

# 苦参碱对乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌的化学预防作用

阮航, 赵玉洁, 吴丹红, 胡天惠<sup>A</sup>

(厦门大学医学院 抗癌研究中心 福建 厦门 361102)

**[摘要]** 目的 探讨苦参碱对乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌的化学预防作用。方法 选取雄性 Wistar 大鼠 100 只, 随机分成 4 组, 分别饮用不同的药物。其中阴性对照组(A 组) 25 只, 自由饮用纯净水; 胃癌模型组(B 组) 25 只, 予以乙基硝基亚硝基胍(ENNG) 1.5 mg/(只·d); 实验组(C 组) 胃癌模型大鼠 25 只, 予以注射用苦参碱 150 mg/(kg·d) 和乙基硝基亚硝基胍 1.5 mg/(只·d); 对照组(D 组) 阴性大鼠 25 只, 予注射用苦参碱 150 mg/(kg·d)。饲养 24 周后处死大鼠, 肉眼和显微镜下观察各组大鼠胃黏膜改变情况, 并检测胃组织增殖细胞核抗原(PCNA)、血清转化生长因子  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 和 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2) 水平。结果 B 组大鼠胃黏膜癌变率 64.00% (16/25) 明显高于 C 组胃黏膜癌变率 12.00% (3/25), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); C 组大鼠 PCNA、TGF- $\beta_1$  和 Bcl-2 水平明显低于 B 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 饲养 24 周后 B 组大鼠胃黏膜萎缩、异型增生等改变率明显高于 C 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 饲养 24 周后 A、D 2 组大鼠胃黏膜均未发生癌变, 胃黏膜萎缩、异型增生等改变无明显差异, 差异无统计学意义。结论 苦参碱能够通过降低 PCNA、TGF- $\beta_1$  和 Bcl-2 水平抑制 ENNG 诱导大鼠胃癌发生, 为苦参碱对人类胃癌潜在的化学预防作用提供了理论基础。

**[关键词]** 苦参碱; 乙基硝基亚硝基胍; 胃癌; 化学预防作用

**[中图分类号]** R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-1678(2014)07-0052-03

## Chemical preventive effect of matrine on ethyl nitrate nitroguanidine nitrate induced gastric cancer in rats

RUAN Hang, ZHAO Yu-jie, WU Dan-hong, HU Tian-hui<sup>A</sup>

(Cancer Research Center, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361102, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the chemical preventive effect of matrine on ethyl nitrate nitroguanidine nitrate induced gastric cancer in rats. **Methods** 100 male Wistar rats were selected and randomly divided into four groups, each had 25 rats, treated with different drugs respectively. Rats in the negative control group (group A) freely drunk water; each rat in gastric cancer model group (group B) drunk ethyl nitrate nitroguanidine nitrate (ENNG) 1.5 mg/d by themselves; gastric cancer model rats of experimental group (group C) drunk matrine 150 mg/(kg·d) ethyl nitrate nitroguanidine nitrate (ENNG) 150mg/(kg·d) by themselves; negative control group (group D) rats drunk matrine for injection 150 mg/(kg·d) by themselves. Rats were killed after 24 weeks, rats were observed on gastric mucosa change by naked eye and microscope, and detected proliferating cell nucleus antigen (PCNA) of stomach tissue, levels of serum transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2). **Results** Canceration rate [64.00% (16/25)] of the rat gastric mucosa in Group B was significantly higher than that in group C [12.00% (3/25)], and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ); PCNA, TGF- $\beta_1$  and the Bcl-2 level of rats in group C was lower than those in group B, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ); after raising 24 weeks, change rate of gastric mucosa atrophy and hyperplasia in group B were significantly higher than those of group C, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ); after raising 24 weeks, there was no cancerous changes on gastric mucosa in group A and D, and the change of gastric mucosa atrophy and hyperplasia had no obvious difference, there was no statistically significant difference. **Conclusion** Matrine could inhibit rat gastric cancer induced by ENNG by lowering PCNA, TGF- $\beta_1$  and the Bcl-2 levels, which provides evidence for the potential chemical preventive effect on human gastric cancer.

**[Keywords]** matrine; ethyl nitrate nitroguanidine nitrate; gastric cancer; chemical prevention effect

注射用苦参碱是从中药苦参中提取的纯中药药物, 苦参碱、

氧化苦参碱、异苦参碱、槐果碱、异槐果碱等多种生物碱为其主要成分<sup>[1]</sup>。苦参具有清热燥湿、杀虫、利尿等功效<sup>[2]</sup>。研究表明<sup>[3]</sup> 苦参碱不仅具有抗炎、调节免疫和抗病毒作用, 还具有抗纤维化和抗肿瘤的作用。近年来国内外研究发现<sup>[4-6]</sup> 苦参碱能够明显抑制人肝癌细胞、宫颈癌 Hela 细胞、白血病癌细胞以及视网膜母细胞瘤细胞株等机体癌细胞的生长; 能够诱导癌细胞凋

资助项目: 国家自然科学基金 (81172284), 厦门市重大科技项目 (3502Z20100006)

作者简介: 阮航, 女, 博士, 助理实验师, 研究方向: 肿瘤药理学, E-mail: yephang@126.com; 胡天惠, 男, 博士, 教授, 研究方向: 肿瘤分子生物学, 通信作者, E-mail: thu@xmu.edu.cn.

亡;降低癌细胞的侵袭和转移能力。苦参碱在抑制胃癌细胞方面的研究也较多,但缺乏对胃癌动物模型的化学预防作用的报道<sup>[7]</sup>。为了明确苦参碱对胃癌的化学预防作用,笔者做了有关研究。通过观察比较苦参碱对不同动物模型胃黏膜的影响,来探究苦参碱对乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌的化学预防作用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对乙基硝基亚硝基胍(N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine,1-Ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine,ENNG) 购于自瑞士 Fluka 公司;100 只 6 周龄雄性 Wistar 大鼠(合格证号 D20021024),平均体质量(153±14)g,购于中国科学院上海动物中心,置于标准条件实验室里[室温(24±2)℃;相对湿度(55±5)% ,每隔 12 h 进行一次亮/暗循环],定时定量用混合饲料喂养,本实验遵循《实验动物保护条例》,符合 3R 原则。

1.2 实验方法 60 只大鼠随机分成 4 组单笼喂养,正常饮食,分别饮用不同的药物。其中阴性对照组(A组)25 只,自由饮用纯净水;胃癌模型组(B组)25 只,予以乙基硝基亚硝基胍(ENNG)1.5 mg/(只·d);实验组(C组)胃癌模型大鼠 25 只,予以注射用苦参碱 150 mg/(kg·d)和乙基硝基亚硝基胍 1.5 mg/(只·d);对照组(D组)阴性大鼠 25 只,予以注射用苦参碱 150 mg/(kg·d),以上药物均由实验动物自行饮用。ENNG 储存液每周按照说明书配置 1 次,将配置好的储存液置于 4℃避光环境中保存。每 4 周称取每组大鼠体质量,记录体质量,并随着体质量改变变更药物剂量。

1.3 检测指标 饲养 24 周后,予以全身麻醉后,剖腹取出胃后处死大鼠,从胃大弯开始解剖胃,用肉眼观察标本大体变化,分组拍照并用 10% 甲醛固定,然后于病变明显处各取一小块组织(3 mm×8 mm),石蜡包埋,乙醇脱水后,于显微镜下进行组织病理观察。剩余胃组织储存于-80℃中,检测每毫升胃组织匀浆中 PCNA、TGF-β<sub>1</sub> 和 Bcl-2 蛋白水平,检测方法为 ELISA 试剂盒(武汉博士德生物试剂有限公司)和蛋白定量法,并且严格按照说明书操作。

1.4 统计学方法 采用统计学软件 SPSS17.0 进行统计学分析,正态计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用率表示,用  $\chi^2$  检验处理,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 饲养 24 周后 4 组大鼠胃黏膜改变比较 饲养 24 周后 B 组大鼠胃黏膜癌变率[64.00% (16/25)]明显高于 C 组胃黏膜癌变率[12.00% (3/25)],差异有统计学意义(P<0.05);B 组大鼠胃黏膜萎缩、异型增生等改变率明显高于 C 组,差异有统计学意义(P<0.05);A、D 2 组大鼠胃黏膜均未发生癌变,胃黏膜萎缩、异型增生等改变无明显差异,差异无统计学意义(见表 1、图 1)。

表 1 4 组大鼠胃黏膜改变比较情况[n(%) ]

Tab.1 Comparison of gastric mucosa changes in four groups[n(%) ]

Table with 6 columns: 组别, 例数, 炎症, 萎缩, 异型增生, 癌变. Rows A, B, C, D.

\* P<0.05,与 B 组比较,compared with B group

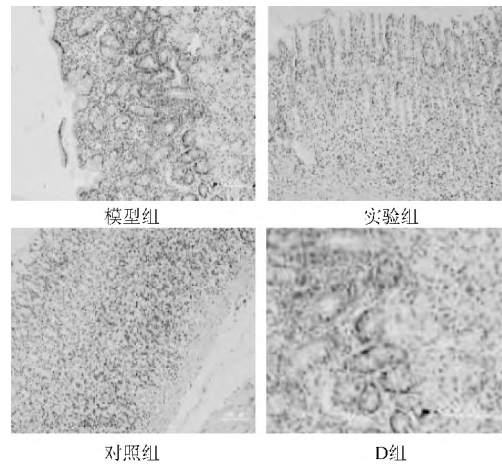


图 1 显微镜大鼠胃黏膜病理切片

Fig.1 Rat gastric mucosa pathological section

2.2 4 组大鼠胃组织 PCNA、TGF-β<sub>1</sub> 和 Bcl-2 水平比较 饲养 24 周后 C 组大鼠胃组织 PCNA、TGF-β<sub>1</sub> 和 Bcl-2 水平明显低于 B 组,差异有统计学意义(P<0.05),A、D 2 组大鼠胃组织 PCNA、TGF-β<sub>1</sub> 和 Bcl-2 水平无明显差异(见表 2)。

表 2 4 组大鼠胃组织 PCNA、TGF-β<sub>1</sub> 和 Bcl-2 水平比较情况(μg/mL)

Tab.2 Comparison of gastric tissue PCNA, TGF-β<sub>1</sub> and Bcl-2 levels(μg/mL)

Table with 5 columns: 组别, 例数, PCNA, TGF-β1, Bcl-2. Rows A, B, C, D.

\* P<0.05,与 B 组比较,compared with group B

3 讨论

胃癌(gastric carcinoma)是由于胃黏膜上皮细胞的增殖和凋亡之间失去动态平衡,癌基因被激活,抑癌基因被抑制,胃上皮细胞过度增殖,又不能启动凋亡信号,而逐渐发展为胃癌[8]。胃癌是消化道常见的恶性肿瘤之一,在我国各种恶性肿瘤中居首位[9]。好发于中老年男性,5 年生存率较低。本病早期临床表现不典型,无明显症状易被忽略,中晚期临床表现为胃脘部疼痛,食欲减退,消瘦乏力,贫血,恶心呕吐和排除黑便等[10]。本病大多与地域环境、生活饮食习惯、感染幽门螺杆菌、遗传以及既往有胃疾病病史等因素有关[11]。本病预后不良,患者生活质量较差,带来很大痛苦。随着医疗技术的发展,本病患者更加重视疾病防治及预后,现代医学多采取手术联合化疗等疗法。但是

手术和放化疗给患者带来严重的不良反应,使患者生活质量大幅度降低。因此要降低胃癌发病率,除了消除及避免接触致癌物质之外,还需要医疗界对胃癌高危人群或癌前病患者进行化学预防,在萌芽中杀死胃癌细胞。研究表明<sup>[12]</sup>,苦参碱能够抑制肝癌细胞、宫颈癌细胞、白血癌细胞等等癌细胞,并具有较好的化学性预防作用。

本实验结果显示,饲养 24 周后 A、D 2 组大鼠胃黏膜均未发生癌变,胃黏膜萎缩、异型增生等改变无明显差异,差异无统计学意义,说明注射用苦参碱对阴性大鼠胃黏膜无明显不良影响; B 组大鼠胃黏膜癌变率 64.00% 明显高于 C 组胃黏膜癌变率 12.00%, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明注射用苦参碱能够明显降低癌前病变大鼠的癌变率; C 组大鼠胃组织 PCNA、TGF- $\beta$ 1 和 Bcl-2 水平明显低于 B 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),证明苦参碱能够通过降低大鼠胃组织 PCNA、TGF- $\beta$ 1 和 Bcl-2 表达,促使癌细胞凋亡; B 组大鼠胃黏膜萎缩、异型增生等改变率明显高于 C 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),证明苦参碱能够阻断胃炎-肠化-非典型增生-癌变的演变过程<sup>[13]</sup>。研究表明苦参碱能够把癌细胞分裂阻滞在 G<sub>1</sub> 期,无法进入 DNA 合成,而抑制胃癌细胞的增殖<sup>[14]</sup>;能够降低 PCNA、TGF- $\beta$ 1 和 Bcl-2 表达而诱导胃癌细胞凋亡<sup>[15]</sup>;通过抑制胃癌血管内皮细胞的凋亡来阻止癌组织新生血管形成<sup>[16]</sup>;能够抑制胃癌细胞转移过程中必需酶的活性,来阻止胃癌细胞的侵袭和转移能力<sup>[17]</sup>,这也于本实验结果中得到论证。

综上所述,苦参碱具有明显降低胃癌模型大鼠的癌变率的能力,降低胃组织中 PCNA、TGF- $\beta$ 1 和 Bcl-2 表达促使胃癌细胞凋亡。虽然本次实验是研究动物模型,但是以单纯的中药提取物的抗肿瘤制剂对人类胃肠道的副作用较小,相对较安全,是未来人类抗胃癌和胃癌化学性预防的重要潜在性药物。☐

参考文献

[1] 刘益均,郑军,肖文波,等. 氧化苦参碱对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖及血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国癌症杂志, 2010(5): 22-26.  
 [2] 张中良. 观察苦参碱联合化疗治疗进展期胃癌的疗效[J]. 中国社

区医师 2014(12):86-87.  
 [3] 向发良. 苦参素对 L02、HepG2 细胞的增殖及对 HepG2 中 MicroRNA-122、MicroRNA-21 表达的影响[D]. 桂林医学院, 2013.  
 [4] 刘畅. 苦参碱及联合顺铂对宫颈癌 SiHa 细胞中 TSLC1 基因表达的影响[D]. 兰州大学, 2014.  
 [5] 胡衡芬. 氧化苦参碱对人胃癌 SGC-7901 细胞 HGC-1 表达的影响及调控机制研究[D]. 南华大学, 2012.  
 [6] 谢抄善. 苦参碱诱导的自噬在原发性肝癌中的作用[D]. 北京协和医学院, 2012.  
 [7] 张军强. 苦参碱诱导胃癌细胞自噬和凋亡的机制研究[D]. 兰州大学, 2013.  
 [8] 王俊霞,王超,吕品田. 氧化苦参碱通过 ERK 途径影响 SGC7901 胃癌细胞增殖的作用机制[J]. 河北医药, 2013(7):10-12.  
 [9] 董燕,李银霞,严祥. 苦参碱对慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜的保护作用[J]. 山东医药, 2013(12):28-30.  
 [10] 陈立波. 苦参碱对宫颈癌 Hela 细胞增殖、凋亡及 Survivin 基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 15(5):235-238.  
 [11] 许进秀,赵世叶,王爱蓉,等. 复方苦参注射液联合 FOLFOX 方案治疗晚期胃癌的临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2013(9): 1812-1815.  
 [12] 王雷,刘明. 苦参碱对大肠癌细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 表达的影响[J]. 中国肿瘤, 2012(7):237-240.  
 [13] 覃红斌,张洁,张京伟. 复方苦参注射液联合 FOLFOX4 化疗方案治疗晚期胃癌的作用[J]. 武汉大学学报(医学版), 2012(10): 215-218.  
 [14] 郭旭辉,张娜,李林森. 苦参碱对肿瘤细胞多药耐药性的逆转作用研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 10(2):2500-2501.  
 [15] 王俊霞,王超,吕品田. 苦参碱和氧化苦参碱对胃癌细胞株 SGC7901/VCR 耐药性的作用[J]. 河北医药, 2012, 23(05): 3537-3539.  
 [16] 刘粉霞,朱艳琴,徐玉芳. 氧化苦参碱抑制人胃癌裸鼠移植瘤生长的机制[J]. 中医学报, 2011(16):1031-1033.  
 [17] 刘粉霞,徐玉芳,孙宁. 氧化苦参碱诱导人胃癌细胞凋亡的实验研究[J]. 中国医药导报, 2011, 31(6):27-28, 32.

(编校:吴茜,秦晓英)

(上接第 51 页)

[10] Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(26):9861-9866.  
 [11] Oliveira AA, Nogueira CRA, et al. Evaluation of levetiracetam effects on pilocarpine-induced seizures: Cholinergic muscarinic system involvement [J]. Neuroscience letters, 2005, 05(48):184-188.  
 [12] Klitgaard H, Matagne A, Grimee R, et al. Electrophysiological, neurochemical and regional effects of levetiracetam in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy [J]. Seizure, 2003, 12(2):92-100.  
 [13] Maike G, Claudia B. Effects of the novel antiepileptic drug levetiracetam on spontaneous recurrent seizures in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy [J]. Epilepsia, 2002, 43(4):

350-357.  
 [14] Liu CP, Tsai WJ, Lin YL, et al. The extracts from Nelumbo nucifera suppress cell cycle progression, cyto-kine genes expression, and cell proliferation in human peripheral blood mononuclear cells [J]. Life Sci. 2004, 75(6):699-716.  
 [15] Luo X, Chen B, Liu J, et al. Simultaneous analysis of N-nornuciferine, O-nornuciferine, nuciferine, and roemerine in leaves of Nelumbo nucifera Gaertn by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2005, 538(5):129-133.

(编校:谭玲)