

• 方药研究 •

血脂康胶囊的体外抗肿瘤作用

杨 钟^{1,2} 赵君贤¹ 张英鸽¹

(1. 中国人民解放军军事医学科学院毒物药物研究所, 北京市海淀区太平路 27 号, 100850;

2. 内蒙古农业大学动物科学与医学学院)

[摘要] **目的** 研究血脂康胶囊的体外抗肿瘤作用及其对化疗药物氟尿嘧啶(5-Fu)抗肿瘤作用的影响。**方法** 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法对血脂康单用及其与5-Fu合用后对人肝癌细胞HepG2、乳腺癌细胞MCF-7和白血病细胞HL-60的抑制率进行检测。**结果** 血脂康(2.56mg/ml、0.64mg/ml、0.16mg/ml、0.04mg/ml、0.01mg/ml)对HepG2、MCF-7和HL-60肿瘤细胞的抑制作用呈剂量依赖性,其IC₅₀分别为14.057mg/ml、19.859mg/ml和27.771mg/ml;不同浓度的血脂康(0.64mg/ml、0.16mg/ml、0.04mg/ml、0.01mg/ml、0.0025mg/ml)合并5-Fu(0.24mg/ml)对3种人癌细胞的抑制率均显著高于单用5-Fu(0.24mg/ml)。**结论** 血脂康对体外培养的癌细胞具有显著抑制作用,并可显著增强化疗药物5-Fu的抗肿瘤作用。

[关键词] 血脂康;洛伐他汀;肿瘤;增效

Anti-neoplastic Effect of Xuezhikang in vitro

YANG Zhong^{1,2}, ZHAO Jun-xian¹, ZHANG Ying-ge¹

(1. Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850; 2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University)

ABSTRACT **Objective** To study the anti-neoplastic effect of Xuezhikang (Regulate blood-fat) Capsule in vitro and its influence on the chemotherapeutic drug 5-Fluorouracil (5-Fu). **Methods** Using MTT method to measure the inhibition rate of Xuezhikang Capsule used simply, 5-Fu used simply and Xuezhikang Capsule with 5-Fu together on HepG2, MCF-7 and HL-60 cells. **Results** The inhibitory action of Xuezhikang Capsule (2.56, 0.64, 0.16, 0.04, 0.01 mg/ml) on HepG2, MCF-7 and HL-60 cells was dose-dependent and the IC₅₀ was 14.057, 19.859 and 27.771mg/ml respectively. The inhibition ratio of five different doses of Xuezhikang Capsule (0.64, 0.16, 0.04, 0.01, 0.0025 mg/ml) with 5-Fu (0.24mg/ml) together all remarkably higher than that of 5-Fu used simply. **Conclusion** Xuezhikang Capsule has a significant anti-cancer effect in vitro and can enhance remarkably the anti-neoplastic effect of 5-Fu.

Key Words Xuezhikang (Regulate blood-fat) Capsule; Lovastatin; Cancer; Enhancement

中药血脂康胶囊是应用特制红曲为原料发酵而成的,不仅含有降脂作用的洛伐他汀等天然他汀类成分^[1,2],而且还含有有益于人体的其他成分^[3]。大量体内外研究表明,他汀类药物具有抗肿瘤作用^[4]。国家“九五”攻关课题“中国冠心病二级预防研究(CCSPS)”发现^[5],血脂康可有效降低肿瘤的发生率和死亡率。美国的研究学者也发现^[4],洛伐他汀和红曲提取物(血脂康的原料)均可明显抑制HCT-116和H29结肠癌细胞增殖,并能促使细胞凋亡,且红曲提取物去除洛伐他汀后的产物对结肠癌细胞(SW480和SW620)仍有抑制作用,加MVA培养的结肠癌细胞可逆转洛伐他汀的抑瘤作用,但不能逆转红曲提取物的抑瘤作用。这些研究都提示血脂康也可能具有抗肿瘤作用,但至今尚且缺少相关方面的研究。为此,本研究血脂康的抗肿瘤作用

及其与化疗药物合用对其肿瘤抑制作用的影响,以进一步发现其药用价值,为血脂康的抗肿瘤应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株

人肝癌细胞株HepG2,人乳腺癌细胞株MCF-7,人粒系白血病细胞株HL-60均由北京肿瘤医院提供。

1.2 药品与试剂

RPMI-1640培养基(Sigma公司,批号R6504);血脂康原粉(北京北大维信科技有限公司产品,批号20060610)溶于99.50%二甲基亚砜(DMSO)中;99.5%DMSO溶液(北京化学试剂公司,批号060115);5-氟尿嘧啶(5-Fu)注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号051101);洛伐他汀原粉(中国药品生物制品检定所,批号20050201);MTT原粉(南京卓尔生化技术有限公司,批号060223)。

1.3 主要仪器

Olympus 倒置显微镜(CK 2, 日本);Sanyo CO₂ Incubator(MCO 175, 日本);古城牌超净工作台(北京昌平长城空气净化工程公司),酶标仪(A-5028, 奥地利)。

1.4 血脂康对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 细胞株体外增殖作用的影响

取对数生长期的细胞,调细胞浓度为 3×10^5 接种于 96 孔板中,24 小时后加入血脂康溶液(溶剂 DMSO 终浓度 1%),终浓度分别为 2.56mg/ml、0.64mg/ml、0.16mg/ml、0.04mg/ml、0.01mg/ml,即血脂康 1~5 组药物浓度根据血脂康中所含洛伐他汀量换算确定。实验设阴性对照组(加细胞和培养液)、溶剂对照组(0.5%DMSO)、阳性对照组(240 μ g/ml 5-Fu)、剂量根据预试验确定洛伐他汀 1 组、2 组^[6](25.6×10^{-3} mg/ml、 6.4×10^{-3} mg/ml)。培养 48 小时,实验结束前每孔加入 MTT 20 μ l(终浓度每孔 0.5g/L)。弃上清,每孔加入 200 μ l 99.5%DMSO,待沉淀完全溶解后于酶标仪 490nm 处测定其 OD 值,并计算各组药物对细胞的抑制率。每组设 6 个复孔,实验重复 3 遍。

1.5 血脂康对化疗药物 5-Fu 的增效作用

方法同上。实验设阴性对照组、溶剂对照组、阳性对照组、血脂康加 5-Fu 1~5 组(0.64mg/ml + 240 μ g/ml、0.16mg/ml + 240 μ g/ml、0.04mg/ml + 240 μ g/ml、0.01mg/ml + 240 μ g/ml、0.0025mg/ml + 240 μ g/ml)、洛伐他汀加 5-Fu 1~2 组(6.4×10^{-3} mg/ml + 240 μ g/ml、 1.6×10^{-3} mg/ml + 240 μ g/ml)。每组设 6 个复孔,实验重复 3 遍。

细胞抑制率 = (溶剂对照组 OD - 实验组 OD) / 溶剂对照组 OD $\times 100\%$

1.6 统计学方法

实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 11.0 软件进

行处理,组间样本均数比较采用 F 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 血脂康对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 细胞株体外增殖作用的影响

表 1 示,血脂康 1~5 组对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 的抑制率最高分别可达 36.003%、31.895% 和 33.913%,且具有一定的剂量效应关系,说明血脂康对肿瘤细胞具有显著的抑制作用。经回归法^[6]计算得血脂康对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 的 IC₅₀ 分别为 14.057mg/ml、19.859mg/ml 和 27.771mg/ml。

2.2 血脂康对 5-Fu 的增效作用

表 2 示,血脂康对 HepG2 细胞株的抑制率显著高于单用 5-Fu(0.24mg/ml)的抑制率,且具有较好的线性关系;5 个剂量组的血脂康与 5-Fu(0.24mg/ml)合用后对 MCF-7 细胞株的抑制率均显著高于单用 5-Fu(0.24mg/ml)的抑制率;血脂康(0.64mg/ml、0.16mg/ml、0.04mg/ml)与 5-Fu(0.24mg/ml)合用后对 HL-60 细胞株的抑制率显著高于单用 5-Fu(0.24mg/ml)的抑制率,具剂量依赖性。经回归法计算得 5-Fu(0.24mg/ml)合并不同浓度血脂康对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 的 IC₅₀ 分别为 0.030mg/ml、0.058mg/ml 和 0.044mg/ml。

3 讨论

中医理论认为,疾病发生发展的根本原因在于机体的阴阳失调,恶性肿瘤亦不例外,癌变既是由于分子间的平衡失控所致,因此,我们中医治疗肿瘤的基本原则是调整阴阳,恢复阴阳的相对平衡。多年来的研究发现^[3],血脂康不但具有降脂作用,而且具有抗动脉硬化、抗炎、抗氧化、保护内皮、改善微循环、改善心功能、改善胰岛素等作用,因此在临床中广泛地应用于高脂

表 1 血脂康对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 细胞株体外增殖作用的影响

组别	样本数	浓度 (mg/ml)	HepG2		MCF-7		HL-60	
			OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
溶剂对照组	6	—	1.186 $\pm$ 0.171	0	1.298 $\pm$ 0.224	0	1.265 $\pm$ 0.201	0
血脂康 1 组	6	2.56	0.759 $\pm$ 0.111	36.003 **	0.884 $\pm$ 0.113	31.895 **	0.836 $\pm$ 0.084	33.913 **
血脂康 2 组	6	0.64	0.832 $\pm$ 0.121	29.848 **	0.952 $\pm$ 0.174	26.656 *	0.914 $\pm$ 0.111	27.747 **
血脂康 3 组	6	0.16	0.918 $\pm$ 0.105	22.597 *	1.026 $\pm$ 0.203	20.955	0.966 $\pm$ 0.177	23.636 *
血脂康 4 组	6	0.04	0.996 $\pm$ 0.138	16.020	1.111 $\pm$ 0.188	14.407	1.065 $\pm$ 0.112	15.810
血脂康 5 组	6	0.01	1.073 $\pm$ 0.165	9.528	1.202 $\pm$ 0.211	7.396	1.123 $\pm$ 0.146	11.225
阴性对照组	6	—	1.168 $\pm$ 0.182	1.518	1.303 $\pm$ 0.199	-0.385	1.206 $\pm$ 0.305	4.664
5-Fu 组	6	0.24	0.599 $\pm$ 0.058	49.494 **	0.763 $\pm$ 0.076	41.217 **	0.605 $\pm$ 0.069	52.174 **
洛伐他汀 1 组	6	25.6×10^{-3}	0.831 $\pm$ 0.090	29.933 **	0.975 $\pm$ 0.156	24.884 *	0.959 $\pm$ 0.138	24.190 *
洛伐他汀 2 组	6	6.4×10^{-3}	0.930 $\pm$ 0.098	21.585 *	1.086 $\pm$ 0.115	16.333	1.077 $\pm$ 0.219	14.862

与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 血脂康对化疗药物 5-Fu 的增效作用

组别	样本数	浓度 (mg/ml)	HepG2		MCF-7		HL-60	
			OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)	OD 值 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
溶剂对照组	6	—	1.320±0.054	0**	1.350±0.087	0**	1.065±0.059	0**
血脂康加 5-Fu1 组	6	0.64+0.24	0.541±0.060	59.023**△	0.502±0.021	62.832**△	0.343±0.061	67.763**△
血脂康加 5-Fu2 组	6	0.16+0.24	0.604±0.055	54.211**△	0.619±0.044	54.141**△	0.395±0.058	62.878**
血脂康加 5-Fu3 组	6	0.04+0.24	0.660±0.044	49.981*	0.693±0.017	48.685**	0.407±0.022	61.813**
血脂康加 5-Fu4 组	6	0.01+0.24	0.666±0.089	49.514*	0.792±0.049	41.341**	0.532±0.044	50.039
血脂康加 5-Fu5 组	6	0.0025+0.24	0.761±0.056	42.329	0.878±0.072	34.946*	0.535±0.029	49.789
阴性对照组	6	—	1.301±0.054	1.440	1.338±0.083	0.913**	1.088±0.082	-2.239**
5-Fu 组	6	0.24	0.763±0.060	42.228	0.956±0.063	29.182	0.536±0.011	49.616
洛伐他汀加 5-Fu1 组	6	6.4×10 ⁻³ +0.24	0.598±0.029	54.666**	0.728±0.068	46.081**	0.426±0.022	59.950**
洛伐他汀加 5-Fu2 组	6	1.6×10 ⁻³ +0.24	0.699±0.021	47.014*	0.833±0.064	38.279**	0.454±0.046	57.320*

与 5-Fu 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与相应浓度洛伐他汀比较, △ $P < 0.05$

血症以及动脉粥样硬化等引起的冠心病、脑中风、糖尿病、脂肪肝、肾病综合征等疾病。最近有研究表明, 血脂康可能还具有抗肿瘤作用。

本实验结果显示, 血脂康对 HepG2、MCF-7、和 HL-60 的抑制作用具有剂量依赖性, 其 IC₅₀ 分别为 14.057mg/ml、19.859mg/ml 和 27.771mg/ml, 与在美国进行的研究结果一致^[4]。血脂康对肿瘤细胞的抑制作用, 可能是由于血脂康含有他汀类(如洛伐他汀等)、甾醇类(如 3β 羟基-5α 8β 环二氧麦角甾-6、22-二烯)、异黄酮(如大豆苷元、黄豆黄素、染料木素等)等成分, 而已有研究证实了洛伐他汀^[6]、甾醇类^[7]、异黄酮^[8,9]等的抗肿瘤作用, 这些成分协同作用, 从而使血脂康产生抗肿瘤效果^[10]。本研究结果也表明, 血脂康的抗肿瘤作用也不能单用洛伐他汀的作用来解释, 而是支持多种成分协同作用。本研究结果可进一步解释为何 CCSPS 中血脂康能够降低肿瘤患者的发生率和死亡率。但其是否可开发为抗肿瘤药物还有待进一步的体内及临床研究。

研究结果还发现, 0.24mg/ml 的 5-Fu 对人肝癌细胞 HepG2、乳腺癌细胞 MCF-7、和白血病细胞 HL-60 的抑制率分别为 42.228%、29.182% 和 49.616%, 与不同浓度的血脂康(0.64mg/ml、0.16mg/ml、0.04mg/ml、0.01mg/ml、0.0025mg/ml) 合用后抑制率最高可分别达到 59.023%、62.832% 和 67.763%, 二者具有极显著的差异性。结果表明, 血脂康能显著提高抗肿瘤药物 5-Fu 对人肝癌细胞 HepG2、乳腺癌细胞 MCF-7、和白血病细胞 HL-60 的敏感度($P < 0.05$), 提示血脂康可以增强化疗药物(5-Fu) 抗肿瘤效能, 这可能由于血脂康本身具有一定的抑制肿瘤作用, 但其作用机制还有待进一步研究。

血脂康主要有效成分洛伐他汀的含量约为 1%^[1], 因此在体外研究中, 2.56mg/ml、0.64mg/ml、0.16mg/ml 的血脂康所含洛伐他汀浓度与 25.6 ×

10⁻³mg/ml、6.4 × 10⁻³mg/ml、1.6 × 10⁻³mg/ml 洛伐他汀相当。但是本研究却发现, 洛伐他汀不论单用还是与 5-Fu(0.24mg/ml) 合用, 其对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 的抑制率均显著低于相应浓度血脂康(0.64mg/ml + 5-Fu) 对 HepG2、MCF-7 和 HL-60 的抑制率($P < 0.05$)。提示血脂康中除洛伐他汀外, 其他有效成分也具有抗肿瘤作用。这与以前的研究结果一致^[2~4], 也证明了血脂康胶囊防治肿瘤的作用与其含有多种有效成分密不可分。

综上所述, 血脂康对体外培养的人肿瘤细胞具有显著的抑制生长作用。在与抗肿瘤药合用时, 能明显增强抗肿瘤药对肿瘤细胞的抑制, 其抗肿瘤及增效作用强于相应浓度的洛伐他汀, 有可能成为新的抗肿瘤药或增效剂, 但还有待进一步的体内和临床研究。

参考文献

[1]张茂良, 段震文, 谢申猛. 血脂康有效成份研究. 中国新药杂志, 1998, 7(3): 213~214.

[2]马学敏, 郭树仁, 段震文, 等. 血脂康胶囊的化学成分研究. 中草药, 2007, 38(5): 650~652.

[3]寇文谔. 血脂康基础与临床研究现状概述. 中国处方药, 2005, 40(7): 62~67.

[4]Hong MY, Seeram NP, Zhang Y, et al. Anticancer effects of Chinese red yeast rice versus monacolin K alone on colon cancer cells. J Nutr Biochem, 2007, 19(7): 448~458.

[5]血脂康调整血脂对冠心病二级预防研究协作组. 中国冠心病二级预防研究. 中华心血管病杂志, 2005, 33(2): 109~115.

[6]徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1786.

[7]Agarwal B, Bhendwal S, Halmos B, et al. Lovastatin augments apoptosis induced by chemotherapeutic agents in colon cancer cells. Clin. Cancer Res. 1999, 5(8): 2223~2229.

[8]Feleszko W, Zagodzón R, Golab J, et al. Potentiated

- antitumour effects of cisplatin and lovastatin against MmB16 melanoma in mice·Eur J Cancer, 1998, 34(3) : 406~411.
- [9] Feleszko W, Mlynarczuk I, Balkowiec-Iskra EZ, et al· Lovastatin potentiates antitumor activity and attenuates cardiotoxicity of doxorubicin in three tumor models in mice·Clin Cancer Res, 2000, 6(5) : 2044~2052.
- [10] Chan KK, Oza AM, Siu LL·The statins as Anticancer Agents·Clin Cancer Res, 2003, 9(1) : 10~19.
- [11] 张明, 姜达, 崔研芝, 等·洛伐他汀对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的生长抑制作用及相关机制·临床肿瘤学杂志, 2005, 10(6) : 619~623.
- [12] Mizushima Y, Watanabe I, Togashi H, et al· Angosterol peroxide, a natural product that selectively enhances the inhibitory effect of linoleic acid on DNA polymerase β ·Biol Pharm Bull, 1998, 21(5) : 444~448.
- [13] Messina MJ· Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects·Am J Clin Nutr, 1999, 70(3 Suppl) : 439S~450S.
- [14] 刘葵, 张恩娟·大豆异黄酮的药理作用及临床应用研究进展·中国药房, 2006, 17(1) : 67~69.
- (收稿日期: 2007-11-29; 修回日期: 2008-01-22)
- [编辑: 崔京艳]

· 书 评 ·

推动中医学的三个进步 ——《中医脑病学》读后

王 琦

(北京中医药大学中医体质与生殖医学研究中心, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029)

如何推动中医学的进步, 长期以来一直萦绕于中医学界同仁的胸臆, 为此我也一直苦苦进行思考与探索。近来对这个问题似乎从朦胧中渐渐清晰起来, 将其初步归结为三点: 一是理论的产出与发展; 二是学科的分化与构建; 三是治疗学的丰富与提高, 这三点互动起来, 中医学的进步就有了标志, 就有了动人的前景。之所以启发我产生这些想法, 应该说与我读一本书有关。这本书是王永炎、张伯礼两院士主编的《中医脑病学》。该书的学术成就, 可以从以下方面得到印证。

1 推动理论的产出与发展

中医对脑与脑病的认识已有几千年的历史。《黄帝内经》即有脑的解剖、生理形成的雏形, 并有癫疾、眩晕、头痛、厥逆、仆击、大厥、薄厥、偏枯、痺风等病名, 此后历代医家对脑与脑病的认识不断探索发展, 至明李时珍提出“脑为元神之府”的命题, 做出了理论贡献, 但从主导地位来说, 理法方药体系大多由心为代表的脏腑学说所代替。至今有关心主神明还是脑主神明, 或心脑共主神明, 脑属奇恒之府, 还是属脏属腑仍聚讼不休。《中医脑病学》从大处着眼, 系统阐述中医脑及脑病理论发展史, 澄其源流, 梳其轨迹, 明其要义, 并对脑的生成功能、脑与气血津液、五脏、奇经八脉的关系, 以及脑病的病因病机、诊法与辨证、治则与治法、护理与养生康复作了系统论述, 丰厚而完整, 尤其是着力体现了脑病学科体系的多层次、多形式、纵横结合的动态辨证体系。值得指出的是, 在这些论述中从当代的科学背景及医疗实践出发, 注入了许多原创性的内容, 如提出中风病机为“气血逆乱在脑”, 与历代内风、外风论大相径庭。上述各端, 不仅发展了中医藏象理论, 并为脑及脑病理论体系的构建奠定了基础。

理论的创新与发展是非常艰巨的, 因为理论是对客观规律认识的高度凝结, 它一经实践检验, 具有真理性和稳定性, 真正经得起时间考验的理论创新, 必须是对原有认识的丰富和发展, 也包括对原有认识补充与校正。中医学的发展不止于静态保护, 而是要不断注入鲜活的思想才有生命力。书中王永炎

院士对此多有精彩的表述, 他说“发展中医药学, 除了要致力于传统的理论和经验的挖掘、继承外, 还要有意识地广泛地从现代科学中吸取有益的学术内涵。除了基于上述考虑外, 也涉及治学方法的问题。与时俱进, 古老传统的中医药学生命的薪火传递, 不能仅依靠静态的保护, 还要通过沟通交流和论证创新, 才会给她注入新的活力。”对此, 我理解为从静态思维进入动态变革思维, 是一个极高的思维境界。历史悠久、博大精深的中医学, 应该通过代代人的努力, 使其具有变动不居的动态性, 使之在时间的长河中, 不断绵延, 从而在现实社会中显示其贡献与作用, 这就需要使中医学从原生态发展成为当代条件下的新形态, 使之成为具有与时俱进的理论品质, 成为一个随着实践、科技和时代发展而发展的理论。《中医脑病学》对中医学脑认知及脑病论治所展现的继承性、创新性与多元性, 无疑为中医理论的发展提供了范式。

2 推进学科分化与构建

学科分化与构建是一门学科成熟与发展的标志, 也是推动科学研究不断发展的重要途径。目前医学科学包括一级学科 6 个, 二级学科 77 个, 三级学科 141 个, 除“中医与中药学”之外, 共有一级学科 5 个, 二级学科共 72 个, 三级学科 116 个, 即西医与中医一级学科比例为 5 : 1; 二级学科比例为 72 : 5 (14. 4 : 1); 三级学科比例为 116 : 29 (4 : 1)。可以看出, 二者学科分化的比例上差距很大。而且学科层次上也有差别, 如中医内科学与西医内科学不属于同一层次, 前者属于三级学科, 后者属于二级学科。而我国现行学科分类一般划分为一、二、三级学科 3 个层次, 到三级学科即无法分化。西医内科学以下分化有心血管病学、呼吸病学、胃肠病学等 11 个三级学科, 而神经病学、精神病学(包括精神卫生及行为医学等) 均为三级学科。上述内容中医学却均在“内科学”中打包了。从学科“教学科目设置”这一功能而言, 传统的中医内科学无脑病单元, 脑系疾病多分散于其他病系之中, 如中风、头痛、眩晕属肝系; 不寐、多寐、健忘、癫狂、痫证、痴呆属心系; 郁证属气血津液病; 颤证、痿证、痉证属