DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.06.040
第24卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 6
722 2002年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)06-0722-03

克拉霉素治疗小鼠Lewis肺癌的实验研究

柏长青[1],戚好文[1],王德堂[2],郭慧铃[2] (第四军医大学西京医院:[1]呼吸内科;[2]妇产科实验室,西安 710033)

提 要:目的 研究克拉霉素对小鼠Lewis肺癌的治疗效果和作用机制,为临床应用提供实验依据。方法 C57BL/6小鼠右肋处皮下接种Lewis肺癌,6 h后随机分为2组,每组15只,分别接受克拉霉素50 mg·kg^{-1}·day^{-1}(实验组)或等体积5%葡萄糖(对照组)腹腔内注射,每日1次,连用21 d。观察比较实验组与对照组小鼠存活时间、移植瘤体积、肿瘤组织内微血管度和肺脏转移瘤数目。结果 实验组小鼠的平均存活时间为(27.0±2.6)d,肿瘤组织内微血管密度为18.7±11.4,肺脏表面的转移瘤数目为12.0±2.9,对照组小鼠的上述参数分别为(19.1±2.0)d,24.5±13.7和18.6±5.4,两组差异非常显著($P<0.05$)。结论 克拉霉素具有抗肿瘤血管生成和抗肿瘤转移的作用,在肿瘤的综合治疗中具有一定的应用价值。

关键词:克拉霉素;Lewis肺癌;治疗
中图法分类号:R734.205;R978.15 文献标识码:A

Therapeutic effect of Clarithromycin on Lewis lung carcinoma in mice

BAI Chang-qing, QI Hao-wen, WANG De-tang, GUO Hui-ling (Department of Respiratory Diseases, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To study therapeutic effect of clarithromycin (CAM) on Lewis lung carcinoma in mice. Methods Lewis lung carcinoma cells were inoculated into right hind footpad of C57BL/6 mice. Six hour after tumor inoculated, the mice were divided into 2 groups and intraperitoneally injected with CAM 50 mg·kg^{-1}·d^{-1}(treatment group) or 5% glucose at same volume (control group). The mean survival time, tumor volume, quantitation of microvessel density in tumor and the occurrence of lung metastasis were analyzed. Results Clarithromycin effectively increased the mean survival time, reduced the microvessel density in tumor and the number of tumor nodule in the lung. Conclusion Clarithromycin has antiangiogenic and antitumor effects and might has possible therapeutic applications in the treatment of Lewis lung carcinoma.

Key words: clarithromycin; Lewis lung carcinoma; therapy

克拉霉素(Clarithromycin CAM)是临床上常用的14环大环内酯类抗生素,近年来有关此类抗生素作为生物反应调节剂用于肿瘤的治疗引人注目[1,3],本研究在证实克拉霉素具有抗鸡胚绒毛尿囊膜和b-FGF诱导小鼠腹壁血管生成的基础上,采用C57BL/6小鼠的荷瘤模型,观察CAM对Lewis肺癌生长和转移的影响,探讨CAM在肿瘤治疗中的应用价值并初步探讨其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供瘤鼠 上海市医药工业研究院药理研究室馈赠,瘤株为Lewis肺癌,无菌条件下摘除生长良好的肿瘤,生理盐水洗净血污,眼科剪将肿瘤块剪成1 mm^{3}大小的组织块,每克肿瘤组织加3.0 ml生理盐水,玻璃匀浆器匀浆,200目尼龙网滤过。

1.1.2 实验动物 6~8周龄C57BL/6小鼠,购自第四军医大学实验动物中心,雌雄不拘,体重(20±3)g,0.2 ml肿瘤匀浆接种于右肋处皮下,复制肿瘤模型。

1.2 方法

1.2.1 分组和处理 小鼠接种肿瘤匀浆6 h后,随机分成实验组和对照组,每组15只。实验组:按50.0 mg·kg^{-1}·d^{-1}的剂量,腹腔内注射CAM(Abbott Co. Ltd产品,西安利君制药集团馈赠,5%葡萄糖稀释),每日1次,连用21 d。对照组:用等体积的5%葡萄糖,注射方法和时间与实验组相同。

1.2.2 疗效判定 ①存活时间:每天观察并记录荷瘤小鼠的存活状况,直至死亡。②移植瘤体积:肿瘤接种7 d后,每3 d用游标卡尺测量移植瘤大小,按公式:V=(长×宽^2)×0.52计算肿瘤体积(mm^3)。③移植瘤内的微血管密度:肿瘤接种后第16 d,每组随机挑选荷瘤小鼠5只,断颈处死,取出移植肿瘤称重(g),石蜡包埋、切片,S-P法进行血管染色(CD31抗体购自Santa Cruz,S-P组化试剂盒购自北京中山生物公司)。计数方法:从每只小鼠的肿瘤切片中随机选出5张,先在低倍镜(100×)下检查整个切片,找到并选取微血管密度最高的5个视野(热点),在高倍镜(200×)下对这5个视野内的微血管进行计数,每一个清晰的阳性染色视为一个血管,取其平均值作为每只小鼠每个高倍视野内的微血管密度(Micro-vascular density, MVD)[7]。肺脏转移:小鼠死亡后,立即取出肺脏,40 g·L^{-1}多聚甲醛固定,解剖显微镜下计数肺脏表面的肿瘤结节。

1.3 统计学分析

t检验或非参数方法比较肿瘤大小、重量、微血管密度、实验动物存活天数和肺脏表面的转移瘤数目,所有统计计算均在SPSS10.0软件上进行,检验水准为双侧$P<0.05$。

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(2001SM48)
作者简介:柏长青(1963-),男,安徽省合肥市人,博士,主治医师,讲师,主要从事肺癌临床治疗方面的研究,发表论文11篇。电话:(029)3375237
收稿日期:2002-02-28;修回日期:2002-05-06

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　结果

2.1　CAM 对荷瘤小鼠存活时间的影响

实验组小鼠和对照小鼠的平均存活时间分别为(27.0±9.9)d 和(19.1±7.8)d, 实验小鼠的平均存活时间是对照小鼠的 1.4 倍, 两者相比差异非常显著(P=0.022, 95% 可信区间 1.25~14.6)。

2.2　CAM 对移植瘤体积的影响

肿瘤接种 9~12 d 后, 肿瘤可长至 1.5 cm^3 大小, 随着接种时间的延长, 肿瘤中心区域开始出现溃烂。尽管实验小鼠肿瘤体积的测量值在各时间点均小于对照小鼠, 但统计学分析两者无显著性差异 (P=0.057), 见图 1。

2.3　CAM 对肿瘤组织内微血管密度的影响

本实验中阳性染色为黄色, 对照小鼠中微血管走向清晰, 数目较多, 见图 2B, 而实验组中的微血管数目明显减少, 结构也较为模糊, 见图 2A。经统计对照组和实验组 MVD 分别为 27.5±9.8 和 14.2±7.4, 两者差异显著(P=0.042, 95% 可信区间 0.64~25.98)。

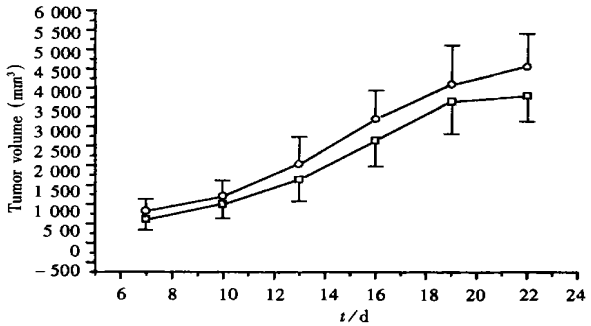


图 1　两组动物移植瘤体积的比较

Fig 1　Comparison of tumor volume between CAM treatment and control group

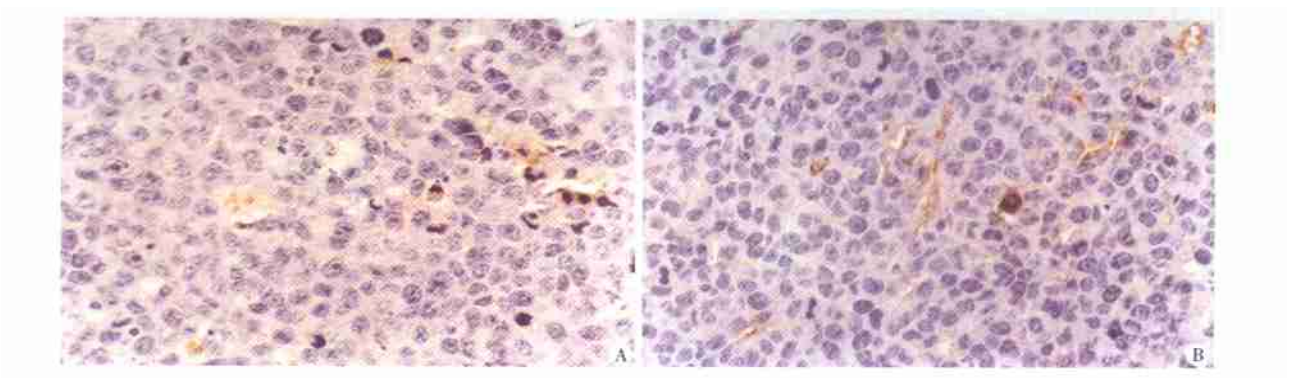


图 2　CAM 对肿瘤组织内 MVD 的影响　(S-P×400)

Fig 2　Anti-antiangiogenic effects of CAM on microvessel density　(S-P×400)

2.4　CAM 对移植瘤肺脏转移的影响

实验组肺脏表面的肿瘤结节数为 9.8±5.2, 较对照组 17.1±8.9 减少 42.7%, 两组相比差异显著(P=0.039 95% 可信区间 0.42~14.2), 见图 3。

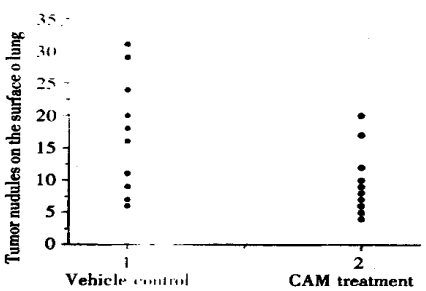


图 3　CAM 对肿瘤肺脏表面转移的抑制效果

Fig 3　Suppressive effect of CAM on the metastasis to the lung surface

3　讨论

肿瘤的生长有两个明显不同的阶段, 即从无血管的缓慢生长阶段转变为有血管的快速增殖阶段, 血管生成使肿瘤能够获得足够的营养物质, 如果没有血管生成, 原发肿瘤的生长不会超过 1~2 mm^3, 同时血管生成又为肿瘤的远处器官转移创造了有利条件, 肿瘤组织中的微血管密度与预后密切相关, 因此, 有效的抑制肿瘤新生血管生成-抗血管生成(Anti-angiogenesis)治疗是近年肿瘤治疗中倍受关注的研究领域。由于血管生成受到多种血管生成因子的调控, 因此抑制血管生成因子的产生或拮抗其生物学活性是抗血管生成治疗的主要策略之一[4,5]。

大环内酯类抗生素是 20 世纪 50 年代广泛应用于临床的抗菌药物, 通过与敏感细菌 50S 亚核糖体的可逆性结合, 阻断多肽链延长过程中的移位起到抗菌作用。CAM 属于 14 环大环内酯类抗生素, 近年来对此类抗生素的免疫和生物反应调节作用研究较多, 受其抑制的细胞因子中 TGF-β、IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、TNF-α、基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9)等与血管生成密切相关, 因而 CAM 可能是一种潜在的血管生成抑制剂[6,7]。Yatsunami 等发现 CAM 100 $mg\cdot kg^{-1}$ 腹腔内注射, 每日 2 次, 能减少鼠背空气囊模型(Mouse dorsal air sac model)中毛细血管面积的 30%, CAM 浓度大于 10 $\mu mol\cdot L^{-1}$ 能明显抑制血管内皮细胞在 Matrigel 上形成血管样结构, 随后他们在 C57BL/6 小鼠体内进

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

行的 B16 黑色素瘤实验表明: CAM 50 mg. kg^{-1} ·d^{-1}腹腔内注射, 连用 3 周, 能够减小肿瘤体积 56%, 同一实验中对照组的肺脏转移瘤数目为 19.5±18, 而 CAM 治疗组仅为 3.9±3.6[8]。采用荷有 1 376NF 乳腺癌的 F-334 小鼠模型, Sassa 证实 CAM 能够明显增强化疗(环磷酰胺+卡铂)和手术的治疗效果, 表现为动物生存时间延长和肿瘤转移减少[3]。Mikasa 等[2]报道在接受化疗或/和放疗的 22 例非手术的非小细胞肺癌患者中, 长期服用克拉霉素, 获得了 535 d 的中位生存期, 明显长于未使用克拉霉素的 20 例对照组病人(中位生存期为 277 d)。以上发现提示 CAM 在肿瘤的治疗中可能具有一定的应用价值。

本研究采用 Lewis 肺癌的 C57BL/6 小鼠模型, 观察 CAM 对 Lewis 肺癌生长和转移的影响, 结果表明: 尽管 CAM 对移植瘤的体积无明显影响, 但明显减少了肿瘤组织内的微血管密度, 从而有效地减少肿瘤转移, 延长了荷瘤小鼠的存活时间, 与国外研究采用其它肿瘤的荷瘤小鼠模型得出了基本一致的实验结果。在临床常用药物中筛寻血管生成抑制剂, 由于其作用机制、使用剂量和毒副反应较为明确, 是一种低投入、短周期的研究策略。因此对 CAM 的抗肿瘤作用及其机制, 特别是 CAM 与化疗、放疗、手术相结合治疗肿瘤的有效性和作用机制值得进一步探讨。

参考文献:

[1] Mikasa K. Study of effects and mechanisms of macrolide as biological response modifier for lung cancer treatment[J]. Jpn J Antibiot, 2000, 53(4): 253—260.

[2] Mikasa K, Sawaki M, Kita E, *et al*. Significant survival benefit to patients with advanced non-small-cell lung cancer from treatment with charithromycin [J]. Chemotherapy, 1997, 43(1): 288—296.

[3] Sassa K, Mizushima Y, Fujishita T, *et al*. Therapeutic effect of clarithromycin on a transplanted tumor in rat[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, 43(1): 67—72.

[4] Ostrowski K, Kinsner A. Inhibition of angiogenesis in the treatment of tumors[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2001, 49(1): 27—31.

[5] Eatock M M, Schatzlein A, Kaye S B. Tumour vasculature as a target for anticancer therapy[J]. Cancer Treat Rev, 2000, 26(3): 191—204.

[6] Sassa K, Mizushima Y, Kobayshi M. Differential modulatory effects of clari-thromycin on the cytokines by a tumor[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43(11): 2 787—2 789.

[7] Yatsunami J, Tsuruta N, Wakamatsu K, *et al*. Clarithromycin is a potent inhibitor of tumor induced angiogenesis[J]. Res Exp Med, 1997, 197(1): 189—197.

[8] Yatsunami J, Fukuno Y, Nagata M, *et al*. Antiangiogenic and antitumor effects of 14-membered ring macrolides on mouse B16 melanoma cells[J]. Clin and Exp Metastasis, 1999, 17(2): 361—367.

(编辑 谢义霞)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2002)06-0724-01

技术组阅片制度的应用

Significance of film reading in the technical personnel

夏 良, 王玉锦, 程相晨 (第三军医大学附属新桥医院放射科, 重庆 400037)

通过对技术组阅片制度运用与否的对比, 发现实行技术组阅片制度可增加优质片, 提高技术人员的工作能力。同时, 探讨如何健全、应用技术组阅片制度。

1 材料和方法

所用 X 光机为西南医用设备厂生产的 500mA 机型。随机抽取 1996 年度我科未进行技术组阅片和 1997 年我科开展技术组阅片制度后所拍胸片各 1000 张。按等级评定法分别将两组片分为甲、乙、丙、丁四级。在 1997 年, 我们采用每周两次技术组阅片, 对近期比较典型的照片, 从技术和诊断的角度进行讨论、分析, 全面评定照片质量, 找出问题的原因及解决办法。

2 结果

见表 1。经 χ^2 检验, χ^2= 62.968, P< 0.005。因此, 我们认为, 照片质量与是否开展技术阅片有关系。

表 1 实行技术组阅片制前后照片质量的对比

分类	1996 年		1997 年	
	张数	百分比(%)	张数	百分比(%)
甲级片	537	53.7	684	68.4
乙级片	265	26.5	227	22.7
丙级片	137	13.7	56	5.6
丁级片	61	6.1	33	3.3
合计	1000	100.0	1000	100.0

3 讨论

从统计结果可见: 1997 年的甲级片比 1996 年的多 147 张, 增加了 14.7%。而质量最差的丁级片 1997 年的比 1996 年的少 28 张, 减少了 2.8%。χ^2 检验亦证实了进行技术组阅片与未进行技术组阅片在照片质量上有显著性差异。

医学影像的诊断价值涉及到一个复杂的影像链[1], 包括设备的完好度、技术人员的工作态度和工作能力、诊断医生的理论基础和读片能力等。而技术员在这个影象链中起到了非常重要和关键的作用。技术阅片是提高技术员素质、保障技术质

(下转 728 页)

作者简介: 夏 良(1963—), 男, 四川省仁寿县人, 主管技师, 主要从事影像技术方面的研究, 发表论文 16 篇。电话: (023) 68755114—74676

收稿日期: 2002-03-17; 修回日期: 2002-05-13

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net