

- [4] Huff JC, Bean B, Balfour HH et al. Therapy of herpes zoster with oral acyclovir. *Am J. Med.* 1988, 85 (suppl 2A): 84~9
- [5] Bernstein JE, Korman NJ, Bickers DR, et al. Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia. *J Am Acad Dermatol.* 1989, 21(2): 265~70
- [6] Morton P, Toomson AN. Oral acyclovir in the treatment of herpes zoster in general practice. *New Zeal Med J.* 1989, 102(863): 93~7
- [7] Nikkels AE, Pierard GE. Recognition and treatment of shingles. *Drugs.* 1994, 48(4): 528~48
- [8] Dabry GAA History of antiherpes reserch. *Antivir Chem Chemother.* 1994, 5(Suppl 1): 3~9
- [9] Degreef H, Andrejevic L, Aoki F, et al. Famciclovir, a new oral antiherpes drug ; Results of the first controlled clinical study demonstrating its efficacy and safety in the treatment uncomplicated herpes zoster in immunocompetent patients. *Int J Antimicrob Agents.* 1994(4): 241~6

瑞香狼毒抗肿瘤作用

樊俊杰 贾正平 谢景文

(兰州军区总医院 兰州 730050)

摘要 瑞香狼毒水提物(ScL)抑制小鼠移植肿瘤 S-180 生长, 5—20g/kg(相当生药)ip10d, 抑制率为 16.2—47.8%。ScL 对体外培养的 S-180 细胞生长、集落形成和 MTT 甲臜化合物生成有显著抑制作用, 并和剂量呈正相关。表明 ScL 的抗肿瘤作用是其直接作用于肿瘤细胞所产生。

关键词 瑞香狼毒; 抗肿瘤作用; S-180

Antitumor activity of Chinese *Stellera* (*Stellera chamaejasme* L.)

Fan Junjie, Jia Zhengping, Xie Jinwen

(Lanzhou Military General Hospital, PLA, Lanzhou 730050)

ABSTRACT Effects of Chinese *Stellera* (*Stellera chamaejasme* L. ScL) on the growth of mouse tumor S180 in vivo and in vitro were studied. It was found that ScL inhibited the growth of transplanted mouse tumor S180, 5—20g/kg (equivalent crude drug) ip for 10d, the inhibition rates of it against S180 were 16.2—47.8%. ScL inhibited the proliferation, MTT formazan formation and clonal formation of S-180 cells. The inhibition rate had a positive interrelationship with the concentration and exposure time. These results showed that ScL had an effective antitumor activity in vitro and in vivo.

KEY WORDS Chinese *Stellera* (*Stellera chamaejasme* L.), antitumor activity, S-180

我国民间用狼毒治疗肿瘤已有较久历史^[1]。有关狼毒大戟提取物抑制小鼠移植性肿瘤已有文献报道^[2], 临床用于治疗实体瘤也取得了较好疗效^[3]。不同品种的狼毒产地有异, 所含化学成份也有较大差别^[1]。但关于瑞香狼毒的抗肿瘤研究未见文献报道。本文

以小鼠肉瘤 S-180 为靶细胞, 研究了瑞香狼毒水提物的体内外抗肿瘤作用。

一、材料

1. 动物 昆明种小鼠, 18—22g, 雄雌兼用, 购自甘肃省肿瘤研究所实验动物室。
2. 瘤株 小鼠移植肿瘤 S-180 从甘肃

省肿瘤研究所引进,用昆明种小鼠接种传代。

3. 细胞系 小鼠白血病 P388 细胞系从中国医学科学院药物研究所引进,用含 20% 小牛血清(杭州四季青生物工程材料研究所产品)的 RPMI-1640 培养基(Sigma 公司产品)常规培养。四甲基偶氮唑盐(MTT)为 Sigma 公司产品。

4. 瑞香狼毒水溶性浸出物的制备 将瑞香狼毒(兰州市药材站提供,经鉴定为瑞香科植物瑞香狼毒 *Stellerachamaejasme* L., ScL)生药 200g 碾碎后加入 400ml 去离子水,在 60℃ 条件下周期震荡 2h。然后用尼龙网过滤,滤过液在室温下 4000r/min 离心 1h,其上清液用 0.22μm 的微孔滤膜除菌后

供小鼠腹腔注射用。体外实验用含 20% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液制成 0.25、1、2、4、16g/L 的浓度直接使用。

二、方法与结果

1. ScL 对小鼠移植肿瘤 S-180 生长的影响

参照文献^[4]。取小鼠 50 只,左侧腋窝皮下接种 1×10^6 肿瘤细胞后,随机分成 5 组,分别 ip ScL 0、5、10、20g/kg 和 CTX 20mg/kg,每天 1 次,连续 10d;停药第 2 天处死小鼠,解剖瘤块称重,计算肿瘤抑制百分率。结果 ScL 抑制小鼠移植肿瘤 S-180 生长(表 1),并和剂量正相关;5-20g/kg, ip, 10d,抑制百分率分别为 16.2—47.8%。

表 1 瑞香狼毒水提物 ip 对小鼠移植肿瘤 S-180 生长的影响

剂量 (g/kg/d)	小鼠数 (只)	体重改变 (g)	瘤重(g) ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 %
0	10	+5.6	1.36±0.47	
5	11	+4.9	1.14±0.51	16.2
10	10	+3.1	0.86±0.38 *	36.8
20	9	+1.1	0.71±0.26 *	47.8
CTX 20mg/kg	8	-0.8	0.59±0.30 *	56.5
0	11	+5.1	1.52±0.63	
5	10	+4.8	1.42±0.50	9.1
10	10	+3.3	1.00±0.43 *	34.2
20	10	+1.9	0.91±0.32 *	40.1
CTX 20mg/kg	7	-1.1	0.72±0.21 *	52.6

* $P < 0.05$ 与对照组比较

2. ScL 对 S-180 细胞生长的影响

将 S-180 细胞用 RPMI-1640 培养液配成 6×10^4 /ml 的细胞悬液,每孔 1ml 分装到 24 孔培养板(Sigma 公司产品)中,同时加入 ScL 达设计的终浓度,置 CO₂ 培养箱 37℃、饱和湿度培养 6、12、24、48h,每剂量组各取出 6 孔细胞,台盼蓝染色,显微镜下记录拒染活细胞数,取均值计算抑制百分率。结果 ScL 显著抑制 S-180 细胞生长,抑制率与浓度及处理时间正相关,0.25—16g/L(相当生药)处理细胞 24h,细胞生长抑制率为 5.1—89.4%(表 2),2g/L 处理细胞 6、12、24、48h,

细胞

表 2 ScL 对小鼠白血病 S-180 细胞生长的影响

剂量(g/L)	细胞数(10^4 /ml)	抑制率(%)
0	12.84±2.05	
0.25	12.18±1.89	5.1
1.00	10.82±1.41	15.7
2.00	8.01±1.52 *	37.6
4.00	5.15±0.86 *	59.9
16.00	1.36±0.31 *	89.4

n=6, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$ 与对照组比较

生长抑制率分别为 7.4、19.9、38.9、59.1%。

3. ScL 对 S-180 细胞集落形成的影响

方法参照文献^[5]。取不同浓度 ScL 处理 12h 的 S-180 细胞,经 hanks 液洗涤 2 次后,用含 25% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基制成每毫升含 1200 个细胞的悬液,取 8ml 置入试管,加入 56℃ 融化状态的 2% 琼脂 1ml,迅速混匀,按每皿 1ml 分装到直径 35mm 玻璃培养皿中,置 CO₂ 培养箱培养 10d 后取出,倒置显微镜下计集落数(>50 个细胞的细胞团为 1 集落),每组 6 皿,取均值计算集落形成抑制百分率。结果 ScL 显著抑制 S-180 细胞软琼脂集落形成,抑制作用随浓度增大而增强(表 3)。

4. ScL 对 S-180 细胞 MTT 甲臆化合物产生的影响

将 S-180 细胞在不同浓度 ScL 的 RPMI-1640 培养液中培养 20h 取出,每孔加入 5g/LMTT30ml,继续置 CO₂ 培养箱培养 4h。将培养液及细胞残渣全部吸入离心管,2000r/min 离心 10min,去除上清液,残渣用 1.5mlDMSO 溶解其中 MTT 甲臆化合物,2000r/min 离心 5min 后,取上清液于比色杯,用 UVIKON-930 紫外可见光分光光度计在 560nm 处测吸光度,取均值计算 MTT 甲臆化合物生成抑制百分率。结果 ScL 抑制 S-180 细胞 MTT 甲臆化合物生成。抑制率随其浓度增高而增大(表 4),0.25—16g/L 处理细胞 24h,抑制率为 2.4—76.9%。

表 3 ScL 对小鼠白血病 S-180 细胞集落形成的影响

剂量(g/L)	集落形成数	抑制率(%)
0	86.8±10.3	
0.25	88.1±9.7	-1.5
1.00	71.2±8.4 *	18.0
2.00	54.6±10.1 *	37.1
4.00	42.5±7.7 *	51.0
16.00	31.8±5.4 *	63.1

n=6, x±s, * P<0.05 与对照组比较

表 4 ScL 对小白鼠白血病 S-180 细胞 MTT 甲臆化合物生成的影响

剂量(mg/ml)	吸光度	抑制率(%)
	0.8741±0.0823	
0.25	0.8526±0.0769	2.4
1.00	0.7052±0.0802	19.3
2.00	0.4684±0.0562 *	46.4
4.00	0.3850±0.0417 *	56.0
16.00	0.2021±0.0328 *	76.9

n=6, x±s, * P<0.05 与对照组比较

三、讨论

中药狼毒为瑞香科植物瑞香狼毒、狼毒大戟和月腺大戟的根。不同品种的狼毒产地有异,所含化学成份也有较大差别^[1]。文献报道^[2],狼毒大戟对小鼠移植肿瘤 HcPS 和 Lewis 肺癌生长有抑制作用,但对 S-180 生长无明显影响;本文结果表明瑞香狼毒水提物对小鼠移植肿瘤 S-180 有明显抑制作用,并和剂量正相关;表明不同品种的狼毒对肿瘤生长的影响具有一定的差别。

MTT 比色分析法是近年来用以检测细胞活性的新指标。它通过检测细胞内脱氢酶系的活性来反应细胞活性。本文中瑞香狼毒和狼毒素对 S-180 细胞 MTT 甲臆化合物的生成抑制率较对台盼蓝拒染试验生长率低,可能与部分细胞膜受损细胞内脱氢酶系未完全失活有关。

参考文献

- [1]江苏新医学院编. 中药大辞典. 下册. 上海:上海人民出版社. 1977;1898
- [2]申屠瑾,等. 狼毒大戟对小鼠移植肿瘤的影响. 中西医结合杂志,1984;4(1):45
- [3]李征,等. 狼毒大戟治疗晚期恶性肿瘤 170 例小结. 北京中医. 1985;(6):29
- [4]贾正平,等. 4-[4''-(2'',2'',6'',6''-四甲基哌啶氮氧自由基)氨基]-4'-去甲表鬼臼毒抗肿瘤作用. 中国药理学通报,1991;7:304
- [5]贾正平,等. 4-[4''-(2'',2'',6'',6''-四甲基哌啶氮氧自由基)氨基]-4'-去甲表鬼臼毒对 L1210 细胞系增殖、克隆形成和 DNA 合成的影响. 中国药理学与毒理学杂志,1991;5:47