

中 药 研 究

细胞 CT 技术在中药抗癌研究中的应用

谢锦玉* 张莅峡* 刘铭福* 胡庆和* 王玉萍*

摘要 应用细胞 CT 等先进技术,观察了中药 926 对腹水宫颈癌细胞的作用。结果显示该药破坏癌细胞的 DNA 和 RNA,阻止了核酸合成和细胞繁殖,使细胞学实验研究提高到了一个新的水平。

主题词 抗肿瘤药[剂](中药)/药理学 肿瘤细胞,培养的/药物作用 断层摄影术,X 线计算机

细胞 CT 技术系国际先进水平,它借助于现代最先进的激光扫描共聚焦显微镜,进行精密的单细胞水平的各项功能分析。本实验选用了本室系列抗癌中药 926,观察它对小鼠 U14 腹水宫颈癌细胞的作用,旨在更深入地探讨抗癌机理。

1 实验材料及方法

1.1 药品和试剂:中药 926 系本所研制提供的中药干燥粉末,配制成无菌的 1% 生理盐水溶液,4℃ 保存,使用前按 200mg/kg 稀释,0.2ml/只/日腹腔注射。RNA 酶、碘化丙啶(PI)、吖啶橙(AO),均为 Sigma 产品。

1.2 动物和方法:选用雄性 C57BL/LJ 纯系小鼠,体重 18~20g,购于中国医学科学院动物中心,U14 癌株由本院中药所提供。42 只小鼠分别腹腔接种 4×10^6 细胞/0.2ml/只,于接种后第 3 天随机分 3 组:生理盐水对照组、1 次用药组、3 次用药组,每组 14 只。分别于 1 次用药后 3、6、12 小时及 3 次用药后 9、12、24、48 小时与对照组同时取材,每个时相均重复 2 次。

实验各组获取新鲜腹水,用 pH7.4 磷酸缓冲液充分洗涤后,经 RNA 酶消化 30 分钟,除去 RNA,用碘化丙啶荧光染色;另取腹水作吖啶橙荧光染色,涂片置激光扫描共聚焦显微镜(Insight plus 型,美国 Meridian 公司 1992 年产品),油镜观察,Z 轴方向,0.6μ 步进,行 CT 成象,用 Insight 专业图象板进行图象处理,IQ 软件三维立体重组。

2 结果

对照组癌细胞完整无缺,呈圆形。PI 染色仅显细胞

核,细胞 CT 的 40 个切片,从小→大→小,荧光强度显桔黄→浅黄→蓝色,即荧光强度由强变弱,亦 DNA 荧光强弱的变化。三维立体重组后,DNA 荧光强度呈“蛋糕型”,顶部荧光强,底部荧光弱。细胞沿其长轴作顺时针旋转,分别于 15、30、45、60、75、90、105、120 度显示细胞,从扁圆渐至圆形,均未见缺损或破坏现象。AO 荧光染色显示 DNA 黄色, RNA 红色荧光,细胞完整

用药组 1 次或 3 次用药后各时相均发现癌细胞不同程度的缺损。PI 荧光染色标本,各个光切面上 DNA 荧光明显减弱,核畸形,与对照组相比,显示明显区别。三维立体重组显细胞核不规则形,不具“蛋糕型”,提示 DNA 量减少。AO 荧光染色标本,核畸形,胞质缺损,出现 DNA 和 RNA 物质的断裂、凝集,呈不规则的斜方形或各种畸形,这些变化在普通显微镜下未能发现。

3 讨论

本实验所用的激光扫描共聚焦显微镜,具有图象分辨率高,清晰度强,从细胞光切片揭示细胞断层扫描的形态。同一层光切面 DNA 和 RNA 分布的变化,经计算机图象处理,系统整合,可见完整的细胞立体动态变化,提供了清晰的客观变化依据。由于共焦作用排除了离焦影象对焦面影象的干扰,以获得光切片的良好效应;又三维图象和细胞内部结构相结合,与电镜相比,本仪器可同时揭示细胞表面和内部结构,再加之计算机的应用,旋转细胞后又可随意观察细胞各个侧面的表面形态。该仪器还可将形态学与功能学统一起来,既观察细胞结构的动态变化,又定量分析遗传物质 DNA、RNA 细胞器酶的含量,细胞内 Ca^{++} 、pH 等各类分子或离子的定量分析及细胞通讯,测定膜流动性及膜电位变化,高分子物质的扩散、通透及相互作用和受体的移动等多项功能^[1,2]。

自 50 年代中期,我们即对数十种抗癌药物进行筛选,直至 80 年代初利用了较先进的荧光显微镜、显微分光光度计、流式细胞仪等分析了数种中药,926 就是其中一种。原有的研究发现,926 能抑制癌细胞的 DNA 合成,使 G2+M 期细胞大大减少,分裂期细胞染色体破碎;在激光扫描共聚焦显微镜×100 下,DNA 分布畸

* 中国中医研究院基础理论研究所,北京东直门内
北新仓 18 号(北京 100700)

收稿日期:1994-10-10;修回日期:1994-11-05

形, DNA、RNA 荧光物质凝聚、断裂 DNA 荧光强度分布图呈畸形, 与对照组完整的“蛋糕型”形成明显的区别, 至停药 48 小时后仍可见明显的破损。实验证明了中药 926 破坏了癌细胞的 DNA、RNA, 直接影响了癌细胞的繁殖和生存, 达到抑癌作用。

利用细胞 CT 技术, 方法简便, 时间短, 取像快, 可从细胞外观到内在结构, 从平面到立体, 从静止到动态, 从形态到功能进行诸多方面分析、探讨。使研究工作提高到一个新的更高的水平, 这对中医中药基础理

论研究的深入进展, 临床诊治等赶超国际水平, 无疑产生巨大的促进作用, 是一值得推广的新技术。

4 参考文献

- 1 Powell K L, et al. Characterization of subsurface damage in ceramic-matrix composites by confocal scanning Laser microscopy. *Journal of microscopy* 1993;109:189~195.
- 2 Beak J P A, et al. Quantitative microscopical and confocal Laser scanning microscopy for intermediate endpoint biomarkers in breast cancer. *J Cell Biochem* 53 suppl 1993;175:98~106.

针刺鼻丘治疗变态反应性鼻炎

夏仲涛* 徐路平*

治疗变态反应性鼻炎的方法颇多, 疗效都不甚理想。我们自 1988 年 8 月开始, 采用鼻外经路针刺鼻丘, 治疗变态反应性鼻炎, 取得满意效果, 现整理如下。

1 临床资料

本组变态反应性鼻炎患者 72 例, 其中男 41 例, 女 31 例。年龄为 17~76 岁。发病时间最短 3 个月, 最长 17 年。全部病例均有不同程度的鼻痒、喷嚏、流清涕, 部分病人有鼻塞, 部分病人伴有眼痒、咽痒或耳痒。鼻腔检查: 42 例双下鼻甲轻度水肿, 粘膜苍白色; 30 例双下鼻甲不大, 粘膜呈淡红色; 发作时都可见有水样或粘性分泌物; 3 例中鼻甲轻度水肿, 1 例左中鼻道有小息肉。14 例作鼻分泌涂片检查嗜酸性细胞, 其中 10 例可找到, 4 例未找到。6 例在他院作变态反应原检查, 对螨、花粉或和尘土等有过敏反应。

全部病例都曾服用药物或局部滴药, 但不能控制其发作; 有 3 例曾接受脱敏治疗, 3 例曾作封闭, 2 例曾作其他穴位针灸, 均不见好转; 3 例曾接受激光治疗, 2 例经电灼下鼻甲或鼻丘, 只暂时改善。

2 治疗方法

用 1 寸毫针, 从鼻背侧面相当于梨状孔外上缘的中点, 针尖对着眼外眦, 刺入上颌骨鼻突下方, 达鼻丘部粘膜下, 进针 0.5 寸左右, 不刺透粘膜。两侧同时进行。一般停针 20 分钟左右, 可捻针或加电刺激。隔 2~3 天 1 次, 5 次为 1 疗程, 一般治疗 1~3 疗程。针刺过程中停用其他治疗。

3 结果

疗效评定标准: 显效指鼻痒、喷嚏、流清涕、鼻塞等

症状消失, 鼻粘膜水肿消退, 发作停止; 有效指上述症状和表现减轻或明显减轻, 发作次数减少; 无效指症状和检查无改善, 或仅发作次数稍少。

本组病人经 2~15 次治疗, 其结果为: 显效 41 例, 占 56.9%, 有效 29 例, 占 40.2%, 无效 2 例, 占 2.7%, 总有效率为 97.1%。经 3 年多的观察, 仅 3 例复发, 并再治疗 1 疗程而愈。

4 体会

变态反应性鼻炎主要是由 IgE 介导的 I 型变态反应。在反应过程中释放出各种原发性介质和继发性介质, 这些介质导致粘膜的各种病理改变。而中枢神经系统在变态反应的发生和发展过程中, 起着重要作用。鼻丘是神经末梢丰富的敏感区, 针刺此处, 可能是作为一种良性刺激, 使中枢神经系统产生新兴奋, 提高其活动能力, 发挥调节作用, 从而抑制由疾病引起的消极刺激, 以达到治疗的目的。

针刺是通过神经系统对机体功能进行调整, 没有特异性, 因此, 各种特异变应原对针刺的效果没有明显影响。但环境对疗效似有一定关系, 如无效中的 1 例, 常处在寒冷的刺激中, 针刺 5 次未见改善。

进针时有的病人感到疼痛, 但都能忍受。进针后大多数病人感到局部酸胀, 有的病人顿觉鼻塞减轻或豁然鼻通气良好。有的病人反应敏感, 出现频繁喷嚏、鼻涕淋漓, 其疗效多较明显。对一些对针刺不敏感或开始疗效不明显的病例加电刺激可以增强效果。有些病例针刺 1~2 次时, 效果不明显, 但第 3~4 次后, 效果明显加强。

个别病例取针后鼻内出血, 为刺透粘膜所致, 能自行停止, 也可予前鼻孔塞一棉球即可。

* 北京电力医院, 北京广安门外六里桥(100073)

收稿日期: 1991-11-26; 修回日期: 1992-07-03

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Delayed Encephalopathy due to CO Poisoning Treated with Kangchiling: Report of 80 Cases.

Li Guiqiu, Liu Yalin, Xu Zhanmin

In TCM, delayed encephalopathy as a result of CO poisoning falls under the category of injuries of liver—kidney—semen—blood, blockade of pericardium by filthy phlegm and stagnant blood. Since Kangchiling is a remedy capable of nourishing liver—kidney, replenishing semen—blood, activating circulation and eliminating stasis, expelling phlegm and resurrecting, it is effective for the above ailment. In this series of 80 cases, 78 were markedly effective, 2 effective, the rate of marked effectiveness being 97.5%.

Authors' Address: No. 4 Hospital, Hebei College of TCM, Shijiazhuang, Hebei 050011

Key Words: CO poisoning/complications dementia/TCM therapy

(Original article on page 95)

Effect of Chinese Medicaments on Changes of Biliary Prostacycline and Thrombin in Acute Cholangitis.

Zhuang Zangen, Wang Qunwei, Miao Xiongying

Through oral administration of Yinchen Dandao Decoction in man and rabbit, the effect on 6—keto—PGF_{1 α} and TXB₂, the stable metabolite of biliary prostacycline and thrombin, were examined, and its effect on biliary prostacycline and thrombin was explored. The results were: in acute cholangitis, 6—keto—PGF_{1 α} and TXB₂ were markedly increased with ratio of them lowerd. After administering the Decoction, both are markedly decreased and the ratio increased.

Authors' Address: Department of Liver and Gallbladder, 2nd Affiliated Hospital, Hunan Medical University, Changsha, Hunan 410011

Key Words: Cholecystitis/metabolism prostacycline/metabolism thrombin A₂/metabolism

(Original article on page 97)

Psoriasis Treated by TCM: Observation of 226 Cases.

Sun Buyun

The cases were divided into two groups, one treated with "tian di chong fang" and "tian di long gao" for internal and topical administration respectively; the other group was treated with ethylimine and triamci-

nolone carbamide ointment, also for respective internal and topical administration, as control. Both received 3 therapeutic courses. Results showed that, for the treatment group, the cured rate was 41.6%, with a total effective rate of 88.9%; for the controled group, the results were 35.3% and 72.9% respectively. Statistical difference was significant ($P < 0.01$). The days needed for cure and long—term efficacy were all better in the treatment group.

Author's Address: Sheyang County Hospital of TCM, Jiangsu 224300

Key Words: psoriasis/TCM therapy

(Original article on page 99)

Application of Cytological CT Technique in Anti—tumor Research in TCM Pharmacology.

Xie Jinyu, Zhang Lixia, Liu Mingfu, et al.

By applying advanced technique such as cytological CT the action of 926, a Chinese drug, on ascitis cervical cancer cells was observed. Results revealed that it destroys the DNA and RNA of cancer cell, prevent it from synthesis of nucleic acid and cellular proliferation. These has upgraded the experimental research to a new level.

Authors' Address: Institute of Basic Theory, China Academy of TCM Beijing 100700

Key Words: Anti—tumor agents/pharmacology tumor cell, cultivated/drug action Tomography, X—ray Computerized

(Original article on page 103)

Anticoagulation and Anoxia—Tolerant Actions of Guanxinke.

Liu Deqiang, Zhao Guoxin

Studies showed that Guanxinke markedly prolongs the coagulation time, prothrombin time, shortens the euglobulin lysis time, increases the activity of fibrinolysin and animal's potential of tolerating anoxia. These suggest that Guanxinks is an promising agent for coronary heart disease.

Author's Address: Xi'an Polytechnic Institute of TCM, Second Artillery, PLA, Xi'an Shaanxi 710061

Key Words: ready—made TCM drugs/pharmacology anoxia/TCM therapy anticoagulant/pharmacology

(Original article on page 105)