

皂角刺总黄酮对肺癌的防治作用及其机制研究

刘伟杰, 杜钢军*, 李佳桓, 王莹莹, 刘迎辉, 赵 贝, 侯西栋
河南大学药学院药物研究所, 河南 开封 475001

摘要: 目的 探讨皂角刺总黄酮体内外对小鼠肺癌的防治作用及其机制。方法 用不同质量浓度皂角刺总黄酮处理体外培养的小鼠 Lewis 肺癌细胞和 L929 胚肺成纤维细胞 48 h, MTT 法检测细胞增殖与黏附, 划痕标记染料示踪技术观察细胞连接通讯的功能。将小鼠分成模型组、槲皮素 (100 mg/kg) 阳性对照组、皂角刺总黄酮高和低剂量 (100、30 mg/kg) 组, 每周 2 次、连续 5 周 ip 乌拉坦制备小鼠肺癌模型, ip 乌拉坦 1 次后开始给药, 每天 1 次, 连续给药 10 周, 另设对照组。免疫组化法检测肺肿瘤部位间隙连接蛋白 43 (Cx43) 的表达。建立小鼠 Lewis 肺癌皮下移植模型和肺转移模型, 实验设模型组、阿霉素 (5 mg/kg) 阳性对照组、皂角刺总黄酮高和低剂量组 (100、30 mg/kg), 模型建立后次日给药, 连续给药 3 周, 观察荷瘤小鼠存活时间。结果 皂角刺总黄酮可剂量相关性抑制体外培养的 Lewis 肺癌细胞增殖; 降低 Lewis 肺癌细胞黏附, 并以剂量相关方式促进 Lewis 肺癌细胞间连接通讯, 但对 L929 胚肺成纤维细胞黏附无影响; 对乌拉坦诱导小鼠肺癌有预防作用, 增强 Cx43 的免疫组化染色强度; 对 Lewis 肺癌皮下肿瘤及实验性肺转移均具有剂量相关性抑制作用, 能延长荷瘤小鼠的存活时间。结论 皂角刺总黄酮能增强细胞连接通讯, 选择性预防和治疗肺癌, 是潜在抗肿瘤药物。

关键词: 皂角刺总黄酮; 肺癌; 肿瘤防治; 细胞连接通讯; 细胞黏附

中图分类号: R282.710.5; R979.19 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)20-2878-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.20.016

Prevention and treatment of total flavonoids from *Gleditsiae Spina* on lung cancer and its mechanisms

LIU Wei-jie, DU Gang-jun, LI Jia-huan, WANG Ying-ying, LIU Ying-hui, ZHAO Bei, HOU Xi-dong
Intitute of Pharmacy, Pharmaceutical College of Henan University, Kaifeng 475001, China

Abstract: Objective To explore the prevention and treatment of total flavonoids from *Gleditsiae Spina* (TFGS) on lung cancer and its mechanisms. **Methods** Mouse Lewis lung cancer (LLC) and embryonic lung fibroblast (L929) cells were treated with different doses of TFGS for 48 h, cell proliferation and adhesion were examined by MTT assay, and gap junctional intercellular communication (GJIC) was measured through scrape loading and dye transfer. The mice were randomly divided into model, quercetin (100 mg/kg, positive control), high- and low-dose (100 and 30 mg/kg) TFGS groups. The mice were ip injected with urethane twice weekly for five weeks to induce lung carcinogenesis and treated once daily for 10 weeks following the first urethane injection. The prevention of TFGS on chemocarcinogenesis was evaluated and the expression of gap junctional protein connexin 43 (Cx43) in lung tissue with tumors was compared by immunohistochemistry. The LLC cells were injected into the lateral axilla and tail vein respectively to establish the LLC sc allograft and experimental lung metastasis. The tumor-inoculating mice were randomly divided into model, doxorubicin (5 mg/kg, positive control), high- and low-dose (same as above) TFGS groups. The mice received the treatment for three weeks following tumor inoculation, and the effects of TFGS on the tumor size, metastasis, and life span were evaluated. **Results** TFGS inhibited LLC cell proliferation in a dose dependent manner but had no effect on L929 cell proliferation *in vitro*. TFGS with a little effect on cell proliferation decreased cell adhesion and promoted GJIC in a dose dependent manner in LLC cells but did not affect the L929 cell adhesion. TFGS was able to prevent carcinogenesis induced by urethane and enhance Cx43 staining in lung region with tumor in immunohistochemistry. Compared with untreated model mice, GJIC reduced the tumor size and metastasis and prolonged life span in a dose dependent manner.

收稿日期: 2013-01-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81173094); 河南省高校青年骨干教师项目 (2010GGJS-025); 河南省科技厅重点攻关项目 (112101310308); 河南大学省部共建项目 (SBGJ090704)

作者简介: 刘伟杰 (1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤药理学。E-mail:316211826@qq.com

*通信作者 杜钢军 Tel: 15037883506 E-mail: dgjlhh@163.com

Conclusion TFGS could promote GJIC to prevent and treat tumor and might be a potential antitumor agent.

Key words: total flavonoids from *Gleditsiae Spina*; lung cancer; tumor prevention and treatment; gap junctional intercellular communication; cell adhesion

肺癌在我国的发生率位居恶性肿瘤的首位, 并呈逐年上升的趋势^[1]。中医药在治疗肿瘤方面有毒副作用小、患者的生存质量高和长期用药费用较低等特点, 是开发新型抗肿瘤药物的重要资源^[2]。调节组织稳态、维持阴阳平衡是中药治疗疾病的主要特色^[3]。皂角刺 *Gleditsiae Spina*, 又称天丁、皂针等, 为豆科植物皂荚 *Gleditsia sinensis* Lam. 的干燥棘刺, 主要产于江苏、湖北、四川、贵州等地, 有破血散结、消肿止痛、祛风止痒、通经活络之功^[4-5]。皂角刺辛散性强, 善通经活血, 药力能直达病所, 是一味具有温通消结功能的良药^[6]。皂角刺总黄酮是主要含黄酮类化合物的皂角刺精提物, 有较强的体内外抗肿瘤活性^[7-8]。鉴于中药善于治“未病”的特点, 本实验观察皂角刺总黄酮对肺肿瘤预防和治疗作用, 并探讨其可能的作用机制, 为开发其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

皂角刺, 购自开封市天济堂药店, 经河南大学药学院中药鉴定学丛悦教授鉴定为豆科植物皂荚 *Gleditsia sinensis* Lam. 的干燥棘刺; 皂角刺总黄酮, 河南大学药物研究所提取, 经分光光度法测定, 质量分数 > 60% (以芦丁计); 阿霉素 (批号 0209 E2), 海宁医药集团有限公司。RPMI 1640 培养基, 美国 Gibco-BRL 公司; MTT、Matrigel, 美国 Sigma 公司; 槲皮素, 质量分数为 95%, 陕西百荟生物科技有限公司; 胎牛血清, 杭州四季青生物工程材料研究所; 荧光黄 (LY), 上海三浦化工有限公司; 间隙连接蛋白 43 (Cx43) 兔抗鼠多克隆抗体, 武汉博士德生物工程有限公司; 免疫组化试剂盒, 上海麦约尔生物科技有限公司。

1.2 动物与细胞

雌雄 C57BL/6 小鼠, SPF 级, 体质量 (20 ± 2) g, 购自北京微通利华试验动物有限公司, 许可证号 SCXK (京) 20090002。

小鼠 Lewis 肺癌细胞和小鼠胚肺成纤维细胞 (L929 细胞), 购自上海细胞研究所, 本实验室传代保存, 生长于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基中。

1.3 仪器

UV—2000 型紫外可见分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; LGR16—W 型高速冷冻离心机, 北京京立离心机有限公司; 800 型酶标仪, Bio-Tek 公司; XDS—500D 型倒置荧光显微镜, 上海蔡康光学仪器有限公司。

2 方法

2.1 MTT 法检测细胞增殖

将对数生长期的 Lewis 肺癌细胞和 L929 细胞, 分别以 5×10^4 /mL、 1×10^5 /mL 接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L。细胞于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 5% CO₂、37 °C 培养 24 h, 给药组分别加入含不同质量浓度皂角刺总黄酮 (使终质量浓度分别为 10、25、50、100、200 μ g/mL) 的相同培养基, 每孔 100 μ L, 对照组加入同体积的培养基, 阳性对照组加入阿霉素 (终质量浓度 0.5 μ g/mL), 继续培养 48 h, 每组设 6 个平行孔。吸弃培养基, 每孔加含 MTT 0.5 mg/mL 的 PBS (pH 6.8) 100 μ L, 培养 4 h, 弃上清液, 每孔加入二甲基亚砜 (DMSO) 100 μ L, 振荡 5 min, 酶标仪测定 570 nm 处各孔吸光度 (A) 值。计算细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.2 MTT 法检测细胞黏附

取对数生长期 Lewis 肺癌细胞或 L929 细胞, 以 2×10^5 /mL 接种于培养瓶, 每瓶 3 mL, 于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中、5% CO₂、37 °C 培养 24 h, 加入含不同质量浓度皂角刺总黄酮 (使终质量浓度分别为 0、10、25、50 μ g/mL) 的相同培养基, 每瓶 3 mL, 阳性对照组加入终质量浓度为 0.5 μ g/mL 的阿霉素, 继续培养 48 h, 消化细胞, 制备细胞悬液 5×10^5 /mL。将 96 孔培养板覆以 Matrigel (10 mg/mL) 10 μ L, 胶干后, 每孔加入经药物预处理的细胞悬液 100 μ L, 每组设 6 个平行孔, 37 °C 孵育 1 h, 弃培养基和未黏附的细胞, 每孔加含 MTT (0.5 mg/mL) 的无血清 RPMI 1640 培养液 100 μ L。继续作用 4 h, 弃上清, 每孔加入 100 μ L DMSO; 振荡 5 min, 用酶标仪测定 570 nm 处各孔 A 值, 计算细胞黏附率。

$$\text{细胞黏附率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.3 划痕标记染料示踪技术检测细胞间隙连接通讯功能^[9]

取对数生长期的 Lewis 肺癌细胞,以 2×10^5 /mL 接种于 6 孔板,每孔 2 mL,于含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中、5% CO₂、37 °C 培养 24 h,加入含不同质量浓度的皂角刺总黄酮(使终质量浓度 0、10、25、50 μg/mL)的相同培养基,每孔 2 mL,阳性对照组添加终质量浓度 0.5 μg/mL 的阿霉素,每组设 6 个平行孔,继续培养 48 h。以预温至 37 °C 的 PBS 冲洗细胞 3 次,加入预温的含 0.05% LY 的 PBS,每孔 2 mL,用锋利的手术刀片轻划细胞层,标记 3 min,吸出 LY, PBS 冲洗细胞 2 次,用甲醇-醋酸(3:1)固定细胞,显微镜下观察(×100)荧光传递情况。每孔平行划痕 3 次,每孔随机观察 10 个点。根据荧光在细胞中的传输层数计分:0 分,荧光局限于划痕边缘的单层细胞;1 分,2~3 层细胞有荧光;2 分,3~4 层细胞有荧光;3 分,5 层以上细胞有荧光。

2.4 体内实验

2.4.1 对乌拉坦诱导的小鼠肺癌模型的影响 模型制备参考文献方法^[10]。80 只雌性 C57BL/6 小鼠适应性饲养 2 周后随机分为 4 组:模型组、槲皮素(100 mg/kg)阳性对照组、皂角刺总黄酮高和低剂量(100、30 mg/kg)组,每组 20 只。各组小鼠 ip 乌拉坦(800 mg/kg)水溶液,每周 1 次,连续给予 5 周。槲皮素组、皂角刺总黄酮各剂量组小鼠造模开始后分别 ig 含相应剂量药物的 0.5%羧甲基纤维素钠混悬,每日 1 次,连续给药 10 周,模型组 ig 0.5%羧甲基纤维素钠。另取 20 只正常小鼠常规平行饲养,作为对照组。第 1 次给药后的第 18 周处死小鼠,取肺脏,4%多聚甲醛固定 24 h,检测肺转移结节数,并取部分肺叶,常规石蜡切片,切片厚度 5 μm,贴附于防脱载玻片,用于 Cx43 免疫组化检测。

2.4.2 对 Lewis 肺癌细胞皮下移植瘤小鼠模型的影响 取生长良好的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 2 只,处死,剥离瘤组织,用冷无菌生理盐水研磨制备瘤细胞悬液,调细胞数为 5×10^6 /mL,于 C57BL/6 小鼠前肢右腋皮下接种 0.2 mL。将 80 只接种肿瘤细胞的小鼠随机分成 4 组(每组 20 只):模型组、阿霉素(5 mg/kg)阳性对照组、皂角刺总黄酮高和低剂量(100、30 mg/kg)组,另设对照组(20 只)。接种次日,对照组 ig 0.5%羧甲基纤维素钠,20 mL/kg,每日 2 次;皂角刺总黄酮组分别 ig 含相应剂量的皂

角刺总黄酮的 0.5%羧甲基纤维素钠混悬,每日 2 次;阿霉素组 iv 阿霉素,每周 1 次。各组持续给药 3 周,期间每日监测小鼠体质量 1 次,第 2 周开始每周用数显游标卡尺测肿瘤直径 2 次。第 22 天,每组随机处死小鼠 10 只,剥离肿瘤,称质量,计算肿瘤体积与抑瘤率,观察其余 10 只在 60 d 内的存活情况。

$$\text{肿瘤体积} = \text{肿瘤长度} \times \text{肿瘤宽度} \times \text{肿瘤宽度} / 2$$

$$\text{抑瘤率} = 1 - \text{给药组平均瘤质量} / \text{对照组平均瘤质量}$$

2.4.3 对 Lewis 肺癌细胞肺转移小鼠模型的影响 取生长良好的 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 1 只,处死,剥离瘤组织,用冷的无菌生理盐水研磨制备瘤细胞悬液,以 0.01 mol/L Tris-0.83% NH₄Cl 溶液裂解红细胞后调细胞数 5×10^5 /mL,每只小鼠 iv 0.2 mL 制备肺转移模型。将 80 只模型小鼠随机分成 4 组(每组 20 只):模型组、阿霉素阳性对照组、皂角刺总黄酮高和低剂量组。给药剂量和方式同“2.4.2”项。第 28 天,每组随机处死小鼠 10 只,取肺脏,用 4%的多聚甲醛固定 24 h 后检测肺转移结节数,观察各组其余 10 只小鼠 60 d 内的存活情况。

2.5 Cx43 免疫组化检测

取“2.4.1”项下贴附于防脱载玻片上的肺组织石蜡切片,常规脱蜡和水化,于 3% H₂O₂ 溶液中室温孵育 10 min,消除内源性过氧化物酶的活性。将切片放入柠檬酸缓冲液中微波煮沸 5 min×2,修复抗原,5%牛血清白蛋白(BSA)室温封闭 20 min,倾去多余液体,滴加稀释的 Cx43 兔抗鼠多克隆抗体(1:50),4 °C 过夜;PBS 洗 3 次,用生物素化羊抗兔 IgG、37 °C 孵育 20 min;PBS 冲洗 3 次,滴加链霉亲和素-生物素复合物(SABC),37 °C 孵育 20 min;PBS 冲洗 3 次,DAB 显色剂显色,苏木素轻度复染核,封片后在光镜下观察(倍数)。采用半定量方法表达结果。切片的染色强度:0 分,染色为阴性;1 分,染色为弱阳性(浅黄棕色);2 分,染色为阳性(黄棕色);3 分,染色为强阳性(深黄棕色)。

2.6 统计学方法

采用 SPSS16.0 软件包进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;生存时间采用 Kaplan-Meier 存活分析。

3 结果

3.1 对 Lewis 肺癌细胞和 L929 细胞增殖、黏附和细胞间连接通讯的影响

皂角刺总黄酮能呈剂量相关地抑制体外培养的

Lewis 肺癌细胞增殖,但对 L929 细胞增殖和黏附无显著影响。皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞增殖影响较小的剂量则可显著降低 Lewis 肺癌细胞黏附。皂角刺总黄酮可剂量相关地促进 Lewis 肺癌细胞间

连接通讯(gap junctional intercellular communication, GJIC)。阿霉素对 Lewis 肺癌细胞和 L929 细胞增殖和黏附也具有抑制作用,但可损害细胞间隙连接通讯。结果见表 1、图 1。

表 1 皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞和 L929 细胞增殖、黏附和细胞间连接通讯的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effects of TFGS on cell proliferation, adhesion, and GJIC in LLC and L929 cells of mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	C / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	L929 细胞		Lewis 肺癌细胞		
		细胞增殖 / %	细胞黏附 / %	细胞增殖 / %	细胞黏附 / %	细胞间连接通讯 / (分·孔 $^{-1}$)
对照	—	100.00 ± 5.15	100.00 ± 5.43	100.00 ± 4.83	100.00 ± 5.22	12.3 ± 3.0
皂角刺总黄酮	10	98.46 ± 5.28	97.68 ± 5.51	91.35 ± 5.16	78.34 ± 5.35**	18.2 ± 3.5*
	25	96.53 ± 5.24	95.46 ± 5.48	83.42 ± 5.51*	61.27 ± 4.53**	19.5 ± 2.7**
	50	94.24 ± 5.26	93.72 ± 5.52	75.61 ± 4.72**	32.26 ± 4.18**	21.7 ± 2.7**
	100	92.31 ± 5.19	—	58.53 ± 4.42**	—	—
	200	90.18 ± 5.21	—	36.23 ± 4.18**	—	—
阿霉素	0.5	61.36 ± 4.58**	48.21 ± 4.62**	52.42 ± 4.53**	41.29 ± 4.35**	6.1 ± 2.2**

与对照组比较 *P<0.05 **P<0.01
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

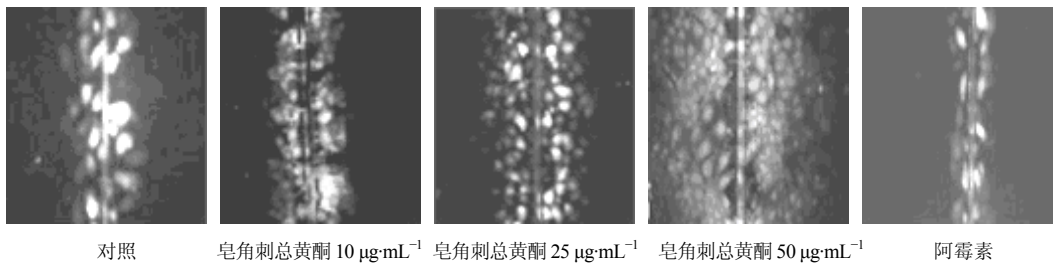


图 1 皂角刺总黄酮对小鼠 Lewis 肺癌细胞间连接通讯的影响
Fig. 1 Effect of TFGS on GJIC in LLC of mice

3.2 对乌拉坦致小鼠肺癌及 Cx43 免疫组化的影响
对照组小鼠至实验结束时肺部均无肿瘤发生。模型组小鼠肺部有数目和大小不等的肿瘤结节。皂角刺总黄酮高、低剂量组小鼠肺部肿瘤结节明显减少,部分小鼠未见肿瘤。结果见表 2。与对照组相比,模型组小鼠肺部 Cx43 免疫组化显色密度明显降低。与模型组细胞,皂角刺总黄酮高、低剂量组均能增强小鼠肺部的 Cx43 免疫组化显色密度,在相同剂量下,皂角刺总黄酮对乌拉坦诱导的小鼠肺癌的抗肿瘤作用优于槲皮素。结果见图 2。

3.3 对 Lewis 肺癌细胞皮下移植瘤小鼠的影响
与模型组小鼠相比,皂角刺总黄酮 100、30 mg/kg 组 Lewis 肺癌细胞皮下移植瘤小鼠肿瘤增长速度均减缓,荷瘤小鼠存活时间均延长 (P<0.01)。结果见图 3、4。

表 2 皂角刺总黄酮对乌拉坦致小鼠肺癌的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)
Table 2 Effect of TFGS on lung carcinogenesis induced by urethane ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量 / (mg·kg $^{-1}$)	小鼠 / 只	肺癌发生率 / %	肺结节数
模型	—	20	100	8.5 ± 3.8
皂角刺总黄酮	100	11	55	2.2 ± 2.0**
	30	15	75	3.1 ± 2.3*
槲皮素	100	13	65	2.8 ± 2.1**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01, 下表、图同
*P<0.05 **P<0.01 vs model group, same as below

3.4 对 Lewis 肺癌细胞肺转移小鼠的影响
与模型组小鼠比较,皂角刺总黄酮 100、30 mg/kg 组小鼠 Lewis 肺癌细胞肺转移均得到显著抑制 (P<0.01), 荷瘤小鼠存活时间显著延长。结果见表 3、图 5。

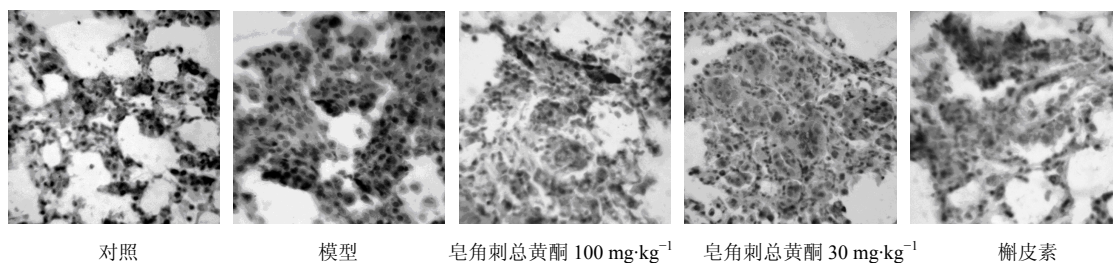


图2 皂角刺总黄酮对乌拉坦致肺癌小鼠肺部 Cx43 免疫组化显色的影响

Fig. 2 Effect of TFGS on Cx43 staining of immunohistochemistry in lung region of mice with carcinogenesis induced by urethane

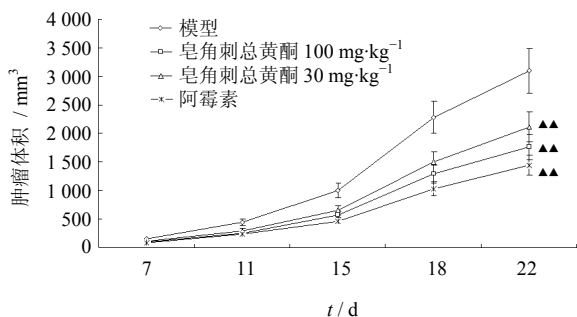


图3 皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞皮下移植瘤小鼠肿瘤体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Fig. 3 Effect of TFGS on tumor volume in mice with sc LLC allograft ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

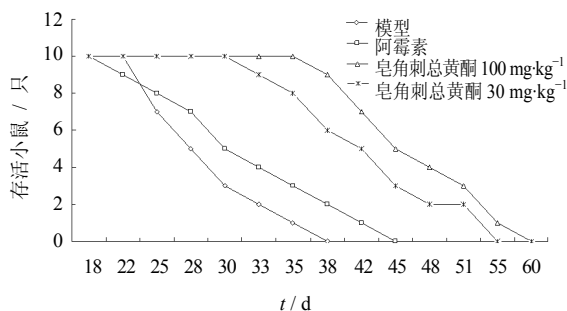


图4 皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞皮下移植瘤小鼠生存时间的影响 ($n = 10$)

Fig. 4 Effect of TFGS on life span of mice with sc LLC allograft ($n = 10$)

4 讨论

皂角刺是抗癌中药之一，其中的抗肿瘤活性成分有皂苷、黄酮、酚类和氨基酸等，能抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制肿瘤细胞的侵袭，但具体作用机制不明^[1]。黄酮类化合物是较早发现的具有较好抗肿瘤作用的物质，研究皂角刺总黄酮的抗肿瘤特点及其作用机制对于明确皂角刺的抗肿瘤作用及研发新型抗肿瘤药物具有重要意义。本实

表3 皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞肺转移小鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of TFGS on LLC experimental lung metastasis in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	转移小鼠 / 只	转移率 / %	肺结节数
模型	—	10	100	15.4 ± 4.1
皂角刺总黄酮	100	7	70	5.2 ± 3.5 ^{▲▲}
阿霉素	5	10	100	14.1 ± 4.5

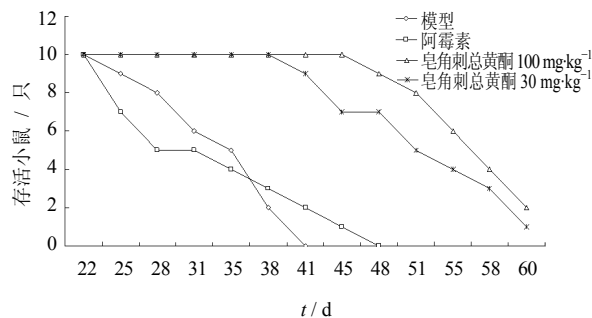


图5 皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌实验性肺转移小鼠生存时间的影响 ($n = 10$)

Fig. 5 Effect of TFGS on life span in mice with LLC experimental lung metastasis ($n = 10$)

验结果显示，皂角刺总黄酮能呈剂量相关地抑制体外培养的 Lewis 肺癌细胞增殖，降低细胞黏附，剂量相关地促进细胞间连接通讯，表明皂角刺总黄酮有确切的抗肿瘤作用和特殊的抗肿瘤机制。

细胞间连接通讯在细胞多种生理功能方面起重要作用，如协调细胞生长和分化、维持组织稳态和胚胎发育等，是细胞间通道的集合器，负责实体组织中邻近细胞间的离子和小分子直接交换，其功能紊乱与多种疾病包括肿瘤形成等直接相关^[12]。细胞间连接通讯依靠间隙连接蛋白形成的蛋白通道维

持,其中已知的重要间隙连接蛋白是 Cx43。细胞癌变时, Cx43 表达消失或结构和功能异常,使细胞间隙连接通讯受阻^[13]。上调 Cx43 可恢复细胞间连接通讯的正常化,阻止肿瘤生长和转移^[14-15]。本研究结果表明,皂角刺总黄酮能减少肺部肿瘤结节数,降低肺癌发生率,明显增强荷瘤小鼠肺部 Cx43 显色。进一步肯定了皂角刺总黄酮通过促进细胞通讯阻止肺癌发生的机制。

此外,皂角刺总黄酮对 Lewis 肺癌细胞皮下移植肿瘤及实验性肺转移均呈剂量相关性抑制作用,能延长荷瘤小鼠存活时间;实验期间小鼠生长状况良好,体质量增长正常,饮食和饮水无明显改变(数据略),相对于阿霉素虽阻止肿瘤生长,但不改变肿瘤转移的特点有明显优势。皂角刺总黄酮虽像传统的细胞毒类抗肿瘤药物一样可抑制肿瘤细胞增殖,但其对小鼠 L929 细胞增殖和黏附均无影响,提示皂角刺总黄酮对肿瘤细胞生长具选择性抑制作用。

中药治疗肿瘤的优势可能在于通过调节人体整体微环境铲除肿瘤发展的“土壤”,从而阻止肿瘤对正常机体的损害,实现长期带瘤生存^[16]。细胞间的正常信息传递是机体限制肿瘤发展的关键,而细胞间连接通讯的丧失使细胞间正常信息传递中断,给肿瘤解开了自由膨胀的“枷锁”^[17]。传统的化疗药物虽然可以直接杀死肿瘤细胞,但也进一步损害细胞间连接通讯,创造了继发致癌的机会^[18]。本实验中阿霉素抑制肿瘤生长的作用虽然优于皂角刺总黄酮,却不能像皂角刺总黄酮那样延长荷瘤小鼠存活时间。因此中药恢复细胞间的连接通讯,创造“健康微环境”的抗肿瘤机制,将在肿瘤预防和治疗中凸显优势。

参考文献

- [1] 陈万青,张思维,邹小农. 中国肺癌发病死亡的估计和流行趋势研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2010, 13(5): 488-493.
- [2] 张德发,杨晓娇. 浅谈中医药治疗肿瘤的作用与机制 [J]. 求医问药, 2012, 10(9): 60-61.
- [3] 王宇鹤,胥冰. 论中医阴阳平衡与 Th1/Th2 平衡 [J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(2): 5-6.
- [4] 陈海霞,肖顺汉. 皂角刺抗肿瘤作用有效成分研究进展 [J]. 四川生理科学杂志, 2012, 32(1): 35-37.

- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [6] 徐哲,陈晓辉,王漪檬,等. 皂角刺抗肿瘤活性成分的分选鉴定与活性测 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(2): 108-111.
- [7] 肖顺汉,刘明华,章卓,等. 皂角刺总黄酮抗肿瘤活性研究 [J]. 中成药, 2009, 31(7): 1112-1113.
- [8] 刘明华,姚健,李荣,等. 皂角刺总黄酮诱导结肠癌 HCT116 细胞凋亡的作用 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(6): 643-646.
- [9] 韩瑛,张爱青,张俊,等. 蟾蜍灵通过调节细胞间隙连接通讯抑制诱导的系膜细胞增殖 [J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(12): 982-987.
- [10] 孙婷,杜钢军,张亚平,等. 附子和蒲公英对乌拉坦诱导肺癌小鼠中医体征的影响 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(20): 3097-3101.
- [11] 李荣,肖顺汉,刘明华,等. 皂角刺抗肿瘤作用研究新进展 [J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(1): 29-31.
- [12] Klotz L O, Giehl K. Special Issue: Cell-cell communication in development and disease [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 524(1): 1.
- [13] Zhang D, Kaneda M, Nakahama K, et al. Connexin 43 expression promotes malignancy of HuH7 hepatocellular carcinoma cells via the inhibition of cell-cell communication [J]. *Cancer Lett*, 2007, 252(2): 208-215.
- [14] Geng S, Sun B, Liu S, et al. Up-regulation of connexin 43 and gap junctional intercellular communication by Coleus factor is associated with growth inhibition in rat osteosarcoma UMR106 cells [J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31(11): 1420-1427.
- [15] Liu Y, Zhang X, Li Z J, et al. Up-regulation of Cx43 expression and GJIC function in acute leukemia bone marrow stromal cells post-chemotherapy [J]. *Leuk Res*, 2010, 34(5): 631-640.
- [16] 杜钢军,时小燕. 治疗癌症的新途径: 靶向肿瘤微环境 [J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(5): 336-340.
- [17] Schlemmer S R, Kaufman D G. Re-establishment of gap junctional intercellular communication (GJIC) between human endometrial carcinomas by prostaglandin E (2) [J]. *Exp Mol Pathol*, 2012, 93(3): 441-448.
- [18] Kamat N, Khidhir M A, Jaloudi M, et al. High incidence of microsatellite instability and loss of heterozygosity in three loci in breast cancer patients receiving chemotherapy: a prospective study [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 373.