

硫代硫酸钠在体内、外辅佐抗癌药 药效学初步研究

杨善民 陈福 郑耘 王光华[△] 曹苏伟[△] 陈炳煌[△]

【摘要】 目的: 研究硫代硫酸钠(STS)是否能在体内、外作为化疗药的辅药。方法: 应用 MTT 法研究 STS 分别与 ADM、MMC 和 CDDP 等 6 种抗癌单药合用时对 BEL-7402 和 MGc80-3 细胞的细胞毒性作用; 应用小鼠肝癌腹水瘤(H₂₂)模型判断 STS 与 ADM 等 3 种药合用时的抗癌疗效; 20 例人原发性肝癌病人肝动脉插管化疗(ADM、MMC 和 CDDP)前 30 min 静脉推注 STS(1.25~2.5 g/m²)考察 STS 作为化疗药辅药的作用。结果: 除了 CDDP 以外, STS(500 μg/ml)与 ADM 等 5 种抗癌单药合用时对抗癌药的抗肿瘤细胞活性无明显影响($P > 0.05$)。当不同剂量 STS(350 mg/kg、35 mg/kg)分别与 ADM(6 mg/kg)、MMC(1.4 mg/kg)和 CDDP(45 mg/kg)合用或仅这 3 种化疗药合用时, 这 3 组腹水瘤小鼠的存活期比对照组者显著延长($P < 0.001$), 但 3 组之间无明显区别($P > 0.05$)。人肝癌肝动脉插管化疗时, STS 与 ADM、MMC 和 CDDP 抗癌药合用, 肝癌治疗总有效率达 60%, 且可减少 70% 病人的恶心、呕吐等副作用。结论: 在体内, 低浓度的 STS(1.25~2.5 g/m²)可与 ADM、MMC, 包括 CDDP, 等抗癌药合用起抗癌药辅剂作用, 且能减轻恶心、呕吐等副作用, 特别是采用经皮导管给予化疗药物的方法。

关键词: 肿瘤; 硫代硫酸钠; 经皮导管化疗; 药效学; MTT 法

中图分类号: R969.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-467X(1999)03-0288-04

Preliminary pharmacodynamic study of STS as an adjuvant of the chemotherapy drugs *in Vitro* and *in Vivo*

YANG Shan-min, CHEN Fu, ZHENG Yun, et al

Cancer Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China

【Abstract】Objective: To study whether sodium thiosulfate (STS) can be used as an adjuvant of the chemotherapy drugs. **Methods:** The cytotoxicity of STS combined with ADM, MMC, CDDP, 5Fu, MTX and VCR (1× PPC/ml) respectively on the cells of BEL-7402 and MGc80-3 was studied by MTT test *in vitro*. The ascitic hepatoma (H₂₂) in mice were adopted to determine the anticancer effect of STS adjuvant of ADM, MMC and CDDP. Being treated with STS(1.25~2.5 g/m²) 30 min before drug administration, 20 patients of hepatocellular carcinoma (HCC) were carried on transcatheter arterial chemoembolization with ADM, MMC and CDDP to observe the adjuvant effect of STS. **Results:** The anticancer activity of ADM and the other agents respectively adjuvant with STS (500 μg/ml) were not obviously influenced ($P > 0.05$), but that for CDDP was influenced. It was proven that the survival time of ascitic hepatoma treated with ADM (6 mg/kg), MMC (1.4 mg/kg) and CDDP (45 mg/kg) alone or three drugs in addition to STS (350 mg/kg, 35 mg/kg) respectively was not significantly different ($P > 0.05$). The survival time of each groups was significantly longer than that of control group ($P < 0.001$). It has also been proven that STS adjuvant of ADM, MMC and CDDP was not decreased the chemotherapy effect (RR=60%) by transcatheter arterial chemoembolization in HCC, simultaneously it alleviated the nausea and vomiting in 70% patients. **Conclusion:** The study provides evidence that *in vivo*, STS (1.25~2.5 g/m²) can be used as an adjuvant of chemotherapy drugs, such as ADM, MMC, including CDDP, and so on, for decreasing nausea and vomiting effects, especially for transcatheter chemotherapy.

Key words: Tumor; Sodium thiosulfate; Transcatheter chemotherapy; Adjuvant; Pharmacodynamic; MTT method

采用导管经皮穿刺股动脉到肝固有动脉灌注大

剂量化疗药, 多以顺氯氨铂为首选药物^[1], 它已成为晚期肝癌患者非手术疗法的首选方案。大剂量、多种抗癌药的动脉导管介入可提高疗效, 但也使患者产生严重的毒副作用。铂类抗癌药如顺氯氨铂(CDDP)与阿霉素(ADM)、丝裂霉素 C (MMC)等药

收稿日期: 1998-08-24; 收回日期: 1998-12-28

基金项目: 福建省“八五”肝癌攻关课题(850003-0115)

作者单位: 厦门大学抗癌研究中心(厦门, 361005) △厦门市第一医院

合用时,除引起心脏、肾脏和周围神经等毒性外,常引起胃肠道剧烈反应,如恶心、呕吐等^[2]。国外已报告动脉插管用大剂量 CDDP,结合 STS“双路化疗”1991年国内陈明津等^[3]报告治疗晚期肝癌亦取得较好疗效。硫代硫酸钠(STS)会拮抗 CDDP 抗肿瘤活性,但合理应用能减轻毒副反应。鉴于 CDDP 常与其他抗癌药联合应用,而 STS 与 CDDP 以外的其他抗癌药合用是否有拮抗作用国内外尚未见详细报告^[4]。我们应用细胞活性 MTT 检测法和小鼠肝癌(H22)腹水瘤模型抑瘤实验,研究 STS 与 ADM、MMC、CDDP 等 6 种抗癌药合用的药效学,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

阿霉素为意大利 Farmitalia Carlo Erba,丝裂霉素 C 为日本 KYOWA 公司,顺氯氨铂为云南个旧生物制药厂,5-氟尿嘧啶(5-FU)为广州明兴制药厂,甲氨喋呤(MTX)为上海第十二制药厂,长春新碱(VCR)为天津和平制药厂,平阳霉素(PYM)为江苏海门制药厂产品。这 7 种抗癌药均为临床上注射用的针剂,母液按各药血浆峰值浓度的一千倍配制(1000×PPC/ml),-20℃储存备用(保存一周或现配现用)。硫代硫酸钠为上海新亚制药厂产品。3-(4,5)-二甲基-2-噻唑(2.5)-苯基溴化四唑氮蓝(MTT)为 Sigma 产品,二甲基亚砜(DMSO)为上海金山化工厂产品,RPMI 1640 为 Gibco 产品,其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 药物对瘤细胞生长作用的 MTT 法测定:

按前文献^[5]方法培养人肝癌 BEL-7402 和人胃癌 MGc80-3 细胞。细胞消化后,活细胞计数以 1×10^4 /孔(180 μ l)接种于 96 孔培养板,5%CO₂ 常规细胞培养,次日加入不同浓度 STS,终浓度分别为 10 μ g ~ 20 000 μ g/ml,每个浓度设 3 个样品孔,3 天后用光密度比色法(570 nm)于 DG3022(南京电子管厂)酶标仪上计读^[5]。取不同浓度 STS 分别加入 10 倍血浆峰值浓度(10×PPC/ml)和 1 倍血浆峰值浓度(1×PPC/ml)的 ADM、MMC、CDDP 抗癌单药,作用于培养的两种癌细胞,3 天后用 MTT 法检测。从实验中找出 STS 与 ADM、MMC,特别是 CDDP 合用后仍有一定(40%)抑瘤作用的最佳 STS 药物浓度($\leq 500 \mu$ g/ml)。取 STS(终浓度 500 μ g/ml)分别与 ADM、MMC、CDDP、5-FU、MTX 和 VCR(药物终浓度

分别为 $1 \times \text{PPC}/\text{ml}$)合用,作用于肝癌和胃癌 2 种癌细胞,依上述法测定 OD 值,实验各重复三次。

1.2.2 小鼠肝癌腹水瘤模型:小鼠腹水型肝癌(H22)(上海药物研究所引进)以 1.2×10^7 量接种于 5~6 周龄 BALB/C 小鼠(清洁 I 级,抗癌中心医学实验动物室提供)。实验分 6 组(7 只/组,见表 1)。次日,抗癌药组按小鼠体重分别从腹腔注入 ADM(6 mg/kg)、MMC(1.4 mg/kg)和 CDDP(4.5 mg/kg)或卡铂(CAP)(12.5 mg/kg);抗癌药与 STS 合用组的小鼠则提前 45 分钟从腹腔内分别注射不同浓度的 STS(35 mg/kg 或 350 mg/kg)后再按上述抗癌药剂量给药,观察计算小鼠存活期。实验重复两次。实验结果和数据采用均数抽样误差 t 检验处理。

1.2.3 肝癌肝动脉栓塞化疗:本组病例共 40 例性别:男 38 例,女 2 例。年龄 29~85 岁。所有病例经临床生化,B 超和 CT 诊断为无手术指征的中晚期肝癌,其中 II 期 27 例、III 期 13 例。病人肝动脉灌注化疗(部分病例加明胶海绵栓塞)前经肝、肾功能,血像检查,正常者才进行化疗。采用 Seldinger 技术,经皮股动脉穿刺插管,选择性进入肝固有动脉,碘油造影证实肝肿块充盈,灌注 ADM 50 mg/m²、MMC 5 mg/m² 和 CDDP 50 mg/m²。40 例病人随机分成两组:一组在介入化疗前 30 分钟从静脉推注 1.25~2.5 g/m² STS;另一组在介入化疗前 30 分钟肌注灭吐灵(0.4 mg/kg)。治疗疗效评判标准参照文献^[3]进行。病人发生恶心、呕吐程度的评判标准参照 1979 年世界卫生组织 WHO 关于抗癌药毒副反应的分级标准^[4]进行。

2 结果

2.1 瘤细胞数与 MTT 法测定 OD 值的关系

BEL-7402 和 MGc80-3 癌细胞在 7×10^3 /孔 ~ 5×10^4 /孔时与所测得 OD 值呈较好得线性关系(资料未显示)。

2.2 STS 对癌细胞活性的影响

人肝癌 BEL-7402 和人胃癌 MGc80-3 细胞以 7×10^3 /孔接种于 96 孔板培养,次日加入不同浓度 STS 再培养 3 天。当 STS 浓度 $\leq 500 \mu$ g/ml 时,STS 对两种癌细胞的生长无明显抑制($P > 0.05$)(图 1)。

2.3 STS 与 ADM、MMC 和 CDDP 等药合用时对瘤

不同浓度 STS(1 μ g/ml ~ 10 000 μ g/ml)分别与 ADM、MMC 和 CDDP(1×PPC/ml、10×PPC/ml)合用对 MGc80-3 和 BEL-7402 细胞(7×10^3 /孔)作用 3 天

后, 显示不同程度的生长抑制作用(图 2)。在体外, 当 STS (500 μg/ml), 除与 CDDP 合用有影响外 ($P < 0.001$), 与 ADM 等 6 种单药 (1×PPC/ml) 合用对 MGC80-3 细胞的生长作用无明显影响 ($P > 0.05$) (图 3); 对 BEL-7402 癌细胞也有相似的作用结果 (资料未显示)。

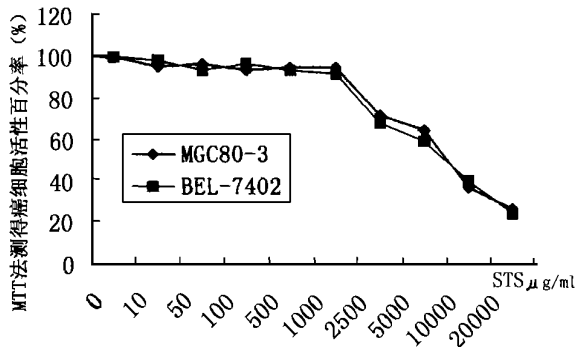


图 1 不同浓度 STS 对 BEL-7402 和 MGC80-3 癌细胞生长的影响

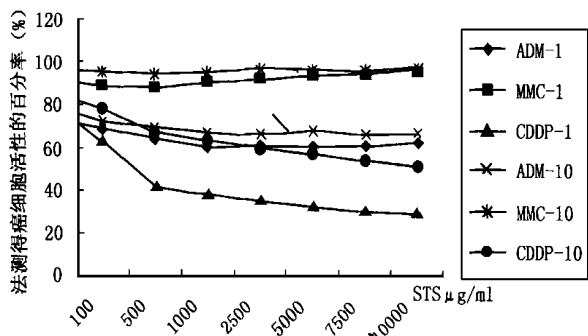


图 2 不同浓度 STS 与抗癌药 (1× PPC/ml, 10× PPC/ml) 合用时对 MGC80-3 细胞生长的影响

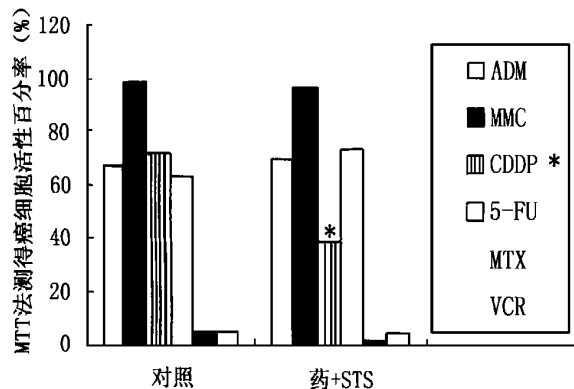


图 3 STS (500 μg/ml) 与 6 种抗癌药 (1× PPC/ml) 合用时各自对 MGC80-3 细胞的影响

* $P < 0.001$, 其余各组 $P > 0.05$

小鼠腹水型肝癌(H₂₂)细胞以 1.2×10^7 量接种 BALB/C 小鼠腹腔后, 小鼠迅速产生腹水, 第 10~13 天开始死亡。采用 ADM、MMC 和 CDDP 联合用药或它们与不同浓度 STS (35 mg/kg 或 350 mg/kg, 提前给药) 合用, 这 3 组小鼠存活期比对照组明显延长 (表 1), 但 3 组之间无显著差别 ($P > 0.05$), 联合用药下的小鼠体重无明显减轻, 无体毛脱落等现象。以 CAP 代替 CDDP 的联合用药亦取得同样的治疗效果 (表 1)。

表 1 STS 与抗癌药合用对 H₂₂腹水瘤模型的抗肿瘤作用

组别	存活期(天)	用药前小鼠(只)	用药后小鼠(只)
1. 不加用 STS (0)			
对照组(生理盐水)	11.8 ± 1.37	7	7
ADM (6), MMC (1.4), CDDP (4.5)	30.0 ± 6.0*	7	7
2. 加用 STS (35)			
ADM (6), MMC (1.4), CDDP (4.5)	31.5 ± 7.8*	7	7
ADM (6), MMC (1.4), CAP (12.5)	34.2 ± 4.9*	7	7
3. 加用 STS (350)			
ADM (6), MMC (1.4), CDDP (4.5)	36.5 ± 4.2*	7	6
ADM (6), MMC (1.4), CAP (12.5)	36.0 ± 4.5*	7	7

* $P < 0.001$ (用药组与对照组比较)

2.5 STS 与 ADM、MMC 和 CDDP 合用对肝癌病人治疗的影响

20 例肝癌病人肝动脉介入化疗采用 STS 与 ADM、MMC 和 CDDP 药物合用后病情有不同程度的缓解, 肿瘤缩小, 其中完全缓解者有 3 例, 部分缓解有 9 例, 稳定 5 例, 进展 3 例, 总有效率为 60% (12/20)。这结果与不加 STS 治疗组 (20 例) 相仿 (资料未显示)。根据临床护理观察, 肝动脉介入化疗前应用 $1.25 \sim 2.5 \text{ g/m}^2$ 的 STS 对减轻病人的恶心、呕吐的程度效果显著 (表 2)。

表 2 介入化疗时 STS 与 ADM、MMC 和 CDDP 合用对病人恶心、呕吐的影响

组别	总例数	评判标准与结果 (%)				
		0 度	I 度	II 度	III 度	IV 度
灭吐灵 (0.4mg/kg im)	20	2(10)	3(15)	4(20)	3(15)	8(40)
STS (1.25~2.5g/m ² iv)	20	14(70)	2(10)	4(20)	0(0)	0(0)

3 讨 论

2.4 STS 与抗癌药合用小鼠肝癌腹水瘤模型

的作用

1980 年 Howell 和 Taetle 首先在小鼠动物实验

中证实:STS 与 CDDP 合用能有效地防止 CDDP 对肾脏的毒性作用。嗣后,他们对人卵巢癌从腹腔内给予大剂量 CDDP,从静脉内给予 STS 能有效地防止肾脏^[6]和周围神经的毒性。肝癌的肝动脉灌注或加栓塞化疗常用 ADM 和/或 MMC 加上 CDDP 等多种抗癌药,STS 与 CDDP 以外的其他抗癌药合用有无拮抗或相加作用,国内外尚未见到详细报道。

在体外,高浓度 STS ($> 1\ 000\ \mu\text{g/ml}$)对肿瘤细胞的生长有抑制作用,而 $500\ \mu\text{g/ml}$ 的 STS 则无明显影响 ($P > 0.05$)。低浓度的 STS ($500\ \mu\text{g/ml}$)与 ADM,MMC 等 5 种化疗药 ($1 \times \text{PPC/ml}$)合用时,各自的抗肿瘤活性无明显影响 ($P > 0.05$),但对 CD-DP 有显著的影响 ($P < 0.001$,但仍有 36%~42% 抑瘤作用)。我们的体外试验表明:ADM、MMC、CD-DP 和 5-FU 有较好的抗胃癌、肝癌细胞生长的作用,与临床研究介入化疗报道的常用药物基本相似^[7]。我们选其中的 ADM、MMC 和 CDDP 与 STS 合用进一步做动物实验。H₂₂小鼠腹水瘤模型的实验表明:提前给予不同浓度的 STS ($35\ \text{mg/kg}$ 或 $350\ \text{mg/kg}$,相当于成人用药量的 $0.14\ \text{g/m}^2$ 和 $1.4\ \text{g/m}^2$)^[8]后,再与 ADM、MMC 和 CDDP 联合用药和仅这 3 种抗癌药合用,这 3 组小鼠的生存期与对照组有显著性差别 ($P < 0.001$),而这 3 组间小鼠的生存期无显著性差别 ($P > 0.05$)。

Howell^[6]等对 STS 药物代谢动力学研究表明:从静脉推注 STS $4\ \text{g/m}^2$ 后加每小时 $2.13\ \text{g/m}^2$ 静脉滴注能使正常人血浆中 STS 浓度保持在 $410\ \mu\text{g/ml}$ 左右,并可维持 4 小时。我们在肝动脉介入化疗前静脉推注 STS $1.25 \sim 2.5\ \text{g/m}^2$,推断病人血浆 STS 水平将大大低于 $500\ \mu\text{g/ml}$,不会影响以 ADM、MMC 为主,包括 CDDP 的多种抗癌药联合应用。STS 的应用,特别是不同途径、伴有较大剂量的 CD-DP 联合用药,能防止介入后 CDDP 抗癌药外流到体循环引起的肾脏、肝脏和心脏损伤。

我们初步的临床研究表明:介入化疗前静脉推注 STS ($1.25 \sim 2.5\ \text{g/m}^2$)能使肝癌治疗的总有效率达 60%,又能有效地控制 70% 病人的恶心、呕吐及化疗后迟缓发作的胃肠道反应。STS 价格低廉,副

作用小,它作为导管化疗中的抗癌药辅助剂值得进一步推广试用。有关 STS 能减轻胃肠道反应的机理尚未明了。以 CDDP ($500\ \text{mg/m}^2$)为主的抗癌药联合应用常引起患者剧烈呕吐,严重者导致脱水,食道破裂等^[9]。化疗药使小肠嗜铬细胞释放出 5-羟色胺在动物实验中已得到证实^[10]。5-羟色胺的过多释放刺激了内脏迷走神经的传入纤维的 5-羟色胺受体,导致恶心、呕吐。近年来 STS 曾被作为细胞膜稳定剂来抑制实验性胰腺炎的发生,推测它可能稳定肠道嗜铬细胞质膜,减少 5-羟色胺的释放,其机理有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 汤钊猷.原发性肝癌[A],汤钊猷主编:现代肿瘤学[M].上海:上海医科大学出版社,1993:553.
- [2] Graves T. Emesis as complication of cancer chemotherapy: pathophysiology, importance, and treatment [J]. Pharmacotherapy, 1992, 12: 337.
- [3] 陈明津,张灿珍,蒋绍诚,等.肝动脉插管大剂量顺铂“双路化疗”治疗晚期肝癌[J].中国肿瘤临床,1991,18:343.
- [4] 周际昌.抗肿瘤药物的毒副作用及其处理[A].韩锐主编:肿瘤化学预防与治疗[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1991:707
- [5] 杨善民,郑耘,颜国华,等.MTT法检测裸鼠实体瘤药物敏感性试验研究[J].中国实验动物学报,1996,4:21.
- [6] Howell SB, Pfeifle CE, Wung WE, et al. Intraperitoneal cis-diamminedichloroplatinum with systemic thiosulfate protection [J]. Cancer Res, 1983, 43: 1426.
- [7] 石木兰,史仲华.肝癌的介入化疗[A].张荫昌主编:中国癌症研究[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1996:14.
- [8] 于庆海.实验动物与入用药量的换算[A].陈奇主编:中药药理学研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:1103.
- [9] Markham A, Sorkin E M. Ondansetron. An update of its therapeutic use in chemotherapy-induced and postoperative nausea and vomiting [J]. Drugs, 1993, 45: 931.
- [10] Schworer H, Racke K, Kilbinger H. Cisplatin increases the release of 5-hydroxytryptamine(5-HT) from the isolated vascularly perfused small intestine of the guinea pig: involvement of 5-HT₃ receptors [J]. Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol 1991, 344: 143.

[编辑及校对:林秀健]