

扶正方对 LA795 转移性肺癌小鼠的抑瘤作用研究

★ 刘海涛 (华北煤炭医学院血液科 唐山 063000)

★ 戴锡孟 (天津中医学院 天津 300000)

摘要:目的:探讨扶正方抗肿瘤作用及其机制。方法:通过给小鼠腋下注射肿瘤组织匀浆液复制转移 LA795 小鼠肺癌模型,观察各组小鼠肿瘤大小、生存期,同时应用放免法检测小鼠外周血 IL-2、TNF- α 的含量。结果:(1)各治疗组小鼠肿瘤重量较模型组下降($P<0.05$),生存期延长,而以中药加化疗组疗效最佳;(2)中药可上调肿瘤组小鼠外周血 TNF- α 和 IL-2 的含量。结论:扶正方有抑制肿瘤和延长荷瘤小鼠生存期的作用,其机制与调节免疫功能有关。

关键词:中药;肺癌;免疫调节;细胞因子

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

肺癌又称原发性支气管癌(bronchogenic carcinoma),为最常见的肺部恶性肿瘤。据 1998 年全国肿瘤流行病学会议资料表明:肺癌的发病率和死亡率均占我国各地恶性肿瘤之首^[1]。肺癌目前主要采用手术、放疗、化疗以及生物治疗等方法。由于尚无有效的肺癌早期诊断方法,肺癌的疗效并不理想。为了进一步提高肺癌的疗效,采用综合治疗方案已成为目前公认的治疗模式。

临床和实验研究已证实,中医药能够提高肺癌患者的生存质量,并能延缓肿瘤复发和转移,延长患者的生存期,从而成为肺癌综合治疗方案中的重要组成部分。我们应用扶正方治疗肺癌取得了较好的疗效,为进一步探讨其作用机制,我们采用 LA795 肺癌小鼠模型,观察了该方与化疗药的协同作用,并从免疫调节角度研究了该方的部分作用机制。

1 实验材料

1.1 动物及瘤株 实验动物采用近交 T739 小鼠,雌雄各半,体重(18.0 ± 2.0)g;瘤株为 LA795 小鼠肺癌瘤株,两者均由天津市医药研究所提供。

1.2 药物 环磷酰胺:200 mg/支,上海第十二制药厂生产,批号:沪卫药准字(1995)第 012034 号,以生理盐水配成 6 mg/mL 浓度的溶液待用。

扶正方:由黄芪、当归、黄精等药物组成,按比例加水煎煮,浓缩至 2 g/mL,分装小瓶后于 4℃ 冰箱贮存备用。小鼠的给药剂量按药理学马氏定理计算,均以成人剂量/体重的 20 倍灌胃^[2]。

2 实验方法

2.1 动物造模 断头处死 LA795 肺癌小鼠,无菌

条件下取局部肿瘤组织并称重,将瘤组织(g)与生理盐水(mL)以 1:20 的比例混和匀浆(镜下计数细胞密度为 1.5×10^7 /mL),给每只 T739 小鼠的腋部皮下接种肿瘤匀浆液 0.2 mL 造模^[3]。

2.2 动物分组 将造模小鼠分成两大组:一大组于造模第 13 天处死小鼠观察肿瘤抑制率,另一大组观察小鼠自然生存期。每大组造模小鼠随机分成 4 组,具体如下:(1)模型组:接种后 24 小时开始每天灌服生理盐水 0.4 mL/只,至剖杀或自然死亡为止;从接种后第 6 日开始每天腹腔注射生理盐水 0.2 mL/只,连续 5 天。(2)化疗组:接种后 24 小时开始每天灌服生理盐水 0.4 mL/只,至剖杀或自然死亡为止;从接种后第 6 日开始每天腹腔注射环磷酰胺 0.2 mL/只,连续 5 天。(3)中药组:接种后 24 小时开始每天灌服中药煎剂 0.4 mL/只,至剖杀或自然死亡为止;从接种后第 6 日开始每天腹腔注射生理盐水 0.2 mL/只,连续 5 天。(4)化疗加中药组:接种后 24 小时开始每天灌服中药煎剂 0.4 mL/只,至剖杀或自然死亡为止;从接种后第 6 日开始每天腹腔注射环磷酰胺 0.2 mL/只,连续 5 天。此外,检测免疫因子时加设正常对照组,给每只 T739 小鼠的腋部皮下接种生理盐水 0.2 mL,其他处理同模型组。

2.3 抑瘤率及体重比值 造模第 13 天断头处死小鼠,剥取瘤块,称重,计算抑瘤率[抑瘤率=(治疗组肿瘤重量-模型组肿瘤重量)/模型组肿瘤重量]^[4]。同时称取小鼠体重,计算各小鼠与造模时的体重比值。

2.4 生存期 观察各组小鼠的自然死亡时间并记录。

2.5 IL-2 和 TNF- α 的检测 采用放免检测试剂盒(均由海军总医院放射免疫研究所提供),由天津南开医院同位素室检测。实验第 13 天小鼠眼球取血 0.5 mL,4 000 r/min 离心 10 分钟后,以移液管吸取上清放入 0.5 mL 离心管,于 -20°C 冰箱保存,备用检测。

2.6 统计分析 各组数据均采用 SPSS10.0 统计软件进行分析。进行单因素方差分析。

3 实验结果

3.1 抑瘤率及体重比值 见表 1。

表 1 肿瘤抑制率($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	体重比值	肿瘤重量/g	抑瘤率(%)
中药组	8	1.08 ± 0.06	$1.59 \pm 0.59^{**\Delta\Delta}$	41.76
化疗组	8	0.99 ± 0.03	$1.41 \pm 0.37^{**\Delta}$	48.35
中药加化疗组	8	0.96 ± 0.07	$0.70 \pm 0.29^{**}$	74.36
模型组	8	1.01 ± 0.09	$2.73 \pm 0.71^{\Delta\Delta}$	

注:与模型组相比, $*$ $P < 0.05$, $**$ $P < 0.01$;与化疗组加中药组相比, Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ 。下同。

结果显示,各组对小鼠体重影响无明显差异。中药组单用对肿瘤的生长有一定的抑制作用($P < 0.05$ 或 0.01),而化疗加中药组的疗效明显优于单用化疗组及中药组,有统计学差异($P < 0.05$)。

3.2 生存期 见表 2。

表 2 各实验组对小鼠生存期的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	生存期/d	生命延长率(%)
中药组	8	$25.50 \pm 3.08^{**}$	32
化疗组	8	$26.75 \pm 2.45^{**\Delta}$	39
中药加化疗组	8	$29.75 \pm 2.58^{**}$	
模型组	8	19.25 ± 1.83	

结果显示扶正方和化疗药均可延长肿瘤小鼠的生存期,而以化疗加中药组的生存期最长,与化疗组比较有统计学差异($P < 0.05$),提示中药在延长生存期方面与化疗药有协同作用。

3.3 外周血 IL-2 和 TNF- α 的检测 见表 3。

表 3 各实验组对外周血 IL-2 及 TNF- α 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-2/ng $\cdot$ mL $^{-1}$	TNF- α /ng $\cdot$ mL $^{-1}$
中药组	8	14.93 ± 3.27	5.27 ± 1.37
化疗组	8	$11.95 \pm 3.45^{\#}$	$4.32 \pm 1.13^{\#}$
中药加化	8	14.01 ± 1.60	$3.88 \pm 1.01^{\#\#}$
模型组	8	$11.34 \pm 2.71^{\#}$	$3.91 \pm 0.96^{\#\#}$
正常组	8	16.09 ± 2.21	6.01 ± 1.39

注:与正常组相比, $\#$ $P < 0.05$, $\#\#$ $P < 0.01$ 。

结果显示,模型组外周血 IL-2 和 TNF- α 水平较正常组下降,有显著性差异($P < 0.01$)。扶正方可提高外周血的 IL-2 和 TNF- α 水平,而化疗组对

外周血的 IL-2 和 TNF- α 水平无影响。中药加化疗组仍可升高,与模型组和化疗组比较均有显著性差异($P < 0.05$),说明扶正方升高 IL-2 的作用不受化疗药的抑制。

4 小结与结论

本实验结果显示早期应用扶正方,对转移性肺癌小鼠模型有一定的抗肿瘤作用,并可延长荷瘤小鼠的生存期。特别是扶正方与化疗药有明显的协同作用,疗效优于单用化疗药。

本实验发现扶正方可影响荷瘤小鼠外周血 IL-2 和 TNF- α 水平,说明扶正方抗肿瘤作用机制与调节免疫有关,其作用模式类似于生物反应调节剂,而不同于直接抑制肿瘤的化疗药物。一般认为肺癌病人不仅表现为细胞免疫功能的下降,而且存在免疫细胞因子的失调,如表现为 IL-2 的水平下降,IL-6 的水平升高^[5,6]。实验显示模型小鼠相对于正常对照小鼠有 IL-2 水平下调,而该方具有上调作用,并且与化疗药合用时仍有一定的免疫调节作用。这既是其本身抗肿瘤的作用机制之一,也是与化疗药发挥协同作用的可能机制。值得注意的是,造模组小鼠的 TNF- α 水平低于同系正常小鼠,与临床文献报道态性肿瘤病人血清中 TNF- α 水平较正常人升高并不一致,这是否与移植性肿瘤的本身生物学性状及肿瘤免疫反应的时相有关,有待于进一步的研究证实和探讨^[7]。实验结果显示中药同样具有调节 TNF- α 水平失衡的作用,可上调荷瘤小鼠 TNF- α 水平。由于 TNF- α 具有抑制肿瘤作用,因此扶正方可能通过影响 TNF- α 水平间接发挥抗肿瘤作用。

总之,实验结果提示中药的“扶正”与免疫调节密切相关,表明中医的“整体调节”和“扶正祛邪”在肿瘤治疗中有重要价值。

参考文献

- [1]李连第等. 中华中国恶性肿瘤死亡率 20 年变化趋势和近期预测分析[J]. 中华肿瘤杂志, 1997, 19(1): 3
- [2]苗明三主编. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1999. 143
- [3]孙文义, 马克韶, 李德华. T739 近交系小鼠可移植性肺腺癌(LA795)的实验研究[J]. 中国肿瘤临床, 1987, 14(5): 310
- [4]韩瑞. 抗癌药物研究与实验技术[M]. 北京: 中国医科大学、北京医科大学联合出版社, 1997. 298
- [5]赵凤芹, 刘铁梅, 李辉, 等. 肺癌病人外周血 IL-6、TNF- α 和 T 细胞亚群活性的研究[J]. 中国实验诊断学, 2001, 5(2): 83
- [6]Sergi Romagnani. Human Th1 and Th2 subset: doubt no more[J]. Immunol Today, 1991, 12(8): 256
- [7]赵凤芹, 刘铁梅, 李辉, 等. 肺癌病人外周血 IL-6、TNF- α 和 T 细胞亚群活性的研究[J]. 中国实验诊断学, 2001, 5(2): 83

(收稿日期: 2003-12-30)