

桑黄云芝胶囊对 *Lewi* 肺癌荷瘤小鼠肺转移的影响

李坤星* 董文亮* 郭 炜*

桑黄云芝胶囊是纯中药制剂,尤适用于非小细胞肺癌的临床治疗。该制剂能减轻患者痛苦,提高生活质量,延长患者生存期等作用。我们利用小鼠 *Lewi* 肺癌肿瘤动物模型,观察了该方的抑瘤及抗转移作用,并对其作用机理进行了初步探讨,为进一步的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

由桑黄、云芝、牛樟芝、青刺尖、三七和刺五加按照一定比例组成,将生药打碎,用 95%乙醇萃取,减压浓缩,制成浸膏,加入赋型剂淀粉,混合搅拌,低温干燥,研磨成粉,每 100 g 生药制成浓缩细粉 20 g 充填胶囊后装瓶备用。临用前以蒸馏水制成混悬液;注射用顺铂(冻干型),20 mg 瓶,由齐鲁制药有限公司生产,批号 8080341 DC。

1.2 动物

C_{57} BL/6 小鼠,50 只,SPF 级,雄性,6~8 周,体重(20 $\pm$ 2) g 购于北京中国医学科学院动物实验中心,动物合格证号:SCXK(京)2004-0013 *Lewi* 肺癌荷瘤小鼠,由中国医学科学院药物研究所肿瘤中心提供。

1.3 主要仪器

标准净化工作台(中国苏州净化集团安泰公司 SW-CJ BU),相差显微镜(美国 AO),N6 单头旋转血流变仪(北京普利生仪器中心 LBY-N6),干燥箱(上海福玛实验设备有限公司 DGX-9143 B 型),转轮式切片机(上海徕卡 RM2015 型)。

2 方法

2.1 *Lewi* 肺癌转移模型的建立^[1]

取接种 8~14 天的生长良好的 *Lewi* 肺癌荷瘤小鼠,颈椎脱臼,用 75%乙醇浸泡消毒 10 min;在超净工作台上剥离瘤体,选择生长良好的瘤组织,在无菌平皿中剪碎,放置于玻璃组织匀浆器内,按瘤块(g):生理盐水(ml)为 1:3 的比例加入 4℃预冷的生理盐水轻轻研磨,制成细胞悬液,过 300 目尼龙网制成单细胞悬液,用生理盐水调整细胞浓度至 1×10^7 /ml,台盼蓝(Trypan blue)拒染试验示活细胞数>95%。取近交系 C_{57} BL/6 小鼠,雄性,共 50 只,左手固定小鼠,用 75%乙醇消毒小鼠右前肢腋窝皮肤,右手持 1 ml 无菌注射器于小鼠腋部皮下注射瘤细胞悬液 0.2 ml(含肿瘤细胞数约为 2×10^6 /ml)。

2.2 动物分组及给药

接种后次日,将 50 只造模动物随机均分为 5 组:肿瘤模型组、阳性药对照组(顺铂组)、桑黄云芝胶囊大、中、

小 3 个剂量组(16 g/kg、8 g/kg、4 g/kg)。桑黄云芝胶囊 3 个剂量组分别给动物灌胃不同剂量的受试药,每日 1 次,连续灌胃 20 天;阳性药对照组给动物腹腔注射顺铂 1 mg/kg 每日 1 次,连续给药 3 天;肿瘤模型组灌胃蒸馏水,每日 1 次,连续灌胃 20 天。所有动物灌胃容积均为 0.4 ml/只。

2.3 血液黏度测定

21 天动物称重后,左手持鼠,拇指与食指捏紧颈部皮肤,使鼠眼球突出,右手持止血钳,钳夹一侧眼球部,将眼球摘除,鼠倒置,头部向下,将血滴入预先加有肝素的试管内,直至流血停止。组内两只小鼠血样合并,取 1 ml 作为一个样本用 LBY-N6 型旋转式血液黏度计测定全血黏度。

2.4 对荷瘤小鼠的抑瘤率

小鼠取血后,颈椎脱臼,固定于鼠板上,用 75%乙醇消毒操作部位皮肤,解剖小鼠,剥离瘤体(不包括正常组动物),于分析天平上进行称重,并计算肿瘤生长抑制率。肿瘤生长抑制率(%) = $\frac{\text{对照组平均瘤重} - \text{治疗组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\%$

2.5 对抑制荷瘤小鼠肺转移的疗效观察

剥离鼠肺,用 Bouin 氏液固定,解剖镜下计数肺部正反面及肺叶间的转移瘤集落数。

2.6 统计学处理

实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,用 GraphPad Prism 4 统计软件,采用单因素方差分析进行统计学处理。

3 结果

3.1 动物一般状况

接种后 8 天,各实验组小鼠右前肢腋窝下均可触及黄豆大小瘤块,10 天后各实验组小鼠瘤体生长速度明显加快,出现行动迟缓,食量减少,聚集不活泼等现象,模型组小鼠最为明显;顺铂组小鼠给药结束后,曾出现一过性大便稀薄、食量减少及竖毛现象;17 天后各实验组小鼠明显消瘦,聚集,活动减少,并出现死亡,经解剖检查确认为人为操作不当所致。实验前后小鼠体重比较,各实验组小鼠体重均有所增长,但顺铂组小鼠平均体重增长最低。

3.2 对 *Lewi* 肺癌荷瘤小鼠全血黏度的影响

表 1 示,在低切($1 s^{-1}$)状态下各治疗组荷瘤小鼠平均全血黏度均低于肿瘤模型组,与肿瘤模型组比较均具有非常显著性差异($P < 0.01$);在高切($180 s^{-1}$)状态下,与模型组比较,各治疗组均具有降低全血黏度的趋势,但无统计学意义。

表 1 桑黄云芝胶囊对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠

组别	鼠数	全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s$)	
		全血黏度 ($\eta/\text{mPa}\cdot\text{s}^{-1}$)	
		低切 (1 s^{-1})	高切 (180 s^{-1})
肿瘤模型组	4	67.14 $\pm$ 5.56	4.97 $\pm$ 1.01
阳性对照组	5	48.77 $\pm$ 2.95	3.56 $\pm$ 0.38
桑黄云芝胶囊高剂量组	4	58.12 $\pm$ 2.07*	4.33 $\pm$ 0.50
桑黄云芝胶囊中剂量组	4	56.84 $\pm$ 1.50*	4.23 $\pm$ 0.49
桑黄云芝胶囊低剂量组	4	59.59 $\pm$ 0.73*	4.36 $\pm$ 0.15

注:与模型组比较, * $P<0.01$

3.3 对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠抑瘤率的影响

表 2 示,与肿瘤模型组比较,顺铂及高、中、低 3 个剂量桑黄云芝胶囊均具有明显抑制 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长的作用 ($P<0.05$),抑瘤率分别为 26.9%、21.2%、21.0%、24.6%。

表 2 桑黄云芝胶囊对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠瘤重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
肿瘤模型组	9	7.65 $\pm$ 1.00	
阳性对照组	10	5.62 $\pm$ 1.05**	26.9
桑黄云芝胶囊高剂量组	9	6.03 $\pm$ 1.11*	21.2
桑黄云芝胶囊中剂量组	9	6.04 $\pm$ 1.41*	21.0
桑黄云芝胶囊低剂量组	8	5.77 $\pm$ 1.32*	24.6

注:与模型组比较, * $P<0.05$ ** $P<0.01$

3.4 对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠肺转移的影响

表 3 桑黄云芝胶囊对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠

肺转移灶数的影响 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	鼠数	转移灶数目	抑制率 (%)
肿瘤模型组	9	17.3 $\pm$ 5.4	
阳性对照组	10	9.1 $\pm$ 7.2*	47.4
桑黄云芝胶囊高剂量组	10	9.9 $\pm$ 5.9*	42.8
桑黄云芝胶囊中剂量组	9	11.3 $\pm$ 5.9	34.7
桑黄云芝胶囊低剂量组	8	10.5 $\pm$ 4.2	39.3

注:与模型组比较, * $P<0.05$

表 3 示,顺铂组及桑黄云芝胶囊高剂量组荷瘤小鼠肺转移灶数目明显少于模型组 ($P<0.05$),抑制率分别为 47.4%、42.8%,桑黄云芝胶囊中、低剂量组荷瘤小鼠

平均肺转移灶数均少于模型组,抑制率分别为 34.7%、39.3%,但都无统计学意义。

4 讨论

侵袭、转移是恶性肿瘤最本质的生物学特征,血液黏度诸因素的升高,可直接促进癌栓的滞留与转移。曾有报道证明肿瘤的浸润与血黏度有一定相关性^[2]。亦有报道称肿瘤的浸润、生长和转移与血液流变指标改变呈正相关,并证实活血化瘀中药治疗肿瘤,不仅可改善血液流变指标,亦可抑制肿瘤转移^[3]。

本实验研究结果显示,桑黄云芝胶囊均具有明显抑制 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长的作用 ($P<0.05$),抑瘤率分别为 26.9%、21.2%、21.0%、24.6%。且桑黄云芝胶囊高剂量组荷瘤小鼠肺转移灶数目明显少于模型组 ($P<0.05$),抑制率为 42.8%,表明桑黄云芝胶囊具有抑制肿瘤转移的作用,以高剂量最为明显。在低切 (1 s^{-1}) 状态下各治疗组荷瘤小鼠平均全血黏度均低于肿瘤模型组,与肿瘤模型组比较均具有极显著性差异 ($P<0.01$);表明桑黄云芝胶囊具有可以降低血液黏度。

由此可见,桑黄云芝胶囊对 L^{ew}i 肺癌荷瘤小鼠具有抑制肿瘤生长的作用,对肺转移具有抑制作用,可降低肺转移率,并可改善荷瘤小鼠的血液流变指标,降低血液黏度,改善血液高凝状态,这可能是其抑制肿瘤生长、转移的机理之一。

参考文献

- [1] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2001: 1769—1770
- [2] 高进. 小鼠前胃癌 (FC) 皮下移植后肿瘤发展过程中血液流变学的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 1989; 11(6): 429.
- [3] 李萍萍,孙红,史桂芝,等. 移植瘤的血液流变学与活血化瘀中药作用的研究[J]. 肿瘤, 2000; 20(3): 234—235.

* 山东中医药大学 (250355)

黄芪的抗氧化研究

瑞恒¹ 廖蕴华²

黄芪始载于《本经》,列为上品^[1]。古人用其“主治肌表之水也,故能治黄汗、盗汗、皮水。又旁治身体肿或不仁者。”经芪芍桂枝苦酒汤、防己茯苓汤、黄芪桂枝五物汤等验证,其对“身体、四肢肿,水气在皮肤中,汗出恶风,汗沾衣,色正黄如蘗汁,身体不仁,暮盗汗,腰髋弛痛”^[2]有较好疗效。为充分开发、利用我国丰富的药用植物资源,本实验分析了黄芪提取物清除自由基的效果,发现它们均具有一定的抗氧化性能。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

黄芪浸膏为广州康臣药业有限公司提供 (批号 07-0611);取黄芪浸膏适量,加入计算量的纯净水,3000 r/min 离心 10min 取上清液,加入适量纯净水使浓度用“g 生药表达形式”为 0.6 g 生药 /mL 4℃ 储备备用;其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器

AnalystAD 酶标仪:美国 MD 公司。LDZ-1.2 低速离心机:北京精力离心机有限公司。Sartorius BS224 S/