

中药益康灵与化疗药物联合应用 抗肿瘤作用研究

山东省医学科学院(济南 250001) 张亚华 亢前军

内容提要 益康灵灌胃给药,同时腹腔注射化疗药物环磷酰胺(CTX)或丝裂霉素(MMC),对小鼠移植性肿瘤的抑瘤率显著高于单用益康灵或CTX及MMC,并能明显降低化疗药物导致小鼠体重下降等毒副作用。益康灵能显著增加被化疗药物抑制后小鼠免疫器官胸腺和脾脏的重量,能提高动物腹腔巨噬细胞吞噬功能和促进血清溶血素的形成。提示益康灵与化疗药物联合应用时,可以增强其抗癌效果,并能减轻化疗毒副反应。机体免疫系统的调控可能是这一作用的重要机理之一。

关键词 益康灵 抗肿瘤作用 免疫调控

益康灵系根据中医学抗癌验方,经加减药味后研制而成的一种纯中药复方抗癌制剂。其抗肿瘤作用实验研究曾有报告^①。本研究主要探讨益康灵与化疗药物联合应用的价值。

材料与方 法

一、动物 选用18~22g昆明杂种健康小鼠和615纯系小鼠。雌雄兼用。均由本院实验动物中心提供。

二、瘤株 为本院药物研究所移植传代的小鼠S₁₈₀(肉瘤₁₈₀)、EAC(艾氏腹水癌)。

三、药物 益康灵系由芦笋、薏苡仁、山药、人参等多味中药,以乙醇加热回流提取后,回收乙醇并加蒸馏水适量,制成每毫升含原生药2.67g的口服液;环磷酰胺(CTX)200mg/支,上海第十二制药厂生产;丝裂霉素(MMC)2mg/支,日本协和发酵工业株式会社出品。

四、方法

1. 抗肿瘤实验 常规接种移植性实验肿瘤S₁₈₀或EAC,分别观察益康灵与CTX、益康灵与MMC联合用药的抗癌效应。按全国抗肿瘤药物研究协作会议有关规定^②,计算其抑瘤率或生命延长率。

2. 免疫学实验 分别测定益康灵对应用CTX后荷瘤小鼠之胸腺、脾脏重量和腹腔巨噬细胞吞噬活力的影响^③,以及益康灵对应用CTX后正常小鼠血清溶血素形成的影响^④。

3. 一般毒性实验 按常规方法进行急性、亚急性毒性实验^⑤和Ames实验^⑥。

结 果

一、抗肿瘤作用 昆明杂种小鼠接种肿瘤后,次日随机分组,每组10只,灌胃给药。腹水瘤组连续给药7天,同时腹腔注射MMC 7天或CTX 3天。于接种之日起累计生存天数,计算生命延长率;实体瘤组连续给药9天,同时腹腔注射MMC 9天或CTX 3天,于停药次日处死动物,剖取瘤块,计算瘤重抑制率。对照组给等容积蒸馏水。实验结果见表1、2。

表1 益康灵与化疗药物联合应用对S₁₈₀小鼠的治疗效果

组 别	剂 量 (/kg·d×d)	体 重 变 化 (g)	瘤 重 (g)		P值*
			$\bar{x} \pm S$	抑瘤率 (%)	
蒸馏水	0.5ml×9	+2.66	2.77±0.28		
益康灵	106.8g×9	+1.98	1.13±0.19	50.22	<0.001
	53.4g×9	+2.54	1.44±0.17	36.56	<0.05
CTX	75mg×3	-0.92	0.96±0.13	57.71	<0.01
	106.8g×9 75mg×3 ^o	+0.76	0.12±0.02 ^{△△}	94.71	<0.001
益康灵+CTX	53.4g×9 75mg×3	+0.58	0.77±0.15 ^{△△}	66.08	<0.01
MMC	1.0mg×9	-0.78	1.33±0.25	41.41	<0.01
	106.8g 1.0mg ^o ×9	+0.97	1.19±0.27 ^{△△}	47.58	<0.05
益康灵+MMC	53.4g 1.0mg ^o ×9	+1.05	0.69±0.17 ^{△△}	69.60	<0.01

注: *P值为各给药组瘤重与蒸馏水组瘤重的比较; 与相同剂量益康灵组比较, **P<0.001; 与CTX组比较, △P<0.01; 与MMC组比较, △△P<0.01; ^o为CTX或MMC剂量

表2 益康灵与化疗药物联合应用对EAC小鼠的治疗效果

组别	剂量 (/kg·d×d)	生存天数		P值*
		$\bar{x} \pm S$	生命延长率(%)	
蒸馏水	0.5ml×7	15.7±2.12		
益康灵	106.8g×7	25.1±3.62	69.87	<0.01
	53.4g×7	21.7±4.11	38.22	<0.01
CTX	5mg×3	22.5±3.14	43.31	<0.05
益康灵+CTX	106.8g×7 75mg×3°	27.4±3.03	74.52	<0.001
	53.4g×7 75mg×3°	22.2±2.84	41.40	<0.05
MMC	1.0mg×7	25.6±4.07	63.06	<0.01
益康灵+MMC	106.8g×7 1.0mg°	32.9±3.90	109.55	<0.01
	53.4g×7 1.0mg°	24.6±3.25	56.69	<0.001

注: *P值为各给药组生存天数与蒸馏水组生存天数之比较; 与相同剂量益康灵组比较, **P<0.05; 与CTX组比较, ΔP<0.01; 与MMC组比较, ΔΔP<0.01; °为CTX或MMC剂量

表1、2结果说明, 益康灵大剂量与CTX联合用药, 对S₁₈₀的抑瘤率为94.71%, 比单用CTX提高37%; 对EAC小鼠生命延长率为74.52%, 较单用CTX提高31%。益康灵与MMC联合用药, 对S₁₈₀小鼠的抑瘤率为69.6%, 较单用MMC提高28%; 对EAC小鼠生命延长率为109.55%, 比单用MMC提高47%。益康灵与CTX联用时, 其大剂量组(106.8g/kg·d)对S₁₈₀的抑瘤效应较小剂量组(53.4g/kg·d)强, 但与MMC联用时的抑瘤作用则不如小剂量组。此外, 益康灵不仅能明显降低CTX及MMC导致小鼠体重下降的毒性, 而且联合用药组小鼠的皮毛色泽、活泼程度及每日进食进水量, 均较对照组为好。

二、免疫作用

1. 对应用CTX荷瘤小鼠胸腺、脾脏重量的影响 昆明杂种小鼠接种S₁₈₀后, 次日随机分组, 每组10只, 分别连续灌胃益康灵9天, 给药的第1天起, 按每只鼠75mg/kg·次剂量腹腔注射CTX, 间日1次, 共3次。对照组给等容积蒸馏水。停药次日处死动物, 剖取胸腺、脾脏称重, 分别计算其重量指数。结果见表3。

计算公式: 胸腺指数 = $\frac{\text{胸腺重量(mg)}}{\text{体重(g)}} \times 10g \text{ 体重}$

脾指数 = $\frac{\text{脾重量(mg)}}{\text{体重(g)}} \times 10g \text{ 体重}$

表3 益康灵对应用环磷酰胺S₁₈₀小鼠的胸腺脾脏重量的影响

组别	剂量 (/kg·d×d)	胸腺指数 ($\bar{x} \pm S$)	脾指数 ($\bar{x} \pm S$)
蒸馏水+CTX	0.5ml×9 75mg×3	0.007±0.002	0.02±0.003
益康灵+CTX	106.8g×9 75mg×3	0.011±0.002*	0.033±0.009Δ
	53.4g×9 75mg×3	0.021±0.003**	0.036±0.006*
蒸馏水+蒸馏水	0.5ml×9 0.5ml×3	0.029±0.005Δ	0.052±0.011Δ

注: 与蒸馏水+CTX组比较, *P<0.05, **P<0.001, ΔP<0.01

表3结果提示, 益康灵可明显改善CTX所致动物的免疫低下状态, 使其胸腺、脾脏重量较单用CTX组显著增加。大剂量益康灵(106.8g/kg·d)似不及小剂量(53.4g/kg·d)对胸腺的影响更明显。

2. 对应用CTX荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响 选用昆明杂种小鼠, 分组与给药方法同实验1。停药当日每只鼠腹腔注射5%鸡红细胞生理盐水悬液0.2ml, 24h后处死动物, 每只动物以0.2ml生理盐水冲洗腹腔, 吸取冲洗液约1ml, 分滴于两张载玻片上, 37℃温孵30min, 用生理盐水冲去未贴片的细胞, 以1:1丙酮-甲醇液固定, 姬姆萨瑞氏染色, 油镜下观察巨噬细胞吞噬鸡红细胞数, 计算其吞噬指数。结果见表4。

计算公式: 吞噬指数 = $\frac{\text{被吞噬的鸡红细胞}}{200 \text{ 个巨噬细胞}} \div 2$

表4 益康灵对应用环磷酰胺S₁₈₀小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	剂量 (/kg·d×d)	吞噬指数 ($\bar{x} \pm S$)
蒸馏水+CTX	0.5ml×9 75mg×3	0.023±0.005
益康灵+CTX	106.8g×9 75mg×3	0.068±0.011*
	53.4g×9 75mg×3	0.033±0.006Δ
蒸馏水+蒸馏水	0.5ml×9 0.5ml×3	0.045±0.014Δ

注: 与蒸馏水+CTX组比较, *P<0.001, ΔP<0.01

表4结果说明, 益康灵对CTX抑制后荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能有明显增强作用, 大剂量组较小剂量组作用更强, 其吞噬指数甚至高于未应用CTX的荷瘤小鼠。

3. 对用 CTX 小鼠血清溶血素形成的影响 615 纯系小鼠, 雌雄各半, 随机分组, 每组10只, 分别连续灌胃益康灵9天, 于给药的第1天起每只鼠按75mg/kg·次剂量腹腔注射CTX, 间日1次, 共3次。对照组给等容积蒸馏水。血清溶血素测定按中国科学院药物研究所徐学瑛方法。结果见表5。结果证明, 益康灵与CTX联合应用的大小两个剂量组, 其HC₅₀均明显高于单用CTX组, 并以大剂量组作用更强。提示益康灵能促进应用CTX小鼠血清溶血素的形成。

表5 益康灵对应用环磷酰胺正常小鼠血清溶血素形成的影响

组别	剂量 (/kg·d×d)	HC ₅₀ ($\bar{x} \pm S$)
蒸馏水 +CTX	0.5ml×9 75mg×3	70.6±19.3
益康灵 +CTX	106.8g×9 75mg×3	181.0±24.2*
	53.4g×9 75mg×3	102.3±16.5Δ

注: 与蒸馏水+CTX组比较, * $P < 0.01$, Δ $P < 0.05$

三、毒性实验 选用昆明杂种小鼠, 雌雄各半, 随机分组, 每组10只, 每鼠每天灌胃益康灵1.0ml (133.5g/kg·d), 对照组给等容积蒸馏水。连续灌胃3周, 无一动物死亡, 亦未见任何毒性反应。外周血象和肝肾功能检查, 以及剖取心、肝、脾、肺、肾光学显微镜病理形态学观察, 均未见异常。Ames实验应用TA₉₈和TA₁₀₀两个菌株, TA₉₈用以检测引起DNA碱基对移位的致突变物, TA₁₀₀用以检测引起DNA碱基对置换的致突变物。将益康灵分别稀释为含生药量2670、1068、534、267及134mg/ml, 经点试法初筛, 无抑菌现象, 也未见菌落增加趋势; 混合(掺入)试验无论加S-9或不加S-9, 回变菌落数均在正常范围。

(上接597页)

苡米20g 太子参30g 生石决明30g 瞿麦10g 篇蓄10g 茅根30g 小蓟20g 紫草15g 焦三仙30g 白芷9g 丹皮9g。5剂, 煎服法同上。

五诊: 1987年10月4日。患者一般情况良好, 体温恢复正常已11天, 淋巴结肿大已完全消退。为巩固疗效, 予益气和胃散结中药进服。处方: 黄芪30g 太子参30g 柴胡9g 桂枝9g 白芍30g 鸡内金10g 半夏9g 生石决明30g 茜红9g 草豆蔻9g 白术10g 黄芩9g 王不留行10g。7剂, 煎服法同上。

六诊: 1987年10月11日。精神好, 无自觉不适,

实验结果表明, 各稀释浓度益康灵无致突变作用。

讨 论

本次实验初步结果表明, 中药抗癌新制剂益康灵不仅对小鼠移植性肿瘤 S₁₈₀、EAC具有明显的抗癌作用, 而且与化疗药物CTX、MMC联合应用时, 其抗癌效果显著提高, 并能有效地减轻化疗毒副反应和纠正因化疗所致的免疫力低下状态。中西医结合防治肿瘤, 便可取长补短, 使中西药物在肿瘤综合治疗中的作用进一步提高。

实验研究的结果显示, 益康灵能明显增强机体的免疫功能, 故推论其抗癌作用的机理之一可能是通过机体生物调控来达到治疗肿瘤之目的, 此与生物反应调节物(BRM)的作用性质相符合^[7]。机体抗肿瘤免疫反应中, 细胞免疫比体液免疫更重要, 关于细胞免疫本实验仅进行了动物免疫器官重量和腹腔巨噬细胞吞噬功能的观察, 故有必要做进一步的探讨。

参 考 文 献

1. 张亚华, 等。复方芦笋提取液抗肿瘤作用研究。中草药 1989; 20(12):37。
2. 全国抗癌协会会议。抗肿瘤药物体内筛选规程 (汇编资料附件) 1978:28。
3. 张燕芬, 等。观察巨噬细胞吞噬功能的滴片法。北京医学院学报 1979; (2):114。
4. 徐学瑛, 等。溶血素测定法。药学学报 1979; (14):443。
5. 徐叔云, 等。药理实验方法学。第1版。北京: 人民卫生出版社, 1982:406—412。
6. 黄幸纤, 等。环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法。第1版。杭州: 浙江科学技术出版社, 1985:35—39。
7. 中国免疫学会。中医中药的BRM效应。第二届全国肿瘤生物治疗学术会议(济南)论文汇编, 1991:121—128。

全身淋巴结已全部消退。再拟补益气血, 健脾宁神以调治。处方: 黄芪30g 太子参30g 当归15g 川芎9g 白芍30g 首乌20g 芍药12g 地龙10g 焦三仙30g 鸡内金9g 桃仁10g 红花9g 黄连9g 枣仁10g。7剂。患者体力日益恢复, 饮食二便均好。于1987年11月17日痊愈出院。共住院63天。体重增加3.5kg。并恢复正常工作。

出院后曾随访3次。最近1次为1992年1月9日。患者自回单位后一直恢复全天工作, 已达4年多未发病。并多次在当地医院健康体检未发现阳性体征及实验室指标异常。

JPYQLSD was to regulate the energy metabolism of rats.

Key Words Chinese herbs, Jian-Pi Yi-Qi Li-Shui Tang, nephrotoxicity, cisplatin

(Original article on page 614)

Anti-tumour Study of Combined Therapy of Yi Kang Ling (益康灵) with Chemotherapeutic Agents

Zhang Ya-hua(张亚华), Qi Qian-jun(齐前军)

Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan (250001)

Result of animal experiment proved that Yi Kang Ling, a TCM compound preparation, could markedly inhibit the growth of implanted tumour in mice. The inhibiting effect to the experimental tumour of combined therapy of Yi Kang Ling and the chemotherapeutic agents-CTX or MMC was better than that using singly. The Yi Kang Ling could alleviate toxicity of chemotherapy which caused the weight loss of mice. It could markedly increase the immune organs' weight, raise the phagocytosis of abdominal macrophage and promote the formation of serum hemolysin inhibited by CTX. The experimental result revealed that the combined therapy of Yi Kang Ling and the chemotherapeutical agents could enhance anti-tumour effect and lower the toxicity of chemotherapy. Toxicological experiment showed that the Yi Kang Ling did not have any toxic effect against organism.

Key Words Yi Kang Ling, anti-tumour effect, immune regulation

(Original article on page 617)

Experimental Study on Tea in Inhibiting Mutational Specificity of 6 Antineoplastic Drugs

Zhao Ze-zhen (赵泽贞), Huang Min-ti(黄民提), Li Qi(李琦), et al

Hebei Cancer Institute, Shijiazhuang (050011)

According to the principles of SOS response, the authors tested the mutational specificity of tea and its inhibitory effects to the mutational specificity of 6 antineoplastic drugs by using the method of mutational and anti-mutational synchronous test. The results revealed that the tea had no mutational toxicity but anti-mutation effect. It also had the inhibitory effect on mutational toxicity of 6 antineoplastic drugs, including Mitomycin C, Bleomycin, Fluorouracil, Cis-diaminodichloroplatinum, Arabinosylcytosin and Mustargen. These results have provided referential basis for further study on anti-cancer effect and clinical use of tea.

Key Words tea, antineoplastic drugs, SOS test, anti-mutational

(Original article on page 620)

Effect of Yizhiling Granule(益智灵冲剂) on Experimental Pathological Model of Alzheimer's Disease

Wu Zi-ming (吴子明), Peng Jian-long(彭建龙)

Hunan College of TCM, Changsha (410007)

Alzheimer's disease is an important problem of gerontology which manifested as serious loss of memory, especially of recent memory, decrease of brain weight. The pathological model of the disease in mice was made with administration of $AlCl_3$ and then Yizhiling Granule was given to treat it. Results: In the experiment of one trial passive avoidance response there were significant difference between the normal group and the model group ($P < 0.01$) and significant difference between the treated group and the model group ($P < 0.05-0.01$); as for fresh brain weight, the treated group was significantly different from the normal group ($P < 0.01$) and model group ($P < 0.05$). They indicate that Yizhiling Granule could improve memory and increase brain weight. This research seems to provide experimental basis for treatment of the disease.

Key Words Yizhiling Granule, brain weight, pathological model of Alzheimer's disease

(Original article on page 622)