

羟基喜树碱灌胃密集式低剂量化疗对小鼠生存期的影响^Δ

顾红燕^{1*}, 孙路路¹, 郭青龙², 赵 丽²(1.首都医科大学附属北京世纪坛医院药剂科, 北京 100038; 2.中国药科大学江苏省肿瘤发生与干预实验室, 南京 210009)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2320-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.07

摘要 目的:探讨羟基喜树碱(HCPT)灌胃密集式低剂量化疗(MC)对小鼠生存期的影响。方法:将接种有肝癌株H22的小鼠随机分为A(阴性对照)组、B[HCPT-脉冲式高剂量化疗(MTD)]组和C、D(高、低剂量HCPT-MC)组,每组10只。给药方案分两个阶段,第一阶段为MTD,A组小鼠腹腔注射地塞米松0.5 mg/kg,B、C、D组小鼠灌胃HCPT 10 mg/kg,隔日给药1次,给药4次;第二阶段为MC,C、D组小鼠灌胃HCPT 0.05、0.1 mg/kg,A组小鼠同步给予地塞米松,B组小鼠给予生理盐水。共给药27 d,检测给药第8、15、22、27天时各组小鼠存活率、体质量和瘤体积。结果:与A组比较,D组小鼠各时间点存活率均明显增加($P<0.05$),C组小鼠于给药第22天时存活率为0,B组小鼠各时间点存活率无明显差异($P>0.05$)。与B组比较,C组小鼠给药第15、22、27天时体质量均明显降低,第27天时瘤体积明显减小。结论:HCPT灌胃MC能有效延长小鼠生存期,但需谨慎设计MC给药剂量。

关键词 密集式低剂量化疗;脉冲式高剂量化疗;羟基喜树碱;小鼠;生存期

Effects of Hydroxycamptothecine by Gavage with Metronomic Chemotherapy on Survival Time of Mice

GU Hong-yan¹, SUN Lu-lu¹, GUO Qing-long², ZHAO Li²(1.Dept. of Pharmacy, The Affiliated Beijing Shijitan Hospital of Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2.Jiangsu Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of hydroxycamptothecine (HCPT) by gavage with metronomic chemotherapy (MC) on survival time of mice. METHODS: H22 tumor strain bearing mice were randomly divided into group A (negative control group), group B [HCPT-maximum tolerant dose(MTD)], group C (low-dose HCPT-MC) and group D (high-dose HCPT-MC) with 10 mice in each group. Those groups received MTD firstly: group A was given dexamethasone 0.5 mg/kg intraperitoneally, and group B, C and D were given HCPT 10 mg/kg intragastrically every 2 days for 4 times. MC therapy was second stage: group C and D were given HCPT 0.05 and 0.1 mg/kg, group A with dexamethasone and group B with normal saline. The administration lasted for 27 days. The survival rate, body weight and tumor volume of mice were determined at 8th, 15th, 22nd and 27th after medication. RESULTS: Compared with group A, survival rate of mice in group D increased significantly ($P<0.05$); none of mice in group C survived at 22nd after medication; there was no significant difference in survival rate of mice in group B ($P>0.05$). Compared with group B, body weight of mice in group C decreased significantly at 15th, 22nd and 27th day after medication, and the tumor volume decreased significantly at 27th day. CONCLUSIONS: Intragastic administration MC of HCPT can prolong the survival time of mice, but it should be careful to confirm the dose of MC.

KEY WORDS Metronomic chemotherapy; Pulsed high-dose chemotherapy; Hydroxycamptothecine; Mice; Survival time

性。这说明左卡尼汀具有抗氧化损伤的能力,可提高自由基清除酶的活性,能保护心肌细胞的完整性。试验数据表明,左卡尼汀的加入使存活心肌细胞的数量增加,对表柔比星所诱导的心肌细胞损伤具有保护作用。但对于其他作用机制不同且具有心脏毒性的药物是否也有相同作用,还需作进一步的研究。

左卡尼汀作为预防用药时,其对肿瘤细胞增殖、抗肿瘤药物的疗效是否有影响,查阅国内外文献,未见研究报道。为了给临床提供正确选择和使用药物的依据,对其是否可减少心肌毒副作用,还需进行体内试验作进一步的研究。

参考文献

[1] 范毅敏,陈纯,甄宇峰,等.左卡尼汀治疗蒽环类抗肿瘤药

^Δ 基金项目:首都医科大学附属北京世纪坛医院科研课题(No.2009-C17)

* 主管药师。研究方向:肿瘤药理学和临床药理学。电话:010-63936036。E-mail:ghy_happy@yahoo.com.cn

物所致心脏毒性的临床观察[J].新医学,2007,38(4):229.

[2] 栾霞,张星霖,杨庆辉.左卡尼汀对阿霉素心脏毒性的保护作用[J].中国慢性病预防与控制,2006,14(4):286.

[3] 王宁,李应东.乳鼠心肌细胞原代培养方法的改进[J].中国心血管病研究,2007,5(12):920.

[4] 王衍堂,李宏霞,张建军,等.乌头碱对乳鼠心肌细胞的毒性作用[J].华西药理学杂志,2007,22(1):4.

[5] Edward THY, Ann TT, Daniel JL, et al. Cardiovascular complication of cancer therapy[J]. *Circulation*, 2004, 109(25):3 122.

[6] Zucchi R, Danesi R. Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines[J]. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2003, 3(2):151.

(收稿日期:2012-09-03 修回日期:2012-10-18)

密集式低剂量化疗(Metronomic chemotherapy, MC)^[1], 又称为节律性化疗, 是选用相对低的剂量的化学毒类药物, 频繁且有规律地给药的慢性化疗方法^[2]。其主要特点为给药剂量远低于最大耐受剂量, 给药间歇期缩短, 增加肿瘤接触药物的时间, 毒性易耐受, 可持续给药^[3]。国内外研究^[3-6]表明, MC治疗对转移性肿瘤、晚期癌症及产生耐药性的肿瘤具有较好的疗效。

10-羟基喜树碱(Hydroxycamptothecine, HCPT)是从我国特有的珙桐科植物喜树中分离得到的一种抗肿瘤天然生物碱, 其作用机制独特, 为细胞周期特异性药物, 主要作用于S期的细胞, 可选择性地抑制拓扑异构酶 I, 同时具有对局部组织无刺激反应等优点。HCPT具有较广的抗癌谱, 且毒性较低, 无论是单药还是联合化疗, 对非小细胞肺癌、胃癌、肝癌、直肠癌等均有一定疗效。本文以HCPT为研究对象, 对模型小鼠首先进行传统脉冲式高剂量化疗(MTD), 其后进行MC, 并联合地塞米松(Dex)腹腔注射以减轻化疗过程中水肿等不良反应, 初步探索HCPT灌胃MC对小鼠生存期的影响。

1 材料

HCPT注射用粉末(深圳万乐药业有限公司, 批号: 1108H1, 规格: 每支5 mg); Dex注射液(磷酸钠盐, 天津药业焦作有限公司, 批号: 10090311, 规格: 5 mg/ml)。

CR小鼠, 清洁级, ♂, 体质量18~22 g, 扬州大学比较医学中心提供, 许可证号: SCXK(苏)2007-0001。

小鼠肝癌实体型(H22)瘤株由江苏省肿瘤发生与干预实验室培养。

2 方法

2.1 H22细胞株培养

用一次性注射器于无菌条件下抽取接种有H22的荷瘤小鼠腹水, 离心超滤取上清, 按1:5与RPMI 1640培养液混合, 加入20%胎牛血清, 连续传10代后备用。

2.2 分组与给药

取小鼠100只, 腋下接种已经配置好的H22细胞混悬液($1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$), 每只0.1 ml。接种后第2天随机分为A(阴性对照)组、B(HCPT-MTD)组和C、D(高、低剂量HCPT-MC)组, 每组10只。根据前期预实验结果设计给药剂量, 实验分为MTD和MC前后两个阶段; 另外, 为减轻化疗期间水肿等不良反应, 各组化疗同时联用Dex 0.5 mg/kg。第一阶段, MTD给药, 即常规化疗阶段, 各组分别于第1、3、5、7天给药, 共给药4次。4组小鼠均腹腔注射Dex 0.5 mg/kg, B、C、D组小鼠同时灌胃给予10 mg/kg HCPT。第二阶段, MC给药, 即第一阶段给药结束后(第8天)开始, C、D组小鼠分别灌胃给予HCPT 0.1、0.05 mg/kg, 同时腹腔注射Dex 0.5 mg/kg, 连续给药5 d, 停药2 d为1个周期, 共给药3个周期; A组小鼠同步腹腔注射Dex 0.5 mg/kg, B组小鼠同步灌胃生理盐水。

2.3 指标检测

给药时间共27 d, 检测给药第8、15、22、27天时各组小鼠存活率、体质量、瘤体积, 并计算第8天时各组小鼠的抑瘤率。记录各组小鼠死亡数, 计算存活率(%) = 存活动物数/10 × 100%。用游标卡尺量取瘤组织长度(a)和宽度(b), 计算瘤体积(cm^3) = $a \times b^2 / 2$ 。HCPT灌胃后平均抑瘤率 = B、C、D组的平均瘤体积/A组的平均瘤体积 × 100%。第22天对B、D组体征典型的3只小鼠进行拍照, 观察一般情况。所有实验重复3

次。

2.4 数据统计

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。荷瘤小鼠存活率、瘤体积和小鼠体质量分别采用方差齐性检验、卡方检验或ANOVA检验的统计学方法进行统计, 使用SPSS 13.0软件进行统计学计算。 $P < 0.05$ 表示具有统计学差异。

3 结果

3.1 存活率比较

与A组比较, B、C组小鼠各时间点的存活率均无显著差异($P > 0.05$), D组小鼠给药第15、22、27天时存活率明显增加($P < 0.05$)。B组与D组比较, 2组小鼠各时间点的存活率虽无明显差异, 但第27天时D组小鼠存活率比B组平均增加20%。C组小鼠在实验进行至MC给药第2周期时小鼠的死亡数逐渐增多, 至第3周期开始, 存活率为0。各组小鼠不同时间点的存活率比较见图1。

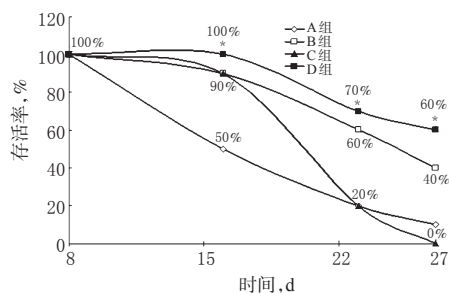


图1 各组小鼠不同时间点的存活率比较
与A组比较: * $P < 0.05$

Fig 1 Comparison of survival rate at different time points of mice in each group vs. group A: * $P < 0.05$

3.2 体质量比较

与B组比较, D组小鼠给药第15、22、27天时的体质量明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。C组小鼠由于在MC第3个周期给药开始后死亡严重, 故无法计算小鼠体质量。各组小鼠不同时间点的体质量比较见图2。

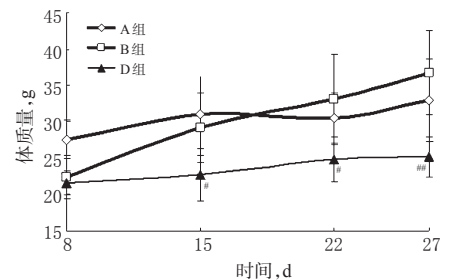


图2 各组小鼠不同时间点的体质量比较
与B组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

Fig 2 Comparison of body weight at different time points of mice in each group vs. group B: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3.3 瘤体积比较与抑瘤率

各组小鼠不同时间点的瘤体积比较见表1。

由表1可知, A组小鼠在第27天时瘤组织呈爆发式增殖, 瘤体积由第22天的(1.76 ± 0.49) cm^3 骤增至(4.38 ± 0.75) cm^3 。B组小鼠从第8天后瘤组织生长迅速, 瘤体积呈线性增

表1 各组小鼠不同时间点的瘤体积比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Comparison of tumor volume at different time points of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

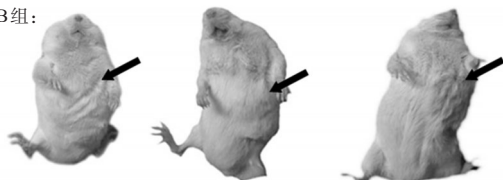
组别	瘤体积, cm ³			
	第8天	第15天	第22天	第27天
A组	0.75 ± 0.35	1.46 ± 0.17	1.76 ± 0.49	4.38 ± 0.75
B组	0.27 ± 0.07	1.10 ± 0.26	2.44 ± 1.35	3.87 ± 1.48
D组	0.50 ± 0.16	0.78 ± 0.32	1.89 ± 0.17	2.02 ± 0.62

长,且曲线陡峭。与A、B组比较,D组小鼠从第15天开始瘤组织生长缓慢,瘤体积明显减小($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。HCPT灌胃后第8天的平均抑瘤率约为49%。

3.4 一般状况变化

B、D组小鼠第22天的照片见图3。

B组:



D组:



图3 B、D组小鼠第22天的照片($n=3$)

Fig 3 Photos of mice at 22nd day in group B and D($n=3$)

由图3可见,B组小鼠的腋下肿瘤接种处水肿明显(如黑箭头所指)。

4 讨论

MC化疗使用范围较广,可用于标准化疗方案后的长期维持,进展相对缓慢的早期肿瘤术后辅助治疗,多种药物耐药的晚期转移性恶性肿瘤,无标准方案治疗的恶性肿瘤的研究性化疗以及年老体弱或经济条件差的患者及承受不住常规MTD的患者等^[7]。MC方案在肿瘤治疗领域的作用已经越来越为人们所接受和肯定^[4]。

本实验探讨了HCPT新的给药方式,与传统化疗相比,采用灌胃方式给药较简便,易为患者接受。由于市场上未能购买到HCPT口服剂型,故选用其注射用粉末,生理盐水溶解后灌胃。第一阶段常规化疗期结束后通过瘤体积估算HCPT灌胃后第8天的抑瘤率可达49%,表明灌胃给药对瘤组织生长具有一定抑制作用。

本实验研究结果表明,采用传统MTD和MC联合化疗后荷瘤小鼠存活率与未经化疗的A组相比具有显著性差异,表明联合化疗治疗策略有效。虽然统计学结果显示,联合化疗与单纯MTD化疗存活率相比无差异,但是从远期效果上看,联合化疗具有一定优势。从对瘤体积增长的影响上看,联合化疗的优势同样表现在远期,对控制癌症晚期瘤组织爆发式增长具有较好的效果。结合小鼠一般状况分析,HCPT灌胃MC和MTD联合化疗治疗在控制瘤体积生长、改善癌症恶病质方面均优于MTD单纯化疗的治疗。

C组MC时给予0.1 mg/kg HCPT(较传统化疗剂量降低100倍),小鼠存活率与未经化疗的A组相当,不仅未延长受试

小鼠生命,死亡率反而高于B组;而给予0.05 mg/kg的HCPT(较传统化疗剂量降低200倍)的D组却有效。这可能与化疗药物体内蓄积量过大,从而过早地触发毒性反应有关。因此,MC化疗方案制订中,剂量设定是关键,设定不当则加速死亡。最佳给药剂量的确定目前也是限制MC联合化疗方案在临床推广的瓶颈之一,有关研究还需进一步深入。

本研究还发现,若单纯使用HCPT治疗而无任何辅助治疗措施,荷瘤小鼠均出现不同程度水肿现象,直接影响实验结果。故在MC化疗中尝试联合使用小剂量Dex,受试组小鼠水肿现象得到很好的缓解。因此,在MC治疗过程中辅以恰当的对症治疗措施,对提高MC治疗方案的有效性具有一定益处。

综上所述,本实验研究以荷瘤小鼠为受试对象,与单纯性MTD化疗方案相比,联合MC治疗在抑制晚期瘤组织爆发式生长、改善恶病质等方面均存在优势,该化疗策略值得进一步推广试验。同时,笔者在研究中对HCPT灌胃MC方案中的服药方式、给药剂量等进行了初步的探索性研究,为后期深入研究奠定了基础,在剂量探索和辅助治疗方面积累了经验。MC联合化疗采用灌胃的形式,经济、有效、便利,易为癌症患者接受,具有极大的实际应用价值和较为深远的社会意义。

参考文献

- [1] Hanahan D, Bergers G, Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(8): 1 045.
- [2] Bocci G, Tuccori M, Emmenegger U, et al. Cyclophosphamide-methotrexate 'metronomic' chemotherapy for the palliative treatment of metastatic breast cancer. A comparative pharmacoeconomic evaluation[J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(8): 1 243.
- [3] Kamat AA, Kim TJ, Landen CN, et al. Metronomic chemotherapy enhances the efficacy of antivasular therapy in ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 281.
- [4] Munoz R, Man S, Shaked Y, et al. Highly efficacious nontoxic preclinical treatment for advanced metastatic breast cancer using combination oral UFT-cyclophosphamide metronomic chemotherapy[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3 386.
- [5] Kesari S, Schiff D, Doherty L, et al. Phase II study of metronomic chemotherapy for recurrent malignant gliomas in adults[J]. *Neuro-oncol*, 2007, 9(3): 354.
- [6] Correale P, Botta C, Basile A, et al. Phase II trial of bevacizumab and dose/dense chemotherapy with cisplatin and metronomic daily oral etoposide in advanced non-small-cell-lung cancer patients[J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12(2): 112.
- [7] Fedele P, Marino A, Orlando L, et al. Efficacy and safety of low-dose metronomic chemotherapy with capecitabine in heavily pretreated patients with metastatic breast cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(1): 24.

(收稿日期:2012-09-07 修回日期:2012-11-13)