

双苓扶正抗癌胶囊对小鼠肝癌的影响

陈华圣¹, 许爱华¹, 王正兵¹, 贾玲昌², 翟 范²

(1 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001; 2 江苏省苏北人民医院, 江苏 扬州 225001)

摘要: 目的: 研究双苓扶正抗癌胶囊对小鼠肝癌的抑制作用及作用机制。方法: 建立小鼠肝癌(Heps)实体瘤及腹水癌模型, 观察抑瘤率和生命延长率, 并用流式细胞术(FCM)检测小鼠肝癌实体瘤的细胞周期及癌细胞凋亡率。结果: 双苓扶正抗癌胶囊在 15g 和 30g/kg 剂量下, 对小鼠肝癌实体瘤有显著抑制作用, 也能延长荷腹水型肝癌小鼠的生存期; 还可引起小鼠肝癌瘤细胞 S 期及 G₂-M 期细胞减少, G₀-G₁ 期细胞及凋亡细胞增加。结论: 双苓扶正抗癌胶囊对小鼠移植性肝癌具有抑制作用, 其作用机制可能与抑制细胞周期中 S 期 DNA 合成、干扰细胞的分裂增殖速度及诱导癌细胞凋亡有关。

关键词: 双苓扶正抗癌胶囊; 小鼠; 肝癌; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)01-0045-03

Experimental Study of Shuang Ling Fuzheng Kangai Capsule(SLFKC) on Inhibiting Heps of Mouse

CHEN Hua-sheng¹, XU Ai-hua¹, WANG Zheng-bing¹, JIA Lin-chang², ZHAI Fan²

(1. Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, China;

2. Jiansu Subei People Hospital, Yangzhou 225001, China)

Abstract: Objective: To study the inhibitory effect and mechanism in Heps of mouse with Shuang Ling Fuzheng Kangai Capsule(SLFKC). Method: Mouse model of the solid tumor and ascitic cancer were established. The inhibitory rate of solid tumor and the life prolongation rate of ascites cancer were observed. The cell cycle and apoptosis of the solid tumor cells were measured by Flow Cytometry(FCM). Results: SLFKC(15 and 30g. kg⁻¹. d⁻¹) had significant restraining effect on Heps of mouse and the life of ascites cancer bearing mice was also prolonged. SLFKC could decrease the number of cells in S and G₂-M phase and increase the number of cells in G₀-G₁ phase and the number of apoptosis cells. Conclusion: SLFKC has inhibiting effect on Heps of mouse. The anticancer mechanism was probably related to the synthesis of DNA during S phase, the interference with the speed of cell proliferation, and inducement of the apoptosis of cancerous cells.

Key words: Shuang Ling Fuzheng Kangai Capsule(SLFKC); mouse; Heps; Cell cycle; Apoptosis

双苓扶正抗癌胶囊(以下简称双苓胶囊)是在扶正抗癌冲剂的基础上改变剂型而成。已有的研究表明, 该复方对小鼠移植性肿瘤具有抑制作用, 对临床常用的化疗药物所致荷瘤小鼠的体重减轻及骨髓有核细胞数的减少有良好的改善作用, 对不同状态小鼠的免疫功能具有促进作用^[1-3]。本文报道其对小鼠肝癌(Heps)的影响。

1 材料

1.1 药物及试剂 双苓胶囊由土茯苓、茯苓、炙黄芪、生薏苡仁、制半夏等中药组成, 由江苏省苏北人

民医院提供, 试验时配制成每毫升含原生药 1g, 4℃冰箱备用。氟尿嘧啶(flourouracil, FU), 上海旭东海普药业有限公司出品, 批号: 990306。生理盐水(NS)自制。

1.2 动物与瘤株 ICR 小鼠, 由本校比较医学中心提供, 6~8 周龄, 雌雄兼用。小鼠肝癌(Heps)瘤株, 从江苏省肿瘤防治研究所引进, 于 ICR 小鼠腹腔内连续传代。

1.3 主要仪器及相关软件 FacsCalibur 流式细胞仪 细胞获取软件(Cellquest) 以及分析软件(Modifit LT) 皆由美国 BD(Becton Dickinson) 公司提供。

2 方法与结果

2.1 对小鼠肝癌(Heps)实体瘤的抑制作用 取 ICR

小鼠40只,雌雄各半,在无菌环境中将每只小鼠常规皮肤消毒后于右前肢腋下皮下接种小鼠肝癌细胞0.2ml(药含细胞 1×10^8 /ml),24h后将小鼠按性别和体重随机平均分为4组,按每10g小鼠体重0.3ml灌胃给药,对照组灌服等容积NS,双苓组剂量为生药剂量(下同)。每天1次,连续10d,第11d处死小鼠,剥瘤称重,计算抑瘤率,并进行 t 检验。结果见表1。

表1 对小鼠肝癌(Heps)实体瘤的抑制作用($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	瘤重 ($\bar{x} \pm s$, g)	抑瘤率 (%)
NS	-	1.54 $\pm$ 0.20	-
FU	0.02	0.98 $\pm$ 0.15***	36.4
双苓组	15	0.96 $\pm$ 0.13***	37.7
双苓组	30	0.89 $\pm$ 0.16***	42.2

注:与NS组比较** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$

表1结果显示,双苓胶囊两个剂量组对小鼠肝癌实体瘤的生长皆有显著抑制作用,其抑瘤率皆大于30%,并具有统计学意义。

2.2 对小鼠肝癌(Heps)实体瘤细胞细胞周期及凋亡率的影响 取实验2.1中部分瘤块,分别用眼科剪刀剪碎,经200目不锈钢网筛过滤,制成单个细胞悬液,再用pH7.2的PBS离心洗涤2次后,边振荡边加入70%冷乙醇4ml固定,于4℃冰箱保存待测。检测前,先离心弃去乙醇,再用PBS洗涤数次除尽乙醇,将细胞重悬于碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)染液中(含PI 20 μ g/ml, Rnase A 0.25mg/ml)染色30min后,按文献[4]方法收集细胞,用Facsclibur流式细胞仪检测,并用美国BD公司提供的相关软件将所得数据进行曲线拟合分析,计算相应的DNA含量,根据DNA含量的变化,得出细胞周期中各期细胞(G_0 - G_1 期, S期, G_2 -M期)的百分比及细胞凋亡(Apoptosis)百分比。结果见表2。

表2 对小鼠肝癌(Heps)细胞周期及凋亡率的影响($\bar{x}$, $n=3$)

组别	剂量 (g/kg)	G_0 - G_1 期 (%)	S期 (%)	G_2 -M期 (%)	Apoptosis (%)
NS	-	44.3	43.7	12.0	8.4
双苓组	15	77.6	19.0	3.4	63.2
双苓组	30	71.9	22.5	5.7	85.3

表2结果显示,双苓胶囊两个剂量组与对照组比较,S期及 G_2 -M期细胞比例皆有所减少, G_0 - G_1 期细胞则显著增加。两个剂量组均有诱导肝癌(Heps)

细胞凋亡的作用。

2.3 对荷腹水型肝癌(Heps)小鼠生存期的影响:取雌性ICR小鼠40只,于无菌环境中将每只小鼠常规皮肤消毒后腹腔内接种肝癌细胞0.2ml(约含细胞 1×10^8 /ml),分组及给药同实验2.1,每天1次,连续10d后停药,正常饲养,定时观察并记录小鼠死亡时间,计算其生存时间和生命延长率,并进行 t 检验。结果见表3。

表3 对荷腹水型肝癌(Heps)小鼠生存期的影响($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	生存时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	生命延长率 (%)
NS	-	12.0 $\pm$ 1.4	-
FU	0.02	15.3 $\pm$ 2.3**	27.5
双苓组	15	14.8 $\pm$ 1.2***	23.3
双苓组	30	15.5 $\pm$ 1.9***	29.2

表3结果显示,双苓胶囊两个剂量组能不同程度地延长荷腹水型肝癌小鼠的生存期,与NS组比较,具有统计学差异。

3 讨论

本研究结果显示,双苓胶囊在15 30g/kg剂量下灌胃给药,对小鼠移植性肝癌(Heps)实体瘤具有显著抑制作用,也能延长荷腹水型肝癌(Heps)小鼠的生存时间。结合以往的研究结果^[1]认为,双苓胶囊对包括肝癌在内的多种动物肿瘤具有抑制作用。

本实验在观察双苓胶囊抑制小鼠肝癌实体瘤生长的同时,同步检测了双苓胶囊对该实体瘤细胞细胞周期的影响及诱导细胞凋亡的作用。结果表明,双苓胶囊可使 G_0 - G_1 期细胞增加,而S期和 G_2 -M期细胞减少,提示该方能抑制小鼠肝癌细胞S期DNA合成,干扰蛋白质代谢,从而抑制瘤细胞的分裂增殖速度。这些将为双苓胶囊抗肿瘤机制提供部分理论依据。

细胞凋亡(Apoptosis)或称程序性细胞死亡(Programmed cell death, PCD),是受基因控制的一种主动性细胞自杀过程^[5],在肿瘤增殖细胞群中,进入凋亡程序的细胞增多,则肿瘤生长速度将会减慢,这是近年来倍受重视的药物抗肿瘤机制。本研究结果显示,双苓胶囊两个剂量组皆能提高小鼠肝癌细胞凋亡率,提示诱导凋亡可能是其抗肿瘤作用的机制之一,尚待进一步研究。

(下转第48页)

(上接第 46 页)

参考文献:

- [1] 陈华圣, 许爱华, 项晓人, 等. 扶正抗癌冲剂抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 1995, 6(1): 27-31.
- [2] 陈华圣, 许爱华, 顾维戎, 等. 扶正抗癌冲剂增强小鼠免疫功能的实验研究[J]. 南京中医药大学学报, 1995, 11(2): 76-78.
- [3] 陈华圣, 许爱华, 王玲, 等. 扶正抗癌冲剂对环磷酰胺所

致小鼠机体损伤的影响[J]. 河北中医, 1998, 20(2): 126-127.

- [4] Nicoletti I, Migliorati G, Pagliacci MC, Grignani F and Riceardi CA. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry[J]. J Immunol Methods, 1991, 139: 271.
- [5] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a Basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics [J]. Br J Cancer, 1972, 26: 239.