

中药 TCM 901 的体外抗癌研究

高凌 王侑先 张琴芬

江苏省肿瘤防治研究所 南京 210009

摘要 本文采用肿瘤细胞系体外软琼脂集落形成试验和台盼蓝(Trypan blue)排斥实验研究中药 901 (TCM 901)的抗癌活性,结果表明,TCM 901 对肝癌细胞 H—7402 的集落抑制率为 83.8%;对 H—7402,胃腺癌 BCG—823,肠癌 SPS 和小鼠白血病细胞株 P388 的生长抑制可分别达 100%。上述结果提示,TCM 901 对癌细胞有明显的抑制作用。本实验室对 TCM 901 抗动物移植性肿瘤的研究结果也表明其抑瘤效果良好。因此,作者认为 TCM 901 有望成为一种新的抗癌制剂。

关键词 中药 901; 肿瘤细胞; 集落形成; 细胞杀伤。

表 3 上海市冬季大气悬浮颗粒物有机组分构成表(100m gSP)

	A	I	E
F1	6.1(16.7)	6.4(18.4)	8.6(17.8)
F2	3.5(9.6)	8.4(24.2)	2.2(4.6)
F3	6.4(17.5)	4.9(14.1)	14.5(30.1)
F4	4.1(11.2)	2.7(7.8)	5.6(11.5)
F5	16.5(45.0)	12.3(35.5)	17.3(35.9)
合计	36.6	34.7	48.2

长期以来,人们把悬浮颗粒物中 PAH 作为主要研究对象。实验证明:大气颗粒物有机提取物中还含有其它有机致突变物及潜在致癌剂,W ynder⁽⁹⁾等人用颗粒物有机提取物分组后作小鼠的皮肤致癌试验,结果表明,芳烃组分与致癌性有关,而有机酸组分、氧化芳烃组分与促癌作用有关,我们也对上海市大气悬浮颗粒物作了皮肤致癌试验,结果同样证明非多环芳烃组分的有害作用。所以,我们还应该注意有机酸、有机碱及极性化合物组物质对人体的影响。

参考文献

1. 朱惠刚, 赵启玉, 等. 大气颗粒物致突变性研究. 上海环境科学, 1991; 10(6): 10
2. 朱惠刚, 赵启玉, 等. 大气悬浮颗粒物中不同有机组分致突变性. 上海环境科学, 1990; 9(12): 18

3. Altheim I, Lofeoch G, et al. Bioassay of extracts of ambient particulate matter. *Environ Health Perspect*, 1983; 47: 227.
4. Lewtas J. Evaluation of the mutagenicity and carcinogenicity of motor vehicle emissions by use of short-term bioassays. *Environ Health Perspect*, 1983; 47: 141.
5. Rannug U. Data from short-term tests on motor vehicle exhausts. *Environ Health Perspect*, 1983; 47: 161.
6. Daisey JM, Kneip PEJ, et al. Seasonal variations in the bacterial mutagenicity of airborne particulate organic matter in New York City. *Environ Sci Technol*, 1980; 14(12): 1487.
7. Miller M, Altheim I, et al. Mutagenicity of airborne particles in relation to traffic and air pollution parameters. *Environ Sci Technol*, 1982; 16(4): 221.
8. 王志麟, 邹道忠, 等. 上海市大气颗粒有机污染物的测定. 上海环境科学, 1995; 14(7): 34
9. W ynder EL. *J Air Pollut Control Assoc*, 1965; 15: 155.

ANTITUMOR EFFECT IN VITRO OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE 901

Gao Ling, Wang Yixian, Zhang Qifen

Jiangsu Institute of Cancer Research, Nanjing 210009

Abstract Antitumor effect of Traditional Chinese Medicine 901 (TCM 901) was studied using colonyforming assay and trypan blue exclusion rate. The results showed that TCM 901 had inhibitory rate of 83.8% on colonyforming of carcinoma cell line H-7402. The inhibitory rate of TCM 901 in vitro against H-7402, BCG-823, SPS and P388 reached 100%, respectively. These results suggested that TCM 901 had markedly inhibition on the cancer cells and it might be a new antitumor agent.

Key Words Traditional Chinese Medicine 901 (TCM 901); carcinoma cell lines; colonyforming; cytotoxic

TCM 901 系江苏地区古老的蛇药秘方,由雄黄、珍珠、砂等七味传统中药配制而成。民间在长期救治蛇伤的基础上用其治疗多种肿瘤亦发现有良好效果。为了验证 TCM 901 的抗癌活性,我们对其进行了体外抗肿瘤药理研究。

材料和方法

1. 待测物与试剂

TCM 901 散剂用磷酸盐缓冲液(PBS)配制成不同浓度,灭菌备用。RPMI-1640 (GBCO)三蒸水配制,含小牛血清 10%,青霉素 200U/ml,链霉素 200 μ g/ml,氟脲嘧啶注射液(5-Fu),南通制药厂生产。

2. 肿瘤细胞系

肝癌 H-7402,胃腺癌 BCG-823,肠癌 SPS 和小鼠白血病细胞 P388 均由解放军八一医院全军肿瘤中心赠送,本室传代保种。

3. 实验方法

3.1 H-7402 细胞软琼脂集落形成检测

本实验采用在 Hamburger-Salmon 双层软琼脂法基础上改进的单层软琼脂培养法^(1,2)。将生长良好的贴壁细胞 H-7402 用 0.02% EDTA 消化成单细胞,经 RPMI-1640 洗涤后加至预热的含琼脂 0.3% 的 RPMI-1640

完全培养基中,并加待测的 TCM 901,使细胞终浓度为 1×10^3 /ml,接种于 24 孔塑料培养板,每孔 0.5ml。每剂量药物设三个平行孔。将此细胞置 5% CO₂ 温箱 37 $^{\circ}$ C 培养 7d。倒置显微镜下观察每孔集落数,以平行孔的均值为准计算集落形成率(plating efficiency PE)和集落抑制率。

3.2 台盼蓝排斥实验 贴壁细胞 H-7402, BCG-823 和 SPS 分别以 0.02% EDTA 消化, RPMI-1640 培养液洗涤二次,将 4×10^4 /ml 细胞接种于 10ml 的培养瓶,每瓶 3.6ml,加待测的 TCM 901 0.4ml,各剂量组均设三个平行瓶。悬浮细胞 P388 采用微量实验法。将浓度为 4×10^4 /ml 的 P388 接种于 96 孔培养板,每孔 180 μ l,加 TCM 901 20 μ l,各剂量组均设三个平行组。上述细胞置 5% CO₂ 温箱 37 $^{\circ}$ C 培养。贴壁细胞于 72h 后取出,消化洗涤。P388 分别于 24h 后和 48h 后取出。台盼蓝排斥法计数各组死活细胞数,取三批实验均值计算细胞抑制率⁽³⁾。

结果

1. 集落形成检测 结果见表 1,从表 1 可见 TCM 901 浓度为 1 μ g/ml 时对 H-7402 细胞在软琼脂上的集落形成即产生较强的抑制作

用, 其抑制率达 80% 以上, 强于 5-Fu 对 H—7402 的抑制作用, 组间 t 检验结果表明

实验有统计学意义 ($P < 0.01$)。本实验未观察到明显的量效关系。

表 1 TCM 901 对 H—7402 集落形成的抑制作用

组别	药物浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	平均集落数/孔 $\bar{x} \pm s$	EP%	集落抑制率%
RPM I-1640		129.00 \pm 7.00	32.25	
TCM 901	1.0	21.50 \pm 0.50*	5.38	83.80
TCM 901	5.0	44.33 \pm 12.97*	11.08	65.64
TCM 901	10.0	32.33 \pm 9.10*	8.08	74.94
TCM 901	50.0	21.73 \pm 3.40*	6.38	78.50
TCM 901	100.0	45.67 \pm 7.58*	11.43	64.60
5-Fu	5.0	40.67 \pm 7.36*	10.18	68.74

* $P < 0.01$

2 台盼蓝排斥实验

2.1 TCM 901 对 H—7402, BCG—823 和 SPS 三种癌细胞的杀伤作用见表 2。从表 2 可见, 药物浓度在 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的范围内,

对上述癌细胞的抑制呈量效关系, 其最大抑制率达 100%。倒置显微镜下观察结果, 多见细胞碎片而少见形态完整的死细胞, 推测 TCM 901 对上述癌细胞有溶解作用。

表 2 TCM 901 对三种人癌细胞增殖的抑制作用

药物浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	H—7402		BCG—823		SPS	
	细胞数 $\times 10^5$	抑制率%	细胞数 $\times 10^5$	抑制率%	细胞数 $\times 10^5$	抑制率%
0	8.06 \pm 1.04		10.03 \pm 2.13		6.90 \pm 1.04	
0.1	6.00 \pm 0.41*	30.23	4.23 \pm 0.67*	57.83	3.10 \pm 0.70*	55.07
0.2	3.17 \pm 0.62**	63.14	3.67 \pm 0.47*	63.41	1.97 \pm 0.86**	71.45
0.5	0.67 \pm 0.24**	92.21	1.60 \pm 0.29**	84.03	0.43 \pm 0.09**	93.77
1.0	0.57 \pm 0.09**	93.37	0.93 \pm 0.33**	90.73	0.40 \pm 0.08**	94.20
5.0	0.00 \pm 0.00**	100.0	0.00 \pm 0.00**	100.0	0.00 \pm 0.00**	100
50.0	0.00 \pm 0.00**	100.0	0.00 \pm 0.00**	100.0	0.00 \pm 0.00**	100
100.0	1.03 \pm 0.37**	88.02	6.00 \pm 0.41*	40.18	3.10 \pm 0.29**	55.07
5-Fu 5.0	2.77 \pm 0.27**	67.79	4.50 \pm 1.08*	55.13	2.77 \pm 0.21**	59.85

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 TCM 901 对 P388 的杀伤作用见表 3。从表 3 可见, 在 48h 内, TCM 901 对 P388 的抑

制强度与药物剂量及作用时间呈正相关, 最大抑制率达 100%。

表 3 TCM 901 对 P388 白血病增殖的抑制作用

药物浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	24h		48h	
	细胞数 $\times 10^5$	抑制率%	细胞数 $\times 10^5$	抑制率%
0	3.04 \pm 0.30		10.80 \pm 0.20	
1.0	2.20 \pm 0.10*	35.29	3.83 \pm 0.18**	64.53
10.0	0.80 \pm 0.45*	76.47	0.42 \pm 0.03**	96.11
100.0	0.45 \pm 0.15**	86.76	0.00 \pm 0.00**	100.0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

一氧化氮供体药物硝普钠的遗传毒性的研究

林慰慈¹ 薛宏伟¹ 刘胜英² 何轶勤² 付娟玲¹ 周宗灿¹

¹北京医科大学卫生毒理教研室 北京 100083 ²北京医科大学预防医学系 91 级学生

摘要 本文以硝普钠(SNP)为NO 供体药物,研究慢性升高的NO 对哺乳动物细胞的诱变作用和微核形成的影响。结果 SNP(2- 8mM, 不加或加 S9)处理,均以剂量—反应方式诱发 g12 细胞 *gpt* 位点突变,在最高受试剂量,诱变率分别超过本底 13 和 25 倍。在处理组还观察到含微核的双核细胞数显著增多。在 0.5- 4mM (+ S9)或 2- 8mM (- S9)SNP 剂量范围内,双核微核细胞率、微核率及含多微核的双核细胞比率均以剂量—依存方式增加。结果表明 SNP 释放的NO 过量积累可能是导致 g12 细胞遗传毒性的主要原因。

关键词 硝普钠;NO; g12 细胞;遗传毒性

STUDIES ON GENOTOXICITY OF SODIUM NITROPRUSSIDE

讨论

从传统中医药中发掘寻找高效低毒的抗癌药物是现代药学研究的一项重要内容,其成就和前景日益引人注目。据报道,雄黄对慢性粒细胞白血病有较好疗效⁽⁴⁾; 砂在中医临床被广泛用于治疗鼻咽癌、食道癌和皮肤癌⁽⁵⁾; 而珍珠则有解毒生肌及安神之功效⁽⁶⁾; 这说明 TCM 901 的组方成份有直接和间接的抗癌作用。

肿瘤干细胞(Stem cell)在肿瘤的发生、转移和复发过程中充当重要角色,这种干细胞在软琼脂上附着而形成集落。在 H—7402 集落形成试验中,观察到 TCM 901 对集落形成率有明显的抑制作用,但药物剂量与效应关系不明显,这与本室报道的 TCM 901 抗动物移植性肿瘤的实验结果是一致的⁽⁷⁾。

台盼蓝排斥实验证实,TCM 901 对 H—7401, BCG—823, SPS 和 P388 的细胞增殖有强烈的抑制作用。在一定的剂量范围内,其作用呈量效关系。就贴壁细胞而言,在抑制率

达到 100% 之后有一稳定的平台期,但药物浓度上升到 100 μ g/ml 之上,抑制强度又开始下降。这种生物学现象,以及实验中观察到的溶解细胞的作用机理,都有待我们进一步研究。

本实验为 TCM 901 的抗癌作用提供了一定的药理学基础。提示 TCM 901 有望成为一种新的中药抗癌制剂。

(本文承薛开先老师指正,谨表谢意!)

参考文献

1. Hamburger AW, Salmon SE. *Science*, 1977; 197: 461.
2. 高凌,王俏先,许林. 人癌细胞集落培养的改进. 实用癌症杂志, 1990; 5(3): 173
3. 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理学实验方法学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 1441—1442
4. 蚌埠医学院内科血液组,附属医院检验科. 雄黄治疗慢性粒细胞型白血病的近期观察. 蚌埠医学院学报, 1978; 1: 11.
5. 金有景. 抗癌食药本草. 上卷. 第一版. 北京: 中国食品出版社, 1989: 395.
6. 中华人民共和国药典二部. 1995: 198.
7. 王俏先,高凌,亢寿海等. 中药复方制剂“901”抗癌作用的实验研究. 癌症, 1993; 12(3): 251.