

血瘀证模型大鼠血栓烷 B₂、6-酮-前列腺素 F₁ 与肿瘤肝转移的关系

陈 震, 刘鲁明, 何以蓓

(复旦大学附属肿瘤医院中医科, 上海 200032)

[摘要] 目的 探讨血瘀证模型大鼠血浆血栓烷 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F₁ (6-Keto-PGF₁) 的水平与肿瘤肝转移的关系。方法 用地塞米松和肾上腺素法复制血瘀证模型, 对照组则给予等量生理盐水。血瘀证模型复制成功的次日, 两组大鼠均经脾接种 W256 肉瘤株制作肿瘤肝转移模型。观察两组肿瘤的生长情况、肝转移灶的数目, 并用放免法测定血浆 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 的浓度。结果 血瘀证组原发灶的肿瘤重量与肝转移灶的数目明显少于对照组, 有显著性差异; 而血浆 6-Keto-PGF₁、TXB₂ 及 TXB₂/6-Keto-PGF₁ 均高于对照组, 有显著性差异。结论 机体在血瘀状态下, 其原发肿瘤生长较慢; 血浆 6-Keto-PGF₁ 和 TXB₂ 均有所升高, 而肿瘤转移的发生率未见明显增加。

[关键词] 肝肿瘤; 肿瘤转移; 血瘀证; 血栓烷 B₂; 6-酮-前列腺素 F₁

[中图分类号] R73-37 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2003)03-0199-03

Correlation between TXB₂, 6-Keto-PGF₁ and liver metastasis in rats model with blood stasis

CHEN Zhen, LIU Lu-Ming, HE Yi-Bei

(Department of Traditional Chinese Medicine, Cancer Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the correlation between serum level of TXB₂, 6-Keto-PGF₁ and liver metastasis.

Methods The metastatic model was made by injection of W256 carcinosarcoma. Rats were randomly divided into two groups: rats with blood stasis group and control group. Rats in control group were given normal saline *via* abdominal cavity once a day. Rats in blood stasis group were injected adrenalin in the fourteenth day. Tumor size and liver metastasis were observed. Serum TXB₂ and 6-Keto-PGF₁ were tested by radioimmunoassay. **Results** Tumor size in rats with blood stasis was significantly smaller than that of the control group ($P < 0.01$). Occurrence of liver metastasis in rats with blood stasis was significantly lower than that of the control group ($P < 0.01$). The values of 6-Keto-PGF₁, TXB₂, and TXB₂/6-Keto-PGF₁ were higher in the group with blood stasis. **Conclusion** In the status of blood stasis, W256 carcinosarcoma grows slowly, and liver metastasis increases insignificantly, with the elevations of 6-Keto-PGF₁, TXB₂ and TXB₂/6-Keto-PGF₁.

[KEY WORDS] liver neoplasms; neoplasm metastasis; blood stasis; TXB₂; 6-Keto-PGF₁

[J Chin Integr Med, 2003, 1(3): 199-201]

肿瘤的转移与血瘀证关系密切, 多数学者认为血瘀证具有促进肿瘤转移的作用^[1], 而与其相反的观点也时见报道^[2,3]。血瘀证与血小板聚集性的增高及血栓烷 B₂ (TXB₂)、6-酮-前列腺素 F₁ (6-Keto-PGF₁) 的代谢异常有关^[4]。因此, 我们选用肝转移模型来观察血瘀情况下的肿瘤生长、肝转移的特点及其与 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 水平之间的关系, 以探讨血瘀证对肿瘤转移的影响及其机制。

1 材料与方 法

1.1 动物和瘤株 清洁级雄性 Wistar 大鼠 20 只, 体重(200 ± 20)g, 由复旦大学医学院实验动物中心提供, 浙江中医学院实验动物中心饲养。W256 肉瘤株, 由上海医药工业研究所提供。细胞复苏后接种于大鼠腹腔内, 取肿瘤细胞正处于快速增殖期的

腹水, 用生理盐水进行稀释, 调整细胞浓度至 5.0×10^7 个细胞/ml 备用。

1.2 主要仪器和试剂 低温离心机(3 000 ~ 5 000 r/min)、SN-695 型智能放免测量仪、TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 放免试剂盒(北京解放军总医院科技开发中心放免所提供)。

1.3 转移模型复制 以氯胺酮麻醉, 常规消毒, 于大鼠左侧肋弓下切开腹壁, 在脾下极注射瘤细胞悬液 0.1 ml, 压迫止血后缝合创面。

1.4 分组和处理 将大鼠随机分为血瘀证组和对照组, 各 10 只。对照组于分组当天起每只大鼠肌肉注射生理盐水 0.1 ml/次, 1 次/d, 共 13 d; 第 14 天

[基金项目] 国家中医药管理局基金资助项目(2000-J-P34)

[作者简介] 陈 震(1969-), 男, 博士, 主治医师。

E-mail: chenzhen100@sohu.com

每只大鼠于皮下注射生理盐水 0.1 ml。血瘀证组也于分组当天起制作血瘀证模型^[5]:每只大鼠肌肉注射 0.1% 地塞米松 0.1 ml 次,1 次/d,共 13 d;第 14 天于皮下注射 0.1% 肾上腺素 0.1 ml;第 15 天制作肝转移模型。随后开始观察肿瘤的生长情况,于第 29 天摘眼球取血,置于存有抗凝剂的试管中,经离心取血浆,在 -20℃ 下保存,并按照放免试剂盒的说明测定 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁。脱椎处死大鼠,取出脾脏,分离肿瘤并称重;取出肝脏,计数肝转移结节。

1.5 统计分析 数据统计采用 SPSS 10.0 软件,均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 肿瘤的生长和转移 血瘀证组大鼠脾脏的平均瘤重明显低于对照组 ($P < 0.01$);其转移灶的数目也明显少于对照组,均有显著性差异 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 两组大鼠的瘤重及肝转移灶数的比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	脾脏瘤重(g)	肝转移灶数
对照组	10	0.514 ± 0.118	2.6 ± 2.12
血瘀证组	10	0.240 ± 0.121**	2.0 ± 1.33*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2.2 血浆 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 水平 血瘀证组大鼠血浆 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 的水平明显高于对照组,两组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 两组大鼠血浆 TXB₂,6-Keto-PGF₁ 的比较
($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	<i>n</i>	TXB ₂	6-Keto-PGF ₁
对照组	10	943.60 ± 108.98	285.73 ± 102.10
血瘀证组	10	2118.08 ± 460.21**	402.28 ± 61.31**

注:与对照组比较,** $P < 0.01$

2.3 血浆 TXB₂ 与 6-Keto-PGF₁ 的比值(T/6) 血瘀证组 T/6 为 (5.47 ± 1.82);对照组 T/6 为 (3.71 ± 1.36)。两组比较,血瘀证组 T/6 值明显高于对照组,其差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 讨论

中医认为肿瘤属于“癥瘕”的范畴,是血瘀证的一种表现。瘀贯穿于肿瘤发生、发展的全过程,是肿瘤最主要的病理变化之一。由于肿瘤的快速增殖,

其所需的血供常常得不到满足;又由于肿瘤细胞能分泌某些化学活性物质,通过抗纤溶、促血小板聚集等途径,使患者对内、外源性致凝因素的敏感性增加,机体的血液处于一种高凝状态。血液的高凝状态是血瘀证的表现之一。临床上,许多肿瘤患者都存在血瘀证,表现为肿块、疼痛、舌质紫瘀、出血、血管异常以及血液流变学的改变^[1]。血瘀证常伴有血液黏滞度的增高和血小板聚集力的增强^[4]。目前已知的生物活性最强的促血管收缩和血小板聚集的物质是血栓烷 A₂ (TXA₂);而它的生物拮抗剂是前列腺素 I₂ (PGI₂),具有扩张血管、抑制血小板活性的功能。TXA₂ 和 PGI₂ 是花生四烯酸在不同环氧化酶作用下的不同产物,两者在正常情况下处于动态平衡^[6]。TXA₂ 和 PGI₂ 的半衰期极短,实际研究中常用其代谢产物 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 来反映上述两者的水平。在前列腺癌^[2]、脑肿瘤^[3]、肺癌^[7]、肝癌^[8]、乳腺癌^[9] 及头颈部鳞癌^[10] 等的研究中发现,这些肿瘤患者的血浆 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 有所升高,反映了恶性肿瘤患者血液高凝状态存在的基础。本实验发现血瘀证大鼠的 TXB₂、6-Keto-PGF₁ 及 T/6 值要明显高于对照组,证实了肿瘤血瘀证大鼠存在着血小板代谢和功能的异常,从而形成了血液的高凝状态。

不少研究发现,活血化瘀药对肿瘤的血行转移具有促进作用。韩俊庆等^[11] 用活血化瘀的中药配合放疗治疗鼻咽癌,发现活血化瘀中药组患者肿瘤的血行转移率是对照组的 2.67 倍。有人观察了丹参、复方丹参、赤芍、当归、红花、鸡血藤、阿魏酸钠和川芎嗪等对小鼠肝癌细胞形成及肺转移的影响,结果发现上述中药大多具有促进肿瘤转移的作用^[12]。傅乃武^[13] 报道,丹参对大鼠 W256 癌细胞的血行扩散和转移有明显的促进作用。尽管活血化瘀中药可以解除血液的高凝状态,但在评价不同的活血化瘀中药在抗肿瘤转移的作用方面仍存在很大争议。更无在血瘀证动物模型基础上进行肿瘤转移特点研究的报道。

本实验采用在血瘀证模型基础上复制 W256 肝转移模型,观察肿瘤的生长和转移特点。上述造模方法既具有中医证型的特点,又符合肿瘤自发转移的过程。对脾脏原发肿瘤重量的观察发现,血瘀证组大鼠脾脏的平均瘤重明显低于对照组 ($P < 0.01$)。表明在血瘀状态下,原发肿瘤生长缓慢;与此相应的是肿瘤肝转移的数目也并未增加。提示在血瘀状态下,肿瘤的生长和转移有可能受到了抑制。这一结果支持了活血化瘀药对肿瘤的血行转移可能具有促进作用的观点。

在肿瘤的转移过程中,血小板起了极为重要的作用。如血小板包裹瘤细胞可封闭宿主巨噬细胞对瘤细胞的杀伤;血小板瘤细胞团能阻塞小血管,引起远端内皮细胞缺氧、坏死;通过血小板搭桥,癌细胞更容易黏附于内皮下基质;附壁后癌细胞由于血小板的保护,不易被局部血流冲走^[14]。上述过程无不与血小板的聚集功能及其表达的黏附因子有关。不少作者认为恶性肿瘤转移时, TXB₂ 与 6-Keto-PGF₁ 的变化趋势一致,均表现为异常显著的升高。Mehta^[15] 观察恶性骨肿瘤患者时发现 TXB₂ 和 6-Keto-PGF₁ 的升高,提示伴有转移的恶性肿瘤患者体内前列腺素代谢活跃是一条普遍的规律。血浆 TXB₂ 及 6-Keto-PGF₁ 水平增高的机制,与恶性肿瘤侵犯周围组织造成局部微血管的破坏以及转移癌栓子侵入血流致使血小板激活有关。恶性肿瘤细胞亦可直接或间接地通过分泌一些刺激因子,促使血小板、前列腺素代谢活跃。我们的实验结果显示: TXB₂、6-Keto-PGF₁ 及 T/6 值在血瘀证组较高,该组的肿瘤转移率低;而对照组 TXB₂、6-Keto-PGF₁ 及 T/6 值较低,肿瘤转移率高,两组比较差异显著。提示血瘀证可能通过不同于血液黏滞和血小板聚集的其它未知途径来抑制肿瘤的生长和转移。血瘀与血液高凝状态不是一个一一对应的关系,血瘀证还应该包含有其他的病理生理和生化的改变。活血化瘀中药的抗肿瘤作用与其活血化瘀的作用(即解除血液高凝状态的作用)并不完全同步。

肿瘤的生长和转移是一个多步骤的复杂过程。由于本实验采用了单一的血瘀证模型,并不能完全说明血瘀证形成过程中肿瘤生长和转移的特点。对血瘀证动物模型其肿瘤生长和转移未见增加的机制尚待进一步研究。

[参考文献]

- 1 刘明章,黄贻穗,肖伟琪.丹参酮-A 磺酸钠对 Lewis 癌无促进生长与转移作用[J].中国药理学报,1991,12(6):534-537.
- 2 Khan O, Hensby CN, Williams G, et al. Prostacyclin in

prostatic cancer: a better marker than bone scan or serum acid phosphatase[J]. Br J Urol, 1982, 54(1): 26-31.

- 3 陈卫国,李自成,袁先厚.脑肿瘤患者血浆前列环素和血栓素 A₂ 水平的探讨[J].中国肿瘤临床,1992,19(6): 425-427.
- 4 周端,顾仁樾,曹卫,等.血清血栓烷 B₂ 含量与高血压病淤血证的关系[J].湖北中医杂志,1990,12(3): 38-39.
- 5 马治中,杨明,和岚,等.血瘀病理模型探索(三)——模拟阴虚火旺复制慢性血瘀模型[J].北京医科大学学报,1991,23(4): 287-289.
- 6 汤钊猷主编.现代肿瘤学[M].上海:上海医科大学出版社,1993.104-106.
- 7 关海蓉.肺癌患者肺泡巨噬细胞与 PGE₂、TXA₂ 的关系[J].山东医药,1992,32(5): 22-23.
- 8 朱菊人,朱忆,陆伟君,等.原发性肝癌患者血浆 PGE₂、TXB₂、6-Keto-PGF₁ 含量变化及其临床意义[J].山东医药,1997,37(6): 3-4.
- 9 Aitokallio-Tallberg A, Karkkainen J, Pantzar P, et al. Prostacyclin and thromboxane in breast cancer: relationship between steroid receptor status and medroxyprogesterone acetate[J]. Br J Cancer, 1985, 51(5): 671-674.
- 10 Slotman GJ. Plasma thromboxane A₂ and prostacyclin concentrations in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. J Surg Oncol, 1988, 38(1): 33-37.
- 11 韩俊庆,陈延条,满运艳,等.复春片合并放射治疗鼻咽癌临床研究[J].中国中西医结合杂志,1995,15(12): 710-712.
- 12 李学汤,王永泉,傅乃武.几种活血化瘀药物对小鼠肝癌细胞形成肺转移影响的初步实验观察[J].中医杂志,1980,21(8): 75-77.
- 13 傅乃武.丹参对实验肿瘤生长和转移的影响及其作用原理的初步探讨[J].中华肿瘤杂志,1981,3(2): 165-170.
- 14 Honn KV. Cancer invasion and metastasis[A]. In: Nielson GL. Biologic and therapeutic aspects[M]. London: Williams & Wilkins, 1984. 361-383.
- 15 Mehta P. Potential role of platelets in the pathogenesis of tumor metastasis[J]. Blood, 1984, 63(1): 55-63.

[收稿日期] 2003-05-26 [本文编辑] 黄文华 周庆辉

《中西医结合学报》已加入《中国期刊网》

《中西医结合学报》已加入《中国期刊网》,在本刊发表的文章将被收入中国学术期刊(光盘版)与中国期刊网全文数据库。本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付。

中国期刊网网址: <http://www.cnki.net>

《中西医结合学报》网址: <http://xbzx.chinajournal.net.cn>