

医药卫生

红景天苷对荷瘤小鼠抗肿瘤活性和免疫功能的研究

覃 华 杜小燕 韩 燕 王 茹

(第四军医大学唐都医院药剂科, 西安 710038)

摘 要 研究红景天苷抗肿瘤活性及其提高免疫功能的机制。用胃腺癌 BGC-823 在 BALB/c 小鼠建立皮下肿瘤模型。分别用大、中、小剂量红景天苷灌胃,以环磷酰胺(CTX)为阳性对照组,连续给药 12 d 后处死小鼠,称小鼠体质量、瘤重,计算脾脏系数,同时测定脾淋巴细胞转化率和 IL-2 活性。各剂量红景天苷给药组均能显著提高小鼠的体质量,且能明显抑制荷瘤小鼠肿瘤生长,以大、中剂量组比较明显,而环磷酰胺组体质量明显下降($P < 0.05$)。各红景天苷给药组均能提高脾脏系数和脾脏细胞功能,增加脾淋巴细胞转化率和 IL-2 活性,以大剂量给药组作用最明显,而环磷酰胺阳性对照组的体液免疫功能则显著下降。红景天苷能明显抑制 BGC-823 肿瘤的生长,同时能增加小鼠体质量,提高治疗肿瘤的药物耐受性,改善体液免疫功能而发挥抗癌作用,高效低毒,可与化疗药物合用提高其疗效。

关键词 红景天苷 肿瘤 免疫 脾脏系数 淋巴细胞

中图法分类号 R282.71; **文献标志码** B

红景天为景天科景天属(*Rhodiola* L)多年生草本或亚灌木植物,主要分布在北半球的喜马拉雅山区、亚洲西北部和北美洲,能在恶劣而多变的自然环境中生长,具有极强的环境适应能力和生命力。我国应用红景天很早,在藏医《四部医典》和《本草纲目》均有记载。目前从红景天植物中先后分离出 40 多种化学物质,其主要化学成分为红景天苷(salidroside)、苷元酪醇(tyrosol)及超氧化物歧化酶(SOD)等生物活性物质,此外还含有甾醇、酚性化合物、黄酮、水溶性挥发油等^[1,2]。药用植物红景天苷具有抗缺氧、抗自由基、调节神经内分泌免疫网络的作用^[3-6],临床运用已取得满意效果。但对其通过提高免疫功能及抗肿瘤活性的研究尚待研究。本实验通过荷瘤小鼠模型观察红景天苷的抗肿瘤活性,探讨其提高免疫功能的作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级 BALB/c 小鼠由第四军医大学实验动物中心提供,人胃腺癌 BGC-823 细胞(美国 ATCC); RPMI-1640 培养液(美国 Gibco 公司);胰蛋白酶、青链霉素、HEPES(上海生工生物公司);胎牛血清(杭州四季青公司);红景天苷(中国药品生物制品检定所);环磷酰胺(江苏恒瑞制药公司);刀豆素 A(美国 Sigma 公司);CO₂ 恒温培养箱(日本 Yamato 公司);超净工作台(苏州净化有限公司)。

1.2 人胃腺癌 BGC-823 荷瘤小鼠模型建立

细胞株 BGC-823,培养于 RPMI640 培养液中,于 37℃ 5% CO₂ 饱和湿度培养箱内培养,细胞处于对数生长期时,用 0.25% 的胰蛋白酶 + 0.02% 的 EDTA 消化传代,每 34 d 传代 1 次。小鼠适应环境 5 d,将对数生长期的 BGC-823 细胞消化后制成 2.5×10^6 /mL 细胞悬液,在 BALB/c 小鼠背部皮下各注射 0.2 mL。瘤块长到直径长为(3-6) mm 时

2011 年 6 月 28 日收到

第一作者简介:覃 华(1975—),女,汉族,主管药师,研究方向:天然药物的药效学。E-mail:qinhua5-22@163.com。

将小鼠随机分为 5 组,每组 12 只。红景天苷高、中、低剂量组,给药剂量分别为 0.96,0.48,0.24 g · kg;阳性对照组,给药剂量为 0.052 g · kg,均按 20 mL · g 体重 ig 给药,每天 1 次,连续 12 d,每周监测瘤体积,停药次日,剥取皮下实体瘤瘤块,分别称重,计算出瘤重及抑瘤率。

1.3 脾脏系数和淋巴细胞转化率测定

在无菌条件下取出脾脏,称重,脾脏系数 = 脾脏重量(mg)/小鼠体质量(g)。将脾脏研成细胞悬液,过 200 目不锈钢筛,计细胞数,调整细胞浓度为 1 × 10⁷/mL 的脾细胞悬液。取脾细胞悬液 50 μL (5 × 10⁵ 个细胞)加入 96 孔平板中,加刀豆素 A (Conconvalina, ConA)2 μg/孔,平行样 3 份培养 72 h。用 MTT 法测定小鼠脾淋巴细胞转化实验,即用加 ConA 孔的光密度值减去不加 ConA 的光密度值代表淋巴细胞的增殖能力。

1.4 IL—2 活性测定

制备各组小鼠脾细胞悬液 5 × 10⁹/L,加到 24 孔板中,再加 ConA (终浓度为 5 mg/L),培养 48 h 后,离心后吸取上清,即获得 IL—2 粗制剂, -20 ℃ 冻存。测定时无菌摘取小鼠胸腺,制备 5 × 10⁹/L 的细胞悬液,加到 96 孔板中,使 ConA 终浓度为 3 mg/L,然后加入 IL—2 上清,培养 72 h,结束前 6 h 加入 1.85 × 10⁴ Bq/孔³H-TdR。收集细胞,液闪仪计数每分钟脉冲数。

1.5 统计学方法

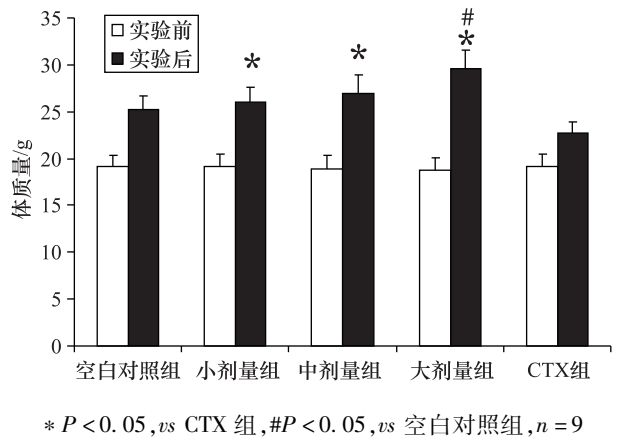
计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS10.0 统计分析软件,多组间比较统计方法采用方差分析 (ANOVA) 和 *t* 检验, *P* ≤ 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 红景天苷对荷瘤小鼠质量的影响

由图 1 可知,实验前各组小鼠体质量的差异无统计学意义 (*P* > 0.05);与无菌生理盐水阴性空白对照组比较,红景天苷用药组实验后小鼠体质量显著增加,而 CTX 阳性组实验后小鼠体质量显著减少 (*P* < 0.05);与 CTX 阳性组比较,红景天苷用药组

实验后小鼠体质量显著增加 (*P* < 0.05)。表明红景天苷能提高小鼠的体质量,不同剂量用药组亦有差异,以大剂量组效果最为明显。



* *P* < 0.05, vs CTX 组, #*P* < 0.05, vs 空白对照组, *n* = 9
图 1 红景天苷对荷瘤小鼠质量的影响

2.2 红景天苷对肿瘤生长的抑制作用和脾脏系数的影响

红景天苷各剂量组和 CTX 阳性组肿瘤重量均低于阴性组,其中 CTX 阳性组瘤重最低 (*P* < 0.01),而红景天苷大、中剂量组之间差异无统计学意义 (*P* > 0.05),表明各浓度红景天苷对小鼠肿瘤细胞具有明显抑制作用 (*P* < 0.05),其抑瘤作用与红景天苷浓度成正相关 (*P* < 0.05)。与空白对照组和 CTX 阳性组比较,红景天苷大、中剂量组脾系数明显升高;与红景天苷大剂量组比较,小剂量用药组脾系数较低 (表 1)。

表 1 红景天苷抑瘤率和脾脏系数($\bar{x} \pm s$)			
组 别	瘤重/g	抑瘤率/%	脾脏系数/(mg · g ⁻¹)
空白对照组	0.945 ± 0.263	0	5.613 ± 0.83
小剂量组	0.614 ± 0.154 *	35.02	5.932 ± 0.92 Δ
中剂量组	0.497 ± 0.102 *	47.41	7.448 ± 1.25#
大剂量组	0.379 ± 0.193 *	59.89	8.765 ± 1.09#
CTX 组	0.155 ± 0.058 * *	83.60	5.119 ± 0.86

* *P* < 0.05, * * *P* < 0.01 vs 空白对照组; #*P* < 0.05 vs 空白对照组和 CTX 组; Δ*P* < 0.05 vs 大剂量组, *n* = 9。

2.3 体液免疫功能实验

与空白对照组和 CTX 组比较,红景天苷各剂量给药组的脾系数均显著升高 (*P* < 0.05),各剂量给

药组的脾淋巴细胞转化率和脾细胞 IL—2 分泌均显著提高($P < 0.05$),其中以大剂量红景天苷给药组对脾细胞 IL—2 分泌作用最为明显($P < 0.01$)。表明各剂量组能从提高胸腺系数,增加脾淋巴细胞转化率,加大 IL—2 活性等方面提高体液免疫功能,而环磷酰胺阳性对照组的体液免疫功能则显著下降(表 2)。

表 2 红景天苷对体液免疫的影响($\bar{x} \pm s$)			
组 别	脾脏系数 /($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	脾淋巴细 胞转化率/%	IL—2/($\text{u} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白对照组	8.13 ± 0.36	0.048 ± 0.0021	43.53 ± 2.43
小剂量组	$10.61 \pm 1.14 *$	$0.061 \pm 0.0019 \#$	$59.38 \pm 2.95 \Delta$
中剂量组	$11.46 \pm 1.59 *$	$0.065 \pm 0.0024 \#$	$58.48 \pm 2.28 \Delta$
大剂量组	$10.89 \pm 1.17 *$	$0.068 \pm 0.0031 \#$	$76.75 \pm 3.09 \Delta \Delta$
CTX 组	8.04 ± 0.51	0.041 ± 0.0025	41.07 ± 2.98

* $P < 0.05$, # $P < 0.05$, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$ vs 空白对照组和 CTX 组, $n = 9$

3 讨论

恶性肿瘤是一种严重威胁人类生命和健康的常见病、多发病。目前,肿瘤的治疗取得了较大进展,外科手术、放射治疗,特别是化疗药物使肿瘤的治愈率有所提高。但是,化疗药物严重的毒副作用大大限制了它的广泛应用和疗效的发挥。生物反应调节剂等药物的研究与开发正在成为目前有前景的新领域,它可单独或与化疗药物同时应用,可提高化疗药物的疗效,降低化药的不良反应,可使肿瘤患者的治疗水平提高,有助于病人生存质量的改善^[7,8]。筛选新的抗癌天然药物,首先要经过移植瘤的验证。移植瘤最大的优点是接种成活率高,生长速率比较一致,对宿主生存时间、机体反应等的影响也类似,根据对瘤体的监测易于客观评价效果。人癌细胞株小鼠移植是目前抗肿瘤实验应用较广的肿瘤模型,该模型技术成熟,较好地反映药物对肿瘤的抑制能力,同时也可以使实验结果与其他同类实验结果相比更具有可比性^[9,10]。

本研究人胃腺癌细胞移植小鼠模型显示,红景

天苷和传统化疗药物 CTX 均能减轻肿瘤重量。不同浓度的红景天苷对肿瘤的抑制作用,以大、中剂量组抑癌作用较好,在不同程度上抑制肿瘤的形成、发生和发展,达到控制和治疗肿瘤的目的。本研究结果显示,红景天苷能提高小鼠的体质量,不同浓度红景天苷给药组提高体质量作用亦有差异,以大剂量组效果最佳。但 CTX 阳性组小鼠体质量下降明显,其毒性随抑癌效果增大而相应增加,使整体生理机能降低。本研究结果表明,红景天苷灌胃小鼠后能明显促进 ConA 对小鼠脾细胞的增殖反应,增强脾细胞对 IL—2 的反应性,增加小鼠脾细胞对 T 细胞分泌的淋巴因子 IL—2 的分泌,从而表现出红景天苷具有明显调解和增强机体免疫力的功能。脾脏系数、脾淋巴细胞转化率、IL—2 为一个整体,由脏器到细胞,最后到分子水平 IL—2,提示红景天苷通过提高体液免疫功能而发挥抑瘤作用。红景天苷增加小鼠体质量,减少肿瘤重量,和提高体液免疫功能的结果一致显示,红景天苷较传统化疗药物 CTX 能更好地改善整体机能状态。有关临床研究数据表明,口服红景天对鼻咽癌同步放化疗期内生存质量能明显有效提高^[11]。

癌症是一类细胞周期性疾病,其发生和发展与细胞周期正负调控因子失衡所致的细胞周期运转速率加快和凋亡减少密切相关^[12]。抗癌药物抑制肿瘤的生长是非常复杂和精细的过程。本研究为红景天苷在抗肿瘤活性方面的研究和新药开发方面提供依据,但关于红景天苷的抑瘤机制还有待进一步的深入研究。红景天应用范围广泛,疗效显著,不良反应少,价格便宜,需求量大。随着研究的不断深入,红景天的应用对医药学将有潜在的重大意义。

参 考 文 献

1 宋月英,马玉珍,韩慧文,等. 红景天属植物化学成分及药理作用的研究进展. 中草药, 2004;35(2):235—237

2 季宇彬,耿 欣,汲晨锋. 红景天研究进展. 天津中医药,2007;24(1):81—85

3 宋月英,齐 刚,李亚萍,等. 红景天苷对全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织肿瘤坏死因子- α 表达的影响. 中草药,2006;6(37):

907—908

4

Lishmanov IUB,Naumova A V,Afanas'ev S A,*et al.* Contribution of the opioid system to realization of inotropic effects of Rhodiola rosea and extracts in ischemic and reperfusion heart damage in vitro. *Eksp Klin Farmakol*,1997;60(3):34—36

5

Pae H O,Seo W G,Oh G S,*et al.* *Rhodiola sachalinensis* induces the expression of inducible nitric oxide synthase gene by murine fetal hepatocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol*,2001;23(1):25—33

6

Darbinyan V,Kteyan A,Panossian A,*et al.* *Rhodiola rosea* in stress induced fatigue—a double blind CROSS—over study of a standardized extract SHR 5 with a repeated low dose regimen on the mental performance of healthy physicians during night duty. *Phytomedicine*,2000;7(5):365—371

7

张靖,杨柳,高文远. 天然抗肿瘤药物研究进展. *中草药*,2010;41(6):1014—1020

8

Chen J H,Wang S B,Chen D Y,*et al.* The inhibitory effect of oridonin on the growth of fifteen human cancer cell lines. *Clinic Oncol*,2007;4(1):69—74

9

石磊,陈平,赵伟,等. 豆蔻提取物对人胃癌裸鼠移植瘤生长及血管生成的影响. *肿瘤学杂志*,2010;16(10):776—778

10

沈国栋,赵婷,张安莉,等. ErbB2 高表达的人乳腺癌原位移植瘤裸鼠模型的建立. *中国药理学通报*,2010;26(10):1391—1394

11

郑荣辉,李健,黄赖机,等. 红景天对鼻咽癌同步放化疗期内患者生存质量的影响. *现代医院*,2010;10(10):26—28

12

詹杉杉,袁伟,蔡敬怡. 细胞周期蛋白依赖性激酶活化激酶与肿瘤. *中国实用医药*,2010;22:243—244

Study of the Antitumor Activity and Immunity Enhancement of Salidroside in Vivo

QIN Hua, DU Xiao-yan, HAN Yan, WANG Ru

(Department of Pharmacy, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, P. R. China)

[Abstract] To investigate the antitumor activity and immunity enhancement of salidroside, the tumor model was established using subcutaneous BGC—823 cell injection in BALB/c mice, and the animals were divided into the salidroside treatment groups (high, middle and low concentration), and cyclophosphamide (CTX) treatment group was positive control as while saline treatment group was negative control. The mice bodies and tumors were weighed and the spleen coefficient was measured. Spleen lymphocyte conversion ratio and IL—2 activity were also measured. Comparing to negative control group, the mice body weight were significantly higher and the tumor weight were significantly lower in salidroside treatment groups, but the body weight markedly decreased in the group treated with CTX ($P < 0.05$). And their thymus and spleen coefficient were higher than negative control groups. Salidroside increased spleen lymphocyte conversion ratio and IL—2 value, but all the above value were significantly decreased in CTX treatment group. Salidroside can obviously inhibit BGC—823 tumor growth by increasing the body weight of mice, enhancing the immunity, which can improve the drug tolerance of patients.

[Key words] salidroside tumore immunity spleen coefficient lymphocyte