

“慈桃丸”抗肝癌作用的实验研究

徐君东 牛耀文 王雁 王建芳 姜力军 张代钊* (空军北京医院 北京 100081)

肝癌是我国常见的恶性肿瘤,至今仍缺乏有效的治疗药物。中医中药在我国防治肝癌方面有了一定进展。“慈桃丸”是临床常用的治疗肝癌等腹部恶性肿瘤的方剂,我们对此方进行了抗肝癌作用的实验观察,阐明其抗肿瘤作用及机制,为进一步临床应用提供理论依据。

1 材料与方

1.1 动物模型及分组 BALB/c 小鼠(医科院实验动物研究所提供),雄性,20~22g;小鼠肝癌 HepA 细胞株(医科院药物研究所引进)。接种方法:实体瘤为右腋下皮下接种,每只 $1 \times 10^6/0.2\text{ml}$;腹水瘤为腹腔内接种,每只 $5 \times 10^5/0.2\text{ml}$ 。接种后随机分为:对照组、慈桃丸组、喃氟啶组。

1.2 体外实验用人肝癌 BEL-7402 细胞株 (中科院上海细胞生物所),含 10% 小牛血清 RPMI1640 培养液中,5% CO_2 培养箱 37 C 条件下单层贴壁生长,倍增时间约 18~24h。

1.3 药物 慈桃丸水提醇沉剂(方药组成:山慈菇、生核桃仁、鳖甲、莪术、生薏苡仁、女贞子。30g/g),喃氟啶(上海第十二药厂产品,批号 901103),氟脲嘧啶(天津河北制药厂,批号 931118)。

2 观察指标

2.1 体内实验 每组 10 只小鼠,接种瘤株次日给药。慈桃丸水提醇沉剂溶于蒸馏水中,

分 1.5、3.0、6.0g/kg 3 组灌胃;喃氟啶片剂溶于蒸馏水中,150mg/kg 灌胃;对照组灌服蒸馏水。实体瘤模型灌药 15d,16d 处死动物,取瘤称重,计算抑瘤率^[1]。观察存活时间每组 20 只动物,连续灌药 20d,记录每只动物生存时间,并计算存活延长率(T/C)^[2]。

2.2 体外实验 (1)细胞生长抑制法:将 BEL-7402 细胞种植于 6 孔板,每孔 4×10^4 细胞,每组 6 孔,培养 24h 后加药。慈桃丸水提剂以 0.1M PBS(pH7.4)溶解 0.45 μm 滤膜抽滤灭菌。以 RPMI1640 培养液稀释至所需浓度。(2)克隆生成法:BEL-7402 细胞种植于 24 孔板中,每组 6 孔。培养 24h 加药。加药 4d 后倒置显微镜下计数 30 个细胞以上的克隆。(3)³H 胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入实验^[3]:³H-TdR(中科院原子能所),双道液闪烁记数仪(FJ-2010,西安电子仪器厂)。BEL-7402 细胞种植于 96 孔板中,培养 20h,加入无血清培养液,内含 1 μCi ³H-TdR,之后分别加入无血清培养液,慈桃丸水提醇沉剂、氟脲嘧啶,于 37 C 温箱中掺入不同时间后终止掺入。每孔沉淀物抽滤至玻璃纤维滤膜上。液闪记数仪检测放射活性。

3 实验结果

3.1 体内实验结果 见表 1、2。

3.2 体外实验结果 见表 3、4、5。

4 讨论

肝癌属于祖国医学“癥积”范畴,其发病机制是外邪、情志、饮食失节等导致肝郁气滞,

* 中日友好医院中医肿瘤科(100029)

表1 “慈桃丸”对小鼠肝癌 HepA 实体瘤的作用

组别	n	给药剂量		抑瘤率 (%)
		(g/kg)	瘤重(g) $\bar{x} \pm s$	
对照组	10		5.58±1.12	
氟脲嘧啶组	10	0.15	2.86±1.06**	48.8
慈桃丸组	10	1.5	4.88±1.13	12.6
	10	3.0	3.85±1.05*	31.0
	10	6.0	3.15±0.98**	43.6

注:与对照组比* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ (下同)

表2 “慈桃丸”对小鼠肝癌 HepA 腹水型小鼠存活期的影响

组别	n	给药剂量		存活延长率 (T/C)
		(g/kg)	平均存活期(d) $\bar{x} \pm s$	
对照组	20		18.2±1.3	
氟脲嘧啶组	20	0.15	25.3±3.2**	1.39
慈桃丸组	20	1.5	19.1±1.4	1.05
	20	3.0	20.1±1.9	1.10
	20	6.0	26.0±3.0**	1.41

表3 “慈桃丸”对体外人肝癌 BEL-7402 细胞生长影响

组别	n	给药剂量		活细胞数 $\bar{x} \pm s$ (1×10^5)	抑制率 (%)
		慈桃丸 ($\mu\text{g/ml}$)	氟脲嘧啶 ($\mu\text{M/ml}$)		
对照组	6	0	0	5.10±0.87	
氟脲嘧啶组	6	0	2.5	3.90±0.12*	23.53
慈桃丸组	6	25	0	3.92±0.33*	23.14
	6	50	0	2.88±0.35*	43.53

表4 “慈桃丸”对体外人肝癌 BEL-7402 细胞集落形成的影响

组别	n	给药剂量		细胞集落数 (个) $\bar{x} \pm s$	集落形成抑制率 (%)
		慈桃丸 ($\mu\text{g/ml}$)	氟脲嘧啶 ($\mu\text{M/ml}$)		
对照组	6	0	0	28.02±5.12	
氟脲嘧啶组	6	0	2.5	18.64±4.45**	33.47
慈桃丸组	6	25	0	20.61±3.96*	26.45
	6	50	0	18.25±5.20**	34.36

邪毒、瘀血、痰湿互结,久成积聚癥结。中医主张“坚者软之化之,结者行之散之”,软坚散

表5 “慈桃丸”对体外人肝癌 BEL-7402 细胞 DNA 合成的影响

组别	n	给药剂量		$^3\text{H-TdR}$ 4h	掺入率(%)		48h
		慈桃丸 ($\mu\text{g/ml}$)	氟脲嘧啶 ($\mu\text{M/ml}$)		24h	48h	
对照组	6	0	0	100±7.5	100±7.1	100±5.2	
氟脲嘧啶组	6	0	2.5	87±5.6*	61.2±4.5**	39.0±3.8**	
慈桃丸组	6	25	0	102±8.9	98.9±6.5	95.2±8.6	
	6	50	0	100±9.4	76.2±5.3*	63.6±8.8**	

结、活血化瘀是其主要治则。本方的主要治则亦为软坚散结、活血化瘀。方中山慈菇散坚消结;鳖甲泄厥阴,破癥瘕;莪术行气破血、消积止痛。佐以核桃仁、女贞子补肾培本,辅以生薏苡仁健脾渗湿以和中,防祛邪药寒凉伤中。综合本实验结果分析,本方对小鼠实体瘤有抑制作用(表1),能延长腹水瘤小鼠的生存期(表2)。体外结果也表明对人肝癌 BEL-7402 细胞生存有抑制作用(表3、4),对其 DNA 合成亦有一定抑制作用(表5)。本方为我们临床常用的经验方,临床上有一定的效果。中医组方原则较为合理,实验结果也提示有抗肿瘤作用,我们认为有必要进一步研究和应用。

参考文献

- 徐叔云. 理学实验方法学. 北京:人民卫生出版社,1985. 1121~1122
- 李仪奎. 中药药理学. 第二版. 北京:中国中医药出版社,1992. 33~34
- Zhe Ys, et al. Biochem Pharmacol, 1987, 36: 3641

(收稿:1997-05-05)