

消岩汤对肺癌恶病质小鼠肿瘤生长的影响

张蕴超 贾英杰* 杨佩颖 黄敏娜

天津中医药大学第一附属医院肿瘤科,天津市南开区鞍山西道 314 号,300193)

基金项目:天津市中医药管理局中医中西医结合科研课题(11042)

* 通讯作者: frendi_2006@yahoo.com.cn, 13821355381

[摘要] 目的 研究消岩汤对肺癌恶病质小鼠肿瘤生长的影响,并探讨其可能作用机制。方法 将 40 只小鼠分为健康小鼠组(健康组)、Lewis 肺癌小鼠组(肺癌组)、Lewis 肺癌小鼠消岩汤组(消岩汤组)、Lewis 肺癌小鼠醋酸甲地孕酮组(孕酮组),每组 10 只。连续给药 12 d 后,测定血清瘦素水平及瘤组织中 p53 分子表达及 C-myc 蛋白表达。结果 除健康组外,消岩汤组、孕酮组小鼠反应性及体毛较肺癌组明显改善,进食量明显增加($P < 0.01$),其中消岩汤组进食量多于孕酮组($P < 0.05$)。肺癌组小鼠反应性及体毛情况恶化最明显。3 组进食量均低于健康组($P < 0.01$)。给药后处死各组小鼠,肺癌组、消岩汤组、孕酮组小鼠体重均比健康组小鼠体重减轻($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。至给药第 12 天,消岩汤组、孕酮组瘤重明显较肺癌组轻($P < 0.01$),消岩汤组瘤重低于孕酮组($P < 0.01$)。肺癌组、消岩汤组、孕酮组血清瘦素水平均低于健康组,其中肺癌组、孕酮组与健康组比较下降明显($P < 0.05$);而孕酮组低于消岩汤组($P < 0.05$)。消岩汤组、孕酮组的 p53 及 C-myc 蛋白表达水平与肺癌组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),消岩汤组与孕酮组比较差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。结论 中药消岩汤具有增加恶病质小鼠食量和体重、改善机体机能、升高血清中瘦素受体水平、促进 p53 的表达并抑制 C-myc 表达的作用,达到抑制肿瘤生长的作用。

[关键词] 肺癌;恶病质;消岩汤;醋酸甲地孕酮;瘦素;p53;C-myc

Effect of Xiaoyan Decoction on Cachexia and Tumor Growth in Mice with Lung Cancer

ZHANG Yunchao, JIA Yingjie, YANG Peiying, HUANG Minna

(The First Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Xiaoyan Decoction (antitumor decoction) on cachexia in mice with lung cancer and its antitumor mechanism. **Methods** Forty mice were randomized into the healthy group, lung cancer group, Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group, with 10 in each. The leptin content and the expressions of p53 and C-myc protein were observed after 12 days of continuous treatment. **Results** Comparing with the lung cancer group, the reaction, body hair and food intake improved significantly in the Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group ($P < 0.01$), especially the food intake in the Xiaoyan Decoction group ($P < 0.01$). The situation of reaction and body hair was the worst in the lung cancer group. The mice were sacrificed after treatment. Comparing with the healthy group, the bodyweights in the lung cancer group, Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), especially in the lung cancer group ($P < 0.01$), especially in the Xiaoyan Decoction group ($P < 0.01$). Comparing with the lung cancer group, the tumor weight was significantly decreased in the Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group on the 12th day of treatment ($P < 0.01$), especially in the Xiaoyan Decoction group ($P < 0.01$). Comparing with the healthy group, the leptin levels in the lung cancer group, Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group were decreased, especially in the lung cancer group and megestrol acetate group ($P < 0.05$). Comparing with the lung cancer group, the expressions of p53 were significantly increased in the Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group ($P < 0.01$), especially in the Xiaoyan Decoction group ($P < 0.01$). Comparing with the lung cancer group, the expressions of C-myc were significantly decreased in the Xiaoyan Decoction group and megestrol acetate group ($P < 0.01$), especially in the Xiaoyan Decoction group ($P < 0.01$). **Conclusion** Xiaoyan Decoction can improve appetite, body function and immune function, increase bodyweight and leptin level, promote p53 expression and inhibit C-myc expression and tumor growth in mice with lung cancer.

Keywords lung cancer; cachexia; Xiaoyan Decoction; megestrol acetate; leptin; p53; c-myc

癌症恶病质是指由于癌症进展而出现的体重下降、厌食及衰竭三联征,在晚期患者中可高达60%~80%以上。恶病质使许多抗肿瘤治疗无法进行,免疫功能低下易造成感染,合并多脏器衰竭,成为晚期

肺癌患者死亡的主要原因,约占50%^[1]。近年来,瘦素的发现使人们对恶病质的发病机制有了突破性认识,发现其在调节摄食中枢神经中起着至关重要的作用^[2]。本实验通过研究消岩汤对肺癌恶病质小

鼠一般状况、食欲及肿瘤生长的影响,观察消岩汤治疗肺癌恶病质的作用机制。

1 材料

1.1 动物

健康雄性 C57BL/6 小鼠 40 只,6~8 周龄,体重(20 ± 2)g,由天津医科大学动物中心提供,动物许可证号:SCXK(沪)2011-0009。

1.2 瘤株

小鼠肺腺癌 Lewis 细胞系,由中国医科大学免疫实验室提供。

1.3 药物

消岩汤:黄芪 30 g,太子参 15 g,夏枯草 10 g,姜黄 15 g,白花蛇舌草 15 g 等组成,为天津中医药大学第一附属医院院内制剂,制剂号:40019,制备成水煎剂浓度为 0.42 g/ml。醋酸甲地孕酮片(40 mg/片,西安德天药业股份有限公司,批号 H20040001)加入生理盐水配成 20 mg/kg 溶液。

2 方法

2.1 模型建立

参照文献[3]方法,将 Lewis 肺癌瘤株制成细胞悬液浓度约为 1×10^7 /ml,接种于 C57BL/6 雄性小鼠右下肢腋窝皮下,每只 0.1 ml,每天监测小鼠体重、摄食量、活动状态、毛发等一般状态的变化。第 12 天小鼠开始出现颈背部皮毛毛糙、毛色发暗,活动迟缓,消瘦、去瘤体重减少 10% 以上,摄食、饮水量明显减少,提示小鼠进入恶病质状态。

2.2 动物分组及给药

采用随机数字表法将小鼠分为健康组、肺癌组、消岩汤组及孕酮组各 10 只。正式接种后第 13 天开始灌胃给药,消岩汤组给予消岩汤水煎剂 1 ml,孕酮组给予醋酸甲地孕酮液 1 ml,健康组及肺癌组给予等量生理盐水,各组每日灌胃 1 次,共 12 d。

2.3 观察指标

2.3.1 一般状况 所有动物给予自由饮食,每天定时观察小鼠反应性、体毛、大便、进食量及体重。肿瘤体积的估计^[4]采用以下公式: $V=ab^2/2$ (a、b 分别为瘤块的长和宽)。血清瘦素含量采用 ELISA 法测定^[4]。

2.3.2 瘤重及血清瘦素水平测定 灌胃 12 d 后各组小鼠禁食不禁水 12 h 开始取血,即处死小鼠前采用摘除眼球法收集全血,分离血清并置于 -20°C 备用。完整剥离瘤体,称重后用甲醛浸泡。

2.3.3 瘤组织中 p53 分子及 C-myc 蛋白表达 采

用免疫组织化学法^[4]检测。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计学软件,计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组小鼠反应性、体毛、大便及进食量比较

表 1 示,肺癌组小鼠反应性及体毛情况恶化最明显,消岩汤组、孕酮组小鼠反应性、大便及体毛较肺癌组改善明显。消岩汤组、孕酮组进食量较肺癌组明显增加($P<0.01$),其中消岩汤组进食量多于孕酮组($P<0.05$)。3 组进食量均低于健康组($P<0.01$)。

表 1 各组小鼠一般状况比较

组别	鼠数	死亡数	反应性	体毛	大便	进食量(g/d)
健康组	10	0	灵敏	柔顺浓密,有光泽	成形	3.55 ± 0.80
肺癌组	10	0	迟钝	干枯,无光泽	变软	$2.03\pm 0.75^{\Delta}$
孕酮组	10	0	较迟钝	少量脱落,无光泽	稀便	$2.77\pm 0.36^{\Delta\Delta}$
消岩汤组	10	0	较灵敏	较柔顺,稍有光泽	成形	$2.85\pm 0.28^{\Delta\Delta}$

注:与肺癌组比较, $\Delta P<0.01$;与孕酮组比较, $*P<0.05$;与健康组比较, $\Delta P<0.05$

3.2 各组小鼠给药前后体重比较

表 2 示,给药前各组小鼠体重差异无统计学意义($P>0.05$)。给药后肺癌组、消岩汤组、孕酮组小鼠体重均比健康组小鼠体重减轻($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 2 各组小鼠给药前后体重比较(g, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	给药前	给药后
健康组	10	21.44 ± 0.98	23.18 ± 0.98
肺癌组	10	19.85 ± 0.73	$18.16\pm 0.71^{\Delta\Delta}$
孕酮组	10	19.72 ± 0.80	$20.18\pm 0.82^{\Delta}$
消岩汤组	10	19.88 ± 0.84	$20.77\pm 0.90^{\Delta}$

注:与健康组同时间比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3.3 各组小鼠瘤重比较

接种肿瘤后,肺癌组、消岩汤组、孕酮组小鼠肿瘤从第 5 天开始可触及,肿瘤体积从第 8 天开始增大迅速。给药 12 天期间消岩汤组及孕酮组较肺癌组肿瘤增长缓慢,至给药第 12 天,消岩汤组、孕酮组瘤重明显较肺癌组轻($P<0.01$),消岩汤组瘤重低于孕酮组($P<0.01$)。

3.4 各组小鼠血清瘦素水平比较

表 3 示,肺癌组、消岩汤组、孕酮组血清瘦素水平均低于健康组,其中肺癌组、孕酮组与健康组比较下降明显($P<0.05$),而孕酮组低于消岩汤组($P<0.05$)。

表3 各组小鼠瘤重及血清瘦素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	瘤重(g)	瘦素水平($\mu\text{g/ml}$)
健康组	10	—	40.90 $\pm$ 3.32
肺癌组	10	1.16 $\pm$ 0.16	34.62 $\pm$ 2.71
孕酮组	10	0.62 $\pm$ 0.12**	35.13 $\pm$ 2.43*
消岩汤组	10	0.33 $\pm$ 0.09*** $\Delta\Delta$	39.91 $\pm$ 4.90 Δ

注:与肺癌组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与孕酮汤组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

3.5 肺癌组、消岩汤组、孕酮组小鼠 p53 分子及 C-myc 蛋白表达的比较

表4示,消岩汤组、孕酮组的 p53 及 C-myc 阳性表达水平与肺癌组比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。消岩汤组与孕酮组比较差异亦有统计学意义($P<0.01$)。

表4 肺癌组、消岩汤组、孕酮组小鼠 p53 分子及 C-myc 蛋白阳性表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	p53	C-myc 蛋白
肺癌组	10	51798.13 $\pm$ 825.75	629831.47 $\pm$ 8379.65
孕酮组	10	123739.71 $\pm$ 10796.17 Δ	449879.36 $\pm$ 10561.37 Δ
消岩汤组	10	344982.69 $\pm$ 13957.28 Δ *	135116.73 $\pm$ 5363.84 Δ *

注:与肺癌组比较, $\Delta P<0.01$;与孕酮组比较,* $P<0.01$

4 讨论

肺癌恶病质根据其临床表现归属于“虚劳”范畴。《素问·玉机真藏论》有“大骨枯槁,大肉陷下,胸中气满,喘息不便,其气动形,期六月死”的记载,就与肺癌恶病质的症状极其相似。宋代《仁斋直指附遗方》首次记载了癌:“癌者,上高下深,岩石之状,毒根深藏。”邪毒亢盛,日久化热,易耗气伤津,消灼人体阴液,毒瘀互结,气阴久虚不复,机体无以充养,终成虚劳。

目前研究证实^[5-7],瘦素在多种肿瘤组织及细胞中存在着过度表达,与肿瘤的发生、发展过程密切相关。抑癌基因 p53 常被称为“细胞的看门人”或是“基因组卫士”,抑癌基因中的 p53 基因的缺失、突变、灭活在肺癌的发生和发展过程中起主要作用^[8]。C-myc 基因是 1982 年 Neel 等在禽类骨髓瘤病毒 MC29 中发现的一种癌基因。近年来研究表明,C-myc 基因与许多恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[9]。

目前肺癌治疗多以扶正为主^[10-12],我们根据多年临床经验结合恶病质发病机理,认为治疗上应扶正解毒祛瘀,重视补益脾胃。张元素认为“盖积聚癥瘕,必由元气不足,不能运行而致之。欲其消散,必借脾胃气旺,能渐渐消磨开散,以收平复之功”。肺癌恶病质之为病,必有肺虚,虚则补其母,故培土生

金,母壮子健,辅以解毒祛瘀之品以驱邪,方能标本共治。消岩汤即据此法制成,本方使用黄芪、太子参等益气健脾,补肺养阴,姜黄活血祛瘀,白花蛇舌草等清热解毒,诸药相伍,共奏扶正解毒祛瘀之功效。

本研究显示,中药消岩汤可以改善肺癌恶病质小鼠食欲、增加体重、改善机体机能、升高外周血清中瘦素受体水平,并可以促进 p53 的表达、抑制 C-myc 的表达,从而对于肿瘤的生长起到抑制作用。

参考文献

- [1] Law son DH, Richmond A, Nixon DW. Cachexia annual review of nutrition[J]. Ann Rev Nutr, 2006, 2(12): 277-279.
- [2] Zhang Y, Proenca P, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue[J]. Nature, 1994, 372(6505): 452-452.
- [3] 李同度, 刘爱国, 牛旗. 康莱特抗癌恶病质实验研究[J]. 中国肿瘤临床, 1998, 5(2): 131-133.
- [4] 周岱翰. 临床中医肿瘤学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 132.
- [5] Onmura Y, Aou S, Fukunaga K. Prandial Increases of Leptin and Orexin in the Brain Modulate Spatial Learning and Memory[J]. Neurosci Behav Physiol, 2011, 12(11): 303-310.
- [6] Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus[J]. Nature, 2001, 411(2): 480-484.
- [7] de Backer MW, Brans MA, van Rozen Aj. Suppressor of cytokine signaling 3 knockdown in the mediobasal hypothalamus: counterintuitive effects on energy balance[J]. J Mol Endocrinol, 2010, 45(5): 341-353.
- [8] Flesher DW, Zetterberg A, Zhu JY, et al. over expression of myc causes p53-dependent G2 arrest of nonnal fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(19): 10544-10547.
- [9] 方志文, 牟召霞, 王新艳, 等. p53 与 C-myc 和 cyclinBz 在卵巢上皮性癌组织中的表达及意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(4): 284-286.
- [10] 杨宇飞, 郭东华. 癌症恶病质患者 84 例生存期、生活质量与中医辨证论治关系的回顾性调查[J]. 中国临床康复, 2004, 8(2): 286-287.
- [11] 蔡红兵, 罗荣城, 杨传标, 等. 补中益气汤治疗癌性食欲不振一恶病质综合征 30 例疗效观察[J]. 新中医, 2003, 35(3): 25-26.
- [12] 崔慧娟, 李园, 万冬桂, 等. 参附注射液抗癌恶病质的临床研究[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2005, 12(5): 478-480.

(收稿日期: 2012-07-16; 修回日期: 2012-11-15)

[编辑: 叶晨]