

二至丸对阴虚荷瘤小鼠抑瘤作用的研究

★ 张玉仁 郑里翔 朱卫丰 刘红宁 查青林 (江西中医学院 南昌 330004)

摘要:目的:观察二至丸对阴虚荷瘤小鼠的抑瘤作用。方法:采用甲状腺素加利血平法制作阴虚荷瘤小鼠模型及ELISA法测小鼠血清中IGF-1、TNF- α 的含量。结果:二至丸高[20 g/(kg·d)]、中[10 g/(kg·d)]、低[6 g/(kg·d)]剂量组中,低剂量组抑瘤效果最显著,抑瘤率为29.9%,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$);低剂量组中TNF- α 含量与模型组有显著性差异($P < 0.05$),但IGF-1含量无显著性差异。结论:二至丸对阴虚小鼠有一定的抑瘤作用,其作用机理与提高了荷瘤小鼠血清中TNF- α 的水平有关。

关键词:二至丸;阴虚;荷瘤小鼠;TNF- α ;IGF-1

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Effect of Erzhiwan on Inhibited Tumor of Tumor Bearing Mouse with Yin Deficiency

ZHANG Yu-ren, ZHENG Li-xiang, ZHU Wei-feng, LIU Hong-ning, ZHA Qing-lin

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

Abstract: Objective: To investigate the effect of Erzhiwan's anti-tumor on tumor bearing mice with Yin deficiency; Methods: The tumor bearing mice with Yin deficiency were established by using thyroxine and reserpine, transplanted tumor cells; IGF-1 and TNF- α were detected by ELISA; Results: Among the Erzhiwan's high, medium and low dose groups, the low dose group's anti-tumor effect is significantly higher ($P < 0.05$), and the rate of anti-tumor effect is 29.9%. compared with the model group, the TNF- α level of the low dose group is significantly higher ($P < 0.05$), but in the IGF-1 level is no significant. Conclusion: Erzhiwan can inhibit tumor, its mechanism may increase the serum level of TNF- α

Keywords: Erzhiwan; Yin deficiency tumor; TNF- α ; IGF-1

肿瘤是目前高发疾病之一,已经上升为我国疾病谱中致死率第一位的疾病。肿瘤细胞与正常细胞相比较,肿瘤细胞处于无限增殖状态,其增殖与凋亡失去平衡,根据中医阴阳学说理论,肿瘤细胞应界定为阳体,肿瘤细胞出现的原因应该归咎于阴不足。因此,通过滋阴调理体质能够调整机体内环境的变化,从而预防肿瘤的发生。

本文通过观察中药滋阴制剂二至丸对阴虚荷瘤小鼠的抑瘤作用及其对小鼠血清中细胞因子IGF-1、TNF- α 含量变化的影响,探讨滋阴疗法对肿瘤的防治作用及其机制,为临床防治肿瘤提供借鉴。

1 实验材料

1.1 动物 雄性昆明小白鼠,体重(22 $\pm$ 2)g,由江

西中医学院实验动物中心提供,合格证号:JZDW NO.2007-170。

1.2 药品 制女贞子和墨旱莲均购于江西黄庆仁栈大药房,经褚小兰教授鉴定分别为木犀科植物女贞(*Ligustrum lucidum* Ait)干燥果实的制品、菊科植物鳢肠(*Eclipta prostrata*)的干燥地上部分。环磷酰胺,批号:07021021。甲状腺素,批号:0607501。利血平, Sigma 公司,批号:2000497。TNF- α 试剂盒:深圳晶美生物公司。IGF-1试剂盒:武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 实验样品制备 二至丸水煎液:女贞子和墨旱莲等量混合后,用5倍的药材的水浸泡30 min,煎煮30 min,再以4层纱布过滤后,用4倍量的水同法煎

煮,收集滤液,2次合并后浓缩至1 g/ml,0℃下保存。

2 实验方法

2.1 阴虚模型 昆明小白鼠(♂)90只,随机分成阴虚组75只、正常组15只两大组。阴虚组每天下午5点灌服甲状腺素(150 mg/kg)和利血平(1 mg/kg),正常组给等容积的生理盐水,连续灌服7天。

2.2 移植性肿瘤模型 将上述阴虚组75只随机分成5组:模型组、给药组(高、中、低剂量)和阳性对照组(环磷酰胺)。模型组及给药组右腋皮下均接种小鼠瘤株S₁₈₀,选取饲养1周的S₁₈₀腹水瘤小鼠,抽取乳白色腹水,血性腹水不用,加生理盐水适量稀释成1:4的瘤细胞悬液,调细胞数至 1×10^8 /ml,每只鼠接种0.1 ml于右前肢腋窝下,整个接种时间在1 h内完成。给药组于接种24 h后开始灌服二至丸水煎液20、10、6 g/(kg·d),其余组灌服等剂量的生理盐水,连续给药9 d。

2.3 取样本 接种后第10天,取小鼠静脉血,血清放入-20℃保存备用;右腋窝下取瘤并称重,计算抑瘤率,抑瘤率(%)=(对照组平均瘤重-给药平均组瘤重)/对照平均组瘤重。

2.4 TNF- α 、IGF-1的测定 酶联免疫法(ELISA)。

2.5 统计学方法 各数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS11.5统计分析软件处理实验数据,组间比较采用单因素方差分析。

3 实验结果

3.1 阴虚造模一般情况 第1~2天无明显变化。第3~4天开始出现躁动不安、皮毛汗湿尤以夜间为甚,大便或干或湿,饮食量无明显改变,第5天肛门红,24 h饮水量增加。第6~7天起出现日间神疲少动,体重减轻,消瘦,从体重来看,阴虚组增重明显低于正常组见表1。

表1 造模后正常组与阴虚组小鼠体重比较

组别		体重/g
正常 n=15	造模前	23.1±1.9
	造模后	31.5±1.9
	体重增长	8.5±1.3
阴虚 n=75	造模前	23.6±1.6
	造模后	25.0±3.9
	体重增长	1.35±3.3**

注:与正常组体重增长相比,** $P < 0.01$ 。

3.2 二至丸对移植性肉瘤S₁₈₀的抑制作用 小鼠接种瘤株10天,给药第9天,取瘤块。结果显示:二至丸高、中、低剂量组中,低剂量作用效果最明显,平均瘤重与模型组比有显著性差异($P < 0.05$),抑瘤

率为29.9%。用药前后各组体重无明显差异。见表2。

表2 二至丸对移植性肉瘤S₁₈₀的抑制作用的影响

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	体重/g	瘤重/g	抑瘤率(%)
模型组	13	—	30.4±2.8	1.87±0.50	
高剂量组	10	20	29.4±2.0	1.76±0.67	0.06
中剂量组	9	10	26.7±4.2	1.54±0.88	17.6
低剂量组	10	6	31.0±2.2	1.31±0.50*	29.9
环磷酰胺	11	0.06	29.9±3.0	0.71±0.49*	62

注:与模型组相比,* $P < 0.05$ 。

3.2 二至丸对小鼠血清的TNF- α 、IGF-1含量影响

用ELISA方法对小鼠血清的TNF- α 、IGF-1含量进行测定。结果显示:低剂量二至丸组能明显增加机体TNF- α 含量,而IGF-1含量无明显差异。见表3。

表3 S₁₈₀小鼠血清中TNF- α 、IGF-1的表达

组别	n	TNF- α /μg·ml ⁻¹	IGF-1/ng·ml ⁻¹
模型组	13	9.359±4.446	4326.920±620.935
低剂量组	10	29.944±22.657*	4491.362±280.369

注:模型组相比,* $P < 0.05$ 。

4 讨论

实验结果证实二至丸抑制阴虚体质荷瘤小鼠肿瘤的生长,其高、中、低剂量中,以低剂量抑瘤率最为明显($P < 0.05$),抑瘤率为29.9%,同时能提高小鼠血清中的TNF- α 水平($P < 0.05$),但对IGF-1的水平几乎没有影响。由于二至丸具有滋阴凉血、调整阴阳平衡的功能,其能抑制肿瘤的生长,可能与小鼠血清中TNF- α 含量升高有关,TNF- α 可以通过TNF-R诱导肿瘤细胞凋亡,促进免疫细胞增殖分化,产生抗肿瘤效应,影响肿瘤局部血管,提高肿瘤血管内皮细胞通透性,促进血栓和抗肿瘤新生血管形成,产生抑瘤或杀瘤效应,TNF- α 同时还可以提高抗肿瘤药物的疗效^[1,2]。

二至丸由女贞子和墨旱莲两味药组成,女贞子甘、苦、凉,滋肾养肝,配墨旱莲甘、酸、寒,养阴凉血止血,全方药味少而性平和,补肝肾养阴血而不滋腻。对于阴虚内热而导致的肿瘤,二至丸可有效改善体内内环境,从而达到防治肿瘤的效果。本实验为二至丸临床应用抑制阴虚体质的肿瘤生长提供了实验依据。

参考文献

- [1]古翠萍,张沂平.TNF- α 抗肿瘤作用机制新进展[J].中国肿瘤,2007,16(2):102-105.
- [2]Chang L,Kamata H,Solinas G,et al. the E3 ubiquitin ligase itch couples JNK activation to TNF α -induced cell death by inducing c-FLIP(L) turnover[J]. Cell,2006,124(3):601-613.

(收稿日期:2007-10-16)