

治疗组 I、II、III 血液、肾皮质中 MDA 含量较顺铂组明显下降, SOD 活性升高, 与顺铂组比较有显著性差异 ($P < 0.001$, $P < 0.05$), 血清 BUN、SCr 含量低于顺铂组而接近对照组。

3 抑瘤率 顺铂组抑瘤率达 77.8%, 明显高于灵芝组 (17.8%), 两组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。治疗组 I、II、III 的抑瘤率分别为 81.3%、75.5%、76.4%, 与顺铂组比较差异不明显 ($P > 0.5$)。单纯灵芝组的抑瘤作用不明显。

4 病理学检查 光镜下见顺铂组肾皮质肾小管上皮细胞水肿、刷状缘变浅或缺失, 管腔内可见蛋白管型及脱落的上皮细胞, ALP 的含量下降。治疗组 I、II、III 肾小球和肾小管结构基本完整, ALP 含量正常。

讨 论

文献报道运用顺铂 3 天即可发生肾损伤⁽²⁾, 在实验中观察到顺铂组大鼠第 3 天尿蛋白为 + + +, 5 天后为 + + + +, 10 天后 BUN、SCr 增加、肾组织结构破坏, 肾功能受到严重损伤。顺铂与不同剂量灵芝联用后, 肾功能及肾组织结构均为正常, 此表

明灵芝能减轻顺铂的毒性作用。

顺铂肾毒性的发生可能与自由基增加, 脂质过氧化有关⁽²⁾, 本实验结果提示顺铂进入体内可降低机体的抗氧化能力, 促进血液、肾皮质脂质过氧化反应, MDA 增加。MDA 能破坏生物膜结构导致肾功能改变。灵芝注射液含有较多的灵芝多糖, 后者具有拟 SOD 的作用, 能清除自由基、抑制脂质过氧化反应。当灵芝与顺铂联用时, 可清除顺铂诱发的自由基, 降低脂质过氧化, 预防顺铂的肾毒性。

实验中, 灵芝的抑瘤率较低, 可能与灵芝的制剂有关。但灵芝注射液不影响顺铂的抗癌疗效, 因而灵芝与顺铂联用可增加顺铂的用量, 扩大顺铂的应用范围。

参 考 文 献

1. 杨云鹏, 翟云凤, 刘耕陶, 等. 薄芝注射液及薄芝片的研究. 医学研究通讯 1989; 18(6): 25.
2. 王利文, 许广源, 邓郑进. 国产顺铂肾毒性的研究. 大连医学院学报 1985; 3(7): 9.

中药制剂局部注射的抗癌作用实验研究

吴艳环¹ 江 峰¹ 杨善民² 陈瑞川²

近年来国内外十分重视内镜直视下治疗进展期胃癌, 肿瘤内注入高浓度抗癌乳化剂, 局部滞留时间长, 癌组织及其所属的淋巴结内药物浓度高。我们以脂质体包载中药药剂进行消化道肿瘤内注射, 动物实验及临床应用效果明显⁽¹⁾。在此基础上, 我们以鸡胆子种皮等中药提取液制成注射剂, 探讨其对体外培养细胞及荷人肝癌裸鼠移植瘤模型局部注射的抗肿瘤影响。

材料与方法

1 材料 药品: 中药制剂为鸡胆子种皮、木芙蓉等中药提取液。细胞株: 人肝癌细胞株 H₉₁₀₁ 为厦门大学抗癌研究中心细胞培养室保存。荷人肝癌裸鼠移植瘤株 HHC₁₅⁽²⁾ 由厦门大学抗癌研究中心医学实验动物室建立及保存。450 型仪器微孔板读数仪为美国 BIO-RAD 公司生产。

2 方法

2.1 体外细胞毒实验 H₉₁₀₁ 细胞按 10⁴ 个/孔 (0.2ml) 接种于 96 孔微量培养板, 培养 2 天后每孔吸去 0.1ml 培养上清, 再分别加入 0.1ml 以细胞培养液系列稀释的药物, 设中药组、5-氟脲嘧啶 (5-FU) 组, 每组设 6 个剂量, 每剂量 3 个平行孔, 阴性对照组仅补加 0.1ml 培养液, 继续培养 4 天后撤药, RPMI-1640 轻洗 2 次; 细胞毒性杀伤率测定则按 Borenfreund 方法⁽³⁾, 略加修改: 每孔加入含 80μg/ml 中性红的培养液 0.2ml, 37℃ 培养 6h, 去上清, 迅速用固定液冲洗及固定后, 各孔加 0.2ml 含 1% 乙酸的 50% 乙醇溶液, 10min 后轻拍混匀, 于微孔板读数仪 570nm 处测定 OD 值, 计算细胞杀伤率 [杀伤率 (%) = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) ÷ 对照组 OD 值 × 100%]。

2.2 抑瘤实验 人肝癌移植瘤株 HHC₁₅ 的接种: 无菌条件

下, 取生长旺盛的 HHC₁₅ 瘤组织数个, 剔除坏死部分, 剪碎混合后用套管针在 BALB/C 裸小鼠后背部或腋部皮下接种瘤组织 (约 0.2 × 0.2 × 0.2mm 左右), 待大部分移植瘤长至 0.8 × 0.7 × 0.7cm 左右即剔除瘤体过大和过小的荷瘤鼠, 随机分为中药组、无水酒精组、5-FU 及生理盐水 4 组, 每组 4 只, 饲养 1 天后用于抑瘤实验。分别于瘤体部分作环状封闭局部注射, 剂量均为 0.1ml/只, 注射 3 次, 每次间隔 4 天。实验重复 1 次。实验组于最后 1 次注射后观察 20 天, 再脱臼处死并照相。重复组则观察 2 个月后再行处死照相。

结 果

1 中药制剂对体外培养细胞的杀伤作用 中药制剂、5-FU 等各原液以 1:100、1:200、1:300、1:400、1:600、1:800 及 1:1000 稀释后 (终稀释度), 各稀释度对人肝癌 H₉₁₀₁ 均有杀伤作用, 其杀伤效率存在浓度依赖关系, 其中中药组较 5-FU 显著 ($P < 0.01$)。

2 中药制剂对移植瘤的抑瘤作用 各组经药物局部注射后观察, 结果显示: 中药组在注射两次后, 移植瘤即见明显坏死、干涸并缩小, 第 3 次注射后移植瘤全部脱落, 伤口结痂, 至 2 个月后已无疤痕, 仅见不明显的凹痕, 观察 20 天及 2 个月均未见肿瘤复发。无水酒精组 3 次局部注射后, 瘤体溃烂并大面积累及皮肤, 其中严重者至 20 天仍未愈合, 观察 20 天及 2 个月均未见移植瘤复发。5-FU 组局部注射后仅见瘤体生长速度减缓, 但未见缩小, 更无瘤块脱落现象, 且荷鼠明显消瘦, 重复实验时全组未到 2 个月即已全部死亡。生理盐水组, 由于其中 1 只第 18 天即已死亡, 故全组提前处死照相。

讨 论

瘤内局部注射药物治疗实体肿瘤是近年来开展的一项新技

1. 厦门中山医院 (福建 361004); 2. 厦门大学抗癌研究中心

术,其优点在于:局部注射浓度较高的药物,从而对肿瘤形成有效的杀伤作用,并可大大降低常规给药方式带来的毒副作用。对于一些不宜手术的肿瘤尤其适合。目前临床用的药物主要以化疗药为主⁽⁴⁾,但由于化疗药本身的低毒副作用特殊要求,疗效并不理想。

研究表明,脂质体包载的药物可使瘤内半衰期由游离药物的 0.5h 延长至 15h⁽⁵⁾。本研究尝试以乙醇抽提的鸦胆子种皮强毒性物质,合并其他中药提取液制成以脂质体及 PVP 为包载体的纯中药悬乳剂。细胞毒性实验表明:中药组作用优于 5-FU 组,裸鼠移植瘤局部注射抑瘤实验结果示:中药组在抑瘤作用及减少皮肤损伤与促进伤口愈合等方面均优于 5-Fu、酒精组。表明中药组在滞缓扩散作用及使局部小血管收缩、血液凝固作用方面有较好的效果并具有理想的抑癌作用,可望应用于实体瘤的局部注射治疗,为肿瘤的中医药治疗提供一新思路。

参 考 文 献

1. 吴艳环. 内镜下注射“消瘤灵”治疗胃食管癌临床研究. 厦门科技 1993; 81:2—4.
2. 杨善民, 郑 耘, 傅寿宁, 等. 人肝癌裸鼠移植瘤株 HHC₁₅ 的建立. 中国实验动物学杂志 1995; 5(1):10—15.
3. Borenfreund E, Babich H, Nieves MA. Rapid chemosensitivity assay with human normal and tumor cells in vitro, *In Vitro Cell Dev. Bid* 1990; 26: 1030—1034.
4. Kim S, Khatibis, Intratumoral chemotherapy with multivesicular liposomes containing cytosine arabinoside. *Regional Cancer Treatment* 1990; 2: 171—173.
5. 于保法, richard L, 王 岩, 等. 肿瘤内注射游离及脂质包载的药物及其肿瘤内立体分布和药物动力学研究. 齐鲁肿瘤杂志 1995; 2(4): 253—257.

二仙温肾汤对免疫介导性再生障碍性贫血的实验研究*

史亦谦 汤金土 陈 瑜

我国中医药在慢性再生障碍性贫血(简称再障)方面已开展了多年的临床和实验研究,并取得了一定的成绩。但在急性再障方面,尤其是对于调整免疫异常,解除免疫因素对造血细胞的损伤方面还缺少研究。为此,我们复制了免疫介导性再障的动物模型,从亚细胞水平开展中药二仙温肾汤治疗此类再障的实验研究。

材料与方 法

1 实验动物 健康雌性 Balb/c 小鼠(H-2^a, mls^b)60 只,清洁级,8~12 周龄,体重 17~22g,作为再障模型载体。健康雌性 DBA/2 小鼠(H-2^b, mls^a)3 只,10~12 周龄,体重 17~22g,作为免疫活性细胞提供者。以上两种小鼠均购自上海西普尔—必凯实验动物有限公司。

2 药物 二仙温肾汤药物组成:仙灵脾 15g 仙茅 12g 黄芪 30g 巴戟天 15g 五味子 6g 当归 9g 甘草 9g 赤小豆 30g 红参 12g,按文献⁽¹⁾方法煎 2 次,浓缩为 0.79g/ml 生药,置 4℃ 冰箱中保存,临用前用烧杯水浴至室温。

3 主要试剂 (1)大鼠抗小鼠 Th/i 淋巴细胞单克隆抗体:批号 IM02010。(2)大鼠抗小鼠 Ts/c 淋巴细胞单克隆抗体:批号 IM02020。(3)荧光标记兔抗大鼠 Ig 抗体:批号 IM02150;以上 3 种抗体均购自北京邦定生物医药公司。(4)RPMI-1640 培养液:批号 31800-022,美国 Life Technologies 公司。

4 建立再障模型 参照姚军等⁽²⁾的方法,随机挑选 Balb/c 小鼠 40 只,把小鼠逐个固定在特制的木盒中,所有小鼠同时给予⁶⁰Co-γ 射线亚致死剂量 6Gy 全身均匀照射,剂量率为 1.2Gy/min,照射后 4h 内,由尾静脉注射输入取自 DBA/2 小鼠的胸腺淋

巴结单细胞悬液。每只小鼠输入 0.2ml,相当于 1×10⁶ 个细胞。

5 实验分组和给药 实验小鼠共分 3 组,每组 20 只。未经 γ 射线照射的小鼠为正常组,照射后输入免疫细胞的小鼠随机分 2 组,即给药组和模型组。正常组和模型组给予生理盐水,给药组给予二仙温肾汤液 19.75g/kg 体重(相当于成人每天每公斤体重 2.5g),从实验第 2 天上午开始灌胃给药,每天 1 次,每次 0.5ml,连续给药 11 天。

6 观察指标 取股骨骨髓作骨髓细胞计数和骨髓造血祖细胞培养(采用 IMDM 混合培养体系);取脾脏作脾细胞 TH/TS 测定(间接免疫荧光法)。

7 统计学方法 方差分析和 q 检验。

结 果

1 骨髓细胞学检测结果 镜下可见正常组骨髓增生极活跃,淋巴细胞等非造血细胞比例 < 30%。模型组骨髓增生低下,有核细胞明显低于正常组,造血岛细胞明显减少而呈空架状,有较多淋巴细胞浸润,巨核细胞不易见到,粒红两系增生低下,以粒系相对增生较好,非造血细胞比例 > 50%,给药组的骨髓亦增生低下,有核细胞明显减少,有淋巴细胞浸润,但粒红两系增生比模型组活跃,非造血细胞比例亦比模型组低。每根股骨的骨髓有核细胞数模型组、给药组均明显低于正常组,经方差分析,有显著性差异(P < 0.01)。

2 脾重量测定及脾细胞中 TH/TS 比值测定 见表 1。模型组、给药组小鼠脾重量低于正常组(P < 0.01)。脾细胞中 TH 细胞的百分比,模型组、给药组均低于正常对照组(P < 0.01)。而给药组高于模型组(P < 0.01)。TS 细胞的百分比,模型组明显高于其他各组(P < 0.01)。TH/TS 比值,给药组低于正常组,高于模型组(P < 0.01)。

* 浙江省教委课题(No.96-14)

浙江中医学院附属医院(杭州 310009)