

复方生脉注射液对黑色素瘤抑制作用的研究

中医研究院广安门医院肿瘤研究室 汤铭新

指导:余桂清 张代钊 段凤舞

黑色素瘤是一种高度恶性的肿瘤,目前多采取手术疗法,但单纯手术治疗效果并不理想。我们曾观察过复方生脉注射液对 $C_{57}BL$ 小鼠移植性肿瘤 Lewis 肺癌自发转移抑制作用和对肺癌患者的近期病理组织和超微结构的变化⁽¹⁾,本实验是研究复方生脉注射液对小鼠移植性肿瘤 M-HP 黑色素瘤的抑瘤作用,并探讨其机理。

材料、方法和结果

复方生脉注射液由我院制剂室选用川附子、吉林红参、杭麦冬、西五味子,按 1.5:3:4:3 比例,经提取精制成水溶液,每毫升含生药 1 克。取同性别、18~22 克的健康昆明杂系小鼠,每组 8~10 只。选择接种小鼠黑色素瘤 M-HP (Harding-passey melanoma) 后 20~25 天生长良好的肿瘤瘤源制成肿瘤悬液,于小鼠右肩胛皮下接种 $5\sim6\times10^6$ 个瘤细胞。

一、复方生脉注射液对小鼠移植性 M-HP 黑色素瘤的抑制作用

按不同的给药途径,分为瘤周注射和尾静脉注射给药。瘤周注射是于接种后第 10 天随机将小鼠分为对照组和给药组,给药组每隔 5 天于瘤周基底注射复方生脉注射液一次,共给药 5 次,对照组注射生理盐水。尾静脉注射是于接种后次日随机分为对照组和给药组,隔日给药或生理盐水一次,至解剖前一天。复方生脉注射液以生理盐水稀释 10 倍,瘤周注射每次 0.5 毫升,尾静脉注射每次 0.4 毫升。均于接种后第 35 天拉颈处死小鼠,称取瘤重,计算瘤重抑制率,瘤块以 Bouin 液固定,进行病理组织学检查。结果示,瘤周注射给药组第一、二、三批的瘤重抑制率分别为 57.6%、70.4%、70.1%;尾静脉注射给药组瘤重抑制率为 59.9%。经统计学处理,复方生脉注射液虽给药途径不同,但对移植性 M-HP 黑色素瘤均有显著的抑制作用(表 1)。病理组织学检查表明,复方生脉注射液

组小鼠瘤内和瘤周出现明显的淋巴细胞反应;而对照组未见淋巴细胞反应。

表 1 复方生脉注射液对小鼠 M-HP 瘤的抑制作用

给药途径		对照组瘤重(克) 均值±标准误(只数)	给药组瘤重(克) 均值±标准误(只数)
瘤周注射	第一批	7.50±1.41(10)	3.18±1.36*(10)
	第二批	9.35±2.22(9)	2.77±0.97*(10)
	第三批	5.56±1.02(9)	1.66±1.02*(10)
尾静脉注射		5.94±1.31(8)	2.38±0.78*(8)

* 与对照组比较 $P<0.05$

二、复方生脉注射液体外对 M-HP 瘤细胞的直接作用

将 1×10^7 个小鼠 M-HP 瘤细胞滴入用生理盐水稀释的不同浓度复方生脉注射液和生理盐水对照管中,37% 孵育后以 0.1% 伊红染色,在显微镜下计数瘤细胞的赤染率(活细胞不着色,死细胞染成红色)。结果表明,复方生脉注射液体外对小鼠 M-HP 黑色素瘤细胞无直接杀伤作用(表 2)。

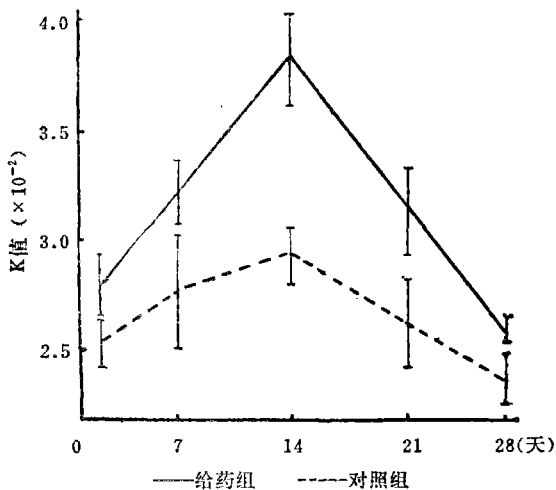
表 2 复方生脉注射液不同浓度体外对小鼠 M-HP 瘤细胞的直接作用

孵育时间	复方生脉注射液(克/毫升)					生理盐水
	1	0.2	0.1	0.04	0.02	
1 小时	4	5	5	4	3	3
4 小时	7	8	6	7	6	6
24 小时	34	35	31	30	34	32

注:表中数字为对瘤细胞的杀伤百分率(%)

三、复方生脉注射液对小鼠巨噬细胞系统吞噬机能的影响(碳末廓清实验)

将健康小鼠分为五组, 每组又分为给药组和对照组。五个组分别于给药的第 2、7、14、21、28 天测定吞噬指数。复方生脉注射液以生理盐水稀释 10 倍, 给药组隔日尾静脉注射 0.4 毫升; 对照组给生理盐水。荷瘤小鼠吞噬指数的测定为在实验一动物解剖前进行。实验选用北京“一得阁”牌墨汁, 以 1% 明胶稀释, 每只小鼠尾静脉注射 2 毫克碳粒, 注入墨汁后即刻和间隔 20 分钟, 分别用特制毛细管从眶静脉丛采血 0.05 毫升, 加到 5 毫升 0.1% 碳酸钠溶液中, 用上海 721 分光光度计, 在波长 650 毫微米下测定光密度, 以公式 $K = \log C_0 - \log C/T$ 求得吞噬指数, 吞噬指数愈大表示吞噬活性愈强。结果表明, 复方生脉注射液对健康小鼠巨噬细胞系统吞噬机能有明显的激活作用, 作用高峰在给药 14 天, 此时给药组 K 值与对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$) (附图)。对 M-HP 荷瘤 35 天小鼠, 对照组和给药组各 8 只小鼠的吞噬指数 K 分别为 1.26 ± 0.33 和 2.41 ± 0.29 。经统计学处理, 两组亦有显著性差异 ($P < 0.05$)。



附图 复方生脉注射液对健康小鼠巨噬细胞系统吞噬功能的激活作用

四、复方生脉注射液对 M-HP 荷瘤小鼠 T 淋巴细胞的影响

应用长春生物制品研究所介绍的酯酶染色方法⁽²⁾, 将动物分为正常小鼠组、给药组和对照组。后两组肿瘤接种方法和实验一同, 于接种后第 35 天取材, 每只小鼠涂片计数 100 个淋巴细胞。观察计数内容有 TG(-) 细胞 (无 IgFC 受体); 胞浆中有 1~4 个紫红色大颗粒; TG 细胞 (有 IgFC 受体); 胞浆中有 4 个以上分散的紫红色小颗粒; T 细胞: 为 TG(-) 及 TG 细胞的总和; B 细胞: 胞浆中无紫红色酯酶颗

粒。结果表明, 复方生脉注射液能使接种 M-HP 瘤后第 35 天荷瘤小鼠 T、B 细胞比值维持在正常水平, 防止荷瘤小鼠 T 细胞的明显下降, 并有提高具有特殊免疫活性 (有 IgFC 受体) 的 TG 细胞数的作用 (表 3)。

表 3 复方生脉注射液对 M-HP 荷瘤小鼠 T 细胞 (%) 的影响

细胞类别	健康组 (8只) 均值±标准误	对照组 (8只) 均值±标准误	给药组 (8只) 均值±标准误
TG(-) 细胞	66.13±0.87	24.38±3.21	51.63±1.59*
TG 细胞	9.38±0.66	3.88±0.91	18.75±0.63*
T 细胞	75.50±1.19	28.25±4.04	70.38±1.97*
B 细胞	24.50±1.19	71.75±4.04	29.62±1.97*

* 与对照组比较 $P < 0.001$

五、复方生脉注射液及其组份对小鼠 M-HP 瘤抑制作用的比较

复方生脉注射液制剂同前。生脉注射液每毫升含生药 1 克, 红参、麦冬、五味子的药量比例同复方生脉注射液; 红参注射液浓度为 20%; 附子注射液浓度为 50%。药品种及产地均相同。荷瘤动物造型方法同前。该实验是同一次肿瘤接种后进行随机分组给药, 给药途径为瘤周基底注射, 药物均以生理盐水稀释 10 倍, 药物剂量进行折算, 复方生脉注射液每次 0.5 毫升, 生脉注射液 0.4 毫升, 红参注射液 0.65 毫升, 附子注射液 0.15 毫升, 所注射的药物剂量在各种制剂中一致, 以比较各药剂的作用效果。结果表明, 附子对小鼠移植性 M-HP 瘤无抑制作用, 复方生脉注射液、生脉注射液、红参注射液的抑瘤作用相似 (表 4)。

表 4 复方生脉、生脉、红参、附子注射液抑瘤作用的比较

药 物 (注射液)	对照组瘤重(克) 均值±标准误 (鼠数)	给药组瘤重(克) 均值±标准误 (鼠数)	瘤重抑制率 (%)
复方生脉液	6.12±1.47(8)	2.05±0.86(9)*	66.5
生 脉 液	6.56±1.30(8)	2.03±0.97(8)*	69.1
红 参 液	5.82±1.54(9)	1.90±0.68(8)*	67.4
附 子 液	5.92±0.96(8)	6.02±1.22(8)	

* 与对照组比较 $P < 0.05$

讨 论

小鼠 M-HP 移植性黑色素瘤是生长较慢的瘤株, 快速生长期在接种后 20~25 天⁽³⁾。复方生脉注射液瘤周和静脉注射对 M-HP 瘤的抑制作用, 主要是通过增强巨噬细胞吞噬功能和细胞免疫功能而实现的, 同时局部免疫功能亦起重要作用, 这是复方生脉注射液

瘤周注射有抑瘤作用的原因之一。病理组织学观察给药组瘤周可见淋巴细胞反应也支持这一点。

实验结果表明, 复方生脉注射液的主要成分红人参对小鼠移植性 M-HP 瘤亦有明显的抑制作用。关于人参抑瘤作用的体内和体外实验国内外报道很多^(4~7), 但未见有对 M-HP 瘤株抑制作用的报道。

黑色素瘤是一种产生黑色素的高度恶性肿瘤, 国外用免疫疗法治疗 111 例局部复发恶性黑色素瘤患者, 有 66% 患者瘤灶消失, 比抗癌药物治疗显著, 说明机体因素所起的作用很大。据上海市肿瘤医院统计, 黑色素瘤 52% 发生在黑痣基础上, 14% 由外伤后出现黑斑或黑结节后演变而来。妊娠期黑色素瘤发展迅速, 提示与内分泌有关。目前黑色素瘤以手术治疗为主, 但足部恶性黑色素瘤术后仅 1/3 患者生存⁽⁸⁾。我们治疗了一例由外伤后所引起的足底部恶性黑色素瘤患者, 年龄 27 岁, 妊娠分娩后肿瘤生长加快, 两次手术后局部复发, 免疫治疗也无效, 采用扶正中药复方生脉注射液治疗, 局部瘤块全部脱落, 至今已 1 年余, 免疫指标提高, 血清唾液酸、纤维蛋白原降至正常。这可能与复方生脉注射液中药有提高机体抵抗理化生物性不良刺激的抗应激作用⁽⁹⁾, 使不正常生理功能逆转的“正常化作用”、调节内分泌功能^(10,11)和增强机体的免疫功能⁽¹²⁾有关。

小 结

复方生脉注射液瘤周或静脉注射, 对小鼠移植性 M-HP 黑色素瘤有明显的抑制作用, 它的抑瘤作用是

通过提高巨噬细胞系统吞噬功能和细胞免疫功能等免疫机制而实现的。通过扶正方剂复方生脉注射液对黑色素瘤的动物实验研究和临床初步观察表明, 中医“扶正培本”对生长较慢的小鼠黑色素瘤的抑瘤作用和受机体因素影响较大的黑色素瘤患者治疗的研究是很有前途的。

此项研究曾蒙卫生部药品生物制品检定所 肿瘤免疫室杨凤文教授指导, 中国医学科学院基础医学研究所病理研究室高进教授对本文进行审阅和修改, 特此致谢。

参 考 文 献

- (1) 汤铭新: 复方生脉注射液对肺癌转移抑制作用的实验研究和临床病理组织学及超微结构的观察。待发表资料。
- (2) 曾繁启等: 酯酶染色法及其在临床和实验动物中的试用。内部资料, 1980。
- (3) 中国医学科学院药物研究所: 哈帕氏黑色素瘤。内部资料, 1976。
- (4) 江纪武摘译: 中草药通讯 (10):47, 1979。
- (5) 王本祥综述: 药学报 15(5):312, 1980。
- (6) 中医研究院情报研究室: 国外医学 中医中药研究分册 (1):79, 1979。
- (7) 中国医学科学院情报研究所: 高丽参提取物能破坏癌细胞。内部资料, 1979。
- (8) 《实用肿瘤学》编辑委员会: 实用肿瘤学 (第二册)。第 658 页, 人民卫生出版社, 1979。
- (9) 姜廷良等: 肿瘤防治研究中几个与中医基本理论有关的问题。内部资料, 1978。
- (10) 周超凡等: 我国中药理论和中药复方的药理学研究进展与展望。内部资料, 1980。
- (11) 李长茂等: 重庆医药 (4):87, 1978。
- (12) 钱瑞生: 中医杂志 21(3):75, 1980。

“石 淋” 治 验 1 例

安徽省庐江矾矿职工医院中医科 丁 少 坡

中医“石淋”, 西医称尿路结石。笔者运用中医药治疗 1 例, 于短期内排出结石, 现介绍如下。

张××, 男, 55 岁, 本矿职工, 1981 年 6 月 11 日初诊。患者小便不能排出, 淋漓茎痛, 甚则放射至左腰部、左下肢痛, 反复发作已八个月。检查: 左侧肾区叩击痛, 输尿管区域压痛; 尿液检查: 红细胞 (+), 草酸盐结晶 (+)。脉弦劲数, 舌苔薄黄, 脉证合参, 诊为“石淋”(西医诊为尿路结石)。治以通淋利尿, 清热滋肾。处方: 金银花、生甘草、车前子、天花粉、玄参、麦冬各 10 克, 酒黄芩、炒栀子各 6 克, 制滑

石 30 克。三剂。

二诊(6 月 18 日): 服上方后, 症情稍缓, 仍以原方续服三剂。6 月 23 日患者尿出一块 10×6×5 毫米之棕褐色桑椹状结石。此后临床症状明显缓解。又予碧玉散五剂善后, 处方: 制滑石 30 克, 甘草 5 克, 青黛 2 克。1982 年 7 月随访, 小便排出良好, 未见复发。

本例病程已八个月, 症状典型, 服药后排出结石, 故诊断成立。临床仅服 6 剂中药后排出结石, 说明中医药治疗尿路结石具有一定疗效。