

参麦注射液诱导肿瘤细胞凋亡作用的实验研究

黄挺 陈震¹ 刘鲁明¹ (杭州 310007 杭州市中医院;¹ 浙江中医学院附院)

摘要 目的:探索参麦注射液诱导肿瘤细胞凋亡作用。方法:给荷 S_{180} 肉瘤的脾虚小鼠腹腔注射参麦注射液 32,16 和 8 mg/kg。结果:全部标本($n=30$) P^{53} 基因蛋白均呈阳性表达,电镜下亦未见到肿瘤细胞皱缩、出芽和凋亡小体出现,提示参麦注射液对已突变的 P^{53} 基因无促进修复和/或抑制突变型 P^{53} 基因的作用。三组剂量肿瘤细胞内均见细胞器减少、胞质空化、线粒体肿胀、嵴消失或伴有线粒体膜破坏、粗面型内质网扩张,少数视野肿瘤细胞周围有大量粒细胞浸润,且大、中剂量组作用明显大于小剂量组。结论:参麦注射液通过免疫增强作用和参与细胞质内事件作用抑制肿瘤细胞生长。

关键词 参麦注射液;肿瘤;凋亡

Experimental study of Shenmai injection in inducing tumor cell apoptosis

Huang Ting(Huang T), Chen Zhen(Chen Z), Liu Luming(Liu LM) (Hangzhou Traditional Chinese Medicine Hospital , Hangzhou 310007)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of Shenmai injection in inducing tumor cell apoptosis. **METHOD:** Pixu rats bearing S_{180} sarcoma were injected intraperitoneally Shenmai injection at 32, 16 and 8 ml/kg, respectively. **RESULTS:** All specimens($n=30$) expressed positively P^{53} gene protein. Under the electronic microscopy, debulking tumor cells, budding and apoptotic bodies were negative, which indicated Shenmai injection played no role in reconstructing mutated P^{53} gene and/or suppressing mutated P^{53} gene. In three groups of Shenmai injection, decreased cell organs, cavitated cytoplasm, swollen mitochondria, disappeared mitochondrial cresta or companied with spoiled mitochondrial member and enlarged rough endoplasmic reticulum can be seen under the electronic microscopy. In several fields, a number of granulocytes infiltration presented. Furthermore, the phenomenon is more significant in Shenmai group with the dosage of 32 and 16 ml/kg. **CONCLUSION:** The result revealed that Shenmai injection suppressed tumor cell growing by immune enhancing and participating endoplasmic course.

KEY WORDS Shenmai injection, tumor, apoptosis

已有研究发现,细胞中抑癌基因的丢失或脱落能导致细胞癌变;相反,当其重新获得丢失或脱落的抑癌基因后,癌细胞会抑制自身的增殖。去向终极分化和衰亡。 P^{53} 基因定位于 17 号染色体短臂 3.1 带,参与细胞增殖周期的调节,突变型 P^{53} 作为癌基因促进细胞的恶性转化,其蛋白产物亦可阻止野生型 P^{53} 的负性调节作用。本实验主要探讨参麦注射液对 P^{53} 基因的调控及由此而继发的肿瘤细胞凋亡。

1 材料与方法

1.1 材料

参麦注射液,10 ml/支,含人参、麦冬各 1.0g(杭州正大青春宝药业有限公司,批号:961016-4)。环磷酰胺(CTX)粉剂,200 mg/瓶(上海第十二制药厂,批号:960408)。瘤株:小鼠肉瘤 180(S_{180})。实验动物:雌性

NIH 小鼠(18~20g)(浙江省实验动物中心,动物饲养于浙江中医学院动物房)。

1.2 方法

1.2.1 脾虚模型建立采用吕氏改良法^[1],即大黄、芒硝按生药 4:1 配制,煎剂含生药 1.0g/ml,每日予小鼠灌胃 0.3 ml,持续 1 周,模型建立(即小鼠出现大便溏薄、行动迟缓、毛色无光泽等)后次日接种瘤株。

1.2.2 瘤株接种 S_{180} 取传代接种后 9d 之种鼠,无菌条件下剥离瘤块,灭菌生理盐水 1:3 制成匀浆,再调节至含瘤细胞 6×10^7 /ml,接种于脾虚小鼠右侧腋窝下,

黄挺,男,33 岁。1995 年毕业于上海医科大学,获医学博士学位。1997 年获共青团中央、卫生部颁发的“首届全国卫生系统青年岗位能手”,现为杭州市中医院肿瘤科主任

每鼠 0.2 ml。以上瘤种接种前,均用 0.2 % 台盼蓝染色,计活细胞数为 $\geq 90\%$ 。

1.2.3 P^{53} 基因蛋白测定 普通石蜡切片,常规 SP 染色法,其他操作按试剂盒说明书进行, P^{53} 免疫组化试剂盒(福州万兴生物技术公司,为进口分装产品)。

1.2.4 电子显微镜观察 H600 电子显微镜(Hitechi,日本)一台,由浙江省医学科学院提供。

1.2.5 实验分组设置 于接种次日分成 5 组,连续 10 d,参麦注射液大、中、小组分别为 32、16 和 8 ml/kg,均加生理盐水稀释成等体积腹腔给药;阴性对照组 CTX 20 mg/kg 一次性腹腔注射,阴性对照组注射等量生理盐水,停药次日全部处死动物,剥取瘤块,称重,并取肿瘤边缘生长活跃组织 0.5 g,用 2.5 % 戊尔醛固定后送实验室电镜观察。

2 结果

2.1 参麦注射液对肿瘤细胞 P^{53} 基因表达的影响

结果显示,在全部标本($n=30$)中, P^{53} 基因蛋白均呈阳性表达。

2.2 参麦液对肿瘤细胞作用的电镜观察

参麦注射液大、中、小剂量组均表现肿瘤细胞内明显的细胞器减少,胞质空化,线粒体肿胀,嵴消失或伴有线粒体膜破坏,粗面型内质网扩张,少数视野肿瘤细胞周围有大量中性粒细胞浸润,但肿瘤细胞膜及核未见明显破坏,且以大、中剂量组明显,CTX 组肿瘤细胞核及膜明显破坏,多数视野未见完整肿瘤细胞,而对照组肿瘤细胞核大,核仁明显,胞膜完整。电镜下全部标本均未见肿瘤细胞皱缩、出芽、凋亡小体等现象。

3 讨论

参麦注射液是纯中药制剂,具有大补元气、益气固脱、养阴生津之功效。自 1991 年以来,浙江省中医院刘鲁明等对参麦注射液进行了大量深入的研究,发现

参麦注射液有一定的抗肿瘤效果,且能减轻化学治疗的毒副作用^[2-4]。本实验采用免疫组化法,检测了肿瘤组织中 P^{53} 基因的表达。结果显示,全部标本 P^{53} 基因蛋白均呈阳性表达,这说明 S_{180} 细胞内 P^{53} 基因发生了突变;参麦注射液对已突变的 P^{53} 基因无促修复和/或抑制突变型 P^{53} 基因表达的作用。

已有报道一些恶性肿瘤在消退过程中,可发生凋亡现象,电镜下可见到肿瘤细胞的皱缩、出芽、凋亡小体等现象。但在本组研究中,电镜下均未见到上述现象。相反,见到肿瘤细胞周围大量中性粒细胞浸润,细胞器减少,线粒体肿胀、嵴消失等现象。结合 P^{53} 基因的阳性表达,提示参麦注射液不是肿瘤细胞凋亡的诱导药物,亦不直接作用于凋亡相关的 P^{53} 基因。由此推测,参麦注射液可能不参与肿瘤细胞的核内事件,而是通过免疫增加作用和参与细胞胞质内事件等抑制肿瘤细胞生长。

此外,参麦注射液是否对 P^{53} 基因突变有预防作用,有待进一步探索。

参考文献

- 1 北京师范大学生物系消化生理科研组. 中医脾虚动物模型的造型. 中华医学杂志, 1980, 60(2): 83.
- 2 刘鲁明, 林胜友. 参麦注射液对恶性肿瘤化学药物治疗增效减毒作用的临床和实验研究. 中国肿瘤临床, 1993, 2(9): 22.
- 3 刘鲁明, 钱华, 陈震, 等. 参麦注射液抗肿瘤作用的初步实验研究. 中国实验方剂学杂志, 1996, 12(4): 11.
- 4 林胜友, 刘鲁明, 吴良村, 等. 参麦注射液对恶性肿瘤化学治疗增效减毒的前瞻性研究. 安徽中医临床杂志, 1994, 6(1): 51.