

熟三七对 Lewis 肺癌的抑制及对联合用药的增效减毒作用研究

何宜航¹ 杨桂燕¹ 阳向波² 邹俊波¹ 纪奇森² 张帅杰³ 杨 明^{2,4}

(1 成都中医药大学药学院, 成都, 611137; 2 四川联成迅康医药股份有限公司, 成都, 610000; 3 成都百草和济科技有限公司, 成都, 610000; 4 江西中医药大学制剂教育部重点实验室, 南昌, 330004)

摘要 目的: 考察熟三七粉对 Lewis 肺癌的抑制作用及与紫杉醇、培美曲塞二钠联合用药的增效减毒作用。方法: 首先将接种 Lewis 肺癌的 C57BL/6 小鼠按体重随机分为模型组、阳性组、生、熟三七低、中、高剂量组, 每组 13~14 只。其中生、熟三七粉按低、中、高剂量 ($585 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $2340 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 连续灌胃 15 d, 阳性组以 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量于第 1 天腹腔注射 CTX 1 次, 试验结束后计算抑瘤率, 并统计给药前后体重、体重比值 (FBW/IBW)、死亡情况; 再将新接种 Lewis 肺癌的 C57BL/6 小鼠按体重随机分为 9 组, 每组 10 只, 即模型组 (0.5% CMC-Na 溶液)、熟三七组、生三七组、紫杉醇组、熟三七联合紫杉醇组、生三七联合紫杉醇组、ALIMTA 组、熟三七联合 ALIMTA 组、生三七联合 ALIMTA 组。生、熟三七以 $1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 连续灌胃给药 15 d, 紫杉醇 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、ALIMTA ($120.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 自给药第 1 天起每 3 d 腹腔注射 1 次, 共 3 次。试验结束后计算抑瘤率, 测定外周血象, 并考察给药前后体重、体重比值 (FBW/IBW)、死亡情况。结果: 与模型组相比, 熟三七 ($1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 具有极显著抑瘤率 41% ($P < 0.01$)、生三七 ($2340 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 具有显著抑瘤率 ($P < 0.05$), 但无临床意义, 且表现出一定不良反应; 生、熟三七与紫杉醇、ALIMTA 连用均能提高抑瘤率, 且熟三七表现出降低紫杉醇毒副作用的趋势, 而生三七却表现出一定不良反应。结论: 熟三七能显著抑制 Lewis 肺癌生长, 与化疗联合使用可表现出较好协同作用, 并可拮抗紫杉醇毒副作用; 生三七对肿瘤生长的抑制不具有临床意义, 虽在联合用药中表现出较好的协同作用, 但不良反应明显。

关键词 熟三七; Lewis 肺癌; 抑制; 联合用药; 增效减毒

Inhibition effect of steamed Panax notoginseng on Lewis lung cancer and the “effect-enhancing and toxicity-reducing effect” when use in combination with chemotherapy drugs

He Yihang¹, Yang Guiyan¹, Yang Xiangbo², Zou Junbo¹, Ji Qisen², Zhang Shuaijie³, Yang Min^{2,4}

(1 Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, College of Medicine, Chengdu 611137, China; 2 Sichuan Unireco Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610000, China; 3 Chengdu Baicaoheji Science and Technology Co., Ltd., Chengdu 610000, China; 4 Jiangxi University of traditional Chinese medicine, preparation for Key Laboratory of Ministry of Education, Nanchang 330004, China)

Abstract Objective: To Investigate the inhibition effect of steamed Panax notoginseng on Lewis lung cancer, and find out whether there is a effect-enhancing and toxicity-reducing effect when use in combination with paclitaxel or pemetrexed disodium. **Methods:** C57BL/6 mice inoculated with Lewis lung cancer were randomly divided into model group, positive group, raw Panax notoginseng low, medium and high dose group, steamed Panax notoginseng low, medium and high dose group (each group $n = 13 \sim 14$). Among them, raw and steamed Panax notoginseng groups received intragastric administration according to low, middle, high dose ($585 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $2340 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), positive group mice received intraperitoneal injection of CTX ($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) on the first day. After the trial, calculated inhibition rate against tumor and recorded body weight before/after administration, body weight ratio (FBW/IBW) and death. Then the new Lewis lung cancer inoculated C57BL/6 mice were randomly divided into 9 groups ($n = 10$), model group (0.5% CMC-Na solution), steamed Panax notoginseng group, raw Panax notoginseng group, paclitaxel group, steamed Panax notoginseng plus paclitaxel group, raw Panax notoginseng plus paclitaxel group, ALIMTA group, steamed Panax notoginseng plus ALIMTA group and raw Panax notoginseng plus ALIMTA group. Steamed and raw Panax notoginseng were continuously intragastric administrated at the dose of $1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and paclitaxel (15 d , $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), ALIMTA ($120.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were intraperitoneal injected since Day 1 (every three days, 3 times in total). After the trial, calculated inhibition rate against tumor, determined peripheral hemogram and recorded body weight before/after administration, body weight

作者简介: 何宜航 (1991—), 男, 成都中医药大学中药学在读硕士研究生, 研究方向: 中药新制剂、新剂型与新技术研究, E-mail: 437075133@qq.com

通信作者: 杨明 (1962.5—), 男, 教授, 博士生导师, 现任江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室主任, E-mail: 574825214@qq.com

ratio(FBW/IBW) and death. **Results:** Compared with the model group, steamed *Panax notoginseng* ($1170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) showed significant inhibition rate (41%, $P < 0.01$); raw *Panax notoginseng* ($2340 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) also showed significant inhibition rate ($P < 0.05$), but with no clinical significance, and had several adverse reactions. Steamed and raw *Panax notoginseng* improved the inhibition rate of paclitaxel and ALIMTA; Steamed *Panax notoginseng* seemed to reduce the toxicity of paclitaxel, whereas raw *Panax notoginseng* increased the toxicity of chemotherapy drugs. **Conclusion:** Steamed *Panax notoginseng* significantly inhibit the growth of Lewis lung cancer; and when use in combination with chemotherapy drugs, could improve the inhibition rate, meanwhile, reduce the toxicity of chemotherapy drugs. There is no clinical significance of antitumor effect of raw *Panax notoginseng*; although raw *Panax notoginseng* could also improve the inhibition rate of chemotherapy drugs, but exhibit obvious adverse reactions.

Key Words Steamed *Panax notoginseng*; Lewis lung cancer; Tumor inhibition; Combination; Effect-enhancing and toxicity-reducing effect

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.05.008

恶性肿瘤是危害人类健康的大敌,为目前全世界范围内致死率最高的疾病之一^[1]。但是,目前尚无有效的控制肿瘤转移的药物和治疗方法。近年来,人参皂苷的抗肿瘤活性受到国内外学者的广泛关注。

新加坡国立大学^[2]对蒸制三七抗人肝癌细胞增殖活性进行了考察,发现三七蒸制 24 h 后抗人 SNU449、SNU182 和 HepG2 等肝癌细胞增殖的活性增强;美国芝加哥大学的 Shi Sun 等^[3]对蒸制三七对人直肠癌细胞的干预作用进行考察,发现蒸制三七 Rg_3 含量显著增加,且对人 SW-480 直肠癌具显著抗肿瘤作用。有研究^[3-5]发现稀有人参皂苷如 Rg_3 、 Rh_2 等可以抑制肿瘤细胞浸润、黏附等,具有明显的抗肿瘤效果。其中对 Rg_3 抗肿瘤的研究较多,如 Mochizuki M 等^[6]研究发现,人参皂苷 Rg_3 对高转移性小鼠黑色素瘤细胞(B16FE17)肺转移及 BALB/c 小鼠结肠癌细胞(26-M3.1)肺转移具有抑制作用。Shinkai K, Akedo H 等^[7]研究证明,人参皂苷 Rg_3 对小鼠肝癌细胞的单层浸润具有明显的抑制作用。曲媛等通过相关实验证明人参皂苷 Rh_4 对 S180 肉瘤小鼠和肝癌 H22 小鼠肿瘤生长具有明显的抑制作用^[8]。不仅如此,人参皂苷还可以使癌变细胞在形态学及生化学上向正常细胞发生逆转。Abe 等^[9]应用含 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 人参皂苷的培养基作用于肝癌细胞 170 d 后,利用电子显微镜下观察,结果显示肝癌细胞的线粒体数量增加,体积增大,分布规律。Odashima 等^[10]发现,人参根总苷可使离体培养的 MH1C1 大鼠肝癌细胞向正常肝细胞方向逆转。

肺癌为一种多发的癌症,发生于支气管黏膜上皮,亦称支气管癌。近 50 年来许多国家都有关于肺癌的发病率明显增高的报道;在男性癌瘤患者中,肺癌已居首位,在女性发病率也迅速增高,占女性常见恶性肿瘤的第 2 位或第 3 位。本实验通过复制 Lew-

is 肺癌小鼠模型,考察三七炮制前后的对抗 Lewis 肺癌的作用。

1 实验材料与试剂

1.1 肿瘤组织 小鼠 Lewis 肺癌肿瘤组织,由四川大学华西医学中心肿瘤生物治疗实验室提供,经过约 4~6 次传代培养。

1.2 实验动物 SPF 级 C57BL/6 小鼠, $(20 \pm 2) \text{g}$, 雌雄各半。成都达硕生物科技有限公司提供,动物合格证号:川实动管质 SCXK(川)2013-24。

1.3 实验药物 熟、生三七粉(成都百草和济科技有限公司提供);环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX, 批号:13113025, $200 \text{ mg}/\text{支}$),江苏恒瑞医药股份有限公司;氯化钠注射液(批号:M14031521),四川科伦药业股份有限公司;75% 消毒乙醇(批号:140605),四川省伊士医疗科技有限公司;注射用培美曲塞二钠(ALIMTA, $200 \text{ mg}/\text{支}$, 批号:4080071DV),齐鲁制药有限公司;紫杉醇注射液($30 \text{ mg}/\text{支}$, 批号:14080014),太极集团四川太极制药有限公司。

1.4 实验仪器与器材 超净工作台(上海医疗仪器厂);BS323S 分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);LT501E 电子天平(天量仪器有限责任公司);手术剪、手术钳、镊子等相关手术器械,使用前均经过高温灭菌(120°C , 20 min)。

2 实验方法

2.1 熟三七抑瘤率实验

2.1.1 荷瘤种鼠制备 将 Lewis 肺癌组织从液氮中取出, 37°C 迅速解冻,将浓度调整至 1×10^8 个/mL 以供注射。取 10 只 C57BL/6 小鼠,将 5×10^6 个(0.2 mL) Lewis 肺癌细胞接种于每只小鼠腋下皮肤,作为种鼠备用。

2.1.2 Lewis 肺癌模型制备 接种 10 d 后将 C57BL/6 荷瘤小鼠处死,超净工作台无菌条件下剥

表 1 熟三七抑瘤率测定实验药物给药方案

组别	给药方式	给药剂量	给药周期
模型对照组	灌胃	等体积 0.5% CMC-Na 溶液	1 次/d × 15 d
阳性对照组	腹腔注射	CTX 60 mg · kg ⁻¹	1 次 × 第 1 天
生三七低剂量组	灌胃	生三七粉 585 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
生三七中剂量组	灌胃	生三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
生三七高剂量组	灌胃	生三七粉 2340 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
熟三七低剂量组	灌胃	熟三七粉 585 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
熟三七中剂量组	灌胃	熟三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
熟三七高剂量组	灌胃	熟三七粉 2340 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d

表 2 熟三七联合用药实验药物给药方案

组别	给药方式	给药剂量	给药周期
模型对照组	灌胃	等体积 0.5% CMC-Na 溶液	1 次/d × 15 d
熟三七组	腹腔注射	等体积生理盐水	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	熟三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
生三七组	腹腔注射	等体积生理盐水	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	生三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
紫衫醇组	腹腔注射	等体积生理盐水	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	等体积 0.5% CMC-Na 溶液	1 次/d × 15 d
熟三七联合紫衫醇组	腹腔注射	紫衫醇 10 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	熟三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
生三七联合紫衫醇组	腹腔注射	紫衫醇 10 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	生三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
ALIMTA 组	腹腔注射	紫衫醇 10 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	等体积 0.5% CMC-Na 溶液	1 次/d × 15 d
熟三七联合 ALIMTA 组	腹腔注射	ALIMTA 120.3 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	熟三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
生三七联合 ALIMTA 组	腹腔注射	ALIMTA 120.3 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次
	灌胃	生三七粉 1170 mg · kg ⁻¹	1 次/d × 15 d
	腹腔注射	ALIMTA 120.3 mg · kg ⁻¹	(1 次/3 d) × 3 次

取肿瘤组织,将肿瘤质量(g)与生理盐水(mL)按照 1:3 比例匀浆制备成为混悬液,按照 0.2 mL/只接种于小鼠左腋下皮肤。

2.1.3 动物分组及给药 小鼠接种肿瘤细胞后次日按照体重随机分为 8 组,每组 13 ~ 14 只,即模型组(0.5% CMC-Na 溶液)、阳性对照组(CTX)、熟三七高、中、低剂量组,生三七高、中剂量、低剂量组。给药剂量见表 1。

2.1.4 抑瘤率计算 除 CTX 组外,其余各组小鼠连续给药 15 d。第 16 天处死小鼠,取肿瘤组织称瘤重,计算抑瘤率并优选联合用药剂量。

抑瘤率(%) = (模型组的平均瘤重 - 治疗组平均瘤重)/模型组的平均瘤重 × 100%

2.1.5 小鼠给药前后体重、体重比值(FBW/IBW)、死亡情况 IBW 为给药前小鼠体重,FBW 为 16 d 时小鼠去除瘤重的体重。采用 FBW/IBW 比值大小衡量药物的毒性作用大小。FBW/IBW >0.85,提示药物的毒副作用不明显,小鼠能耐受;比值 <0.85

则提示药物对小鼠有一定的毒副作用;治疗期间如给药组动物死亡超过 20%,表示药物具有毒性反应。

2.2 熟三七联合用药

2.2.1 荷瘤种鼠及模型制备 同于 2.1.1 与 2.1.2。

2.2.2 动物分组及给药 小鼠接种肿瘤细胞后次日按照体重随机分为 9 组,每组 10 只,即模型组(0.5% CMC-Na 溶液)、熟三七组、生三七组、紫衫醇组、熟三七联合紫衫醇组、生三七联合紫衫醇组、ALIMTA 组、熟三七联合 ALIMTA 组、生三七联合 ALIMTA 组。给药剂量及方式见表 2。

2.2.3 抑瘤率计算 按给药方案给药。第 16 天处死小鼠,取肿瘤组织称瘤重,计算抑瘤率。

抑瘤率(%) = (模型组的平均瘤重-治疗组平均瘤重)/模型组的平均瘤重 × 100%

2.2.4 小鼠给药前后体重、体重比值(FBW/IBW)、死亡情况 同 2.1.4。

2.2.5 外周血象测定 各组动物摘眼球取血,至于含 EDTA-2K 的抗凝管中,测定血常规。

2.3 统计学方法 数据采用“均数 ± 标准差”($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 19.0 统计软件包进行分析,方差齐采用 T 检验,方差不齐者进行 Tamhane's T2 检验。

3 实验结果

3.1 熟三七抑瘤率实验

3.1.1 抑瘤率测定结果 见表 3。熟三七中剂量(1170 mg/kg)连续灌胃给药 15 d,可显著减轻瘤重($P < 0.01$),抑瘤率为 41.70%,表明 1170 mg/kg 剂量时,熟三七具有较好的抑制 Lewis 肿瘤生长的作用。生三七高剂量(2340 mg/kg)组抑瘤率为 22.10%,虽有统计学意义($P < 0.05$),但其抑瘤率不足 30%,无实际临床意义。其余各组抑瘤效果不明显。后续联合用药时熟三七应选用中剂量。

表 3 熟三七对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤率的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量 /mg · kg ⁻¹	动物 /只	瘤重 /g	抑瘤率 /%
模型对照组	--	12	2.10 ± 0.49	0.00
阳性对照组	60	13	0.85 ± 0.51**	59.58**
生三七低剂量组	585	13	2.21 ± 0.88	-5.26
生三七中剂量组	1170	11	1.82 ± 1.04	13.27
生三七高剂量组	2340	12	1.64 ± 0.54*	22.10*
熟三七低剂量组	585	14	1.90 ± 0.78	9.79
熟三七中剂量组	1170	11	1.23 ± 0.84**	41.70**
熟三七高剂量组	2340	14	2.25 ± 0.65	-7.20

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

3.1.2 小鼠给药前后体重变化结果 见图 1。生三七和熟三七各剂量给药组在给药期间均有抑制肿瘤引起实验动物体重下降的趋势。实验第 15 天时,熟三七高剂量组(2340 mg/kg)动物体重明显高于阳性药组($P < 0.05$)。

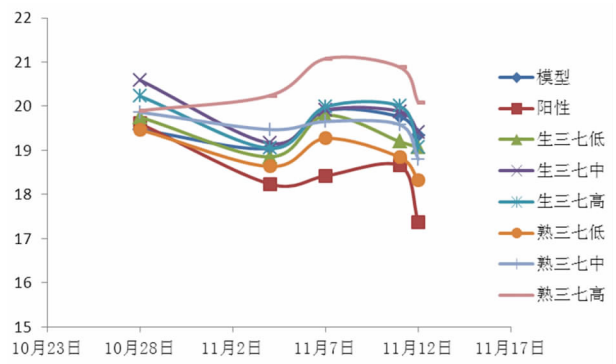


图 1 熟三七对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠体重的影响

3.1.3 小鼠给药前后体重比值(FBW/IBW)及死亡比例测定结果 见表 4。随着剂量的增加,生三七各给药组动物 FBW/IBW 值呈下降趋势,生三七中

(1170 mg/kg)、高剂量(2340 mg/kg)组 FBW/IBW 值小于 0.85,且生三七高剂量组 FBW/IBW 值明显低于模型组($P < 0.05$),表明在 1170 ~ 2340 mg/kg 剂量范围内,生三七表现出一定的毒副作用。随着剂量的增加,熟三七各给药组 FBW/IBW 值呈上升趋势。各给药组连续灌胃给药 15 d,统计时未录入因操作致死以及细胞液外漏致无肿瘤生长的小鼠。

3.2 熟三七联合用药

3.2.1 抑瘤率测定结果 见表 5。熟三七(1170 mg/kg)连续灌胃给药 15 d,可显著减轻瘤重($P < 0.05$),抑瘤率为 33.71%,表明 1170 mg/kg 剂量时,熟三七具有较好的抑制 Lewis 肿瘤生长的作用;生三七(1170 mg/kg)连续灌胃给药 15 d 无明显抑瘤作用($P > 0.05$);紫杉醇(10 mg/kg,前 9 d 给药 3 次,每 3 d 给药 1 次,后 6 d 停止给药)抑瘤率为 37.39%,具有明显抑瘤作用($P < 0.05$),熟三七联合紫杉醇可显著减轻瘤重($P < 0.05$),抑瘤率 59.30%,生三七联合紫杉醇也可显著减轻瘤重($P < 0.05$),抑瘤率 62.52%;ALIMTA(120.3 mg/kg,前 9 d 给药 3 次,每 3 d 给药 1 次,后 6 d 停止给药)可显著减轻瘤重($P < 0.05$),抑瘤率 32.54%,熟三七联合瘤重显著减轻($P < 0.05$),抑瘤率为 40.01%,生三七联合 ALIMTA 组瘤重也显著减轻($P < 0.05$),抑瘤率增长至 45.18%。

3.2.2 小鼠给药前后体重变化结果 见图 2。动物体重整体呈下降趋势,联合应用熟三七有抑制紫杉醇引起实验动物体重下降的趋势($P > 0.05$),联合应用生三七则有导致动物体重进一步下降的趋势,实验结束时体重结果表明,与模型组相比,生三七联合紫杉醇组动物体重显著下降($P < 0.05$)。其余各组各时间点动物体重无统计学意义($P > 0.05$)。

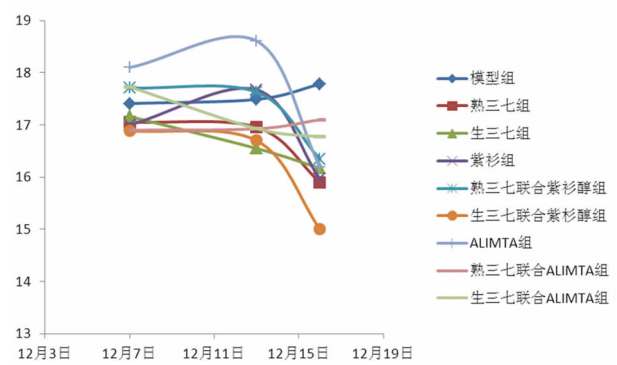


图 2 熟三七联合用药对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠体重的影响

3.2.3 小鼠给药前后体重比值(FBW/IBW)及死亡比例测定结果 见表 6。紫杉醇组 FBW/IBW 值小

表 4 熟三七对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠体重及死亡比例的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量/mg · kg ⁻¹	动物数量(死亡)/只	体重/g		FBW/IBW
			FBW	IBW	
模型对照组	--	12(1)	16.49 ± 2.25	19.47 ± 1.71	0.88 ± 0.05
阳性对照组	60	13(0)	16.79 ± 1.10	19.61 ± 2.49	0.84 ± 0.06
生三七低剂量组	585	13(0)	16.87 ± 1.44	19.75 ± 1.44	0.86 ± 0.07
生三七中剂量组	1170	11(2)	17.30 ± 1.94	20.59 ± 1.29	0.83 ± 0.06
生三七高剂量组	2340	12(1)	16.97 ± 1.40	20.23 ± 2.22	0.83 ± 0.05 *
熟三七低剂量组	585	14(0)	16.24 ± 1.62	19.47 ± 2.09	0.84 ± 0.06
熟三七中剂量组	1170	11(1)	17.26 ± 2.19	19.86 ± 2.38	0.86 ± 0.10
熟三七高剂量组	2340	14(0)	17.59 ± 1.80	19.90 ± 1.88	0.88 ± 0.05

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.05$ 。

表 5 熟三七对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤率的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量/mg · kg ⁻¹	动物数量/只	瘤重/g	抑瘤率/%
模型对照组	--	10	3.51 ± 0.66	0.00
熟三七组	1170	9	2.33 ± 0.95 **	33.71 **
生三七组	1170	8	2.94 ± 1.09	16.33
紫衫醇组	10	8	2.20 ± 1.04 *	37.39 *
熟三七联合紫衫醇组	等剂量联用	8	1.43 ± 0.96 **	59.30 **
生三七联合紫衫醇组	等剂量联用	8	1.32 ± 0.50 **	62.52 **
ALIMTA 组	120.3	9	2.37 ± 0.37 **	32.54 **
熟三七联合 ALIMTA 组	等剂量联用	10	2.10 ± 1.08 **	40.01 **
生三七联合 ALIMTA 组	等剂量联用	10	1.92 ± 1.03 **	45.18 **

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,下同。

表 6 熟三七对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠体重及死亡比例的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	剂量/mg · kg ⁻¹	动物(死亡)/只	体重/g		FBW/IBW
			FBW	IBW	
模型对照组	--	10(0)	15.34 ± 1.91	17.41 ± 2.29	0.88 ± 0.02
熟三七组	1170	9(1)	14.86 ± 2.32	17.06 ± 2.60	0.87 ± 0.01
生三七组	1170	8(2)	14.83 ± 2.10	17.16 ± 2.46	0.86 ± 0.01
紫衫醇组	10	8(2)	13.68 ± 1.68	17.00 ± 2.87	0.82 ± 0.12
熟三七联合紫衫醇组	等剂量联用	8(2)	16.06 ± 2.13	17.71 ± 2.81	0.85 ± 0.01
生三七联合紫衫醇组	等剂量联用	8(2)	14.04 ± 1.22	16.89 ± 2.26	0.82 ± 0.08
ALIMTA 组	120.3	9(1)	16.10 ± 2.19	18.10 ± 2.60	0.87 ± 0.07
熟三七联合 ALIMTA 组	等剂量联用	10(0)	14.63 ± 0.79	16.90 ± 2.05	0.89 ± 0.04
生三七联合 ALIMTA 组	等剂量联用	10(0)	14.88 ± 1.94	17.73 ± 2.47	0.84 ± 0.01

表 7 熟三七联合用药对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠外周血象的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	血象测定结果		
	PLT/ × 10 ⁹ · L ⁻¹	HGB/g · L ⁻¹	RBC/ × 10 ¹² · L ⁻¹
模型对照组	850.10 ± 224.46	147.55 ± 173.65	6.11 ± 1.99
熟三七组	771.44 ± 294.93	95.40 ± 24.56	6.00 ± 1.65
生三七组	683.00 ± 655.43	85.29 ± 41.95	5.11 ± 3.07
紫衫醇组	961.33 ± 386.11	83.11 ± 21.33	5.32 ± 1.37
熟三七联合紫衫醇组	1526.17 ± 167.51 ***△△△	104.00 ± 20.65 △	6.35 ± 1.14
生三七联合紫衫醇组	1271.83 ± 326.27 ***	105.50 ± 22.68 △	6.64 ± 1.34 △
ALIMTA 组	928.89 ± 441.27	111.00 ± 36.39	7.46 ± 1.25
熟三七联合 ALIMTA 组	804.69 ± 251.72	85.62 ± 24.06 □	4.74 ± 0.71 * □
生三七联合 ALIMTA 组	683.27 ± 369.92	87.64 ± 21.43 □	5.33 ± 1.40 □

注:与模型对照组比较,* $P < 0.1$,** $P < 0.05$,*** $P < 0.01$;与紫衫醇组比较,△ $P < 0.1$,△△ $P < 0.05$,△△△ $P < 0.01$;与 ALIMTA 组比较,□ $P < 0.1$,□□ $P < 0.05$,□□□ $P < 0.01$;与熟三七联合 ALIMTA 组比较,* $P < 0.01$,下同。

表 8 熟三七联合用药对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠外周血象的影响($\bar{x} \pm SD$)

组别	血象测定结果		
	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	NEU/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	NEU%/%
模型对照组	21.74 $\pm$ 14.31	6.44 $\pm$ 10.35	33.57 $\pm$ 39.44
熟三七组	10.21 $\pm$ 3.45 **	9.76 $\pm$ 11.42	71.25 $\pm$ 12.65 *
生三七组	8.54 $\pm$ 6.45 **	3.52 $\pm$ 5.38	33.45 $\pm$ 40.52
紫杉醇组	12.79 $\pm$ 7.13	13.45 $\pm$ 12.59	59.81 $\pm$ 36.84
熟三七联合紫杉醇组	23.05 $\pm$ 22.98	2.67 $\pm$ 3.99	23.50 $\pm$ 36.73
生三七联合紫杉醇组	18.60 $\pm$ 17.77	6.55 $\pm$ 15.54	1.64 $\pm$ 0.68 $\Delta\Delta$
ALIMTA 组	10.24 $\pm$ 7.62 **	5.13 $\pm$ 5.76	47.09 $\pm$ 30.40
熟三七联合 ALIMTA 组	18.48 $\pm$ 10.34 $\square$	14.65 $\pm$ 10.97 ** $\square$	85.47 $\pm$ 6.31 *** $\square\square\square$
生三七联合 ALIMTA 组	20.18 $\pm$ 14.97 $\square$	2.82 $\pm$ 3.95 *	32.13 $\pm$ 37.31 *

于 0.85,提示紫杉醇具有一定的副作用,联合应用熟三七后,FBW/IBW 值达到 0.85,表明熟三七对紫杉醇的副作用具有明显的改善作用,联合应用生三七后 FBW/IBW 值仍然小于 0.85,提示生三七对紫杉醇相关副作用无明显干预作用。ALIMTA 组 FBW/IBW 值大于 0.85,联合应用熟三七后 FBW/IBW 值无明显变化,而联合应用生三七后 FBW/IBW 值为 0.84,提示生三七对机体有一定的副作用。各给药组连续灌胃给药 15 d,统计时不录入因操作致死以及细胞液外漏致无肿瘤生长的小鼠数据。

3.2.4 外周血象测定结果 结果见表 7 和表 8。与模型组相比,熟三七联合紫杉醇、生三七联合紫杉醇组动物 PLT 水平显著升高($P<0.01$),熟三七联合 ALIMTA 组 NEU 水平及 NEU 百分比显著升高($P<0.05,P<0.01$),熟三七、生三七和 ALIMTA 组 WBC 水平显著下降($P<0.05$);与单独使用紫杉醇相比,联合应用熟三七后动物 PLT 和 HGB 水平显著升高($P<0.01,P<0.1$),联合应用生三七后动物 HGB 和 RBC 水平显著升高($P<0.1$),但 NEU 百分比显著下降($P<0.1$);与单独使用 ALIMTA 相比,联合应用熟三七及生三七后均会引起实验动物 HGB、RBC 水平的显著下降($P<0.05$),可能与联用组实验动物体重较轻相关,但联用会引起 WBC 水平的显著升高($P<0.1$);与熟三七联合 ALIMTA 组相比,生三七联合 ALIMTA 组 NEU 水平及 NEU 百分比均显著下降($P<0.05$),提示与生三七相比,熟三七对 ALIMTA 导致的骨髓抑制具有明显改善作用。

4 讨论

紫杉醇是红豆杉属植物中的一种复杂的次生代谢产物,主要适用于卵巢癌和乳腺癌,对肺癌、大肠癌、黑色素瘤、头颈部癌、淋巴瘤、脑瘤也都有一定疗

效。紫杉醇是新型抗微管药物,通过促进微管蛋白聚合抑制解聚,保持微管蛋白稳定,抑制细胞有丝分裂。体外实验证明紫杉醇具有显著的放射增敏作用,可能是使细胞中止于对放疗敏感的 G2 和 M 期。紫杉醇主要的不良反应包括过敏反应、骨髓抑制、神经毒性、心血管毒性、胃肠道反应、肝脏毒性和脱发等,其中骨髓抑制为最主要的剂量限制性毒性。

培美曲塞是一种结构上含有核心为吡咯嘧啶基团的抗叶酸制剂,通过破坏细胞内叶酸依赖性的正常代谢过程,抑制细胞复制,从而抑制肿瘤的生长。其最主要副作用为骨髓抑制。

陈明伟等^[10]研究表明,Rg₃ 能够显著抑制人体肺癌新生血管的形成,使肺癌组织新生血管的数目明显减少。同时,人参皂苷 Rg₃ 具有与化疗药物联合应用的减毒增效,提高机体免疫力的作用^[11]。因此本部分实验通过考察三七炮制前后与紫杉醇、培美曲塞二钠等药物的联合使用疗效评价三七用于抗肿瘤领域的应用前景。

从实验结果看,熟三七炮制后抗肿瘤作用明显增强,抑瘤率可达 40% 以上,生三七仅有高剂量表现出抑瘤作用(22%),在 585~2 340 mg/kg 剂量范围内时,随着剂量的增加,生三七组抑制肿瘤生长的作用具有增强趋势,但其副作用亦逐渐加强。

与紫杉醇联合应用后,熟三七可明显提高紫杉醇的抑瘤率(37.39% 提升至 59.30%),与其所含人参皂苷 Rg₃、Rh₄ 等抗肿瘤活性成分相关,熟三七整体表现出对紫杉醇引起的副作用的干预效果;同时由于人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 等补益性成分,表现为有效缓解动物体重的下降,提高 FBW/IBW 值,增加外周血 PLT、RBC 水平。与培美曲塞二钠联用后,熟三七同样表现为在提升抑瘤率(32.54% 提升至 40.01%)的同时,有效缓解化疗药物导致的骨髓抑制情况。

生三七与紫衫醇联用后,可明显提高后者的抑瘤率(37.39%提升至62.52%),但同时副作用亦明显增加(FBW/IBW下降、NEU%明显下降)。根据课题组的前期研究,生三七含有的人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 等成分较熟三七多,因此其对实验动物外周血象如RBC、Hb水平的提高优于熟三七;生三七联用后骨髓抑制进一步加剧的原因可能有:1)人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 通过作用于骨髓实现补血作用,但是却由此加重了实验动物的骨髓造血负担,导致抑制程度进一步加剧;2)某些成分吸收入血后,主要发挥中医概念中“消”的作用,在三七则为止血活血、散瘀消肿、强心定痛,加重实验动物的“虚证”状态,机体正常组织失去濡养,肿瘤组织继而“受累”导致肿瘤增速减缓,即表现为抑瘤率升高的同时,副作用表现明显。与培美曲塞二钠联用后,临床效果基本一致。

近年研究表明,人参皂苷的抗肿瘤的机制主要包括以下几方面^[12]:1)直接抑制肿瘤细胞的增殖;2)通过增强机体免疫功能;3)诱导肿瘤细胞的分化;4)诱导肿瘤细胞的凋亡;5)抑制肿瘤细胞的转移;6)抗肿瘤新生血管的形成;7)逆转肿瘤细胞的多药耐药性。

熟三七通过具有抑制肿瘤生长的活性成分 R_{h_4} 、 R_{g_3} 等实现抑制肿瘤生长的作用,其作用机制可能涵盖上述的7个方面,而生三七主要通过进一步加剧荷瘤小鼠的虚弱状态,削弱实验动物正常功能而使肿瘤生长“受累”实现抑瘤率的提升,从实验数据看,后者“同归于尽”式的作用强度大于活性成分对肿瘤细胞的直接作用。

从上述实验结果还可推知,人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 和人参皂苷 R_{g_3} 虽都具有补益作用,但作用机制可能存在较大差异,前二者(人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1})在实现补血作用的同时会加重骨髓造血负担,而后者(人参皂苷 R_{g_3})的补益作用可能不依赖于骨髓。上述实验结果亦有可能因为生、熟三七复杂的成分组成及配比而导致。因此具体作用机制尚待深入探讨。

参考文献

- [1] Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1999, 58(11):1685-1693.
- [2] Ding-Fung Toh, Dhavalkumar Narendrabhai Patel, Eric Chun-Yong Chan, et al. Anti-proliferative effects of raw and steamed extracts of *Panax notoginseng* and its ginsenoside constituents on human liver cancer cells[J]. *Chinese Medicine*, 2011, 6(8):43-48.
- [3] Shi Sun, Chong-Zhi Wang, Robin Tong, et al. Effects of steaming the root of *Panax notoginseng* on chemical composition and anticancer activities[J]. *Food Chemistry*, 2010(118):307-314.
- [4] 夏丽娟, 韩锐. 人参皂甙 R_{h_2} 体外对小鼠黑色素瘤细胞的分化诱导作用[J]. *药学报*, 1996, 31(10):742-745.
- [5] Nakata H, Kikuchi Y, Tode T, et al. Inhibitory effects of ginsenoside R_{h_2} on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells[J]. *Japanese Journal of Cancer Research*, 1998, 89(7):733-740.
- [6] Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, et al. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside- R_{b_2} , 20(S) and 20(R)-ginsenoside- R_{g_3} of red ginseng[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1995, 18(9):1197-1202.
- [7] 曲媛, 王承潇, 崔秀明. 人参皂苷 R_{h_4} 对小鼠移植性肿瘤的抑制作用[J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26(5):782-786.
- [8] Shinkai K, Akedo H, Mukai M, et al. Inhibition of in vitro tumor cell invasion by ginsenoside R_{g_3} [J]. *Japanese Journal of Cancer Research*, 1996, 87(4):357-362.
- [9] Abe H, Arichi S, Hayashi T, et al. Ultrastructural studies of Morris hepatoma cells reversely transformed by ginsenosides[J]. *Experientia*, 1979, 35(12):1647-1649.
- [10] Odashima S, Nakayabu Y, Honjo N, et al. Induction of phenotypic reverse transformation by ginsenosides in cultured Morris hepatoma cells[J]. *European Journal of Cancer*, 1979, 15(6):885-892.
- [11] 陈明伟, 姚昱, 石志红. 人参皂甙 R_{g_3} 联合化疗对30例非小细胞肺癌的近期疗效观察[J]. *华南国防医学杂志*, 2005, 19(1):4-6.
- [12] 王强, 赵玲辉, 杨慧科. 人参皂甙 R_{h_2} 对细胞间连接黏附分子在小鼠移植瘤淋巴管表达的影响[J]. *解剖学研究*, 2007, 29(1):29-32.

(2015-04-07 收稿 责任编辑:洪志强)