

当归补血汤抑制荷瘤小鼠肿瘤生长的作用

孙玉敏¹ 宋福成² 吴晓光³

(1 沧州医学高等专科学校内科 河北 沧州 061001 2 武警 8642 部队卫生队 定州 072353 3 承德医学院 承德 067000)

摘要 目的:观察接种肿瘤细胞不同时间,给予当归补血汤的抗肿瘤作用。方法:建立荷瘤小鼠(EL-4 瘤株)动物模型,当归补血汤煎剂灌胃。观察肿瘤大小和小鼠生存时间。结果:肿瘤接种当日给药组和肿瘤直径 0.3cm 组与空白对照组比较肿瘤生长速度显著减慢($p < 0.05$),生存时间显著延长($p < 0.05$);肿瘤直径 0.6cm 组与空白对照组比较肿瘤生长速度无差异($p > 0.05$),生存时间无明显延长($p > 0.05$);且不同时间用药组比较,各观测指标差异显著($p < 0.05$)。结论:预防性及肿瘤早期单独应用当归补血汤治疗有一定疗效。

关键词:当归补血汤;荷瘤小鼠;抗肿瘤

中图分类号:R273 **文献标识码**:A

The inhibiting effect of Danggui Buxue Tang on tumor's growth of tumor-bearing mice

SUN Yu-min¹, SONG Fu-cheng², WU Xiao-guang³

(1 Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, China;

2 Hospital of Chinese People's Armed Police 8642 Forces, Dingzhou 072353, China;

3 Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the anti tumor effects of Danggui Buxue Tang (DBT) on tumor-bearing mice at various times after inoculation with EL-4 cells. **Methods**: C57BL/6 mice were inoculated with EL-4 cells, and DBT were given. The changes of tumor mass were scaled, and survival time were analyzed. **Results**: After the treatment of DBT, the tumor grew slowly ($p < 0.05$), murine survival time was lengthened in DBT group and 0.3cm group, compared with control group ($p < 0.05$), but there wasn't significant change in 0.6cm group ($p < 0.05$). **Conclusion**: DBT has certain inhibiting effects on tumor in C57BL/6 mice, when tumor-bearing mice were given preventive treatment, or treated in the early time of tumor.

Key Words: Danggui Buxue Tang; Tumor-bearing mice; Anti tumor

前言

采用补益类中药进行扶正培本是中医药治疗肿瘤的常用治法之一。在临床上,用补益类中药治疗肿瘤究竟是利是弊尚有争论。大部分学者认为,补益类中药不仅能延长患者的生存期,还可改善患者的生活质量^[1],而有些临床医生则认为补益药会促进肿瘤生长,临床上不宜多用^[2]。但对于何时应用较为合适并未见报导。因此我们选用了传统补益类方剂当归补血汤,用荷瘤小鼠模型进一步研究了其抗肿瘤作用,结果表明在肿瘤生长的早期,单独应用当归补血汤有明显抑制肿瘤生长的作用。

1 材料

1.1 实验动物

C57BL/6 小鼠,10-12 周龄,雌雄各半,购自北京大学医学部动物实验科学部。分笼清洁级饲养。

1.2 药物

黄芪,当归中药饮片,均购自北京中医药大学国医堂。按传统方法水煎煮 2 次(黄芪:当归 = 5:1),混合后加热浓缩成 100%,即 1g 生药/ml,置于 4℃ 的冰箱保存备用。

1.3 瘤株

EL-4 常规复苏传代培养。

2 方法

2.1 荷瘤小鼠模型制备

取 EL-4 瘤株生长最佳状态的传代细胞,按细胞数 5×10^6 /ml,0.2ml 接种于 10-12 周龄 C57BL/6 小鼠近右后肢背部皮下。皮下瘤每天用游标卡尺测量瘤径,用下列公式计算瘤体积:瘤体积 = 瘤体长径 \times 短径²/2^[3]。

2.2 实验分组和给药

小鼠随机分为 6 组,每组 8 只,分别为:空白对照组(3 组),当日给药组,肿瘤直径 0.3cm 组,肿瘤直径 0.6cm 组。当日给药组于接种瘤细胞当日给予备用的当归补血汤 0.5ml,肿瘤直径 0.3cm 组和肿瘤直径 0.6cm 组分别于每组肿瘤直径平均长至相应大小给予备用的当归补血汤 0.5ml,其相应空白对照组于相应每日给予生理盐水 0.5ml 灌胃。以上处理各连续进行 15 天,每日测量肿瘤大小。各灌胃 15 天后,停止处理,观察生存时间。

2.3 数据统计学处理

全部数据用 SPSS12.0 进行处理,分别采用 One-Way ANOVA 和 Kaplan-Meier 法进行统计分析。

3 结果

3.1 肿瘤生长速度见图 1

当日给药组和肿瘤直径 0.3cm 组与空白对照组比较肿瘤生长速度显著减慢($p < 0.05$)(图 1A、B);肿瘤直径 0.6cm 组与空白对照组比较肿瘤生长速度无差异($p > 0.05$)(图 1C);且不同时间用药组相互比较,各组间对肿瘤生长速度影响差异显著($p < 0.05$)(图 1D)。

通讯作者:孙玉敏,(1975-),女,医学硕士。

主要研究方向:肿瘤防治、肺纤维化

E-mail: symc@163.com Tel: 13180316095, 0317-3598945

(收稿日期:2006-06-20 接受日期:2006-07-23)

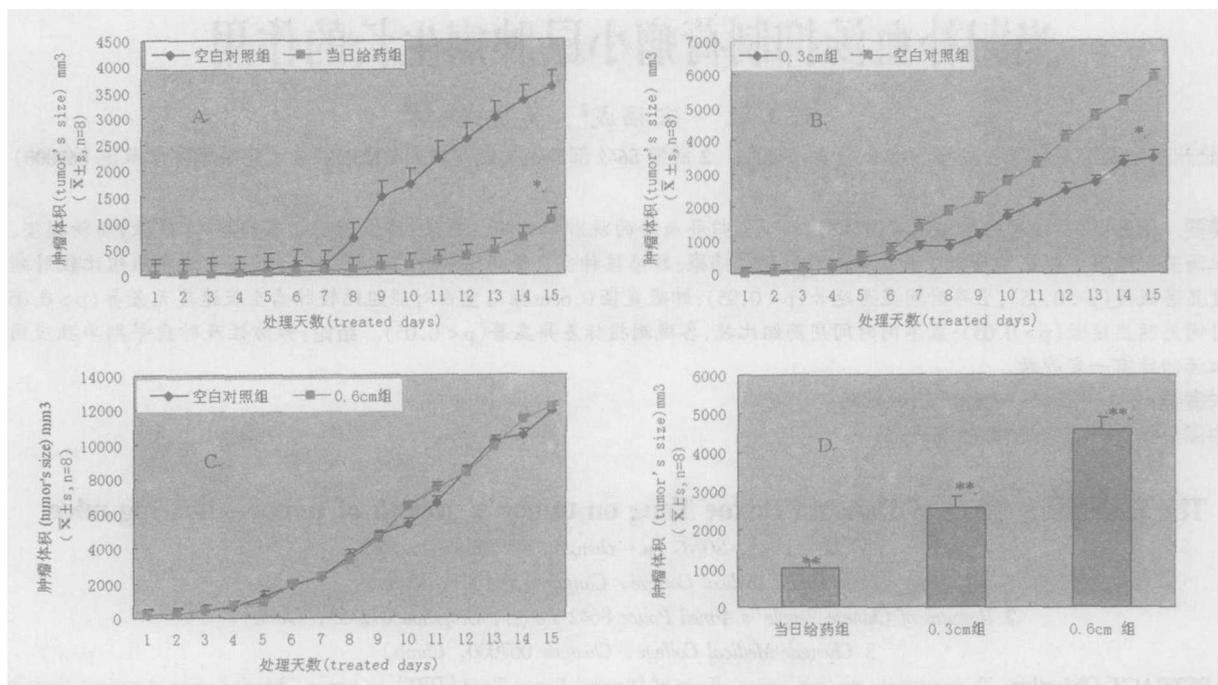


图1 接种肿瘤后不同时间给予 DBT 治疗荷瘤小鼠体内肿瘤生长情况(与对照组比较 * $p < 0.05$; 各治疗组间比较 ** $p < 0.05$)

Fig 1 Tumor's growth of tumor-bearing mice at various times given DBT after inoculation with EL-4 cell (* $p < 0.05$ vs control group; ** $p < 0.05$ compared between treated groups)

3.2 小鼠生存时间见图 2

当日给药组和肿瘤直径 0.3cm 组与空白对照组比较小鼠生存时间显著延长($p < 0.05$)(图 2A、B);肿瘤直径 0.6cm 组与空白对照组比较小鼠生存时间无明显延长($p > 0.05$)(图 2C);不同时间用药组相互比较,各组间对小鼠生存时间影响差异

显著($p < 0.05$)(图 2D);空白对照组小鼠 100%在接种肿瘤 30 天内死亡,肿瘤直径 0.6cm 组,也大都在接种肿瘤后 30 或 31 天死亡,肿瘤直径 0.3cm 组则在接种肿瘤 30 天后仍有 80%存活,而当日给药组小鼠,在接种肿瘤 30 天时刚有小鼠死亡,最长存活时间达 46 天(图 2)。

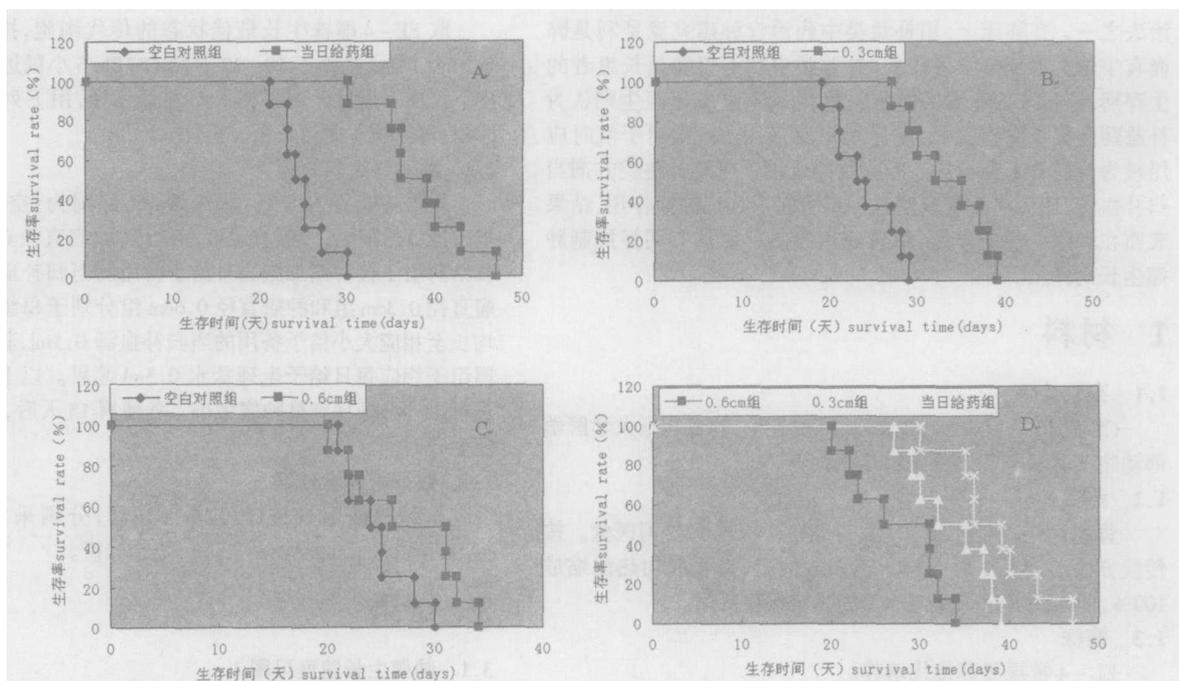


图2 接种肿瘤后不同时间给予 DBT 治疗荷瘤小鼠的生存时间

Fig 2 Survival time of tumor bearing mice at various times given DBT after inoculation with EL-4 cell

(下转第 35 页)

相同。

乳酸脱氢酶(LDH)是细胞损伤的重要标志之一。当内皮细胞膜脂质发生过氧化时,膜结构遭受破坏,细胞通透性就会明显增加,因此细胞 LDH 渗出增加;若进一步加重,可导致细胞代谢功能减退直至死亡。本实验结果显示,过氧化氢使细胞释放 LDH 增加。当预先加入 O-GAG 后,可使 LDH 释放减少,表明 O-GAG 可保护 VECs 的完整性。

丙二醛(MDA)是细胞氧化损伤的代表性产物,它是在氧自由基攻击细胞膜中的不饱和脂肪酸引发的脂质过氧化反应形成的,它可以使细胞膜的稳定性和通透性发生改变;MDA 还可以增强血小板活性,使血小板花生四烯酸的释放及代谢活跃,结果 TXB₂ 产生增多, TXB₂ 产生过程中也可产生大量 MDA,形成恶性循环。已知脂质过氧化物的产生增加与动脉粥样硬化形成密切相关,因此检测 MDA 含量的高低可以间接的反映细胞损伤的程度。本实验结果显示:O-GAG 可降低过氧化氢诱导的 VECs 生成 MDA,且存在剂量依赖性,提示 O-GAG 具有抗过氧化反应性损伤的能力。这可能与牡蛎提取物具有抑制活性氧的形成或直接清除已形成的活性氧有关,从而拮抗过氧化氢对 VECs 的脂质过氧化而保护 VECs。以上结果均提示 O-GAG 可通过对抗 VECs 损伤从而保护其完整性。

一氧化氮(NO)主要由血管内皮细胞产生,具有广泛的生物学效应,它不仅可以通过舒张血管平滑肌、参与机体的免疫反应,还有抗血小板凝集、抗血小板和血细胞粘附、抗血管平滑肌细胞增生等作用^[6]。NO 在体内由 L-精氨酸在一氧化氮合酶(NOS)的催化作用下生成,主要以局部弥散的方式激活靶细

胞的可溶性鸟苷酸环化酶(CG)生成 cGMP,再经蛋白激酶 G(PKG)磷酸化效应蛋白而发挥其作用。本实验结果显示:过氧化氢可使内皮细胞释放的 NO 明显减少,而预先加入了三种浓度的 O-GAG 之后均可以对抗 H₂O₂ 导致的血管内皮细胞损伤,对血管内皮细胞合成分泌 NO 的功能具有保护作用,增加 NO 的释放,有利于 NO 挥发,从而产生舒张血管,抗血小板和血小板聚集、黏附等作用。

本实验研究说明,牡蛎糖胺聚糖(O-GAG)在一定剂量范围内对正常血管内皮细胞有促增殖作用,可以对抗 H₂O₂ 诱导的内皮细胞脂质过氧化损伤,对血管内皮细胞产生保护作用,其机理可能与其抗脂质过氧化作用有关。

参考文献

- [1] 谭桂利,李瑞声.牡蛎的化学成分和药用价值[J].中国海洋药物,1993,12(4):26-31
- [2] 徐静,于红霞.牡蛎提取物的生物活性研究进展[J].中国公共卫生,2004,20(11):1395-1397
- [3] 刘赛,仲伟珍,张健,等.牡蛎提取物对鹌鹑实验性动脉粥样硬化的抑制作用及机制[J].中国动脉硬化杂志,2002,10(2):97-100
- [4] Guang HM, Zhang XM, Li YQ, et al. Protection of vascular endothelial cells from hydrogen peroxide - induced oxidant injury by pycnosides saponins of *Gynoestemma pento-phyllum* [J]. Yao Xue Xue Bao, 2005, 40(3):200-204
- [5] 林蓉,刘俊田,李旭,等.槲皮素对血管内皮细胞损伤的保护作用[J].中国循环杂志,2000,15(5):304-305
- [6] 姚瑞,党瑜华,张非斐.非对称性二甲基精氨酸对人脐静脉内皮细胞功能的影响[J].中国动脉硬化杂志,2005,13(4):471-474

(上接第 32 页)

4 讨论

实验结果表明当日给药组和肿瘤直径 0.3cm 组与空白对照组比较,肿瘤生长速度显著减缓,生存时间明显延长;而肿瘤直径 0.6cm 组小鼠肿瘤的生长速度及小鼠的生存时间与空白对照组比较则无统计学意义,说明在肿瘤生长的一定时期单独应用当归补血汤有明显抑制肿瘤生长的作用。

当归补血汤以补益为主,可能无直接祛邪的作用。有研究证明,补气养血方剂对有增殖能力的肿瘤细胞没有直接抑制作用^[4]。本研究结果提示:①在接种肿瘤的当天应用当归补血汤可延长小鼠成瘤时间并延缓肿瘤的生长②在肿瘤生长的早期也可以显著抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长,③预防及肿瘤早期应用可显著延长小鼠生存时间④肿瘤长到一定大小单独应用当归补血汤无明显抑制肿瘤生长的作用。研究表明补益中药的抗癌作用可能在不同环节、不同程度上增强机体的抗肿瘤免疫反应,通过增强免疫细胞和免疫因子的活性,而达到间接抗肿瘤的目的^[5]。我们的研究证明,当归补血汤对荷瘤小鼠的 T 细胞及巨噬细胞等的功能均有明显的促进作用,这

方面的工作将另有文章发表。临床大都用加味当归补血汤对放、化疗肿瘤患者进行辅助治疗,但中医药抗癌的传统思维认为,应慎用或不用养血药,唯恐引起肿瘤细胞的迅速增殖,所以养血药能否应用于肿瘤患者以改善其正气不足,至今尚无统一论^[6],因此对肿瘤晚期单独应用传统当归补血汤作为辅助性用药是否合适还将有待研究探讨。

参考文献

- [1] 郭乃燕.补益类中药与抗癌[J].时珍国药研究,1998,9(2):191
- [2] 陈达理,黄涛.四君子汤对荷瘤小鼠抑制和诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究[J].山东中医杂志,2004,23(4):228-229
- [3] 陈陵际,丁健.用人癌裸小鼠移植瘤模型进行抗癌新药评价——NC I 和 EORTC 临床前体内药效学研究方法和原则[J].上海实验动物科学,2001,21(4):247-250
- [4] 徐瑞荣,顾振东,黄文玉,等.复方补益药对白血病小鼠 CFU-GM 及 CFU-L 的影响[J].中国中医药科技,1995,2(2):23-25
- [5] 吴雪卿.补益中药抗癌作用研究进展[J].湖南中医药导报,1999,5(9):10-13
- [6] 张荣芹.中药抗肿瘤过程中应用养血药的探讨[J].世界感染杂志,2004,4(1):61