

文章编号:1004-616X(2002)04-0231-03

论著·

## 蛇床子素对肺腺癌、肺鳞癌生长抑制作用的实验研究

周俊,程维兴,许永华,张东辉,王冬梅

(兰州军区乌鲁木齐总医院,新疆乌鲁木齐 830000)

**【摘要】**目的:观察蛇床子素对人肺鳞癌和肺腺癌的抑制作用。方法:建立 BALB/C 裸鼠的人肺腺癌和肺鳞癌模型,给予蛇床子素,剂量为 1.5  $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ ,观察瘤体的大小、重量和动物血清中肺癌标志物 DR-70 的水平,以此评价蛇床子素的抑癌作用。结果:蛇床子素对肺鳞癌的抑癌率为 69.5%,对肺腺癌的抑癌率为 50.0%,对 DR-70 也有显著降低作用。结论:蛇床子素对肺鳞癌和肺腺癌的瘤体生长有一定的抑制作用,尤其是肺鳞癌。

**【关键词】**蛇床子素;肺癌;裸鼠

中图分类号:R979.13 文献标识码:A

### INHIBITION OF OSTHOL ON ADENOCARCINOMA AND SQUAMACARCINOMA OF LUNG

ZHOU Jun, CHENG We i-xing, XU Yong-hua, *et al*

(Urumqi General Hospital of Lanzhou Command, PLA, Urumqi 830000, China)

**【Abstract】 Purpose:** To observed the inhibition effect of osthol on human lung adenocarcinoma and squamacarcinoma. **Methods:** Set up models of human lung adenocarcinoma and squamacarcinoma on the bodies of BALB/C, one kind of nude mice, then osthol was given to the mice in the dose of 1.5  $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ . Antitumor effect of osthol were valued by weighing the tumor and deterring DR-70, the mark of lung cancer in BALB/C serum.

中,但某些肿瘤外组织如肺、外周血淋巴细胞、肌肉、肾、脑、肝脏等组织中均发现有 *mdr-1* 基因的表达<sup>4</sup>。用 RT-PCR 方法检测 *mdr-1* 基因表达国内外已有大量研究,然而正常组织如外周血淋巴细胞中 *mdr-1* 基因与癌组织细胞中的表达是否有相关性,则未见报道。由于此方法常规需采用癌组织标本检测,有很大一部分晚期癌症患者首诊时已失去手术机会不能提供癌组织标本,因此只能凭经验判定化疗方法。由此可见,寻找一种较易获得的替代标本是非常必要的。外周血淋巴细胞易于获取,从理论上讲外周血淋巴细胞替代癌组织细胞进行此项检测是可行的。我们的研究表明,同一抗肿瘤药物体外诱导癌组织细胞和相应外周血淋巴细胞的 *mdr-1* 基因表达存在高度的正相关关系。由此可见,外周血淋巴细胞可以替代

癌组织细胞进行此项检测。本研究为临床肿瘤患者个体化用药提供了又一个新的途径。

#### 参考文献:

- 1 司徒贞,吴军正.细胞培养 M. 第二版.西安:兴界图书出版公司,1999.134~135.
- 2 殷丽明,陈克能,李殿发,等.常见恶性肿瘤新鲜组织中原发性多药耐药基因表达的初步研究 J. 中华肿瘤杂志,1997,19(6):420~422.
- 3 刘晓晴,宋三泰,石成华,等. RT-PCR 方法检测乳癌组织 *mdr-1* 基因表达标准的建立 J. 中华肿瘤杂志,1997,19(1):38~41.
- 4 Zaman GR, Versantvoort CHM, Smit JJM, *et al.*. Analysis of the expression of MRP, the gene for a new putative transmembrane drug transporter, in human multidrug resistant lung cancer cell lines J. *Cancer Res*, 1993, 53(8):1747~1750.

收稿日期:2002-01-24; 修订日期:2002-06-10

作者简介:周俊(1967-),女,四川省人,主治医师,硕士,研究方向:肿瘤与免疫。

**Results:** The inhibitory rates were 69.5 % on lung squamapcarcinoma, and 50 % on lung adenocarcinoma, respectively also obviously decreased the level of serum DR-70. **Conclusion:** Osthol can inhibit the growing of lung adenocarcinoma and lung squamapcarcinoma, especially the squamapcarcinoma.

**【Key words】** osthol; lung cancer; nude mice

经过实验研究,我们发现蛇床子(*Cnidium monnieri* Cuss)提取液有较强的抑瘤作用<sup>1</sup>。目前已知蛇床子中有 8 种单体:棕榈酸(palmitic acid)、蛇床子素(osthol)、-谷甾醇(-sitosterol)、佛手柑内酯(bergapten)、异虎耳草素(isopimpinellin)、花椒毒酚(xanthotoxol)、欧芹属素乙(imperatorin)和花椒毒素(xanthotoxin),其中蛇床子素收得率最高<sup>2</sup>。蛇床子素为香豆素类化合物,无色柱状结晶,蛇床子中含量 0.8%,分子式 C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub><sup>4</sup>。已知蛇床子素具有较强的抑制表皮癣菌的活性,并有一定的抗诱变作用<sup>3</sup>,所以我们进一步对单体蛇床子素进行了抗肿瘤作用的研究。

## 1 材料

1.1 蛇床子素 购自中国药品生物制品检定所,批号:822-200002。

1.2 实验动物 6~7 周龄雄性 BALB/C 裸鼠,由兰州生物制品研究所提供,在本院动物中心 SPF 级条件饲养。合格证:医动字第 14-007 号。

1.3 肿瘤细胞 肺腺癌(spc-A-1)细胞株由上海肿瘤研究所提供,本室传代保存。肺鳞癌组织来源于本院胸外科一中心性肺鳞癌患者(男,58 岁),切除的标本病理报告为支气管鳞癌。

1.4 DR-70 试剂盒 即肺癌酶联定量试剂盒,购自北京美迪克公司(AMDL, INC. 公司产品,编号 Bp-86)。

## 2 方法

2.1 肺腺癌(spc-A-1)荷瘤小鼠的建立 spc-A-1 细胞常规培养于含 12% 新生小牛血清、0.25 mmol/L HEPES,100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素的 RPMI1640 培养基中。于指数生长期胰酶消化后收集细胞于 1640 培养基中,调整细胞数为 5 × 10<sup>5</sup>/ml。经台盼兰染色,细胞存活力大于 95%。取细胞悬液

0.2 ml/只接种于裸鼠背部皮下。

2.2 肺鳞癌荷瘤小鼠的建立 选择生长良好肉眼观察无坏死或液化的鳞癌组织,置无菌平皿内剪成 1 mm<sup>3</sup>左右的小块,保存于 1640 培养基中,在无菌条件下,用套管针接种于裸鼠背部皮下。

2.3 剂量选择 根据预实验结果,0.11 mg/(g·d)~0.21 mg/(g·d)为蛇床子抑制肺腺癌和肺鳞癌生长的最佳剂量,由此推算出本实验中蛇床子素剂量应在 0.88 μg/(g·d)~1.68 μg/(g·d)范围内。故选择 1.5 μg/(g·d)作为实验剂量。

2.4 实验分组及处理 皮下接种 spc-A-1 细胞的 12 只裸鼠,随机分为 2 组:受试组和对照组。受试组给予蛇床子素腹腔注射,连续 10d,对照组只注射同体积的生理盐水。停止给药后处死动物,称体重及瘤重。皮下接种肺鳞癌组织的 12 只裸鼠处理同前。实验中观察以下指标:瘤重、体重,并计算抑瘤率<sup>5</sup>和瘤/体比值:

$$\text{肿瘤生长抑制率} = (1 - \frac{\text{实验组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}}) \times 100\%$$

测定 DR-70。用小鼠血清 10 μl 按说明书在波长 = 450 nm 时测 OD 值,所有操作均由一人完成。在实验中,采 10 只健康裸鼠的血清测定了 DR-70 的 OD 值,以其平均值作为裸鼠的正常值。健康人的 DR-70<sup>Tm</sup> < 8 μg/ml。

2.5 统计学处理 用 version Spss 9.0 软件进行方差分析和检验。

## 3 结果

蛇床子素能不同程度地抑制肺腺癌和肺鳞癌瘤体的生长,与对照组比较,均具有统计学差异( $P < 0.01$ )。肺鳞癌对蛇床子素的作用更为敏感,抑瘤率达 69.5%(表 1)。

肺腺癌、肺鳞癌实验组小鼠血清中的肺癌标志物 DR-70 水平均低于各自对照组,经统计学分析有显著性差异。测定结果见表 2。

表 1. 蛇床子素对瘤体的生长抑制作用

Table 1. Growing inhibition of osthol on the tumors

Specimen	Groups	n	Body weight	Tumor weight	Tumor/ body	Inhibitory rates (%)
			/g, $\bar{x} \pm s$	/g, $\bar{x} \pm s$	(%)	
Adenocarcinoma	Control	6	20.66 $\pm$ 0.11	0.05 $\pm$ 0.01	0.2	-
	Test	6	25.30 $\pm$ 0.12 *	0.02 $\pm$ 0.01 *	0.1 *	50.0
	F		0.0767	0.0847	0.0648	
Squamacarcinoma	Control	6	19.94 $\pm$ 0.10	0.95 $\pm$ 0.02	5.3	-
	Test	6	23.51 $\pm$ 0.13 *	0.29 $\pm$ 0.01 *	1.2 *	69.5
	F		0.4664	0.8225	0.4923	

\*  $P < 0.01$ , compared with the control groups.

表 2. 蛇床子素对 DR-70 的影响

Table 2. Influence of osthol on DR-70

Specimen	Groups	n	OD ( $\bar{x} \pm s$ )	F
Adenocarcinoma	Control	6	1.117 $\pm$ 0.02	0.07965
	Test	6	0.632 $\pm$ 0.01 *	
Squamacarcinoma	Control	6	1.335 $\pm$ 0.02	0.65573
	Test	6	0.794 $\pm$ 0.01 *	
Normal nude mice		10	0.539 $\pm$ 0.01	

\*  $P < 0.01$ , compared with the control groups.

#### 4 讨论

从实验结果可以看出,蛇床子素对肺鳞癌瘤体生长的抑制作用(抑瘤率 69.5%)强于对肺腺癌瘤体的抑制作用(50%),这表明蛇床子素抑瘤作用可能存在一定的选择性。

DR-70 是肺癌标志物,在一定程度上反映癌症的转归、治疗效果及肿瘤的恶性程度。被接种肺鳞癌的裸鼠血清中的 DR-70 水平(OD = 1.335)高于被接种肺腺癌的裸鼠(OD = 1.117),也说明了鳞癌恶性度大于腺癌。给予蛇床子素的受试组与对照组相比,血清 DR-70 水平有明显降低,说明蛇床子素对癌组织浸润机体有一定抑制作用,在一定程度上也反映出蛇床子素可能有抑瘤作用。

本实验室曾作过蛇床子水提取液对肺癌的抑制作用(未发表资料),经过比较发现蛇床子素的抑制作用弱于蛇床子水提取液(CMC)的抑制作用,见表 3。蛇床子中还含有棕榈酸, -谷淄醇和一些香豆素类化合物,这些化合物中可能有一种或多种物质与蛇床子素一同起作用,相互协同或增强对肺癌的抑制作用。这需要进一步去实验证实。

在实验中发现,接种后的肺鳞癌瘤体明显大于肺腺癌瘤体,这可能由于肺鳞癌恶性度高于肺腺癌,也

可能由于两种癌细胞的来源不同:肺鳞癌直接取自人体,而肺腺癌是体外培养的癌细胞株。

表 3. 蛇床子素与蛇床子水提取液对肺癌生长抑制率的比较

Table 3. Comparison of inhibitory rate between Osthol and CMC

	Dose	Adenocarcinoma	Squamacarcinoma
Osthol	1.50 $\mu$ g/ (g $\cdot$ d)	50.0 %	69.5 %
CMC Test	1 0.11mg/ (g $\cdot$ d)	44.0 %	67.3 %
	2 0.21mg/ (g $\cdot$ d)	52.0 %	84.6 %

#### 参考文献:

- 周俊,殷学军,王瑞,等.蛇床子水提取液对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用 J. 癌变 畸变 突变,2001,13(3):160~163.
- 向仁德,傅晓红.蛇床子化学成分的研究( ) J. 中草药,1984,15(9):14~15.
- 殷学军,向仁德,刘德祥,等.中药蛇床子水溶性提取物中化学成分的抗诱变性的研究 J. 癌变 畸变 突变,1999,11( ):65~71.
- 向仁德,王丹,傅晓红.蛇床子化学成分的研究(11) J. 中草药,1986,17(2):6~7.
- 钟进义,孙丰运,张燕滨. A - CM 海洋生物制剂对小鼠 S180 肉瘤抑制作用研究 J. 癌变 畸变 突变,1998,10(6):365~368.
- 潘峻,黄强,兰青,等. SarCNU 在 MGMT 耐药基因高表达荷瘤鼠中抗肿瘤作用分析 J. 实用肿瘤杂志,2000,15(3):173~175.