

# 芪龙方抑制实验性大鼠胃癌发生及抗始发突变的作用<sup>△</sup>

中国医学科学院 药物研究所(北京 100050) 施波\* 付招娣 李燕  
中国协和医科大学 陈飞松 刘晋生 任蜀兵 徐春军  
北京市中医研究所

**摘要** 芪龙方能显著降低 MNNG 诱发的新生大鼠慢性萎缩性胃炎、胃粘膜异型增生及腺胃癌的发生率,且呈剂量依赖性。证明芪龙方具有较好的癌化学预防作用。芪龙方对致突变物诱导的 TA<sub>98</sub>、TA<sub>102</sub> 的回复突变率和环磷酰胺诱发的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成率有显著的抑制作用。提示芪龙方对于癌的始发阶段有较强的抑制作用。

**关键词** 芪龙方 抗癌作用 胃癌

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,在全部恶性肿瘤死亡构成比中居第一位。据统计,我国每年死于胃癌的患者超过 16 万,自 1978 年以来,胃癌的防治研究一直被列为国家重点攻关课题<sup>[1]</sup>。胃癌的发展有较长的潜伏期,慢性萎缩性胃炎及胃粘膜异型增生被认为是胃癌癌前疾病或癌前状态,是向胃癌发展的过渡性病变。故有效地防治胃癌癌前疾病,阻断或逆转其发展是防治胃癌发生的重要环节。

芪龙(胃平Ⅱ号)方是北京市中医研究所治疗胃癌癌前疾病的经验方剂,由黄芪、龙葵、黄芩、党参、丹参、甘草等组成,具有健脾益气、清热活血、解毒之功效。芪龙方治疗 600 多例慢性萎缩性胃炎、胃粘膜肠上皮化生、异型增生等症,临床痊愈率 21%,显效率 47%。在临床获得确切疗效的基础上,我们进一步研究芪龙方对致癌剂 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)诱发新生大鼠的胃癌癌前疾病和胃癌的预防作用,并探讨芪龙方抗癌始发突变的作用。

## 1 材料

1.1 芪龙方液:水提醇沉制成 100%浓度的液体,即 1 mL 相当于 1 g 生药,高压灭菌后

备用。增生平:购自中国医学科学院肿瘤研究所,以无菌水配制成 0.5 g/mL。

1.2 实验动物:Wistar 新生大鼠、18~22 g NIH 雄性小鼠,中国医科院动物所提供。

1.3 细菌菌种:鼠伤寒沙门菌组氨酸缺陷型 TA<sub>98</sub>、TA<sub>102</sub>,购自中国生物制品检定所。

1.4 主要试剂:MNNG, Sigma 公司产品。DMSO,天津化学试剂一厂产品;环磷酰胺(CTX),上海第十二药厂。代谢酶活化系统 S<sub>9</sub> 及混合液等由本室自制。

## 2 方法

2.1 诱发胃癌癌前疾病及分组、给药方法:取新生 3 d 的 Wistar 大鼠,每鼠以新鲜配制的 MNNG 溶液 40 μg/(0.1 mL·d) ig,连续 10 d<sup>[2,3]</sup>。新生鼠 ig 后放回母鼠笼中喂养,至出生第 21 日断乳后,随机分组,雌雄分笼饲养,开始 ig 给药。空白对照组大鼠给予生理盐水 1 mL/100 g 体重,芪龙方高、中、低剂量 3 个实验组分别给予芪龙方液 1、0.5 和 0.25 mL/100 g 体重。阳性药对照治疗组给予 0.5 g/mL 的增生平液 1 mL/100 g 体重。各实验组均每日 ig 1 次,连续给药 24 周后停药,于第 56 周处死各组动物。取大鼠胃用中性福尔马林固定,石蜡包埋、切片,苏木精-伊红染

\* Address: Shi Bo, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing

施波 副研究员。1993 年在上海第二医科大学心血管内科获博士学位。1993 年 8 月进入中国医学科学院药物研究所博士后流动站,在肿瘤药理学专家韩锐教授指导下工作,主要从事抗肿瘤新药的开发和药理学研究。曾获黑龙江省卫生厅科技进步奖 1 项,北京市科技进步奖 1 项及吴介平-杨森奖 1 项。

<sup>△</sup>国家自然科学基金及北京市科委资助课题

色。病理学观察各标本出现的病变。

2.2 抗 Ames 试验:采用平板掺入实验方法<sup>[4]</sup>。反应系统含菌液 0.1 mL,致突变物柔红霉素 50  $\mu$ L,加入顶层培养基 2 mL,混匀后倒入已铺设低限葡萄糖琼脂培养基的平皿,于 37  $^{\circ}$ C 温箱中培养 48 h,计数每皿回变菌落数。按下式计算回复突变抑制率:

回复突变抑制率(%)=(阳性对照组回变菌落数-受试药物组回变菌落数)/阳性对照组回变菌落数 $\times$ 100%。

2.3 抗小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成<sup>[4]</sup>:将 NIH 小鼠随机分组,每组 10 只,分别设阴性对照组、环磷酰胺阳性药对照组、芪龙方实

验各组。后者分别 ig 芪龙方液 0.1、0.2、0.4 mL/10 g 体重,共给药 4 d。除阴性对照组外,其余各组小鼠于第 4 天 ip 环磷酰胺 100 mg/kg 1 次,24 h 后处死动物,取其股骨骨髓细胞涂片,Giemsa 染色,油镜下计数骨髓嗜多染红细胞(PCE)1 000 个,计数含微核的 PCE。按公式计算芪龙方组的 PCE 微核形成抑制率。

抑制率(%)=(阳性对照组微核 PCE-给药组微核 PCE)/阳性对照组微核 PCE $\times$ 100%。

### 3 结果

3.1 对 MNNG 诱发的大鼠胃癌前疾病和胃癌的抑制作用:实验至第 56 周,结果见表 1。

表 1 对 MNNG 诱发的大鼠胃癌前疾病及胃癌的防治作用(病变标本数/被检总标本数)

组别	剂量 (mL/kg)	实验 1				实验 2			
		萎缩性胃炎 异型增生	%	胃腺瘤、 腺癌	%	萎缩性胃炎 异型增生	%	胃腺瘤、 腺癌	%
空白对照	—	76/82	93	31/82	38	80/85	94	33/85	39
芪龙方	2.5	34/88	39*	16/88	18*	35/84	41*	17/84	20*
	5	20/85	24*	10/85	12*	22/81	27*	13/81	16*
	10	12/81	15*	6/81	7*	15/82	18*	8/82	10*
增生平	5	21/84	25*	12/84	14*	23/84	27*	12/84	14*

与空白对照组比较: \* $P$ <0.05

表 1 显示芪龙方对 MNNG 诱发的大鼠胃癌及癌前疾病有较好的防治作用,2 次实验芪龙方液各组使实验模型动物发生胃腺瘤、腺癌及慢性萎缩性胃炎伴异型增生的百分率显著下降,并呈现剂量效应关系。按等药物剂量计算,其抑制作用强度与增生平相当。

3.2 抗柔红霉素诱变 TA<sub>98</sub>作用观察:芪龙方对柔红霉素诱变的 TA<sub>98</sub>突变有明显的抑制作用,且呈较好的浓度-效应关系。在 80  $\mu$ L/皿原液的剂量下,抑制率为 52.3%,抗致突变作用肯定,见表 2。

表 2 抗柔红霉素诱变 TA<sub>98</sub>菌的作用

组别(浓度/皿)	回变菌落数 ( $\bar{x}\pm s$ )	抑制率 (%)
阴性对照	46 $\pm$ 12.0	
柔红霉素(10 $\mu$ g)	1120 $\pm$ 132.0	
芪龙方(20 $\mu$ L)+柔红霉素(10 $\mu$ g)	1088 $\pm$ 279.6	6.2
(40 $\mu$ L)+柔红霉素(10 $\mu$ g)	913 $\pm$ 101.0*	18.5
(80 $\mu$ L)+柔红霉素(10 $\mu$ g)	513 $\pm$ 17.0**	52.3

与柔红霉素组比较: \*\* $P$ <0.01

3.3 抗丝裂霉素 C 诱变 TA<sub>102</sub>作用:芪龙方液在 20  $\mu$ L/皿浓度时抗丝裂霉素 C 诱发的

TA<sub>102</sub>突变的抑制率为 43.3%,在 80  $\mu$ L/皿原液的浓度下,抑制率达 76.0%,抑制作用十分显著并显示浓度效应关系,见表 3。

表 3 抗丝裂霉素 C 诱变 TA<sub>102</sub>菌的作用

组别(浓度/皿)	回变菌落数 ( $\bar{x}\pm s$ )	抑制率 (%)
阴性对照	231 $\pm$ 29.7	
丝裂霉素 C(16 $\mu$ g)	2256 $\pm$ 64.0	
芪龙方(20 $\mu$ L)+丝裂霉素 C(16 $\mu$ g)	1279 $\pm$ 50.0	43.3**
(40 $\mu$ L)+丝裂霉素 C(16 $\mu$ g)	836 $\pm$ 148.7	62.9**
(80 $\mu$ L)+丝裂霉素 C(16 $\mu$ g)	541 $\pm$ 59.0	76.0**

与丝裂霉素 C 组比较: \*\* $P$ <0.01

3.4 致突变作用观察:芪龙方液在有效抗 Ames 试验的浓度下无自身致突变作用,见表 4。

表 4 芪龙方自身致突变作用( $\bar{x}\pm s$ )

组别(浓度/皿)	TA <sub>98</sub> 回变菌落数	TA <sub>102</sub> 回变菌落数
空白对照	168 $\pm$ 11.8	166 $\pm$ 12.4
芪龙方		
20 $\mu$ L	159 $\pm$ 10.1	161 $\pm$ 11.3
40 $\mu$ L	166 $\pm$ 14.7	169 $\pm$ 9.1
80 $\mu$ L	174 $\pm$ 16.2	170 $\pm$ 13.6

3.5 抗微核形成作用观察:表 5 显示 NIH 小鼠灌服各剂量的芪龙方液 4 d 后,由环磷

酰胺诱发的小鼠骨髓嗜多染红细胞微核增多明显受到抑制,并呈现较好的剂量效应关系。0.1 mL/10 g 的芪龙方液即能使环磷酰胺诱导的微核形成率达 36.1%,并呈显著性统计学差异( $P < 0.05$ )。

表 5 抗小鼠骨髓嗜多染红细胞微核形成的作用

组别(剂量/鼠)	形成微核 PCE/1000 PCE	抑制率 (%)
阴性对照	3.7±2.34	
环磷酰胺(CTX)(100 μg/kg)	38.0±7.27	
芪龙方		
(0.1 mL/10 g)+CTX(100 mg/kg)	24.3±3.43	36.1*
(0.2 mL/10 g)+CTX(100 mg/kg)	22.0±4.56	42.1**
(0.4 mL/10 g)+CTX(100 mg/kg)	15.3±3.27	59.7**

PCE:骨髓嗜多染红细胞;

与环磷酰胺组比较;\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

#### 4 讨论

芪龙方对 MNNG 诱发的新生大鼠胃癌前疾病和胃癌有较好的防治作用,结果显示芪龙方各剂量组能显著降低 MNNG 诱发的大鼠第 56 周的胃粘膜异型增生、胃腺瘤和腺胃癌的发生率。芪龙方的作用总是高剂量 > 中剂量 > 低剂量,呈现一定的剂量效应关系。

癌的发生是一个漫长的过程,至少经过始发、促癌及演进三个阶段。对于癌的化学预防来说,控制始发突变和促癌极为重要<sup>[5]</sup>。抗 Ames 试验和小鼠骨髓嗜多染红细胞微核抑制是癌化学预防药研究经典的抗致突变实验

法。芪龙方能显著抑制丝裂霉素 C 和柔红霉素的致突变作用,而自身则无突变作用;预先给小鼠口服不同剂量的芪龙方液,可明显降低环磷酰胺诱发微核形成率,并呈一定的剂量效应关系。微核试验是检测化学诱变剂引起染色体损伤的一种快速方法。当化学诱变剂使染色体受到损伤后,在细胞有丝分裂后期丧失着色点的染色体或染色体碎片被子代细胞排除而形成微核游离于细胞中。染色体结构的这种改变可为遗传物质的损伤提供易于评定的形态学证据。

芪龙方不但疗效好,长期应用还未发现毒副作用。本研究证明芪龙方防治 MNNG 诱发的大鼠胃癌和胃癌前疾病较为理想,又有较好的抗癌始发突变作用。因此深入研究其作用机制,并将芪龙方开发成治疗胃癌前疾病的新药,是我们今后努力的方向。

#### 参考文献

- 1 韩锐主编. 肿瘤化学预防及药物治疗. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1991:562
- 2 邓大君,等. 中华病理学杂志,1994,23(5):293
- 3 Sumi Y, et al. GANN, 1978, 69:805
- 4 韩锐主编. 新抗癌药物研究及实验技术. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1997:303
- 5 Lippman, S M, et al. J Clin Oncology, 1994, 12(4): 851

(1998-01-18 收稿)

## 阴地蕨中毒 2 例

湖南省新化县金凤乡笋芽村(417608) 戴恩富

李某 女,28 岁。1998 年 3 月 8 日早餐食阴地蕨炖鸡,14:00 时许,在赶集回家的路上,忽感肋肋、胸背、腹部表皮疼痛,日益加剧,继而全身瘫软,面色苍白,im 地塞米松 5 mg×2 支、复方安基比林 2 mL×2 支后转卫生院治疗。经抗胆碱药、葡萄糖及葡萄糖钙静脉滴注 3 d 痊愈。其丈夫一同食用也出现同样的中毒症状,但耐受力稍强,仅胸肋、腰背表皮疼痛,也经上述治疗痊愈。

《中药大辞典》载:阴地蕨为阴地蕨科植物阴地蕨 *Botrychium ternatum*(Thunb.)SW. 的带根全草,

性味甘苦,凉。具平肝、清热、镇咳之功,用于治疗头晕头痛、咳血、惊痫、火眼、目翳、疮疡肿毒。《湖南农村常用中草药手册》载阴地蕨为瓶尔小草科植物阴地蕨的带根全草。学名相同,科属有别,功效亦异,能补虚润肺、止咳化痰、退热消肿。当地农民常用阴地蕨煮鸡炖肉吃,治疗头晕头痛、咳嗽咯血诸证。但上述 2 例食后中毒,须引起注意,建议加强对中草药毒理实验的研究,以利正确运用中草药达到防治疾病的目的。

(1998-07-07 收稿)