

黄芪抗肿瘤作用的实验研究

汪硕(浙江省金华市中医院,浙江 金华 321017)

摘要:目的 探讨黄芪对荷瘤小鼠的抑瘤作用及抑瘤机理。方法 将 50 只昆明种小鼠随机分为阴性对照组、阳性对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组。复制荷瘤小鼠模型后,阴性对照组给予生理盐水、阳性对照组给予环磷酰胺,其余三个组给予不同剂量黄芪多糖。观察抑瘤率、T 淋巴细胞增殖反应、NK 细胞毒活性等指标。结果 (1)随着黄芪剂量增加,抑瘤率逐渐增加 ($P < 0.05$);(2)使用黄芪的三个不同剂量实验组的 T 淋巴细胞增殖反应、NK 细胞毒活性均高于阴性对照组 ($P < 0.05$),且随着剂量的增加,以上指标有逐渐增加的趋势。结论 黄芪多糖可通过增强小鼠细胞免疫水平起到抑制肿瘤的作用。

关键词:黄芪多糖;肿瘤

中图分类号:R965.1;R931.71;R979.1

文献标识码:A

文章编号:1007-7693(2008)08-0686-03

Experimental Study on the Effect of Astragalus Polysacchari on Anti-tumor

WANG Shuo(Jinhua Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinhua 321017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE The aim of this study was to explore the effect of Astragalus polysacchari (APS) on anti-tumor in the mice with tumor and its mechanism of anti-tumor. **METHODS** Fifty mice were divided into five groups randomly: negative group, positive group, low dose group, median dose group and high dose group respectively. After the mice model with tumor were constructed, the mice in negative group were given normal saline the mice in positive group were given cyclophosphamide, the other experimental groups were given different dose of ASP. The parameters of tumor inhibited rate, proliferative T cell responses, cytotoxicity of NK cell were observed. **RESULTS** (1) With the dose of ASP increased, tumor inhibited rate became higher and higher ($P < 0.05$). (2) The parameters of proliferative T cell responses, cytotoxicity of NK cell of the three experimental group were higher than those of the positive group. Moreover, in the three experimental groups, with the dose becoming high, the two parameters increased. **CONCLUSION** Asp could inhibit the tumor in mice through the way of strengthening the level cell immunity.

KEY WORDS: Astragalus polysacchari; tumor

黄芪为多年生豆科草本植物,以蒙古黄芪(Astragalus mongholicus Bge)和膜荚黄芪(Astragalus membranaceus Bge)的根为正品。含黄芪皂甙、黄芪多糖、 γ -氨基丁酸、微量元素(硒、锰、铁、钙等)等多种有益成分。传统医学认为黄芪具有

补气、升阳、益卫、固表、利水、消肿和托疮生肌的功效。现代医学关于黄芪的抗肿瘤研究是一个热点课题,本研究着重观察了黄芪多糖(Astragalus polysacchari, APS)的抗肿瘤作用及其免疫学机制。

作者简介:汪硕,女,主管药师

Tel: (0579) 83277469

E-mail: 371180677@qq.com

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 受试物及主要试剂

APS 粉剂购自上海药物研究所,用 60 ℃ 生理盐水溶解为浓度 100、200、400 mg· mL⁻¹ 溶液,过滤除菌,分装后置 4 ℃ 保存备用。

SI80 细胞株,由中国医学科学院上海细胞库提供。

环磷酰胺,规格:200 mg· 支⁻¹,由上海华联制药有限公司提供。

1.1.2 实验动物

昆明种小鼠。体重 22 ± 0.2 g,雌雄各半。根据实验目的按体重随机分组。动物分笼饲养,自由饮水和进食。

1.2 方 法

1.2.1 肿瘤小鼠模型建立

在无菌条件下取 SI80 腹水癌细胞,放入无菌容器内,置冰块中保存。另取少量腹水,置于加有肝素的试管中,作为观察细胞形态及细胞计数用。癌细胞数为 97 % 以上方可使用。腹水用无菌生理盐水作 1:4 稀释,使肿瘤细胞数为每毫升 2 × 10⁷ 个。于小鼠右前肢腋窝下注射 SI80 细胞悬液 0.2 mL。第三天开始正式实验。

1.2.2 动物分组及处理

随机将 50 只小鼠分为 5 组,即阴性对照组、阳性对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组。阳性组给予环磷酰胺,阴性组给予生理盐水,低剂量组予以 100 mg· mL⁻¹ APS,中剂量组予以 200 mg· mL⁻¹ APS,高剂量组予以 400 mg· mL⁻¹ APS,0.5 mL· d⁻¹ 灌胃,1 次· d⁻¹,连续 7 d,第 8 天处死小鼠。

1.2.3 观察指标

1.2.3.1 抑瘤率

称量体重,取瘤称重,计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = 1 - \frac{\text{实验组瘤重}}{\text{阴性对照组瘤重}} \times 100\%$$

1.2.3.2 T 淋巴细胞增殖反应

无菌取小鼠脾脏制备细胞悬液 (5 × 10⁶ · mL⁻¹),加入 96 孔培养板,每孔 100 μL ConA(终浓度为 5 μg· mL⁻¹),均设 3 复孔,对照孔加培养液 100 μL,置 5 % CO₂ 温箱 37 ℃ 培养 18 ~ 22 h,每孔加 MTT 溶液 20 μL (5 mg· mL⁻¹),继续培养 24 ~ 26 h,然后每孔加酸化异丙醇 100 μL,充分震荡后静置 20 min,检测波长 570 nm,参考波长 630 nm 比色分析,用 OD_{570~630 nm} 代表淋巴细胞增殖反应程度。

1.2.3.3 NK 细胞毒活性检测

无菌取鼠脾制备细胞悬液,调整细胞浓度至 2 × 10⁷ · mL⁻¹ 为效应细胞。离心洗涤,培养瓶中的 YAC-1 细胞调整细胞浓度至 2 × 10⁵ · mL⁻¹ 为靶细胞。取效应细胞 100 μL 加入 96 孔细胞培养板 6 个复孔。3 个复孔加靶细胞 100 μL,3 个复孔不加靶细胞为效应细胞对照孔。另外,取 100 μL 靶细胞悬液加入 96 孔板中,3 复孔为靶细胞对照孔。将培养板置于 5 % CO₂ 孵箱内,培养 20 h 后,每孔加 MTT 液

20 μL,继续培养 4 h,再加酸化异丙醇 100 μL,充分震荡 20 min,用酶标仪波长 540 nm,测定吸光度 (A 值)。计算 NK 细胞毒活性,以 A 值的 $\bar{x} \pm s$ 表示^[1]。

细胞毒活性 =

$$\frac{(1 - \text{实验孔 A 值} - \text{效应细胞对照孔 A 值}) \times 100\%}{\text{靶细胞对照孔 A 值}}$$

2 结 果

2.1 对瘤重的影响

结果表明,不同剂量的试验组的瘤重均低于阴性对照组 (P < 0.05),且随着黄芪剂量增加,抑瘤率有逐渐增加的趋势,表明黄芪的抑瘤效果具有剂量反应关系。

表 1 黄芪对小鼠 SI80 瘤重的影响

Tab 1 The impact of Astragalus on SI80 tumor in mice

组别	n	剂量 /mg· mL ⁻¹	瘤重 /g	抑瘤率 /%
阴性对照组	10	/	3.45 ± 0.71	/
阳性对照组	10	/	1.13 ± 0.15 ¹⁾	67.25
低剂量组	10	100	2.14 ± 0.48 ¹⁾	37.97
中剂量组	10	200	1.57 ± 0.21 ¹⁾	54.49
高剂量组	10	400	1.04 ± 0.11 ¹⁾	69.86

注: ¹⁾ 表示与阴性对照组比较, P < 0.05

Note: ¹⁾ Compared with the negative control group, P < 0.05

2.2 对免疫系统的影响

结果表明,阳性对照组的 T 淋巴细胞增殖反应与 NK 细胞毒活性均低于阴性对照组 (P < 0.05),表明环磷酰胺对免疫系统有一定损伤;使用黄芪的三个实验组的 T 淋巴细胞增殖反应与 NK 细胞毒活性均高于阴性对照组 (P < 0.05),且随着剂量的增加,上述两指标有逐渐增加的趋势,表明黄芪可增强小鼠免疫功能,且有剂量反应关系。

表 2 黄芪对免疫系统的影响

Tab 2 The impact of Astragalus on the immune system

组别	n	剂量 /mg· mL ⁻¹	瘤重 /g	抑瘤率 /%
阴性对照组	10	/	0.66 ± 0.03	52.13 ± 6.34
阳性对照组	10	/	0.44 ± 0.01 ¹⁾	41.34 ± 5.13 ¹⁾
低剂量组	10	100	0.88 ± 0.04 ¹⁾	73.11 ± 8.45 ¹⁾
中剂量组	10	200	1.12 ± 0.07 ¹⁾	86.12 ± 7.65 ¹⁾
高剂量组	10	400	1.74 ± 0.06 ¹⁾	99.12 ± 9.32 ¹⁾

注:三个剂量组之间作两两比较, P < 0.05; 与阴性对照组比较, ¹⁾ P < 0.05

Note: Comparison among the three-dose group, P < 0.05; compared with the negative control group, ¹⁾ P < 0.05

3 讨 论

肿瘤是目前威胁人类健康的主要疾病之一,关于肿瘤的治疗是全世界范围内受到广泛关注的热点课题。中药由于毒副作用小,在肿瘤的治疗中已经开始发挥出越来越重要的作用。黄芪是一种有效的生物调节剂,近年来的研究显示,黄芪在肿瘤的防治中具有巨大的潜力^[1-3]。本研究在成功复制小鼠荷瘤模型的基础上,采用不同剂量的黄芪多糖进行

了干预,结果显示所有实验组的小鼠在实验结束时瘤重均低于阴性对照组 ($P < 0.05$),且随着剂量的增加,瘤重有逐渐降低的趋势 ($P < 0.05$),表明黄芪多糖具有抑瘤作用,且这种作用存在剂量效应关系。

在正常情况下,肿瘤与机体防御之间处于平衡状态,肿瘤的发生乃至增殖与播散,完全是这种动态平衡的失调所致。如果将已经失衡状态人为地调整至正常水平,则可控制肿瘤生长甚至使其消退^[4]。肿瘤患者其宿主免疫功能已失去平衡,肿瘤晚期机体的免疫反应几乎消失,传统的化疗药物在杀死肿瘤细胞的同时,无选择地杀伤正常细胞,特别是造血组织细胞,常常导致机体发生严重并发症。本研究结果表明,黄芪可提高荷瘤小鼠的淋巴细胞增殖反应,还可提高NK细胞的活性,说明黄芪很可能是通过提高机体免疫力来

抑制肿瘤的。

参考文献

- [1] 杨金明,郭红梅,陈霞. 黄芪对 S180 荷瘤小鼠的免疫增强及抑瘤作用 [J]. 中国实验免疫学杂志, 1995, 7 (1) : 12.
- [2] 许杜娟,陈敏珠. 黄芪总提物抗肿瘤作用及其机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2006, 21 (12) : 771-772.
- [3] 黄天凤. 黄芪的抗肿瘤作用及其免疫学机制的实验研究 [J]. 中华临床医学研究杂志, 2007, 13 (4) : 431-432.
- [4] ZHANG L, TIZARD I R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel [J]. Immunopharmacology, 1996, 35 (2) : 119-128.

收稿日期: 2008-01-24