

N-CWS对小鼠肿瘤免疫治疗的研究

福建省微生物研究所 陈必兴 洪金基 王清波 肖征恭 陈君玉

N-CWS是从红色诺卡氏菌细胞壁提取的免疫活性物质。动物实验表明N-CWS对多种移植瘤和自发瘤有明显的抑制作用⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾。临床试验采用N-CWS配合物理化学疗法,收到了防止癌症复发的效果。能延长肺癌、胃癌、急性髓性白血病患者生存期^{4,5,6}。辽宁的栗纯等报道从四种诺卡氏菌中提取细胞壁骨架并研究其对小鼠Lewis肺癌的抗癌作用^{7,8}。我们曾报道了红色诺卡氏菌(N.rubra)细胞壁骨架N-CWS的制备和有效成份分析⁽⁹⁾。本文进一步探讨其对小鼠实验肿瘤肉瘤S₁₈₀和艾氏瘤腹水型的抗癌效应。

材料和方法

1. N-CWS的制备

将红色诺卡氏菌接种于葡萄糖—酵母膏培养基*28℃振荡培养5天。离心收集细胞。细胞破碎,细胞壁处理,有效成份提取及剂型制备见前文⁽⁹⁾。

2. N-CWS有效成份分析

N-CWS所含类脂化合物的分析方法见前文⁽⁹⁾。N-CWS经酸水解后,以瓦特曼一号滤纸层析测定含阿拉伯糖和半乳糖。以氨基酸自动分析仪测定所含氨基酸。

3. 动物及瘤株

采用健康的昆明种小白鼠,体重18到20克。瘤株为小白鼠肉瘤S₁₈₀腹水型及小白鼠艾氏瘤腹水型(下面简称S₁₈₀及EC)

4. 抗癌试验:

(1) 对动物肿瘤细胞生长的抑制作用
抽取EC腹水或S₁₈₀腹水,加入N-CWS油水悬浮液,并用无菌水稀释配成含有不同浓度的N-CWS及含 1×10^7 个/ml瘤细胞的悬浮液。对照组加入不含N-CWS的空白油悬液,并以无菌水稀释,调整瘤细胞终浓度亦为 1×10^7 个/ml。按组别行皮下接种,每只0.2ml。接种后观察各组肿瘤生长情况。实验结束时,解剖动物,称取瘤重,计算肿瘤生长抑制率。

(2) 对动物肿瘤的治疗作用

抽取EC腹水或S₁₈₀腹水,稀释成 2×10^7 个/ml瘤细胞悬浮液,行腹腔接种,每只0.2ml。各实验组按不同的给药方案分别于接种肿瘤细胞前6天(-6),接种当天(0),接种后6天(6)腹腔给予不同剂量的N-CWS。对照组给予相应浓度的不含N-CWS的油悬液。实验观察50天。观察治疗组与对照组动物腹水生长情况,记录动物生存时间,计算各组动物平均生存天数及累积死亡率。

Ⅱ期病人4例术后行放疗加或不加化疗,均在两年内死亡。因本组病例太少,非精原细胞瘤采用何种方法治疗最好,有待今后进行研究。非精原细胞瘤放疗剂量一般为40Gy/4—5周,如后腹膜证实转移应加量至50Gy,Ⅱ期病人纵膈和锁骨上区预防照射剂量为40Gy/4—5周。

睾丸恶性肿瘤手术至放疗间隔多长时间合适,据本组资料在术后1个月内放疗仅2.2% (1/46) 出现腹股沟淋巴结转移,术后2—4月放疗者转移率为20% (4/20),术后5个月以上放疗者转移率为100% (6/6),因此,我们建议术后2—4周放疗可以减少

转移提高治愈率。

参考文献

- (1) 卢泰祺等: 肿瘤防治研究 9(1), 23, 1982
- (2) 周仁祥等: 天津医学肿瘤学附刊 9(1) 46, 1982
- (3) 肖开祺等: 肿瘤防治研究 11(2) 81, 1984
- (4) 辛实等: 中华肿瘤杂志 6(3) 203, 1984
- (5) 陈志让等: 天津医学肿瘤学附刊 8(3), 150, 1981
- (6) 施学辉等: 癌症 1(1), 24, 1982
- (7) Mostofi MD: Cancer 32(5), 1186, 1973
- (8) Maier et al: Cancer 32(5), 1212, 1973
- (9) 施学辉等: 癌症 3(3) 202, 1984
- (10) David: Radiology 139(s), 181, 1981
- (11) Steubitz: Cancer 32(5), 1206, 1973

结 果

1. 对动物肿瘤细胞生长抑制作用

N-CWS对EC细胞生长抑制作用见表1。

表1. N-CWS对EC细胞生长抑制作用

剂 量 ($\mu\text{g}/\text{只}$)	动物数 (只)	带瘤小鼠百分率(%)		平均瘤 重* (g)	抑制率 (%)	P 值
		第七天	第十五天			
400	10	0	20	0.01	99.4	<0.01
200	10	0	40	0.07	95.6	<0.01
100	10	20	70	0.32	81.1	<0.01
40	10	40	80	1.18	30.6	<0.01
对照组	10	100	100	1.70	/	/

●接种后第15天实验结果。

从表1可以看出N-CWS剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 以上可以使EC细胞生长抑制80%以上。N-CWS还具有抑制动物肿瘤发生的作用，经接种部位解剖证明，当剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 时，动物的肿瘤发生率为70%，200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时降低为40%，400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时降低到20%。

N-CWS对S₁₈₀细胞的生长抑制作用见表2。

表2. N-CWS对S₁₈₀细胞生长抑制作用

剂 量 ($\mu\text{g}/\text{只}$)	动物数 (只)	带瘤动物 百分率 (%)	平 均 瘤重* (g)	抑制率* (%)	P 值
200	9	20	0.14	92.7	<0.05
100	8	50	0.188	90.2	<0.05
40	8	75	0.725	62.3	<0.05
对照	9	100	1.95	/	/

●为接种后30天的实验结果。

从表2可以看出N-CWS剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 可以使S₁₈₀细胞生长抑制90%以上。与EC细胞一样，当剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 时仅有50%的动物肿瘤生长，当剂量200 $\mu\text{g}/\text{只}$ 时只有20%的动物肿瘤生长。

2. 对动物肿瘤的治疗作用 (见表3.4)

从表3可以看出，N-CWS对实验肿瘤动物有明显的生命延长作用及阻止肿瘤形成的作用。剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 或200 $\mu\text{g}/\text{只}$ 时可以使实验动物的生命延长达100%以上。对照组动物在接种后第七天均出现腹水，而给药组动物连续观察50天，仍有半数左右的动物不出现腹水，接种部位也不出现实体瘤结节。从表3还可以看出实验动物在接种前提前免疫可以明显提高药物对动物肿瘤的治疗效果。

表3. N-CWS对EC肿瘤的治疗作用

给药 方案	剂量 ($\mu\text{g}/\text{只}$)	动物数 (只)	肿瘤发 生率* (%)	累积死 亡率* (%)	平均生 存天数 (天)	生命延 长率 (%)	P值
对照	0	9	100	100	18.4		
0,6,	100	8	100	100	21	14.13	<0.01
	200	8	75	75	26	90.47	
-6,0,6	100	8	50	50	39.4	114.15	<0.01
	200	9	55	55	42.7	132.06	
对照	0	9	100	100	17.6		
-6,0	100	8	83.3	83.3	24.8	40.9	<0.05
	200	7	57.1	57.1	35.4	101.14	
-6,0,6	100	9	55.7	55	34	93.18	<0.01
	200	9	55.7	55	36.8	113.6	

●接种后50天的实验结果

表4. N-CWS对S₁₈₀的实验治疗

给药 方案	剂量 ($\mu\text{g}/\text{只}$)	动物数 (只)	肿瘤发 生率* (%)	累积死 亡率* (%)	平均生 存天数 (天)	生命 延长率 (%)	P值
	0	9	100	100	18.9		
-6,0,6	100	12	41.7	41.7	38.8	105.27	<0.01
-6,0,6	200	12	41.7	41.7	39.9	111	<0.01

●接种后50天的实验结果。

从表4可以看出N-CWS对S₁₈₀的治疗效果与EC相近。当剂量为100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 时可以使带瘤动物的生命延长达100%以上，使48.3%的接种动物肿瘤消退。

小结与讨论

从本实验结果可以看出实验制备的N-CWS制剂当剂量在100 $\mu\text{g}/\text{只}$ 以上时对S₁₈₀及EC细胞的生长有明显的抑制作用。对S₁₈₀及EC肿瘤有明显的治疗作用。可以使带瘤动物死亡率下降50%以上，生存期延长一倍以上，还能导致部分动物肿瘤消退。由此可见，本实验制剂与文献⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾及栗纯等⁽⁷⁾⁽⁸⁾的比较，尽管彼此采用的瘤株不同，但抗癌效应是一致的。

本实验采用的制备菌株已经分类鉴定⁽¹⁰⁾。Azuma等⁽¹⁾以Brunner的方法比较了十几种诺卡氏菌细胞壁免疫活性成份对细胞介导的细胞毒作用后指出，红色诺卡氏菌细胞壁成份活化的巨噬细胞对靶细胞的细胞毒作用最强。

在目前癌症免疫治疗中，BCG由于治疗过程中一系列严重的副作用而渐被BCC—CWS所取代。而N-CWS是较BCG-CWS

膀胱气钡双重对比造影对膀胱肿块 的诊断与鉴别诊断

——附118例临床X线分析

吉林营城煤矿职工医院放射科 张乃武
江苏镇江市第一医院放射科 蒋 玲
吉林营城煤矿职工医院外科 龙占国
广州医学院二附院泌尿科 张甘雄

江苏无锡市第四医院放射科 徐同林
江苏丹徒县人民医院外科 薛永发 钟书平
连云港市港务局医院放射科 朱锦凤

膀胱气钡双重对比造影(简称双对比造影)在国外已有30余年历史,此法能清晰显示膀胱粘膜及占位性病变所形成的充盈缺损,可补充膀胱内窥镜的不足,但国内报道极少⁽¹⁾,自一九七九年至八五年我们共施行膀胱双重对比造影450余例,检出膀胱内肿块118例,(恶性肿瘤99例,良性肿瘤5例,结石12例,血块3例)。其它:前列腺肥大247例,憩室15例,神经性膀胱2例,膀胱内括约肌松弛1例,现报告如下:

临床资料

一、性别与年龄

在118例膀胱内肿块病例中:男115例,女3例,男女之比38:1,男性较多;其中恶性肿瘤99例,良性肿瘤、结石等19例,良性之比为1:5,恶性较多。

年龄:21~30, 5例, 4%; 31~40, 8例, 6%; 41~50, 19例, 16%; 51~60, 31例, 26%; 61~70, 34例, 28%;

71~80, 21例, 17%。

由此可见高岁年龄为61~70, 51~60, 其次为71~80。最大男性者为80岁,最大女性者为78岁;最小男性者为24岁,女性最小者为33岁。

二、症状与体征:

本组以血尿为最初症状者91例,占77%;其次为膀胱刺激症状。如尿频、尿急、尿痛17例,占14%;此外严重尿潴留6例,占5%;下腹部出现肿块4例,表明已有膀胱外侵犯占3%。

三、手术与病理所见

在99例恶性肿瘤中,移行上皮癌65例,鳞癌23例,腺癌10例,嗜铬细胞瘤1例;5例良性肿瘤中肌瘤3例,纤维瘤2例。其病理形态多为突起的肿块,或有蒂,呈菜花状或乳头状肿物,表面有坏死。

造影效果

本组将造影结果分为优、良及尚可三级,

更为有效,毒性更小的免疫增强剂。Azuma等以小鼠的EC-4白血病, MH-134肝癌, MAC, Br-1肿瘤比较N CWS和BCG-CWS的生长抑制作用,结果N CWS明显强于BCG-CWS⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。本实验限于条件未能把本制剂与BCG-CWS的抗癌效应进行比较。

氨基酸分析承本所仪器室黄维真同志代测。本文承王岳教授及林文良副研究员审阅,特此致谢。

参考文献

1. Azuma, I. et al; Gann, 67: 773, 1976.
2. Tokuzen, R. et al; Gann, 69: 19, 1978.
3. Azuma, I. et al; Cancer Immunol Immunother. 4: 95, 1978.
4. Yamamura, Y. et al; Cancer Treat. Rep. 65: 707, 1981.
5. Takenori Ochiai, et al; Cancer Res. 43(6): 3001, 1983.
6. Yamamura, Y. et al; Cancer Res. 43(11): 5575, 1983.
7. 栗纯等, 中华微生物学和免疫学杂志, 4(2): 93, 1984.
8. 栗纯等, 微生物学杂志(辽宁), 4(1): 1, 1984.
9. 洪金基等, 福建医药杂志, (5): 34, 1983.
10. 洪金基等, 福建省微生物学会1984年会(待发表).
11. Tokuzen, R. et al; Gann, 66: 433, 1975.
12. Yanagawa, E. et al; Gann, 70: 141, 1979.