

水蓼衣提取物对裸鼠肝癌移植瘤生长的影响

冯大明, 王双, 冬毕华, 孙玉慧, 叶旭, 王佐, 杨永宗, 颜迪忠

冯大明, 王双, 冬毕华, 孙玉慧, 叶旭, 王佐, 杨永宗, 颜迪忠, 南华大学病理生理学教研室, 分子生物学研究中心 湖南省衡阳市 421001
冯大明, 女, 1951-01-25 生, 湖南省湘潭市人, 汉族, 病理生理学副教授.
通讯作者: 颜迪忠, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学病理生理学教研室, 分子生物学研究中心. yzyanghy@163.com
电话: 0734-8281288 传真: 0734-8281288
收稿日期: 2005-01-17 接受日期: 2005-02-02

Effects of extraction from *Hygrophila salicifolia* on hepatocarcinoma cell xenografts in nude mice

Da-Ming Feng, Shuang Wang, Bi-Hua Dong, Yu-Hui Sun, Xu Ye, Zuo Wang, Yong-Zong Yang, Di-Zhong Yan

Da-Ming Feng, Shuang Wang, Bi-Hua Dong, Yu-Hui Sun, Xu Ye, Zuo Wang, Yong-Zong Yang, Di-Zhong Yan, Department of Pathophysiology and Center of Molecular Biology, Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Correspondence to: Di-Zhong Yan, Center of Molecular Biology, Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yzyanghy@163.com
Received: 2005-01-17 Accepted: 2005-02-02

Abstract

AIM: To assess the anti-proliferative effect of the extraction from *Hygrophila salicifolia* on hepatocellular carcinoma (HCC) cells, and to provide the experimental evidence for the use of *Hygrophila salicifolia* extraction in the therapy of hepatocarcinoma.

METHODS: Twenty-four female nude mice were subcutaneously injected with human HCC cells. After 14 days, the mice were divided equally into control group, low dose *Hygrophila salicifolia* group, high dose *Hygrophila salicifolia* group and hydroxycamptothecin group. The volume and weight of tumor were measured 20 days after treatment. Histological changes of the xenografts and the serum levels of AST, ALT, LDH, and CRE were determined.

RESULTS: In comparison with the control group, the tumor volume and weight of both *Hygrophila salicifolia* groups were decreased significantly ($P < 0.05$). The tumor inhibition rates were 46% and 62% ($P < 0.05$) in low- and high- dose group, respectively. Histological examination results from *Hygrophila salicifolia* groups were almost the same as those from hydroxycamptothecin group. There were no

obvious difference in the weights and the serum levels of AST, ALT, LDH, CRE the mice treated with *Hygrophila salicifolia* and those treated with hydroxycamptothecin.

CONCLUSION: The extraction from *Hygrophila salicifolia* can significantly inhibit the growth of hepatocarcinoma cell xenografts in nude mice in a dose-dependent manner. Its effects on the general condition and on the functions of the heart, the liver and the kidney are almost the same as those of hydroxycamptothecin.

Key Words: Hepatocarcinoma; *Hygrophila salicifolia*; Extraction; Nude mice; Xenografts

Feng DM, Wang S, Dong BH, Sun YH, Ye X, Wang Z, Yang YZ, Yan DZ. Effects of extraction from *Hygrophila salicifolia* on hepatocarcinoma cell xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(7):864-866

摘要

目的: 观察水蓼衣提取物的抗肝癌细胞增生活性, 为水蓼衣提取物用于肝癌治疗提供实验依据。

方法: BALB/CA 雌性裸鼠 24 只, 背侧皮下接种 SMMC-7721 人肝癌细胞建立荷瘤裸鼠模型, 14 d 后随机分为对照组, 低剂量水蓼衣组, 高剂量水蓼衣组和羟基喜树碱组; 给药 20 d 后检测各组移植瘤的体积和质量; 并观察移植瘤的组织学变化和血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性和肌酐 (CRE) 水平。

结果: 与对照组相比, 水蓼衣组裸鼠移植瘤的体积明显减小 ($P < 0.05$), 质量显著减轻 ($P < 0.05$); 低、高剂量水蓼衣组的抑瘤率分别为 46% 和 62% ($P < 0.05$)。水蓼衣组裸鼠瘤组织病理改变与羟基喜树碱组相似; 体质量和血清 ALT, AST, LDH 活性及 CRE 与羟基喜树碱组无明显差别。

结论: 水蓼衣提取物可显著抑制肝癌移植瘤的生长, 且呈一定的剂量依赖性; 其对动物整体状况及心、肝、肾功能的影响与羟基喜树碱相当。

关键词: 肝癌; 水蓼衣; 提取物; 裸鼠; 移植瘤

冯大明, 王双, 冬毕华, 孙玉慧, 叶旭, 王佐, 杨永宗, 颜迪忠. 水蓼衣提取物对裸鼠肝癌移植瘤生长的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(7):864-866
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/864.asp>

0 引言

水蓼衣提取物是以中药水蓼衣为原料开发的新药. 水蓼衣(*hygrophila salicifolia*)属爵床科, 别名鱼骨草, 墨菜, 味甘、微苦, 具有清热解毒, 散瘀消肿, 健胃, 化淤止痛等功效, 民间多用于治疗炎症和外伤^[1]. 近年来, 我们在临床实践中观察到水蓼衣提取物对病毒性肝炎具有较好疗效; 而且我们已有的实验资料表明, 水蓼衣提取物可有效防治CCl₄引起的小鼠肝损伤. 由于中药作用的多元性, 我们将观察水蓼衣提取物对肝癌可能具有的治疗作用, 以进一步拓宽水蓼衣的应用范围, 为临床治疗提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 水蓼衣提取物由南华大学附属南华医院药剂科制备. 流程如下: 晾干草药 1 600 g 切片, 浸泡于 700 mL/L 乙醇 10 L 中, 在 60–70℃ 条件下循环蒸馏 2 h; 此过程反复 2 次后, 收集蒸馏液, 2 000 r/min 离心 30 min, 过滤, 最后收集药液 2 000 mL. 实验前取一定量的药液, 分别浓缩 10 倍和 20 倍, 制成低浓度水蓼衣提取物药液(生药 8 kg/L)和高浓度水蓼衣提取物药液(生药 16 kg /L), 4℃ 保存备用. 羟基喜树碱(1 kg/L), 由贵州六枝工矿大华药业公司生产. EMDM 培养基为 Hyclone 公司产品. 新生小牛血清购自杭州四季清公司. SMMC-7721 人肝癌细胞株由中国典型培养物武汉大学保藏中心传代培养. BALB/CA 雌性 6 周龄裸鼠 24 只, 体质量(16 ± 1.4)g, 由上海斯莱克实验动物有限公司提供. 实验期间所有动物在无特定病原体(SPF)实验室中饲养.

1.2 方法^[2–3] 将 SMMC-7721 细胞按常规方法培养, 取对数生长期的细胞, 用 0.25 g/L 胰蛋白酶消化, 制成单细胞悬液; 每只裸鼠背侧皮下接种 2.5×10^9 /L SMMC-7721 细胞 0.2 mL 建立荷瘤裸鼠模型, 接种 14 d 后可见所有裸鼠均长出肿瘤, 将 24 只裸鼠随机分为 4 组, 每组 6 只. 对照组 10 mL/kg 蒸馏水灌胃; 水蓼衣低剂量组、高剂量组分别以低浓度和高浓度水蓼衣药液 10 mL/kg 灌胃; 羟基喜树碱组从 ip 羟基喜树碱 3 mg/kg. 隔日 1 次, 治疗 20 d. 隔日 1 次测量皮下移植瘤的最长径(a)和最短径(b), 按公式 $V = a \times b^2 \times 0.52$ 计算肿瘤体积(mm³). 按公式抑瘤率(%) = [1-(治疗组开始平均

瘤体积-治疗组结束平均瘤体积)/(对照组开始平均瘤体积-对照组结束平均瘤体积)] × 100% 计算水蓼衣提取物的抑瘤率. 实验 21 d 处死动物, 眼球采血, 分离血清用于心、肝、肾功能检测; 切取瘤组织, 称瘤质量, 测量瘤体积并计算抑瘤率; 然后浸泡固定, 固定好的癌组织常规石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜下观察组织病理学变化, 以观察水蓼衣提取物对移植瘤生长的影响.

统计学处理 实验结果以 mean ± SD 表示, *t* 检验分析实验数据, 以 *P* < 0.05 判定差异显著性.

2 结果

2.1 水蓼衣提取物对裸鼠肝癌移植瘤的影响 水蓼衣提取物对 SMMC-7721 移植瘤有明显的剂量依赖性抑制作用, 高剂量水蓼衣的抑制作用与羟基喜树碱相近(表 1).

表 1 水蓼衣提取物对裸鼠肝癌移植瘤体积、瘤重量和抑瘤率的影响(mean ± SD, *n* = 6)

分组	瘤质量(mg)	瘤体积(mm ³)	抑瘤率(%)
对照组	1219.7 ± 258.2 ^a	513.7 ± 189.2 ^a	
水蓼衣低剂量组	782.9 ± 164.8	290.3 ± 73.3	46
水蓼衣高剂量组	474.2 ± 205.7 ^a	199.2 ± 95.0 ^a	62 ^a
羟基喜树碱组	428.2 ± 264.6 ^a	163.9 ± 67.2 ^a	71 ^a

^a *P* < 0.05 vs 水蓼衣低剂量组.

2.2 肿瘤组织学检查 对照组瘤细胞整齐地成片排列, 细胞核大, 胞质少, 瘤细胞生长活跃, 核分裂多, 瘤细胞异型性大, 瘤块中央有少量坏死组织(图 1A); 水蓼衣低剂量组肿瘤细胞体积缩小, 核分裂可见, 出血坏死较对照组明显增多, 有较多肿瘤细胞凋亡(图 1B); 水蓼衣高剂量组肿瘤细胞体积变小, 偶见核分裂, 瘤组织中出血、坏死多见(图 1C); 羟基喜树碱组肿瘤细胞体积明显变小, 极少核分裂, 瘤组织中见广泛的出血、坏死现象(图 1D).

2.3 水蓼衣提取物对动物血清 AST、ALT、LDH、CRE 含量和体质量变化的影响 水蓼衣提取物治疗 20 d 后血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)活性和肌酐(CRE)含量与羟基喜树碱组比无明显差异(*P* > 0.05), 水蓼衣提取物治疗前后裸鼠

表 2 各组肝癌裸鼠血清 AST、ALT、LDH、CRE 含量和体质量变化(mean ± SD)

分组	体质量变化(g)	AST(nkat/L)	ALT(nkat /L)	LDH(nkat /L)	CRE(μmol/L)
对照组	1.5 ± 0.3	1 310.3 ± 486.8	936.8 ± 110.0	2 033.7 ± 651.8	55.3 ± 17.9
水蓼衣低剂量组	1.7 ± 0.8	1 123.5 ± 441.6	746.8 ± 110.1	2 200.4 ± 800.2	51.6 ± 23.4
水蓼衣高剂量组	1.8 ± 0.6	1 153.6 ± 501.8	750.1 ± 116.7	2 407.1 ± 485.1	54.7 ± 29.5
羟基喜树碱组	1.8 ± 0.9	1 236.9 ± 410.1	805.2 ± 131.7	2 430.5 ± 633.5	55.4 ± 13.2

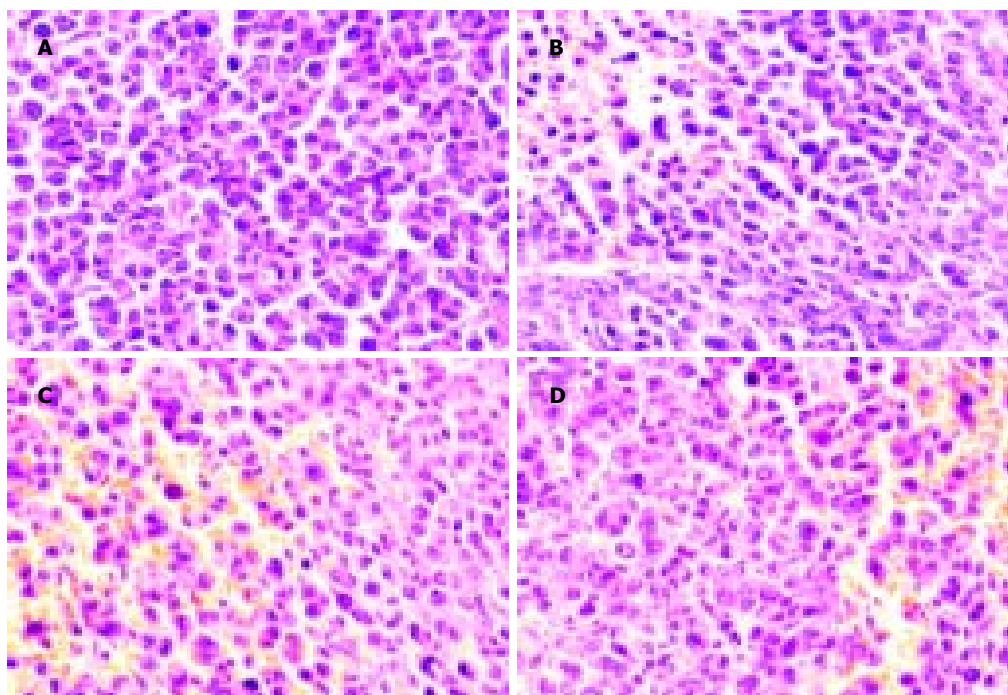


图1 各组肝癌移植瘤 HE $\times 400$. A: 对照组; B: 水蓼衣低剂量组; C: 水蓼衣高剂量组; D: 羟基喜树碱组.

体质量变化与羟基喜树碱组比亦无明显差异 ($P > 0.05$), 表明水蓼衣提取物在治疗过程中对机体的整体状况及心、肝、肾功能的影响与羟基喜树碱相当 (表2).

3 讨论

肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 不仅发病率高, 预后也极为严重, 因而肝癌的防治工作极为重要. 由于临床上大多数患者不能切除肝癌, 故保守治疗仍为多数患者的主要治疗方法. 我国的中医药理论基础雄厚, 药源丰富, 是一个伟大的宝库, 充分挖掘这一宝库, 辨证合理用药, 极有可能为癌症的防治做出贡献^[4]. 传统中的抗肿瘤药物具有一定的毒性, 如砒霜、砷化物等, 而无毒性的抗肿瘤药物则是人们新的开发目标. 肝癌裸鼠移植瘤是研究抗肝癌药物的理想模型, 即在裸鼠身上复制出人的肝癌模型, 然后应用具有抗癌作用的药物进行防治, 研究此种药物的抗癌疗效. 水蓼衣提取物作为一种治疗急性肝炎的中药, 临床上具有很好的疗效, 但是否具有抑制肝癌的作用仍有待探讨. 已知羟基喜树碱是植物有效成分的衍生物, 经研究证明具有较好的抗肝癌作用并已上市进入临床应用, 且毒副作用较小^[5-6]. 其抑制肝癌的作用机制被认为与选择性抑制拓扑异构酶而干扰

DNA的复制有关, 水蓼衣提取物对该酶亦具有抑制作用. 我们以此种药物作为阳性对照, 研究不同浓度水蓼衣提取物对肝癌的作用. 实验结果表明, 水蓼衣提取物对裸鼠移植瘤的抑制效应呈剂量依赖关系, 其抑制功效与羟基喜树碱相近, 而且对动物血清AST、ALT、LDH、CRE含量和体质量变化的影响也与羟基喜树碱无明显差异, 表明水蓼衣提取物在治疗过程中对机体的整体状况及心、肝、肾功能的影响与羟基喜树碱相当. 若能合理配伍, 可能取得更好疗效. 水蓼衣提取物抑制肝癌细胞生长的机制有待进一步研究.

4 参考文献

- 1 杨成梓, 凌伟坚, 陈建斌. 两种仙桃草的本草考证. 中药材 2003; 26:818-819
- 2 张金山, 王红, 黄威权, 孙岚, 黄高升, 张远强. LHRH类似物对肝癌裸鼠移植瘤生长的影响. 世界华人消化杂志 2002;10:759-764
- 3 李立, 吴沛宏, 黄嘉凌, 刘然义, 曾益新, 黄文林. 重组人内皮抑素腺病毒抑制肝癌裸鼠移植瘤生长. 中华肝脏病杂志 2003;11:542-543
- 4 Xu HY, Yang YL, Liu SM, Bi L, Chen SX. Effect of arsenic trioxide on human hepatocarcinoma in nude mice. World J Gastroenterol 2004;10:3677-3679
- 5 张帮惠. 羟基喜树碱副作用的临床观察和护理. 齐齐哈尔医学院学报 2001;22:304-305
- 6 徐丽婷, 谢华. 羟基喜树碱的药理作用及临床应用. 医药导报 2002;21:302

编辑 潘伯荣 审读 张海宁