

从地榆对不同癌细胞的抑制效果 看中药归经理论的科学性※

● 王振飞 李 煜 戴宝贞 贾瑞贞

摘 要 目的:研究地榆对四种癌细胞的抑制作用与中药归经理论的关系。方法:细胞形态观察和活细胞计数法研究地榆对人肝癌细胞 HepG2、胃癌细胞 BGC823、宫颈癌细胞 Hela 和肺癌细胞 H460 生长的抑制作用。结果:地榆可使四种癌细胞形态上发生皱缩、变圆、脱壁、裂碎等变化,生长受到不同程度的抑制,抑制率最高者达 84.60%。结论:地榆有确切的抑癌作用,并与中医的药物归经理论相一致,再次说明了中医药物归经理论的正确性与科学性,即便在体外细胞水平上也有良好体现,对实验室手段研究中医药同样有着重要指导意义。

关键词 地榆 癌细胞 抑制效果 中药归经理论

有一些人在否定中医,并叫嚷要取缔中医,但是在医疗实践中,越来越多的癌症病人愿意主动接受中医药治疗。笔者选择了一位经中医中药治疗取得显著效果的癌症病人,对其处方进行抗癌药物筛选,发现其中的地榆具有良好作用,现将研究情况报告如下:

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材 地榆生药购于内蒙古中蒙医院药房,经该院任晓伟副主任药师鉴定为 *Sanguisorba officinalis* L. 的根。取生药适量,六蒸水洗三遍,烘干,称量;用适量无水乙醇浸湿,充分烘干;六蒸水浸泡过夜,武火煮沸,文火煎煮 30min,纱布过滤,滤渣加适量六蒸水置 115℃ 高压蒸汽锅内 30min,纱布过滤;合并两次滤液,2℃ 冰箱静置 72h,高、中、低速滤纸,0.45μm、0.22μm 微孔滤膜逐级过滤;滤液蒸发浓缩,灭菌,4℃ 保存,使用时以培养液稀释至所需质量分数(以生药计)。

1.1.2 器材与试剂 倒置相差显微镜(Nikon eclipse TE2000-U),超净台(苏州净化设备有限公司),CO2 培养箱(GALAXY & BINDER),24 孔培养板(BIO-

FIL),高糖 DMEM(GIBCO),胎牛血清(TBD)。

1.1.3 癌细胞系 人肝癌细胞系 HepG2、胃癌细胞系 BGC823、宫颈癌细胞系 Hela、肺癌细胞系 H460(均由本实验室传代保种),均常规传代培养。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 每种细胞均设对照组(不加药)与观察组(加药),观察组分设高(4mg/ml)、中(1mg/ml)、低(0.25mg/ml)三个剂量组。

1.2.2 加药处理 取对数生长期的四种癌细胞,均以 2×10^4 /孔接种于 24 孔培养板,接种 24h 后加药。加药后:①每天于倒置相差显微镜下观察细胞形态变化;②每隔 24h 各组均取 5 孔细胞台盼蓝拒染法计活细胞数,每孔计 3 次,5 孔取平均值,计算出当天的生长抑制率(抑制率 = $[(\text{对照组平均活细胞数} - \text{观察组平均活细胞数}) / \text{对照组平均活细胞数}] \times 100\%$)^[1],连续 6 天。

1.2.3 抑制效果的判断与分析 ①细胞形态的观察与分析:参考章静波的五级分类评价^[2];②平均抑制率:6 天的抑制率相加取平均值;③最高抑制率:每种细胞取其 6 天中最高的一天。④同种细胞观察组与对照组比较采用 *t* 检验,细胞间的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 地榆对四种癌细胞形态的影响 对照组:四种

※基金项目 国家自然科学基金资助项目(No:30460054)

• 作者单位 内蒙古大学哺乳动物生殖生物学与生物技术教育部重点实验室(010021)

细胞(图1、图3、图5、图7)均紧贴板壁,胞间紧密接触,细胞轮廓清晰,细胞核大、核仁粗大明显,可见分裂相,连续观察,细胞继续生长,集落不断扩大,属0级。观察组:加药后8h,四种细胞均可见部分胞体回缩,胞质内有颗粒物积累,属1级。加药后24h, HepG2(图2)大部分皱缩、变圆、脱壁,板底明显可见碎渣样物质,属2级;BGC823(图4)不少皱缩、变圆、

脱壁,板底有碎渣样物质出现,属2级;Hela(图6)不少胞体回缩、丧失胞间联系,细胞内明显可见空泡,少数变圆、脱壁,仍属1级;H460(图8)部分胞体回缩,个别变圆、脱壁,仍属1级。加药后48h, HepG2、BGC823 大多数脱壁、碎裂,碎渣量大,属3级;Hela、H460 部分脱壁并出现碎渣,属2级。

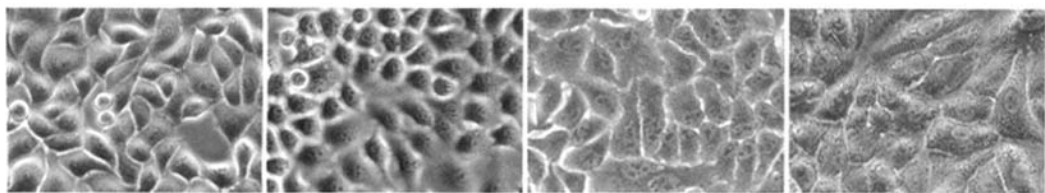


图1 HepG2 对照组 图3 BGC823 对照组 图5 Hela 对照组 图7 H460 对照组

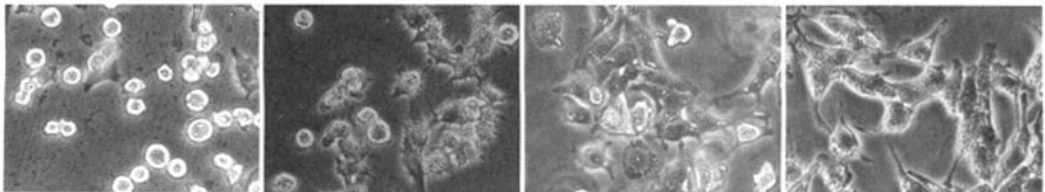


图2 HepG2 观察组 图4 BGC823 观察组 图6 Hela 观察组 图8 H460 观察组

注:图1—图8均x200;图2、图4、图6、图8均为地榆4mg/ml作用24h后。

2.2 地榆对四种癌细胞生长的平均抑制率 地榆对四种癌细胞的生长都有抑制作用,但对它们的抑制效果是不同的:HepG2 > BGC823 > Hela > H460。见表1。

表1 地榆对四种癌细胞生长的平均抑制率(%)

	4mg/ml	1mg/ml	0.25mg/ml
HepG2	80.88**	61.26**	32.04**
BGC823	71.48**	53.04**	25.75**
Hela	58.98**	37.06**	12.21*
H460	44.05**	26.50**	0.85

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.3 地榆对四种癌细胞生长的最高抑制率 地榆对四种癌细胞的生长都有抑制作用,但它们出现的最高抑制时间不尽相同,HepG2在72h而H460在120h;它们的抑制效果也不同,HepG2最高,为84.60%,H460最低,为49.34%,四种细胞间相互比较:HepG2 > BGC823 > Hela > H460。见表2。

表2 地榆对四种癌细胞生长的最高抑制率

	剂量 (mg/ml)	对照组活细胞数 (10^4)	观察组活细胞数 (10^4)	最高抑制率 (%)	出现时间 (h)
HepG2	4	42.75 ± 2.90	6.58 ± 0.21	84.6	72
BCC823	4	33.67 ± 2.47	8.50 ± 0.63	74.75	96
Hela	4	73.50 ± 4.18	26.50 ± 1.27	63.95	120
H460	4	71.00 ± 2.12	35.97 ± 1.63	49.34	120

注:四种细胞间相互比较最高抑制率,均有极显著差异($P < 0.01$)。

3 讨论

已有研究表明:地榆可抑制人宫颈癌细胞 JTC-26 的生长^[3],本实验表明其对来源于消化、生殖、呼吸三个系统的四种癌细胞均有抑制作用,且对肝癌细胞和胃癌细胞的抑制效果强于宫颈癌细胞,对肺癌细胞的抑制效果弱于宫颈癌细胞,提示值得进一步深入研究,为其临床抗癌应用提供参考。

从形态观察到抑制率的比较均显示地榆对四种癌细胞的抑制效果为: HepG2 > BGC823 > Hela > H460。地榆“归肝、胃、大肠经”^[3],首归肝经,对肝癌细胞效果最佳;次入胃经,对胃癌细胞效果也很好;不入肺经,对肺癌细胞效果最差;胞宫不属肝、胃、大肠

经,对宫颈癌细胞效果也较差。本实验这一结果与中医的药物归经理论相一致,充分体现了药物归经理论的正确性与科学性,再次说明了中医基本理论的博大精深,即便在体外细胞水平上也有良好体现,对实验室手段研究中医药同样有着重要指导意义。

参考文献

- [1] 张卓然. 细胞培养学与细胞培养技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004. 424.
- [2] 章静波. 细胞生物学实用方法与技术[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995. 76.
- [3] 田代华. 实用中药辞典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 664 - 665.

(上接第 57 页)

热或肝胆湿热,而引起的一种虚实夹杂的脱发病症,如《疡医大全》卷十中“冯鲁瞻曰:发为血之余。焦枯者,血不足也。忽然脱发,头皮多痒,须眉并落者,乃血热生风,风木摇动之象也。”而《先哲医话》中明确指出“油风多属肝火”,油风属于现代“脂溢性脱发”范畴。因此,杨师指出现代脱发患者的病因病机主要为肾阴不足,肝阳上亢,继而肝失疏泄,郁而化火,肝风上扰,湿热搏结;突出体现在患者的舌质多偏干红甚或红绛,苔多薄黄或黄腻。

6 体会

古论有云“怪病责之于痰”,“怪病当从痰而治”。杨师认为,形成“痰”、“瘀”等病理产物继而导致疑难杂症的根本原因为阴精不足,并指出此与现代人在一生中阴阳之间多处于阳有余而阴不足的矛盾状态密切相关。究其形成原因有三:(1)人之生长衰老,阴精难成易亏。杨师指出在正常生理状

态下,阴精难成易亏,不与阳气相配;在人的生长衰老过程中,阴精只有在青壮年时期才相对亢盛,而幼稚与垂暮之年阴精皆不足,故阴与阳比较,则阴不足而阳有余;(2)人之情欲无涯,相火易夺阴精。杨师认为,现代人常因色欲无度或情志过极、思虑过度、饮食肥甘辛辣厚味等因素,导致发源于肝肾之相火妄动,阴精耗损,势必加剧老年时期“阳有余而阴不足”的状态,造成疾病的发生;(3)人之阴阳动静,动多而静少。杨师认为自然界离不开动与静,阴与阳两个方面,两者对立统一,缺一不可,其中动是基本的、主要的,是化生万物的主体;对人体而言,亦是如此,在人的生命过程中,往往动多而静少,“动易而静难”,由于人之情欲无涯,所以相火妄动、耗伤阴精的病变时常发生,并由此致气血耗伤,化生“痰”、“瘀”等病理产物。而祖国医学认为,脏腑之阴精,虽各不相同,然肾藏一身真阴真阳,肾阴对全身脏腑组织均有滋养濡润作用;

五脏六腑之阴除充养本脏腑之外,余者又不断归藏于肾,以充养真阴,故人之阴精之源总归于肾。总之,杨师认为,当代人肾中阴精难于充足,而相火易于妄动,故保持肾中阴精充足,勿使相火妄动,亦即养阴抑阳,乃治疗现代疑难杂症的关键所在。同时指出阴精亏易造成脾胃元气耗伤,同时脾胃元气耗伤,必加重阴精亏损,而致病情缠绵难愈;且认为“胃为水谷之海,多血多气,清和则能受;脾为消化之气,清和则能运”,故临证重视现代疑难杂病当“清养”脾胃元气,不宜辛香之剂燥补,认为“陈皮、木香、厚朴、半夏等亦温燥,亦是决裂耗散之剂,实无补土之和”。临证常取“土得木而达之”之意,选用佛手片、绿梅花等药性平和、药轻气薄之品疏肝和胃;太子参、炙甘草、淮山药甘平之剂补益脾气。综上所述,杨师临床常在辨证论治基础上从阴虚立论,运用膏方治疗多种现代疑难杂病,疗效显著,值得推广。