

蟾砂胶囊的抗肿瘤作用及对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响

杨丽, 巩法强, 刘海霞, 李自发, 徐凌川*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 研究蟾砂胶囊的抗肿瘤作用及对小鼠免疫功能的影响。方法: 将小鼠 S180, H22 实体瘤模型随机分为 6 组, ig 连续给药 10 d, 蟾砂胶囊给药剂量为 8.6, 4.3, 2.15 g·kg⁻¹, 测定小鼠实体瘤重量、抑瘤率等指标, 研究蟾砂胶囊的抗肿瘤作用; 注射环磷酰胺致小鼠免疫功能低下, 测定小鼠的脾指数、胸腺指数等指标, 观察蟾砂胶囊对免疫功能的影响。结果: 蟾砂胶囊可明显抑制 S180 和 H22 荷瘤小鼠的瘤体生长, 蟾砂胶囊组与生理盐水组比较, 瘤重减少 0.3~0.8 g, 与平消片组比较, 中剂量、高剂量组具有显著性差异 ($P < 0.05$), 3 次重复实验结果一致, 抑瘤率分别为 19%~46%, 18%~40%; 蟾砂胶囊各剂量组皆能够提高免疫低下小鼠的脾脏质量、脾脏指数及吞噬功能; 蟾砂胶囊组与生理盐水组比较, 高剂量组能明显延长 S180 小鼠的存活时间。结论: 蟾砂胶囊可在一定程度上抑制肿瘤生长、提高荷瘤小鼠的免疫力、延长荷瘤小鼠的存活时间。

[关键词] 蟾砂胶囊; 药效学; 抗肿瘤; 免疫功能

[中图分类号] R285.5; R967 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0185-04

Antitumor Activity and Immunity of Chansha Capsules in Mice

YANG Li, GONG Fa-qiang, LIU Hai-xia, LI Zi-fa, XU Ling-chuan*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antitumor activity and immunity of Chansha capsules in mice. **Method:** S180 and H22 tumor-bearing mice model were randomly divided into six groups and given the medicine 10 days, the dosage was 8.6, 4.3, 2.15 g·kg⁻¹, respectively. The antitumor effect of Chansha capsules was observed by measuring the weight and inhibition rates of tumor in mice. The immunosuppressional model in mice was established by injecting cyclophosphamide, the effect of Chansha capsules on immune functions were observed by determining the indexes of spleen and thymus of the model mice. **Result:** Chansha capsules could significantly inhibit the growth of S180 and H22 tumor-burdened mice. Compared with the normal group, the tumor weight of Chansha capsules group was reduced by 0.3-0.8 g, compared with the positive control group, Chansha capsules group had significant difference ($P < 0.05$), the results of three repeated experiments were consistent, the inhibition rate of tumor was 19%-46%, 18%-40%. Every dose group of Chansha capsules could increase the spleen weight and index of spleen of the immunosuppressional model in mice. Compared with the normal group, high dose group could obviously prolong the survival time of S180 tumor-bearing model in mice. **Conclusion:** Chansha capsules can suppress the growth of tumors, improve the immunity of tumor-bearing mice and prolong their survival time to some certain extent.

[Key words] Chansha capsules; pharmacodynamics; antitumor; immunity

[收稿日期] 20110527(002)

[第一作者] 杨丽, 在读硕士, 从事生药学研究, Tel: 13064021610; E-mail: yanglig118@163.com

[通讯作者] *徐凌川, 本科, 教授, 从事生药学研究, Tel: 13791112331; E-mail: xulingchuan518@sina.com

“蟾砂散”最早见于清代云川道人的《绛囊撮要》, 由蟾蜍、砂仁组成, 主治臌胀^[1]。蟾砂胶囊为在此古方基础上, 增加人参、灰树花组成的具有益气健脾, 解毒散结, 消肿止痛、健脾利水功效的自拟科研方制剂。用于治疗原发性肝癌 II 期或 III 期、症见

神疲乏力、胃纳减退、上腹疼痛、胀满、恶心、右上腹扪及肿块、舌苔白腻、脉弦细等，日服 2 次，每次 4~6 粒。为进一步证实蟾砂胶囊的抗肿瘤及提高免疫功能的作用，我们对其进行了如下实验。

1 材料

1.1 药物 蟾砂胶囊，棕褐色干粉，由山东鲁信制药有限公司加工提供，批号 20080801（由灰树花、人参、干蟾皮、砂仁以 5:3:1:1 的处方比例组成，以脂蟾毒配基的含量作为指标优选出最佳提取工艺，即蟾皮经 95% 乙醇回流提取后与处方中其他药材水煎煮提取，每 1 g 干浸膏相当于 7.25 g 生药，临床人日服生药量为 30 g，按体重折算，确定小鼠用药量，高、中、低剂量组给药量（折合生药量）分别为 8.6, 4.3, 2.15 g·kg⁻¹，剂量分别相当于 70 kg 人用量的 20, 10, 5 倍，实验前用蒸馏水配制成浓度分别为 0.06, 0.03, 0.015 g·mL⁻¹ 的溶液）。注射用环磷酰胺（CY），上海华联制药有限公司，批号 061110。平消片，宁夏金太阳药业有限公司生产，批号 20070701，实验前用含 0.5% 羧基纤维素钠的蒸馏水稀释成浓度为 36 g·L⁻¹ 的溶液，折合生药量 1.58 g·kg⁻¹，该剂量相当于临床用量的 10 倍。

1.2 动物 昆明种小鼠，体重 18~22 g，雌雄各半，由山东中医药大学实验动物中心提供，动物合格证号 SCXK(鲁)20050015。实验鼠全价颗粒饲料，由山东省动物中心提供，执行标准 GB19424-94。

1.3 瘤株 小鼠移植性肉瘤 S180，小鼠移植性肿瘤肝癌 H22，由山东省医学科学院药物研究所提供。

1.4 仪器 JA5003A 电子天平，上海电子天平仪器厂；WFZ800-D3B 型紫外-可见分光光度计，由北京瑞利分析仪器公司生产；LDZ4-0.8 型离心机，由北京医用离心机厂生产；OLYMPUS 显微镜，日本产。

2 方法

2.1 对荷瘤小鼠的抑瘤实验^[2] 抽取传代第 7 天的荷瘤小鼠腹水液，用生理盐水配成瘤细胞悬液，每鼠右腋下接种肿瘤匀浆 0.2 mL（约为 1×10⁶ 瘤细胞），接种 24 h 后，小鼠随机分成 6 组，每组 10 只，生理盐水组、蟾砂胶囊低、中、高剂量组、平消片组及环磷酰胺组。ig 给药组，给药剂量分别为 2.15, 4.3, 8.6 g·kg⁻¹，ig 容积皆为 20 mL·kg⁻¹·d⁻¹，连续 10 d。环磷酰胺组 ip 剂量为 28 mg·kg⁻¹·d⁻¹，连续 4 d。对照组 ig 给予生理盐水。抑瘤实验重复 3 次，于第 11 天所有动物脱颈椎处死，称体重后剥离取肿瘤称重，计算抑瘤率。

另取昆明种小鼠 50 只，肿瘤接种同上，分为 5

组，每组 10 只，连续给药观察 45 d，每天记录动物死亡数，计算动物生命延长率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{对照组瘤重} - \text{给药组瘤重}) / \text{对照组瘤重} \times 100\%$$

$$\text{生命延长率} = (\text{治疗组平均存活天数} - \text{对照组平均存活天数}) / \text{对照组平均存活天数} \times 100\%$$

2.2 对免疫功能的影响

^[3-4]

2.2.1 对免疫抑制小鼠免疫器官脏器指数的影响

取昆明种小鼠 50 只，雌雄各半，随机分成 5 组，每组 10 只。生理盐水组、蟾砂胶囊低、中、高剂量组，所有动物均 ip 环磷酰胺 28 mg·kg⁻¹·d⁻¹，连续 4 d。分别 ig 给药蟾砂胶囊低、中、高剂量组、平消片组，剂量同 2.1，连续 10 d，于第 11 天将所有动物脱颈椎处死，称重后取脾脏与胸腺称质量，计算脏器指数。

$$\text{脾脏(胸腺)指数} = \text{脾脏(胸腺)质量(mg)} / \text{体重(g)}$$

2.2.2 对正常小鼠碳廓清指数的影响

小鼠分组情况同 2.2.1，给药组 ig 给药，剂量同 2.1，容积皆为 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹，连续 7 d，于末次给药后 30 min 尾静脉注射印度墨水 5 mL·kg⁻¹，注射后 1, 5 min 分别从眼眶后静脉丛取血 20 μL，溶于 2 mL 0.1% Na₂CO₃ 溶液中摇匀，在波长 650 nm 比色，测定吸光度(A)。最后将小鼠脱颈椎处死，计算廓清指数。

$$\text{廓清指数}(K) = (\log A_1 - \log A_2) / (t_1 - t_2)$$

2.2.3 对免疫低下小鼠碳廓清指数的影响

另取小鼠 50 只，给药方法剂量同 2.2.2，每只小鼠在 ig 给药的同时 sc 环磷酰胺 28 mg·kg⁻¹，造成免疫功能低下，观察该药对免疫低下小鼠吞噬功能的影响。

2.2.4 对小鼠体液免疫功能的影响

小鼠分组与给药同 2.2.2，每鼠 ip 5% 的鸡红细胞混悬液 0.2 mL 进行免疫，于免疫当天 ig 给药，给药容积皆为 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹，连续免疫 7 d，摘眼球取血，离心，分离血清，取血清用生理盐水稀释 200 倍，取稀释血清 1 mL，与 5% 鸡红细胞 0.5 mL，20% 补体 0.5 mL 混合，在 37℃ 恒温箱中保温 30 min 后，0℃ 冰箱终止反应，离心，在波长 540 nm 比色，测定吸光度(A)。另取小鼠 50 只，在给药当天所有小鼠均 sc 环磷酰胺 28 mg·kg⁻¹，造成免疫功能低下，其他同 2.2.3。

2.2.5 对巨噬细胞吞噬功能的影响

小鼠分组与给药同 2.2.2，于末次给药后 ip 5% 鸡红细胞 0.2 mL，注射后 4 h 脱颈椎处死小鼠，剪开腹部皮肤，ip 生理盐水 2 mL，轻柔小鼠腹部，吸取腹腔冲液滴片，放入垫有湿纱布的搪瓷盘中，移置 37℃ 孵浴箱中孵育 30 min，固定，染色，镜检，油镜下计数 200 个巨噬

细胞,计算吞噬鸡红细胞的巨噬细胞百分率。另取小鼠 50 只,在给药当天所有小鼠均 sc 环磷酰胺 28 mg·kg⁻¹,造成免疫功能低下,其他同上。

吞噬率 = (吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数/200 个巨噬细胞) × 100%

2.3 统计学分析 实验数据用统计软件 SPSS 16.0 进行统计分析,均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两均数的比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 S180 肉瘤和 H22 肝癌瘤株的抑制作用

表 1 蟾砂胶囊对荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用及生命延长作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	S180 肉瘤		H22 肿瘤		荷瘤小鼠存活时间	
		瘤重/g	抑瘤率/%	瘤重/g	抑瘤率/%	存活天/d	延长率/%
荷瘤生理盐水	-	1.63 ± 0.74	-	1.91 ± 0.25	-	16.6 ± 2.7	-
环磷酰胺	0.028	0.35 ± 0.15 ^{2,4)}	78.2	0.49 ± 0.24 ^{2,4)}	74.6	19.5 ± 3.5 ¹⁾	17.5
平消片	1.58	1.30 ± 0.65	20.1	1.62 ± 0.34	18.4	18.6 ± 4.9	12.0
蟾砂胶囊	2.15	1.32 ± 0.47	19.1	1.56 ± 0.35	18.5	19.6 ± 4.7	18.1
	4.30	1.08 ± 0.66 ¹⁾	33.8	1.24 ± 0.40 ^{1,3)}	34.8	21.2 ± 3.9 ¹⁾	27.7
	8.60	0.89 ± 0.52 ^{2,3)}	45.4	1.16 ± 0.25 ^{2,4)}	39.2	21.5 ± 4.3 ¹⁾	29.5

注:与荷瘤生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与平消片组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对免疫抑制小鼠免疫器官的影响 蟾砂胶囊 3 个剂量组皆能够提高免疫抑制小鼠脏器指数,中剂量、高剂量组的胸腺指数与生理盐水比较具有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$),而平消片组虽有提高的趋势,但统计学未见差异。见表 2。

表 2 蟾砂胶囊对免疫抑制小鼠免疫功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	脏器指数	
		脾/10 ⁻³	胸腺/10 ⁻³
生理盐水	-	5.14 ± 1.28	0.65 ± 0.23
平消片	1.58	5.14 ± 1.28	0.65 ± 0.23
蟾砂胶囊	2.15	7.06 ± 1.46 ^{2,3)}	0.85 ± 0.21
	4.30	6.23 ± 0.76 ¹⁾	1.26 ± 0.51 ^{2,3)}
	8.60	6.41 ± 1.20 ²⁾	0.93 ± 0.29 ¹⁾

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与平消片组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 3~4 同)。

3.4 对正常小鼠及免疫低下小鼠吞噬功能的影响

蟾砂胶囊对正常小鼠吞噬功能提高作用只有高剂量组与生理盐水组比较有显著性差异($P < 0.05$)。对免疫低下的小鼠吞噬功能,蟾砂胶囊 3 个剂量组皆有明显提高($P < 0.05, P < 0.01$),平消片组虽有提高趋势,但统计学未见差异。见表 3~4。

蟾砂胶囊对 S180 肉瘤和 H22 肝癌瘤株均具有明显的抑制作用,抑瘤率与给药剂量呈一定的量效关系,蟾砂胶囊组与平消片组比较,中剂量组、高剂量组具有显著性差异($P < 0.05$),3 次重复实验结果一致,抑瘤率分别为 19%~46%,18%~40%。见表 1。

3.2 对荷瘤小鼠生命延长率的影响 与生理盐水组比较,高剂量组能明显延长 S180 小鼠的存活时间,从生长情况看,蟾砂胶囊组与生理盐水组、环磷酰胺组比较,体重增加,背毛光滑,摄食增加,一般情况明显好于环磷酰胺组。见表 1。

3.5 对小鼠体液免疫的影响 蟾砂胶囊可提高小鼠的体液免疫,提高正常小鼠、免疫低下小鼠的溶血素水平,与生理盐水组比较中、高剂量组具有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3~4。

表 3 蟾砂胶囊对正常小鼠的吞噬功能和体液免疫的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	廓清指数	溶血素	吞噬率
		/K	/A	/%
生理盐水	-	0.024 ± 0.018	0.064 ± 0.020	24.3 ± 5.2
平消片	1.58	0.041 ± 0.016	0.087 ± 0.041	29.7 ± 7.6 ¹⁾
蟾砂胶囊	2.15	0.047 ± 0.026	0.078 ± 0.024	28.5 ± 6.3 ¹⁾
	4.30	0.051 ± 0.035	0.127 ± 0.076 ¹⁾	36.3 ± 7.2 ²⁾
	8.60	0.057 ± 0.011 ¹⁾	0.152 ± 0.070 ²⁾	35.4 ± 5.9 ¹⁾

表 4 蟾砂胶囊对免疫低下小鼠的吞噬功能和体液免疫的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	廓清指数	溶血素	吞噬率
		/K	/A	/%
生理盐水	-	0.019 ± 0.016	0.054 ± 0.023	13.5 ± 3.2
平消片	1.58	0.037 ± 0.030	0.087 ± 0.048	16.2 ± 4.7 ¹⁾
蟾砂胶囊	2.15	0.035 ± 0.020 ¹⁾	0.063 ± 0.012	17.4 ± 4.3 ¹⁾
	4.30	0.045 ± 0.012 ²⁾	0.107 ± 0.064 ¹⁾	18.5 ± 5.2 ¹⁾
	8.60	0.050 ± 0.020 ²⁾	0.120 ± 0.046 ²⁾	23.4 ± 6.3 ²⁾

丹苘软胶囊对非酒精性脂肪肝模型大鼠胰岛素抵抗及瘦素抵抗的影响

刘锐¹, 李劲平², 伍娟娟¹, 甘国兴³, 莫新民^{3*}

(1. 广西中医学院附属瑞康医院, 南宁 530011; 2. 中南大学药学院, 长沙 410013;
3. 湖南中医药大学, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 观察丹苘软胶囊对非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 模型大鼠胰岛素抵抗及瘦素抵抗的影响。方法: 将大鼠随机分为正常组, 模型组, 丹苘软胶囊高、中、低剂量组, 易善复组, 采用高脂饲料建立 SD 大鼠非酒精性脂肪肝模型, 丹苘软胶囊各组分别予相当于丹参石油醚浸膏 0.456, 0.228, 0.114 g·kg⁻¹ ig, 易善复组每天予易善复 0.159 g·kg⁻¹ ig, 正常对照组、模型组给药相同体积 (1.2 mL·kg⁻¹) 的蒸馏水 ig。给药 4 周后测血糖, ELISA 法检测血清空腹胰岛素 (FINS)、瘦素水平, 免疫组化染色法检测肝脏瘦素受体 (ob-R) 蛋白表达, 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)。结果: 空白组、中药各剂量组及西药组血清空腹血糖 (FGB), FINS 浓度及 HOMA-IR, 明显低于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 空白组、中药各剂量组及西药组血清瘦素水平、肝脏 ob-R 蛋白表达, 明显低于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论: 丹苘软胶囊具有改善 NAFLD 大鼠 IR 及瘦素抵抗的作用。

[关键词] 非酒精性脂肪肝; 丹苘软胶囊; 胰岛素抵抗; 瘦素; 瘦素抵抗

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0188-04

Effects of Danqing Soft Capsule on Insulin Resistance and Leptin Resistance in Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease

LIU Rui¹, LI Jin-ping², WU Juan-juan¹, GAN Guo-xing³, MO Xin-min^{3*}

(1. Ruikang Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medicine (TCM) University, Nanning 530011, China;
2. Medicine College of Centerl South University, Changsha 410013, China;

[收稿日期] 20110413(022)

[第一作者] 刘锐, 医学博士, 主治医师, 从事中医内科老年代谢性疾病研究, E-mail: rjrui@126.com

[通讯作者] * 莫新民, 医学硕士, 教授, 博士研究生导师, 从事中医内科老年病学研究, E-mail: moxinmin52@hotmail.com

4 讨论

蟾砂胶囊为中药复方制剂, 由人参、蟾皮、砂仁、灰树花等中药组成, 采用补气培本、理气行水、益气养阴之品, 祛邪而不伤正, 扶正而不留邪。方中人参固本, 佐以灰树花, 具有益气养阴之功能, 又能解毒利尿, 鼓舞正气以托毒, 温运阳气以护气, 且助蟾皮化痰利水、消肿、解毒。砂仁健胃理气, 改善蟾皮对胃气的损伤。迄今未见有与本品处方相同的报道。蟾砂胶囊对于肝癌、肝硬化腹水、肺癌等有良好的效果, 能纠正多种癌症导致的机体一系列病理变化, 控制病情进一步发展, 对手术前、后具有良好的治疗作用和预防复发作用, 对于化疗中患者有增效减毒作用。本研究通过药效学实验证实蟾砂胶囊具有抑制肿瘤生长、提高荷瘤小鼠的免疫力和存活率的功效,

为其临床应用提供了理论依据。蟾砂胶囊是一种良好的抗肿瘤辅助治疗和免疫调节药物, 其作用机理有待于进一步实验研究。

[参考文献]

- [1] 裴正学. 新编中医方剂学[M]. 兰州: 甘肃科技出版社, 2008: 131.
- [2] 林丽珠, 周岱翰, 陈瑶, 等. 复方苦参注射液对肺癌和肝癌细胞抑瘤作用研究[J]. 2009, 20(1): 21.
- [3] 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, 2002: 1426.
- [4] 吴勉华, 许惠琴, 周红光. 癌痛平胶囊免疫增强作用的研究[J]. 南京中医药大学学报, 2005, 21(3): 39.

[责任编辑 聂淑琴]