

文章编号: 1004-616X(2004)01-0033-03

· 研究简报 ·

保肺消瘤胶囊制剂抗肺癌的药效学研究^①李煜¹, 杨素霞², 周淑珍³, 刘国廉³

(1. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013; 2. 解放军总医院泌尿外科, 北京 100850; 3. 北京市博莱特医药技术有限公司, 北京 100850)

【摘要】背景与目的: 研究保肺消瘤胶囊的抗肺癌作用。材料与方法: 应用体外细胞抑瘤模型及荷瘤裸鼠抑瘤模型研究该药的抗肿瘤作用。结果: 通过荷瘤(肺腺癌)裸鼠的药效学研究表明, 保肺消瘤胶囊在剂量 80~320 mg/kg 范围内, 有较好的抑瘤效果, 其抑瘤率达 48% 以上, 其中 160 mg/kg 剂量的抑瘤效果接近于 5-Fu 的抑瘤效果。体外人肺腺癌细胞模型的观察结果, 亦证实了保肺消瘤胶囊有较好的抑制癌细胞增长的效果, 使细胞生长速度减缓, 有丝分裂指数减低, 并使细胞结构破坏。体外实验结果与动物模型的结果相一致。结论: 体外及体内实验表明保肺消瘤胶囊具有较好的抑瘤作用。

【关键词】保肺消瘤胶囊; 肺腺癌; 裸鼠

中图分类号: R979.13

文献标识码: A

Experimental Study of Anti-tumor Effect of Baofeixiaoliu Capsule on Lung AdenocarcinomaLI Yu¹, YANG Su-xia², ZHOU Shu-zhen³ et al

(1. Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China; 2. General Hospital of PLA, Beijing 100850, China; 3. Beijing Bright Limited Company of Medicine and Drug Techniques, Beijing 100850, China)

【ABSTRACT】BACKGROUND & AIM: To study the anti-tumor effect of "Baofeixiaoliu" capsule. MATERIAL AND METHODS: Using tumor inhibition model *in vitro* and *in vivo* to study the anti-tumor effect. RESULTS: It was showed

^① 收稿日期: 2003-04-14; 修订日期: 2003-06-29

作者简介: 李煜(1968-), 女, 北京市人, 助理研究员, 硕士, 研究方向: 卫生毒理学。

E-mail: liyu-tg@yahoo.com.cn

- cocoa flavanols and procyanidin oligomers on free radical-induced erythrocyte hemolysis[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2002, 227(5): 321-329.
- [4] Dauer A, Metzner P, Schimmer O. Proanthocyanidins from the bark of *Hamamelis virginiana* exhibit antimutagenic properties against nitro-aromatic compounds[J]. *Planta Med*, 1998, 64(4): 324-327.
- [5] Engelbergs J, Thomale J, Rajewsky MF. Role of DNA repair in carcinogen-induced rats mutation [J]. *Mutat Res*, 2000, 450(1-2): 139-153.
- [6] Zhao M, Zimmerman A. Apoptosis in human hepatocellular carcinoma and in liver cell dysplasia is correlated with P53 protein immunoreactivity [J]. *J Clin Pathol*, 1997, 50(5): 394-398.
- [7] 陈莉, 陈玉泉, 施玉新, 等. 大鼠肝癌发生过程中癌基因和抑癌基因的表达[J]. *肝脏*, 2000, 5(2): 93-94.
- [8] 白咸勇, 贾秀红, 成令忠, 等. 大鼠肝癌发生过程中 P53 的突变和甲胎蛋白的表达 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 1997, 6(2): 195-197.
- [9] 栗世如, 钟进义, 孙丰运. 葡多酚对放射性 DNA 损伤防护作用的体内外研究 [J]. *中华预防医学杂志*, 2000, 34(3): 132-133.
- [10] 刘毓谷. *卫生毒理学基础* [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 215-216.
- [11] 孙志广, 赵万洲, 陆茵, 等. 葡萄籽原花青素对环磷酰胺诱发小鼠骨髓多染红细胞微核形成的抑制作用及其机理探讨 [J]. *时珍国医国药*, 2000, 11(5): 386-387.
- [12] Robichova S, Slamenova D. Effects of vitamins C and E on cytotoxicity induced by N-nitroso compounds, N-nitrosomorpholine and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Caco-2 and V79 cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2002, 182(1): 11-18.

that "Baoganxiaoliu" capsule between the doses of 80 and 320 mg/kg, had significantly inhibitory effect on nude mice bearing lung adenocarcinoma. The inhibition rate was above 48%. The inhibition rate of the dose of 160 mg/kg was near that of 5-Fu. It was also showed *in vitro* that after exposure to "Baofeixiaoliu" capsule, the growth of lung adenocarcinoma cells was inhibited, mitotic index was reduced and the structure of the cells was destroyed. The experimental result *in vitro* was in correspondence with that of animal model. **CONCLUSION:** "Baofeixiaoliu" capsule had tumor inhibition effect both *in vitro* and *in vivo*.

【KEY WORDS】 Baofeixiaoliu capsule; lung adenocarcinoma; nude mice

肺癌的发病率与死亡率均较高,在恶性肿瘤死亡率中占首位。但目前医疗水平,除早期手术外,尚无特别有效的疗法。祖国医药学是个伟大的宝库,挖掘中药中有效抗癌药,无疑对治疗肿瘤是个重大贡献。保肺消瘤胶囊制剂(简称保肺素)是根据中医“清热解毒、活血化瘀、化痰散结、扶正消瘤”的理论而组成的中药复方、经精练提取加工制成的纯中药制剂,其主要成分有:半枝莲、白英、天龙、蜈蚣、番术鳖等20多种中药,对肺癌有较好的疗效。本研究通过荷瘤(肺腺癌)裸鼠及体外人肺腺癌细胞系模型,观察保肺消瘤胶囊制剂对肺癌的抑瘤效果,为阐明其抗肺癌作用机制及临床应用提供实验资料。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人肺腺癌细胞系 (AGTZ-a): 北京肺结核与胸部肿瘤研究所建株。培养液为含20%小牛血清 RPMI1640 培养基,另加适量 HEPES、抗菌素,用0.25%胰蛋白酶(Dife 1:250)消化、分散细胞,2~3 d 传代一次。

1.2 药剂

1.2.1 保肺消瘤胶囊制剂(简称保肺素) 每粒胶囊含保肺素 250 mg。整体动物实验用保肺素分别配成 8、16、32 mg/ml 使用。体外细胞实验用的保肺素经双蒸水(pH 7.0)于 4℃浸泡 2 d 后,抽滤除菌,制成工作液。工作液中保肺素的相当浓度为 40 mg/ml。

1.2.2 氟尿嘧啶(5-Fu) 江苏省南通市第二制药厂生产,整体动物实验配成 0.5 mg/ml 使用,为阳性对照药。

1.3 动物 BALB/c 裸小鼠,由军事医学科学院实验动物中心提供。体重 18~20 g,雌性。动物饲养于灭菌隔离盒内。每盒 5 只动物,饮食消毒的水及特制饲料,室温保持在(25±1)℃。

1.4 实验方法

1.4.1 荷瘤裸鼠模型 AGTZ-a 细胞悬液 $1 \times 10^7 / 0.2$ ml,用 4 号针头,1ml 注射器,注入动物背部一侧皮下,1 周左右,可见局部形成瘤块,选择 0.5 cm 以上瘤体直径的裸鼠作为实验对象,随机分组。分阴性对照组、阳性对照组和药物组,每组 10 只。阴性对照组给消毒蒸馏水,阳性对照组给以 5 mg/kg 5-Fu,药物组分别给以 80、160 或 320 mg/kg 保肺素(分别是人每天口服剂量的 1 倍、2 倍和 4 倍),按 0.1 ml/kg 经口灌胃给药。连续给药 28 d,28 d 后活杀,称量动物体重、瘤体重。根据瘤体重量,按下式计算药物的抑瘤率^[1]:

$$\text{抑瘤率}(\%) = \frac{\text{阴性对照组瘤体重} - \text{给药组瘤体重}}{\text{阴性对照组瘤体重}} \times 100\%$$

1.4.2 体外细胞模型 采用细胞生物学方法^[2],观察保肺素的剂量-存活曲线,细胞生长倍数、有丝分裂指数(MI)及细胞形态等改变。

2 结果

2.1 瘤体重量变化及抑瘤率 如表 1 所示,5-Fu 及保肺素各剂量治疗后,动物活动正常,无死亡。荷瘤(肺腺癌)裸鼠于治疗前及治疗后 28 d 活杀时的体重(含瘤重)各剂量无明显变化($P > 0.05$)。治疗组各组动物瘤体重量明显低于阴性对照组($P < 0.01$),抑瘤

表 1. 保肺素对裸鼠移植性人肺癌的抑瘤效果

Table 1. Inhibitory effect of Baofeisu on nude mice of lung adenocarcinoma

Group mg · kg ⁻¹	Average weight before treatment ($\bar{x} \pm s, g$)	Average weight after treatment ($\bar{x} \pm s, g$)	Tumor weight(g)	Inhibitory rate(%)
control	21.9 ± 3.84	20.6 ± 1.70	1.19 ± 0.23	--
5-Fu	20.5 ± 2.24	20.1 ± 1.44	0.36 ± 0.01	69.74
Baofeisu 80	21.3 ± 1.59	21.5 ± 2.53	0.62 ± 0.20	47.90
160	21.8 ± 3.12	21.5 ± 0.69	0.39 ± 0.15	67.23
320	20.4 ± 2.54	20.2 ± 1.19	0.24 ± 0.07	79.83

率阳性对照组为 69.74%，保肺素各剂量组从低到高分别为 47.90%、67.20% 和 79.83%，抑瘤效果与其剂量相关，其中剂量为 160 mg/kg 时，抑瘤效率与 5-Fu 的抑瘤效率相近。

2.2 保肺素对体外肺腺癌细胞增殖的影响

2.2.1 剂量 - 存活曲线 终浓度(10、25、50、100、

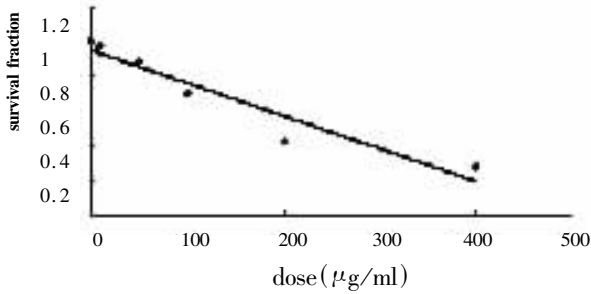


图 1. 保肺素对人肺腺癌细胞(AGTZ-a)作用的剂量 - 存活曲线
Figure 1. Dose - survival curve of Baofeisu on human adenocarcinoma cells(AGTZ-a)

200 及 400 $\mu\text{g/ml}$) 保肺素处理的肺腺癌细胞,其克隆形成率随药物浓度增加而降低,二者呈负相关,如图 1 所示。拟合曲线为 $Y = -0.0019X + 0.9473$, $R = 0.9192$ 。当细胞存活分数为 0.5 时,保肺素终浓度为 235 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.2.2 细胞增长速度、有丝分裂指数 经保肺素(200 $\mu\text{g/ml}$) 和 5-Fu(2 $\mu\text{g/ml}$) 处理的细胞增长速度减缓,观察 5 d,每天细胞增长倍数见表 2,经二者处理的细胞增长倍数在第 4、5 d 与阴性对照组比较均有非常显著的差别($P < 0.01$)。5-Fu 与保肺素可明显抑制癌细胞有丝分裂,药物处理 5 d 有丝分裂指数分别为阴性对照组的 34.4% 和 37.6%。

2.2.3 细胞形态 保肺素作用后,早期肺腺癌细胞肿胀,核增大,以后几天细胞膜增厚,形态不规则,核仁模糊,胞浆出现空泡;在高浓度保肺素(如 400 $\mu\text{g/ml}$) 作用下,细胞退行性变、破裂。显示保肺素对肿瘤细胞的杀伤作用。5-Fu 处理后,细胞也出现肿胀、

表 2. 保肺素对 AGTZ-a 细胞增殖能力的影响

Table 2. Effect of Baofeisu on proliferation ability of AGTZ-a cells

group	dose $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	multiple of cell growth					mitotic index(%)
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	
control	0	1.3 ± 0.6	4.1 ± 0.9	5.3 ± 1.0	14.3 ± 0.6	32.4 ± 3.4	62.5 ± 3.5
5-Fu	2.0	1.8 ± 0.5	2.0 ± 0.6 *	4.2 ± 1.0	6.4 ± 0.7 * *	16.0 ± 1.7 * *	21.5 ± 3.5 * *
Baofeisu	200	1.8 ± 0.6	2.4 ± 1.2	5.4 ± 1.1	12.9 ± 0.6 * *	17.5 ± 2.3 * *	23.5 ± 0.7 * *

compared with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

胞浆空泡化等现象。

3 讨论

通过荷瘤(癌)裸鼠进行药效学研究,结果表明,动物在治疗期间活动正常,无死亡。治疗前及治疗后 28 d 活杀时体重(含瘤重)各剂量组无明显变化($P > 0.05$),表明本实验所用各剂量的保肺素及 5-Fu 在治疗期间,对动物的食欲、体重增长无明显影响,无明显毒性。保肺素在剂量 80~320 mg/kg 范围内,有较好的抑瘤效果,其抑瘤率达 50%~80%,其中剂量为 160 mg/kg 时,对肺癌抑瘤效果与 5-Fu 阳性抗癌药的抑瘤率相当。保肺素的抑瘤率似与其剂量大

小有关。体外人肺腺癌细胞模型的观察结果,亦证实了保肺素有较好的抑制癌细胞增长的效果,使细胞增长速度减缓、有丝分裂指数减低,并使细胞结构破坏。同时说明药物的浸提液已将药物有效成分抽提出,体外实验结果与动物模型的结果相一致。

参考文献:

- [1] 周俊,程维兴,许永华,等. 蛇床子素对肺腺癌、肺鳞癌生长抑制作用的实验研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2002, 14(4): 231-233.
- [2] 刘国廉,张建军,李希亮,等. 血卟啉衍生物对 X 线照射的 HeLa 细胞增敏效应[J]. 实验生物学报, 1986, 19(1): 1-7.