

## 新型免疫抑制剂大环哌喃(FK-506)体外抗人肝癌细胞生长作用观察

李 薇 郝立群 吴达聪

(广州军区广州总医院传染病科 广州 510010)

**摘要** 本文观察了 FK-506 在体外培养中对人肝癌细胞(HCC)的直接作用。结果表明,FK-506 对 HCC 无明显的细胞毒作用,而在较低浓度时,对 HCC 的生长及 DNA 合成均有明显的抑制作用,提示该药可能有很强的抗肿瘤效应。同时还观察到在伴有环孢霉素 A(CsA)存在时,该药对 HCC 的 DNA 合成的抑制作用明显减低,说明 FK-506 与 CsA 协同免疫调节肝细胞作用的可能性较小。

**关键词** FK-506;环孢霉素 A;人肝癌细胞培养;抑制作用。

大环哌喃(FK-506)为新型免疫抑制剂,是从 *Tsukubaensis* 链球菌中提取的大环内酯类药物。在体内与环孢霉素 A(CsA)的作用非常相似,<sup>(1,2)</sup>但比 CsA 有更强的免疫特性。众所周知,临床上有一部分慢性活动性肝炎及重症肝炎病人的发病与自身免疫功能过盛有关,以及在器官移植时,治疗上必须适当地使用免疫抑制剂。目前这类药物毒副作用较多,例如对损伤肝脏、诱发肝癌等问题就有较大的顾忌,因此需要寻找一种较为理想的免疫抑制药物。国外对 FK-506 已比较广泛地用于临床器官移植,尤其是肝移植,以控制慢性排斥反应。FK-506 可能被应用于自身免疫性疾病及某种类型肝脏疾病的治疗,以达到阻断疾病中免疫致病因素和加强受损肝组织的修复与再生作用。<sup>(3)</sup>本文应用 FK-506 直接作用于体外人肝癌细胞(HCC 株)进行实验观察,证明有明显抑制作用。

### 一、材料与方 法

#### (一)材料

人肝癌细胞株(HCC),中山医科大学肿瘤研究所馈赠;FK506 水溶液(Fujisawa pharmaceutical Japan);RPMI 1640 15%小牛血清培养液;24 孔、96 孔培养板(Costar USA);16 孔板(天津有机玻璃厂);常规恒温 37℃5%CO<sub>2</sub> 培养箱。

#### (二)方法

1. 细胞脱落试验 HCC $2.5 \times 10^3$ /孔,于 16 孔板中 37℃5%CO<sub>2</sub> 培养至 80~90% 细胞聚集生长时加 FK-506 100ng/mL,对照孔加等体积培养液,轻轻震荡后,上清液移出计算脱落细胞数(个/孔),取 4 孔平均值,以个/孔表示。

2. 细胞生长测定 HCC $2.5 \times 10^3$ /孔,于 24 孔板,37℃5%CO<sub>2</sub> 培养至对数生长期,FK-506 1ng/mL 及 10ng/mL 两种浓度加入细胞孔中,一式 4 孔,设仅含 HCC 对照孔,培养至指定时间,以胰酶-EDTA 消化处理。计算各孔细胞数,取各式 4 孔均值,以 HCC 个  $\times 10^3$ /孔表示。

3. DNA 合成测定 HCC  $2.5 \times 10^3$ /孔,于 96 孔板中与不同浓度的 FK-506 作用一定时间,1 $\mu$ ci/孔<sup>3</sup>H-Tdr(上海原子能研究所)掺入 2 小时,收获细胞,过 49 型滤膜,液闪仪测定 CPM 值,结果以 CPM  $\times 10^3$ /孔表示。

#### 4. CsA 对 FK-506 作用的影响

0.124nM 的 CsA-FK-506(CsA 为 148.6ng, FK506 为 100ng)共同培养与单一 FK-506 100ng 作对比,结果以 CPM  $\times 10^3$ /孔表示。HCC 培养及测定同 3。

### 二、结果

(一)细胞脱落试验结果 含 100ng FK-

506 HCC 每孔脱落细胞数与对照组分别为  $20.6 \pm 8.0 (X \pm S \text{ 后同})$  和  $19 \pm 1.9 (P > 0.05)$ ; 台脱长试验, 两组脱落细胞活性分别为 91.8% 和 93% ( $P > 0.05$ ), 见图 1。

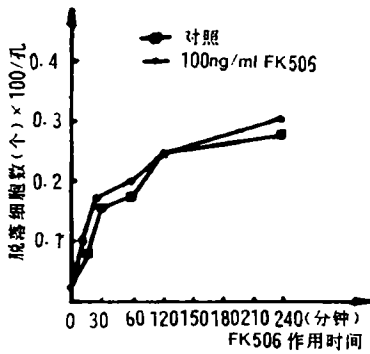


图 1 HCC 脱落试验

(二) 细胞生长测定结果 当 FK-506 为 1ng 时, HCC 于第二天开始出现生长被抑制现象, 并表现与 FK-506 递增剂量相关的生长抑制; 培养至第 5 天, 1ng、10ng 与对照组细胞数对比, 分别为 39.4% 和 52.2% 被抑制 ( $P_1 < 0.05, P_2 < 0.05$ ), 见图 2。

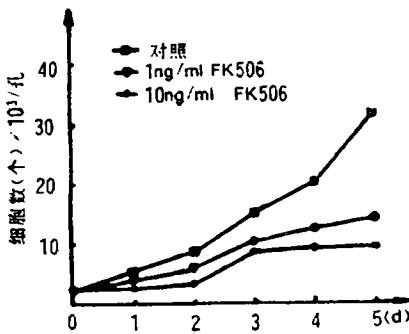


图 2 FK-506 对 HCC 生长的影响

(三) DNA 合成测定结果  $^3\text{H-Tdr}$  掺入后, 随着 FK-506 浓度递增, 显示出与剂量相关的抑制 HCC 的 DNA 合成的作用, 见图 3。

(四) CsA 对 FK-506 作用的影响 在含有等摩尔浓度 CsA 试验组中, FK-506 对 HCC 的 DNA 合成的抑制力明显减低 ( $P < 0.05$ ), 见图 4。

### 三、讨论

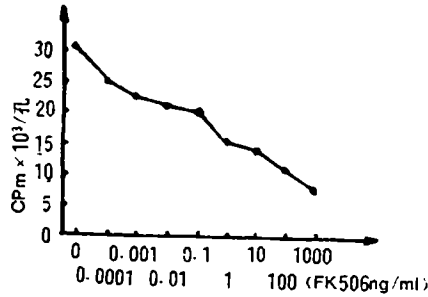


图 3  $^3\text{H-Tdr}$  掺入观察不同浓度 FK-506 对 HCC DNA 合成的抑制作用

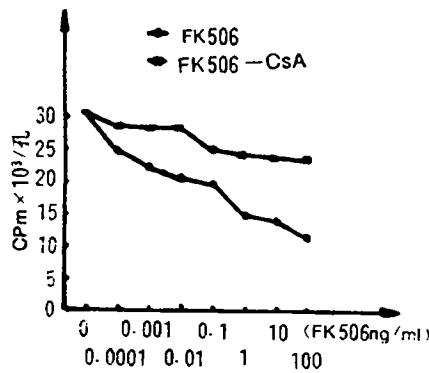


图 4 CsA 对 FK-506 作用的影响

本组试验表明较高浓度 FK-506 不影响培养中 HCC 的活力, 说明该药物没有明显的细胞毒作用; HCC 显示出与剂量正相关的抑制 DNA 合成作用及抑制生长作用。这些结果提示, FK-506 可能有抗人肝癌细胞生长作用, 但在有 CsA 的培养液中, FK-506 这种抑制作用明显减低, 说明尽管 CsA 与 FK-506 有许多共同的药物特征, 但这两种药物通过免疫机制协同调节肝细胞的作用可能性较小。Makowka 等<sup>(5)</sup>首先证明给大鼠予先口服 CsA mg/Kg/d, 连服 4 天, 大鼠作大部分肝脏切除后, 肝再生增强。用 FK-506 同法处理动物, 也发现相似的肝再生效应,<sup>(3,4,5)</sup>但切除小肠和肾就没有这种再生能力, FK-506 似有嗜肝作用。<sup>(6,7)</sup>此外 FK-506 对某些肝损伤疾病, 如药物性肝损伤、缺血性肝坏死等有肝细胞保护作用, 但亦有作者观察到 FK-506 在体外培养中对人肝细胞的生长和 DNA 合

成有抑制作用,<sup>[8]</sup>这与本文报告的 HCC 结果相似,说明 FK-506 作为新型免疫抑制剂过渡到临床广泛地应用,尚须进一步研究。

参考文献

[1] Francavilla A, Barone M, Todo S, et al. Augmentation of rat Liver regeneration by FK-506 compared with Cyclosporin. *Lancet*, 1989;11:1248~9  
 [2] Mazzaferro V, Scotti-Foglieni CL, Porter KA, et al. Studies of the hepatotrophic qualities of FK-506 and cyA. *Transpl proc*, 1990;22(Suppl 1):93~5  
 [3] Starzl TE, Porter KA, Mazzaferro V, et al. Hepatotropic effects of FK-506 in dogs. *Transplantation*, 1991;51:67~70  
 [4] Francavilla A, Starzl TE, Barone M, et al. Studies on

mechanisms of augmentation of Liver regeneration by Cyclosporine and FK506. *Hepatology*, 1991;14:140~3  
 [5] Makowka L, Svanas G, Esquivel Co, et al. Effect of Cyclosporine on hepatic regeneration. *Surg Forum*, 1986;37:352~4  
 [6] Francavilla A, Barone M, Starzl TE, et al. FK-506 as a growth Control factor. *Transpl proc*, 1990;23:(Suppl 1):90~2  
 [7] Francavilla A, Starzl TE, Carr B, et al. The effects of FK-506, Cyclosporine, and rapamycin on Liver growth in vitro and in vivo. *Transpl proc*, 1991;23:2817~20  
 [8] Blanc P, Etienne H, Danjat M, et al. Antiproliferative effect of FK-506 and Cyclosporine on adult human hepatocytes in culture. *Transpl proc*, 1991;23:2821~24

## 舒喘健心胶囊治疗冠心病 50 例临床疗效观察

郭良耀 吴世清

(福建省三明市第一医院内二科 三明 365000)

受解放军医药情报研究所委托,于 1993 年 8 月至 1994 年 12 月,应用二军大药学院、长海医院联合研制生产的纯中药制剂舒喘健心胶囊口服治疗冠心病患者 50 例。治疗中按其临床症状的改善程度及治疗前后常规心电图检查对比观察,近期的疗效满意。

### 一、观察对象及诊断治疗标准

(一)一般资料 本组 50 例均系住院患者。男性 40 例,女性 10 例;年龄 45~70 岁,平均 55 岁;其中 34 例无明显症状;在常规心电图检查中呈现 S-T 段压低、T 波倒置等冠状动脉供血不足或心肌受累的心电图改变;12 例具有不同程度劳力性绞痛症状,4 例为变异型心绞痛患者。

(二)诊断标准 按 1984 年 4 月人民卫生出版社《内科疾病诊断标准》,及 1991 年 4 月中国医药科技出版社《实用心脏病学》手册所规定的诊断标准,本组 50 例均符合诊断标准。

(三)疗效评定标准 按全国中西医结合防治冠心病、心绞痛、心律失常研讨会(1979 年 9 月)上海标准,其疗效评定分为:(1)心绞痛 ①显效。治疗后心绞痛症状分级降低两级,原为 I 级、II 级者心绞痛基本消失,不用硝酸甘油或消心痛;②改善。治疗后心绞痛症状降低 I 级,硝酸甘油或消心痛减量以上,原为 I 级心绞痛基本消失;③无变化。为解除心绞痛症状硝酸甘油、消心痛用量无变化,或虽有减少,但未达到改善程度;④加重。心绞痛发作次数、程度、持续时间加重。(2)心电图疗效 ①显效。休息时心电图恢复到正常或大致正常;②改善。休息时心电图 S-T 段下降,在治疗后回升 0.05mV 以上,但未正常,在主要导联倒置的 T 波变浅达 50%,可 T 波由平坦转为直立;③无变化。休息时心电图与治疗前相同,或虽有改善但未达到改善项目中的规定;④加重。休息时心电图较治疗前下降 0.05mV 以上,主要导联倒置 T 波加深