

海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤生长抑制的机制研究

王业生^{1,2,3}, 杜钢军^{2*}, 孙玲¹, 张亚平², 孙婷², 宋永平³

(1. 郑州大学第一附属医院血液科, 郑州 450000; 2. 河南大学药学院药物研究所, 河南 开封 475004;
3. 河南省肿瘤医院血液科, 郑州 450000)

[摘要] **目的:** 研究海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤生长抑制的机制。**方法:** 将 *N*-甲基亚硝基脲诱导的胸腺淋巴瘤经裸小鼠移植成功后接种到小鼠皮下建立小鼠胸腺淋巴瘤移植模型, 采用近期疗效和远期预后评价抗肿瘤效果。近期疗效, 在模型建立同时用海藻玉壶汤 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig 给药, 每日 1 次, 连续 5 周, 末次给药后次日检测肿瘤大小、肿瘤血流速度、瘤组织黏度、瘤组织基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶抑制物 1 (TIMP-1)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、Fas 含量, 探讨其肿瘤生长抑制机制。远期预后, 将海藻玉壶汤按人等效日剂量加入到小鼠 24 h 量的饮水中, 每日更换 1 次, 直至实验结束, 记录每只小鼠的存活周数。另以治疗肿瘤剂量海藻玉壶汤给小鼠连续灌胃 2 周后分离小鼠血清, 将血清作用于小鼠胚肺成纤维细胞 L929 及小鼠脾淋巴细胞, 检测含药血清对细胞增殖和对 L929 成纤维细胞 I-IV 胶原分泌的影响。**结果:** 近期治疗效果评价, 模型组小鼠瘤重为 $(2.48 \pm 0.42) \text{ g}$, 海藻玉壶汤 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组小鼠瘤重为 $(0.79 \pm 0.48) \text{ g}$, 肿瘤抑制率达 68.1%。远期预后评价, 未治疗荷瘤小鼠中位存活时间为 11 周, 而经海藻玉壶汤治疗的小鼠中位存活时间为 26 周。机制研究发现, 海藻玉壶汤能降低肿瘤血流速度、瘤组织黏度, 降低 TIMP-1、TGF- β_1 、VEGF、bFGF 含量, 升高瘤组织 MMP-9、MMP-2 和 Fas 含量。另外, 海藻玉壶汤含药血清能促进小鼠脾淋巴细胞增殖, 抑制 L929 成纤维细胞增殖及 I-IV 胶原分泌。**结论:** 海藻玉壶汤能阻止小鼠胸腺淋巴瘤生长, 其机制与调节肿瘤微环境中基质降解、细胞凋亡和免疫增强有关。

[关键词] 海藻玉壶汤; 胸腺淋巴瘤; 基质降解; 细胞凋亡; 免疫增强

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0191-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1339.008.html>

[网络出版时间] 2012-11-7 13:39

Study of Haizao Yuhu Decoction on Growth Inhibitory Mechanism for Thymic Lymphoma in Mice

WANG Ye-sheng^{1,2,3}, DU Gang-jun^{2*}, SUN Ling¹, ZHANG Ya-ping², SUN Ting², SONG Yong-ping³

(1. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China;

2. Institute of Pharmacy, Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng 475004, China;

3. Department of Hematology, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effect of Haizao Yuhu decoction (HYD) on growth inhibitory mechanism for thymic lymphoma in mice. **Method:** The implantation model of thymic lymphoma in mice was established by subcutaneous injection of thymic lymphoma cells from nude mouse xenograft tumor induced by *N*-methyl nitroso urea (MNU). Antitumor of HYD was evaluated by recent curative effect and forward prognosis. In recent curative effect, HYD $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ was used to treat mouse once daily for five weeks. Next day after the end of dosage, antitumor of HYD and its growth inhibitory mechanism for thymic lymphoma were investigated by assay

[收稿日期] 20120704(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173094); 河南省科技厅重点攻关项目(112101310308); 河南大学省部共建项目(SBGJ090704); 河南省高校青年骨干教师项目(2010GGJS-025)

[第一作者] 王业生, 博士研究生, 从事血液肿瘤的基础与临床研究, E-mail: wangyesheng1786@126.com

[通讯作者] * 杜钢军, 教授, Tel: 15037883506, E-mail: dgjlhh@163.com

of tumor size, blood flow velocity, tissue viscosity, matrix metalloproteinases-2 (MMP-2), matrix metalloproteinases-9 (MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), and Fas. In forward prognosis, HYD po at equivalent dose in drinking water was used to treat mouse once daily until the end experiment. Life span was analyzed. In addition, the medicated serum from mice received intragastric HYD for two weeks was prepared and used to treat mouse embryonic lung fibroblast (L929 cells) and spleen lymphocyte and observe its effect on cell proliferation and collagen I-IV secretion in L929 cells. **Result:** In curative recent effect, the tumor weight in model group is (2.48 ± 0.42) g while it was (0.79 ± 0.48) g in HYD group, tumor inhibitory rate of HYD was 68.1%. In forward prognosis, median life span in model group and HYD group were 11 weeks and 26 weeks respectively. In mechanism study, HYD could reduce blood flow velocity, tissue viscosity, TIMP-1, TGF- β_1 , VEGF and bFGF, increase MMP-2, MMP-9 and Fas. In addition, HYD could promote spleen lymphocyte proliferation and inhibit proliferation and collagen I-IV secretion in L929 cells. **Conclusion:** HYD could suppress growth and metastasis of thymic lymphoma in mice, its growth inhibitory mechanism may be associated with matrix degradation, cell apoptosis and immune enhancement in tumor microenvironment.

[Key words] Haizao Yuhu decoction; thymic lymphoma; matrix degradation; cell apoptosis; immune enhancement

恶性淋巴瘤是一类包含不同临床表现和分子生物学特征的肿瘤,其发病率有逐年增高的趋势^[1]。传统的肿瘤治疗方法是以肿瘤细胞为攻击靶的细胞毒疗法,选择性较低,对机体损害严重^[2]。随着人们对肿瘤认识的深入,靶向微环境治疗肿瘤成为肿瘤治疗研究的转折^[3]。海藻玉壶汤始载于《外科正宗》,方由海藻、贝母、陈皮、青皮、昆布、海带、川芎、当归、法半夏、连翘、甘草、独活 12 味药组成,是中草药十八反下的配伍禁忌名方,专为癭病而设^[4]。当代一些中医人士用海藻玉壶汤治疗以结块、增生或肿块为主要临床特征的疾病,如乳腺增生、瘰疬、前列腺肥大及某些皮下肿瘤等取得了良好效果^[5-6]。本实验通过小鼠胸腺淋巴瘤移植模型研究海藻玉壶汤对肿瘤的生长抑制机制,以期对肿瘤的微环境治疗提供依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄兼用,体重 18~22 g,河南省医学实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(豫)2010-1-0002。裸小鼠,雌性,体重 18~22 g,北京维通利华实验动物有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2010-0001。

1.2 细胞 L929 小鼠胚肺成纤维细胞,来自中国科学院上海细胞库,本实验室保存,生长于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基中。

1.3 中药制备 海藻玉壶汤原药材均购自开封市天济堂药店,经河南大学药学院中药鉴定学丛悦教授鉴定,由本校药物研究所制剂室制备。将原药材

按海藻 30 g,昆布 15 g,贝母 15 g,法半夏 10 g,独活 10 g,青皮 5 g,陈皮 10 g,当归 10 g,川芎 10 g,连翘 10 g,甘草 10 g,海带 5 g 配伍后加 10 倍水浸泡过夜,煎煮 3 次,每次 30 min,过滤,浓缩至每 1 mL 含生药 1 g 的水煮液,置 -20 °C 冰箱保存备用。

海藻玉壶汤含药血清的制备:按海藻玉壶汤人等效日剂量以原药材计 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给小鼠灌胃,每日 1 次,连续 2 周。末次给药后 1 h 采血分离血清,混匀,0.22 μm 滤器过滤除菌,56 °C 灭活 30 min, -20 °C 保存,备用。

1.4 试剂 ConA、噻唑蓝(MTT)、胰蛋白酶、N-甲基亚硝基脲(MNU,均为 Sigma 公司产品),转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) ELISA 试剂盒(CSB-E04727r)、组织金属蛋白酶抑制物(TIMP-1) ELISA 试剂盒(A2063)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9) ELISA 试剂盒(A2077)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2) ELISA 试剂盒(A2071)、I-IV 胶原 ELISA 试剂盒(C3863)、血管内皮生长因子(VEGF) ELISA 试剂盒(B2147)、碱性成纤维细胞生长因(bFGF) ELISA 试剂盒(C5612)、Fas ELISA 试剂盒(C6751)(均为 R&D 公司进口分装),RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清(杭州四季青生物工程中心)。

1.5 仪器 UV-2000 型紫外-可见光分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司),800 型酶标仪(Bio-Tek),LGR16-W 型高速冷冻离心机(北京京立离心机有限公司),NDJ-5S 型旋转黏度计(上海方瑞仪器公司),微循环观测分析系统(成都泰盟科技有限公

司),DT-2100型多普勒血流探测仪(广州龙之杰科技有限公司);毛细管黏度计(上海申谊玻璃制品有限公司)。

2 方法

2.1 小鼠胸腺淋巴瘤移植模型的建立 挑选 N -甲基亚硝基脲诱导的直径 >5 mm 的小鼠胸腺淋巴瘤,用无菌生理盐水按瘤组织比生理盐水 1:3 (M/V) 制备瘤细胞悬液,以 0.2 mL/只接种于裸小鼠皮下建立肿瘤裸小鼠移植模型。取裸小鼠移植模型传代成功的荷瘤裸小鼠瘤组织,用无菌生理盐水按瘤组织:生理盐水 1:4 (M/V) 制备瘤细胞悬液,以 0.2 mL/只接种于昆明小鼠皮下建立小鼠胸腺淋巴瘤移植模型。

2.2 药物治疗方案 将 60 只胸腺淋巴瘤移植模型昆明种小鼠随机分为 2 组,即模型组和治疗组,每组 30 只,另设 30 只正常小鼠平行饲养为正常对照。采用近期疗效和远期预后评价抗肿瘤效果。

近期疗效:治疗组于肿瘤接种后次日按海藻玉壶汤人等效日剂量以原药材计 $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给药,每日 1 次,模型组和正常组灌胃等容积生理盐水,连续给药 5 周,其间第 2 周开始每周用游标卡测量肿瘤直径 1 次,按长径 \times 宽径 \times 宽径/2 计算肿瘤体积。末次给药后次日每组取小鼠 10 只,用多普勒血流探测仪检测肿瘤血流速度,剥离肿瘤,称重,按瘤组织:生理盐水 1:4 (M/V) 研磨瘤组织, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清,用毛细管黏度计检测黏度,用 ELISA 试剂盒检测 TGF- β_1 , TIMP-1, MMP-2, MMP-9, VEGF, bFGF 和 Fas。正常小鼠检测肿瘤接种同样部位正常肌肉组织作对照。

远期预后:剩余每组 20 只小鼠,治疗组根据小鼠平均日饮水量将海藻玉壶汤煎煮液按人等效日剂量加入到小鼠 24 h 量的饮水中,每日更换 1 次,直至实验结束,模型组和正常组正常饮水,记录每只小鼠的存活周数。

2.3 海藻玉壶汤含药血清对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 参照文献[7],取小鼠处死,剖腹取脾,与培养皿内加 Hank's 液将其研磨成细胞匀浆。以 0.83% Tris-NHCl 溶液溶解红细胞后,用含体积分数为 10% 胎牛血清和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ConA 的 RPMI 1640 培养液(内含青霉素、链霉素各 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 调成细胞密度 $2\times 10^6/\text{mL}$,于 96 孔培养板上每孔加细胞悬液 $180\ \mu\text{L}$ 及不同稀释倍数(0,1,2,4,8)的海藻玉壶汤含药血清 $20\ \mu\text{L}/\text{孔}$,每个浓度 6 个复孔,5% CO_2 培养箱内 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 72 h。培养结束后,

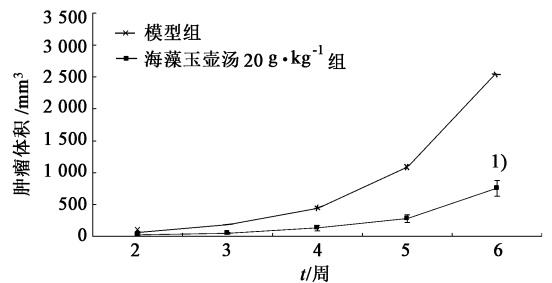
每孔加 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MTT 溶液 $20\ \mu\text{L}$,继续培养 4 h,吸弃培养基,每孔加 DMSO $100\ \mu\text{L}$,振荡 2 min,于酶标仪 570 nm 测吸光度(A),以加药孔 A 与未加药孔 A 的比值为细胞增殖率,比较海藻玉壶汤含药血清对 L929 细胞生长的影响。

2.4 海藻玉壶汤含药血清对 L929 小鼠胚肺成纤维细胞增殖及 I-IV 胶原分泌的影响 参照文献[8],将 L929 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液调细胞密度 $1\times 10^5/\text{mL}$,接种于 96 孔板 $180\ \mu\text{L}/\text{孔}$,培养 24 h。补充不同稀释倍数(0,1,2)的海藻玉壶汤含药血清 $20\ \mu\text{L}/\text{孔}$,每孔 6 个复孔。培养 72 h 后收集培养基上清,用 I-IV 胶原 ELISA 试剂盒测定培养上清中的 I-IV 胶原;细胞每孔加 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MTT 溶液 $100\ \mu\text{L}$,继续培养 4 h,吸弃 MTT 溶液,每孔加 DMSO $100\ \mu\text{L}$,振荡 2 min,于酶标仪 570 nm 测 A,以 2.3 方法计算细胞增殖率,比较海藻玉壶汤含药血清对 L929 细胞生长的影响。

2.5 统计方法 实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;生存时间采用 Kaplan-Meier 存活分析,采用 SPSS 16.0 软件分析, $P<0.05$ 表示有显著性差异。

3 结果

3.1 海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤皮下移植肿瘤的影响 胸腺淋巴瘤皮下移植肿瘤小鼠经海藻玉壶汤治疗后出现肿瘤生长明显减缓现象(图 1),与同期未治疗荷瘤小鼠比较,近期治疗效果评价,模型组小鼠瘤重为 $(2.48\pm 0.42)\text{ g}$,海藻玉壶汤组小鼠瘤重为 $(0.79\pm 0.48)\text{ g}$,肿瘤抑制率达 68.1%。远期预后评价,未治疗荷瘤小鼠中位存活时间为 11 周,而经海藻玉壶汤治疗的小鼠中位存活时间为 26 周,比未治疗小鼠存活时间明显延长(图 2)。死亡小鼠经解剖检查未见有非接种部位肿瘤转移现象。



与模型组比较¹⁾ $P<0.01$

图 1 海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤生长曲线的影响($\bar{x}\pm s, n=30$)

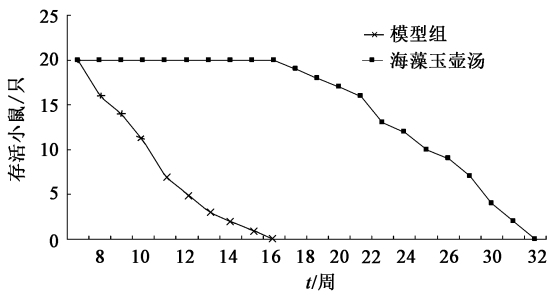


图 2 海藻玉壶汤胸腺淋巴瘤小鼠存活曲线的影响

3.2 海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤微环境的影响

海藻玉壶汤能降低肿瘤血流速度、瘤组织黏度、TIMP-1, TGF- β_1 , VEGF, bFGF 含量, 升高瘤组织 MMP-9, MMP-2 和 Fas 含量。见表 1。

3.3 海藻玉壶汤含药血清对细胞增殖和 L929 细胞 I-IV 胶原分泌的影响

海藻玉壶汤含药血清能促进小鼠脾淋巴细胞增殖, 抑制 L929 成纤维细胞增殖及 I-IV 胶原分泌(表 2~3)。

表 1 海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤微环境的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	血流速度/ $cm \cdot s^{-1}$	组织黏度/厘斯	TIMP-1/ $\mu g \cdot L^{-1}$	MMP-9/ $\mu g \cdot L^{-1}$	MMP-2/ $\mu g \cdot L^{-1}$
正常	-	2.5 \pm 0.5	6.6 \pm 1.1	9.2 \pm 1.5	87 \pm 11	492 \pm 62
模型	-	13.4 \pm 3.8 ¹⁾	15.2 \pm 1.5 ¹⁾	5.1 \pm 1.6 ¹⁾	134 \pm 25 ¹⁾	664 \pm 83 ¹⁾
海藻玉壶汤	20	6.2 \pm 1.3 ²⁾	10.4 \pm 1.8 ²⁾	2.8 \pm 1.1 ²⁾	187 \pm 32 ²⁾	805 \pm 91 ²⁾

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TGF- β_1 / $\mu g \cdot L$	VEGF/ $ng \cdot L$	bFGF/ $ng \cdot L$	Fas/ $\mu g \cdot L$
正常	-	42.3 \pm 5.5	88 \pm 12	36.1 \pm 4.8	12.1 \pm 1.6
模型	-	145.2 \pm 21.4 ¹⁾	412 \pm 68 ¹⁾	91.4 \pm 13.2 ¹⁾	1.7 \pm 0.5 ¹⁾
海藻玉壶汤	20	78.1 \pm 9.5 ²⁾	153 \pm 41 ²⁾	58.5 \pm 8.3 ²⁾	22.3 \pm 3.4 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$,与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 海藻玉壶汤含药血清对细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	血清容积/ $\%$	脾淋巴细胞/ Δ	L929 细胞/ Δ
对照	-	0.328 \pm 0.041	0.468 \pm 0.045
海藻玉壶汤	10.0	0.652 \pm 0.058 ¹⁾	0.152 \pm 0.043 ¹⁾
	5.0	0.548 \pm 0.055 ¹⁾	0.223 \pm 0.048 ¹⁾
	2.50	0.435 \pm 0.052 ¹⁾	0.295 \pm 0.051 ¹⁾
	1.67	0.398 \pm 0.046 ²⁾	0.376 \pm 0.052 ²⁾
	1.25	0.374 \pm 0.045	0.449 \pm 0.053

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

4 讨论

以前人类大部分治疗癌症的努力都是只着眼于肿瘤细胞本身,但是在我们认识到肿瘤微环境对整个肿瘤的发生与发展的重要影响之后,治疗肿瘤的理念正在逐步改变^[9]。组织缺氧和酸中毒、间质高压形成,大量生长因子和蛋白水解酶的产生及免疫炎症反应等构成了肿瘤组织代谢环境的生物学特

征,这种特性对于肿瘤的增殖、侵袭、迁移、黏附能力及新生血管的形成具有重要影响^[10]。随着相关研究的进展,抗癌中药的使用已成为中医肿瘤临床重要的治疗手段^[11]。将现代肿瘤微环境学说与传统中医肿瘤治疗理论相结合,探索肿瘤的发病机制和治疗措施将为肿瘤的诊断和治疗提供新途径。为了尽可能保持自发性肿瘤的生物特性,我们采用将致癌剂 MNU 诱导的胸腺淋巴瘤经裸小鼠移植成功后接种到小鼠皮下建立小鼠胸腺淋巴瘤移植模型。我们的研究表明,这种动物模型肿瘤发展速度适中,内生血管丰富,组织黏度和纤维化较高,荷瘤小鼠平均可以存活 11 周,适合评价传统中医理论指导下的肿瘤治疗药物。

中药“多成分,多靶点”的作用特点,得到学术界普遍认可^[12]。海藻玉壶汤是化痰软坚名方,在本研究中对建立的小鼠胸腺淋巴瘤生长有显著抑制作

表 3 海藻玉壶汤含药血清对 L929 细胞 I-IV 胶原分泌的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	血清容积/ $\%$	collagen I	collagen II	collagen III	collagen IV
对照	-	95.2 \pm 11.2	1.8 \pm 0.6	2.5 \pm 0.8	232.3 \pm 37.2
海藻玉壶汤	10.0	18.1 \pm 3.5 ¹⁾	0.8 \pm 0.5 ²⁾	1.2 \pm 0.7 ²⁾	51.2 \pm 10.4 ¹⁾
	5.0	32.4 \pm 5.3 ¹⁾	0.9 \pm 0.4 ²⁾	1.3 \pm 0.6 ²⁾	96.5 \pm 18.3 ¹⁾
	2.50	55.8 \pm 8.2 ¹⁾	1.0 \pm 0.5	1.5 \pm 0.7	165.4 \pm 29.6 ¹⁾

用($P < 0.01$),能降低肿瘤血流速度和瘤组织黏度,对组织纤维化主要调控因子 TGF- β_1 ^[13]、新生血管形成调控因子 VEGF 和 bFGF^[14] 及与细胞外基质沉积正相关的 TIMP-1^[15] 均有显著抑制作用。相反,海藻玉壶汤对降解细胞外基质的 MMP-9 和 MMP-2^[16],以及与细胞凋亡相关的 Fas 蛋白^[17] 却有显著升高作用。这些结果提示海藻玉壶汤能阻止瘤内纤维化从而软化肿瘤,并能抑制瘤内新生血管形成、阻止瘤内细胞外基质沉积、诱导肿瘤细胞凋亡,这也正是海藻玉壶汤化痰软坚治疗肿瘤的多靶点基础。

为了更科学的评价海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤治疗的效果和优势,我们在近期疗效基础上进一步考察了海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤的远期预后。因远期预后主要观察荷瘤小鼠的存活时间,试验周期长达 32 周,如果每天灌胃给药势必给动物带来认为损伤影响治疗评价,故在此过程中将动物给药方式由近期疗效评价中使用的灌胃给药改为将药物加入到动物饮水中,虽然剂量不很准确,长期给药也能确保动物达日给药剂量达到与灌胃给药日剂量相当。本实验结果表明,胸腺淋巴瘤小鼠长期服用海藻玉壶汤有显著生命延长作用,也进一步肯定了海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤的治疗效果。

在中药复方药理研究中,由于中药成分众多,中药复方配伍更是复杂多变,制约着体外研究的进行。中药血清药理学是近年来逐渐发展起来的研究中药药效较为科学的一种方法,为中药作用机制和物质基础的深入研究提供了一种新思路和新方法^[18]。本研究为了进一步探索海藻玉壶汤对小鼠胸腺淋巴瘤的治疗机制,采用了血清药理学评价方法观察了海藻玉壶汤含药血清对体外细胞增殖和 L929 细胞 I-IV 胶原分泌的影响。结果表明海藻玉壶汤含药血清能促进小鼠脾淋巴细胞增殖,抑制 L929 成纤维细胞增殖及 I-IV 胶原分泌。结合上述体内实验结果,我们认为海藻玉壶汤的阻止肿瘤生长作用主要是通过阻止瘤内纤维化、抑制瘤内新生血管形成、阻止瘤内细胞外基质沉积、诱导肿瘤细胞凋亡和增强机体免疫功能,从而软化和缩小肿瘤实现的。

[参考文献]

[1] Jen K Y, Song I Y, Banta K L, et al. Sequential mutations in notch1, fbw7, and tp53 in radiation-

induced mouse thymic lymphomas [J]. Blood, 2012, 19(3):805.

- [2] 董超,张天禹,谭宁. 肿瘤的微环境疗法[J]. 医学综述, 2010, 16(12): 1804.
- [3] 杜钢军,时小燕. 治疗癌症的新途径:靶向肿瘤微环境[J]. 国际药学研究杂志,2011,38(5):336.
- [4] 张晓东. 海藻玉壶汤临床治验 4 则[J]. 江苏中医药, 2011,43(5):64.
- [5] 侯钧宝,宋秀梅. 海藻玉壶汤治疗疮积举隅[J]. 新中医,1995(2):24.
- [6] 戴明文. 海藻玉壶汤治瘤[J]. 四川中医, 1988, (7):40.
- [7] 盛艳梅,谢兴亮,韩丽,等. 3 个厂家来源黄芪皂苷提取物对淋巴细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):98.
- [8] 吕芹,卞华,陈志国,等. 温阳化浊通络方含药血清对硬皮病成纤维细胞胶原分泌和 TGF- β_1 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):184.
- [9] 黄建,王燕,傅智勇,等. 应当重视肿瘤微环境中外因的研究[J]. 医学与哲学,2009,30(1):60.
- [10] 郜明,吴家明,陆茵. 肿瘤微环境与肿瘤的恶变[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(5):412.
- [11] 杜琴,胡兵,沈克平. 抗癌中药配伍研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(13):232.
- [12] 陈晓萌,陈畅,李德凤,等. 中药有效成分辨识的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):249.
- [13] 伍朝君,朱舟,邓志刚. 八味柔肝颗粒对肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β_1 , α -SMA 及 TIMP-1 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):217.
- [14] 陈梅,邱晓星,彭清华,等. 蛭螭提取物对兔脉络膜新生血管 VEGF 和 bFGF 表达的影响[J]. 国际眼科杂志,2008,8(12):2445.
- [15] 孙妩弋,桂双英,吴丽,等. 芍药多苷对肝纤维化大鼠肝脏星状细胞基质金属蛋白酶 13 及组织金属蛋白酶抑制因子 1 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010,35(11):1447.
- [16] 张金玲,刘新月,邹萍. 甘草次酸对 K562 细胞基质金属蛋白酶 MMP-2 MMP-9 表达的影响[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(8):613.
- [17] 孟子卜,柴文成. 铜绿假单胞菌上清液诱导 J774 细胞凋亡过程中 Fas 蛋白的表达[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(1): 147.
- [18] 黄臣虎,陆茵,高晓君,等. 中药血清药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):266.

[责任编辑 聂淑琴]