

表 2 板蓝根二酮 B 对人肝癌细胞 BEL-7402 卵巢癌细胞 A2780 集落形成的影响

<i>t</i> (d)	空白细胞集落		给药组集落		集落抑制率	
	(个)		(个)		(%)	
	BEL-7402	A2780	BEL-7402	A2780	BEL-7402	A2780
0	76	66	—	—		
1	109	98	86	74	21. 10	24. 48
2	234	219	46	37	80. 34	83. 10
3	388	298	19	10	95. 10	96. 64

3. 2 板蓝根是临床上常用的药物,但目前从板蓝根中提取的化合物为数不多,尤其是象板蓝根二酮 B 这类具有抗肿瘤作用的活性物质尚未见报道。MTT 实验结果表明,板蓝根二酮 B 对肝癌 BEL-7402 细胞、卵巢癌 A2780 细胞具有较强的体外杀伤能力,其半数抑制量分别为 $8.2\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $7.8\mu\text{g}/\text{mL}$,符合 $\text{IC}_{50} < 10\mu\text{g}/\text{mL}$ 被认为有研究价值的要求^[4]。同时集落形成实验也表明:板蓝根二酮 B 具有逆转肿瘤细胞向正常细胞转化的能力。

3. 3 端粒酶的激活是恶性肿瘤学上的一个共同途径,而端粒酶则是各种恶性肿瘤细胞的一个共同的

分子标志物,大多数肿瘤细胞的增殖与端粒酶的活化有关,抑制端粒酶的活性可以影响肿瘤的生物行为。大量实验表明,端粒酶的作用是在 DNA 复制期线性染色体末端添加 TTAGGG 重复序列,从而使细胞无限增殖,导致肿瘤发生和细胞永生^[5,6]。本实验结果表明 BEL-7402 细胞、卵巢癌 A2780 细胞具有非常高的端粒酶活性,而板蓝根二酮 B 能抑制 BEL-7402 细胞、卵巢癌 A2780 细胞的端粒酶活性,且随着板蓝根二酮 B 作用时间越长,其端粒酶表达越弱。提示板蓝根二酮 B 可能具有抑制肿瘤活性能力,在临床抗肿瘤方面有潜在价值。对我们正在进行板蓝根二酮 B 构效关系的研究具有积极意义。

参考文献

- 1 刘云海. 中国药科大学学报, 1995, 26(5): 297
- 2 Honda G. Planta Med, 1980, 38(Mar): 275
- 3 李连弟, 鲁凤珠, 张思维, 等. 中华肿瘤杂志, 1997, 19(1): 4
- 4 徐叔云主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982 1443
- 5 赵冬兵, 张 伟, 金顺钱, 等. 中华肿瘤杂志, 1998, 20(3): 199
- 6 Jerry W S, Woodring E W. Curr Opin Oncol, 1996, 8 66

(2000-01-27 收稿)

金复康治疗肝癌的实验研究

上海中医药大学附属龙华医院 (200030)

李和根*

上海医药工业研究院

陈秀华 姚玉龙 任文龙

摘 要 金复康口服液是治疗肺癌的中药验方,根据中医“异病同治”的原则,对金复康口服液进行了实验性肝癌的治疗作用和对小鼠免疫功能影响的研究。金复康口服液对小鼠肝癌 HAC 和接种于裸鼠的人体肝癌 QGY 的疗效试验结果表明,金复康口服液对动物及人体移植性肝癌有一定的抑制作用;对小鼠体内脾淋巴细胞增殖、IL-2 和自然杀伤细胞 (NK 细胞) 的活性试验表明,金复康口服液有明显的促进免疫功能的作用。

关键词 金复康口服液 移植性肝癌 NK 细胞 淋巴细胞 IL-2

金复康口服液是根据上海中医药大学附属龙华医院刘嘉湘教授的处方研制的治疗肺癌的中药验方^[1],主要成分为生黄芪、北沙参、女贞子、麦冬、石见穿、石上柏、七叶一枝花等十二味中药。我们根据中医“异病同治”的原则,研究了金复康口服液对实验性肝癌的活性,显示了一定的治疗作用。

1 实验材料

1. 1 动物: 昆明种小鼠,由上海医药工业研究院动物房提供,♀,体重 19~21 g BALB/C 裸鼠,由上海肿瘤研究所提供,♂,体重 17~18 g C57BL/6 小

鼠,由 BK 公司提供,♀,体重 18~20 g

1. 2 药物: 金复康口服液,江西上饶制药厂提供,批号为 961112,含量为 3 g 生药/mL 环磷酰胺 (CTX),华联制药公司生产,批号 940106 香菇多糖,福州梅峰制药厂生产,批号 911026,每毫升含香菇多糖 2 mg

1. 3 细胞株及动物移植性肿瘤: YAC-1 细胞,小鼠肝癌 HAC,人体肝癌 QGY

1. 4 其它材料: 培养基: RPMI 1640 内含 15% NBS 巯基乙醇等。³H-TdR 上海原子核研究所,放

* Address: Li Hegen, Affiliated Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Shanghai
李和根 男,1988年毕业于上海中医学院,获学士学位。主治医师。主要从事肿瘤临床及实验研究。参与多项国家“七·五”、“八·五”、“九·五”及市局级科研课题。曾获上海市科技进步三等奖。

射性浓度 37 MBq/mL Con A(刀豆球蛋白): Sigma 产品,配成 50 mg/mL

2 方法与结果

2.1 金复康口服液抗肿瘤作用

2.1.1 对小鼠肝癌 HAC 的作用: 取生长良好的昆明种小鼠肝癌 HAC 腹水,用生理盐水 1: 4 稀释后,每只小鼠腋皮下接种 0.2 mL,随机分组,设生理盐水对照组和 CTX 阳性对照组〔100 mg/kg, ip× 3 (1, 3, 5 d)〕,金复康口服液设 3 个剂量组,分别为 75, 37.5 和 18.75 g 生药/kg 体重, ig× 7, 给药体积为 0.5 毫升/只。次日起给药,连续 ig 7 d 接种后 10 d 脱颈处死动物,解剖取瘤块,比较各剂量组瘤重之大小。根据以下公式判定结果:

肿瘤抑制率 (%) = $\frac{\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\%$

试验结果表明,金复康口服液对小鼠肝癌 HAC 有一定的抑制作用,高剂量 75 g/kg 时抑瘤率达 54.13%,且有明显的量效关系,试验结果见表 1

表 1 金复康口服液对小鼠肝癌 HAC 的作用

组别	剂量 (g/kg)	动物数	动物体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
		始 终	始 终	($\bar{x} \pm s$)	
生理盐水	-	10 10	19.7 22.9	2.42± 0.88	
CTX	0.10	10 10	19.6 22.0	0.52± 0.09*	78.51
金复康	18.75	10 10	19.4 22.5	1.7± 0.59*	29.34
	37.50	10 10	19.6 22.4	1.50± 0.56*	38.02
	75.00	10 10	19.7 22.2	1.1± 0.44*	54.13

与生理盐水组比较: ** $P < 0.01$

2.1.2 对接种于裸鼠的人体肝癌 QGY 的作用: 取生长旺盛的裸鼠人体肝癌 QGY 瘤组织,用生理盐水匀浆制备成 1: 4 稀释的细胞悬液,每只 BALB/C 裸鼠右腋下皮下接种 0.2 mL,接种后次日随机分组并开始给药,接种后 30 d 解剖动物,取瘤称重,计算瘤重抑制率

试验结果表明,金复康口服液对移植于裸鼠的人体肝癌 QGY 有一定的抑制作用,随着剂量增加,作用增强,高剂量 75 g/kg 时抑瘤率达 32.92%。结果见表 2

表 2 金复康口服液对小鼠肝癌 QGY 的疗效

组别	剂量 (g/kg)	给药方案	动物数	动物体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
			始 终	始 终	($\bar{x} \pm s$)	
生理盐水	-	ig× 10	6 6	17.1 17.9	1.6± 0.86	
CTX	0.10	ip× 3	6 6	16.8 16.0	0.28± 0.08*	82.60
金复康	18.75	ig× 10	6 6	17.0 17.1	1.35± 0.22*	16.15
	37.50	ig× 10	6 6	16.5 16.7	1.20± 0.31*	25.46
	75.00	ig× 10	6 6	16.7 16.8	1.08± 0.53*	32.92

与生理盐水组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.2 金复康口服液对免疫功能的影响

2.2.1 对小鼠体内自然杀伤细胞 (NK 细胞) 活性的影响: 取 C57BL/6 小鼠,随机分为给药组、生理盐水对照组和香菇多糖阳性对照组 (0.2 mL/20 g 体重,即 20 mg/kg),每日给药 1 次,共 7 次后处死动物。按文献方法^[3]略有改进,以脾细胞作为效应细胞, YAC-1 细胞为靶细胞,以靶: 效之比为 1: 100 的细胞加入 96 孔细胞培养板内,加入 ³H-TdR 18.5 kBq/孔, 37℃, 5% CO₂ 条件下培养 24 h,多头细胞收集器收集细胞,液闪仪上测定 cpm 值,计算特性掺入抑制率 (Pi) 作为 NK 细胞的活性

$$Pi = (1 - \frac{\text{给药组 cpm 值}}{\text{对照组 cpm 值}}) \times 100\%$$

试验结果表明,金复康口服液连续给药 7 d 后能明显增强小鼠体内 NK 细胞的活性。与生理盐水组相比有显著性差异,以 10 g/kg 组最为明显,该组与香菇多糖组相比无显著性差异 ($P > 0.05$),结果见表 3

表 3 金复康口服液对小鼠体内自然杀伤细胞 (NK 细胞) 活性的影响

组别	剂量 (g/kg)	给药方案	动物数	cpm 值 ($\bar{x} \pm s$)	Pi (%)
生理盐水	-	ig× 7	10	4 002± 426	
香菇多糖	0.02	ip× 7	10	1 367± 235*	65.8
金复康	5.0	ig× 7	10	2 098± 157*	47.6
	10.0	ig× 7	10	1 456± 251*	63.6
	20.0	ig× 7	10	1 988± 315*	50.3

与生理盐水组比较: ** $P < 0.01$

2.2.2 对小鼠体内脾淋巴细胞增殖的影响: 取 C57BL/6 小鼠,随机分为给药组、生理盐水对照组和香菇多糖阳性对照组,每日给药 1 次,共 7 次后处死动物,按文献方法^[4]稍作改进,用 RPMI 1640 培养基调整脾细胞悬液细胞浓度为 1×10^7 个/毫升,在 96 孔细胞培养板上每孔加细胞, ConA 及培养基, 37℃, 5% CO₂ 条件下培养 48 h 后加入 ³H-TdR, 18.5 kBq/孔,再培养 18 h,用多头细胞收集器收集细胞,液闪仪上测定 cpm 值,以对照组与给药组的 cpm 值进行比较

实验结果表明,金复康口服液连续给药 7 d 后能明显促进小鼠脾淋巴细胞的增殖,与生理盐水组相比有显著性差异,以 10 g/kg 剂量组对小鼠体内脾淋巴细胞活性影响最大,该组与香菇多糖组相比无显著性差异 ($P > 0.05$),实验结果见表 4

2.2.3 对小鼠体内 IL-2 的影响: 取 C57BL/6 小鼠,随机分为给药组、对照组及香菇多糖阳性对照组,对照组给生理盐水,连续给药 7 d 后,制备脾细胞悬液,调整细胞浓度为 1×10^7 /mL, 24 孔板上每

表 4 金复康口服液对小鼠体内脾淋巴细胞增殖的影响

	剂 量 (g /kg)	给药 方案	动物数	cpm 值 ($\bar{x} \pm s$)
生理盐水	—	ig $\times$ 7	10	2 930 $\pm$ 131
香菇多糖	0.02	iv $\times$ 7	10	6 516 $\pm$ 187
金复康	5.0	ig $\times$ 7	10	3 218 $\pm$ 101 [*]
	10.0	ig $\times$ 7	10	6 307 $\pm$ 176 [*]
	20.0	ig $\times$ 7	10	4 003 $\pm$ 199 [*]

与生理盐水组比较: ** $P < 0.01$

孔加 2 mL 细胞及 ConA $5 \mu\text{g/mL}$, 37°C , 5% CO_2 条件下培养 24 h 收集上清液, 应用小鼠胸腺细胞增殖法测定 IL-2 活性, 即无菌条件下取胸腺, 制备细胞悬液, 调整细胞浓度为 2×10^6 个/毫升, ConA $3 \mu\text{g/mL}$ 及收集的上清液分别加在 96 孔细胞培养板上, 37°C , 5% CO_2 条件下培养 48 h, 培养结束前 6 h 加入 $^3\text{H-TdR}$ 18.5 kBq 孔, 细胞收集仪上收集细胞, 液闪仪上测定 cpm 值, 并以对照组及给药组比较之。

实验结果表明, 金复康对 IL-2 的活性激活仅在 10 g 生药 /kg 体重时才出现, 其余二组均无明显影响, 见表 5。

表 5 金复康口服液对小鼠产生 IL-2 的影响

组 别	剂 量 (g /kg)	给药 途径	动物数	cpm 值 ($\bar{x} \pm s$)
生理盐水	—	ig $\times$ 7	10	3 155 $\pm$ 156
香菇多糖	0.02	iv $\times$ 7	10	4 733 $\pm$ 352 [*]
ConA				250 $\pm$ 178
金复康	5	ig $\times$ 7	10	3 220 $\pm$ 199
	10	ig $\times$ 7	10	4 760 $\pm$ 252 [*]
	20	ig $\times$ 7	10	3 235 $\pm$ 167

与生理盐水组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

金复康口服液为治疗气阴二虚型肺癌患者的中医验方, 本实验表明金复康口服液对人及小鼠的肝癌也有一定的抑瘤效果, 验证了中医异病同治的原则, 免疫学研究也表明金复康口服液有明显的促进免疫功能的作用。

中医治疗历来崇尚“治病必求其本”, 更何况正气虚损不仅是肺癌发生的内在原因, 也是其他各种癌症发生的内在原因, 而且也是癌症发展的一种必然趋势。癌症到了晚期往往由于邪毒内蓄而化热, 耗气伤阴, 正气虚损尤为显著。金复康口服液组方中, 生黄芪性甘, 微温, 有益气、固表、托毒生肌、利水消肿之功; 女贞子和麦冬等入肝肾经, 可补肾阳; 石上柏和七叶一枝花等有清热解毒、消肿止痛、散瘀等功效。因而对人体肝癌及小鼠肝癌均有一定的作用, 临床上根据中医异病同治原则而采用金复康口服液治疗肝癌也取得了一定的效果。

金复康口服液有明显的促进免疫功能的作用, 但在 10 g 生药 /kg 体重时作用最强。金复康口服液在较低和较高剂量时对免疫功能的作用不明显, 试验结果提示, 金复康口服液虽然无明显毒性, 但掌握适当的剂量才能在临床上取得一定的疗效。

参 考 文 献

- 1 刘嘉湘, 施志明, 徐振晔, 等. 亚洲医药, 1996, (11): 32
- 2 Mosmann T. J Immunol Methods, 1983, 65: 55
- 3 章崇杰, 吴慧君. 华西医科大学学报, 1987, 18(2): 126
- 4 徐叔云, 卞如濂, 陈修主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1226

(1999-10-13 收稿)

龟叶草免疫作用的初步实验研究

天津市长征医院 (300021) 赵振宇* 刘增琪
沈阳第 202 医院 张 阳

摘 要 目的: 对龟叶草水煎液的免疫作用进行初步研究。方法: 采用碳粒廓清速率实验, 体外淋巴细胞转化实验, 迟发超敏反应以及对血清溶血素和免疫器官重量影响等 6 项实验。结果: 龟叶草水煎液 ip 2, 0.5 g/kg 或 ig 20 g/kg 能抑制小鼠碳粒廓清速率; ip 各剂量对迟发超敏反应均有较强抑制作用, 但采用 ig 未呈现抑制作用, ig 对小鼠脾脏重量略有抑制作用, 对胸腺重量无影响, 对体外淋巴细胞转化有明显抑制作用; ip 对溶血素的形成略有增高作用, 但统计学处理无差异。结论: 龟叶草水煎液对网状内皮系统以及细胞免疫具有明显抑制作用, 对体液免疫稍有增强, 但不明显。

关键词 龟叶草 尾叶香茶菜 碳粒廓清 迟发超敏反应 溶血素 淋巴细胞转化

Address: Zhao Zhenyu, Tianjin Changzheng Hospital, Tianjin

赵振宇 男, 主管药师。1992年毕业于天津医科大学药学院, 现正在攻读临床药理学硕士学位。天津市长征医院主要从事外用制剂的开发及研制工作。其中药用香波及新型药用辅料黄原胶两项科研成果发表于《中国药理学杂志》。酮康唑凝胶的制备被审定为一九九九年填补天津市医药卫生空白的高新技术项目。