

芳基三氮烯甲氧嘧啶选择性抗小鼠 Lewis 肺癌转移的作用*

江 春 李 德 华

(天津医药科学研究所, 天津)

提要 本实验对比研究了芳香三氮烯甲氧嘧啶(ATMP)和环磷酰胺(CY)对小鼠 Lewis 肺癌的作用。ATMP 在不影响原发瘤生长的同时, 可明显减少自发性转移的发生, 而 CY 对原发瘤及转移瘤都有抑制作用。 $^3\text{H-TdR}$ 部分参入实验证明, ATMP 对 Lewis 肺癌的细胞毒作用很弱。ATMP 对人工转移无影响; 提前给药不影响自发性转移; 不改变小鼠腹腔巨噬细胞 Fc 受体的活力。上述实验提示, ATMP 具有选择性的抗转移作用, 其作用环节可能是抑制肿瘤细胞从原发部位的脱落以致不能进入血液循环。

关键词 芳基三氮烯甲氧嘧啶; Lewis 肺癌; 转移

恶性肿瘤的转移是癌症患者死亡的主要原因之一。继 Hellmann 等⁽¹⁾ 报道 ICRF-159 有抗转移作用之后, Heyes⁽²⁾ 又证明三氮烯化合物中 BRL-51308 也具有选择性的抗转移作用。我们在寻找新的三氮烯类抗癌药过程中, 发现刘纪云等⁽³⁾ 合成的三氮烯化合物 3 号 (芳基三氮烯甲氧嘧啶 ATMP) 对 Lewis 肺癌自发性转移有明显的抑制作用, 对此我们进行了研究。

方法和结果

(一) ATMP, CY 对 Lewis 肺癌自发性转移的作用

抗自发性转移实验、疗效评价及肺组织学检查按文献^(4,5) 进行。(除特殊说明外, 均以观察肺表面结节的方法评价药物疗效) ATMP 以 1% 吐温配制, 环磷酰胺(CY)以生理盐水新鲜配制。C 57 BL/6 小鼠皮下接种 Lewis 肺癌 1:10 匀浆 0.2 ml/只, 次日给药。接种后第 14 天测量原发瘤长短径计算瘤重, 第 21 天解剖取肺观察肺转移。由表 1 可见, ATMP 20 mg/kg 以下剂量, 对原发瘤生长几乎无影响, 但可明显抑制肺转移; 40 mg/kg 对原发瘤抑制率仅为 31%, 而肺转移抑制率达 100%。对经 ATMP ip 25 mg/kg \times 10 d 治疗后的同一批小鼠肺转移标本, 分别以立体显微镜观察肺表面和组织切片镜检, 瘤结数抑制率为 89% 和 85.7%。CY 18 mg/kg 对原发瘤及转移瘤都有明显的抑制作用, 但降低剂量后对二者均无疗效(表 1)。

(二) ATMP, CY 对 $^3\text{H-TdR}$ 部分参入的影响

取皮下接种 Lewis 肺癌第 10 天的小鼠, 一次 ip ATMP 60 mg/kg 或 CY 54 mg/kg, 对照组给予等量 1% 吐温溶剂。给药后 24 及 48 h 每鼠 ip $^3\text{H-TdR}$ 30 μ Ci (中国科学院原子能所产品, 比活性为 23 Ci/mM), 1 h 后拉颈处死小鼠, 迅速称取原发瘤组织 90 mg, 基本按文献⁽⁶⁾ 测定部分参入量 FI, 并计算实验组相当于对照组的参入率。实验表明: 在抗自发性转移基本等效剂量下, ATMP 对 $^3\text{H-TdR}$ 部分参入无明显抑制作用, CY 使 FI 降至 60%

本文于 1985 年 6 月 21 日收到

* 本研究为中国科学院基金会资助课题

Tab 1. Effects of ATMP and CY on sc primary tumor and spontaneous metastasis of Lewis lung carcinoma ($\bar{X} \pm SD$)

Group	Dose(mg/kg/day) ip	No. of mice initial/end	Inhibitory rates of s c tumor (%)	No. of metastasis		Wt. of metastasis (mg)	Inhibitory rate of metastasis (%)		Mice of metastasis
				Small [△]	large		by No.	by Wt.	
Control ATMP	—	8/8	—	9.3±7.0	0.5±1.0	4.9±8.0			0/8
	5×14	8/8	10	2.9±3.4	0.4±0.7	2.6±4.8	66	47	4/8
	10×14	8/7	-10	0.7±0.8	0	0.4±0.6	92*	92	4/7
	20×14	8/7	13	0.3±0.4	0	0.4±0.8	96*	92	5/7
	40×14	7/7	31	0	0	0	100**	100**	7/7
Control ATMP	—	6/6		6.4±3.9	0	2.8±2.7			0/6
	25×10	6/6	23	0.7±0.7	0	0.1±0.1	89**	96**	3/6
Control ^{△△} ATMP ^{△△}	—	6/6		11.9±2.7	0	3.4±4.0			0/6
	25×10	6/6	23	1.7±1.7	0	0.01±0.01	85.7**	99.6*	2/6
Control CY	—	6/6		7.3±2.3	0.3±0.4	8.5±7.8			0/6
	4.5×14	6/6	16	8.0±4.7	1.3±1.1	12.0±8.9	-22	-41	0/6
Control CY	—	9/9		5.2±3.4	0.3±0.4	2.3±2.2			0/9
	9×14	8/8	-13	4.0±2.1	0.2±0.4	3.4±2.8	23.5	-47	0/8
Control CY	—	12/12		9.0±8.0	0.4±0.9	7.0±10.0			0/12
	18×14	8/8	64	1.0±1.7	0	0.5±0.9	89**	93*	3/8

*P<0.05, **P<0.01,

[△]Diameter<2 mm, ^{△△}Lungs were examined by histological examination

Tab 2. Effects of ATMP and CY on the fractional incorporation of ³H-TdR into s c Lewis lung carcinoma ($\bar{X} \pm SD$)

Compound	No. of mice	Dose (mg/kg ip)	Fractional incorporation (%)	
			24 h	48 h
—	4		100±10	100±13
ATMP	4	60	79±30	87±17
CY	4	54	36±10**	60±25*

*P<0.05; **P<0.01

以下, 与对照组相比, 有显著性差异(表 2)。

(三) ATMP 对小鼠腹腔巨噬细胞 Fc 受体活力的影响

津 II 小鼠, 鼠龄 10±2 周。溶血素浓度 1:8000 ip TAMP 20 mg/kg×4 d, 停药后第 2 天测定、方法见文献⁽⁷⁾。实验表明, ATMP 给药组花环形成率为 81±4.3, 巨噬细胞吞噬率及吞噬指数为 13.8±8.0, 13.9±10.0; 对照组分别为 82±9.0, 16.7±10.0 和 18.0±11.0。二者相比, 均无显著性差异。

(四) ATMP 对人工转移和提前给药对自发性转移的影响

人工转移实验: 按文献⁽⁸⁾的方法将 Lewis 肺癌实体瘤制成单细胞悬液, 每鼠尾静脉注射 1×10⁵ 个活细胞, 注射后 30 min ip ATMP 10 mg/kg, 20 mg/kg, 1 次/d×10 d。实验表明, ATMP 不影响人工转移的形成。提前 ip ATMP 20 mg/kg×10 d, 停药后次日皮下接种 Lewis 肺癌, 给药组和对照组每鼠平均肺转移数为 9.3±2.6 和 10.8±2.7 个, 二者相比, 无统计学意义。

讨 论

药物抑制肿瘤的转移,可大致分为两个方面,即改变机体的功能状态和直接作用于肿瘤组织⁽⁸⁾。而细胞毒药物如CY则是通过对瘤细胞的直接杀伤而抑制转移的⁽⁸⁾。基于这一观点,我们首先将ATMP的抗转移作用和CY进行了比较。结果表明,ATMP对Lewis肺癌原发瘤及转移瘤的抑制程度存在着明显差异,说明了ATMP具有选择性的抗转移作用。CY对二者的抑制程度比较接近,并基本呈平行关系,可见CY的抗转移作用并无选择性。FI实验提示,在本实验所用剂量下,CY明显抑制瘤细胞DNA的合成,ATMP则否。可见ATMP的抗转移作用并非主要由于对瘤细胞的直接杀伤,这一作用特点与CY是完全不同的。

ATMP不改变小鼠腹腔巨噬细胞Fc受体的活力,提示其抗转移机制可能与巨噬细胞无关。接种前给药不影响自发性转移,说明ATMP不是通过影响机体的功能状态而抗转移的。

恶性肿瘤的转移可大致分为脱落,进入血液循环和种植生长三个阶段⁽⁹⁾。将肿瘤细胞直接注入小鼠尾静脉,可模拟肿瘤细胞经血液循环转移的过程。Lewis肺癌一般从接种后第6天开始进入血液循环⁽¹⁰⁾,为了与抗自发性转移连续给药14d的治疗方案相比较,在人工转移实验中连续给药8d,使血液循环中的瘤细胞与药物接触的时间大致相等。ATMP对人工转移无抑制作用提示它不影响转移的后两个阶段,其作用环节可能是抑制了瘤细胞从原发部位的脱落以致不能进入血液循环。

致谢 本所刘纪云等提供ATMP,张金芝、聂卫同志协助完成部分免疫、病理工作

参 考 文 献

1. Hellmann K and Burrage K. Control of malignant metastasis by ICRF-159. *Nature* 1969;224:237.
2. Heyes J. Antimetastatic effects of 4-carbethoxy-5-(3,3 dimethyl-1-triazene)-2-methylimidazole. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:279.
3. 刘纪云等. 芳基三氮烯化合物的合成. 医药工业 1984;(9):20.
4. Giraldi T, et al. Antimetastatic action of some triazene derivatives against the Lewis lung carcinoma in mice. *Cancer Treat Rep* 1978;62:721.
5. 马克韶等. 刺参酸性粘多糖抗肿瘤肺转移的实验研究. 海洋药物 1982;(1):21.
6. Houghton PJ, et al. effects of cytotoxic agents on TdR incorporation and growth delay in human colonic tumor xenografts. *Br J Cancer* 1977;36:206.
7. 朱云凤. 小鼠腹腔巨噬细胞Fc受体的观察. 上海免疫学杂志 1982;2:65.
8. Giraldi T, et al. Selectivity of the antimetastatic and cytotoxic effects of 1-p-(3,3 dimethyl triazene) benzoic and potassium salt (\pm)-1,2-di (3,5 dioxopiperazin-1-yl) propane and cyclophosphamide in mice bearing Lewis lung carcinoma. *Cancer Res* 1981;41:2524.
9. Ross E and Dingemans K. Mechanism of metastasis. *Biochim Biophys Acta* 1979;560:135.
10. Jams SE and Salsbury AJ. Effects of (\pm) 1,2 bis (3,5 dioxopiperazin-1-yl) propane on tumor blood vessels and its relationship to the anti metastatic effect in the Lewis lung carcinoma. *Cancer Res* 1974;34:839.

SELECTIVELY ANTIMETASTATIC EFFECTS OF ARYLTRIAZENE METHOXYPYRIMIDINE ON LEWIS LUNG CARCINOMA

JIANG Chun and LI De-Hua

(*Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin*)

ABSTRACT ATMP, 4 [p-(3,3-dimethyl-1-triazene) phenylsulfamide]-5,6-dimethoxypyrimidine was first synthesized by Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences. Effects of ATMP have been studied in comparison with those of cyclophosphamide (CY) in mice bearing Lewis lung carcinoma. At the dosages of 10, 20, and 40 mg/kg/d, ATMP was shown to inhibit the number and the weight of spontaneous pulmonary metastasis but showed no significant effect on the primary tumor. Antimetastatic effects were also demonstrated by histological examination. On the contrary, CY 18 mg/kg/d ip obviously inhibited the growth of both primary tumor and pulmonary metastasis, whereas under relatively lower dosage, no effects on the tumors of both locations were observed. The effects of the two agents on the fractional incorporation of ^3H -TdR in tumor cells further indicated that at the dosage used in the experiment only ATMP was devoid of cytotoxic action for the primary tumor. The experiments also showed that ATMP did not modify the activity of Fc receptor of peritoneal macrophage in mice and did not reduce artificial metastasis. In the host pretreated with ATMP, no reduction of the formation of spontaneous metastasis was found.

These data indicate that ATMP, differing from CY, has selective antimetastatic effects. It acts directly on tumor cells and presumably inhibits their release from primary tumor into the bloodstream.

Key words Aryltriazene methoxypyrimidine (ATMP); Lewis lung carcinoma; Metastasis