

# 消化腺提取物对 肿瘤细胞的 抑制作用

# Inhibitory Effect of Extracts of Digestive Gland on Proliferation of Tumor Cells

林 飞/路歧祥/吕 廉/梁 悱

(中国药品生物制品检定所 北京 100050)

LIN Fei, LU Qi-xiang, LÜ Lian, LIANG Yi

(National Institute for the Control of Pharmaceutical  
and Biological Products, Beijing 100050, China)

**【摘要】**背景与目的：研究消化腺提取物对小鼠移植瘤模型的抑制作用。 材料与方法：将肝癌 H<sub>22</sub>、肉瘤 S<sub>180</sub> 和人胃癌 MGC-803 细胞株移植到小鼠或裸鼠体内，建立荷瘤动物模型，连续灌胃给予消化腺提取物(EDG)后，分期测量肿瘤体积和瘤重。 结果：给予 EDG 后，荷瘤鼠的瘤体生长速度明显减慢，相对肿瘤体积明显缩小 ( $P < 0.01$ )；肿瘤增殖率均未超出 60%；肿瘤体积抑制率达到 43.7% 以上，EDG 各剂量组的瘤体重量明显减轻。 结论：消化腺提取物对荷瘤小鼠具有明显的抑制肿瘤生长作用。

**【关键词】**生物制剂；消化腺；抗肿瘤；药效

中图分类号：R994

文献标识码：A

文章编号：1004-616X(2007)02-0116-03

**【ABSTRACT】** BACKGROUND & AIM: To study the inhibitory effect of extracts of digestive gland on tumor cells using the mice tumor model. MATERIALS AND METHODS: Tumor cells of H<sub>22</sub>, S<sub>180</sub> and MGC-803 were transplanted into mice the extract was given through the gastrointestinal tract continuously, and the volume of the tumor was measured at different stages. RESULTS: After treatment with the digestive gland extract, the tumor development velocity in tumor bearing mice decreased significantly, and the tumor volume was markedly reduced. The tumour proliferation ratio was less than 60%, the tumor volume reduction ratio was more than 43.7%, and the tumor weight was decreased significantly after different doses of the extracts. CONCLUSION: Extract of digestive gland has obvious suppressive effect on tumor development.

**【KEY WORDS】** biology produce; digestive gland; anti-tumor; drug effect

近几年来有许多新的抗肿瘤生物制剂进入临床试用阶段，与化学药物、中草药和抗生素等比较，最主要的优点是毒性较低、靶向性较强，通过体内的免疫效应细胞杀灭癌细胞<sup>[1-3]</sup>。消化腺提取物是从动物体内消化腺中提取出的物质，初筛试验证实对动物体内具有明显的抑瘤作用和免疫增强作用，为此，我们按照国家新药审批要求，进行了荷瘤动物抗肿瘤主要药效学试验。

学检测中心提供(批号 20040102)。试验前称取受试药物 3 mg 加 1% 羧甲基纤维素钠 (CMC) 15 ml 配制成 0.2 mg/ml 的混悬液，用于各剂量组灌胃给药。各剂量组均按 0.4 ml/20 g 体重灌胃给药。

**1.2 阳性对照剂** 顺铂 (CDDP)，批号 9810024，由山东齐鲁制药厂生产。称取 CDDP 1mg 加蒸馏水 10 ml 配制成 0.1 mg/ml 的溶液。按 0.4 ml/20 g 体重腹腔注射给药。

**1.3 试验动物** SPF 级 BALB/c pi-nu 裸鼠，雌、雄各半，体重 22~24 g。SPF 级 BALB/c 近交纯系小鼠，雌、雄各半，体重 22~24 g。由中国药品生物制品检定所

## 1 材料与方法

**1.1 受试药物** 动物消化腺提取物 (extract of digestive gland, EDG) 为白色粉末，由科学技术部生命科

收稿日期：2006-10-21；修订日期：2006-12-27

作者简介：林 飞 (1954- )，男，北京市人，研究员，研究方向：药理毒理学。Tel: 010-67095576, E-mail: linfeibj@yahoo.com.cn

实验动物中心提供,实验动物使用许可证号:SYXK(京)2001-0002号。

**1.4 肿瘤细胞株** 鼠肝癌 H<sub>22</sub> 肉瘤 S<sub>180</sub> 和人胃癌细胞株 MGC-803 均为中国药品生物制品检定所药室传代保存。

**1.5 实验方法**<sup>[3-4]</sup>

**1.5.1 分组** 共设 5 组,分别为荷瘤鼠 1% CMC 对照组、阳性对照 CDDP 2 mg/kg 组、受试药物高剂量 4 mg/kg 组(约为 1/10 LD<sub>50</sub>)、中剂量 2 mg/kg 组和低剂量 1 mg/kg 组。

**1.5.2 接种癌细胞** ①将小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 肉瘤 S<sub>180</sub> 细胞体内传代 7 d,选生长良好的瘤种,无菌操作取出腹水,用生理盐水 2 倍稀释,于每只小鼠背部皮下分别接种肿瘤细胞悬液 0.2 ml(约 10<sup>6</sup>/ml)。接种后 24 h 开始灌胃给药,连续 8 d。②取人胃癌细胞株 MGC-803 研磨,并用生理盐水稀释到浓度 10<sup>7</sup>/ml,每只裸鼠背部皮下接种 0.2 ml。接种第 6 d 观察到肿瘤生长后分组,并开始灌胃给药,连续 8 d。

**1.5.3 测量活体动物的肿瘤体积** 裸鼠接种人胃癌细胞后的第 6、10、14 和 18 d,分别测量每只动物接种部位凸起肿块的大小,共测量 4 次,计算的肿瘤体积。计算公式如下:

肿瘤体积  $V = a \times b^2 / 2$ 。 a = 肿瘤的长径 (mm), b = 肿瘤的短径 (mm)。

相对肿瘤体积  $RTV = V_t / V_0$ 。  $V_0$  = 第 6 d 的肿瘤体积;  $V_t$  = 每 18 d 的肿瘤体积。

相对肿瘤增殖率 =  $RTV_T / RTV_C \times 100\%$ 。  $RTV_T$  = 给药组相对肿瘤体积;  $RTV_C$  = 对照组相对肿瘤体积。

**1.5.4 实体瘤称重** 给药结束后,脱颈椎处死动物,剪开局部皮肤,钝性剥离出瘤体组织,电子天平称重,以组为单位计算平均瘤重和瘤重抑制率。计算公式如下:

瘤重抑制率 =  $(C - T) / C \times 100\%$ 。 C = 对照组平均瘤重; T = 给药组平均瘤重。

**1.6 统计学方法**

采用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验和 F 检验,判定 P 值。

**2 结果**

**2.1 消化腺提取物对 H<sub>22</sub> 细胞的抑制作用** 试验重复 2 次,结果见图 1、表 1。结果表明消化腺提取物对小鼠肝癌 H<sub>22</sub> 移植模型具有明显抑制作用。EDG 高、中、低各剂量组对荷瘤小鼠瘤重抑制率分别为 42.5%、34.5% 及 25.5%,呈现出明显的量-效关系。与荷瘤鼠对照组比较,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。



图 1 给药组与对照组的肝癌 H<sub>22</sub> 荷瘤鼠瘤体的比较  
Figure 1 Compare of EDG and 1% CMC on tumor volum of murine H<sub>22</sub> sarcoma.

表 1 EDG对H<sub>22</sub>荷瘤鼠瘤重的影响

Table 1 Effect of EDG on tumor weight in tumor carrying mice with H<sub>22</sub> cells

Groups	Dose (mg/kg)	n	Tumor weight ( $\bar{x} \pm s, g$ )	Reduction rate (%)	P
1% CMC	-	30	2.00 ± 0.38	-	-
CDDP	2	30	0.86 ± 0.32	57.0	< 0.01
EDG	1	30	1.49 ± 0.54	25.5	< 0.05
	2	30	1.31 ± 0.52	34.5	< 0.01
	4	30	1.15 ± 0.48	42.5	< 0.01

**2.2 消化腺提取物对 S<sub>180</sub> 细胞的抑制作用**

结果见图 2、表 2。结果表明消化腺提取物对小鼠肉瘤 S<sub>180</sub> 移植模型具有明显抑制作用。EDG 高、中、低各剂量组对荷瘤小鼠瘤重抑制率分别为 40.5%、35.0%、28.0%,呈现出明显的量-效关系。与荷瘤鼠对照组比较,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

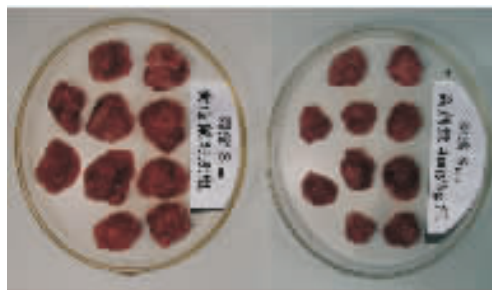


图 2 给药组与对照组的肉瘤 S<sub>180</sub> 荷瘤鼠瘤体的比较  
Figure 2 Compare of EDG and 1% CMC on tumor volum of murine S<sub>180</sub> sarcoma.

表 2 EDG对S<sub>180</sub>荷瘤鼠瘤重的影响

Table 2 Effect of EDG on murine S<sub>180</sub> sarcoma

Groups	Dose (mg/kg)	n	Tumor weight ( $\bar{x} \pm s, g$ )	Reduction rate (%)	P
1% CMC	-	30	2.00 ± 0.42	-	-
CDDP	2	30	0.85 ± 0.28	57.5	< 0.01
EDG	1	30	1.44 ± 0.36	28.0	< 0.05
	2	30	1.30 ± 0.48	35.0	< 0.01
	4	30	1.19 ± 0.35	40.5	< 0.01

**2.3 消化腺提取物对人胃癌 MGC-803 荷瘤裸鼠的抑制作用** 结果见表 3。结果表明,消化腺提取物对人胃癌 MGC-803 裸鼠移植模型具有明显抑制作用。EDG 高、中、低剂量组对荷瘤裸鼠瘤重抑制率分别为



47.3%、37.6%及29.7%，并呈现出明显的量-效关系。与荷瘤裸鼠对照组比较，差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 3 EDG对人胃癌MGC-803荷瘤裸鼠瘤重的影响

Table 3 Effect of EDG on tumor weight in tumor carrying mice with MGC-803 cells

Groups	Dose (mg/kg)	n	Tumor weight ( $\bar{x} \pm s, g$ )	Reduction rate (%)	P
1% CMC	-	30	1.65 ± 0.41	-	-
CDDP	2	30	0.76 ± 0.49	53.9	< 0.01
EDG	1	30	1.16 ± 0.26	29.7	< 0.05
	2	30	1.03 ± 0.24	37.6	< 0.01
	4	30	0.87 ± 0.22	47.3	< 0.01

2.4 动态观察不同时期肿瘤生长变化 移植人胃癌细胞的第6d测量各裸鼠,其肿瘤体积平均值已经

表 5 EDG对人胃癌MGC-803裸鼠不同天数的动态观察

Table 5 Observation of EDG on naked-rats MGC-803 sarcoma in different days

Groups	Dose (mg/kg)	n	Tumor volum ( $\bar{x} \pm s, mm^3$ )			
			D <sub>6</sub>	D <sub>10</sub>	D <sub>14</sub>	D <sub>18</sub>
1% CMC	-	24	29.8 ± 16.1	258.1 ± 95.8	1198.0 ± 571.1	2607.3 ± 579.0
CDDP	2	24	28.4 ± 15.9	104.8 ± 54.4 <sup>**</sup>	251.9 ± 102.5 <sup>**</sup>	956.3 ± 384.6 <sup>**</sup>
EDG	1	24	27.1 ± 13.9	120.2 ± 55.6 <sup>**</sup>	544.9 ± 464.8 <sup>**</sup>	1467.1 ± 407.9 <sup>**</sup>
	2	24	29.4 ± 16.5	127.7 ± 58.4 <sup>**</sup>	417.0 ± 231.4 <sup>**</sup>	1295.7 ± 443.0 <sup>**</sup>
	4	24	29.2 ± 14.5	131.8 ± 78.9 <sup>**</sup>	456.1 ± 262.7 <sup>**</sup>	1235.2 ± 456.3 <sup>**</sup>

### 3 讨论

在未来20年,恶性肿瘤死亡率会继续上升,死亡人数预计将达到1000万<sup>[5]</sup>,肿瘤的防治研究是人类面临的新挑战。常用抗肿瘤的化疗药物可以降低机体的免疫力,在杀伤肿瘤细胞的同时也破坏了机体正常细胞的生长。生物反应调节剂除少数具有抗增殖作用外,一般均通过机体的免疫效应细胞杀灭肿瘤细胞并诱导其凋亡,具有一定的靶向性,对正常细胞的杀伤作用较轻微,全身性的毒性反应不甚明显<sup>[6-7]</sup>,作为治疗癌前期病变的药物是十分有前景的。在国际上生物反应调节剂是肿瘤治疗研究的热门课题之一,我国也有近10种创新药物在进行临床或临床前的开发研究。

本实验选择SPF级近交纯系小鼠和裸鼠进行了抗肿瘤药效学研究。结果表明,消化腺提取物口服给药期间,各组荷瘤小鼠和裸鼠体重增长正常,未见明显的毒性反应和死亡;移植人胃癌细胞的第6d可见动物背部皮肤接种部位凸起形成肿块,肿瘤体积平均值大于27.1 mm<sup>3</sup>,说明肿瘤细胞已经在裸鼠体内成活并处于恶性增生阶段。给药治疗后第4d测定凸起的肿块,受试药物各剂量组和阳性对照组的肿瘤体积明显小于荷瘤裸鼠对照组,证实该药在短时间内就可作用于动物体内

大于27.1 mm<sup>3</sup>。给药不同期间测定凸起的肿块,EDG各剂量组和阳性对照组的肿瘤体积明显小于荷瘤裸鼠对照组,其差异均具有统计学意义( $P$ 均<0.01)。受试药物各剂量组在荷瘤裸鼠第18d时,肿瘤增殖率均未超出60%;肿瘤抑制率也达到43.7%以上,与荷瘤裸鼠对照组有明显差别。结果见表4、5。

表 4 EDG对人胃癌MGC-803裸鼠肿瘤体积增长的影响

Table 4 Effect of EDG on Tumor volum of naked-rats MGC-803 sarcoma

Groups	Dose (mg/kg)	n	Relatively tumor vol	T. proliferate rate (% , mm <sup>3</sup> )	Reduction rate (%)
1% CMC	-	24	87.5	-	-
CDDP	2	24	33.7	36.6	63.3
EDG	1	24	54.1	56.3	43.7
	2	24	44.1	49.7	50.3
	4	24	42.3	47.4	52.6

的肿瘤细胞,并有明显的抑制肿瘤细胞增生的作用。

消化腺提取物在荷瘤小鼠体内的抑瘤率与其剂量的大小有关,在1~4 mg/kg剂量范围内,对小鼠肝癌H<sub>22</sub>、肉瘤S<sub>180</sub>和人胃癌MGC-803移植模型具有较好的抑制作用,并随着剂量的增大其抑瘤效果更明显。该结果提示动物消化腺提取物有望成为抗肿瘤的新型药物。

### 参考文献:

- [1] 林飞,吕廉,杨旭清,等. 双环铂及其衍生物对大鼠靶器官毒性损伤的比较[J]. 癌变·畸变·突变, 2005, 17(5): 276-279.
- [2] 王秦秦,李继梅,唐虞珠,等. 基因重组血管增生抑制因子抗肿瘤作用实验研究[J]. 肿瘤基础与临床, 2005, 3(1): 14-17.
- [3] 卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学 毒理学)[M]. 抗肿瘤药, 1993: 137-140.
- [4] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 1991: 1423-1436.
- [5] 程书钧. 肿瘤防治研究的新挑战[J]. 癌变·畸变·突变, 2004, 16(4): 193-195.
- [6] Neuzil J, Weber T, Gellert N, et al. selective cancer killing by a-tocopheryl succinate[J]. Br J Cancer, 2000, 84(1): 87-89.
- [7] Brittenben J, Heys SD, Ross J, et al. Natura Killer cell and Cancer[J]. Cancer, 1996, 77(7): 1226-1243.