

复方消核丸对小鼠肿瘤模型抑瘤作用的研究^{*}

张建武¹, 胥正敏², 陈 卫¹, 余 娴^{2△} (川北医学院: 1. 基础医学院药理教研室; 2. 药学院, 四川南充 637100)

【摘要】 目的 探讨复方消核丸对小鼠肿瘤模型抑瘤情况, 以期提高临床上的抗肿瘤作用。**方法** 随机选取 25 只小鼠为研究对象, 建立实体瘤小鼠模型, 分成对照组、化疗组及中药大、中、小剂量组, 分别灌注饮用水、腹腔注射环磷酰胺和不同浓度剂量的复方消核丸醇提物, 实验时间为 12 d, 次日处死小鼠后剥取瘤体, 称取瘤体质量, 计算抑瘤率以及免疫指标和血清相关指标, 重复 3 次实验, 取 3 次平均值进行分析。**结果** 大剂量复方消核丸在瘤体质量、抑瘤率, 白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 10 (IL-10) 和干扰素- γ (INF- γ) 等血清指标, $CD4^+$ / $CD3^+$ 、 $CD4^+$ / $CD8^+$ 、 $CD3^+$ / $CD8^+$ T 细胞亚群, 胸腺、脾脏、淋转刺激指数等免疫指标上和其他组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 复方消核丸对小鼠有较高的抑瘤作用。

【关键词】 复方消核丸; 小鼠模型; 抗肿瘤作用; 抑瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.09.009 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)09-1173-02

Inhibitory effect of Fufang Xiaohe Wan in mouse tumor model^{*} ZHANG Jian-wu¹, XU Zheng-min², CHENG Wei¹, YU Xian^{2△} (1. Teaching and Research Section of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences; 2. College of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637100, China)

【Abstract】 Objective To explore the inhibitory effect of Fufang Xiaohe Wan in mouse tumor model. **Methods** A total of 25 mice were randomly selected, and solid tumor models were constructed. All of the 25 mice were divided into control group, treated with water, chemotherapy groups, treated with intraperitoneal injection of cyclophosphamide, and high, medium and small dosage of Fufang Xiaohe Wan groups, treated with Fufang Xiaohe Wan of various dosages. All mouse models were treated for 12 d, and tumor tissues were extracted at the 13th day. Weight of tumor tissues were measured, inhibitory rate was calculated and serum immune parameters and related indicators were detected. Every indexes were measured for 3 times, and the mean values were calculated and analyzed. **Results** Weight of tumor tissues, inhibitory rate, levels of serum markers including interleukin-6, interleukin-10, interferon- γ , levels of $CD4^+$ / $CD3^+$, $CD4^+$ / $CD8^+$, $CD3^+$ / $CD8^+$ T cell subsets, levels of immune parameters, including thymus, spleen and lymphocyte stimulation index in high dosage group were significantly different with the other groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Fufang Xiaohe Wan might be with high antitumor effect in mouse models with solid tumor.

【Key words】 Fufang Xiaohe Wan; mouse model; antitumor effect; inhibition of tumor

恶性肿瘤是危害人类健康的严重疾病之一, 其发病率呈逐年升高趋势, 而中医药在抗肿瘤方面有较好的临床效果。其毒性低, 通过有机组合后可兼顾扶正和祛邪的作用, 且可以长期应用^[1]。复方消核丸是在长期的医疗实践中筛选出来的有临床实际效果的抗癌验方。本研究通过复方消核丸对实体小鼠的实验研究, 分析临床效果, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 随机选取 2009 年 1 月至 2012 年 1 月 25 只小鼠为研究对象, 体质量 18~22 g, 平均 (20±2) g; 小鼠均购自中国医学科学院研究所。而实验中的环磷酰胺购自通化茂祥制药有限公司, 国药准字为 H22022988, 每次用 60 mg, 复方消核丸组成有雄黄、三棱、蟾酥、莪术、人参、白及、血竭、僵蚕、辰砂、甘草等。将以上的药物均研成末后用 10 倍量的 95% 乙醇进行提取, 连续进行 3 次, 每天 12 h, 混合 3 次乙醇提取液后挥干, 用适量的聚山梨酯 80 混合溶解并加水至所需浓度, 按照实验室小鼠每克每天用量设计成大、中、小剂量, 以 0.20 g、0.10 g、0.05 g 为准。

1.2 方法 先对小鼠实体瘤模型进行建立, 从腹水型的癌症小鼠中抽出乳白色腹水, 以含适量肝素的生理盐水按照 5:1

的比例进行稀释后处死, 在无菌条件下剥取肿瘤并制成单细胞悬液, 用 1 mL 针管取 0.2 mL 稀释腹水或悬液, 用 4 号针头接种在小鼠右前肢腋下, 每次接种前均轻轻摇匀接种液。然后将实验的小鼠随机分成 5 个组 (每组 5 只)。对照组予以灌服含有适量聚山梨酯 80 的饮用水 0.5 mL, 每天 1 次。化疗组则腹腔内注射环磷酰胺 60 mg, 仅 1 次。按照复方消核丸剂量分为大剂量组 (0.20 g)、中剂量组 (0.10 g)、小剂量组 (0.05 g), 每天 1 次, 连续 12 d。以上实验重复 3 次。

1.3 检测指标 按文献[2]予以评定: 第 13 天时对小鼠眼球采血, 收集血清, 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒测定白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 10 (IL-10) 和干扰素- γ (INF- γ) 等血清指标, 再处死小鼠后取出胸腺、脾脏、剥取肿瘤, 用分析天平称取以上重量, 计算胸腺、脾脏指数, 检测免疫功能情况, 再计算抑瘤率, 抑瘤率的计算公式为 (对照组肿瘤重量 - 用药组肿瘤重量) / 对照组肿瘤重量 × 100%。然后用 DMEM 培养基调整细胞浓度至 5×10^6 /mL, 在刀豆蛋白作用下置于 37 ℃ 环境下, 5% CO₂ 条件下培养 72 h 后离心, 弃上清液, 每孔加入异丙醇 200 μ L, 在室温下振荡后在酶标仪下检测淋转刺激指数。然后去血清, 分离出淋巴细胞, 加入荧光标记抗 $CD3^+$ 、

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81102288)。

作者简介: 张建武, 男, 硕士研究生, 大学讲师, 主要从事肿瘤药理研究工作。△ 通讯作者, E-mail: 22168398@qq.com,

CD4⁺和CD8⁺,4℃下避光30 min后用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,用聚甲醛固定后用FACS细胞仪进行检测CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺细胞数,以上均取3次实验的平均值进行比较。

1.4 统计学处理 采用SPSS13.0软件进行分析,将相关因素调查统计的内容作为变量,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 5个组小鼠的瘤质量和抑瘤率情况比较 5个组小鼠的平均瘤质量以对照组最重,大剂量组最轻,而在抑瘤率上以大剂量最明显,大剂量组在瘤质量和抑瘤率上和其他组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表 1 5 个组小鼠的瘤质量和抑瘤率情况

组别	<i>n</i>	平均瘤质量($\bar{x}\pm s$,g)	抑瘤率(%)
对照组	5	2.573±0.637	—
化疗组	5	1.253±0.573	53.54
小剂量组	5	1.672±0.432	32.26
中剂量组	5	1.436±0.342	41.33
大剂量组	5	1.002±0.495	57.47

注:—表示无数据。

2.2 5个组小鼠相关血清指标情况比较 5个组小鼠在血清指标INF- γ 、IL-6、IL-10水平上,对照组最低,大剂量组指标最高。大剂量组和其他组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表 2 5 个组小鼠相关免疫指标情况($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	<i>n</i>	INF- γ	IL-6	IL-10
对照组	5	285.7±12.5	31.6±10.4	32.6±9.6
化疗组	5	332.4±16.3	66.4±14.5	68.4±13.2
小剂量组	5	303.3±10.5	35.7±11.5	41.3±12.4
中剂量组	5	315.4±11.5	42.6±12.1	51.5±12.7
大剂量组	5	341.3±15.5	67.7±13.2	69.5±13.3

2.3 5个组小鼠在T细胞亚群上的情况比较 5组小鼠T细胞亚群相关指标上,对照组最高,大剂量组最低。大剂量组CD4⁺/CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD8⁺等相关指标和其他组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表 3 5 个组小鼠在 T 细胞亚群上的情况比较分析($\bar{x}\pm s$,%)

组别	<i>n</i>	INF- γ	IL-6	IL-10
对照组	5	79.4±13.4	3.8±1.1	29.7±10.7
化疗组	5	53.4±9.3	3.1±0.8	21.6±7.5
小剂量组	5	67.5±12.2	3.6±1.0	26.4±10.1
中剂量组	5	58.4±10.4	3.3±0.9	24.4±9.5
大剂量组	5	51.5±8.9	3.0±0.7	20.6±7.1

2.4 5个组小鼠的相关免疫指标情况比较 5个组小鼠的胸腺、脾脏、淋转刺激指数以对照组最低,大剂量组最高。大剂量组在胸腺、脾脏、淋转刺激指数等免疫指标上和其他组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表 4 5 个组小鼠相关免疫指标情况($\bar{x}\pm s$,%)

比较点	<i>n</i>	胸腺指数	脾脏指数	淋转刺激指数
对照组	5	2.1±0.7	3.2±0.8	1.1±0.3
化疗组	5	3.2±1.1	5.5±1.1	2.4±0.7
小剂量组	5	2.4±0.7	3.4±0.8	1.4±0.4
中剂量组	5	2.8±0.9	4.2±0.9	1.8±0.6
大剂量组	5	3.6±1.2	5.8±1.2	2.6±0.9

3 讨 论

复方消核丸由雄黄、三棱、蟾酥、莪术、人参、白及、血竭、僵蚕、辰砂、甘草等组成。从中医药角度分析,雄黄、蟾酥有燥湿化痰、以毒攻毒的效果,为君药;血竭、僵蚕、莪术、三棱等有活血化瘀、祛除邪实的功效,且莪术、三棱为经验性药物,组方具有消食健运,增强体质的效果,这对于恶性肿瘤患者饮食不畅有良好的效果,以上药物为臣药;辰砂清热解毒,人参大补元气、健脾养血、扶正固本,为佐药;甘草调和诸药,减轻不良反应,为使药^[3]。特别指出的是,甘草在其中有很好的效果,不仅调和了汤剂的药味,且在很大程度上减轻了药物的不良反应,这对于增加患者药物依从性有很大的作用^[4]。从药理学角度看,雄黄能抑制移植性小鼠肉瘤S-180的生长,并对细胞有腐蚀作用;蟾酥中的有效成分吡啶系生物碱类成分中含有5-羟色胺成分,有很好的抗肿瘤作用,且能抑制血管生成,增强机体免疫力^[5];僵蚕、血竭等则有增强血管通透性作用,防止肿瘤通过血液系统种植转移;人参则提高了机体免疫力,其中的人参多苷有升高白细胞,诱导肿瘤细胞凋亡的效果^[6];三棱、莪术有促进胃肠道蠕动的功效,且其中的有效成分莪术醇、莪术双酮等有抗癌的效果,有诱导细胞凋亡和逆转肿瘤细胞耐药的作用。

而从本次研究结果看出,复方消核丸在瘤质量、抑瘤率,INF- γ 、IL-6、IL-10等血清指标,CD4⁺/CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD8⁺T细胞亚群,胸腺、脾脏、淋转刺激指数上比运用环磷酰胺的临床效果满意,这说明了复方消核丸有明显的抗肿瘤作用,和文献^[7]报道类似。有文献报道,当宿主免疫功能低下或者受到抑制时,肿瘤的发生率明显增高,在肿瘤进行性生长时肿瘤患者的免疫功能也能受到抑制。这其中T淋巴细胞则通过CD4⁺、CD8⁺、CD3⁺等发挥作用,而复方消核丸则能很好地抑制T淋巴细胞亚群的增殖,且对于提高机体免疫功能有促进作用。

综上所述,复方消核丸组方符合中医药治疗肿瘤的原则和辨证特点,动物实验证实了其对于抑制肿瘤的效果,但是在作用机制和肿瘤靶向上仍需要进一步的探讨^[8]。

参考文献

[1] 杨孟祥,张彬,陈双峰,等.复方消核丸醇提物对荷瘤小鼠骨髓造血及肝肾功能的影响[J].山东医药,2009,49(46):26-27.

[2] 刘坚,李瀚旻,晏雪生.中药复方博癌丸对人肝癌HepG2细胞增殖及凋亡的影响[J].中医杂志,2003,44(10):782-783.

[3] 刘定安,唐安琪,张世明,等.内消丸为主治疗颈淋巴结结核90例[J].陕西中医,2000,21(4):151-152.

[4] 熊鹰,孔小云,陈如山,等.犀黄丸(含药血清)对入肝癌细胞凋亡影响的形态学研究[J].临床消化病杂志,2001,13(2):82-84.

[5] 张彬,杨孟祥,陈双峰,等.中药复方消核丸体外抑瘤作用的实验研究[J].实用肿瘤杂志,2010,25(5):587-589.

[6] 李兰芳,佟继明,解丽君,等.复方消经痛胶囊致突变性研究[J].癌变·畸变·突变,2010,22(1):62-64.

[7] 杨智青.中药复方对兔睾丸间质细胞的作用研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2006:637-639.

[8] 赵颖.雪地茶中所含有效成分松萝酸口服高生物利用度制剂的研究[D].上海:上海中医药大学,1979:67-69.