

肌瘤清胶囊对子宫肌瘤模型大鼠血清 NOS、TNF- α 和 IL-2 水平的影响

王宏婷^{1*}, 郑书国¹, 苏云明²

(1. 皖南医学院药理教研室, 安徽 芜湖 241002;

2. 黑龙江中医药大学药理教研室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 本研究主要观察肌瘤清胶囊对子宫肌瘤大鼠血清 NOS 活性及 TNF- α 、IL-2 水平的影响, 探讨肌瘤清胶囊治疗子宫肌瘤的可能机制。方法: 采用雌激素、孕激素共同肌注的方法建立大鼠子宫肌瘤模型, 灌胃给予肌瘤清胶囊 11 周, 检测血清 NOS 活性和 IL-2、TNF- α 水平。结果: 模型组大鼠血清 NOS 活性和 TNF- α 水平较正常组显著升高 ($P < 0.01$), IL-2 水平显著降低 ($P < 0.01$); 而肌瘤清胶囊能明显降低血清 NOS 活性和 TNF- α 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 升高血清 IL-2 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 肌瘤清胶囊能明显降低血清 NOS 活性和 TNF- α 水平, 升高 IL-2 水平, 提示肌瘤清胶囊抑制子宫肌瘤作用可能与调节内分泌、提高机体免疫功能有关。

[关键词] 子宫肌瘤; 一氧化氮合酶; 白介素-2; 肿瘤坏死因子- α ; 肌瘤清胶囊

[中图分类号] 285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0066-03

Effects of Jiliuqing Capsules on Cytokines in Rats with Hysteromyoma

WANG Hong-ting^{1*}, ZHENG Shu-guo¹, SU Yun-ming²

(1. Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241002, China;

2. Department of Pharmacology, Heilongjiang Traditional Chinese Medicinal University Haerbin, Heilongjiang 150040, China)

[收稿日期] 2008-04-28

[通讯作者] * 王宏婷, Tel: (553) 3932464; E-mail: leonasuper@126.com

[**Abstract**] **Background & Objective:** Recent studies indicated that nitric oxide synthase (NOS) pathway was involved in angiogenesis around tumor tissues and that tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-2 (IL-2) were concerned with the oncogenesis and development of hysterymyoma. In the present study, the effect of Jiliuqing capsules on serum activity of NOS and concentrations of TNF- α and IL-2 in rats with hysterymyoma was investigated to elucidate the possible mechanisms implicated in the anti-tumor effect of Jiliuqing capsules. **Methods:** Hysterymyoma in rats was established by intramuscular injection of estrogen and progesterone. Following treatment with Jiliuqing capsules for 11 weeks, serum activity of NOS and concentrations of TNF- α and IL-2 were determined. **Results:** Compared with those in control group, serum activity of NOS and TNF- α concentration in model group were increased significantly, while serum content of IL-2 was decreased markedly. In contrast, treatment with Jiliuqing capsules resulted in an evident decrease in NOS activity and serum level of TNF- α , together with a markedly increased serum concentration of IL-2. **Conclusion:** Jiliuqing capsules can significantly decrease serum activity of NOS and TNF- α content and increase serum level of IL-2, suggesting that the anti-tumor effect of Jiliuqing capsules on hysterymyoma might be related, at least partly, to the adjustment of endocrine and enhancement of immune function.

[**Key words**] hysterymyoma; NOS; IL-2; TNF- α ; Jiliuqing Capsules

子宫肌瘤是女性生殖器官最常见的良性肿瘤,近年来研究表明,一氧化氮合酶(NOS)途径参与血管新生,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与白介素-2(IL-2)与子宫肌瘤形成与发展关系密切。肌瘤清胶囊由荔枝核、莪术、三棱、橘核等组成,临床与动物研究均显示其能明显抑制子宫肌瘤形成发展。本项目主要研究肌瘤清胶囊对大鼠子宫肌瘤抑制作用的机制。

1 材料

1.1 药物 己烯雌酚注射液,上海通用药业股份有限公司(国药准字H31021403);黄体酮注射液(国药准字H12020534);枸橼酸他莫昔芬片,阜新市新泰药业有限责任公司(国药准字)H21021646;肌瘤清胶囊,由黑龙江中医药大学药理教研室提供。

1.2 试剂 大鼠TNF- α 、IL-2检测试剂盒,上海森雄科技实业有限公司;NOS测定试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 离心机(Microfuge 18 Centrifuge, BECKMAN COULTER, Germany),电子天平(AL204, METTLEY TOLEDO, Switzerland),酶标仪(anthos 2010 17750, anthos labtec instrument, Austria)。

2 方法

2.1 子宫肌瘤模型的建立与给药 参照文献方法^[1,2],取健康雌性Wistar大鼠60只,体重(180~220)g,随机分为6组:正常对照组、模型对照组、枸橼酸他莫昔芬组、肌瘤清胶囊高、中、低剂量组。除空白组im生理盐水外,其余各组均隔日im己烯雌酚 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,并每周1次im黄体酮 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,

共15周建立子宫肌瘤模型。第16周开始,给药各组分别ig给予肌瘤清胶囊 $0.54\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.14\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,和枸橼酸他莫昔芬 $0.18\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,正常对照组和模型对照组均ig等容量生理盐水,连续11周。

2.2 子宫平滑肌厚度及子宫系数检测 末次给药后次日,实验动物开腹取子宫称重,切取双侧子宫分角处根部最大直径处组织,常规固定、包埋、切片、HE染色,采用微标尺在显微镜下测量子宫平滑肌厚度。

2.3 血清NOS活性和TNF- α 、IL-2含量测定 末次给药后次日,各组大鼠分别颈总动脉取血,分离血清,按试剂盒说明检测NOS活性和TNF- α 、IL-2水平。

2.4 统计学处理 数据以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较采用方差分析。

3 结果

3.1 肌瘤清胶囊对大鼠子宫平滑肌厚度及子宫系数的影响 由表1可见,模型组大鼠子宫平滑肌厚度及子宫系数均明显高于正常组,说明造模成功。肌瘤清胶囊组子宫平滑肌厚度及子宫系数均较模型组显著降低,提示肌瘤清胶囊可明显抑制大鼠子宫肌瘤的形成和发展。

3.2 肌瘤清胶囊对血清NOS活性的影响 由表2可见,血清NOS活性模型组较正常组明显升高($P<0.01$),而高、中剂量肌瘤清胶囊均能显著降低血清NOS活性($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

表 1 大鼠子宫脏器系数及子宫平滑肌厚度($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n	平滑肌厚度 (μ m)	子宫系数 (%)
正常对照组	—	10	2 251 ± 218.4 ²⁾	0.187 ± 0.026 ²⁾
模型对照组	—	9	5 242 ± 166.3	0.451 ± 0.035
肌瘤清胶囊组	0.54	8	3 019 ± 184.5 ²⁾	0.227 ± 0.044 ²⁾
	0.27	10	3 692 ± 163.7 ¹⁾	0.254 ± 0.017 ²⁾
	0.14	9	4 073 ± 176.1 ¹⁾	0.359 ± 0.045
枸橼酸他莫昔芬组	0.18	10	4 025 ± 168.6 ¹⁾	0.281 ± 0.031 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)。

3.3 肌瘤清胶囊对血清 TNF- α 的影响 由表 2 可见,大鼠血清 TNF- α 水平模型组较正常组明显升高 ($P < 0.01$),而肌瘤清胶囊高,中,低剂量能显著降低血清 TNF- α 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.4 肌瘤清胶囊对血清 IL-2 的影响 由表 2 可见,血清 IL-2 水平模型组较正常组显著减低 ($P < 0.01$),而肌瘤清胶囊高,中,低剂量均能明显升高 IL-2 水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 大鼠血清 NOS、TNF- α 和 IL-2 测量值($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	血清 NOS (U·ml ⁻¹)	血清 TNF- α (pg·mL ⁻¹)	血清 IL-2 (pg·mL ⁻¹)
正常对照组	—	45.68 ± 10.65 ²⁾	30.25 ± 11.76 ²⁾	23.91 ± 8.04 ²⁾
模型对照组	—	68.98 ± 7.32	53.86 ± 11.66	12.65 ± 7.58
肌瘤清胶囊组	0.54	44.62 ± 8.76 ²⁾	35.49 ± 13.35 ²⁾	24.76 ± 7.21 ²⁾
	0.27	58.43 ± 8.91 ¹⁾	38.43 ± 16.35 ¹⁾	22.54 ± 7.52 ¹⁾
	0.14	60.06 ± 10.53	38.98 ± 15.65 ¹⁾	21.39 ± 7.31 ¹⁾
枸橼酸他莫昔芬组	0.18	57.64 ± 10.79 ¹⁾	31.92 ± 16.31 ²⁾	21.95 ± 7.88 ¹⁾

4 讨论

子宫肌瘤是卵巢甾体激素依赖性肿瘤,是因卵巢分泌雌激素过多所致的良性肿瘤,孕激素在肌瘤发展中同样具有重要作用^[3]。本实验中模型组大鼠肌注雌激素和孕激素后子宫平滑肌厚度、子宫系数均较正常组明显升高,而肌瘤清胶囊可明显降低子宫平滑肌厚度和子宫系数,提示肌瘤清胶囊可有效抑制子宫肌瘤的形成和发展。

近年来研究发现,在人及动物的肿瘤组织中 NOS 表达显著增加, NOS 活性明显高于正常水平,提示 NOS 在肿瘤的发生、发展过程中具有重要作用^[4]。

其机制可能与高浓度 NO 损伤 DNA 并导致基因突变及 NO 扩张血管、增加肿瘤组织血液供应而促使肌瘤组织生长有关^[5]。本研究显示,子宫肌瘤大鼠血清 NOS 活性显著升高,这与文献报道基本一致,而肌瘤清胶囊能显著降低子宫肌瘤大鼠血清 NOS 活性,提示肌瘤清胶囊抑制子宫肌瘤作用可能与其降低 NOS 活性有关。TNF- α 是由巨噬细胞分泌的细胞因子,具有多种生物学效应。TNF- α 可诱导局部平滑肌细胞损伤及增殖,在子宫肌瘤形成与发展过程中发挥重要作用^[6]。IL-2 在机体免疫应答中起重要调节作用。IL-2 还可刺激自然杀伤细胞的活化与增殖,诱导淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK 细胞)活化,抑制和或杀灭肿瘤细胞,在肿瘤免疫中发挥重要作用。本研究显示,子宫肌瘤大鼠血清 TNF- α 水平较正常组明显升高,而 IL-2 水平较正常组显著降低,说明大鼠子宫肌瘤的形成与 TNF- α 刺激子宫平滑肌细胞增生肥大及机体免疫功能低下有关。肌瘤清胶囊组血清 TNF- α 水平明显降低, IL-2 水平显著升高,提示肌瘤清胶囊抑制大鼠子宫肌瘤的形成与发展可能与降低血清 TNF- α 、升高 IL-2 水平,调节机体免疫功能有关,但对其确切机制仍有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 朱焰,邱小燕,吴建辉,等.子宫肌瘤动物模型的建立[J].中国药理学通报,2006,22(3):374-378.
- [2] 杜鹏辉,丁虹.米非司酮腹腔内给药对子宫肌瘤模型大鼠的干预作用[J].医药导报,2007,26(12):1401-1405.
- [3] 张国力,文万琪,等.经腹腔镜摘除子宫肌瘤手术对蛋白质氧化和脂质过氧化的影响[J].中华医学杂志,2005,85(3):177-180.
- [4] 叶海燕,周忠江,沙孝珍,等.子宫内膜癌组织一氧化氮及一氧化氮合酶的检测及其意义[J].第一军医大学学报,2001,21(9):669-670.
- [5] 李建荣,吴兰生,张广平,等.金草片对子宫肌瘤模型大鼠子宫组织一氧化氮合酶表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(5):40-42.
- [6] 刘召芬,程红英,江森.子宫肌瘤药物治疗的研究进展[J].中国实用妇科与产科杂志,2000,16:571-573.