

抗肿瘤药物的研究

XIX. 几种药物对家兔 Brown-Pearce 癌的影响*

楊金龍 任范友 胥彬**

(中国科学院药物研究所, 上海)

提要 本文介绍 16 个药物对家兔 Brown-Pearce 癌实验治疗的结果。这 16 个药物是, Thio-TEPA, BCM, HN₂, MBAO, TEM, AT-16, AT-222, AT-290, AT-346, AT-581, 3P, 合-14, Sb-57, Sb-71, AC-808 和放线菌素 K。实验证明, 氮芥类药物 AT-581 [邻双-(β-氯乙基)氮甲基苯丙氨酸二盐酸盐] 对静脉接种此肿瘤有明显的抑制效能。以 0.7 毫克/公斤静脉注射每天 1 针共 12 天, 能显著延长肿瘤家兔的平均生存时间, 延长率为 130% ($P < 0.001$), 对肺和肝脏的重量和转移病灶数也有明显的抑制作用。以 1 毫克/公斤静脉注射时, 能使肿瘤全部抑制, 肺、肝和肾脏的重量比对照组明显下降。其它 15 个药物的作用不显著。

本文对实验方法及疗效指标等问题也进行了讨论。

家兔 Brown-Pearce 癌用为抗癌药物的研究曾有过报导, 也找到一些对其有抑制作用的药物^[1-5]。此肿瘤有一特点即能早期发生转移。Zeidman 等^[6,7] 将肿瘤匀浆从家兔耳缘静脉注射, 并从腹主动脉取血检查癌细胞, 证明此肿瘤细胞能穿过肺脏到达体循环, 引起血源性播散; 利用显微自动摄影记录也获得类似的结果。Casey^[8] 曾报告, 当肿瘤睾丸接种时, 可发生 50 个部位的转移, 其中包括人类肿瘤转移罕见的部位如牙齿和脑垂体等。我们也曾证明, 此肿瘤于睾丸或静脉内接种, 都能发生内脏的广泛转移。因此, 利用此模型进行药物试验, 一方面可以了解药物对此瘤株的作用, 另一方面还能观察药物对肿瘤转移的影响。

过去几年中, 作者等曾发现一些药物对大小白鼠实验性肿瘤有较好的疗效, 但这些药物对家兔 Brown-Pearce 癌的作用如何尚未研究, 至于对肿瘤转移的影响更少进行观察。本文企图通过此肿瘤的静脉接种, 人工地产生肿瘤血源性播散, 从中观察一些药物的治疗作用。

材料与方 法

动物 选用成年健康家兔, 体重 1.5—2.5 公斤, 雌雄均有。每只家兔单独喂养, 定时供给规定饲料及足量水分。密切注意环境通风, 室温保持在 15—25℃。

肿瘤 取睾丸接种后 2—3 周 Brown-Pearce 癌的瘤块, 按文献^[9]介绍方法制成悬液,

本文于 1963 年 9 月 9 日收到。

* 本文曾在上海市生理科学会 1963 年 1 月论文报告会上宣读。

** 吕腓理同志参加部分技术工作。

續表 1

藥名	學名	結構式	溶劑	接種后几 小时开始 給藥	試驗 次數
Sb-71	氨基乙酸銻	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COO} \quad \text{OOC}-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \text{HOOCH}_2\text{C}-\text{N} \rightarrow \text{Sb} \leftarrow \text{N}-\text{CH}_2\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2\text{COO} \quad \text{OOC}-\text{CH}_2 \end{array}$	0.9% NaCl	3,24	2
放線菌素K	—	—	0.9% NaCl	24	1
AT-16*	1-对硝基苯基-2-[对双-(2-氯乙基)-苯亚甲基]氨基-1,3-丙二醇		2%西黄 菁胶	24	1
AC-808	—	—	0.9% NaCl pH 4	1,2	3
AT-222	N-双-(β-氯乙基)-N-N二乙基磷酰肼		0.9% NaCl	12	2
AT-290	对双-(β-氯乙基)氨基苯丙氨酸二盐酸盐	<p style="text-align: center;">·2HCl</p>	0.9% NaCl	3,24	3
AT-346*	5-双-(β-氯乙基)氨基-吡啶-2-羧酸		2%西黄 菁胶	24	1
合-14	对双-(β-氯乙基)氨基β-苯丙氨酸		0.9% NaCl	3,24	2
3P	对双-(β-氯乙基)氨基-邻甲氧基-苯丙氨酸		0.9% NaCl pH4-5	1,3	5
AT-581**	邻双-(β-氯乙基)氨基-β-苯丙氨酸二盐酸盐	<p style="text-align: center;">·2HCl</p>	0.9% NaCl	3	4

【注】有*者給藥途径为口服,其它均屬靜脉。
有**者給藥12天,其它均屬 10 天。

346, AT-581, 3P 和合-14), 金属螯合物(Sb-57 和 Sb-71), 植物药(AC-808) 和抗菌素(放线菌素 K)。这些药物曾证明对大小白鼠实验性肿瘤有明显的抑制作用^[10-13]。

给药方法 所有药物先作预初试验, 了解药物的毒性反应和治疗剂量, 供正式试验时参考。水溶性药物用灭菌生理盐水配制, 在肿瘤接种后 1—24 小时开始静脉注射。非水溶性药物以 2% 西黄蓍胶配成乳悬液, 于接种后次日用胃管法给予。每天 1 次, 共 10—12 天。对照组家兔以同样方法给予生理盐水或西黄蓍胶液。实验共分 34 次进行(表 1)。

观察指标 实验过程中密切注意动物进食情况及一般表现。体重变化以实验结束时体重和实验开始时体重百分差表示, 并与对照组进行比较。所有动物观察到死亡, 记录生存时间, 超过 60 天者以 60 天统计。死亡或处死动物均作尸体解剖, 观察肿瘤生长情况并称取肺、肝、肾等脏器的重量以及对脏器表面肿瘤转移病灶进行计数。所有实验资料均用生物统计学方法处理, 比较治疗同对照组的差异显著性。

结 果

以 16 种药物进行试验, 其结果见表 2: Thio-TEPA 静脉注射 0.5 毫克/公斤时, 延长家兔生存时间 12%; 对肺和肝脏的转移病灶数分别为 15% 和 19% 的抑制率。BCM 用 10—15 毫克/公斤时, 对肺转移病灶数有 32% 的抑制, 但对生存时间并不延长。其它 3 个临床上已经应用的药物 HN₂, MBO 和 TEM 对静脉接种的 Brown-Pearce 癌均无明显的抑制作用。用本所研究的 11 个药物治疗的结果为: 金属螯合物 Sb-57 5 毫克/公斤静脉注射时, 对肾脏的重量和转移病灶数均有明显的抑制作用, 抑制率分别为 42% 和 33% ($P < 0.05$), 对肺脏的重量也有一些抑制, 但对肝脏转移没有抑制作用, 动物生存时间也无明显延长。注射 Sb-71 5 毫克/公斤和放线菌素 K 15 微克/公斤的疗效都很低。于肿瘤接种后 2 小时内静脉注射 AC-808 0.4—0.5 毫克/公斤, 每天 1 次, 共 10 天, 对肺重量有轻度抑制作用, 抑制为 26%。采用 3P 1 毫克/公斤注射时未见疗效。当剂量增至 2 毫克/公斤时, 动物生存时间有 52% 的延长率($P < 0.05$), 对肝和肾脏的转移病灶数也能抑制。然而由于药物对机体的毒害作用, 治疗组平均体重较对照组下降 27%, 实验中途有 2 只家兔死亡。改用 1.5 毫克/公斤时, 对肿瘤虽有抑制作用, 但疗效很差(表 2)。

在肿瘤接种后 3 小时开始静脉注射氮芥类药物 AT-581 0.7 毫克/公斤, 每天 1 次, 共 12 天。治疗组 18 只家兔第 24 天开始死亡, 3 只活过 60 天。平均生存时间为 43 天(表 3)。对照组家兔第 10 天即有死亡, 在 24 天时仅有 20% 继续生存, 存活时间最长为 33 天。平均生存时间 19 天(图 1)。从表 2 中可以看出三次实验的结果: 治疗组家兔生存时间延长分别为 114%, 116% 和 151%, 按合并资料计算, 生存时间延长为 130% ($P < 0.001$)。尸体解剖证明, 治疗组的肺和肝脏的重量也比对照组有明显减轻, 抑制率分别为 54% 和 28%。对肺和肝脏的转移病灶抑制率为 50% 和 33%。在实验过程中, 分别于 42, 42, 42, 60, 68 和 68 天, 将治疗组各杀死 1 只, 进行解剖和切片检查。发现除肝、肾以及肠系膜淋巴结有少量肿瘤转移灶外, 其它部位均未查见肿瘤。而对照组家兔死亡后解剖检查, 发现各脏器和淋巴结均有明显的肿瘤转移。实验结束时, 治疗组动物体重平均下降 20%, 对照组下降 30%。

将 AT-581 剂量增至 1 毫克/公斤时作用更显著, 取生存 10 天以上的家兔进行解剖

表 2 16 个藥物对靜脈接种 Brown-Pearce 癌家兔的影响*

藥 名	劑 量 (毫克/公 斤/天)	家兔數 (只)		中 途 死 亡 數 (只)		家兔生存時 間延長(%)	肺		肝		腎		體重改 變** (%)	
		治 疗	对 照	治 疗	对 照		重 量 抑 制 (%)	轉 移 病 灶 數 抑 制 (%)	重 量 抑 制 (%)	轉 移 病 灶 數 抑 制 (%)	重 量 抑 制 (%)	轉 移 病 灶 數 抑 制 (%)		
Thio-TEPA	0.5	7	8	0	0	12		15		19		—		
BCM	10—15	7	8	0	0	—		32**		10		—		
HN ₂	0.2—0.5	8	8	2	0	5		—		—		—		
MBAO	2.0	4	4	0	0	—		—		9		—		
TEM	0.1	4	4	0	0	—		—		—		6		
Sb-57	5.0	11	13	0	0	5	30	13	—	—	42*	33*	- 5	
Sb-71	5.0	8	8	0	0	—	11	3	—	—	—	13	+ 3	
放綫菌素K	0.015	10	10	0	0	2		—		—		—		
AC-808	0.4—0.5	12	12	0	0	—	26	—	2	—	9	—	+ 3	
AT-16**	100	7	7	1	0	—		—		—		—		
AT-222	0.5—1.0	7	8	0	0	7		—		9		—		
AT-290	1.0	12	12	0	0	—		4		6		6	+ 3	
AT-346**	1.5	7	7	0	0	—		—		—		—		
合-14	1.0	7	8	0	0	—		—		—		—		
3P	1.0	8	8	0	0	—		—		—		—	+ 3	
	1.5	7	9	0	0	—	13	8	33	20	32	—	- 8	
AT-581	2.0	5	5	2	0	52 ^{3*}		—		37		25	-27	
	0.7	7	7	0	0	114 ^{4*}								
	0.7	6	6	0	0	116 ^{4*}	130 ^{4*}	54 ^{3*}	50 ^{3*}	28 ^{3*}	33 ^{3*}	—	—	+10
	0.7	5	5	0	0	151 ^{4*}								
	1.0	5	5	1	0	74 ^{3*}		62 ^{4*}	100 ^{4*}	53 ^{4*}	100 ^{4*}	62 ^{4*}	100 ^{4*}	- 8

[注] * 每只家兔靜脈接种腫瘤懸液 0.3—0.4 毫升。

** 为口服給藥,其它均靜脈注射。

** 表示: 測驗差异显著($P < 0.05$)。

4* 表示: 測驗差异非常显著($P < 0.001$)。

5* 体重变化即指治疗組与对照組家兔体重增減百分数,“+”为增加,“-”为減輕。

表 3 AT-581 对靜脈接种 Brown-Pearce 癌家兔生存時間的影响

組 別	家 兔 數	生 存 天 數						平均生存天数 ±标准差	延 长 %	P 值
治 疗†	18	24	27	31	33	33	34	43±13	130	<0.001
		38	41	42*	42*	42*				
		43	52	53	46	60*				
		60**	60**							
对 照	18	10	11	13	13	13	14	19±8	—	—
		14	15	16	17	19	20			
		23	24	24	25	31	33			

[注] †肿瘤接种后 3 小时开始靜脈注射 AT-581 0.7 毫克/公斤,每天 1 針共 12 天。

*处死解剖(**为 68 天解剖)。

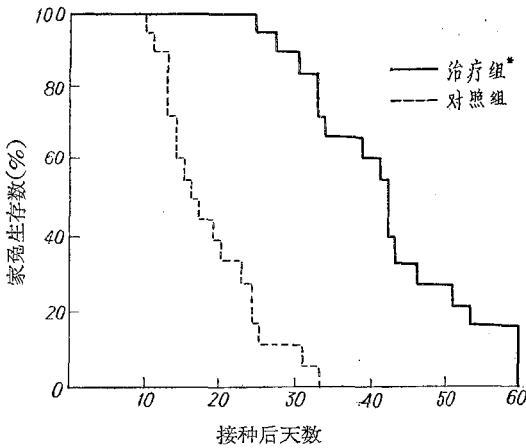


图1 AT-581对静脉接种Brown-Pearce癌家兔存活率的影响

* 肿瘤接种后3小时开始静脉注射AT-581 0.7毫克/公斤,每天1针共12天.

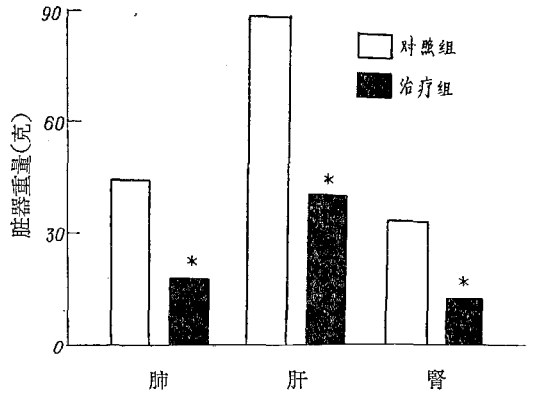


图2 AT-581 1毫克/公斤对Brown-Pearce癌家兔脏器重量的影响

* 与对照组比较差异显著(P < 0.001).

检查,除发现肝和肾脏表面和切面有多个黄色纤维疤痕外,其它部位均无肿瘤生长;肺、肝和肾脏的重量也比对照组显著减轻(图2)。由于剂量较大,略有毒性反应,治疗组1只家兔于实验中途死亡,生存时间延长74% (P < 0.05)。

其它几个氮芥类药物,包括AT-16, AT-222, AT-290, AT-346和合-14对Brown-Pearce癌均无明显抑制作用。

讨 论

关于Brown-Pearce癌的生长特性已有不少研究^[19-21],它的形态结构和远处转移等特性颇与人类癌症相似,因此Shapiro等^[1]认为它是肿瘤实验治疗中很有价值的材料。一些实验室也利用此瘤株进行药物的研究。常见的方法是眼前房接种试药法^[22,23],即将瘤块种植于眼前房,以观察药物对肿瘤重量的影响。其它还有肝内接种^[24]和体外试验^[25,26]等方法。本文以肿瘤悬液静脉接种,进行药物的研究。利用此方法既能观察药物的作用,又能发挥Brown-Pearce癌转移的特点,同时肿瘤成活率高,没有自发消退,操作也很简便。

本试验采用三个指标作为疗效的估价:(1)动物生存时间。(2)动物肺、肝和肾脏的重量变化。(3)肺、肝和肾脏的转移病灶数多少。前者是一般实验治疗惯用的指标,后二者文献上还无系统介绍。鉴于Brown-Pearce有内脏转移的特性,加上家兔为较大的实验动物,应用脏器作为指标有其一定意义。其中肺脏的重量变化的指标意义更大,因为一方面肿瘤静脉接种瘤细胞在肺中较为集中,另一方面肺脏本身重量较轻(我们的材料平均13克),当有肿瘤生长时重量显著增加(最高可超过130克),二者的差异悬殊,有利于实验结果的分析。

在16个药物的试验中,发现AT-581的疗效比较满意。当静脉注射治疗剂量时,动物生存时间显著延长,对载瘤肺和肝脏的重量也有明显的抑制,动物体重也比对照组增

加。在注射大剂量时,可使肿瘤全部被抑制。

AT-581 是苯丙氨酸苯环的邻位上与氮芥的甲基相接的化合物,根据本实验室^[27]在小鼠移植性肿瘤上的实验结果,认为邻位结构异构体 AT-581 的治疗作用比对位 AT-290 的强。本实验利用家兔 Brown-Pearce 癌进行研究,其结果相仿:对位结构异构体 AT-290 用 1 毫克/公斤静脉注射,不能延长肿瘤家兔的生存时间,对肺、肝和肾脏的转移病灶数仅有 4—6% 的抑制率,而邻位结构异构体 AT-581 用同样或较小剂量,均有非常显著的疗效。这结果可能由于 AT-581 的苯丙氨酸基的对位空出,有利于苯丙氨酸羟基化酶在苯丙氨酸对位上的羟基化,这样有助于苯丙氨酸基发挥载体的作用,从而提高药物的抗癌效能。

Aoki 和 Fukuoka^[28] 利用小鼠 Ehrlich 腹水癌进行实验治疗时,发现一些药物可以对腹腔接种的肿瘤有较好的抑制作用,但当此肿瘤静脉注射时则其作用显著减弱。由此可见,一般药物对静脉接种的肿瘤是不易有效的。我们的材料证明 AT-581 对静脉接种的 Brown-Pearce 癌有很高的抑制效能,很值得进一步注意。

参 考 文 献

- [1] Shapiro, D. M., Weiss, R. and Gellhorn, A.: The Effect of Azaguanine on Mitosis in Normal and Neoplastic Tissue, *Cancer*, 1950, **3**, 896—902.
- [2] Gellhorn, A., Kells, A. and Hirschberg, E.: Tests of Compounds Against Various Experimental Tumors, *Cancer Res. (Suppl.)*, 1953, **1**, 40—44.
- [3] Пейсахович, И. М., Теленгатор, Я. М. и Проценко, Л. Д.: Антибрастическое действие 1,4-диоксифенил-о, о-bis-диэтилендиамида фосфорной кислоты, *Архив. Патологии*, 1959, **21**(6), 67—72.
- [4] Гарин, А. М.: К сравнительному исследованию действия препаратов из группы хлорэтиламинов и этилениминов на экспериментальные опухоли при гомо-и-гетеротрансплантации, *Бюлл. exper. биол. и мед.*, 1960, **50**(7), 74—78.
- [5] Хомченовский, Е. И.: Регионарный фракционный метод введения сарколизина при некоторых переносимых опухолях, *Вопр. онкол.*, 1961, **7**(3), 56—63.
- [6] Zeidman, I. and Buss, J. M.: Transpulmonary Passage of Tumor Cell Emboli, *Cancer Res.*, 1952, **12**, 731—733.
- [7] Zeiman, I.: The Fate of Circulating Tumor Cells. I. Passage of Cells Through Capillaries, *Cancer Res.*, 1961, **21**, 38—39.
- [8] Casey, A. E., Meyers, L. and Drysdale, G. R.: Intratesticular Various Subcutaneous Trasplantation of Brown-Pearce Tumor in New Zealand Whites, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1948, **69**, 576—579.
- [9] 楊金龍、任范友、胥 彬: 家兔 Brown-Pearce 癌的一些生长特性的研究, 天津医学杂志肿瘤学附刊, 1964, (2), 225—229.
- [10] 刘明章、沈美玲、胥 彬: 抗肿瘤药物的研究 XV. AT-16 对动物肿瘤的疗效, 药学报, 1963, **10**, 22—29.
- [11] 周金煦、梁惠珍、胥 彬: N-双(2-氯乙基)-N'-N''-二乙撑基磺酰胺对动物肿瘤的疗效及毒性, 药学报, 本期, 617—625.
- [12] 吴德政、陈瑞婷、胥 彬: 抗肿瘤药物的研究 XI. 对双-(β-氯乙基)氨基苯丙氨酸(AT-290)的毒性及疗效, 药学报, 1962, **10**, 611—618.
- [13] 周金煦等: 抗肿瘤药物的研究 AT-346 对实验肿瘤的疗效和毒性, 待发表.
- [14] 陈瑞婷、周金煦、刘明章、王道尧、胥 彬: 抗肿瘤药物的研究 VI. 对双-(β-氯乙基)氨基-邻甲氧基-苯丙氨酸(3P)的实验治疗及毒性, 药学报, 1962, **8**, 217—221.
- [15] 王道尧、周金煦、胥 彬: 抗肿瘤药物的研究 VII. 对双-(β-氯乙基)氨基-β-苯丙氨酸(合-14)对动物肿瘤的疗效及其毒性, 药学报, 1960, **8**, 223—227.
- [16] 周金煦、胥 彬、王道尧、刘明章、陈瑞婷: 抗肿瘤药物的研究 III. 数种锦葵螯合物对实验肿瘤的作用, 药学报, 1959, **7**, 259—265.
- [17] Hsu Bin, Lin Ming-chang, Lu Kiao-hung, Li Wen-yu, Chen Juei-ting, Wang Tao-yuan, Chou Chin-hsu,

- Koo Shu-ngoeh & Shen Li-chun: Actimomycin K an Antibiotic Against Tumor, *Chinese Med. J.*, 1959, 78, 415—418.
- [18] 刘明章、王道苑、周金煦、陈瑞婷、顾綏嶽、胥 彬: 抗肿瘤药物研究 II. 放线菌素 K 对三种小白鼠肉瘤的疗效及其毒性, *生理学报*, 1959, 23, 227—236.
- [19] Brown, W. H. and Pearce, L.: Studies Based on a Malignant Tumor of the Rabbit, *J. Exper. Med.*, 1923, 37, 601—629, 631—645, 799—810, 811—828.
- [20] Casey, A. E.: Experiments with a Material from the Brown-Pearce Tumor, *Cancer Res.*, 1941, 1, 134—135.
- [21] Gardashran, A. M.: Transfer and Metastasis of the Brown-Pearce Tumor. (引自 Vygodchikov, G. V.: *Pathogenesis and Immunology of Tumors*, 1959, 30—38, London.)
- [22] Gellhorn, A., Engelman, M., Shapiro, D. M., Graff, S. and Gillespie, H.: The Effect of 5-Amino-7-Hydroxy-1H- δ -Triazolo(d) Pyrimidine (Guanazolo) on a Variety of Neoplasma in Experimental Animals, *Cancer Res.*, 1950, 10, 170—177.
- [23] Gellhorn, A., Kells, A. and Golino, M.: Mammary Adenocarcinoma 755, Glioma 26 and Brown-Pearce Carcinoma, *Cancer Res. (Suppl.)*, 1955, 3, 38—43.
- [24] Kratochvil, M., Knotz, F., Judin, J., Godal, A. and Winkler, A.: An Experimental Study on Local (Regional) Chemotherapy of the Intrahepatically Implanted Brown-Pearce Tumor in the Rabbit, *Neoplasma.*, 1959, 6, 275—279.
- [25] Flint, T. J., Hirschberg, E. and Murray, M. R.: Comparative Effects of Chemotherapeutic Agents on Brown-Pearce Tumor and Normal Rabbit Testis in vitro, *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, 1953, 84, 493—496.
- [26] Flint, T. J. and Murray, M. R.: Effects of Chemotherapeutic Agents on the Brown-Pearce Tumor in vitro, *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 1953, 1, 17.
- [27] 周金煦等: 抗肿瘤药物的研究 AT-290, AT-581, AT-582 的抗肿瘤作用, 未发表.
- [28] Aoki, T. and Fukuoka, F.: Chemotherapeutic Tests Using Pulmonary Tumor Formation by Intravenous Injections of Cancer Cells, *Gann*, 1959, 50, 47—50.

STUDIES ON ANTITUMOUR DRUGS

XIX. EFFECTS OF CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS ON BROWN-PEARCE CARCINOMA IN THE RABBIT

YANG JIN-LONG, REN FAN-YOU AND HSU BIN
(*Institute of Materia, Academia, Sinica, Shanghai*)

ABSTRACT

Sixteen antitumour agents including Thio-TEPA, BCM, HN₂, MBAO, TEM, AT-16, AT-222, AT-290, AT-346, AT-581, 3P, Ho-14, Sb-57, Sb-71, AC-808 and Actinomycin K were tested in rabbits bearing Brown-Pearce carcinoma. AT-581 (*o*-[bis-(2-chloroethyl)-aminomethyl]-phenylalanine dihydrochloride) was found to produce a marked inhibitory action on this tumour. Intravenous injections of 0.7 mg/kg/day for 12 days prolonged significantly the survival time of the rabbits (130% prolongation) and strongly inhibited the metastasis of the tumour in the lungs and the liver. When the dose was raised to 1 mg/kg, a more pronounced effect was observed.

Under the same experimental conditions, the remaining 15 compounds exhibited no obvious therapeutic action.

The experimental method and the criteria of effectiveness employed in this paper were also discussed.