

· 实验研究 ·

克癌 7851 抗癌作用的实验研究

周 舒 迟永春 杜皓萍 陈子馨 刘 颖

(临床医学研究所病理生理室 电镜室)

摘要 本文报告了由铜、铁微量元素与清热解毒、活血化瘀中草药组成的克癌 7851 对小鼠肝癌和肺癌抑制作用。对肝癌抑制率 45.9%~73.5%, 肺癌 34.3%~35.9%。与对照组相比, 荷瘤动物活存动态曲线明显抬高, 癌细胞分裂指数下降, 对照组 33.4%~39.8%, 给药组 19.6%~24.2%, 癌细胞 DNA 含量较少, 对照组 42.9~47.2 A. U., 给药组 33.5~41.1 A. U., 组方图明显左移。

关键词 克癌 7851 抑癌率 癌细胞分裂指数 DNA 含量

EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF
ANTICANCER-7851

Zhou Shu, et al

1991, 5(1): 3

(Department of Pathophysiology, Institute of Clinical Medical Sciences)

Abstract: Anticancer 7851 consists of trace elements Cu, Fe and some drugs cleaning away heat and toxic material. BALB/c and C₅₇BL/6 mice bearing liver (H₂₂) and Lewis lung cancer, respectively, had been used to investigate the anticancer efficacy of Ac7851. The results showed: 1, At a dosage, 160mg/kg, the inhibitory rate of tumor was 45.9%~54.9% for liver cancer and 34.3%~35.9% for lung cancer. While at a dosage, 640mg/kg, the inhibitory rate of the liver cancer was 70.9%~73.5%. 2, The survival dynamic curve of the mice treated with Ac7851 was obviously higher than that of control. 3, The proliferation of cancer cells in mice treated with Ac7851 was inhibited, the mitotic index in Ac7851 group was 18.6%~24.2%, while that in control was 33.3%~39.8%. The DNA content of tumor cells was 33.4~41.1 A. U. in Ac7851 group and 43.9~47.2 A. U. in control. Histogram of DNA in Ac7851 group was shift to the left. It is suggested that to inhibit the proliferation, even to kill the cancer cells, may be the important aspect of the mechanism of anticancer of action Ac7851.

Key words: Ac7851; inhibitory rate of tumor; mitotic index of cancer cells; content and histogram of DNA

近十多年来, 刘同乐、刘同庆用铜、铁制剂辅以清热解毒等中草药, 制成克癌 7851 治疗肿瘤患者收到了一定效果。为了探索铜、铁微量元素的抗癌作用及所用中草药的解毒实质, 我们对克癌 7851 进行了系统的实验研究, 本文就其抗癌部分报告如下。

1 材料与方法

1.1 荷瘤动物模型

用 BALB/c 和 C₅₇BL/6 纯系, 雄性, 18~22g 小鼠。将小鼠肝癌 (H₂₂) 细胞 5×10^5 接种于 BALB/c 小鼠右腋后皮下或腹腔, 分别造成

实体或腹水型肿瘤模型;将小鼠肺癌(Lewis)细胞 1×10^6 接种于 C₅₇BL/6 小鼠右腋后皮下造成实体瘤模型。

1.2 药物及给药方法

将铜、铁按 1:6 配成 16mg/ml 和 64mg/ml 之药液,每日上午灌喂 0.2ml/只。将方剂连翘、玄参、黄芩、金银花、枳实、当归、桃仁、莱菔子、生芪、丹参制成 100%水煎剂,每日下午灌喂 0.3ml/只,从接种瘤细胞次日连续给药 20 天。

1.3 观察项目及指标

- a. 生存期与生存率,观察 45 天;
- b. 瘤体大小或腹水增长的动态变化,计算抑瘤率;
- c. 肿瘤细胞分裂指数:用 May-Giemsa 染色,参照 Feulgen 染色片,在油镜下计数 2000 个癌细胞的前、中、后、末 4 个时相的核分裂细胞数,计算每 1000 个癌细胞中的分裂细胞数,即为分裂指数;
- d. 肿瘤细胞核 DNA 含量:抽取腹水涂片作 Feulgen 染色^[1]。用显微分光光度计(Leitz MPV₃)单波长($\lambda=550\text{nm}$)扫描法测定每个细胞核中的 DNA 含量。每张涂片测定 100 个细胞,计算平均值,并作组方图分析。与正常小鼠外周血淋巴细胞二倍体对照进行比较分析。

2 实验结果

2.1 平均生存期

此制剂可使肝癌和肺癌荷瘤小鼠存活时间延长 2~3 天,最长者可达 6 天(表 1)。

2.2 活存率

三批实验表明,荷瘤动物的活存率明显提高,腹水型肝癌动物提高 27.3%;Lewis 肺癌小鼠也有提高(表 2)。而且给药动物的动态活存状况比对照组高,在观察期的每个时间点上都高于对照动物(图 1)。

2.3 对肿瘤的抑制作用

2.3.1 实体型肿瘤 给药组瘤体及平均瘤重都明显小于对照组(表 3、4);而且,给药组动物肿瘤较对照组增长缓慢。到 15 天后,对照组瘤体仍在继续增长,而给药动物的瘤体不但不再增大,反而逐渐缩小,与对照组的持续增长趋势对比形成了剪刀差(图 2)。

2.3.2 对癌性腹水的抑制 通过对腹围和体重的连续测量,表明给药动物的癌性腹水比对照动物增长缓慢,特别在早期,两组差别明显(表 5)。

2.3.3 病理学观察 给药组的瘤组织内癌细胞数量减少,瘤巨细胞亦少,坏死明显,瘤组织周围淋巴细胞反应明显,而对照组瘤组织则癌细胞数量多而密集,坏死轻,淋巴细胞反应亦轻(图 3、4)。

2.3.4 给药组动物癌细胞分裂象、分裂指数均明显少于对照组动物(表 6)。给药组癌细胞 DNA 含量明显少于对照组,并有统计学意义(表 7)。对照组 DNA 组方图明显右移,呈多峰分布,为多倍体异倍体图形。给药组癌细胞 DNA 组方图明显左移(图 3)。进而,对照组癌细胞可见 6 倍体的峰值,同时有较多的 8 倍体和 10 倍体细胞,但给药组峰值在 4 倍体,而 8 倍体较少,10 倍体几乎没有(表 8)。

表 1 给药动物与对照动物平均生存时间的比较

实验	肿瘤类型	活存天数 ($\bar{x} \pm \text{SD}$)		生命延长率 (%)	t 检验
		对照组 (只)	给药组 (只)		
1	H ₂₂ 腹水癌	20.36 $\pm$ 1.12 (11)	23.50 $\pm$ 2.34 (11)	115.4	P<0.001
2	H ₂₂ 实体瘤	33.75 $\pm$ 2.91 (8)	39.00 $\pm$ 3.50 (7)	115.6	P<0.005
3	Lewis 肺癌	20.28 $\pm$ 3.01 (11)	23.00 $\pm$ 4.12 (11)	113.4	P<0.05

表 2 给药组与对照组动物的活存率比较

实验	肿瘤类型	生存率 (%)		t 检验
		对照组	给药组	
1	H ₂₂ 腹水瘤	72.7	100.0	P<0.05
2	H ₂₂ 实体瘤	25.0	57.7	0.1>P>0.05
3	Lewis 肺癌	72.7	81.8	P<0.05

表 3 对小鼠肝癌的抑制作用

实验	药物 剂量 (mg/kg)	平均瘤重(g,X±SD)		抑瘤 率 (%)
		对照组(只)	给药组(只)	
1	160	1.02±0.53(9)	0.45±0.25(9)	54.9*
2	160	2.61±0.73(10)	1.41±0.59(10)	45.9**
3	160	3.68±2.84(10)	1.69±1.18(19)	54.0*
4	640	3.68±2.18(10)	1.00±0.89(11)	70.9**
5	640	1.02±0.53(9)	0.27±0.09(11)	73.5**

* P<0.05 ** P<0.01 (下同)

表 4 对小鼠 Lewis 肺癌的抑制作用

实 验	药物剂量 (mg/kg)	平均瘤重(g,X±SD)		抑瘤率 (%)
		对照组(只)	给药组(只)	
1	160	3.15±0.68(10)	2.03±0.61(10)	35.6**
2	160	2.06±0.97(10)	1.32±0.60(10)	35.9*
3	160	3.15±0.68(10)	2.07±0.81(10)	34.3*

表 5 对癌性腹水增长变化的影响 (按体重测量)

实验组	动物 数	体重增长 (g, X±SD) (净增值)			
		7 天	9 天	12 天	16 天
对照组	11	24.2±3.0 (0)	28.0±3.9 (3.2)	32.0±4.1 (7.9)	33.2±5.4 (9.0)
给药组	11	23.1±2.4 (0)	24.7±2.9 (1.6)	30.4±4.3 (6.9)	30.1±4.4 (7.0)

表 6 对小鼠腹水肝癌细胞核分裂的影响

实 验	平均分裂指数 (% ₀ , X±SD)		t 检验
	对照组	给药组	
1	39.0±2.12	19.6±1.50	P<0.001
2	39.8±8.35	19.8±1.78	P<0.005
3	33.4±5.00	24.2±9.10	P<0.05

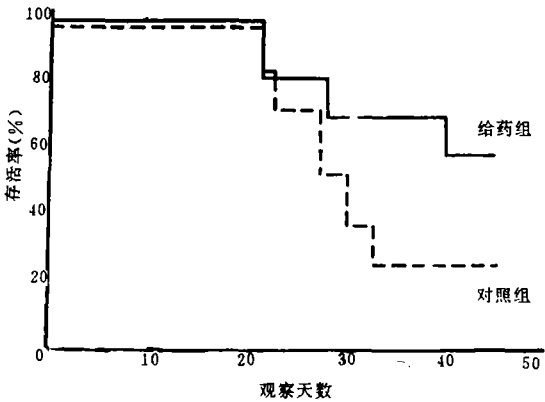


图 1 克癌 7851 对小鼠 (BALB/c) 荷瘤 (H₂₂) 动态活存曲线的影响

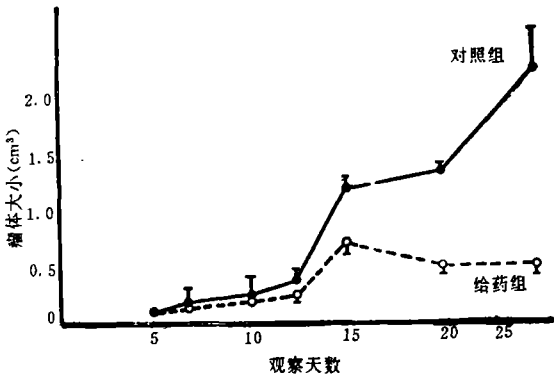


图 2 克癌 7851 对小鼠 (BALB/c) 肝癌 (H₂₂) 抑制作用的动态

表 7 对小鼠腹水肝癌细胞 DNA 含量的影响

组 别	细胞核 DNA 含量 (A. U. X±SD)		
	二倍体	对照组	给药组
1	13.96±3.09	42.95±10.91	33.49±8.49***
2		45.87±11.55	38.00±8.99***
3		47.16±11.04	41.14±11.36***

*** P<0.001

表 8 给药组与对照组癌细胞的倍体比较

细胞 类型	各类细胞倍体的百分率 (%)				
	2c	4c	6c	8c	10c
二倍体	91.4	4.0	0	0	0
对照组	0	37.7±11.96	0±10.6	5.7±1.2	2.0±0.8
给药组	0	65.0±8.9	30.7±7.4	4.3±1.7	0.3±0.4

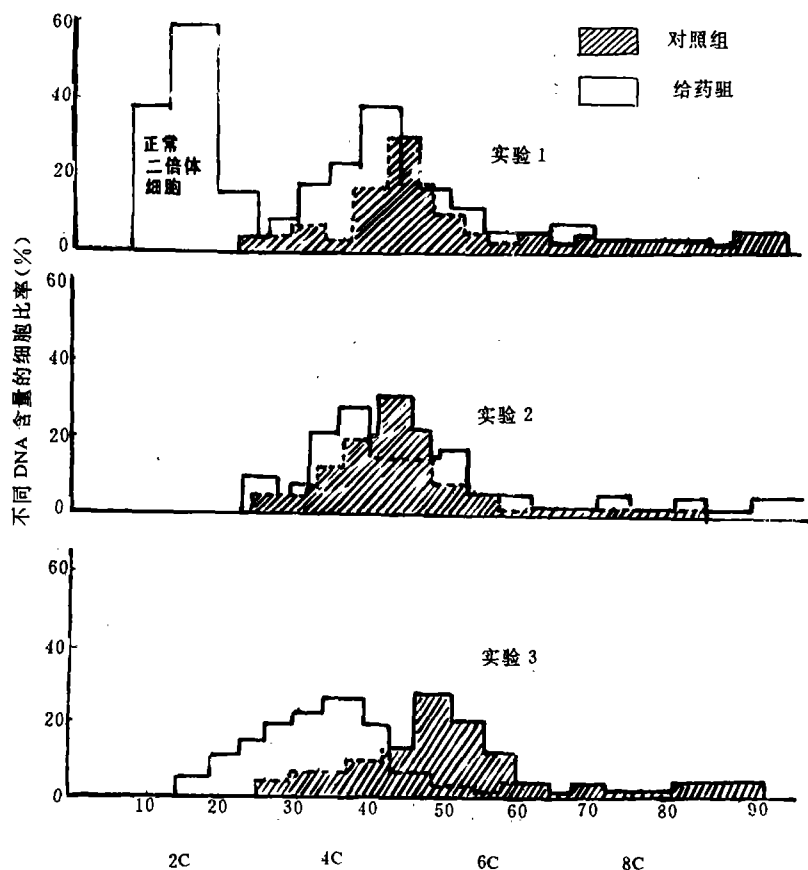


图5 Leitz MPV₃ 显微分光光度计测定的正常细胞和小鼠肝癌细胞核
DNA含量组方图 DNA含量(任意单位A.U.)

3 讨论

近年来,关于微量元素抑制肿瘤的报道屡见不鲜^[2~6]。也有一些关于铜化合物抗癌的报道。有实验证明,铜化合物可抑制肿瘤的生长和癌细胞的增殖^[7~9];食物中缺铜,癌的诱发率较高,若在饲料中加入一定量铜,癌的发生受到抑制^[5]。文献中未曾见有用铜、铁制剂治疗肿瘤的临床报道。根据祖国医学辨证施治原则,用金属类治病易产生“热毒蕴积”。刘氏兄弟在开始应用铜、铁制剂时,曾发现患者有口干、舌燥和便秘等热象,而与清热解毒中药伍用则可避免。在动物预试验中,也看到单独使用铜、铁制剂,肿瘤虽能得到控制但毒副作用大,动物

死亡率高;与辅药伍用后则毒性解除。本文所用的克癌7851即为铜、铁制剂与清热解毒中药伍用而制成。

国际上常用小鼠Lewis肺癌和肝癌(H₂₂)细胞株造成实体和腹水两种瘤型。经多次反复实验证明:克癌7851确有明显的抗癌作用:①有较高的抑瘤率;②能提高荷瘤动物的活存率和动态活存状况;③能延长荷瘤动物的平均活存时间。然而克癌7851是否也象化疗药物那样,对肿瘤既有克制的一面,又对骨髓及免疫功能有毒副作用^[10],我们初步观察表明,克癌7851对造血和免疫功能不但无毒副作用,反而有一定的促进作用,对肝、肾功能也未见毒副作用。

关于抗癌作用的机理,据我们观察并参考文献有关

资料,认为有如下可能:①抑制和杀伤癌细胞,研究证明该制剂能抑制小鼠肝癌细胞的有丝分裂,核分裂指数明显减少,并能减少癌细胞的DNA含量,DNA组方图左移。文献上也曾报告硫酸铜和二异丙基水杨酸铜可抑制细胞突变^[7],铜螯合物可抑制体外癌细胞的³H-TdR掺入率;②金属与分子氧之间相互作用的氧化还原机制导致自由基的形成,因而诱发Cu(II)的降解和分子链的断裂。自由基的产生与Cu(II)有密切关系,通过氧化还原反应产生自由基,进而导致DNA的损伤乃至杀伤破坏癌细胞^[11,12]。铜在正常细胞沉积于胞浆内,然而在癌细胞则沉积于细胞核内及核周围^[13]。铜在细胞中的这种分布规律与其选择性损伤及破坏癌

细胞有密切关系。

(本文图 3、4 见封二)

4 参考文献

- 1 Chi YC, et al. Microspectrophotometric measurements of DNA content in cells of rat thyroid carcinoma. Chinese Medical Journal, 1985, 98 (8): 595
- 2 Xia XM, et al. Study on the anticancer mechanism of Se-The effects on the enzyme related to glycolysis. Chinese J of Oncology, 1987, 9 (4): 255
- 3 Hisashi A, et al. Antitumor effect in mice of an organic germanium compound (Ge-132) when different administration methods are used. Jpn J Cancer Chemother, 1985, 12 (12): 2345
- 4 Pinedo HM. Cancer Chemotherapy. The EORTC Cancer Chemotherapy Annual 4. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford, 1982. 69
- 5 Kensler TW, et al. Inhibition of tumor promotion by a biomimetic superoxide dismutase. Science, 1981, 221: 75
- 6 Luo FQ & Lu SX. Effect of copper and zinc on the metabolism of N-nitrosamine and activity of cytochrome p-450 in the liver of rats. Chinese J of Oncology, 1988, 10 (1): 12
- 7 Reiniers JJ Jr & Colby AB. Survey of cytotoxicities and antimutagenic and antitumor initiating activities of Cu (II) (3,5-diisopropylsalicylate) 2 and its analogs in a keratinocyte-mediated mutation assay and the murine skin multistage carcinogenesis model. Carcinogenesis, 1988, 9 (4): 629
- 8 Syrkin AB & Chlenova EL. Antidotal and antineoplastic properties of copper sulfate. Biull Eksp Biol Med, 1988, 105 (4): 477
- 9 Crispens CG Jr & Sorenson JR. Evaluation of the anticancer activity of Cu DIPS IN SJL/J mice. Anticancer Res, 1988, 8 (1): 79
- 10 Perry MC. Chemotherapy, Toxicity and Clinician Seminars in Oncology, 1982, 9: 1
- 11 Morier-Teissier E, et al. Synthesis, biological activity and bithiazole peptide derivatives related to the antitumor drugs m-AMSA and bleomycin. Anticancer Drug Des, 1989, 4 (1): 37
- 12 Giorgi-Renault S, et al. 2, 3-bis (2-pyridyl) -5, 8-qui-noxalinediones with metal chelating properties: Synthesis and biological evaluation. J. Pharm Sci, 1989, 78 (4): 267
- 13 Fuchs AG, et al. Localization of tissue copper in mouse mammary tumor. Rr Oncology, 1989, 46 (3): 183

• 经验交流 •

中西医结合治疗癌症验案 4 例

张代钊 李 学

(中医肿瘤科)

1 中医药防治严重化疗毒副反应

张×× 男 58岁 病案号 185017

患者因左上肺腺癌于 1988 年 2 月在外院行手术切除, 术后即行化疗, 每周 MMC 4mg、CTX 100mg、VCR 1mg, 并输血浆及氨基酸。但仍因虚汗如浴、厌食、眼圈黑陷、痰中带血、脱发严重等中止化疗, 1988 年 6 月 12 日来我科诊治。时症: 左胸背痛甚、剧咳、纳少、舌红苔薄、脉沉细、消瘦。拟益气健脾、宣肺止咳、抗癌止痛, 投: 炙芪 50g、茯苓 12g、党参 20g、陈皮 6g、杏仁 12g、川贝 12g、白术 12g、丝瓜络 9g、内金 15g、菟丝子 9g、婴粟壳 6g、半枝莲 30g, 水煎服, 日一剂, 兼服加味犀黄胶囊、练气功。上症大为改善。1988 年 11 月再行化疗, 每周 5-Fu 500mg、VCR 1mg、CTX 800mg, 中药方中加入枸杞子 15g、女贞子 15g、鸡血藤 30g, 并服扶正解毒冲剂。化疗 6 周, 反应轻微。

(下转第 45 页)

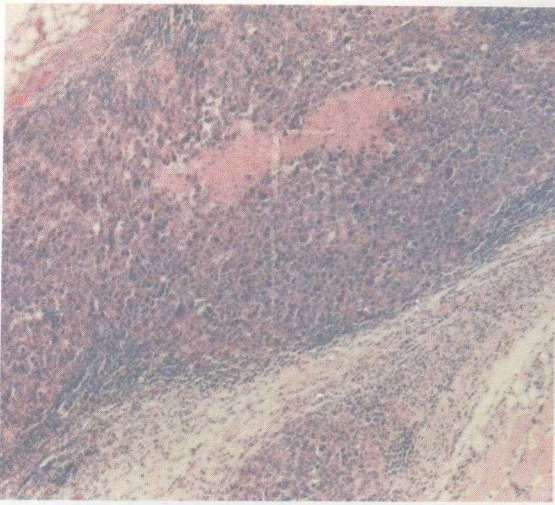


图 3 对照组的癌组织中的癌细胞密集, 坏死面积小, 淋巴细胞部分浸润
HE 染色 $\times 100$

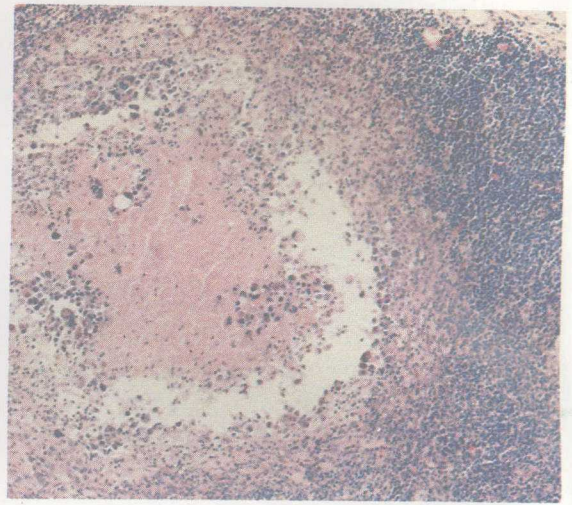


图 4 给药组的癌组织中癌细胞数量明显减少, 坏死面积大, 淋巴细胞反应明显
HE 染色 $\times 100$

颈动脉灌注 ACNU 治疗复发脑胶质瘤

(正文见 22 页)

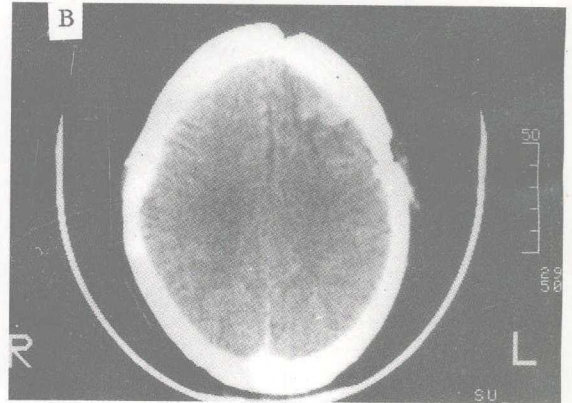
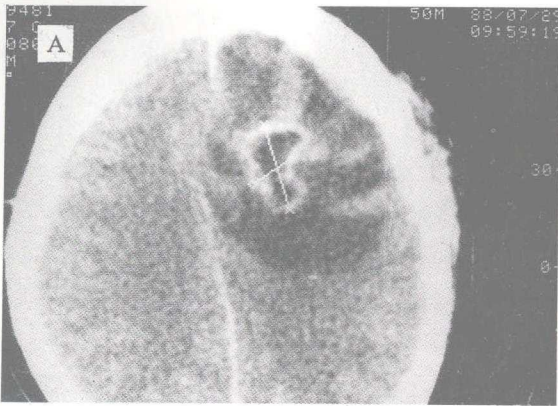


图 1 病例 2 颈动脉灌注 ACNU 治疗前后增强 CT 对照
A: 动脉灌注前 B: 动脉灌注后

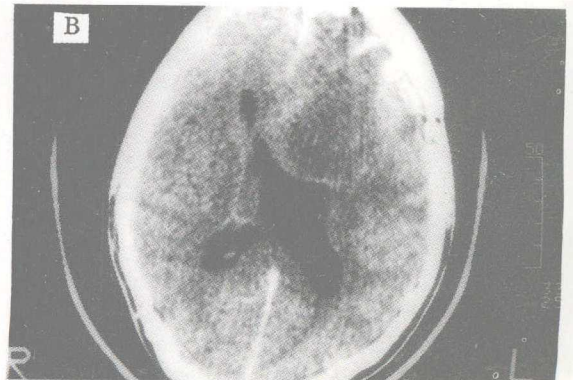
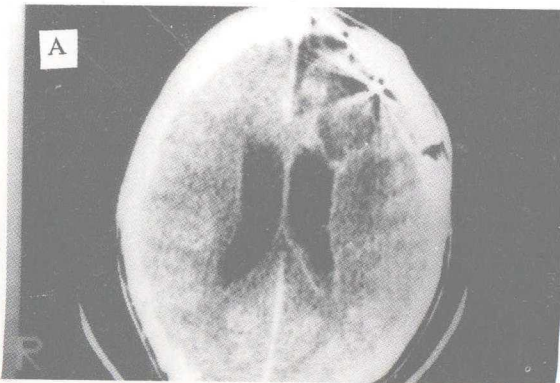


图 2 病例 5 颈动脉灌注 ACNU 治疗前后增强 CT 对照
A: 动脉灌注后 B: 动脉灌注前