

左金丸及其主要单体成分对大肠癌的干预作用

文彬, 黄秋凌, 龚艳青, 陈蔚文

■背景资料

现代药理学研究表明, 左金丸对消化系统有广泛的作用: 镇痛、抗炎、抑菌, 还有明显的抗溃疡和抑制胃酸分泌等。近年来, 许多学者对左金丸及其主要单体成分对抑制肿瘤细胞生长迁移、促进肿瘤细胞的凋亡做了大量研究, 结果表明黄连素(小檗碱)和吴茱萸碱均可阻断促癌物质对潜在癌变细胞的作用, 因而对一些类型的肿瘤细胞(如肝癌、肺癌、白血病、淋巴瘤等)都有一定的作用。

文彬, 黄秋凌, 龚艳青, 陈蔚文, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

文彬, 副研究员, 主要从事消化系统肿瘤分子药理学研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30400602; No. 30672687
作者贡献分布: 本实验由文彬设计; 研究过程由文彬、黄秋凌及龚艳青操作完成; 数据分析由文彬完成; 论文写作由文彬完成; 实验指导和写作指导由陈蔚文完成。

通讯作者: 文彬, 副研究员, 510405, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wen_bin04@yahoo.com.cn
电话: 020-36585077

收稿日期: 2009-04-28 修回日期: 2009-05-26

接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-07-08

***In vitro* and *in vivo* anti-colorectal carcinoma activities of Zuojin Pill and its major constituents**

Bin Wen, Qiu-Lin Huang, Yan-Qing Gong, Wei-Wen Chen

Bin Wen, Qiu-Lin Huang, Yan-Qing Gong, Wei-Wen Chen, Spleen-stomach Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.30400602 and 30672687

Correspondence to: Dr. Bin Wen, Spleen-stomach Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wen_bin04@yahoo.com.cn

Received: 2009-04-28 Revised: 2009-05-26

Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-07-08

Abstract

AIM: To investigate the intervention effect of Zuojin Pill and its major constituents against colorectal carcinoma *in vitro* and *in vivo*.

METHODS: Cultured HT29 cells in the logarithmic growth phase were treated with berberine (26.25, 52.5, 105, 210 and 420 $\mu\text{mol/L}$, respectively) and evodiamine (5, 10, 15, 20, 25 and 30 $\mu\text{mol/L}$, respectively) for 24, 48, 72 and 96 h, respectively, to determine the optimal concentration and duration of treatment. Under optimal conditions, the inhibitory effects of berberine and evodiamine on the proliferation of HT29 cells were examined by a viable cell count method, and the telomerase activity of the treated cells was determined by the TRAP method. The single cell suspension of HT29 cells was then

prepared and subcutaneously injected into the left abdominal region of nude mice at a concentration of 5×10^5 cells/0.2 mL to produce tumor-bearing nude mice. These mice were randomly divided into four groups, namely, control group (injection with saline), Zuojin Pill group, AZT (Azidothymidine) group and Zuojin Pill plus AZT group. The effects of Zuojin Pill and AZT on tumor growth and telomerase activity were observed. Additionally, a rat model of colorectal carcinoma was induced with 1, 2-dimethylhydrazine (DMH). The rats were also randomly divided into four groups, treated in the same manner as described above, and killed at weeks 11, 21 and 34, respectively, to observe the effects of Zuojin Pill and AZT against the progression of rat colorectal carcinoma.

RESULTS: Evodiamine and berberine dose-dependently inhibited the proliferation of HT29 cells *in vitro*. The suppression ratios achieved using evodiamine (7.5, 15 and 30 $\mu\text{mol/L}$, respectively) were $39.3\% \pm 2.13\%$, $52.8\% \pm 5.34\%$ and $64.1\% \pm 7.19\%$, respectively, while those achieved using berberine (52.5, 105, 210 $\mu\text{mol/L}$) were $44.1\% \pm 3.97\%$, $55.9\% \pm 4.12\%$ and $65.3\% \pm 6.94\%$, respectively. Moreover, berberine and evodiamine could effectively inhibit the telomerase activity of HT29 cells. In tumor-bearing nude mice, Zuojin Pill and AZT had no significant influence on tumor size but had weak effect on telomerase activity. In DMH-induced rat colon cancer model, the tumor incidences observed at week 11 in the control group, Zuojin Pill group, AZT group and Zuojin Pill plus group were 20%, 0%, 10% and 10%, respectively. In contrast, the tumor incidences at week 34 showed no significant difference among different groups.

CONCLUSION: The major constituents of Zuojin Pill can suppress the proliferation and telomerase activity of HT29 cells *in vitro*. In DMH-produced rat model, Zuojin Pill can effectively repress the development and progression of early-stage carcinoma, but has no obvious effect against late-stage carcinoma.

Key Words: Zuojin Pill; Berberine; Evodiamine;

■同行评议者

李军祥, 教授, 北京中医药大学附属东方医院消化内科; 姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

Colorectal carcinoma; HT29 cells

Wen B, Huang QL, Gong YQ, Chen WW. *In vitro* and *in vivo* anti-colorectal carcinoma activities of Zuojin Pill and its major constituents. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(19): 1936-1941

摘要

目的: 探讨左金丸及其主要单体成分在体内体外对大肠癌发生发展的干预作用。

方法: 培养人大肠癌细胞株HT29, 选择处于对数生长期的细胞, 分别用不同浓度的盐酸小檗碱(26.25、52.5、105、210、420 $\mu\text{mol/L}$)、吴茱萸碱(5、10、15、20、25、30 $\mu\text{mol/L}$)处理HT29细胞24、48、72、96 h, 筛选最适作用浓度与时间, 在这一浓度与时间作用下, 用活细胞计数法检测左金丸的主要单体成分小檗碱和吴茱萸碱对HT29细胞增殖的抑制作用, TRAP法检测HT29细胞端粒酶活性, 取HT29细胞, 用生理盐水制成单细胞悬液, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^5/0.2 \text{ mL}$, 注射于裸鼠左侧胁腹部皮下, 制作HT29细胞荷瘤裸鼠肿瘤模型。随机将裸鼠分为4组: 对照组、左金丸组、AZT组和协同组, 观察左金丸和叠氮胸苷(AZT)对瘤体生长及端粒酶活性的影响。利用致癌剂1, 2-二甲基酰肼(DMH, 25 mg/kg)诱导大鼠大肠癌模型, 同样随机将大鼠分为4组, 观察左金丸和AZT对大鼠大肠癌发生发展的干预作用。

结果: 在离体实验中, 处理24-72 h, 105 $\mu\text{mol/L}$ 盐酸小檗碱和15 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱对HT29细胞增殖的抑制作用呈成正向的线性量效关系, 吴茱萸碱(7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)作用后的抑制率分别为 $39.3\% \pm 2.13\%$, $52.8\% \pm 5.34\%$ 和 $64.1\% \pm 7.19\%$, 盐酸小檗碱(52.5、105、210 $\mu\text{mol/L}$)作用后的抑制率分别为 $44.1\% \pm 3.97\%$, $55.9\% \pm 4.12\%$ 和 $65.3\% \pm 6.94\%$ 。105 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱和15 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱处理HT29细胞72 h, 小檗碱和吴茱萸碱可以有效抑制HT29细胞端粒酶的活性。在荷瘤裸鼠实验中, 左金丸和AZT对瘤体大小无明显影响, 对端粒酶活性有微弱影响。第11周, 对照组、左金丸组、AZT组和协同组大鼠肿瘤发生率分别为20%、0%、10%和10%, 左金丸作用优于AZT, 但34 wk各组间无明显差异。

结论: 离体实验中, 左金丸的主要成分可以有效抑制HT29细胞的增殖和端粒酶的活性; 裸鼠移植瘤实验中, 观察不到左金丸的药效; 1, 2-DMH诱导大肠癌实验模型中, 左金丸可以

有效阻碍早期癌症的发生和发展。

关键词: 左金丸; 小檗碱; 吴茱萸碱; 大肠癌; HT29细胞

文彬, 黄秋凌, 龚艳青, 陈蔚文. 左金丸及其主要单体成分对大肠癌的干预作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17(19): 1936-1941
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1936.asp>

0 引言

左金丸最早收录于《丹溪心法》, 由黄连、吴茱萸按6:1配比组成。黄连苦寒, 清心泻肝, 吴茱萸辛热, 引热下行, 二药一主一辅, 一寒一热, 相反相成。现代药理研究表明, 左金丸对消化系统有广泛的作用: 镇痛、抗炎、抑菌, 还有明显的抗溃疡和抑制胃酸分泌等^[1-2]。近些年来, 许多学者对左金丸及其主要单体成分对抑制肿瘤细胞生长迁移、促进肿瘤细胞的凋亡做了大量研究^[3-9], 结果表明黄连素(小檗碱)和吴茱萸碱均可阻断促癌物质对潜在癌变细胞的作用, 因而对一些类型的肿瘤细胞(如肝癌、肺癌、白血病、淋巴瘤等)都有一定的作用。我们研究小组对黄连、吴茱萸、青黛为主药的加味左金丸(复方连黛片)及其主要成分盐酸小檗碱、靛玉红和吴茱萸碱防治消化系肿瘤的药理作用及临床已进行了十余年的研究^[10-15]。研究表明, 这些药物能降低MNNG诱发大鼠胃及十二指肠癌的发生, 减轻病理损伤, 明显抑制癌细胞的增殖, 促进细胞分化, 降低肿瘤转移, 抑制一些癌基因的表达等。端粒酶具有逆转录酶活性, 逆转录酶抑制剂叠氮胸苷(Azidothymidine, AZT)可以抑制端粒酶活性^[16-17], 本文以AZT作为对照受试药物, 分别在离体条件下探讨小檗碱和吴茱萸碱对HT29细胞的增殖的抑制作用和对端粒酶活性的影响; 制作荷瘤裸鼠模型和DMH致大肠癌模型探讨左金丸对肿瘤发生发展的干预作用。

1 材料和方法

1.1 材料 黄连和吴茱萸购自广州中医药大学第一附属医院。盐酸小檗碱、吴茱萸碱、AZT和1, 2-二甲基酰肼(1, 2-DMH)均购自美国Sigma公司; 培养基RPMI 1640干粉为美国Gibco公司产品; 活细胞计数CCK-8试剂盒购自上海同仁化学研究所(为株式会社日本同仁化学研究所产品); 端粒酶检测试剂盒为北京鼎国生物科技公司产品。HT29细胞购自中国科学院上海生化和细胞生物研究所; SPF级BALB/C裸鼠和SPF级健康Wistar

■创新盘点

本文以AZT作为对照受试药物, 分别在离体条件下探讨小檗碱和吴茱萸碱对HT29细胞的增殖的抑制作用和对端粒酶活性的影响; 制作荷瘤裸鼠模型和DMH致大肠癌模型探讨左金丸对肿瘤发生发展的干预作用。

■相关报道

Fiala认为DMH是经肝脏转化、经胆汁分泌到肠,经肠道细菌的作用下水解游离出甲基氧化偶氮甲醇,且进一步转化才具有致癌活性的。Genn *et al*认为,肠道中的DMH代谢物除来源于胆汁外,还可能来自肝静脉或不经肝脏的途径。

大鼠均购于并饲养于广州中医药大学动物中心(动物合格证号分别为:0014754,0017087)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:人结肠癌细胞株HT29是原发人类大肠癌培养的细胞系,将细胞接种于无菌培养瓶中,加入含100 g/L小牛血清、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素的RPMI 1640培养液,置于37℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度的培养箱中培养,细胞呈单层贴壁生长,每周换液2-3次,密度为80%-90%时进行传代,利用细胞增殖实验检测细胞的对数生长期,取对数生长期细胞用于实验研究。

1.2.2 药物对细胞增殖的抑制作用:取对数生长期的HT29细胞,调整细胞浓度,以每孔 2×10^4 个/100 μ L密度接种于96孔板培养,24h后吸除原培养液,加入含不同浓度中药的培养液:吴茱萸碱(培养液配制后用超声波震荡处理成微粒直径小于10 μ m的均匀悬浮液)取3.75、7.5、15、30、60 μ mol/L 5个剂量组;盐酸小檗碱(用培养液制备)取26.25、52.5、105、210、420 μ mol/L 5个剂量组;设培养液不加药物为空白对照组。各组均设5个平行孔($n = 5$),按活细胞计数CCK-8试剂盒说明书进行操作,按下列公式计算细胞生长抑制率(R): $R(\%) = (\text{空白对照组}A_{450} - \text{实验组吸光度}A_{450}) / \text{空白对照组吸光度}A_{450} \times 100\%$ 。

1.2.3 造模:人大肠癌细胞株HT29裸小鼠移植瘤模型制作:BAAL/c裸鼠50只,18-22 g,雌雄各半。人工条件下培养HT29细胞,待细胞生长至铺满培养瓶80%-90%,用2.5 g/L的胰酶消化后收集,悬浮于生理盐水中,制成单细胞悬液,调整细胞浓度,于每只裸鼠左侧胁腹部皮下注射0.2 mL,细胞量 5×10^5 。将50只裸鼠随机分为3组:(1)对照组(生理盐水组):10只,每日生理盐水0.5 mL灌胃1次;(2)左金丸组:20只,中药汤剂1.4 g/kg灌胃,相当于成人常用量的20倍,每日1次;(3)AZT组:20只,于注射细胞的第2天开始每日1次AZT 10.5 mg/kg灌胃,每组连续灌胃1 mo,灌胃结束后的第2天,将裸鼠断颈处死,取瘤体。用游标卡尺测量接种后不同时期肿瘤大小。肿瘤体积计算公式: $V = ab^2/2$, V 为体积, a 为长径, b 为横径。(2)DMH诱导Wistar大鼠大肠癌模型制作:DMH诱导大肠癌大鼠模型主要参考Aguilar *et al* 2005年的研究报道^[18]。致癌剂DMH现配现用。健康雌雄各半Wistar大鼠共240只、随机均分为4组:对照组、左金丸组、AZT组和左金丸与AZT的协同组。在每只大鼠左肩胛骨侧皮下,分别注射1,

2-二甲基酰肼(1, 2-DMH):25 mg/kg,每周1次,连续注射12 wk。从第1次注射DMH第2天开始,中药组每天以中药汤剂1.4 g/kg灌胃;AZT组每天以10.5 mg/kg灌胃;对照组灌同等体积的生理盐水,每日1次,连续34 wk。

1.2.4 标本的采集:从灌胃11 wk开始,分批处死大鼠,开腹分离整段大肠,剖开,冰冻生理盐水冲洗干净,平展于过滤白纸上,描述肠上皮形态变化(包括息肉数量、颜色、部位、大小形态),切取肉眼所见表皮发生变化或病变部位(含周围相当于息肉直径范围肠组织),用40 g/L的中性甲醛溶液固定后,常规脱水、浸蜡、透明、包埋,切片,做病理学观察。其余病变部位组织迅速冷冻于液氮中,后转至-70℃冰箱保存,留待检测。

1.2.5 结肠组织病理形态学观察:切片HE染色后以Olympus显微镜观察并拍照。

1.2.6 病理分级:采用改良的Dukes *et al*^[19]大肠癌分期及预后分期标准:A:肿瘤限于黏膜层(重度上皮内瘤变);B1:肿瘤侵及肌层,但未穿透,无淋巴结转移;B2:肿瘤穿透肌层,但无淋巴结转移;C1:肿瘤未穿透肌层,但有区域性无血管根部淋巴结转移;C2:肿瘤穿透肠壁,并伴有肠系膜淋巴结转移;D:有远隔脏器转移。

1.2.7 端粒酶活性检测:用端粒重复序列扩增法(TRAP法)检测端粒酶活性(北京鼎国生物科技公司提供)。(1)提取端粒酶:取组织块用液氮研磨至粉碎(贴壁细胞胰酶消化后离心收集,取 5×10^6 细胞)。加入1 mL缓冲溶液A,混匀,4℃放置15 min;12000 g,4℃离心5 min,去上清;加入100-200 μ L缓冲溶液B,混匀,4℃放置30 min,其间振动数次;然后12000 g,4℃离心15 min,弃沉淀,留取上清。(2)PCR扩增:取2 μ L上清,加入22 μ L PCR反应液(包括引物,缓冲溶液, dNTPs)。20℃保温40 min,90℃保温3 min;上述反应体系中加入1 μ L荧光标记引物(FITC),1 μ L Taq酶,按下列程序做PCR扩增:94℃ 2 min;94℃ 30s,55℃ 30s,72℃ 1 min(35 cycles);72℃ 5 min;取上述PCR产物2 μ L,加入2 μ L上样缓冲液,95℃变性2 min。(3)聚丙烯酰胺-尿素变性电泳,分析结果。

统计学处理 数据处理采用SPSS11.5统计软件,单因素分析用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 盐酸小檗碱、吴茱萸碱体外对HT29细胞增殖的抑制作用 茱萸碱(7.5、15、30 μ mol/L)和

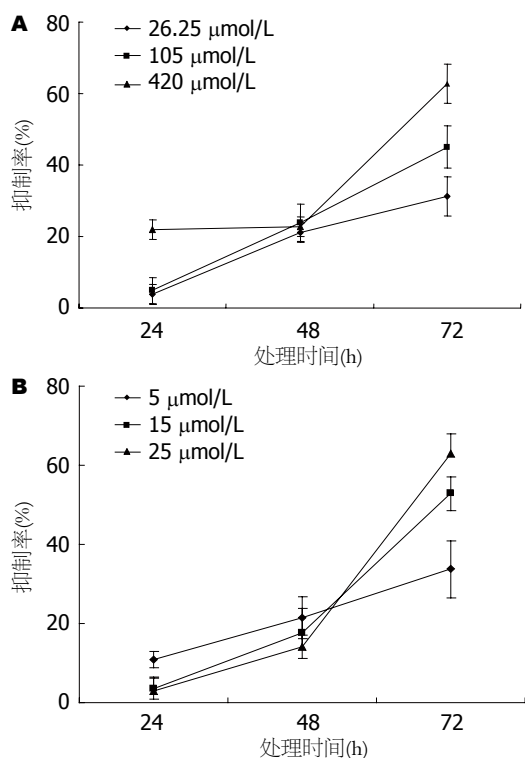


图1 盐酸小檗碱和吴茱萸碱对HT29细胞增殖的抑制作用。
A: 盐酸小檗碱; B: 吴茱萸碱。

盐酸小檗碱(52.5、105、210 $\mu\text{mol/L}$)作用后的抑制率分别为 $39.3\% \pm 2.13\%$, $52.8\% \pm 5.34\%$, $64.1\% \pm 7.19\%$ (均 $P < 0.01$)和 $44.1\% \pm 3.97\%$, $55.9\% \pm 4.12\%$, $65.3\% \pm 6.94\%$ (均 $P < 0.01$)。在24-72 h内, 105 $\mu\text{mol/L}$ 盐酸小檗碱和15 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱对HT29细胞增殖的抑制作用呈成正向的线性量效关系(图1)。

2.2 盐酸小檗碱、吴茱萸碱对HT29细胞端粒酶活性的影响 105 $\mu\text{mol/L}$ 盐酸小檗碱和15 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱对HT29细胞增殖的抑制作用呈成正向的线性量效关系(图1), 选取105 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱、10 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱和72 h作为最适作用条件, 进行对端粒酶活性影响的检测。结果表明, 105 $\mu\text{mol/L}$ 盐酸小檗碱和15 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱均能抑制HT29细胞端粒酶活性, 吴茱萸碱的作用略强于盐酸小檗碱(图2)。

2.3 左金丸和AZT对裸鼠移植瘤组织大小及端粒酶活性的影响 选取 $5 \times 10^5/0.2 \text{ mL}$ 的HT29细胞接种于BALA/c裸小鼠肩胛骨左上方的皮下, 在植入细胞的第2天开始灌胃, 每日1次连续5 wk。实验发现, 左金丸和AZT对瘤体大小没有明显的影响, 进一步检测左金丸瘤体端粒酶活性的影响(图3), 可见AZT和左金丸对癌肿的端粒酶活性都只有较微弱的影响, AZT的影响略强于

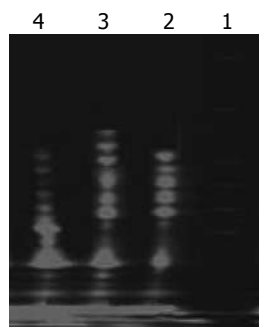


图2 吴茱萸碱和盐酸小檗碱对HT29细胞端粒酶活性的影响。1: 标准分子质量; 2: 盐酸小檗碱105 $\mu\text{mol/L}$; 3: 对照组; 4: 吴茱萸碱15 $\mu\text{mol/L}$ 。

■应用要点
在DMH诱导大肠癌的过程中, 左金丸可以很显著地干预癌症的发生, 在癌症发展的进程中, 左金丸可以有效地延缓癌症的进程。

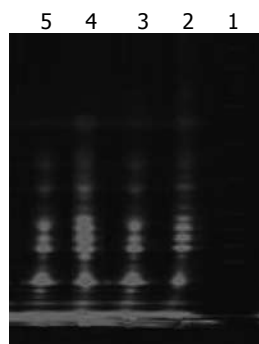


图3 左金丸组和AZT对裸鼠移植瘤端粒酶活性的影响。1: 标准分子质量; 2: 对照组; 3: 左金丸组; 4: 对照组; 5: AZT组。

中药组。

2.4 Wistar大鼠肿瘤发展过程中肿瘤数量和发生率 实验表明, 在肿瘤发生的早期(11 wk), 左金丸对肿瘤的发生进程有明显的影响, 左金丸组肿瘤发生率为0%, 大鼠大肠表面也有一些白色的结节, 但病理检测均正常, 尚没有发展成癌; 而对照组、AZT组以及同时灌服左金丸和AZT的协同组均有早期腺癌出现(表1)。第21周, 左金丸肿瘤发生率均显著低于对照组(表1); 第34周, 除协同组肿瘤发生率略低外($P < 0.05$), 各组之间癌肿的发生率无明显差异($P > 0.05$), 但对照组大鼠癌肿处于中晚期(B2-C2期)的比例较多, 而左金丸组的大鼠多处于早期(A)的中期(表1)。

2.5 整个造模过程大肠以外其他部位发生病变的情况 将不同造模时期的大鼠肿瘤发生例数和发生部位情况进行一个粗略综合性统计, 在整个造模过程中, 仅大肠部位发生癌变, 计数为0; 其他部位发生癌变计为1; 若同一只鼠在小肠、肝脏2处同时发生肿瘤病变, 计数为2, 以此类推。我们意外发现, 左金丸组癌变部位发生在大肠以外的概率(3.8%)明显低于其他组($P < 0.01$, 表2)。

3 讨论

结直肠癌手术在近50年来发展迅速, 针对不同病期、肿瘤部位、转移状况、患者全身情况可选各种不同术式, 但多年来, 结直肠癌5年生存率并未因手术进步得到显著提高, 仍停留在50%左右^[20]。中医药治疗恶性肿瘤的优越性已为广

■同行评价

本文选题尚可, 设计合理, 结果可靠, 具有较好的学术价值。

表 1 DMH诱导大鼠大肠癌变的发生率

分组	n	病理分级						发生率(%)
		A	B1	B2	C1	C2	D	
11 wk								
对照组	20	4	0	0	0	0	0	20.0
左金丸组	20	0	0	0	0	0	0	0.0 ^b
AZT组	20	2	0	0	0	0	0	10.0 ^a
协同组	20	2	0	0	0	0	0	10.0 ^a
21 wk								
对照组	18	4	2	2	0	0	0	44.4
左金丸组	16	2	0	0	0	0	0	12.5 ^b
AZT组	20	4	2	0	0	0	0	30.0 ^a
协同组	18	4	0	2	0	0	0	33.3 ^a
34 wk								
对照组	20	1	3	4	4	2	0	70.0
左金丸组	16	2	2	4	2	0	0	62.5
AZT组	22	4	2	6	2	0	0	63.6
协同组	18	4	2	4	0	0	0	55.6 ^a

^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

大医患所认同, 中西医结合治疗在提高生存质量、阻断癌前病变等方面有独特的优势。我们用不同的实验模型研究表明, 左金丸对肿瘤细胞的增殖和癌的进程都有一定的干预作用。在离体情况下, 盐酸小檗碱和吴茱萸碱对HT29细胞增殖及端粒酶活性均有较为明显的抑制作用。在荷瘤裸鼠的实验中, 由于中药的药效不能强烈到有效阻碍瘤体的生长, 因此, 长时间饲养, 瘤体表面会发生溃烂, 这一原因使我们不能造模时间过长, 在这一实验中, 我们仅发现了左金丸对端粒酶活性微弱的抑制作用, 这可能由于我们造模时间较短(5 wk), 但也可能是由于此模型不适合研究中药缓慢释放药效的作用特点, 这一点在我们进一步的大鼠实验中得到一定的佐证。在DMH诱导大肠癌的过程中, 左金丸可以很显著地干预癌症的发生, 在癌症发展的进程中, 左金丸可以有效地延缓癌症的进程。

端粒酶抑制剂AZT是单环 β 内酰胺类药物, 作为核苷类似物, AZT可以和正常的单核苷酸竞争端粒酶的核苷酸结合位点, 抑制细胞内部逆转录酶活性, 使逆转录过程停止, 从而抑制端粒的合成^[16-17]。在离体实验中, 我们看到AZT和小檗碱、吴茱萸碱均可以抑制端粒酶的活性, 在荷瘤裸鼠实验中, 这种抑制作用微弱一些, 这可能与模型适应性有关, 但通过DMH诱癌大鼠实验, 我们可以看到左金丸和AZT对肿瘤的发生发展干预作用明显不同, 在肿瘤发生的初期(11

表 2 整个造模过程中大肠以外其他部位病变

分组	n	发生部位				发生率(%)
		小肠	肝脏	腹腔泛发	耳部	
对照组	58	4	4	2	2	20.68
左金丸组	52	2	0	0	0	3.8 ^b
AZT组	62	12	0	2	0	22.58
协同组	56	4	2	2	2	17.86

^b $P < 0.01$ vs 对照组。

wk), AZT组和对照组肿瘤发生率并没有什么区别, 而这个时候, 左金丸的作用最明显, 到21 wk, 左金丸对肿瘤发生的阻碍作用也比AZT要好, 再往后, 2组的肿瘤发生率又没有区别, 这提示左金丸和AZT抑癌作用的机制可能不同, 这从一个侧面再次了反应中医药治病整体观念, 单纯从某一个酶或某一基因来研究中药的作用机制并不合适。

DMH诱发肿瘤, 在皮下给药而肿瘤发生在远端器官大肠^[20-21], Druchrey据此提出“器官特异性化学致癌”的概念。一般认为DMH为间接致癌剂, 他本身并不致癌, Fiala认为DMH是经肝脏转化、经胆汁分泌到肠, 经肠道细菌的作用下水解游离出甲基氧化偶氮甲醇, 且进一步转化才具有致癌活性的。Genn *et al*认为, 肠道中的DMH代谢物除来源于胆汁外, 还可能来自肝静脉或不经肝脏的途径。以DMH诱发肿瘤时, 除了肿瘤主要发生大肠, 小肠肿瘤的发生率较高(有报道达36%)。在我们的实验中, 我们发现在大鼠小肠、肝脏、耳部和整个腹腔都有肿瘤发生, 除大肠部位以外, 若其他部位有一处发生肿瘤, 我们计数为1, 若同一只大鼠在小肠、肝脏、耳部3处均有肿瘤发生, 计数为3, 即使这样粗略统计, 我们意外发现左金丸组在大肠以外发生肿瘤的机率明显低于其他组, 这其中的机制还需要进一步研究。

4 参考文献

- 1 李盛青, 刘明平. 左金丸药理与应用. 时珍国医国药 2000; 11: 471-473
- 2 陈蔚文, 蓝韶清, 李茹柳, 徐颂芬. 左金丸抗溃疡及抑制胃液分泌的实验研究. 广州中医学院学报 1991; 8: 224-226
- 3 谭宇蕙, 吴映雅, 钟富有, 胡岳山, 宁昇真, 李杰芬. 吴茱萸碱对小鼠肝癌细胞生长的抑制和诱导凋亡作用. 中药药理与临床 2006; 22: 33-35
- 4 何菱, 郑保忠, 胥佩菱. 小檗碱类衍生物的全合成及抗癌活性的研究. 华西药理学杂志 1987; 2: 61-63
- 5 田道法, 於南平, 唐发清, 陈协云. 不同组方对黄连抑制HNE3细胞rDNA活性效应的影响. 湖南中医学院

- 学报 1994; 3: 38-40
- 6 林菁. 小檗碱对K562细胞生长的抑制作用. 福建医学院学报 1996; 30: 309-312
- 7 洗励坚, 梁永能, 张启威, 李永强. 小檗碱等20个植物药对肿瘤细胞DNA多聚酶及细胞生长的影响. 肿瘤 2000; 20: 1-3
- 8 Ogasawara M, Matsubara T, Suzuki H. Inhibitory effects of evodiamine on in vitro invasion and experimental lung metastasis of murine colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2001; 24: 917-920
- 9 Ogasawara M, Suzuki H. Inhibition by evodiamine of hepatocyte growth factor-induced invasion and migration of tumor cells. *Biol Pharm Bull* 2004; 27: 578-582
- 10 马伟, 王建华, 陈蔚文, 石兴华. 盐酸小檗碱促进胃癌细胞系分化的作用. 中药新药与临床药理 1998; 9: 90-91
- 11 谭宇蕙, 陈蔚文, 周本杰, 李茹柳. 连黛片对大鼠溃疡性胃癌RAS基因点突变的影响. 中药药理与临床 2001; 17: 27-28
- 12 周本杰, 徐勤, 谭宇蕙, 陈蔚文, 王建华. 连黛片对大鼠溃疡性胃癌相关癌基因蛋白表达的影响. 中药新药与临床药理 2001; 12: 249-251
- 13 陈蔚文, 陈蔚文, 李茹柳, 徐勤, 叶富强, 徐颂芬, 潘怀耿, 赵军宁, 王建华. 连黛片抗大鼠胃癌及对p21ras, c-erbB2, Rb和p53基因蛋白表达的影响. 中国中西医结合杂志 1998; S1: 252-254
- 14 杨传标, 陈蔚文, 王建华, 张礼康. 连黛胶囊对胃肠病P21ras和突变型P53蛋白表达调节作用的临床研究. 中国中西医结合杂志 2001; 21: 736-738
- 15 谭宇蕙, 陈冠林, 郭淑杰, 李燕红, 陈蔚文. 小檗碱对人胃癌MGC-803细胞生长抑制及诱导凋亡的作用. 中国药理学通报 2001; 17: 40-43
- 16 Melana SM, Holland JF, Pogo BG. Inhibition of cell growth and telomerase activity of breast cancer cells in vitro by 3'-azido-3'-deoxythymidine. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 693-696
- 17 Murakami J, Nagai N, Shigemasa K, Ohama K. Inhibition of telomerase activity and cell proliferation by a reverse transcriptase inhibitor in gynaecological cancer cell lines. *Eur J Cancer* 1999; 35: 1027-1034
- 18 Noguera Aguilar JF, Amengual Antich I, Plaza Martínez A, Ibarra de la Rosa J, Tortajada Collado C, Gamundí Gamundí A, Pujol Tugores JJ. Cyclooxygenase-2 inhibition in colon experimental carcinogenesis. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97: 637-647
- 19 郑树. 结直肠癌肿瘤-基础研究与临床实践. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 397-398
- 20 吴亚平, 李英. 1,2-二甲胍诱发实验性大肠癌. 国际肿瘤学杂志 1984; 3: 167-171
- 21 邹移海, 张永斌, 连志诚. 实验性大肠癌动物模型研究述评. 广州中医药大学学报 1997; 14: 277-280

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志(国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology)》, 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人員提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。(常务副总编辑: 张海宁 2009-07-08)