

新疆大枣的抗肿瘤作用

朱虎虎^{1*}, 玉苏甫·吐尔逊², 斯坎德尔·白克力³

- (1. 新疆医科大学医学实验动物中心, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011;
3. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的:**研究新疆大枣抗肿瘤作用。**方法:**ICR小鼠随机分为模型组、环磷酰胺(CTX)组、25%大枣汁组、50%大枣汁组、100%大枣汁组、CTX+100%大枣汁组,每组10只。右前肢腋窝皮下接种S180小鼠肉瘤细胞,24h后连续给药(大枣汁灌胃,20 mL·kg⁻¹·d⁻¹,CTX腹腔注射,50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)14d后,测定瘤重、抑瘤率、胸腺和脾脏脏器指数,外周血象、血清白介素-2(IL-2)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、生存时间和生命延长率。**结果:**与模型组比较,CTX组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组瘤重、胸腺、脾脏指数明显降低;与CTX组比较,50%大枣汁、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组胸腺、脾脏指数明显升高;与模型组比较,CTX组白细胞数(WBC)、血小板计数(PLT)明显降低,100%大枣汁组RBC与WBC明显升高;与CTX组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组WBC与PLT明显升高;与模型组比较,CTX组的IL-2和TNF-α水平明显降低;与CTX组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组IL-2和TNF-α明显升高;与模型组比较,50%大枣汁组、100%大枣汁组和CTX+100%大枣汁组生存时间明显延长;与CTX组相比较,CTX+100%大枣汁组生存时间明显延长。**结论:**新疆大枣对荷瘤小鼠体内肿瘤细胞的增殖有明显的抑制作用。

[关键词] 新疆大枣; 抗肿瘤; 生命延长率; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0188-04

Research on Anti-cancer Effect of Xinjiang Jujube

ZHU Hu-hu^{1*}, YU Sup-Tursun², Skandar-Bakeri³

- (1. Experimental Animal Center, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;
2. Department of Uighur medicine, Xinjiang Medical University. Urumqi 830011, China;
3. College of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-cancer effect of Xinjiang Jujube. **Method:** ICR mice were randomly divided into model group, cyclophosphamide (CTX) group, 25% jujube juice group, 50% jujube juice

[收稿日期] 20111222(017)

[基金项目] 新疆医科大学研究生创新基金项目(30525023)

[通讯作者] *朱虎虎,本科,中级实验师,从事中草药药理药效研究,E-mail:zh0719@163.com

- [9] Fans H, Leenen H, Rosel Y N. Isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: role of circulatory versus cardiac rennin-angiotensin system [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281(6):H2410.
- [10] Groenning B A, Nilsson J C, Sondergaard L, et al. Evaluation of impaired left ventricular ejection fraction and increased dimensions by multiple neurohumoral plasma concentrations[J]. Eur J Heart Fail, 2001, 3(6):699.
- [11] Lerman A, Gibbons R J. Circulating N-term ineral atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction [J]. Lancet, 1993, 341(8853):1105.
- [12] 郇旦明,蒋蓝英,付仲颖,等.右归丸对合并亚临床甲状腺功能减退老年慢性心力衰竭患者的影响[J].中华中医药学刊,2010,28(5):1108.
- [13] 刘欣,兰金美,李冬梅.金匮肾气丸对肾虚小鼠血浆内皮素一氧化氮含量的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(3):186.

[责任编辑 聂淑琴]

group, 100% jujube juice group, CTX + 100% jujube juice group ($n = 10$). Right forelimb axillary subcutaneous inoculation of S180 mouse sarcoma cells 24 h after administration (jujube juice orally $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, CTX intraperitoneal injection of $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 14 d after the determination of tumor weight inhibition rate, index of thymus and spleen, organs, peripheral blood, serum interleukin-2 (IL-2) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), the survival time and life prolongation rate. **Result:** Compared with model group, the CTX group, 100% jujube juice group and the CTX + 100% jujube juice group tumor weight, thymus, spleen index was significantly reduced; compared with the CTX group, 50% jujube juice group, 100% jujube juice group and the CTX + 100% jujube juice group, thymus, spleen index was significantly increased; compared with model group, White blood cell count (WBC), platelet count (PLT), the CTX group decreased significantly, 100% jujube juice group, RBC and WBC significantly increased; compared with the CTX group, 50% group of jujube juice, jujube juice group of 100% and CTX + 100% jujube juice group, WBC and PLT was significantly increased; compared with model group, the CTX group of IL-2 and TNF- α levels decreased significantly; compared with the CTX group, 50% jujube juice group, 100% jujube juice group and CTX + 100% jujube juice group IL-2 and TNF- α significantly increased; compared with model group, 50% jujube juice group, 100% jujube juice group and CTX + 100% jujube juice group significantly prolonged the survival time; compared with the CTX group, CTX + 100% jujube juice group significantly prolonged survival time. **Conclusion:** Xinjiang jujube can significantly inhibit the growth of tumor cells in the mice.

[**Key words**] Xinjiang jujube; anti-cancer; rate of life extension; immune function

新疆大枣因日照时间长、温差大等独特的生长环境而以含糖量高闻名中外。大枣,为鼠李科枣属植物的果实。大枣作为常用中药,历史悠久,有补中益气、养血安神和缓和药性的特性^[1]。多项研究报告,大枣中多糖有免疫活性和抗肿瘤活性^[2-3]。因此,研究新疆大枣的抗肿瘤作用,具有重要的现实意义。本试验通过研究大枣对肿瘤的抑制作用,为更好地开发利用新疆的大枣资源提供实验依据。

1 材料

1.1 瘤株与动物 小鼠 S180 细胞株由中国科学院上海细胞生物研究所细胞库提供。ICR 种小鼠,雄性,体重(18.0 ~ 22.0)g,由新疆医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(新)2003-0001。

1.2 药物与试剂 哈密大枣,经新疆医科大学天然药物教研室邢文斌老师鉴定为鼠李科枣属哈密大枣种(*Zizi phujubia* Mill),产地新疆哈密,环磷酰胺(cyclophors phamide, CTX),江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 20080902,小鼠白介素-2(IL-2)测定试剂盒(ADL 公司,批号 20100313),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)测定试剂盒(ADL 公司,批号 20100506)。

1.3 仪器与设备 Heraeus 型高速冷冻离心机(德国 Kendro 公司),Lambda 25 型紫外-可见分光光度计(美国 PerkinElmer 公司),AL204 型分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。T540 库尔特血球仪(贝克曼公司,美国),全自动显微镜(Motic-

BA600Mot,厦门),BS-1105 型电子天平(北京赛多科斯天平有限公司)。

2 方法

2.1 新疆哈密大枣汁制备 精选新疆哈密大枣→清洗→去核→烘干→粉碎→抽提→过滤→减压浓缩,浓缩成含原枣 25%,50%,100%的浓缩液,经灭菌处理后封装,于 4 °C 冰箱中贮存备用^[4]。

2.2 新疆大枣对 S180 肉瘤生长的抑制作用和脏器指数的影响

2.2.1 分组与给药 把 ICR 小鼠随机分为 6 组,分别为模型组、CTX 组、25% 大枣汁组、50% 大枣汁组、100% 大枣汁组、CTX + 100% 大枣汁组,每组 10 只。将 S180 小鼠肉瘤细胞 ip 传代,7 d 后取出小鼠腹水,生理盐水调整密度为 1×10^7 个/mL 后于小鼠右前肢腋窝皮下接种,0.2 mL/只。24 h 后连续给药 14 d(大枣汁灌胃, $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,CTX 腹腔注射, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),末次给药 24 h 后,给小鼠称重,摘眼球取血 2 份,1 份 EDTA 抗凝,1 份 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 制备血清, -20 °C 保存。颈椎脱臼处死小鼠,取出瘤块,用滤纸吸净表面液体,称瘤块质量,计算抑瘤率。并且分离胸腺和脾脏,滤纸吸去表面残血,称重,计算胸腺和脾脏指数。按以下公式计算肿瘤抑制率和脏器指数。

$$\text{肿瘤抑制率} = (\text{模型组的瘤质量} - \text{治疗组的瘤质量}) / \text{模型组瘤质量} \times 100\%$$

脏器指数 = 脏器质量 (mg) / 体重 (g)

2.2.2 对外周血象的影响 取上述 EDTA 抗凝血, 做血常规检测, 观察红细胞 (RBC) 数、白细胞 (WBC) 数和血小板 (PLT) 数。

2.2.3 对血清 IL-2 和 TNF- α 的影响 取上述血清, 按照小鼠血清 TNF- α 和 IL-2 定量 ELISA 试剂盒使用说明书进行测定 IL-2 和 TNF- α 水平。

2.3 新疆大枣对荷瘤小鼠生存时间的影响 将 S180 小鼠肉瘤细胞腹腔内注射传代, 7 d 后取出小鼠腹水, 生理盐水调整密度为 2×10^7 个/mL。每只小鼠腹腔注射 0.2 mL, 次日称重、分组、给药同 **2.2.1**, 连续给药 14 d, 停药后观察小鼠存活天数, 观察 30 d, 未死亡者按 30 d 计, 计算生命延长率。

生命延长率 = (给药组平均生存时间 - 模型组平均生存时间) / 模型组平均生存时间 $\times 100\%$

2.4 数据处理 结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 13.0 进行统计学处理, 各组均数之间进行 One-way

ANOVA 检验和组间多重比较, 以 $P < 0.05$ 为显著性差异的标准。

3 结果

3.1 对小鼠体内 S180 肉瘤生长的抑制作用和免疫器官的影响 与模型组比较, CTX 组瘤重、胸腺、脾脏指数明显降低 ($P < 0.01$), 100% 大枣汁组, 和 CTX + 100% 大枣汁组瘤重明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 与 CTX 组比较, 50% 大枣汁、100% 大枣汁组胸腺、脾脏指数明显升高 ($P < 0.01$), CTX + 100% 大枣汁组胸腺指数、脾脏指数明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对 S180 肉瘤细胞荷瘤小鼠外周血象的影响 与模型组比较, CTX 组 WBC, PLT 明显降低 ($P < 0.01$), 100% 大枣汁组 RBC 与 WBC 明显升高 ($P < 0.05$); 与 CTX 组比较, 50% 大枣汁组、100% 大枣汁组和 CTX + 100% 大枣汁组 WBC 与 PLT 明显升高 ($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 2。

表 1 新疆大枣对小鼠体内 S180 肉瘤生长的抑制作用和免疫器官的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	瘤重/g	抑瘤率/%	胸腺指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	脾脏指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
模型	1.97 \pm 0.24	-	2.02 \pm 0.26	4.15 \pm 0.36
CTX	1.33 \pm 0.28 ²⁾	32.5	1.64 \pm 0.25 ²⁾	3.12 \pm 0.33 ²⁾
25% 大枣汁	2.04 \pm 0.21 ⁴⁾	-3.6	2.18 \pm 0.27 ³⁾	4.09 \pm 0.38 ⁴⁾
50% 大枣汁	1.82 \pm 0.27 ⁴⁾	7.6	2.22 \pm 0.24 ⁴⁾	4.26 \pm 0.31 ⁴⁾
100% 大枣汁	1.68 \pm 0.22 ^{1,4)}	14.7	2.34 \pm 0.27 ^{1,4)}	4.39 \pm 0.35 ⁴⁾
CTX + 100% 大枣汁	1.13 \pm 0.23 ²⁾	42.6	1.93 \pm 0.30 ³⁾	3.77 \pm 0.34 ^{1,4)}

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 CTX 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

表 2 新疆大枣对 S180 肉瘤细胞荷瘤小鼠外周血象的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	RBC/ $\times 10^{12}/\text{L}$	WBC/ $\times 10^9/\text{L}$	PLT/ $\times 10^9/\text{L}$
模型	5.57 \pm 1.32	7.46 \pm 1.14	534.6 \pm 66.3
CTX	5.38 \pm 1.35	5.45 \pm 1.72 ²⁾	412.5 \pm 54.8 ²⁾
25% 大枣汁	6.16 \pm 1.25	7.34 \pm 1.45 ³⁾	536.2 \pm 62.1 ⁴⁾
50% 大枣汁	7.08 \pm 1.33 ^{1,3)}	7.78 \pm 1.26 ⁴⁾	558.7 \pm 42.4 ⁴⁾
100% 大枣汁	7.25 \pm 1.31 ^{1,4)}	8.22 \pm 1.63 ^{1,4)}	564.3 \pm 50.4 ⁴⁾
CTX + 100% 大枣汁	6.33 \pm 0.94	6.84 \pm 1.15 ^{1,3)}	480.2 \pm 63.6 ³⁾

3.3 对 S180 肉瘤细胞荷瘤小鼠血清 IL-2 和 TNF- α 的影响 与模型组比较, CTX 组的 IL-2 和 TNF- α 水平明显降低 ($P < 0.01$); 与 CTX 组比较, 50% 大枣汁组、100% 大枣汁组和 CTX + 100% 大枣汁组 IL-2 和 TNF- α 明显高于 CTX 组 ($P < 0.01$)。见表 3。

3.4 对荷瘤小鼠生存时间的影响 与模型组比较, 50% 大枣汁组、100% 大枣汁组和 CTX + 100% 大枣汁组生存时间明显延长 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与

表 3 新疆大枣对 S180 肉瘤细胞荷瘤小鼠血清 IL-2 和 TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	IL-2	TNF- α
模型	52.78 \pm 5.12 ³⁾	19.21 \pm 1.29
CTX	44.36 \pm 3.62 ²⁾	15.37 \pm 1.14 ²⁾
25% 大枣汁	47.67 \pm 2.35 ^{1,3)}	20.09 \pm 1.51 ⁴⁾
50% 大枣汁	52.41 \pm 3.50 ⁴⁾	21.44 \pm 3.07 ^{1,4)}
100% 大枣汁	57.69 \pm 4.86 ^{1,4)}	22.70 \pm 2.35 ^{2,4)}
CTX + 100% 大枣汁	50.18 \pm 2.63 ⁴⁾	17.53 \pm 1.86 ^{1,4)}

CTX 组相比较,CTX + 100% 大枣汁组生存时间明显延长($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 新疆大枣对荷瘤小鼠生存时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	生存时间/d	生命延长率/%
模型	17.4 ± 1.6	-
CTX	23.6 ± 1.7 ²⁾	35.6
25% 大枣汁	18.1 ± 1.5 ⁴⁾	4.0
50% 大枣汁	19.5 ± 1.8 ^{1,4)}	12.1
100% 大枣汁	20.2 ± 1.3 ^{2,4)}	16.1
CTX + 100% 大枣汁	25.2 ± 1.5 ^{2,3)}	44.8

4 讨论

肿瘤是人类健康的第一杀手,肿瘤目前最常用的治疗方法——放射治疗和化学治疗,都会抑制机体免疫功能,如造成白细胞减少、免疫器官萎缩等严重的副作用,不但影响了治疗的效果,而且使治疗难以持续长久的进行^[5]。近年来,已发现许多天然多糖有明显的免疫调节、抗肿瘤等方面的活性,而且对正常细胞无伤害^[6-8]。肿瘤的存在不仅抑制机体的细胞免疫功能,也抑制了体液免疫功能,而化疗药物的应用可加重机体的免疫抑制。脾脏和胸腺是机体重要的免疫器官,二者对细胞毒剂高度敏感,在化疗药物作用下明显萎缩,其组织结构较快地发生严重损伤,从而抑制了机体的免疫和抗病能力^[9]。本实验通过新疆大枣提取物对小鼠体内抗肿瘤实验,结果表明:新疆大枣提取物能够抑制肿瘤的生长,同时显著提高荷瘤小鼠的胸腺、脾脏脏指数,改善环磷酰胺对白细胞的损伤,对机体免疫器官和免疫功能有一定的保护作用。

机体的免疫功能包括细胞免疫和体液免疫两方面,与肿瘤的发生发展关系密切,尤其是细胞免疫在肿瘤清除中起主导作用。已知肿瘤能诱发产生抑制性 T 细胞和抑制性巨噬细胞,它们能抑制淋巴细胞产生 IL-2,促进肿瘤生长。TNF- α 能够直接杀伤肿瘤细胞和诱导肿瘤细胞的凋亡,可以诱导细胞分化和促进单核细胞或 T 细胞分泌多种细胞因子^[10]。本实验证明了新疆大枣在抑制肿瘤细胞生长的同时可以提高小鼠血清中 IL-2 和 TNF- α 水平,结果显示,新疆大枣提取物的抑瘤效应与恢复和增强荷瘤

小鼠机体细胞的免疫功能及分泌 IL-2 和 TNF- α 有关。

改善病人的生活质量,延长病人的生存时间是肿瘤的治疗目标,也是检验一切抗肿瘤药物的最基本的依据,本实验结果表明大枣可以明显延长荷瘤小鼠的生存时间。

综上所述,通过与环磷酰胺等传统化疗药物比较,新疆大枣不但可以直接杀伤肿瘤细胞,而且通过明显的非特异性免疫刺激,增殖并产生多种细胞因子,改善机体受损的免疫系统,使免疫状态由低下恢复到接近于正常能力,使肿瘤生长受抑制,从而发挥其抗癌作用。这对癌症的治疗具有重要的意义,与环磷酰胺联合用药,可以减毒增效,抑制肿瘤效果更好。

[参考文献]

- [1] 苗明三,孙丽敏. 大枣的现代研究[J]. 河南中医, 2003,23(3):59.
- [2] 苗明三. 大枣补虚作用研究[D]. 北京:北京中医药大学,2003.
- [3] 张向前. 红枣的药用价值研究现状[J]. 延安大学学报:医学科学版, 2007,5(3):8.
- [4] 姚文华,尹卓容. 大枣的研究[J]. 农产品加工,2006, 55(2):28.
- [5] 李庆,范晓磊. 中药抗肿瘤的研究进展[J]. 中国微生物学杂志,2007,19(3):317.
- [6] 韩江余,张光霁,石森林. 植物多糖抗肿瘤研究近况[J]. 浙江中医药大学学报,2008,32(2):281.
- [7] 王健,龚兴国. 多糖的抗肿瘤及免疫调节研究进展[J]. 中国生化药物杂志,2001,22(1):52.
- [8] 丁洁平,王慧铭. 生物多糖抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志,2009,19(8):517.
- [9] 陈鹤汀,刘智勤,朱惠学,等. 当归补血汤对荷瘤小鼠化疗后免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药,2010, 21(1):120.
- [10] 扈瑞平,张兴夫,杜玲,等. 沙葱多糖对 S180 腹水瘤小鼠抗肿瘤和免疫作用的实验研究[J]. 饲料工业, 2010, 31(10):34.

[责任编辑 聂淑琴]