

参桃软肝丸抗肿瘤实验及其诱导肿瘤细胞凋亡的研究

陈林香,戴馨仪,周岱翰,陈雪馨,陈瑶

摘要:目的 探讨参桃软肝丸对肝癌的抑制作用及诱导细胞凋亡作用。方法 分别将参桃软肝丸以 30g/kg、20g/kg 和 10g/kg、FT-2070.2 g/kg、生理盐水 0.2ml/10 g, 对腹水型肝癌小鼠灌胃给药。结果 各实验组与生理盐水对照组相比较有明显抑瘤作用,有诱导肝癌细胞凋亡。结论 参桃软肝丸可能是通过抑制瘤细胞增殖及诱导肿瘤细胞凋亡,从而达到抗肿瘤作用。

关键词:参桃软肝丸;抗肿瘤;诱导凋亡;小鼠移植性肝癌

中图分类号:R73-35⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8578(2002)06-0473-02

Anti-hepatocarcinoma and inducin g tumor cell apoptosis experiment of Shentaoruan gan pill in vivo

CHEN Lin -xiang, DAI Xin -yi, ZHOU Dai -han, et al

Tumor Institute , Guangzhou Univ of TCM , Guangzhou 510405 , China

Abstract: **Objective** To investigate the anti-hepatocarcinoma function of Shentaoruan gan pill. **Methods** Three groups of rats with ascites hepatocarcinoma were administered Shentaoruan gan pill in the doses of 30g/kg, 20g/kg and 10g/kg respectively, two control groups were administered FT-2070.2 g/kg and saline 0.2ml/10 g respectively. **Results** We observed that Shentaoruan gan pill had pronounced effects of inhibiting tumor cell proliferation and inducing tumor cell apoptosis. **Conclusion** The results suggest that the mechanism of anti-hepatocarcinoma of Shentaoruan gan pill may be afforded by inducing tumor cell apoptosis.

Keywords: Shentaoruan gan pill; Inhibiting tumor; Inducing apoptosis; Rat transplanting tumor

参桃软肝丸由生晒参、丹参、桃仁、当归等药材组成的复方制剂,具有活血化瘀、软坚散结、扶正固本等攻效。经临床试用对肝癌有较好的疗效,本文以动物实验探讨参桃软肝丸抗肿瘤作用,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 瘤株及动物

小鼠肝癌 H₂₂,由中山医科大学肿瘤研究所提供,本所移植传代。实验时在无菌条件下用生理盐水稀释成癌细胞悬液,浓度为 3 × 10⁶个细胞/ml。NIH 系小鼠 18~22g,雌雄兼用,由本校实验动物中心提供。

1.2 药物

参桃软肝丸,每丸含生药 0.3 g,由广州中医药大学第一附属医院加工,实验时用蒸馏水配制成所需浓度。呋喃氟脲嘧啶(FT-207),济南制药厂产品,批号 920207。

1.3 小鼠腹腔常规接种肝癌₂₂细胞悬液 0.2ml,次日动物随机分 5 组。每天分别灌胃参桃软肝丸 30g/kg、20g/kg、10g/kg、FT-2070.2/g、生理盐水 0.2ml/10g,连续给药 10d,停药次日处死。抽腹水测腹水量,按计数 RBC 方法^[1],计算每升所含肿瘤细胞数。

1.4 光镜检查

腹水涂片,瑞氏吉姆氏染色,观察肿瘤细胞形态变化,观察 20 个高倍视野的细胞核分裂数,并求每个高倍视野的核分裂数。腹水涂片,甲基绿派洛宁染色^[2],数 200 个肿瘤细胞,根据凋亡细胞的特点,计算凋亡细胞百分率^[3]。

2 结果

2.1 参桃软肝丸能明显抑制小鼠肝癌₂₂腹水形成和细胞增殖,如表 1 所示,参桃软肝丸各剂量组腹水量、肿瘤细胞数及肿瘤细胞核分裂数,均明显减少,与生理盐水对照组比较均有显著差异,以高剂量组为佳(P<0.001)。

2.2 参桃软肝丸能诱导肿瘤细胞凋亡,如表 2 所示,参桃软肝丸各剂量组肿瘤细胞凋亡率第 1 批分别为 9.45%、7.65%、6.6%,第 2 批分别为 9.2%、6.2%、

收稿日期:2001-09-15;修回日期:2001-10-26

基金项目:广东省中医药管理局基金资助项目(97177)

作者单位:510405 广州中医药大学第一临床医学院中医肿瘤研究所

5.1%, 高剂量组肿瘤细胞凋亡率明显高于其他剂量组。

表 1 参桃软肝丸对小鼠腹水型肝癌(H₂₂)细胞的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	腹水量(ml)		H ₂₂ 细胞($10^{12}/L$)		H ₂₂ 细胞核分裂数(个)	
高剂量组	30/k g	3.53 \pm 0.96 ^{***#}	3.67 \pm 1.67 ^{***#}	0.177 \pm 0.05 ^{***#}	0.19 \pm 0.008 ^{***#}	6.5 \pm 1.72 ^{***#}	6.7 \pm 1.67 ^{***#}
中剂量组	20/k g	4.31 \pm 1.93 ^{***#}	3.86 \pm 1.83 ^{***#}	0.16 \pm 0.03 ^{***#}	0.29 \pm 0.11 ^{***#}	6.9 \pm 1.52 ^{***#}	7.1 \pm 2.13 ^{***#}
低剂量组	10/k g	4.42 \pm 1.48 ^{***#}	4.93 \pm 1.48 ^{***#}	0.20 \pm 0.07 ^{***#}	0.33 \pm 0.40 ^{***#}	7.6 \pm 0.97 ^{***#}	8.2 \pm 2.15 ^{***#}
F-207 组	0.2 g/k g	2.86 \pm 0.87 ^{***}	2.84 \pm 0.90 ^{***}	0.15 \pm 0.08 ^{***}	0.26 \pm 0.08 ^{***}	5.3 \pm 1.16 ^{***}	5.4 \pm 1.84 ^{***}
生理盐水组	0.2ml/10 g	5.96 \pm 1.38	6.13 \pm 2.40	0.27 \pm 0.05	0.43 \pm 0.09	9.4 \pm 2.11	10.3 \pm 1.49

注:与生理盐水组比较: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。与 FT-207 组比较: # $P>0.05$; ## $P<0.05$; ### $P<0.01$; #### $P<0.001$

表 2 参桃软肝丸对肝癌(H₂₂)细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂 量	H ₂₂ 细胞凋亡率(%)	
高剂量组	30g/k g	9.5 \pm 2.89 ^{***###}	9.2 \pm 1.62 ^{***#}
中剂量组	20g/k g	7.7 \pm 3.77 ^{***#}	6.9 \pm 1.73 ^{***#}
低剂量组	10g/k g	6.6 \pm 1.57 ^{***#}	5.1 \pm 1.10 ^{####}
FT-207 组	0.2 g/k g	14.2 \pm 3.71 ^{***}	11.1 \pm 3.48 ^{***}
生理盐水组	0.2ml/10 g	4.4 \pm 2.00	3.7 \pm 1.16

注:与生理盐水组比较: * $P<0.05$; * $P<0.01$; * $P<0.001$ 。与 FT-207 组比较: # $P>0.05$; # $P<0.05$; ### $P<0.01$; #### $P<0.001$

2.3 光镜观察

各用药组肿瘤细胞形态略为规则,肿瘤细胞核分裂数明显减少,部分肿瘤细胞体积缩小,核固缩,染色质浓缩边集,有的染色质断裂形成大小不一的胞内核小体,小部分细胞核膜消失,胞浆浓缩,有空泡形成。同时还可以看到肿瘤细胞周围有大量的淋巴细胞浸润。

3 讨论

本研究发现,参桃软肝丸高、中、低剂量组腹水量和肿瘤细胞数以及细胞核分裂数均明显低于生理盐水组,部分肿瘤细胞体积缩小,核固缩,染色质浓缩边集,有的肿瘤细胞核断裂形成大小不一的胞内核小体,有的细胞核膜消失。肿瘤细胞凋亡率明显升高,与生理盐水组比较有显著差异($P<0.05$ 或 0.01 、 0.001),同时还发现肿瘤间质淋巴细胞明显增多。提示:本药有抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,增强机体免疫

功能的作用。

细胞增殖与凋亡是机体维持自身稳定的基础,大量研究表明:恶性肿瘤无限增殖与肿瘤细胞凋亡减少和分裂增加有关。许多实验已证实细胞凋亡的减少可引起肿瘤的发生,并且通过逃避凋亡而促进肿瘤细胞的恶性转化及演变和进展。本实验结果表明,参桃软肝丸可能是通过抑制肿瘤细胞核分裂,使肿瘤无限增殖得到控制,另外,还可能通过诱导肿瘤凋亡,使恶性肿瘤细胞凋亡减少现象得到调整。从而达到抗肿瘤作用。

参考文献:

[1] 应妩. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社, 1992.4.
[2] 凌启. 实用病理特殊染色和组化技术[M]. 广州:广东高等教育出版社,1989.195.
[3] 许良中. 实用肿瘤病理方法学[M]. 上海:上海医科大学出版社, 1997.611.

(李奇明校对)

(上接第 472 页)

综上所述,PT、APTT、TT 是多种凝血因子、TF、AT-III 活性共同作用的结果,只在肝癌晚期才表现出异常,而 FIB、TF、AT-III 在肝癌的发生、发展、恶化过程中均有明显变化,可作为肝癌患者病情进展,治疗效果及预后较敏感和有效的判断指标。TF 活性升高,AT-III 活性降低与肿瘤的增殖和高凝密切相关。

参考文献:

[1] 雷杰,左宝昌,韩志国,等. 原发性肝癌 MRI 的特异性诊断[J]. 临床肝胆病杂志,1999,15 (1):44-45.
[2] 王振义,李家增,阮长耿. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995.518-519.
[3] 王学锋,赵维莅,璩斌,等. 肝病患者凝血及纤溶分子标志物变化[J]. 中华检验杂志,2000,23 (6):331-333.
[4] 储海燕,王鸿利,王学锋,等. 病毒性肝炎患者凝血纤溶系统的研究[J]. 血栓与止血学,2001,7 (2):62-66.

(李奇明校对)