

生脉注射液对 5-FU 增效减毒作用的实验研究

陈震, 王鹏, 黄雯霞, 刘鲁明

(复旦大学肿瘤医院中医科, 上海 200032)

[摘要] 目的: 观察生脉注射液对 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 抗肿瘤的增效减毒作用。方法: 建立 H22 肝癌荷瘤鼠模型后, 将 50 只小鼠随机分为 5 组: 对照组、5-FU 组和生脉注射液 (大、中、小剂量) 联合 5-FU 组, 每组 10 只。造模次日开始进行干预处理: 对照组、5-FU 组和生脉注射液 (大、中、小剂量) 联合 5-FU 组分别腹腔注射等容量生理盐水、5-FU、生脉注射液 (大、中、小剂量) 联合 5-FU, 共 14 d。停药次日处死小鼠, 观察瘤重抑制率、免疫功能、肝肾功能及外周血细胞变化。结果: 生脉注射液联合 5-FU 各组小鼠的肿瘤生长抑制率明显高于 5-FU 组和对照组 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 5-FU 组 CD3、CD4、CD4/CD8、IgG、IgM 值明显降低 ($P < 0.05$), 而各生脉注射液联合 5-FU 组 CD3、CD4、CD4/CD8、IgG、IgM 值升高 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 5-FU 组的血丙氨酸氨基转移酶升高、白细胞和血小板数量降低 ($P < 0.05$); 而各生脉注射液联合 5-FU 组血丙氨酸氨基转移酶与对照组比较无明显变化, 白细胞数下降程度较轻。结论: 生脉注射液可增加 5-FU 的抑瘤效果, 提高机体免疫功能, 减轻化疗毒副反应。

[关键词] 抑瘤率; 免疫力; 副反应; 5-氟尿嘧啶; 生脉注射液

[中图分类号] R73-36 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2005)06-0476-04

Experimental study on effects of Shengmai Injection: enhancing 5-FU anti-tumor efficacy and reducing its toxicity

CHEN Zhen, WANG Peng, HUANG Wen-Xia, LIU Lu-Ming

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

ABSTRACT Objective: To observe the effects of Shengmai Injection on enhancing efficacy and reducing toxicity of 5-fluorouracil (5-FU). Methods: Fifty hepatoma 22 bearing mice were randomly divided into five groups: control group, 5-Fu group, Shengmai Injection (low, medium and high dose) combined with 5-FU groups. There were 10 mice in each group. Mice in the five groups were injected intraperitoneally the same amount of normal saline, 5-FU ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and Shengmai Injection ($3.5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, $7 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and $14 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) combined with 5-FU respectively, once a day for 14 days. After that, all mice were killed and the tumor inhibiting rates, index of immunological function, liver and kidney function and the blood cells in the peripheral blood were observed. Results: The tumor inhibiting rates were higher in each Shengmai Injection combined with 5-FU group than that in the 5-FU group ($P < 0.05$). The levels of CD3, CD4, CD4/CD8, IgG, IgM in 5-FU group were lower ($P < 0.05$), while those in the three Shengmai Injection combined with 5-FU groups were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The level of serum alanine aminotransferase (ALT) was higher and the WBC and PLT counts in the peripheral blood were lower in 5-FU group than those in the control group ($P < 0.05$). But the levels of serum ALT in the three Shengmai Injection combined with 5-FU groups were consistent with that in the control group and the amounts of WBC decreased slightly. Conclusion: Shengmai Injection can enhance the anti-tumor effect of 5-FU. It can also improve the immunological function and reduce the adverse reactions of chemotherapy.

KEY WORDS tumor inhibiting rates; immunity; adverse reaction; 5-fluorouracil; Shengmai Injection

J Chin Integr Med, 2005, 3(6): 476-479

[基金项目] 上海市科委基金资助项目 (No. 03DZ19501)

[作者简介] 陈震 (1969-), 男, 博士, 主治医师.

Correspondence to: CHEN Zhen, MD. E-mail: cz@133sh.com

生脉注射液处方源于古方“生脉散”，此方收录于《内外伤辨感论》，由红参、麦冬、五味子三味药组成，具有益气养阴、复脉固脱的作用。目前，中医药在肿瘤放、化疗中的减毒增效作用已被确认^[1]。本研究通过建立 H22 肝癌荷瘤小鼠模型，探讨生脉注射液联合化疗药物 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 治疗肿瘤是否具有减毒增效的作用。

1 材料与方

1.1 材料 雌性 ICR 小鼠 50 只，体质量 (20 ± 2) g，购于中国科学院上海实验动物中心，饲养于复旦大学上海医学院实验动物中心；H22 肝癌细胞，购于上海医药工业研究院；Becton-Dickinson FAC-SCaliburxi 流式细胞仪，购于美国 Becton-Dickinson 公司；日本 7600-010 全自动生化分析仪、K-21 血球计数仪；3321 小鼠 CD4-FITC 单抗、2769 小鼠 CD3-PE 单抗、2778 小鼠 CD8-FITC 单抗，购于法国曼特生物基因技术有限公司；5-FU 注射液，规格 0.25 g/支，上海旭东海普药业有限公司生产，批号 040302；生脉注射液，规格 10 ml/支，上海和黄药业公司生产，批号 040615。

1.2 模型建立 瘤细胞复苏后接种于小鼠腹腔内，取瘤细胞处于快速增殖期的腹水，用生理盐水稀释，调整细胞浓度至 2 × 10⁷ 个细胞/ml。动物常规消毒，沿腋下皮下注射瘤细胞悬液 0.2 ml。

1.3 分组处理 造模后当日 50 只小鼠随机分为 5 组：对照组、5-FU 组、生脉注射液(大、中、小剂量)联合 5-FU 组，每组 10 只。5-FU 按小鼠体质量 20 mg/kg 给药，生脉注射液大、中、小剂量分别按小鼠体质量 3.5、7、14 ml/kg 给药，并用生理盐水调节容量，配制成每只小鼠 0.4 ml 进行腹腔注射，对照组仅予等量生理盐水腹腔注射。于复制模型次日起给药，连续给药 14 d。

1.4 标本处理 停药次日脱颈椎处死动物，眼眶取血，送复旦大学肿瘤医院中心实验室及检验科检测血常规、肝肾功能、免疫功能；分离瘤块，称重，计算瘤重抑制率。瘤重抑制率 (%) = (对照组平均瘤重

- 治疗组平均瘤重) / 对照组平均瘤重 × 100%。

1.5 统计学方法 实验数据采用 SPSS 10.0 软件进行统计学处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用方差分析的两两比较法。

2 结果

2.1 瘤重抑制率测定 5-FU 组瘤重抑制率为 37.03%，生脉注射液(大、中、小剂量)组的瘤重抑制率分别为 63.28%、66.46% 和 62.90%，均明显高于单纯 5-FU 组 ($P < 0.05$)，其中以生脉注射液中剂量组的抑制作用更显著，但差异无统计学意义。

2.2 T 细胞亚群检测 H22 荷瘤鼠在单独注射 5-FU 后出现外周血 CD3、CD4 及 CD4/CD8 比值降低，与对照组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)；而生脉注射液联合 5-FU 各组外周血 CD3、CD4 及 CD4/CD8 比值均有所提高，与 5-FU 组及对照组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。但生脉注射液大、中、小各剂量组在提高 CD3、CD4 以及 CD4/CD8 比值方面没有表现出剂量依赖效应。见表 1。

2.3 免疫球蛋白检测 H22 荷瘤鼠在注射 5-FU 后，IgG、IgM 的产生明显低于对照组 ($P < 0.05$)，而在联合生脉注射液治疗后可使 IgG、IgM 的产生水平增高，与对照组和 5-FU 组比较，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组之间 IgA 水平比较无明显差异。见表 2。

2.4 肝肾功能检测 H22 荷瘤鼠在应用 5-FU 后血清丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 升高，而生脉注射液联合 5-FU 应用时可使 ALT 保持正常水平，大、中、小剂量组分别与 5-FU 组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。各组之间血清白蛋白 (albumin, Alb)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 的比较则无明显差异。见表 3。

2.5 血常规检测 荷瘤鼠在应用 5-FU 后出现白细胞、血小板数量的明显降低，而对血红蛋白的影响较小。联合生脉注射液各组的白细胞、血小板数量的下降程度较单纯 5-FU 组小 ($P < 0.05$)。但未发现存在剂量依赖效应。见表 4。

表 1 生脉注射液对 T 细胞亚群的影响

Tab 1 Effect of Shengmai Injection on T-lymphocyte subgroups

Group	n	($\bar{x} \pm s$)			
		CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4/CD8
Control group	10	68.21 ± 2.02	40.53 ± 6.62	20.63 ± 3.47	2.00 ± 0.40
5-FU group	10	64.70 ± 4.00*	34.78 ± 4.06*	21.30 ± 3.16	1.66 ± 0.24*
High-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	70.17 ± 1.33*	46.97 ± 6.51*	17.80 ± 2.03*	2.68 ± 0.49*
Medium-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	71.69 ± 3.55*	46.80 ± 4.45*	16.92 ± 2.99*	2.85 ± 0.61*
Low-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	70.98 ± 2.44*	46.77 ± 4.14*	16.78 ± 2.41*	2.84 ± 0.52*

* $P < 0.05$, vs control group

表 2 生脉注射液对体液免疫的影响

Tab 2 Effect of Shengmai Injection on humoral immune function

Group	n	($\bar{x} \pm s, g/L$)		
		IgA	IgG	IgM
Control group	10	0.036 ± 0.014	1.306 ± 0.038	0.168 ± 0.017
5-FU group	10	0.026 ± 0.005	1.266 ± 0.038*	0.151 ± 0.012*
High-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	0.030 ± 0.012	1.369 ± 0.076*	0.188 ± 0.019*
Medium-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	0.030 ± 0.009	1.380 ± 0.077*	0.184 ± 0.014*
Low-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	0.031 ± 0.009	1.351 ± 0.037*	0.191 ± 0.021*

* $P < 0.05$, vs control group

表 3 生脉注射液对肝肾功能的保护作用

Tab 3 Protective effect of Shengmai Injection on liver and renal function

Group	n	($\bar{x} \pm s$)		
		ALT (U/L)	Alb (g/L)	BUN (mmol/L)
Control group	10	33.8 ± 2.7	31.6 ± 2.3	6.1 ± 1.3
5-FU group	10	41.6 ± 3.5*	30.6 ± 2.9	7.0 ± 0.4
High-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	35.8 ± 2.6	30.5 ± 1.5	6.5 ± 0.6
Medium-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	35.0 ± 8.0	31.3 ± 2.9	6.2 ± 0.9
Low-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	36.7 ± 4.2	31.0 ± 2.9	6.2 ± 0.8

* $P < 0.05$, vs control group; $P < 0.05$, vs 5-FU group

表 4 生脉注射液对外周血细胞计数的影响

Tab 4 Effect of Shengmai Injection on peripheral blood cell count

Group	n	($\bar{x} \pm s$)		
		WBC ($\times 10^9/L$)	Hb (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)
Control group	10	6.4 ± 2.0	117.8 ± 11.0	68.7 ± 7.0
5-FU group	10	3.6 ± 1.3*	107.9 ± 11.0	56.3 ± 10.5*
High-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	4.6 ± 0.4	112.0 ± 14.0	66.2 ± 7.0
Medium-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	4.6 ± 0.5	109.2 ± 14.2	66.1 ± 7.5
Low-dose Shengmai Injection + 5-FU group	10	4.8 ± 0.6	112.4 ± 11.3	65.9 ± 7.7

* $P < 0.05$, vs control group; $P < 0.05$, vs 5-FU group

3 讨论

当前恶性肿瘤的治疗是多种治疗手段联合应用的综合治疗模式,化疗作为一种治疗手段,坚持按时、足量是治疗的一个重要因素,而由化疗引起的副反应如白细胞下降、免疫功能降低、胃肠道反应等,有可能限制全程剂量而影响疗效。

中药对机体的免疫调节和扶正抗癌作用已越来越受到人们的重视^[2,3]。生脉注射液作为中医扶正的经典方剂,现代研究证实其具有强壮、抗疲劳、抗辐射、促进造血功能、保护心肌细胞、抗休克、增加机体免疫功能和抗肿瘤等多种作用^[4,5]。肿瘤患者,尤其是处于放、化疗中的患者,多属气阴两虚、正气亏损之证,因此应用益气养阴之剂可能达到扶正祛邪的目的。

本研究通过观察益气养阴中药制剂生脉注射液联合 5-FU 抗 H22 肝癌荷瘤鼠的效果,发现生脉注

射液联合 5-FU 组其肿瘤抑制率明显高于 5-FU 组,提示生脉注射液对 5-FU 的抗种植瘤生长具有一定的增效作用。

肿瘤患者的免疫功能不仅与肿瘤的发生和发展密切相关,而且对判断肿瘤患者的治疗效果和评估疾病的预后都有重要的参考价值^[6,7]。肿瘤的存在不仅抑制机体的细胞免疫功能,同时也抑制体液免疫功能^[8],而化疗药物的应用可以加重机体的免疫抑制^[9]。因此提高肿瘤患者的免疫功能,尤其是防治化疗后出现的免疫机能的严重抑制,成为抗肿瘤治疗的一个主要方面。淋巴细胞 CD4/CD8 比值是反映机体免疫紊乱的敏感指标,当免疫功能受抑制时,CD4 下降,CD8 上升,CD4/CD8 比值减少^[10]。IgG、IgM 水平则反映了体液免疫能力。本实验研究发现:荷瘤鼠在单纯应用 5-FU 后其外周血 CD3、CD4、CD4/CD8 比值降低,CD8 升高;在体液免疫方面主要表现为 IgG、IgM 水平降低。通过联合生脉

注射液,可使 CD3、CD4、CD4/CD8 比值升高,CD8 降低,促进了机体细胞免疫功能的增强,同时对体液免疫也有促进作用,促使其抗体如 IgG、IgM 分泌增加,从而提高机体对肿瘤细胞的免疫应答,提高机体的抗肿瘤效应。

化疗药物的应用所导致的骨髓抑制、肝肾功能损害,往往引起化疗中断,直接影响了患者的疗效及生存期。部分临床研究发现:生脉饮煎剂具有保肝和保护骨髓的作用^[11]。本实验中,荷瘤鼠在单独应用 5-FU 后出现 ALT 升高及白细胞数量明显降低,通过联合生脉注射液后,荷瘤鼠 ALT 的水平基本保持稳定,外周血白细胞数量的降低程度较轻,说明化疗所引起的肝功能损害与骨髓抑制状态得到了改善。这一结果支持了生脉注射液在肿瘤治疗中具有减毒增效的作用。

[参考文献]

- 1 张代钊,于尔辛,余桂清.中医药对肿瘤放化疗的增敏减毒作用[J].中国中西医结合杂志,1992,12(3):135-138.
- 2 于尔辛.中药扶正培本在恶性肿瘤治疗方面的应用[J].医学理论与实践,1994,7(8):21-23.
- 3 刘鲁明.新世纪中医药及中西医结合抗肿瘤研究展望[J].浙江中西医结合杂志,2002,12(4):203-205.
- 4 杜丽华,邓学瑞,张才军,等.生脉注射液对小鼠免疫功能的影响[J].上海免疫学杂志,2001,21(4):247-249.

- 5 姚春菽.生脉注射液防治放射性肺损伤 96 例疗效分析[J].中华放射医学与防护杂志,2004,24(1):52-53.
- 6 Kastelan Z, Lukac J, Derezić D, *et al*. Lymphocyte subsets, lymphocyte reactivity to mitogens, NK cell activity and neutrophil and monocyte phagocytic functions in patients with bladder carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(6D): 5185-5189.
- 7 Van Sandick JW, Boermeester MA, Gisbertz SS, *et al*. Lymphocyte subsets and T(h)1/ T(h)2 immune responses in patients with adenocarcinoma of the oesophagus or oesophagogastric junction: relation to pTNM stage and clinical outcome[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2003, 52(10): 617-624.
- 8 Hadden JW. Immunodeficiency and cancer: prospects for correction[J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(8): 1061-1071.
- 9 许志良,刘永林,俞颖.肿瘤患者 CD4/CD8、T 细胞化疗前后的变化[J].中国预防医学杂志,2004,4(5):140-141.
- 10 Diederichsen AC, Hjelmberg JB, Christensen PB, *et al*. Prognostic value of the CD4⁺/CD8⁺ ratio of tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer and HLA-DR expression on tumour cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2003, 52(7): 423-428.
- 11 韦红.生脉饮对肺癌化疗患者免疫扶正临床观察[J].中医药研究,2002,18(5):19-20.

[收稿日期] 2004-12-20 [本文编辑] 黄文华 周庆辉

《浙江中医学院学报》2006 年征订启事

《浙江中医学院学报》是由浙江中医学院主办的综合性中医药学术期刊,突出中医药特色,坚持“双百方针”,社会效益明显。一直是中国科技论文统计源期刊;被中国核心期刊(遴选)数据库、《中医文摘》等二十多家国内外权威检索系统收录。本刊设有中医基础理论探讨、临床研究、实验研究、中药研究与应用、中医教学、针灸与推拿、博士论坛、综述等专栏,以满足广大读者日益增长的需要。

本刊为双月刊,大 16 开本,逢单月 22 出版。每册定价 5 元,全年 30 元。国内邮发代号:32-14;国外发行代号 BM342。全国各地邮局均可订阅。脱订者也可直接向编辑部办理邮购。

编辑部地址:杭州市滨江区滨文路《浙江中医学院学报》编辑部。邮政编码:310053。电话:0571-86613504;传真:0571-86613717;E-mail: zjzyxb@163.com