

# 50%板蓝根注射液对小鼠Friend红白血病细胞 3CL-8体内外的杀伤作用<sup>△</sup>

沈阳医学院生物技术研究所(110031) 单凤平\* Ion Gresser\*\*

**摘要** 3CL-8细胞是小鼠受Friend病毒感染后诱导机体产生的一种永久性红细胞分化反应细胞,致病性极强。应用50%板蓝根对小鼠3CL-8细胞进行体内外杀伤,结果表明:在体外细胞培养时,50%板蓝根注射液对3CL-8细胞有强大的直接杀伤作用,最低杀伤浓度可达1:80。皮下局部注射50%板蓝根时有一定的杀伤作用,3CL-8实体瘤有减少趋势。腹腔注射50%板蓝根时未见对3CL-8细胞有明显的杀伤作用。

**关键词** 小鼠红白血病3CL-8细胞 50%板蓝根注射液 细胞毒作用

红白血病目前仍是世界上尚未攻克的一种血液系统癌症。小鼠Friend红白血病是由Friend病毒感染小鼠引起,3CL-8细胞株是由Friend病毒诱导小鼠产生的永久性红细胞分化反应细胞,具有很强的致病性及快速肝脾浸润性<sup>[1]</sup>。从60年代起有关小鼠红白血病的研究有大量报道并推测与人类病毒性红白血病具有相似起因<sup>[2]</sup>。近年来随着分子生物学及药物研究的进展,有关小鼠红白血病病因,癌细胞结构及治疗方法都有很多研究<sup>[3,4]</sup>。我们使用50%板蓝根注射液研究对小鼠Friend红白血病3CL-8细胞株的体内外杀伤作用,试图寻找用中药治疗红白血病的新途径。

## 1 材料

1.1 RPMI1640培养液,苏格兰产品。营养琼脂粉,法国产品。

1.2 Friend红白血病细胞3CL-8株:由Dr. E. Affabrics赠送,并由本实验室接种到含10% FCS的1640完全培养液中,每4d传代一次,用时进行鉴定。

1.3 50%板蓝根注射液:按中国药典1985年中药版下项制成无菌注射液(简称50%板蓝根)。

1.4 动物:18~22g DBA/2雄性小鼠,由法国科学院肿瘤研究所无病原菌动物饲养基地提供。

## 2 方法

2.1 体外试验:按细胞传代常规方法将不同浓度的3CL-8细胞接种到50ml Falcon一次性塑料培养瓶中,每瓶8ml,每个细胞浓度接种3瓶,同时分别加入不同浓度的50%板蓝根,使最终浓度分别为1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 和1:100。置37℃含1%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24h,同时设正常对照,显微镜下观察,用琼脂克隆法评价细胞浓度及活力。

2.2 体内试验:a)腹腔内试验:健康小鼠21只,随机分成3组,有2组每组10只,剩下1只为1组。将2组每组10只的小鼠分别腹腔注射10<sup>4</sup>/ml 3CL-8细胞0.5ml。然后将其中1组10只小鼠分别注射50%板蓝根0.2ml,每天1次,连续7d。将另1组10只小鼠以同样条件注射生理盐水。剩下1只的小鼠为正常对照。7d后处死小鼠,取腹水,计数细胞,用琼脂克隆法评价细胞活性。b)皮下试验:健康小鼠21只,随机分成3组,有2组每组10只,剩下1只为1组。将2组每组10只的小鼠分别皮下注射10<sup>4</sup>/ml 3CL-8细胞0.2ml。然后将其中1组10只小鼠分别在注射3CL-8细胞处皮下注射50%板蓝根0.2ml,每天1次,连续7d。另1组10只小

\*Address: Shan Fengping, Institute of Biological Technology, Shenyang Medical College, Shenyang

<sup>△</sup>本实验是在法国科学院肿瘤研究所所做工作的一部分 \*\*现在法国科学院肿瘤研究所基因研究工作

鼠以同样条件每只注射生理盐水。剩下1组1只小鼠为正常对照。7d后用卡尺测量肿瘤实体体积，进行分析。

2.3 琼脂克隆法评价3CL-8细胞：取直径50mm塑料培养皿，加2ml用含30%FCS的1640培养液配制的2.5%营养琼脂，放冷。然后加入0.5ml用无血清1640配制的含有不同浓度待检细胞的0.5%营养琼脂。置37℃ 7%CO<sub>2</sub>培养箱中培养96h，在显微镜下计数细胞克隆数，换算成相应的细胞数，从而评价50%板蓝根对3CL-8的细胞毒作用。

3 结果

上述结果见表1~3。

表1 琼脂克隆法评价50%板蓝根对小鼠3CL-8细胞体外24h的杀伤结果

板蓝根 稀释度	3CL-8细胞浓度			
	5 × 10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2 × 10 <sup>6</sup>
0(对照)	3 × 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	2 × 10 <sup>6</sup>	2 × 10 <sup>6</sup>
1:5	0	0	0	0
1:10	0	0	0	0
1:20	0	0	0	0
1:40	0	0	0	0
1:80	0	0	0	0
1:100	5 × 10 <sup>4</sup>	5 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	2 × 10 <sup>6</sup>

表2 小鼠皮下注射50%板蓝根7d后实体肿瘤体积差异比较\*

药物	注射天数(d)						
	1	2	3	4	5	6	7
生理盐水	—	—	—	12 × 13	16 × 15	18 × 17	23 × 20
板蓝根	—	—	—	8 × 10	12 × 13	15 × 16	18 × 19

\*为平均值(下同)

表3 琼脂克隆法评价小鼠腹腔注射50%板蓝根后3CL-8细胞数目结果\*

药物	3CL-8细胞浓度	
	注射前	注射后
生理盐水	10 <sup>4</sup>	7.5 × 10 <sup>6</sup>
板蓝根	10 <sup>4</sup>	6 × 10 <sup>6</sup>

4 讨论

上述结果看出，50%板蓝根在体外对小鼠Friend红白血病3CL-8细胞有强大的直接细胞毒作用，其最低作用剂量可达1:80。这种细胞毒作用与细胞浓度无关。在显微镜下观察到，死亡的细胞表面皱缩，破碎并完全丧失原有细胞形态。这很可能是药物直接与细胞表面结合而杀伤靶细胞。琼脂克隆试验结果也表明了这一点。

皮下注射治疗小鼠Friend红白血病3CL-8细胞实体瘤结果表明，50%板蓝根对实体瘤有一定的治疗作用，瘤体略有缩小，但不十分明显。腹腔注射50%板蓝根对3CL-8瘤细胞没有杀伤作用。可能是由于：a)当皮下注射药物时有局部滞留和渗出，这样在肿瘤部位不能保证有效的治疗浓度。b)3CL-8是一种快速肝脾浸润性癌细胞，当进入腹腔后迅速寄居肝脾及其它脏器，这样可形成保护。尽管每次腹腔注射一定量的50%板蓝根，但到达局部脏器的浓度不足以杀死3CL-8细胞。琼脂克隆法评价细胞活力也表明了这一点。因此，寻找合适的给药途径及给药剂量需进一步研究。板蓝根是一种国内最常用的抗病毒中药，不仅对流感、肝炎有一定的疗效，而且在某些条件下对急性白血病也有疗效<sup>[5]</sup>。在当今世界对人类红白血病束手无策的情况下，探找中药治疗法是一项十分有益的工作。

参 考 文 献

1 Gresser I, et al. Int J Cancer, 1990, 46: 468

2 Hiroaki Yasui, Cancer Research, 1990, 50: 3533

3 Belardelli F, et al. Int J Cancer, 1989, 44: 1108

4 Belardelli F, et al. Int J Cancer, 1984, 34: 389

5 中国药典. 1985. 275

(1993-03-31收稿)

# Effects of Emodin and Rhubarb Polysaccharides on the Cytoplasmic Free Calcium in the Spleen Lymphocytes of Mice

Jin Zhuhua, Lin Xiuzhen, Ma Delu

Effects of emodin and rhubarb polysaccharides on the cytoplasmic free calcium in lymphocyte of mice were studied with the latest generation fluorescent indicator Fura-2. Results showed that emodin at a final concentration of  $18.5 \mu\text{mol/L}$  promotes the influx of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  of lymphocytes. Polysaccharides inhibit the influx of  $\text{Ca}^{2+}$  and the release of  $\text{Ca}^{2+}$  from intracellular stores and their effects are dose dependent. Therefore, it suggests that emodin can improve the immune function of spleen lymphocytes, but the polysaccharides can inhibit their function. This may be one of the theoretical evidences of the biphasic regulation effects of rhubarb.

(Original article on page 413)

## Study on Cytotoxicity to Mouse 3CL-8 Cell of Friend Erythrocyte by 50% Dyers Woad (*Isatis tinctoria*) Injection in Vivo and in Vitro

Shan Fengping, Ion Gresser

The paper presented here provides evidence of cytotoxicity to mouse 3CL-8 cell of friend erythrocyte by 50% *Isatis tinctoria* injection. In vitro this extract of traditional Chinese medicine exerts a strong cytostatic effect directly on mouse 3 CL-8 cell in tissue culture at a minimum concentration of 1:80 dilution. In vivo, when injected subcutaneously and locally on tumor site, it showed some cytotoxic effect on 3 CL-8, but showed no significant cytotoxic effect intraperitoneally.

(Original article on page 417)

## A Comparison of Pharmacological Activities of Effective Constituents in Zhishi (*Citrus aurantium*)

Hu Shengshan, Wang Dayuan, Qiu Pin, et al

Pharmacological activities of the effective constituents: essential oils, flavonoids and alkaloids, in fruit of *Citrus aurantium* L. were compared. Blood pressure was increased markedly by transfusion of the alkaloids. Contractions of isolated intestines were inhibited by flavonoids. Essential oils significantly decreased the rate and frequency of writhing syndrome induced by ip acetic acid and spontaneous locomotor activities in the mice with the exception of exciting at first followed by inhibiting the isolated intestines, which displayed analgesia and occestral inhibition to a certain extent.

(Original article on page 419)

## Studies on Individual Biomass and Alkaloid Content of Wild *Coptis* on Mt. Emei

Zhuang Ping, Huang Mingyuan

The structure and trends of individual organic biomass and alkaloid content of two wild *Coptis* species, *C. omeiensis* and *C. gulinensis*, on Mt. Emei, were studied by testing and analyzing samples collected from several points. The results were compared with two cultivated *C.* species, *C. chinensis* and *C. deltoidea*. The accumulative characters and laws of biomass and effective composition of the two wild species were revealed.

(Original article on page 425)