

六种常用抗癌中药对肝癌细胞株 BEL-7402 的作用

★ 胡旭东 吴小江 邱宏 金如峰 (上海中医药大学 上海 201203)

摘要:目的:研究六种抗癌中药对肝癌细胞株 BEL-7402 增殖的抑制作用。方法:将 6 种临床上常用的抗肝癌中药通过水煎醇沉法制成中药制剂后,采用不同浓度直接加入培养液的给药方式,以 MTT 法测定肝癌细胞株 BEL-7402 的增殖情况。结果:白花蛇舌草(75 mg/mL、100 mg/mL)、半枝莲(100 mg/mL)具有显著抑制细胞增殖作用,且二者随着浓度的增大对细胞增殖的抑制作用逐渐增强,呈明显的量效关系;丹皮在 25 mg/mL 时明显促进细胞增殖,而在 100 mg/mL 时则有显著抑制作用;赤芍、生地、白芍对细胞增殖无抑制作用。结论:白花蛇舌草、半枝莲、丹皮具有较强的抑制肝癌细胞株 BEL-7402 增殖的作用。

关键词:抗癌;中药;BEL-7402;MTT 法

中图分类号:R 965.1 **文献标识码:**A

肝癌是常见的肝恶性肿瘤,中国肝癌死亡率为 10.09/10 万人,在男性中占癌症的第 3 位,在女性中占第 4 位,目前尚无根治的方法和药物。中医药

在抗击肝癌的过程中发挥了重要的作用,从中药中寻找有效的抗癌药物是当前的研究热点之一。在临床上,治疗肝癌的药味比较集中于健脾益气、活血化

宁夏枸杞含有枸杞多糖、19 种氨基酸(其中 8 种为必需氨基酸)、胡萝卜素(几乎是所有食品中含量最高者)、维生素 E、叶黄素、磷脂、抗坏血酸、多种微量元素(如锌、铜、硒等)等多种成份^[1,3~4]。上述物质对细胞的分裂、生长和分化,提高 SOD 活力,增强生物免疫功能和抗衰老方面都有重要作用^[1,3]。本实验结果证实枸杞子确有延长果蝇寿命的作用。

果蝇是遗传学研究中的一种重要的模式生物,在它身上得出的许多认识,对人类研究自身有很重要的启示作用,枸杞子对人是一种延年益寿的食品,这可以说是一个常识了,本研究结果也反过来说明

了人类身上得出的某些结论,对果蝇也有类似的作用。这无疑为果蝇的用途进一步拓展了应用空间,也为药学研究提供了一个新的思路 and 新的模式生物。

参考文献

- [1]周貽谋.枸杞子补肾益精有奇效[J].家庭医学,2003(2):59
 - [2]江苏新医学院.中药大辞典[M].上海:上海人民出版社,1975
 - [3]杜毅,高华,班长俊.枸杞的化学与药理研究新进展[J].内蒙古中医药,2000(4):40
 - [4]王平.枸杞子的现代研究与临床新用途[J].中国中医基础医学杂志,2000,12(6):41
 - [5]刘祖洞,江绍慧.遗传学实验[M].北京:高等教育出版社,1987
- (收稿日期:2005-04-14)

Effect of the Lycium Chinense Mill on Sexual Vitality and Life Span of Drosophila Melanogaster

TAO Shao-wu

(School of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000)

Abstract: Objective: To study the effect of the lycium chinense mill on sexual potency and life span of dosophila melanogaster. Methods: Drosophila melanogaster was cultured in the culture medium contained lyoium chinense mill in different dense. The time of mating latency, mating duration and lifetime were observed and recorded. Results: Lycium Chinense mill has no effect on the sexual vitality of drosophila melanogaster, but could extend it's lifetime. Conclusion: The medicine effect of lycium Chinense mill was mainly showed in prolonging the life span of drosophila melanogaster.

Key words: Lycium Chinense mill; Drosophila melanogaster; Sexual vitality; Life span

淤、清热解毒、滋阴类^[1],本文在后三者中选择了六味在临床中使用频率极高的中药:丹皮、赤芍、白花蛇舌草、半枝莲、白芍、生地,从细胞毒性的角度对这些中药进行体外试验,以期为它们今后的深入研究及应用提供实验依据。

四唑盐(MTT)比色法^[5]是一种检测细胞存活和生长的方法,由于灵敏度高、重复性好、操作简便、经济快速、无放射性污染等特点,已广泛用于细胞毒性抗肿瘤药物的筛选工作中,本文即使用该方法对上述六味中药进行初筛。

1 实验材料与方法

1.1 细胞株、药品和试剂 人肝癌细胞株 BEL-7402:中国科学院上海细胞生物研究所。6 味中药:购自上海浦东养和堂中药店。5-氟尿嘧啶(5-FU)、MTT、二甲基亚砜(DMSO):均为 AMRESCO 公司生产。RPMI-1640:美国 GIBCO 公司生产。小牛血清:杭州四季青生物工程材料有限公司生产。

1.2 中药的制备^[2] 中药各取 40 g 浸泡过夜,旺火煮沸,文火煮 0.5 小时,取药液,再加水,同样煎煮,将两次药液合并,浓缩至 20 mL 左右,再按体积比 2:3 加入无水乙醇,4℃静置 48 小时,2 000 r/min 离心 10 分钟,取上清,水浴浓缩药物至液体全部蒸发干,而后加入双蒸水 20 mL 溶解,得生药浓

度为 2 g/mL,微孔滤膜过滤,4℃保存。

1.3 细胞培养^[2]和实验分组 BEL-7402 细胞在含 10%小牛血清的 RPMI-1640 培养液、37℃、5%CO₂ 条件下培养,48 小时换液,细胞长满单层后用 0.25%胰蛋白酶消化传代。实验分组:每种药物为 1 组,每组分 4 个剂量(按生药总量计算),分别为 25、50、75、100 mg/mL,每个剂量设 3 个复孔;另设阳性对照(5-FU)和空白对照各 1 组。

2 方法

2.1 实验方法 取对数生长期的肿瘤细胞,0.25%胰蛋白酶消化,记数细胞,稀释成 0.25×10^5 /mL 浓度的细胞悬液,然后在 96 孔板上每孔加入 90 μ L,于 37℃、5%CO₂ 培养 24 小时后,加入不同浓度的治疗药物 10 μ L,5-FU 的浓度为 100 μ g/mL,空白对照加入培养液 10 μ L,培养 24 小时后,加入 5 mg/mL MTT 10 μ L,继续培养 4 小时后,吸弃上清溶液,加入 100 μ L DMSO,振荡 10 分钟,使其充分混匀,酶标仪测定其吸光度,吸收波长为 490 nm。

2.2 统计分析 SPSS11.0 统计软件进行单因素方差分析用。

3 结果

见表 1。

表 1 各种中药对 BEL-7402 细胞株的作用(吸光度 $\bar{x} \pm s$)

药物浓度 /mg·ml ⁻¹	n	白花蛇舌草	半枝莲	丹皮	赤芍	白芍	生地	5-Fu
0	5	0.182±0.015	0.182±0.015	0.182±0.015	0.182±0.015	0.182±0.015	0.182±0.015	0.182±0.015
25	3	0.179±0.012	0.190±0.053	0.218±0.041*	0.196±0.001	0.189±0.004	0.195±0.049	
50	3	0.165±0.008	0.162±0.003	0.202±0.019	0.194±0.001	0.199±0.000	0.171±0.002	
75	3	0.152±0.008*	0.148±0.025	0.162±0.008	0.191±0.004	0.196±0.011	0.156±0.015	
100	3	0.124±0.016*	0.108±0.012*	0.148±0.023*	0.189±0.027	0.182±0.012	0.156±0.023	0.133±0.008*

注:与空白对照进行比较,* $P<0.05$ 。

4 讨论

由表中可见,白花蛇舌草、半枝莲随着浓度的增大,对 BEL-7402 细胞增殖的抑制作用增强,具有明显的量效关系,且在 100 mg/mL 的浓度下,其抑制效果与 100 μ g/mL 的 5-FU 相近,表现出较强的抗肿瘤活性。丹皮在剂量为 25 mg/mL 时有明显促进肿瘤细胞增殖的作用,但随着浓度逐渐增大,呈现出对肿瘤细胞增殖的抑制现象,在 100 mg/mL 时具有显著的抑制作用。赤芍、白芍、生地则对细胞增殖没有明显影响。

以上结果显示,白花蛇舌草、半枝莲具有较强的细胞毒作用,具有良好的抗肝癌药物开发前景,可考虑从中提取高活性的单体进行进一步的研究。此二味中药同属于清热解毒类药物,提示这一类药物在

抗肝癌药物的研发过程中,值得我们予以更多的关注。丹皮在高浓度时显示出良好的抗肝癌细胞活性,但在低浓度时则有促进肝癌细胞增长的作用,其中机制有待于进一步阐明;从中也提示我们在临床上使用药物时要注意剂量问题,同一种药物在不同剂量时可能产生截然相反的效果。白芍、生地等柔肝滋阴类对肝癌细胞的增殖没有明显影响,这可能是由于此类药物是通过体内其他途径而不是直接杀伤肝癌细胞来进行肿瘤治疗的。

参考文献

- [1]陈德溯,方肇勤. 中药治疗原发性肝癌中晚期的药味频率分析[J]. 辽宁中医杂志,2002,29(4):187
- [2]司徒镇强,吴军正. 细胞培养[M]. 西安:世界图书出版公司,1996 (收稿日期:2005-04-25)