

氧代赖氨酸(I-677)对带瘤小鼠血浆中纤维蛋白原含量的影响

乐秀芳 吴富根 胡彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 实体瘤小鼠血浆中纤维蛋白原的含量明显增加, $[^{125}\text{I}]$ 纤维蛋白原在脑瘤-22肿瘤组织中含量也明显高于艾氏腹水瘤细胞, 相差10倍左右。I-677 0.20 g/kg 可使实体瘤小鼠血浆中纤维蛋白原含量恢复至正常水平。当 ip I-677 后再给赖氨酸可使下降的纤维蛋白原含量又上升, 说明它们之间有拮抗作用。结合 I-677 对实体瘤有效而对腹水瘤无作用的抗癌作用特点, 推测其抗肿瘤作用与影响纤维蛋白原的合成有关。

关键词 氧代赖氨酸; 纤维蛋白原; 实体瘤; 腹水瘤

关于纤维蛋白或纤维蛋白原与肿瘤生长的关系已有报道^(1,2)。一些研究者认为纤维蛋白形成网格结构有利于肿瘤的生长和转移, 并且毛细血管长入肿瘤组织也需要纤维蛋白作为基质。I-677 的结构与赖氨酸相似, 很可能与蛋白质代谢有关。我们已报道⁽³⁾I-677能抑制多种实体瘤生长, 而对一些腹水瘤无明显的治疗作用, 为此我们考虑其作用是否与小鼠体内纤维蛋白

原的合成有关。本实验测定了实体瘤、腹水瘤小鼠血浆中纤维蛋白原的含量, 瘤组织中 $[^{125}\text{I}]$ 纤维蛋白原的水平, 并观察 I-677 和5个常用抗肿瘤药物对脑瘤-22 小鼠血浆中纤维蛋白原含量的影响, 以及赖氨酸对 I-677 的拮抗作用。

材料和方法

纤维蛋白原的分离和测定 取 20±2 g 杂种小鼠腋下接种脑瘤-22(B-22)肉瘤-180(S-180), 腹腔接种艾氏腹水癌(EAC), 网织细胞肉瘤腹水型(ARS)及肉瘤-180 腹水型。根据实验要求于接种后不同时间从小鼠眼眶取血, 按文献方法⁽⁴⁾分离小鼠血浆中纤维蛋白原, 使之成为纤维蛋白, 用 NaOH 溶解后以 Folin 试剂测定蛋白质含量。

1981年9月4日收稿

1981年12月11日修回

纤维蛋白原的纯化及碘标 取 $24 \pm 1\text{ g}$ ♂小鼠，眼眶取血，加入38%柠檬酸三钠(9:1)， $800 \times g$ 离心后得新鲜血浆，按文献⁽⁵⁾提取及纯化纤维蛋白原，用美国Sigma化学公司生产的凝血酶进行纯度测定⁽⁶⁾，本实验测定纯度为84~90%。所得纤维蛋白原用中科院原子能研究所提供的 Na^{125}I (71 mCi/ml)进行标记，实验用小烧杯以硅烷处理，防止容器对 ^{125}I 的吸收。碘标后纤维蛋白原经 Sephadex G-100用0.05 M 磷酸缓冲液洗脱收集样品，出现的第一个放射性高峰为 ^{125}I 纤维蛋白原，可通过加入凝血酶后出现纤维蛋白沉淀证实之。

[^{125}I]纤维蛋白原的测定 取正常小鼠，接种肿瘤后1周的S-180及EAC小鼠，给同位素前24 h，小鼠喂饮含有 $6 \times 10^{-4}\text{ M KI}$ 溶液，以防止 ^{125}I 集中于甲状腺而产生实验误差。尾iv 0.5或1 ml [^{125}I]纤维蛋白原后不同时间从眼眶取血0.1 ml，各取EAC腹水0.1 ml，腹水瘤细胞0.2 ml，并秤取肝、肌肉、瘤组织约0.10 g，用FH-408定标器，FT-603井式闪烁探头进行放射性测定，测得值换算成 $\text{cpm}/0.1\text{ g}$ 组织与各自小鼠 $\text{cpm}/0.1\text{ ml}$ 血相比，以此比值进行含量比较。

抗癌药物的疗效试验及赖氨酸对I-677的拮抗作用 小鼠接种B-22后次日ip给药，qd×7 d。抗癌药物除I-677外，均为临床常用药，有烷化剂类的环磷酰胺(cyclophosphamide)放线菌素类的更生霉素(actinomycin K简称Act K)，抗代谢类的5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil简称5-Fu)，甲氨蝶呤(methotrexate简称MTX)以及抗转移药物丙亚胺((±),1,2, bis(3,5-dioxopiperazin-1-yl)propane简称ICRF-159)等。I-677和更生霉素由本所抗菌素室提供，丙亚胺由本所合成室提供，环磷酰胺和甲氨蝶呤由上海第十二制药厂生产，5-氟尿嘧啶由上海第十三制药厂生产。用的剂量为小鼠常用治疗量。于接种肿瘤后第9 d解剖小鼠秤取瘤重，比较给药组与对照组肿瘤的差异，求其抑制%。小鼠处死前

从眼眶取血，分离纤维蛋白原测定其含量。观察赖氨酸的拮抗作用实验方法同上。接种肿瘤后次日ip I-677后再ip赖氨酸qd×7 d。

结 果

接种B-22后小鼠血浆中纤维蛋白原含量的变化 小鼠接种后次日开始眼眶取血，每次3~4只鼠，结果见图1。图中显示纤维蛋白原的含量随着接种后的天数逐渐递增，第9 d高达 $2.39 \pm (\text{SD}) 0.19\text{ g/l}$ 血浆。小鼠接种B-22后体内纤维蛋白原合成不断增加，反映在外周血液中。4次实验结果趋势一致，前6 d上升比较缓慢，第6 d后迅速增加，显示肿瘤生长与小鼠体内纤维蛋白原含量增加有一定关系。

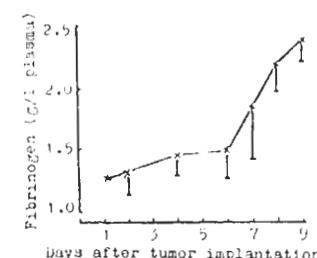


Fig 1. Plasma fibrinogen level in mice bearing B-22 (n=4) $\bar{x} \pm \text{SD}$

实体瘤及腹水瘤小鼠血浆中纤维蛋白原含量的比较 实体瘤小鼠血浆中纤维蛋白原的含量明显高于腹水瘤及正常小鼠的含量，见表1。B-22为 $2.67 \pm 0.17\text{ g/l}$ 血浆 S-180为 3.5 ± 0.4 与正常小鼠血浆中含量相比 $P <$

Table 1. Plasma fibrinogen contents in normal mice and tumor-bearing mice (g/l plasma), $\bar{x} \pm \text{SD}$

	No. of mice	Fibrinogen content (g/l plasma)
Normal mice	18	1.77 ± 0.24
Solid tumor	B-22 30 S-180 12	$2.67 \pm 0.17^{***}$ $3.5 \pm 0.4^{***}$
Ascites tumor	EAC 12 ARS 10 S-180 12	$1.44 \pm 0.20^*$ $1.70 \pm 0.14^*$ $1.3 \pm 0.3^{**}$

compared with normal mice * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

0.01, EAC 和 ARS 与正常小鼠相比 $P > 0.05$, S-180 的含量较低。同为 S-180 其在实体型与腹水型中含量差别明显 $P < 0.01$ 。

正常小鼠及带瘤小鼠对 $[^{125}\text{I}]$ 纤维蛋白原的摄取 取正常小鼠或带瘤小鼠各 1 只, 尾 iv $[^{125}\text{I}]$ 纤维蛋白原后 2, 8, 20 h, 肌肉/血之比值均低于肝/血之比, 显示肝中 $[^{125}\text{I}]$ 纤维蛋白原含量较高。表 2 中可见肿瘤/血之比值不同时间在 B-22 中为 0.45, 0.45, 0.62; 在 EAC 中分别为 0.04, 0.05, 0.05, 相差 10 倍左右。

Table 2. Uptake of $[^{125}\text{I}]$ fibrinogen in normal and tumor-bearing mice. n=3, upper row is mean, lower row is SD

Ratio	Time	Normal mice	B-22 mice	EAC mice
Muscle Blood	2 h	0.10	0.11	0.09
		0.01	0.03	0.01
	8 h	0.07	0.06	0.13
		0.02	0.01	0.05
	20 h	0.14	0.09	0.12
		0.07	0.04	0.06
	2 h	0.33	0.34	0.32
		0.06	0.02	0.01
	8 h	0.25	0.28	0.36
		0.03	0.04	0.17
	20 h	0.42	0.43	0.61
		0.18	0.03	0.14
Tumor Blood	2 h		0.45	0.04***
			0.07	0.04
	8 h		0.45	0.05***
			0.04	0.03
	20 h		0.62	0.05***
			0.21	0.02

compared with mice bearing B-22, ***P<0.01

I-677 与抗癌药对 B-22 小鼠血浆中纤维蛋白原含量的影响 接种 B-22 的小鼠经药物治疗后, 同时观察药物对肿瘤的治疗作用以及对小鼠血浆中纤维蛋白原含量的影响, 见表 3。实验所用的大部分抗癌药对 B-22 的生长均有中等程度的抑制作用, 其抑制率为 42-57%, 而环磷酰胺的治疗效果最佳, 抑制率达 97%。从表 3 中可见纤维蛋白原的含量在正常小鼠为 1.77 ± 0.24 (g/l 血浆), 接种 B-22 后第 9 d 增至 2.67 ± 0.17 ($P < 0.01$), 给 I-677

Table 3. Effects of 6 anticancer drugs on plasma fibrinogen contents in mice bearing B-22, $\bar{x} \pm \text{SD}$

	Dose (mg/kg)	No. of mice	Inhibition of tumor weight (%)	Fibrinogen content (g/l plasma)
Normal mice		18		1.77 ± 0.24
Control		30		2.67 ± 0.17 ***
I-677	0.18(g)	15	24	2.0 ± 0.4 *
	0.20(g)	16	57.4	1.7 ± 0.3 *
Cyclophosphamide		16	97.4	2.8 ± 0.3 ***
Act K	40(μg)	15	45.1	2.77 ± 0.21 ***
5-Fu	25	16	44.5	3.1 ± 0.5 ***
MTX	1	12	41.5	2.98 ± 0.24 ***
ICRF-159	10	16	45.5	2.53 ± 0.22 ***

compared with normal mice, *P>0.05, *** P<0.01

Table 4. Antagonistic effect between ip lysine and oxalysine (qd×7 d) on plasma fibrinogen contents in mice bearing B-22, $\bar{x} \pm \text{SD}$

	Daily dose (g/kg)	No. of mice	Fibrinogen content (g/l plasma)
Control		12	2.39 ± 0.19
I-677	0.20	20	1.48 ± 0.25 ***
I-677	0.20	20	2.12 ± 0.21 *
Lysine	0.40		

compared with control, *P>0.05, ***P<0.01

0.18 g/kg 后纤维蛋白原含量下降为 2.4 ± 0.4 , 常规治疗量 0.20 g/kg 下降为 1.7 ± 0.3 , 接近正常小鼠水平 ($P > 0.05$)。而其他一些常用抗癌药尽管对肿瘤有治疗作用, 但均不能降低血浆中纤维蛋白原的含量。

赖氨酸的拮抗作用 接种 B-22 的小鼠在给 I-677 后立即 ip 赖氨酸, 观察它们之间的相互作用, 见表 4. ip I-677 0.20 g/kg, qd×7 d, 可使 B-22 小鼠血浆中纤维蛋白原的含量从 2.39 ± 0.19 (g/l 血浆) 下降至 1.48 ± 0.25 , 当同时 ip 赖氨酸 0.40 g/kg, 血浆中纤维蛋白原的含量不再下降, 为 2.12 ± 0.21 , 与接种 B-22 小鼠血浆中的含量相接近, 表明 I-677 与赖氨酸之间有明显的拮抗作用。

讨 论

本文实验结果提示, 纤维蛋白原与实体瘤生长有一定关系, 小鼠接种 B-22, S-180 后体内纤维蛋白原的合成增加, 在血浆中能反映出来, 这与一些工作者用组织化学, 荧光抗体, 放射自显影等方法所得结果相符。腹水瘤由于呈悬浮状态生长, 无需纤维蛋白网格结构存在, 因此在腹水瘤小鼠血浆中我们没有观察到纤维蛋白原含量升高现象、同一种 S-180 其在实体型与腹水型中所得到的不同实验结果更能说明问题。带瘤小鼠对 [^{125}I] 纤维蛋白原摄取的实验也显示 B-22 组织的摄入量远超过腹水瘤细胞, 这也进一步支持纤维蛋白形成网格结构是实体瘤生长所需要的。在肝脏中 [^{125}I] 纤维蛋白原含量较高, 这是由于肝脏是合成纤维蛋白原的主要场所之故。

I-677 可使实体瘤小鼠血浆中升高的纤维蛋白原含量恢复至正常水平, 此作用可被赖氨酸抵消, 结合实体瘤小鼠及腹水瘤小鼠血浆中纤维蛋白原含量的差别, 以及对 [^{125}I] 纤维蛋白原摄取量的不同, 表明 I-677 对实体瘤有效而对腹水瘤无明显治疗作用的抗癌作用特点, 很可能是由于影响小鼠体内纤维蛋白原的合成。

本实验中一些临床常用的抗癌药均不降低

小鼠血浆中纤维蛋白原含量, 已经证明这些药物的抗肿瘤作用主要是干扰核酸代谢, 其中 ICRF-159 为一抗转移药物, 它能抑制 DNA 合成, 其抗转移作用认为主要是使肿瘤组织血管趋于正常化。由此看来 I-677 与一般常用抗肿瘤药物主要影响核酸代谢的作用原理不同, 值得深入研究。

从肿瘤生长时纤维蛋白原有明显增加的实验看来, 此结果对某些人体肿瘤发展和转移的诊断及预测治疗效果也很值得研究, 如能在病人中证实此现象则将有更大意义。

参 考 文 献

- 1 山本政勝、長島 明、永松正宇、日置紘士郎、平野洋一、馬殿芳郎. 最新医学 1973 年 5 月; 28 (5):996
- 2 Poggi A, Polentarutti N, Donati MB, de Gaetano G, Garattini S. *Cancer Res* 1977 Jan; 37 (1):272
- 3 乐秀芳、吴富根、胥 彬. 药学学报 1980 年 7 月; 15 (7):391
- 4 Astrup T, Brakman P, Nissen U. *Scand J Clin Lab Invest* 1965; 17 (1):57
- 5 Moza AK, Kumar M, Sapru RP. *J Lab Clin Med* 1976 Jan; 87 (1):169
- 6 Laki K. *Arch Biochem Biophys* 1951 Jul; 32 (2): 317

Acta Pharmacologica Sinica 1982 Jun; 3 (2): 124—128

EFFECT OF OXALYSINE ON PLASMA FIBRINOGEN CONTENT IN TUMOR-BEARING MICE

YUE Xiu-fang, WU Fu-Geng, XU Bin

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Oxalysine (I-677) is a new antitumor antibiotic found in our laboratory. In tumor-bearing mice the plasma fibrinogen level was determined by Astrup's method. The plasma fibrinogen was elevated significantly in mice bearing B-22 and other solid tumors, but not in

mice bearing ascites tumors. The uptake of [^{125}I]fibrinogen in tumor tissue of B-22 was significantly higher than that of Ehrlich carcinoma cells ($P < 0.01$).

Oxalysine inhibited markedly the solid forms of mouse tumor, but not the ascites forms. Oxalysine 0.20 g/kg reduced

markedly the fibrinogen content in mice bearing B-22 to normal level. Lysine antagonized the fibrinogen-lowering effect of oxalysine in mice bearing solid tumor B-22.

The results suggest that fibrin lattice-work plays an important role in the

growth of solid tumor and the antitumor activity of oxalysine may be associated with its inhibiting action on fibrinogen synthesis.

KEY WORDS oxalysine; fibrinogen; solid tumor; ascites tumor