

青龙衣胶囊在荷瘤小鼠体内抗肿瘤活性的研究

段玉敏, 张洪娟, 张志华, 王伟明*

(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

[摘要] 目的: 研究青龙衣胶囊的抗肿瘤活性及对 S180 荷瘤小鼠血清中 SOD 和 MDA 的影响。方法: 采用人胃腺癌 BGC-823, S180 肉瘤和肝癌 H22 腹水瘤, 分别以环磷酰胺为阳性对照组、生理盐水为阴性对照组, 将青龙衣药物以高、中、低 3 个剂量对实验裸鼠、小鼠组 ig 给药。结果: 青龙衣胶囊明显抑制人胃腺癌 BGC-823 荷瘤裸鼠瘤体的增长, 监测结果显示对给药后期抑瘤作用增强, 抑瘤率可达到 68.1% ($P < 0.01$); 能抑制肉瘤 S180 荷瘤小鼠瘤体的增长, 抑瘤率达到 61.2% ($P < 0.01$), 具有较强的抗氧化能力, 显著提高 SOD 水平 ($P < 0.05$), 降低 MDA 水平 ($P < 0.05$); 能明显提高肝腹水小鼠的生存质量, 延长肝腹水小鼠的带瘤生存时间, 生命延长率达到 86.6% ($P < 0.01$)。结论: 青龙衣胶囊具有明显的体内抗肿瘤活性。

[关键词] 青龙衣胶囊; 胃腺癌 BGC-823; S180 肉瘤; 肝癌 H22 腹水瘤; 抑瘤率; 肿瘤移植; 抗肿瘤活性

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0125-03

Antitumor Activity of Qinglongyi Capsules *in Vivo*

DUAN Yu-min, ZHANG Hong-juan, ZHANG Zhi-hua, WANG Wei-ming*

(Heilongjiang Chinese Medicine Research Institute, Harbin 150036, China)

[Abstract] **Objective:** Study on antitumor activity of Qilongyi Capsules, and its influence to SOD and MDA in serum of tumor-bearing mice. **Method:** Used models of human gastric cancer BGC-823, tumors S180, liver cancer H22 ascites tumors. And used the methods of Qilongyi Capsules which were divided into three groups, hig, middle and low. **Result:** The Qinglongyi Capsules had remarkable affects at suppressing tumor, its inhibition rate on the tumors over 68.1% ($P < 0.01$) to tumor-bearing nude mice and over 61.2% ($P < 0.01$) to tumor-bearing mice, can significantly increase SOD levels ($P < 0.05$) and lower MDA level ($P < 0.05$), and the life span was increased to 86.6% ($P < 0.01$) for mouse with H22 and solid tumors. **Conclusions:** Through the experiments we can prove that Qilongyi Capsules has remarkable antitumor activity.

[Key words] Qinglongyi Capsules; gastric cancer BGC-823; tumors S180; liver cancer H22 ascites tumors; inhibition rate; neoplasm transplantation; antitumor activity

恶性肿瘤是一种严重威胁人类生命和健康的常见病、多发病。目前, 肿瘤的治疗取得了较大进展, 外科手术、放射治疗, 特别是化疗药物使肿瘤的治愈率有所提高。但是, 迄今的抗肿瘤化疗药物, 几乎无

一超出细胞毒作用的范围, 严重的毒副作用大大限制了它的广泛应用和疗效的发挥^[1]。伴随分子生物学和肿瘤免疫学的迅速发展为肿瘤防治提供了许多新的途径与靶点, 生物反应调节剂等药物的研究与开发正在成为有前景的新领域。它可单独或与化疗药物同时应用, 可提高化疗药物的疗效, 降低化药的不良反应, 可使肿瘤患者的治疗水平提高, 有助于病人生存质量的改善。这类药物主要来源于大自然, 但多数制剂尚显粗放, 从不同的途径寻找高效低毒的抗肿瘤中药仍是当务之急。本文首次通过青龙衣与刺五加合用对人癌裸鼠移植瘤和昆明种小鼠移植

[收稿日期] 20100407(006)

[基金项目] 国家重大新药创制项目(2009ZX09102-138)

[第一作者] 段玉敏, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药药理,
Tel: 13045100403, E-mail: yumind7868@sina.com

[通讯作者] * 王伟明, 博士, 研究员, 博导, 主研方向为中药新药开发, Tel: 13904611646, E-mail: zyy@163.com

性肿瘤进行治疗,并观察其体内抗肿瘤活性及其对荷瘤小鼠抗氧化能力的影响。

1 材料与方

1.1 药物 青龙衣胶囊由黑龙江省中医研究院提供。主要制备工艺如下:将青龙衣粗粉 2 重份量加 70% 的乙醇进行渗漉提取,将提取液减压回收乙醇得清膏,再将清膏干燥得干浸膏 1,得率为 9.2%;取刺五加 1 质量份按《中国药典》2005 年版一部刺五加浸膏项下水提取浸膏制备方法,得刺五加浸膏,干燥得干浸膏 2,合并干浸膏 1 和干浸膏 2,将其粉碎成细粉;加入常规辅料,按照常规工艺,制成胶囊剂。用法与用量:口服,一次 4 粒,一日 3 次。规格 0.4 g/粒。批号 050801。环磷酰胺片由天津金世制药有限公司提供。规格每片含环磷酰胺 50 mg;人参茎叶总皂苷 50 mg。

1.2 动物 SPF 级 BALB/c 裸鼠,由中国医学科学院实验动物研究所提供。动物合格证号 Scxk(京)2005-0013;清洁级昆明种小鼠由吉林大学实验动物中心提供。动物合格证号 Scxk(吉)2007-0003。

1.3 瘤株 人胃腺癌 BGC-823,肉瘤 S 180,肝癌腹水瘤 H 22 由黑龙江省肿瘤研究所提供。

1.4 仪器与试剂 超净工作台 苏州净化有限公司提供;BASIC 半自动生化分析仪 美生公司提供;O-LYMPUS 显微镜(日本);二氧化碳培养箱 日本 Yamato 公司提供;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.5 方法

1.5.1 对人胃腺癌 BGC-823 荷瘤裸鼠体内抑瘤作用 细胞株 BGC-823,培养于 RPM1640 培养液中,于 37 5% CO₂ 饱和湿度培养箱内培养,细胞处于对数生长期时,用 0.25% 的胰蛋白酶 + 0.02% 的

EDTA 消化传代,每 3-4 d 传代 1 次。裸鼠适应环境 5 d,将对数生长期的 BGC-823 细胞消化后制成 2.5 × 10⁷ /mL 细胞悬液,在 BALB/c 裸鼠背部皮下各注射 0.2 mL。瘤块长到直径长为 3-6 mm 时将裸鼠随机分为 5 组,每组 12 只。青龙衣胶囊高、中、低剂量组,给药剂量分别为 1.248, 0.624, 0.312 g · kg⁻¹ (相当于胶囊内容物量);阳性对照组,给药剂量为 0.052 g · kg⁻¹ (相当于其组分量),均按 20 mL · kg⁻¹ 体重 ig 给药,每天 1 次,连续 21 d,每周监测瘤体积,停药次日,剥取皮下实体瘤瘤块,分别称重,计算出瘤重及抑瘤率。

1.5.2 对肉瘤 S₁₈₀ 荷瘤小鼠体内抑瘤作用及对血清中 SOD, MDA 的影响 实验用荷瘤小鼠均按常规方法接种肿瘤细胞。分别从传代 7 d 的小鼠腹中取出生长良好的乳白色腹水,以 1:2 无菌生理盐水稀释至细胞数为 4.6 × 10⁷ 个/mL,以 0.2 mL/只接种于小鼠腋下。接种次日,随机分为 5 组,ig 给药,给药剂量、体积同 1.5.1,每天 1 次,连续 10 d。停药次日,摘眼球取血后颈椎脱臼处死小鼠,剥取皮下实体瘤瘤块,分别称重,计算出瘤重及抑瘤率。半自动生化分析仪测定血清中的 SOD, MDA 含量。

1.5.3 对肝癌腹水型小鼠生命延长率的影响 取生长良好的肝癌 H 22 小鼠腹水,以 1:3 无菌生理盐水稀释至细胞数为小 2.8 × 10⁷ 个/mL,无菌条件下小鼠腹腔接种 0.2 mL/只,接种次日,随机分为 5 组,ig 给药,给药剂量、体积同 1.5.1,每天 1 次连续给药 10 d。停药后观察各组小鼠的平均生存时间,并求出生命延长率。

2 结果

2.1 对人胃腺癌 BGC-823 荷瘤裸鼠体内抑瘤作用 见表 1。

表 1 青龙衣胶囊对 BGC-823 荷瘤裸鼠瘤体监测及体内抑瘤实验结果(̄±s, n = 12)

组别	剂量/g · kg ⁻¹	瘤体积/mm ³			平均瘤重/g	抑瘤率/%
		给药前	给药 7 d	给药 14 d		
阴性对照	-	69.61 ±22.63	1 031.29 ±353.69	5 291.73 ±1 325.07	4.45 ±0.93	-
青龙衣	1.248	73.71 ±23.44	443.96 ±153.62	1 267.36 ±377.04 ¹⁾	1.42 ±0.46 ²⁾	68.1
	0.624	68.05 ±24.70	547.56 ±188.77 ¹⁾	1 641.74 ±458.70	1.93 ±0.61 ²⁾	56.6
	0.312	68.75 ±21.63	742.47 ±279.96	2 431.95 ±685.70	2.48 ±0.66 ¹⁾	44.3
环磷酰胺	0.052	71.73 ±25.65	603.23 ±191.90	1 501.68 ±512.98 ¹⁾	1.73 ±0.52 ²⁾	61.1

注:与阴性对照组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(表 2 同)。

表 1 结果表明,各实验组均能抑制荷瘤裸鼠肿瘤细胞的生长,从瘤体监测结果表明药物作用后期对肿瘤生长抑制明显。其中各实验组瘤重明显低于

生理盐水组且青龙衣胶囊高、中剂量组和环磷酰胺片组与生理盐水组比较均具有极显著性差异 P < 0.01,低剂量组与生理盐水组比较均具有显著性差

异 $P < 0.05$, 高剂量组瘤重低于其他各实验组但不具有统计学意义。

2.2 对肉瘤 S180 荷瘤小鼠体内抑瘤作用及对血清中 SOD, MDA 的影响 见表 2。表 2 实验结果表明, 各实验组均能抑制肿瘤细胞的生长, 其中高剂量组瘤重低于中、低剂量组高于环磷酰胺片组但不具

表 2 青龙衣胶囊对 S180 小鼠体内抑瘤及对血清中 SOD, MDA 的影响 ($\bar{x} \pm S, n=15$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	SOD / $pg \cdot mL^{-1}$	MDA / $pg \cdot mL^{-1}$	平均瘤重 / g	抑瘤率 / %
生理盐水	-	205.321 \pm 21.887	7.091 \pm 1.814	1.78 \pm 0.45	-
青龙衣	1.248	271.835 \pm 33.683 ¹⁾	3.283 \pm 0.752 ¹⁾	0.69 \pm 0.22 ²⁾	61.2
	0.624	246.881 \pm 27.156 ¹⁾	4.558 \pm 1.224 ¹⁾	0.80 \pm 0.20 ²⁾	55.1
	0.312	228.056 \pm 32.835	5.846 \pm 1.614	1.02 \pm 0.30 ¹⁾	42.7
环磷酰胺	0.052	193.713 \pm 27.855	6.014 \pm 1.276	0.55 \pm 0.18 ²⁾	69.1

2.3 对肝癌腹水型小鼠生命延长率的影响 表 3 结果表明, 各实验组与生理盐水组组比较, 能明显延长肝癌腹水小鼠生存时间, 且与生理盐水组比较均具有极显著性差异 $P < 0.01$ 。青龙衣胶囊高、中剂量组生存时间与环磷酰胺组比较具有显著性差异 $P < 0.05$ 。

表 3 复方青龙衣胶囊对 H22 小鼠生命延长率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	平均存活天数 / d	生命延长率 / %
生理盐水	-	15.64 \pm 1.96	-
青龙衣	1.248	29.18 \pm 8.80 ^{1,2)}	86.6
	0.624	27.18 \pm 5.47 ^{1,2)}	73.8
	0.312	23.91 \pm 5.26 ¹⁾	52.9
环磷酰胺	0.052	23.36 \pm 4.611 ¹⁾	49.3

注: 与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.01$, 与环磷酰胺组比较²⁾ $P < 0.05$

3 讨论

筛选新的抗癌药物, 首先要经过多种移植瘤的验证。移植瘤最大的优点是通过体内实验可以使一群动物带有相同的肿瘤, 接种成活率近 100%, 生长速率比较一致, 对宿主生存时间、机体反应等的影响也类似, 根据对瘤体的监测易于客观评价效果。目前抗肿瘤实验应用较广的肿瘤模型是人癌细胞株裸鼠移植, S₁₈₀ 实体瘤移植和腹水瘤^[2-3]。模型稳定、技术成熟, 较好地反映药物对肿瘤的抑制能力, 同时也可以使实验结果与其他同类实验结果相比更具有可比性。但这类肿瘤生长速度快, 恶性化程度高, 带瘤生存时间短, 与人类肿瘤有显著不同。如果要全面反应抗肿瘤药物的作用需进行人癌细胞株的动物移植实验。

青龙衣胶囊由青龙衣和刺五加两味中药组成, 近年来国内外对青龙衣有效的化学成分及抗肿瘤作用有相关的研究报告, 在临床上多用于胃癌、食道癌、肝癌等消化道肿瘤的治疗, 取得一定疗效^[4-5]。刺五加具有补中, 益气, 坚筋骨, 强意志”功效, 其药

有统计学意义。各实验组瘤重同生理盐水组瘤重比较, 均具有极显著性差异 $P < 0.01$; 青龙衣胶囊各剂量组 SOD 水平明显高于环磷酰胺片组和生理盐水组而 MDA 水平明显低于环磷酰胺片组和生理盐水组, 其中青龙衣胶囊高、中剂量组 SOD, MDA 水平与生理盐水组比较均具有显著性差异 $P < 0.05$ 。

理作用主要为增强免疫功能, 降低大鼠肝、脑中过氧化脂质的水平, 提高血浆中 SOD 的活性^[6], 抗肿瘤作用可诱发体外培养的肺癌细胞凋亡, 抑制 DNA 合成^[7]。本研究利用青龙衣的祛邪作用和刺五加的扶正作用相结合增强其抗肿瘤作用, 通过对人胃腺癌 BGC-823 荷瘤裸鼠, S₁₈₀ 荷瘤小鼠抑制肿瘤细胞生长研究和对 H₂₂ 腹水瘤小鼠延长生命研究揭示该药的抗肿瘤作用, 从抗氧化能力即对 SOD 和 MDA 水平的影响方面初步揭示该药的抗肿瘤作用机制。实验结果表明该药抑瘤率可达 68.1%, 生命延长率可达 86.6%, 并能使 SOD 水平提高, MDA 水平降低, 具有明显的量效关系。本研究也为该药在药效学及作用机制方面的深入研究和新药开发方面提供依据。

[参考文献]

- [1] 麦时任, 阮佩英, 等. 中医药治疗肿瘤概述及体会 [J]. 天津中医药, 2006, 23(3): 252.
- [2] 吴细丕, 钱林法, 牛青霞, 等. 实验动物与肿瘤研究 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 190.
- [3] 庞建新, 马仁强, 刘兰梅, 等. 博落回总碱对肝癌细胞的毒性作用和体内抗肿瘤作用 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(3): 325.
- [4] 张洪娟, 桑树荣, 高奎滨. 用青龙衣制剂治疗肿瘤用药经验 [J]. 黑龙江中医药, 2000, 2(3): 62.
- [5] 廖子君, 南克俊, 韩军, 等. 现代肿瘤治疗药物学 [M]. 北京: 世界图书出版公司, 2002: 6.
- [6] 王荣光, 王霞文. 五味子和刺五加抗衰老作用探讨 [J]. 中药药理与临床, 1991, 7(6): 31.
- [7] 张曼颖, 安继红, 李昌辉. 刺五加叶皂甙诱导肺癌细胞凋亡的研究 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2002, 28(1): 37.

[责任编辑 聂淑琴]