

# 抗癌药物的体外试验

## 一、勐崧美登木对体外培养食管癌细胞的作用及其与长春新碱的比较

中国医学科学院肿瘤防治研究所细胞生物室

美登木为常绿乔木或灌木，分布于热带地区，属卫矛科(Gelastraceae)美登木属。自Kupchan等报导从卵叶美登木中分得高效低毒的抗癌成分美登素后，引起很大的注意<sup>(1)</sup>，并对动物肿瘤和体外KB细胞进行了试验<sup>(2)</sup>，作用与秋水仙碱、长春新碱相似。

热带植物研究所从我国的勐崧美登木树叶提取了甲醇部位的提取物，我们观察了此种提取物对体外长期培养的食管癌细胞的作用，并与长春新碱的作用进行了比较。

### 材料与方法

细胞：体外长期培养的食管癌细胞(以下简称109细胞)为我室在林县培养成功的细胞株<sup>(3)</sup>，在体外生长三年多，仍为生长紧密的鳞状上皮癌细胞。培养液为80% 199，20%小牛血清，加青霉素100 u/ml、链霉素100 μg/ml。细胞经胰蛋白酶和乙二胺四乙酸二钠的混合溶液消化，将消化后的细胞混合均匀，分装于培养瓶内，一般吸0.5 ml细胞悬液，约含 $5 \times 10^5$ 细胞，再加1.5 ml培养液，培养三天或一周后作为药物试验用。

剂量试验：

(1) 药量稀释：将勐崧美登木树叶甲醇部位提取物(以下简称美登木)先溶于少量丙二醇内(10毫克加0.2 ml丙二醇)，在水浴内加热使其完全溶解，再加Hanks液使其成

为10毫克/毫升的母液，再用培养液稀释成所需用的稀释度。

长春新碱为国产针剂(沪12厂)，每支一毫克，溶于一毫升蒸馏水，再用Hanks液稀释为100 μg/ml的母液，然后用培养液稀释至所需用的各种浓度。

将不同浓度的含药培养液加在培养的细胞内，逐日观察活细胞的变化，选择最低有效剂量作各种试验。

(2) 活细胞观察：加药后在显微镜下观察活细胞损伤情况，如细胞脱落程度，细胞片是否出现空洞或网状化，和对照相比，如细胞形态的变化，细胞分裂相的增多或减少等。

(3) 染色细胞的形态观察：在各种剂量的药物影响下细胞形态的改变，如细胞膨大或缩小，核固缩或核碎裂，染色质浓缩，核仁明显与否，核质比例，核或胞质出现空泡等。

生长曲线：

在加药当天取两瓶未加药的细胞消化计数，为加药前的细胞数。然后将细胞分三组，一组加美登木，一组加长春新碱，一组不加药作为对照，在加药一天后，逐日在血球计算盘内计算细胞数量，连续五天，将逐日的细胞数连成曲线，即为生长曲线，并将加药后的生长曲线和对照相比。

分裂指数：

在细胞种入培养瓶内以前，瓶内预先放

入小玻片，并用鼠尾胶元固定在瓶底，加药一天后，逐日将瓶内小玻片取出，用甲醇固定 15 分钟至 30 分钟，Giemsa 氏染液染色，树胶封固。在  $40\times 10$  倍显微镜下计数 1000 个细胞内的分裂细胞数，并按分裂前、中、后、末四期分别计数，可比较药物作用后分裂指数的变化。

$^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷掺入试验（同位素自显影）：

在细胞加药一天后，每天取加药的与对照的细胞各二瓶，换含有  $1\mu\text{C}/\text{ml}$  的  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的培养液，置  $37^\circ\text{C}$  温箱作用半小时，然后将有同位素的培养液倒去，用生理盐水洗五遍，再用甲醇固定，连续五天。将五天固定的标本同时涂核乳胶，暴光一周后显影定影，Giemsa 氏染液染色，然后在  $40\times 10$  倍显微镜下计算 1000 个细胞内标记  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的细胞核数，并比较加药后的逐日变化。

活细胞连续照相观察，

此项工作在师范大学生物系肿瘤组的指导和协助下进行。细胞种于小方培养瓶或卡氏瓶内，生长三、四天后换液，置于恒温倒置显微镜下，在  $20\times 10$  倍、 $40\times 10$  倍、或  $100\times 10$  倍的放大倍数下，进行相差连续照相，每隔二分钟自动照一次。选一细胞集落，在加药前连续照四十小时左右，然后换液加药，仍找到加药前连续照相的集落，继续连续照相二至三天，分析细胞分裂各期的时间与加药后的变化。

结 果

一、剂量试验：

美登木：将不同浓度的稀释液加在细胞培养内，逐日观察活细胞受药物作用后的变化，见表 1。

从下表分析，每毫升  $200\mu\text{g}$  与  $400\mu\text{g}$  对细胞的作用和每毫升  $20\mu\text{g}$  与  $2\mu\text{g}$  的作用

表 1 几种稀释度的美登木液对 109 细胞的作用

细胞变化 药物作用时间	剂 量	$400\mu\text{g}/\text{ml}$	$200\mu\text{g}/\text{ml}$	$20\mu\text{g}/\text{ml}$	$2\mu\text{g}/\text{ml}$
一 天		部分细胞脱落，有的细胞缩小变圆，细胞分裂很少	细胞生长仍密，分裂细胞比对照的增多	与对照相比无显著变化	与对照相比，无显著变化
二 天		大部分细胞脱落	细胞片出现小空洞	细胞片内细胞生长紧密	细胞生长紧密
四 天		比作用二天脱落更甚，瓶底有细胞残渣	细胞片网状化	细胞长满瓶底，颗粒稍多	生长密。铺满瓶底
六 天		绝大部分细胞脱落，只剩另落几个细胞	细胞少，剩小片分散细胞或单个细胞	生长密	生长密

显然不同，故在  $200\mu\text{g}/\text{ml}$  与  $20\mu\text{g}/\text{ml}$  间再摸索最低有效剂量，试了  $100\mu\text{g}/\text{ml}$  与  $50\mu\text{g}/\text{ml}$ ，作用一天后， $100\mu\text{g}/\text{ml}$  有显著的细胞分裂相增加的现象， $50\mu\text{g}/\text{ml}$  作用后分裂相比对照组略有增加。作用八天后， $100\mu\text{g}/\text{ml}$  作用的细胞数显然不如对照的多，而  $50\mu\text{g}/\text{ml}$  作用的结果与对照相似。以后

实验所用剂量均采用  $100\mu\text{g}/\text{ml}$ ，

长春新碱：参看国外体外试验的剂量<sup>(4)</sup>，试验了  $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 、与  $0.2\mu\text{g}/\text{ml}$  三个剂量，加药一天，各剂量作用后的分裂细胞显著比对照增多，尤以  $0.2\mu\text{g}/\text{ml}$  增加最多。加药二天各剂量作用的细胞分裂仍多，部分细胞脱落。加药一周，各剂量作用

的细胞继续有脱落，细胞片呈不同程度的网状结构，细胞体积增大，分裂相减少。以后各种试验的剂量均选用  $0.2 \mu\text{g/ml}$ 。

## 二、染色细胞形态观察：

在不加药的染色细胞中，分裂细胞数较少，但可看到不同时期的分裂相，中期的分裂相，大部分为赤道板型，少数呈花型，染色体比较清楚（附图 1-3 见 81 页）。无论加美登木或长春新碱后，在染片中分裂细胞显著增多，绝大部分为染色体呈不同程度凝集成团的分裂中期，赤道板型与花型少见，前期与对照的相似，似乎不受药物影响（附图 4-7 见 82 页）。剂量为  $100 \mu\text{g/ml}$  时，在加药一天可见到很少量末期分裂相，第二天开始见不到后期与末期，说明受药物作用后的中期不能再继续分裂。间期细胞受美登木作用后，大剂量使核固缩或核裂解，核内染色质浓缩等。小剂量在短时期内细胞形态变化不显著，作用时间增长后，部分细胞死亡脱落，剩下的细胞体积略有增大，并有少量多核细胞。长春新碱作用后，大剂量使核内染色质浓缩成小块、或使核固缩、裂解。小剂量作用一天，细胞略膨大，出现少量双核与多核细胞，作用四天，细胞更膨大，出现很多单核大细胞与多核细胞。

## 三、药物对细胞生长的影响：

(1) 加美登木、长春新碱后的细胞生长曲线与对照的比较：加药当天取两瓶未加药的细胞经消化后在血球计数板计数，以后每天在加药组与对照组各取二瓶进行细胞计数，连续四天或五天，得出生长曲线的变化，列于图 1。

连续加药四或五天，加美登木和长春新碱后逐日细胞数量均比对照下降，尤其少量细胞加药后（图 1 b）对药物更敏感。

(2) 美登木  $100 \mu\text{g/ml}$  加药一次与隔日加药对细胞生长的影响。

细胞经消化后分种于 32 个培养瓶内，培

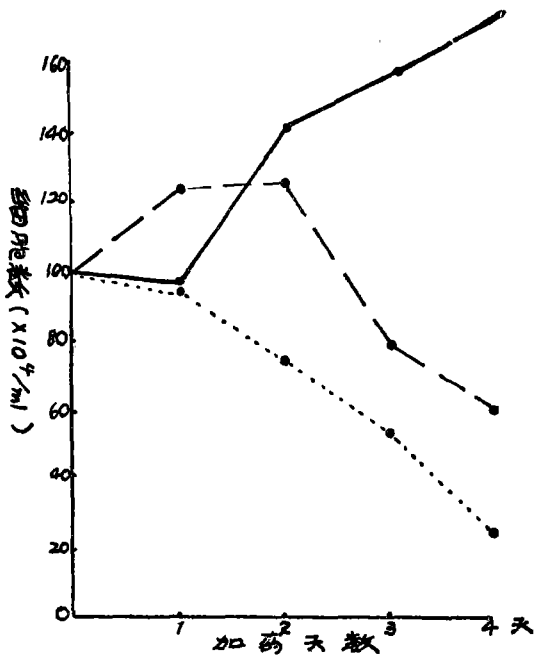


图 1 a. 大量细胞 ( $1 \times 10^6$ ) 加药后的逐日细胞数变化

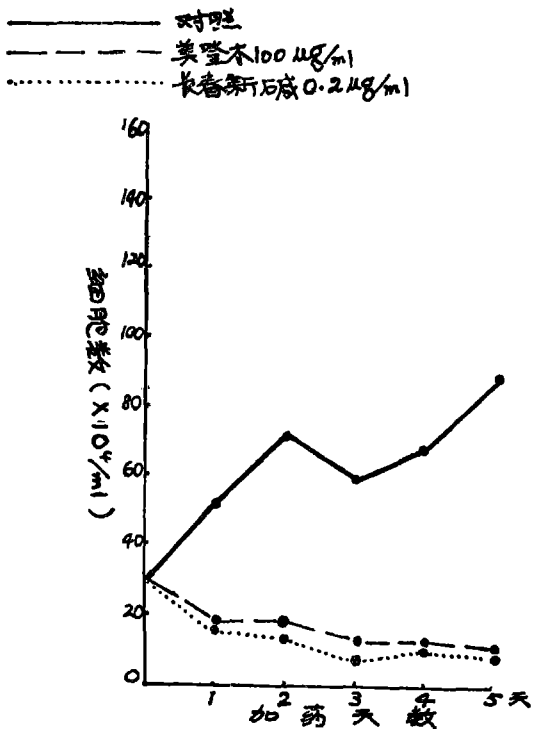


图 1 b. 少量细胞 ( $3 \times 10^5$ ) 加药后的逐日细胞数变化

养四天换液加药，一组仅加药一次，以后五天不换液，一组隔日换液加药，一组为不加药的对照，连续五天不换液，每天取样在血球计数板计数，三组细胞的逐日数量变化，列于图 2。

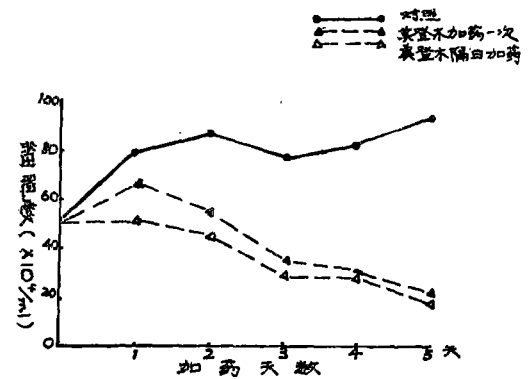


图 2 美登木 100  $\mu\text{g/ml}$  隔日加药与加药一次逐日细胞数的变化

从上图所示，五天内加药三次比加药一次的细胞受药物损伤较甚，细胞数量减少，不过到最后二天，两条曲线比较接近说明加药一次后，药物仍能保持一定时间的作用。

#### 四、药物对细胞分裂的影响：

(1) 几种剂量的美登木与长春新碱对 109 细胞分裂指数的影响：

美登木：分别试验了 200  $\mu\text{g/ml}$ 、20  $\mu\text{g/ml}$  与 2  $\mu\text{g/ml}$  对细胞分裂指数的影响，观察到 20  $\mu\text{g/ml}$  与 2  $\mu\text{g/ml}$  对细胞的作用与对照近似，而 200  $\mu\text{g/ml}$  与 20  $\mu\text{g/ml}$  之间有显著的差别(图 3 a)。于是在 200  $\mu\text{g/ml}$  与 20  $\mu\text{g/ml}$  之间又试了 100  $\mu\text{g/ml}$  与 50  $\mu\text{g/ml}$ ，结果列于图 3 b。

图中显示分裂指数最高的剂量是 100  $\mu\text{g/ml}$ ，加药两天的分裂指数都比加药一天减低。

长春新碱：分析了 2  $\mu\text{g/ml}$  与 0.2  $\mu\text{g/ml}$  两个剂量作用时 109 细胞的分裂指数，并与对照比较，结果见图 4。两个剂量作用

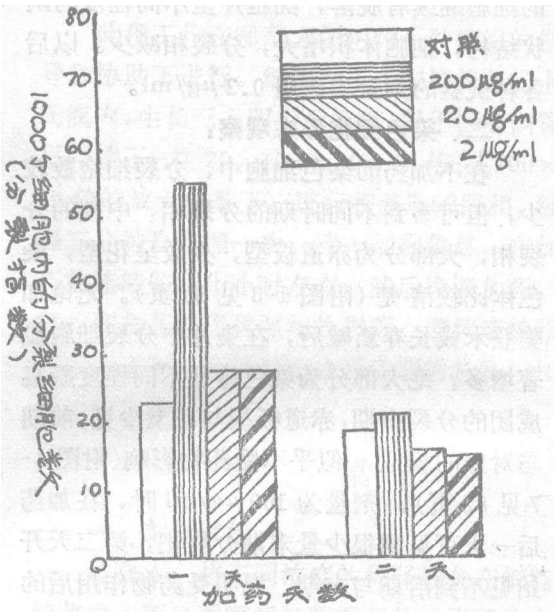


图 3 a. 几种剂量美登木对分裂指数的影响

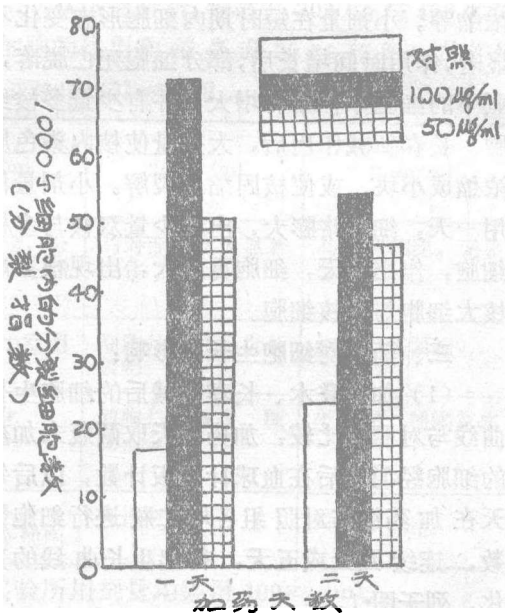


图 3 b. 100  $\mu\text{g/ml}$  与 50  $\mu\text{g/ml}$  美登木对分裂指数的影响

后，细胞分裂指数均显著增高，尤以 0.2  $\mu\text{g/ml}$  增高最多。

(2) 美登木 100  $\mu\text{g/ml}$  和长春新碱 0.2  $\mu\text{g/ml}$  对 109 细胞分裂指数影响的比较：

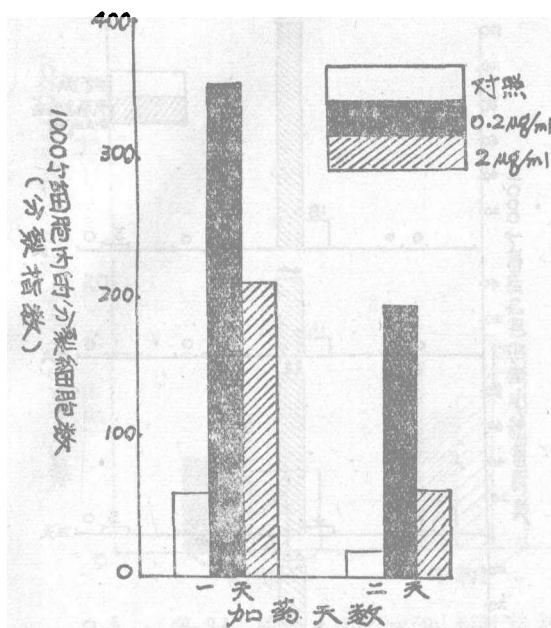


图4 长春新碱 2  $\mu\text{g/ml}$  与 0.2  $\mu\text{g/ml}$  对分裂指数的影响

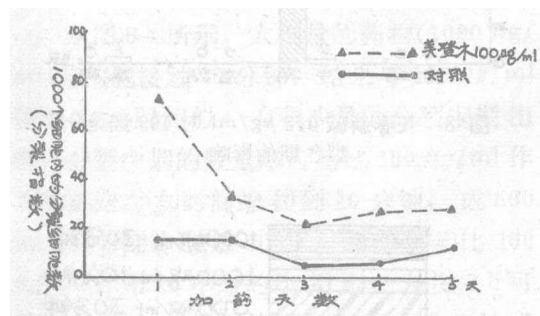


图5 美登木 100  $\mu\text{g/ml}$  对 109 细胞分裂指数的影响

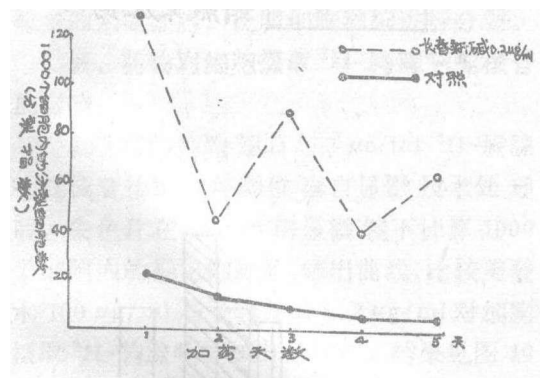


图6 长春新碱 0.2  $\mu\text{g/ml}$  对 109 细胞分裂指数的影响

细胞加药后连续五天不换液，从加药后一天开始逐日取出预先在培养瓶内放置的小玻片，固定染色后，在  $40\times 10$  倍显微镜下计算 1000 个细胞内的分裂细胞数，将五天所得数量连成曲线与对照比较，列于图 5 与图 6。

从以上二图所示，109 细胞受美登木 100  $\mu\text{g/ml}$  或长春新碱 0.2  $\mu\text{g/ml}$  作用后，在 1000 个细胞内的分裂细胞数都比对照显著增加，尤其是加药后一天，长春新碱使细胞分裂指数增高约六倍，以后虽逐日有波动，但都比对照增加几倍。美登木使细胞分裂指数增加的倍数不如长春新碱的大，也是加药后一天最高，为对照的四倍多，从加药后两天开始曲线比较平稳，也都比对照增高。

(3) 美登木 100  $\mu\text{g/ml}$ 、长春新碱 0.2  $\mu\text{g/ml}$  对 109 细胞分裂各期的影响：

两种药物作用于细胞的五天过程中，分裂指数均比对照增加，但细胞数量比对照减少，对细胞分裂各期的数量变化进行分析，可便于了解细胞终止于分裂中的那一期，结果列于图 7 与图 8。

从图 7、8 所示，美登木与长春新碱相似，都是作用于细胞分裂中期，二者作用后分裂中期的细胞数量显著增多，在连续五天内不再出现分裂后期与末期的细胞，或加药后一天有很少量的末期细胞，说明美登木与长春新碱都使细胞分裂中止于中期，不再继续分裂。

(4) 几种剂量的美登木与细胞短时接触后对细胞分裂各期的影响：

在培养细胞内加含有各种剂量的美登木的培养液，使细胞与药物接触 10 分钟、30 分钟或 1 小时，将含药的培养液倒去，用 Hanks 液洗二遍，然后加无药的培养液，培养 24 小时后，取片固定与染色，在  $40\times 10$  倍显微镜下计算 1000 个细胞内的分裂各期细胞数，以美登木 100  $\mu\text{g/ml}$  与细胞接触

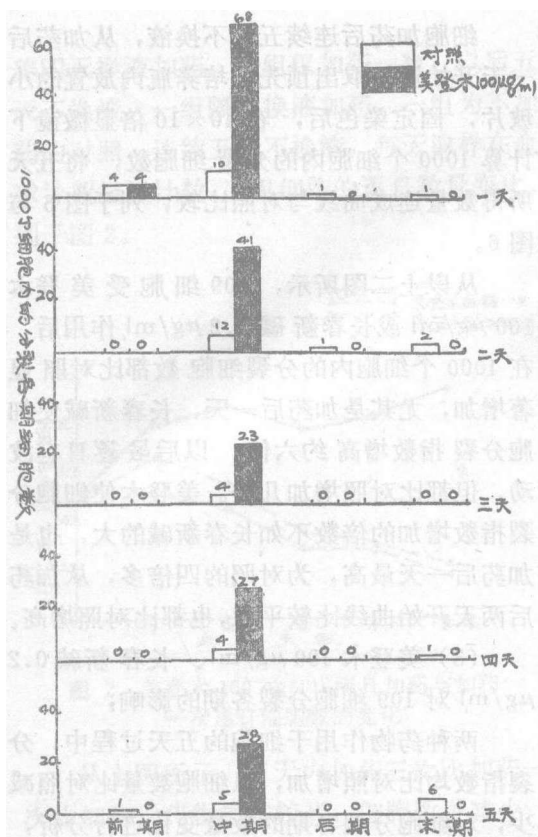


图 7 美登木 100 µg/ml 对 109 细胞分裂各期的影响

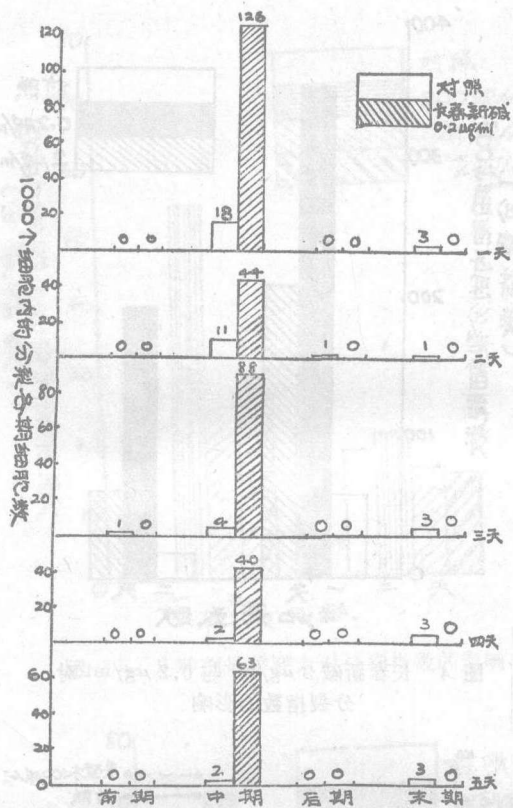


图 8 长春新碱 0.2 µg/ml 对 109 细胞分裂各期的影响

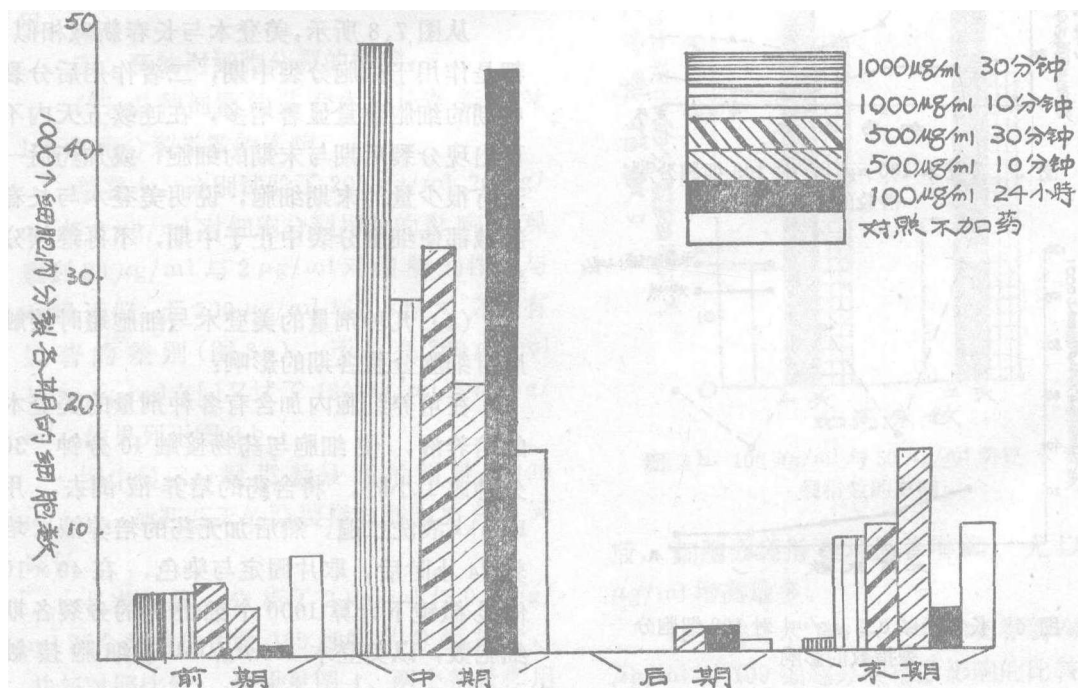


图 9a. 美登木 1000 µg/ml 与 500 µg/ml 短时接触 109 细胞后对细胞分裂各期的影响

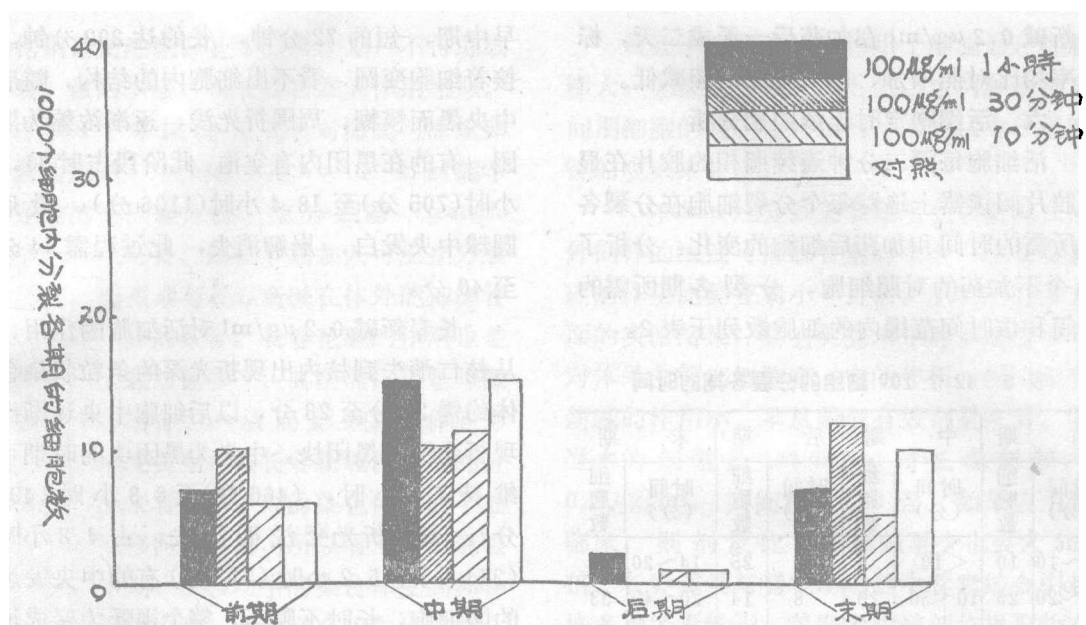


图 9b. 美登木 100 µg/ml 短时接触 109 细胞后对细胞分裂各期的影响

24 小时和不加药的培养作为对照, 结果见 或第五天标记率下降。美登木 100 µg/ml 与长图 9a 与 9b。

从图 9a 所示, 大剂量的药物(1000 µg/ml)与细胞接触 30 分钟, 结果与 100 µg/ml 接触 24 小时相似。有很少量的分裂末期出现, 分裂中期的数量略有超过 100 µg/ml 作用的细胞。如时间缩短到 10 分钟, 或 500 µg/ml 与细胞接触 10 分、30 分钟均比 100 µg/ml 作用 24 小时的作用弱。从图 9b 可看出, 100 µg/ml 作用 1 小时, 30 分钟或 10 分钟, 效果与不加药的相似, 均有相当数量的末期细胞, 说明细胞继续进行分裂。

#### 五、药物对细胞摄取 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的影响:

加药后的细胞逐日与 1 µc/ml  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷接触, 经同位素自显影技术处理后, 染色片在 40×10 倍显微镜下计算 1000 个细胞内的标记细胞数, 画出曲线, 比较美登木 100 µg/ml 与长春新碱 0.2 µg/ml 对细胞摄取  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的作用, 结果见图 10 与 11。不加药的对照细胞的最高标记率达千分之四百左右, 由于五天不换液, 在第四

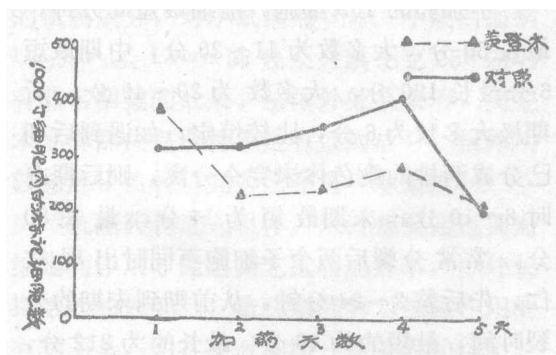


图 10. 美登木 100 µg/ml 作用于 109 细胞后逐日摄取  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的变化

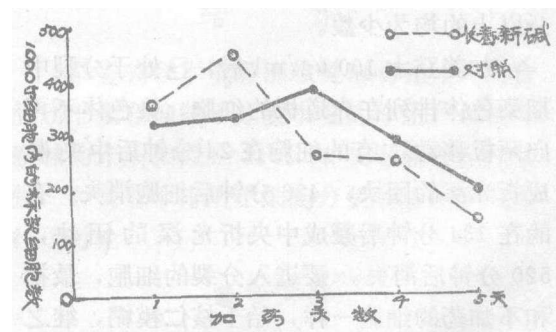


图 11. 长春新碱 0.2 µg/ml 作用于 109 细胞后逐日摄取  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的变化

春新碱  $0.2\text{ }\mu\text{g/ml}$  在加药后一天或二天, 标记率均比对照增加, 以后均比对照减低。

## 六、活细胞定时连续照相分析

活细胞每隔二分钟连续照相的胶片在显微胶片阅读器上追踪每个分裂细胞在分裂各期所需的时间和加药后细胞的变化。分析了 42 个不加药的对照细胞, 分裂各期所需的时间和该时间范围内的细胞数列于表 2。

表 2 42 个 109 细胞的分裂各期的时间

前 期		中 期		后 期		末 期	
时间 (分)	细胞 数	时间 (分)	细胞 数	时间 (分)	细胞 数	时间 (分)	细胞 数
6~10	10	<10	3	6	25	14~20	4
11~20	26	10~50	29	8	14	20~40	33
≥30	6	50~100	6	10	3	>40	5
		>100	5				

不加药的 109 细胞, 前期最短 6 分钟, 最长 30 分, 大多数为 11~20 分, 中期最短 6 分最长 120 分, 大多数为 20~40 分, 后期极大多数为 6 分, 比较恒定, 如遇到后期已分成两排的染色体未完全分离, 则后期占时 8~10 分。末期最短为 14 分, 最长 80 分, 常常分裂后两个子细胞不同时出现核仁, 先后差 2~24 分钟。从前期到末期的分裂时间, 最短的为 46 分, 最长的为 212 分, 各细胞的分裂时间不一致, 不过大部分细胞的分裂时间为 50~90 分, 50 分以下和 150 分以上的均为少数。

加美登木  $100\text{ }\mu\text{g/ml}$  后, 已处于分裂中期染色体排列在赤道板的细胞, 染色体不再向两极移动, 有的细胞在 24 分钟后中央凝成折光深的团块, 426 分钟后细胞消失, 有的在 134 分钟后凝成中央折光深的团块, 520 分钟后消失。要进入分裂的细胞, 最初和不加药的细胞一样, 始于核仁模糊, 继之核膜核仁消失, 核内染色质浓缩为折光深的颗粒或小条状物, 此阶段认为是分裂前期和

早中期, 短的 72 分钟, 长的达 292 分钟。接着细胞变圆, 看不出细胞内的结构, 随后中央黑而模糊, 周围折光浅, 逐渐浓缩为黑团, 有的在黑团内有空泡, 此阶段占时 11.7 小时(705 分)至 18.4 小时(1106 分), 最后圆球中央发白, 崩解消失, 此过程需 14 分至 40 分。

长春新碱  $0.2\text{ }\mu\text{g/ml}$  对活细胞的作用, 从核仁消失到核内出现折光深的条粒状染色体约需 20 分至 28 分, 以后细胞中央逐渐出现折光深的黑团块, 中央为黑团块的时期可维持 7.7 小时, (466 分)至 8.3 小时(498 分), 最后折光变浅而消失, 占 4.8 小时(274 分)至 5.2 小时(312 分)有的中央发黑的圆细胞, 长时不脱落, 整个视野为聚成堆的中央有黑团的小球。间期细胞显着膨大, 结构模糊。

## 七、细胞受美登木作用后的恢复试验:

共试  $200\text{ }\mu\text{g/ml}$  与  $100\text{ }\mu\text{g/ml}$  两个剂量, 加药两次, 药物与细胞接触 6 天, 6 天后去药换无药培养液, 换前用 Hanks 液洗二次, 以后每周换液二次。 $200\text{ }\mu\text{g/ml}$  剂量, 在加药期间细胞已逐渐脱落, 在去药后培养一天, 瓶内只剩少数散开的单个细胞, 去药后一周, 细胞全部脱落, 故  $200\text{ }\mu\text{g/ml}$  对 109 细胞作用六天可产生不可逆转的损伤。 $100\text{ }\mu\text{g/ml}$  在加药过程中细胞片内出现小空洞, 细胞较对照的松散, 去药后培养两周, 细胞比对照的稀少, 大而颗粒多, 去药 16 天, 取片固定染色, 细胞普遍增大, 分裂相极少, 胞质多空泡, 有的核仁也出现空泡, 有双核与多小核细胞, 有的核呈不规则形, 核出芽的现象较多。在这些的细胞中可看到较整齐的小细胞集落(见附图 7)。

## 讨 论

从美登木影响细胞分裂的一系列实验结果和活细胞连续定时照相分析, 说明美登木



的作用是使细胞停止于分裂中期,不再继续分裂,最后崩解,与长春新碱的作用相似。Kupchan<sup>(5)</sup>等试验美登素对海胆与海蛤卵分裂的影响,认为在浓度  $6 \times 10^{-8} \text{M}$  时能不可逆地抑制细胞分裂,使分裂器 (mitotic Apparatus) 消失,如在早期加入可阻止分裂器形成。美登素与长春新碱在体外能抑制管素 (tubulin) 的聚合。长春花碱的作用也是破坏有丝分裂纺锤体<sup>(6)</sup>,其药理作用是与微管蛋白质相结合<sup>(7)</sup>,从而影响纺锤体的形成。我们从受美登木与长春新碱作用后的分裂细胞形态来看,早中期的染色体分散于细胞中,不能移向赤道板,所以看不到赤道板型的分裂中期。在移动中的染色体受到药物作用则停留于中途,不能完全移向赤道板,形成大量的落后染色体。染色体已完全移到赤道板的细胞,受药物作用后不能再向两极移动,于是不再出现后期与末期,说明药物使染色体的移动受影响,而染色体的移动与纺锤丝有关。

美登木与长春新碱分别作用于细胞后,分裂指数显然增多,但从同位素自显影的结果来看,标记细胞数仅在加药后一天或两天略有增加,以后均比对照减少,看来这两种药物与细胞接触一、二日,能促进一些细胞进行 DNA 合成,以后则有抑制作用,故分裂指数的增加是由于分裂中期长时滞留而积聚,并非由于 DNA 合成细胞的增加。Wolpert-Defilippes 等观察小鼠白血病细胞  $L_{1210}$ ,  $L_{5178 Y}$ , 与小鼠淋巴白血病细胞  $P_{388}$  受美登素作用后胸腺嘧啶核苷、尿嘧啶核苷和亮氨酸掺入细胞的变化,  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷的掺入比对照下降约  $\frac{1}{2}$  至  $\frac{1}{7}$ <sup>(8)</sup>, 尿嘧啶核苷与亮氨酸则因各种细胞而异,有的增加,有的减少。美登木甲醇部位提取物作用于细胞后,影响胸腺嘧啶核苷的掺入不如文献中的美登素强。

美登木与长春新碱作用于细胞后,细胞膨大,尤其是长春新碱更甚,这两种药物对间期细胞的细胞器的作用,将另从电子显微镜的观察来分析。

Kupchan 还提到美登素与长春新碱在体外同样的浓度可抑制管素的聚合,但长春新碱的作用比美登素小一百倍。从我们的多方面的实验结果,勐崧美登木甲醇部位提取物对体外食管癌细胞有一定的作用,但比长春新碱的作用小,单从最低有效剂量来看,美登木的剂量是  $100 \mu\text{g/ml}$  向长春新碱为  $0.2 \mu\text{g/ml}$ , 其间相差 500 倍,如果应用到临床,则剂量比长春新碱至少也要大 500 倍。长春碱类与哺乳动物脑中管素结合引起许多神经毒性<sup>(7)</sup>,美登木甲醇部位提取物在大剂量作用下是否也有此副作用,需要进一步研究。Kupchan 认为美登素是高效低毒的抗癌成分,对小鼠肉瘤  $S_{180}$ 、小鼠白血病  $L_{1210}$ 、 $P_{388}$ 、Lewis 肺癌及大鼠瓦克 256 癌均有非常明显的效果。从体外效果来看,美登木甲醇部位提取物也是有效的成分,但作用较弱热带植物研究所已在进一步提纯。

抗癌药物进入机体,最终都要通过其对细胞的作用才能达到它抗癌的效果,体外长期培养的癌细胞,是观察药物对细胞作用的有利工具,尤其是对细胞分裂阶段的作用,利用培养细胞,可以动态地连续进行观察。

## 结 论

勐崧美登木甲醇部位提取物在体外对食管癌细胞有抑制于分裂中期的作用,与长春新碱的作用相似,但不如长春新碱的作用强,对美登木作用于细胞分裂的作用机制进行了讨论。

## 参 考 文 献

1. 上海药物研究所资料室: 美登素国外研究概况 1975
2. S. M. Kupchan: Novel natural products with

- antitumor activity. Fed. Proceeding 33: 2288~2295 1974.
3. 中国医学科学院肿瘤防治研究所细胞生物室: 人体食管癌上皮细胞株的建立。中华医学杂志 7:412~415, 1976.
  4. H. L. Holmes and J. M. Little: Tissue culture microtest for predicting response human cancer to chemotherapy Lancet 2 (7887)985~987 1974.
  5. S. Remillard, L. I. Rebhun, G. A. Howie and S.M. Kupchan: Anti-mitotic activity of the potent tumor inhibitor Maytansine. Science 189(4207):1002~1005, 1975
  6. Malawista, S. E., Sata H. and K. G. Bench:

- Vinblastine and Griseofulvin reversibly disrupt the living mitotic spindle. Science 160:770~772, 1968
7. Owellen, R. J., D. W., Donigian C. A., Harthe Dickerson R. M. and M. J. Kuhar: The binding of vinblastine to tubulin and to particulate fractions of mammalian brain. Cancer Res 34:3180~3186, 1974.
  8. M. K. Wolpert-Defilippes, R. H. Adamson, R. L. Cysyk and D. G. Johns: Initial studies on the cytotoxic action of maytansine, a novel ANSA macrolide. Biochem. pharmacol. 24(6):751~754, 1975

## 林县姚村冬季卧室空气苯并芘浓度的测定\*

中国医学科学院肿瘤防治研究所化学病因室、林县食管癌防治研究队

在食管癌的化学病因方面, 目前我们较集中地研究亚硝胺化合物、微量元素和霉菌毒素的作用, 工作在逐步开展中, 但病因与发病因素是很复杂的, 食管癌可能是较多致癌因素协同作用的结果, 虽然其中有的起主导的作用。林县农村在冬季约有四个多月在卧室内生炉火做饭, 同时可以取暖, 由于室内通风不良, 煤烟浓度有时较大, 对健康发生不好的影响。又因煤的燃烧不完全时会产生多环芳香烃类致癌物, 污染卧室空气, 其中主要为苯并芘(Benzo(a)pyrene, BaP)。在环境中, 苯并芘存在于空气、水、土壤、食品、香烟的烟等处。一般以分析苯并芘含量作为致癌物污染空气的代表, 也因为对它的分析测定已有较标准的方法。动物实验证明, 从不同途径给适量的苯并芘可引起各种器官组织的肿瘤, 同时给苯并芘和二乙基亚硝胺

对诱发小鼠呼吸道癌有协同作用<sup>(1,2)</sup>。

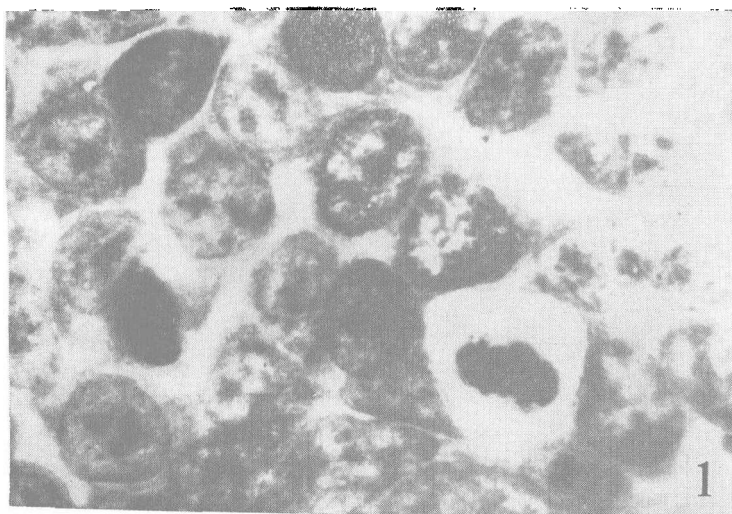
为了解食管癌高发区的各种致癌因素, 以便能较全面地考虑和拟订预防措施, 有必要测定林县农村居室内外空气中的苯并芘浓度。医科院卫生所环境卫生大气组曾于1975年初在林县姚村初步测定少数样品, 发现其中有的数值较高, 例如飘尘苯并芘浓度有一家室内为3.00微克/100立方米, 室外为0.56微克/100立方米, 卧室内降尘中浓度为0.45微克/克。1976年春节期我们进一步收集姚村卧室的飘尘和降尘样品, 这里将苯并芘的测定结果报告如下:

### 一般情况与方法

姚村大队社员卧室一般有两个炕床, 中

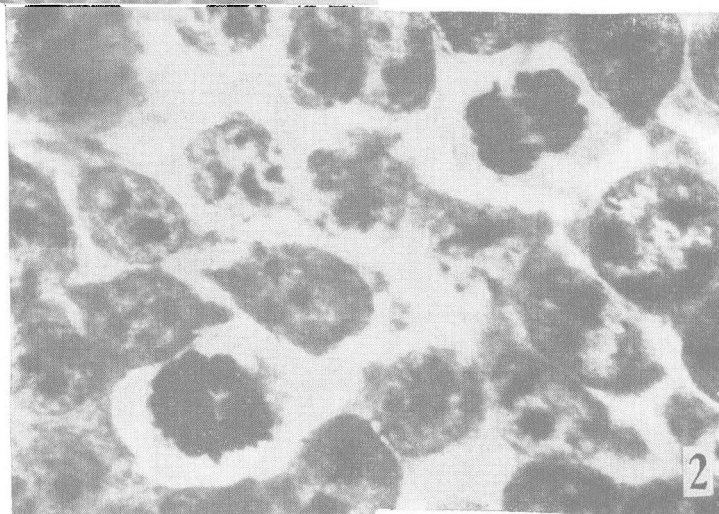
\* 全部飘尘和降尘样品由医科院卫生所环境卫生大气组测定

## 抗癌药物的体外试验(附图)

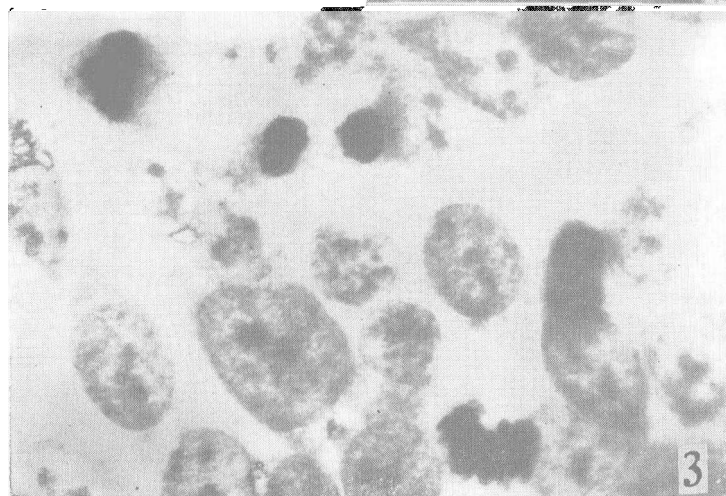


1~3: 不加药细胞的分裂各期。

1. 两个分裂前期和一个分裂中期。 $\times 1000$

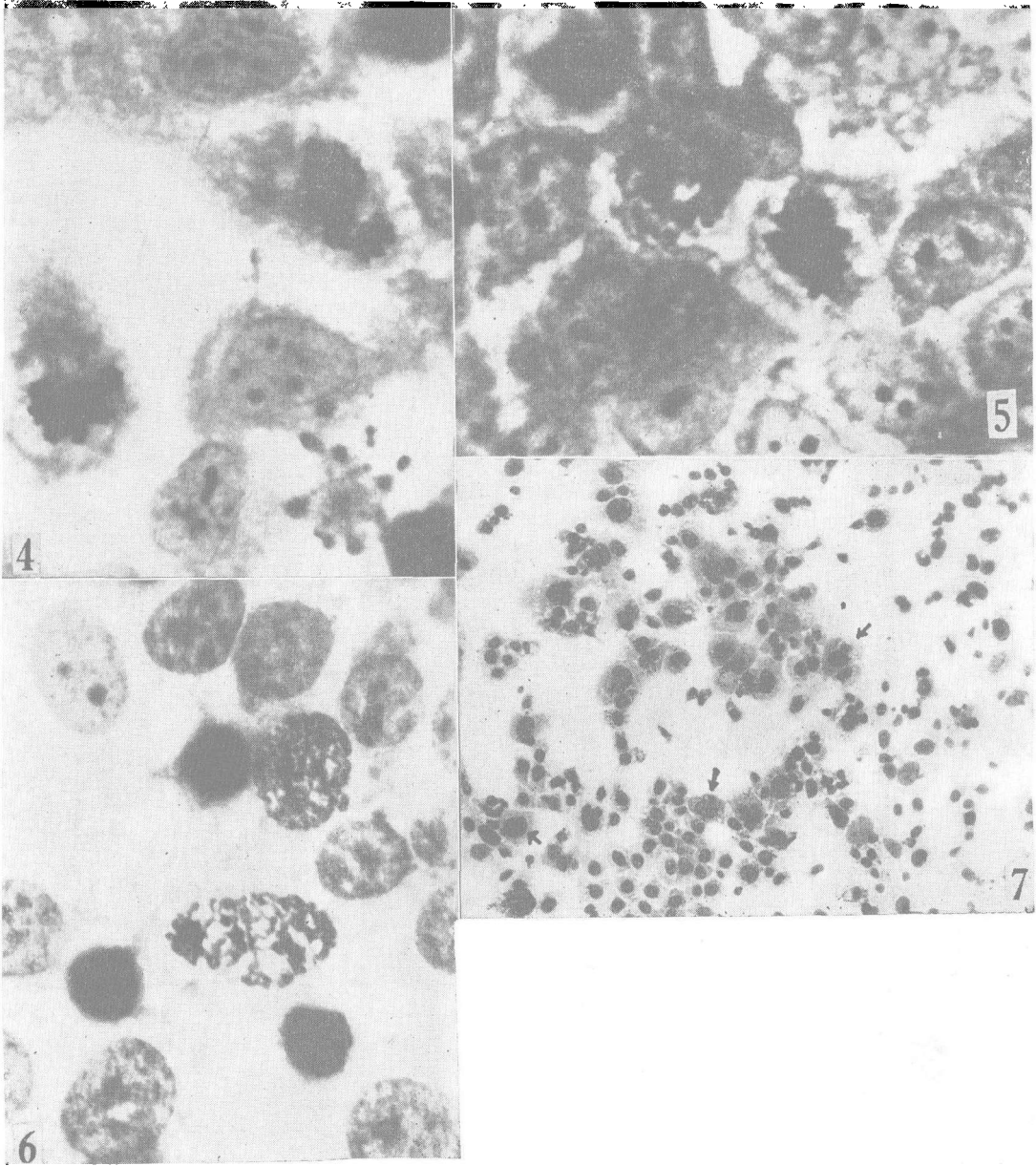


2. 一个花型分裂中期和一个分裂后期细胞。 $\times 1000$



3. 两个赤道板中期和一个末期细胞。 $\times 1000$

## 抗癌药物的体外试验(附图)



附 图 说 明

4~7: 加药细胞

4. 美登木 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  加药一天, 一细胞核裂解, 两个分裂中期。 $\times 1000$
5. 美登木 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  加药一天, 一个分裂早中期, 染色体仍散开, 另外两个分裂中期染色体呈不同程度凝集。 $\times 1000$
6. 长春新碱 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  加药一天, 两个前期不受药物影响, 三个染色体凝成团的中期。 $\times 1000$
7. 美登木 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  加药二次共六天, 去药后培养十六天, 细胞仍膨大, 间有小细胞。出芽的核(箭头)较多。