

实验肿瘤

金荞麦提取物治疗肺癌的临床前预测研究

四川省肿瘤研究所 马云鹏 程 佳 傅晓忠

云南省曲靖地区医院 吴友仁

本文利用小鼠、肾囊膜下移植法(SRCA) 预测评价了金荞麦提取物金E和CD₁对12例肺癌组织块异种移植后治疗的敏感性, 初步观察了两种提取物对荷瘤宿主的毒副作用。移植实验总可评价率为83.3% (10/12)。以移植前后癌组织体积改变OMU < -10为有效标准, 金E和CD₁的有效比分别为4/10和2/10, 肺腺癌对金E治疗的敏感性高于其它组织类型的肺癌。两种提取物对宿主无明显毒副反应。利用SRCA法进行临床前期预测评价有苗头的抗癌剂尚属新的尝试。

金荞麦[Fagopyrum Cynosum(Trev) Meisn] 系近年来新发现的一种具有抗癌活性的中草药。临床观察发现金荞麦根嚼化吞服, 水煎剂和提取物CD₁、CB₃等能明显改善肺癌、宫颈癌患者机体状况, 缩小瘤块体积和延长患者生存时间; 在体外能明显杀伤Hela和肺癌细胞。金E是新近利用活性追踪法从金荞麦根中分离提取的一种抗癌活性最高的原花色素缩合性单宁¹, 主要含有(一)一表儿茶素, (一)一表儿茶素-3-没食子酸酯及原矢车菊素B-2, B-4等。本实验利用SRCA法预测金E对个体人肺癌块异种移植治疗的敏感性, 为临床研究提供更为可靠的依据。

实验方法

一、人肺癌组织块的制备

外科取材的肺组织经病理检查证实为肺癌后置于加适量抗生素的TC₁₀₀培养液中, 冰浴保存, 2小时内送作SRCA。剔除癌旁及坏死组织, 用刀片将癌组织切割成1.5~2.0mm³的小块, 重新放入新鲜的培养液中备用。随机取3块制备好的癌组织块固定于10%中性福尔马林溶液中, 供病理组织形态学分类及实验质量控制。

二、人肺癌小鼠肾囊下移植

详细方法见前文²。简述如下: 小鼠(B-abl/c, 体重20~24g, 雌雄皆有, 获自卫生

部成部生物制品所动物室) 称重后乙醚吸入麻醉, 俯卧固定, 背部皮毛常规消毒后切开左肾部位皮肤(8mm), 打开腹腔后托出肾脏, 将制备好的瘤块放入一自制的塑料穿刺针内, 刺入肾囊膜下, 借助空气压力轻轻将组织块推入内侧肾囊下(切忌损伤肾实质), 随后在体视显微镜下原位测量植入组织块相互垂直的2个直径, 最后复位肾脏, 缝合皮肤。从瘤组织离体到移植结束不宜超过6小时。

三、治疗方法及疗效评价

金E和CD₁均为云南曲靖地区医院提供, 2种提取物均不溶于水, 使用前先以玛瑙研钵研为细末, 加入数滴二甲基亚砜助溶后再充分研磨, 最后加入0.85%NaCl稀释至所需浓度, 4℃保存备用。

SRCA后第1—5天, 小鼠连续5次口服金E或CD₁, 剂量均为100mg/kg/次, 对照组口服等体积含5%二甲基亚砜的盐水溶液。SRCA后第6天, 动物称重后脱颈椎处死, 剔出荷瘤肾脏, 脾脏和右侧股骨, 按上述方法原位测量最终天肿瘤体积。癌组织6天内体积的变化以体视测量单位(OMU)表达。本试验中, 1 OMU = 0.02mm³, OMU计算公式见前文²。+OMU值表示移植植物呈阳性生长, -OMU则相反。如果对照组移植植物OMU呈负值, 则表明移植不成功。在

本试验中，我们以 $OMU < -10$ 为治疗有效标准。此外，我们以移植前后动物体重变化，脾重及骨髓有核细胞计数等指标观察提取物对宿主的主要毒副反应。

实验结果

一、金荞麦提取物对移植人肺癌组织的敏感性

评价了12例肺癌患者对金E和 CD_1 的敏感性，对照组移植OMU值有10次呈正值，2次负值，总可评价率为83.3% (10/12)，

在10次可评价的试验中对照组平均OMU为6.34。

10例肺癌患者的一般情况，组织类型及术前放化疗史详见表1。金E和 CD_1 组平均OMU值分别为 -5.29 ± 8.10 和 -3.36 ± 6.88 。从金E和 CD_1 OMU的标准值可以看出，肺癌患者间因组织类型，分化程度，治疗史及取材部位等方面的差异，故疗效反应差异明显。按上述有效标准，金E和 CD_1 的总有效比分别为4/10和2/10，图1为4例对

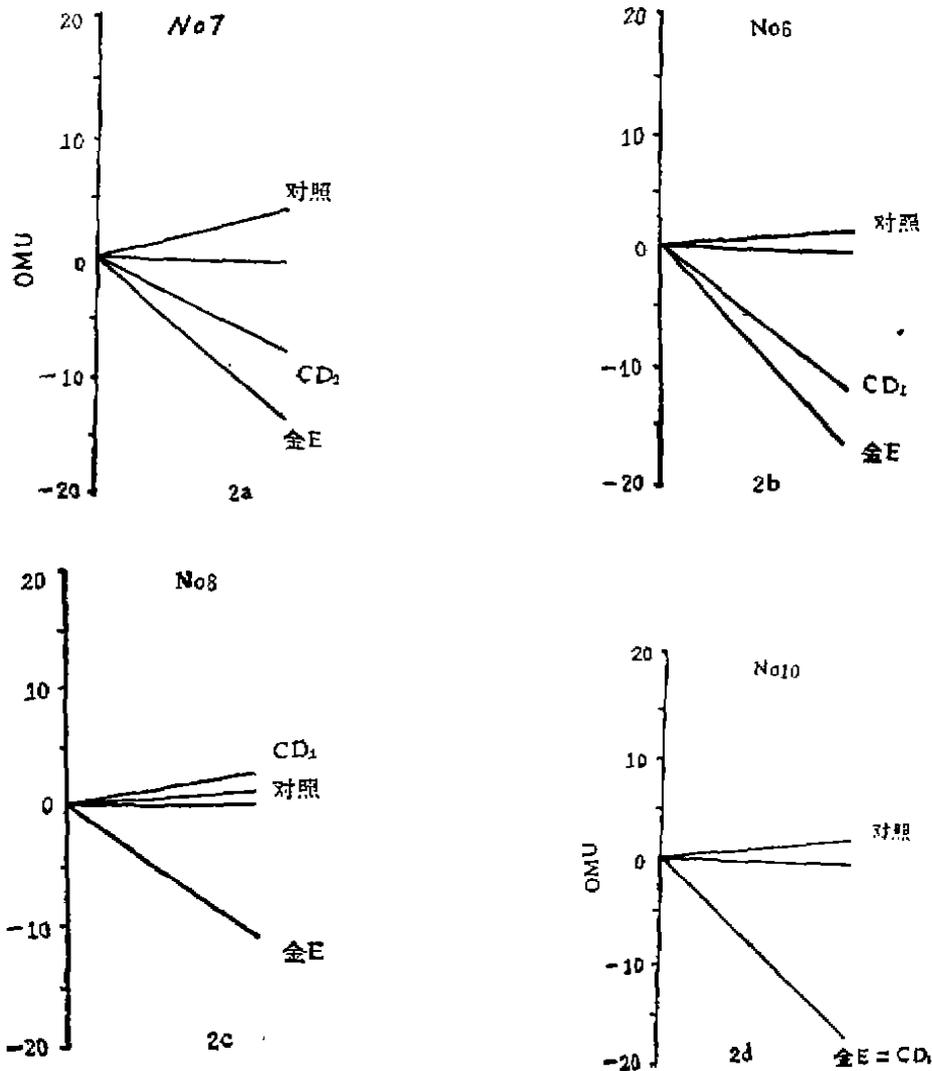


图1

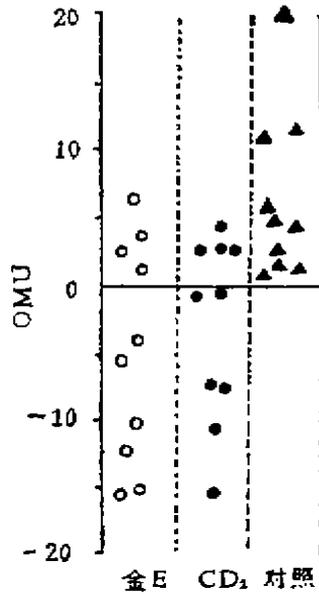


图 2

金荞麦提取物治疗有效的肺癌移植敏感性

图解，图 2 则以图解形式描绘了对照及治疗组移植OMU分布情况。从上述图表可见，金E对肺癌的敏感性高于 CD₁，前者所有患者的OMU值均低于相应对照组，后者则有2例OMU值高于对照。如果以肺癌的组织类型分类评价，金E对肺鳞癌最敏感，有效比为3/6，对肺腺癌则疗效不明显。有1例小细胞性肺癌对金E和CD₁均敏感，提示金荞麦提取物可能对此类肺癌有一定的治疗作用。

二、金荞麦提取物对荷瘤鼠体重、脾重和骨髓有核细胞数的影响

金荞麦煎剂及CD₁经动物及临床实验证明长期服用无任何毒副反应。金E和CD₁对造血和免疫功能的作用目前尚无报道，我们的初步研究提示（表 2）：2种提取物对小鼠体重和骨髓有核细胞均无统计学意义的改变，但金E治疗后动物体重较治疗前略有减轻，CD₁则相反，后者与临床观察相符。值

表 1 10例肺癌SRCA试验结果

| 病例 | 性别 | 年龄 | 组织分类 | 放化疗史 | OMU | | |
|----|----|----|--------|------|-------------|-----------------|------------|
| | | | | | 金E | CD ₁ | 对照 |
| 1 | 男 | 57 | 腺 癌 | + | 2.00 | -1.75 | 5.40 |
| 2 | 男 | 65 | 腺 癌 | - | -6.50 | 2.20 | 10.90 |
| 3 | 男 | 48 | 腺 癌 | + | -4.00 | 4.80 | 2.50 |
| 4 | 男 | 59 | 鳞 癌 | + | 5.80 | -1.20 | 20.10 |
| 5 | 男 | 53 | 鳞 癌 | + | 3.30 | 2.50 | 3.80 |
| 6 | 男 | 70 | 鳞 癌 | + | -15.40 | -11.60 | 1.50 |
| 7 | 女 | 64 | 鳞 癌 | - | -13.50 | -7.40 | 4.20 |
| 8 | 男 | 67 | 鳞 癌 | + | -10.10 | 2.40 | 1.10 |
| 9 | 男 | 43 | 鳞 癌 | + | 1.00 | -8.00 | 11.90 |
| 10 | 男 | 53 | 小细胞性肺癌 | + | -15.50 | -15.50 | 2.00 |
| 平均 | | | | | -5.29 ± 8.1 | -3.36 ± 6.9 | 6.34 ± 6.1 |

表 2 金E、CD₁对荷瘤鼠体重、脾重和骨髓有核细胞的影响

| 观察指标 组 别 | 动物数 | 体 重 (g) | | | 脾 重 (mg) | × 10 ⁶ 有核细胞/股骨 |
|-----------------|-----|-------------|-------------|----------|----------------|---------------------------|
| | | 0 天 | 6 天 | FBW/IBW* | | |
| 对 照 组 | 24 | 22.08 ± 2.5 | 21.83 ± 2.6 | 0.99 | 90.88 ± 20.5 | 15.56 ± 2.19 |
| 金 E | 20 | 21.85 ± 2.6 | 20.50 ± 2.6 | 0.94 | 70.09 ± 15.8** | 14.60 ± 1.81 |
| CD ₁ | 20 | 21.56 ± 2.1 | 22.40 ± 2.4 | 1.04 | 90.46 ± 18.1 | 14.28 ± 3.81 |

* FBW/IBW = 最终天体重/起始天体重

** P < 0.005

得注意的是金E在连续5天口服给药后,动物脾重量较对照组明显减轻。

讨 论

免疫功能健全鼠肾囊膜下短期(6天)移植人体肿瘤法是直接把保留个体肿瘤生物学特性的组织块移植于营养物质和药物极易到达的肾囊膜下,因为肾脏是免疫排斥迟发性脏器,所以在免疫排斥反应出现之前通过药物处理可以反映出个体肿瘤对不同药物处理的敏感性³。SRCA与临床前瞻性、回顾性对比研究证明,该方法与临床反应相关性好,真阳性率达80%,真阴性率高于90%⁴。目前,SRCA已用于抗癌药物筛选;个体肿瘤化疗敏感性评价以及检测各种特异性抗肿瘤的生物学活性因子如干扰素,肿瘤坏死因子和抗肿瘤单克隆抗体等领域⁵⁻⁸。用于预测临床前期新药抗癌效价方面尚属新的尝试⁹。

金荞麦具有止咳、消炎、镇痛和改善机体状况等多种药理活性。活性追踪法证明,主要含缩合单宁的金E抗癌活性明显高于其它金荞麦提取物,奥因和西岗等学者近年来发现在化学结构上具有多羟基的单宁具有十分广泛的生物活性,如抗酯过氧化酶,抗突变,抑制致癌促进因子和宿主介导性抗肿瘤作用(如仙鹤草及马桑单宁)¹⁰⁻¹²。我们则首次发现金荞麦单宁对人肺癌有明显的治疗作用。目前,越来越多的证据表明从单宁类化合物中筛选抗癌剂具有广阔前景。

在金E进入临床研究的前夕,我们用SRCA预测了其抗肺癌活性,并比较了已知对肺癌有明显治疗作用的CD₁和金E的抗癌效价。临床初步观察表明,CD₁对肺鳞癌较敏感,总有效率约50%,SRCA试验发现CD₁有效比为2/10,这一差异可能与治疗方案,病例选择,有效标准等多种因素不同有关,但SRCA试验也提示金荞麦对肺鳞癌较敏感,这一点与临床观察相吻合。动物瘤谱筛选及SRCA研究表明,金E抗癌活性明显高于CD₁,这一结论将有待于正在进行的临床研究来验证。

金E抗癌活性高于其它金荞麦提取物,但对动物脾脏尚有一定影响,这一作用可能与给药剂量偏高有关,剂量如加大到500mg/kg,脾重减轻则更明显。这一现象希望临床学者在设计I期临床实验时给予注意。

参 考 文 献

1. 吴友仁等,云南省肿瘤学会第二届第二次学术年论文文集,(昆明)P.97,1988
2. 马云鹏等,中华医学杂志 67:503,1987
3. Bogden AE et al, Cancer 48:10, 1981
4. Griffl TW et al, Cancer 52:2185, 1983
5. Bogden AE et al, Proc. AACR ASCO 19:105, 1978
6. Bogden AE et al, Proc. Amer Assoc Cancer Res. 24:861, 1983
7. Cobb WR et al, Invest New Drugs 1:5, 1983
8. Bogden AE et al, Cancer Res (Supplement) 29:429, 1987
9. 马云鹏等,中国肿瘤临床 14:246, 1987
10. 奥因拓男,昭和癌症学会志 2:168, 1985
11. Okuda T et al, J Pharmacobiodyn 8, S-59, 1985
12. Kakiuchi N et al, J Natural Products 48:614, 1985

(1987.11.18收稿)

(1988.7.20第二次修回)

Prediction of Responsiveness of Human Lung Cancer Xenografts to Extracts of Fagopyrum Cymosum (Trev) Meisn by SRC Assay

Ma Yun-Peng et al

Sichuan Institute for Cancer Research, Chengdu

Responsiveness of human lung cancer explants to extracts E and CD₁ of Fagopyrum Cymosum (Trev) Meisn, a newly discovered antitumor agent of Chinese medicinal herb, was determined by subrenal capsule (SRC) assay. A total of 12 lung cancers were tested in which 60 xenografts were implanted. With a mean growth of >5 OMU (1 OMU = 0.02mm) in the control animal an assay was considered evaluable. The trials provided an evaluable assay rate of 83.3%. Taking <-10 OMU of tumor xenograft size as standard of responsiveness extracts E and CD₁ offered response rates of 40% and 20% respectively. Squamous cell carcinoma was more sensitive to E than other types of lung cancer. These findings were similar to the clinical effects of CD₁ phase-I trials. SRC assay might be of value in predicting human tumor response to new antitumor drugs prior to clinical phase-I trials. The study also confirmed that extracts E and CD₁ had no toxicity and side-effect to the mice.

Key Words: Lung cancer Chinese herb Subrenal capsule assay