

化疗联合人参皂甙 Rg3 治疗肺癌的实验研究

易 成 黄晓兵 侯 梅

抗血管生成是目前肿瘤治疗中的研究热点,它主要通过抑制肿瘤的血管生长,阻断肿瘤的营养供应达到“饿死”肿瘤的目的。人参皂甙 Rg3 是从中药人参中提取的一种血管生长抑制剂,具有抑制肿瘤新生血管形成的作用^[1,2]。近年来的一些研究表明,化疗与血管生长抑制剂联合应用,可以提高肿瘤的治疗效果^[3-7]。健择(gemcitabine)是目前治疗肺癌的最有效药物之一,本实验观察人参皂甙 Rg3 与化疗药物健择联合应用对小鼠 lewis 肺癌的治疗效果,目前尚未见类似的研究报道。

材料与方法

1 材料 雌性 C57BL/6 小鼠(6~8 周龄)购自中科院北京实验动物中心,重 18~20 g,四川大学肿瘤研究所动物室饲养(温度为 20~22 ℃,湿度为 30%~50%)。小鼠 lewis 肺癌细胞株由四川大学肿瘤研究所保种和提供。健择(gemcitabine)由礼来公司赠送;人参皂甙 Rg3 由吉林亚泰制药有限公司提供粉剂(从我东北红参中提取,纯度为 99.5%)。

2 肺癌模型制备 取生长良好的 lewis 肺癌小鼠肿瘤组织,用生理盐水以 1:5 的比例匀浆制备成细胞悬液,每只小鼠右腋部皮下接种 0.2 ml,待接种后第 7 天,可扪及肿瘤(直径约 2~3 mm),进行随机分组并开始治疗。

3 实验分组及治疗方案 将荷瘤小鼠随机分为 4 组,每组 10 只。对照组:生理盐水皮下注射(0.2 ml/只),每周 1 次。健择组:健择(0.2 ml/只,10 mg/kg)腹腔内注射,3 天 1 次,连续 6 次。人参皂甙组:人参皂甙 Rg3(0.4 ml/只,20 mg/kg),插管胃内给药,每天 1 次,连续 18 天。联合治疗组:人参皂甙组和健择组治疗的联合。各组小鼠在治疗后的第 19 天处死。

4 观察指标

4.1 毒副反应及生存质量 小鼠接种肿瘤后,通过观察小鼠皮毛、食欲、活动状况、对刺激反应及体重变化幅度,评价化疗毒副反应及生存质量。对每只在

治疗过程中死亡的小鼠均作解剖以明确死因。

4.2 小鼠肿瘤瘤重和抑瘤率。

4.3 肿瘤坏死情况 使用 ACUSON1228ST 型彩色超声显像仪,探头频率 8 MHz,观察小鼠肿瘤大小、形态及内部回声情况,了解肿瘤内液化坏死情况,计算肿瘤坏死率(肿瘤坏死率=肿瘤坏死面积/肿瘤总面积×100%)。

5 统计学处理 采用 SPSS 11.5 统计分析软件进行 *t* 检验。

结 果

1 毒副反应及生存质量 治疗方案结束时,联合治疗组小鼠全部存活,而对照组只有 6 只存活,健择组有 7 只存活,人参皂甙组有 9 只存活,联合治疗组存活的小鼠最多。所有死亡小鼠均已解剖排除了由于实验操作不当致死的可能,小鼠死亡是由肿瘤本身恶化或化疗毒副反应所致。

通过精神状态、活动状况、对刺激的反应、体重下降幅度、食欲和脱毛 6 项指标的观察,评价了小鼠生存质量和毒副反应。结果发现:人参皂甙组小鼠未见明显的药物毒副反应,生存质量最好,其次为联合治疗组,再次为对照组,而健择组药物毒副反应最重,生存质量最差。联合治疗组小鼠毒副反应明显低于健择组,生存质量优于健择组,这表明联合治疗可以降低健择的毒副反应。

2 小鼠瘤重和抑瘤率 见表 1。联合治疗组小鼠抑瘤率明显高于人参皂甙组($P<0.05$),但与健择组比较,差异无显著性($P>0.05$)。

表 1 各组小鼠治疗后的瘤重和抑瘤率

组别	<i>n</i>	平均瘤重(g, $\bar{x} \pm s$)	抑瘤率(%)
联合治疗	10	1.17 ± 0.17	49.77*
人参皂甙	9	1.92 ± 0.23	14.29
健择	7	1.33 ± 0.09	40.63
对照	6	2.24 ± 0.11	—

注:与人参皂甙组比较,* $P<0.05$

3 肿瘤坏死情况 见表 2。所有小鼠处死前用彩色超声观察肿瘤坏死情况,计算坏死率。结果发现联合治疗组和人参皂甙组小鼠肿瘤可见明显的多灶性较大面积坏死区,而健择组、对照组肿瘤仅有小面积坏死区。联合治疗组肿瘤坏死率明显高于健择组($P<0.05$),与人参皂甙组比较,差异无显著性($P>0.05$)。

基金项目:教育部回国人员科研启动基金(No. 2001-345),四川省科技厅重点资助项目(No. 01SG046-06)

作者单位:四川大学华西医院肿瘤中心化疗科(成都 610041)

通讯作者:易 成, Tel: 028-89526828, E-mail: yicheng-68@163.com

表 2 各组小鼠肿瘤坏死率比较

组别	n	肿瘤坏死率(%, $\bar{x}\pm s$)
联合治疗	10	30.7±14.2*
人参皂甙	9	24.5±12.5
健择	7	12.1±4.5
对照	6	8.3±3.5

注:与健择组比较,* $P<0.05$

讨 论

抗血管生成是目前肿瘤治疗研究中最活跃的领域之一,已有研究表明,传统化疗与一些血管生长抑制剂如 TNP-40,DC101 等联合应用较之单纯化疗具有更强的抗肿瘤效果^[3-7],但由于技术或毒副反应等原因,这些血管生长抑制剂目前都难以进入临床。为了发扬中医学的特色,我们选用了中药血管生长抑制剂——人参皂甙 Rg3,观察其与化疗药物健择联合应用对肺癌的治疗效果,健择是近年来对肺癌比较有效的抗代谢化疗药物,为嘧啶类似物,可结合到 DNA 末端,阻止 DNA 的延长,同时还抑制核苷酸还原酶的活性,起到抗肿瘤作用。人参皂甙 Rg3 是中药人参中的一种单体成分,属四环五萜皂甙,其结构式为 C₄₂H₇₂O₁₃,分子量为 784,体内和体外实验已证实人参皂甙 Rg3 具有确切的抑制肿瘤血管生成的作用^[1,2],目前已作为国家一类新药进入临床应用。

本实验发现联合治疗组抑瘤率明显高于人参皂甙组,表明化疗联合血管生长抑制剂的治疗效果优于单纯的血管生长抑制剂的治疗。联合治疗组的抑瘤率虽稍高于健择组,但两者之间差异无显著性。如果单从抑瘤率来看,似乎联合治疗的效果并不优于单纯化疗。但利用彩色超声观察发现,联合治疗组的小鼠肿瘤具有多灶性大面积坏死区,而健择组肿瘤仅有小面积坏死区,联合治疗组的肿瘤坏死率明显高于健择组。造成这种情况的原因可能正是因为血管生成抑制剂抑制了肿瘤血管生长,加重了肿瘤的缺血缺氧所致。Morioka 等也报道^[6],采用化疗药物 ET-734 与血管生长抑制剂 PRG-B 联合治疗小鼠软骨肉瘤,联合组的抑瘤率与两个单药组差异无显著性,但联合组的肿瘤坏死率高于单药组,认为可以据此断定联合组的效果优于单药组。事实上,临床上判断疗效时,肿瘤体积和坏死率两项指标往往要综合应用才能更准确评价疗效。本实验综合抑瘤率和坏死率两项指标,提示联合治疗较健择单药治疗有更强的抗肿瘤作用。我们推测,如果能延长观察时间,随着坏死组织的吸收,联合治疗组的优势有可能从抑瘤率上充分体现出来。

本实验中较为突出的表现是联合治疗组的毒副反应和生存质量优于健择治疗组,这说明人参皂甙 Rg3 具有提高生存质量和降低化疗毒性的特点。人参皂甙 Rg3 这一特点也正是目前所有已知血管生成抑制剂不具有的。中医学认为人参能“大补元气,固脱生津,鼓舞脾胃,益气生血”,大量的现代医学研究也证明了人参具有强健体质、提高免疫功能的作用^[8]。目前临床界强调在延长肿瘤患者生存期的同时,更应积极改善或提高患者的生存质量,二者是统一的,治疗方案的制定应兼顾二者。

本实验表明,人参皂甙 Rg3 与健择联合治疗可以提高抗瘤效果,降低化疗的毒副反应,有必要作进一步的临床研究。

参 考 文 献

1 潘子民,叶大风,谢 兴,等. 人参皂甙 Rg3 对荷瘤卵巢癌的严重联合免疫缺陷鼠的抗肿瘤血管生成作用的研究. 中华妇产科杂志 2002;37(4):227—230.
Pan ZM, Ye DF, Xie X, et al. Antiangiogenesis of ginsenoside Rg3 in severe combined immunodeficient mice with human ovarian carcinoma. Chin J Obstet Gynecol 2002;37(4):227—230.

2 高 勇,王杰军,许 青. 人参皂甙 Rg3 抑制肿瘤新生血管形成的研究. 第二军医大学学报 2001;22(1):40—42.
Gao Y, Wang JJ, Xu Q, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 on tumor neoangiogenesis. J Sec Mil Med Univ 2001;22(1):40—42.

3 Klement G, Baruchel S, Rak J, et al. Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity. J Clin Invest 2000;105(8):R15—24.

4 Browder T, Butterfield CE, Kraling BM, et al. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. Cancer Res 2000; 60 (7) : 1878—1886.

5 Man S, Bocci G, Francia G, et al. Antitumor effects in mice of low-dose (metronomic) cyclophosphamide administered continuously through the drinking water. Cancer Res 2002;62(10):2731—2735.

6 Morioka H, Weissbach L, Vogel T, et al. Antiangiogenesis treatment combined with chemotherapy produces chondrosarcoma necrosis. Clin Cancer Res 2003;9(3):1211—1217.

7 Bello L, Carrabba G, Giussani C, et al. Low-dose chemotherapy combined with an antiangiogenic drug reduces human glioma growth *in vivo*. Cancer Res 2001;61(20):7501—7506.

8 王庭富,孟正木. 人参皂甙 Rg3 对免疫功能的影响. 中国药科大学学报 1999;30(2):133—135.
Wang TF, Meng ZM. Experiment for immunity effects of ginsenoside Rg3. J Chin Pharm Univ 1999;30(2):133—135.

(收稿:2004-02-18 修回:2004-09-15)