

·论著·

鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞影响的实验研究

中南大学湘雅医院普外科(长沙 410008) 曾庆华 汤恢煥 李宜雄

目的:探讨鸦胆子油乳剂对大肠癌的抑制作用。**方法:**将不同浓度的鸦胆子油乳剂和5-氟脲嘧啶(5-Fu),丝裂霉素(MMC),长春新碱(VCR)加入体外培养的大肠癌细胞中,观察对大肠癌细胞的抑制作用。**结果:**鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞有明显的抑制作用,并且与药物浓度及作用时间呈正相依赖关系。鸦胆子油乳剂与5-Fu相比无显著性差异,但与MMC,VCR相比有显著性差异。**结论:**鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞有明显的抑制作用,为临床应用提供了实验依据。

关键词 鸦胆子油乳剂 大肠癌 实验研究

分类号 R735.3⁺4

EXPERIMENTAL STUDY TO THE EFFECTS OF BRUCEA JAVANICA EMULSION ON LARGE INTESTINE CANCER CELLS

Zeng Qinghua, Tang Huihuan, Li Yixiong.

Department of General Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008

[Abstract] Objective: To study the inhibition of Brucea Javanica Emulsion (BJG) to large intestine cancer cells. **Methods:** Adding the Brucea Javanica Emulsion, 5-Fu, MMC, VCR with different concentration to large intestine cancer cells in vitro, and observe their inhibition to large intestine cancer cells. **Results:** Brucea Javanica Emulsion has obvious inhibition to large intestine cancer cells with positive correlation to concentration and effective time. There was no significant difference between Brucea Javanica Emulsion and 5-Fu. Meanwhile, there was significant difference between Brucea Javanica Emulsion and MMC and VCR. **Conclusions:** The Brucea Javanica Emulsion can obviously inhibit large intestine cancer cells, which provides evidence to clinical application.

Key words: Brucea Javanica Emulsion; Large Intestine Cancer Cells; Experimental Study

鸦胆子是苦科植物 Brucea Javanica(L) Merr 的成熟果实,有毒,其毒性主要存在于水溶性苦味质部分,而其油脂部分无毒。最初在19世纪用于治疗阿米巴痢疾,近几十年来陆续报道使用鸦胆子油乳剂治疗肺癌、膀胱癌、前列腺癌、食道癌及胃癌^[1~4]。本研究观察了鸦胆子油乳剂对体外培养的大肠癌细胞的抑制作用,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂

鸦胆子油静脉乳剂(沈阳药科大学制药厂),5-氟脲嘧啶(5-Fu,上海旭东海普药业有限公司),丝裂霉素(MMC,日本协和发酵工业株式会社),长春新碱(VCR,中国民生药厂)。MTT(美国 Sigma 公司),小牛血清(杭州四季青生物材料研究所),RPMI-1640 培养基(美国 GIBCO 公司)。

1.2 培养与检测方法

大肠癌细胞取自本院手术标本,共71例,包括印戒细胞癌9例,高分化腺癌12例,高中分化腺癌16例,中分化腺癌11例,中低分化腺癌15例,低分化腺癌8例,标本于无菌条件下快速送实验室,用D-Hanks液反复冲洗3次,RPMI-1640培养液(内含青、链霉素各200u/ml)适量浸泡10min,剪除脂肪、纤维及坏死组织,选取标本边缘生长好,无坏死的癌组织小块,再次用D-Hanks液清洗,剪碎至约1mm×1mm×1mm大小;对于纤维结缔组织较多、质硬的肿瘤加入适量胶原酶消化,37℃1h,并不断摇动。对于肿瘤组织质地柔软、含纤维结缔组织较少的标本则无需用胶原酶消化。然后用吸管反复吹吸,吸取细胞悬液过滤,离心洗涤;100目及200目不锈钢筛将标本研磨过滤,不断加RPMI-1640冲洗,收集滤液离心(1000转/min)10min,再洗2次,使癌细胞纯度>90%;并用台盼蓝染色法检测细胞活性。加入培养液制成细胞浓度为10⁵个/ml的细

胞悬液。将细胞悬液接种于 96 孔板中,细胞贴壁后分为对照组和实验组,对照组加入等量培养液,实验组加入不同浓度的鸦胆子油乳剂和化疗药物。每组设 3~4 孔,37℃ CO₂, 孵育培养 24h 和 72h。每组孵育结束前 4h,加入 MTT,继续培养 4h,去上清液,然后加入 DMSO,振荡 10min,用酶标仪检测 OD 值(波长 = 570nm)。

细胞抑制率(%) = (1 - 实验组 OD 值/对照组 OD 值) × 100%

1.3 统计学处理

采用方差分析。

2 结果

鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞有明显的抑制作用,并且与药物浓度及作用时间呈正相依赖关系。见表 1。

表 1 鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞抑制率的影响 (μg/ml)

不同浓度	例数	不同作用时间(抑制率%)	
		24h	72h
125	71	21.28	32.41 ¹⁾
250	71	36.25 ²⁾	48.79 ¹⁾²⁾
500	71	49.12 ³⁾	67.81 ¹⁾³⁾
1000	71	61.82 ⁴⁾	82.366 ¹⁾⁴⁾¹⁾⁴⁾

注:1)72h 组与 24h 组比较 $P < 0.05$

2)250μg/ml 组与 125μg/ml 组比较 $P < 0.05$

3)500μg/ml 组与 250μg/ml 组比较 $P < 0.05$

4)1000μg/ml 组与 500μg/ml 组比较 $P < 0.05$

在临床上常用浓度下,鸦胆子油乳剂与 5-Fu 相比无显著性差异,但与 MMC, VCR 相比有显著性差异。见表 2。

表 2 鸦胆子油与其他抗癌药物的比较

组别	例数	不同作用时间(抑制率%)	
		24h	72h
鸦胆子油乳剂	71	61.82	82.36 ¹⁾
5-Fu	71	65.73 ²⁾	86.276 ¹⁾²⁾
MMC	71	48.93 ³⁾	68.51 ¹⁾³⁾
VCR	71	42.15 ⁴⁾	59.286 ¹⁾⁴⁾

注:1)72h 组与 24h 组比较 $P < 0.05$

2)鸦胆子油乳剂组与 5-Fu 组比较 $P > 0.05$

3)鸦胆子油乳剂组与 MMC 组比较 $P < 0.05$

4)鸦胆子油乳剂组与 VCR 组比较 $P < 0.05$

3 讨论

鸦胆子油的抗癌活性成分主要是油酸,对油酸³H 标记物的药物代谢动力学试验证明其分布具有脏器的指向性,在脾、肾、大脑、肠、胃及淋巴组织

内浓度较高,并可迅速透过血脑屏障进入脑内及肿瘤组织^[5]。鸦胆子油乳剂与癌细胞具有较强的亲和力,其抗癌作用是通过抑制癌细胞内 DNA 合成而实现的^[6]。鸦胆子油乳剂对小白鼠艾氏腹水癌、腹水型肝癌均有明显的抗癌作用^[7]。刘悦等报道鸦胆子油对人膀胱癌细胞和小鼠膀胱癌细胞的影响,结果发现鸦胆子油乳剂对人膀胱癌及小鼠膀胱癌细胞皆有明显的抑制作用^[2]。在胃肠道原发和转移性肿瘤的临床治疗中,鸦胆子油乳剂也显示出较好的疗效,其治疗晚期胃肠癌有效率为 42.8%^[8]。本研究显示,鸦胆子油乳剂对大肠癌细胞也表现出明显的抑制作用,并且与药物浓度及作用时间呈正相依赖关系。鸦胆子油乳剂与 5-Fu 相比无显著性差异,但与 MMC, VCR 相比有显著性差异。5-Fu 对骨髓和神经系统均有较大的毒副作用,鸦胆子油乳剂具有抗癌作用,却能升高白细胞,提高机体免疫力,且无明显副作用。如在临床化疗中联合应用,可减少常规化疗药物的毒副作用而无化疗常见的副作用^[9]。目前临床所用的抗癌药物都有一定的抑制肿瘤的作用,但由于毒副作用特别是降低白细胞而限制了其长期使用。抗癌中药鸦胆子油乳剂用于治疗大肠癌具有有效的前景。

参 考 文 献

- 1 孙波,吴云林,王升年,等. 鸦胆子油乳抗人胃腺癌增殖作用的初步研究. 上海医学, 2001; 24(8): 481~483
- 2 刘悦,王禾,符庆吉,等. 鸦胆子油乳对膀胱癌影响的实验研究. 中华泌尿外科杂志, 2001; 26(6): 336~338
- 3 姚崇舜,张汝华,伊克敏. 鸦胆子油的提取与静脉乳的制备. 中草药, 1980; 11: 202
- 4 苏守元. 10% O/W 型鸦胆子油静脉乳剂在临床应用中的若干问题. 癌症, 1985; 4: 253
- 5 苏兴仁. 鸦胆子油抗肿瘤的研究 - 鸦胆子油有效成分 - 油酸的³H 标记物的药物代谢动力学. 中草药, 1981; 12(4): 21~24
- 6 李民,刘海,丛义滋,等. 鸦胆子油乳剂对艾氏腹水癌细胞杀伤动力学研究. 肿瘤, 1984; 4: 241
- 7 苏兴仁,程秀娟,商晓华,等. 鸦胆子油静脉乳抗癌作用的实验研究. 沈阳药学院学报, 1979; 11: 15~22
- 8 程剑华,龙浩,王晓,等. 鸦胆子油乳治疗 35 例复发并转移胃结肠癌. 江西医药, 1991; 26: 147~148
- 9 Lee YS, Povlsen CO, Rygaard J, et al. Therapeutic efficacy of anti-glioma enchyamalextracellular matrix ¹³¹I - radiolabelled murine McAb in a human glioma xenograft model. Cancer Res, 1988; 48: 559

(2003-05-26 收稿 黄建华审稿 余宜芳编辑)