.
- [11] Wolberg, W. H., Johnson, R. O. and Curreri, A. R.: Controlled-Dose Chemotherapy as an Adjunct to Surgery, *Cancer*, 1963, 16, 5—7.
- [12] Schatten, W. B.: An Experimental Study of Postoperative Tumor Metastases, *Cancer*, 1958, 11, 455—459.
- [13] Chirigos, M. A., Colsky, J., Humphreys, S. R., Glynn, J. R. and Goldin, A.: Evaluation of Surgery and Chemotherapy in the Treatment of Mouse Mammary Adenocarcinoma 755, *Cancer Chemotherapy Reports*, 1962, 22, 49—53.
- [14] Denk, W., and Karrer, K.: Combined Surgery and Chemotherapy in the Treatment\* of Malignant Tumors, *Cancer*, 1961, 14, 1197—1204.
- [15] Kratochvil, M., Winkler, A., Tesarek, T., Codal, A., Knotz, F., Judin, J., Drac, F., Kvasnicka, A., Ujhazy, V., Sandor, L. and Cerny, V.: An Attempt at Local (Regional) Chemotherapy in Surgical Treatment of Tumours, *Neoplasma*, 1959, 6, 170—174.
- [16] Shapiro, D. M., and Fugmann, R. A.: A Role for Chemotherapy as Adjunct to Surgery, *Cancer Res.*, 1957, 17, 1089—1101.
- [17] Martin, D. S. and Fugmann, R. A.: Clinical Implications of the Interrelationship of Tumor Size and Chemotherapeutic Response, *Ann. Surg.*, 1960, 151, 97—100.

## Studies on the Combined Chemotherapy of *o*-[Bis-(2-Chloroethyl)-Aminomethyl]-Phenylalanine Dihydrochloride (AT-581) and Operation in the Treatment of the Brown-Pearce Carcinoma in the Rabbit

YANG JIN-LONG AND HSU BIN

(Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai)

### ABSTRACT

AT-581, *o*-[bis-(2-chloroethyl)-aminomethyl]-phenylalanine dihydrochloride or ocapanc, is a new antitumour agent synthesized at our Institute. It has a strong inhibitory action on a broad spectrum of experimental tumours. It has also been shown to be effective against some human cancers. In the present paper the combined action of AT-581 and surgery on the Brown-Pearce carcinoma of the rabbit was investigated.

1. When the Brown-Pearce carcinoma cells were inoculated into the testes of rabbits, AT-581 produced an inhibiting effect on the metastases of the tumour into the livers (24—41%), the lungs (27—33%), and the kidneys (28—30%). The complete extirpation of the original tumour foci had no such action, whilst the combined therapy of AT-581 and operation significantly increased the therapeutic effect on the tumour metastases to the livers and lungs.

2. The effectiveness of the combined therapy varied according to the time of drug administration. It was found that one week's drug administration during the period including pre- and post-operative stages was adequate.

3. AT-581, operation, and the combined therapy have no obvious influence on the haemoglobin content and red blood cell counts, but a slight diminution of white blood cell counts was observed during the combination treatment.