

口服蒿甲醚片剂抑制小鼠结直肠癌生长的实验研究

● 吴永贵¹ 伍治平² 高诚伟³ 王熙才² 朱启顺⁴ 胡炜彦²

摘要 目的:探讨口服蒿甲醚片(Artemether Tablet)对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤作用。方法: BALB/c小鼠皮下接种CT-26结直肠癌细胞(2×10^6 个/mL)48只,雌、雄各半;随机分为6组,每组8只,分别为I组:蒿甲醚33.3mg/(kg·d)、II组:蒿甲醚50mg/(kg·d)、III组:蒿甲醚66.6mg/(kg·d)、IV组:蒿甲醚50mg/(kg·d)+硫酸亚铁1.5mg/(kg·d)组、V组:阳性对照为卡培他滨片(83mg/kg·d)、VI组:空白对照组为等体积生理盐水;结果:口服蒿甲醚片33.3mg/(kg·d)、50mg/(kg·d)、66.6mg/(kg·d)以及蒿甲醚50mg/(kg·d)+硫酸亚铁1.5mg/(kg·d),对BALB/c小鼠CT-26结直肠癌的抑瘤率分别为:42.3%、51.4%、52.0%、53.5%,各实验组与生理盐水组比较,差异有显著性(分别 $P=0.024$, $P=0.006$, $P=0.007$, $P=0.004$),各实验组间比较,差异无显著性($P>0.05$)。各实验组与阳性对照组卡培他滨比较,除I组:蒿甲醚33.3mg/(kg·d),差异有显著性($P<0.05$)外,其余各组,统计差异无显著性($P>0.05$)。结论:口服蒿甲醚片剂对小鼠CT-26结直肠癌有明显的抑制作用;蒿甲醚与硫酸亚铁合用能使抑瘤率增加。

关键词 活络化痰法 蒿甲醚片 BALB/c小鼠CT-26 结直肠癌 硫酸亚铁 抑瘤作用

近年的研究发现,青蒿素及其衍生物有明确的抗肿瘤作用,可选择性地杀伤肿瘤细胞而对正常组织细胞的毒性较小,与传统化疗药物不存在交叉耐药。Efferth等^[1]选择55种癌细胞株研究青蒿素水溶性衍生物青蒿琥酯的抗癌活性时发现,青蒿琥酯对结肠癌细胞和白血病细胞显示出最强的抗癌活性。但迄今为止,有关青蒿素的另一种衍生物蒿甲醚在体内抗小鼠CT-26结直肠癌的研究尚未见报道,为探讨其抗肿瘤作用机理,我们进行了口服蒿甲醚片抗小鼠CT-26结直肠癌并与卡培他滨片对照的实验研究,为进一步的药物开发奠定基础,为临床的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 药物:蒿甲醚片(昆明制药集团股份有限公司,50mg,批号:05106702);复方硫酸亚铁颗粒(河南福森药业有限公司,10mg,批号:050802);卡培他滨

片(罗氏(上海)公司,500mg,批号:U8362)。

实验动物: BALB/c小鼠,6~8周龄,体重17~20g(昆明医学院实验动物科,批准文号:SCXK滇P0005-0008)。

瘤株: BALB/c小鼠CT-26结直肠癌细胞株,购自美国ATCC公司,保存于液氮。

1.2 方法

1.2.1 小鼠模型的建立 复苏结肠癌细胞株CT-26,用含10%标准小牛血清(中国科学院生物工程研究所灏洋生物)的RPMI 1640(GIBCO)全培养基常规传代培养。将对数生长期的细胞调整为适宜浓度 2×10^6 个/mL,接种于小鼠右前肢皮下,每只小鼠接种0.2mL。

1.2.2 动物分组及给药 将48只结肠癌皮下接种小鼠随机分成6组,每组8只,分别为I组:蒿甲醚33.3mg/(kg·d)、II组:蒿甲醚50mg/(kg·d)、III组:蒿甲醚66.6mg/(kg·d)、IV组:蒿甲醚50mg/(kg·d)+硫酸亚铁1.5mg/(kg·d)、V组:阳性对照卡培他滨83mg/(kg·d)、VI组:空白对照组为等体积生理盐水。均在接种5天后,采用灌胃给药法持续给药

● 作者单位 1. 云南中医学院(6502002); 2. 昆明医学院第三附属医院肿瘤研究所(650118); 3. 云南大学化学工程学院(650091); 4. 云南大学生命科学院(650091)

8 天(见表),停药 24 小时处死动物。剥离肿瘤,称重,计算抑瘤率。肿瘤组织做病理。

抑瘤率计算公式为:抑瘤率=[(对照组平均瘤重-给药组平均瘤重)/对照组平均瘤重]×100%;

1.2.3 数据收集计算及统计 用 Microsoft Excel 计算各组的平均瘤重,体重,用 SPSS11.0 统计软件对各组瘤重进行单因素方差分析,判断差异有无显著性。

2 结果

口服不同剂量蒿甲醚对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直

表 1 口服不同剂量蒿甲醚对 BALB/c 小鼠 CT-26 结直肠癌的抑瘤率

治疗剂量 mg/(kg·d)	动物数 始/终	给药途径	给药天数	动物体重 (给药前)	体重变化 (g)	平均瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	P 值 [△]
生理盐水组	8/8	灌胃	8	17.6±2.61	2.4±0.55	1.013±0.596		
卡培他滨 83	8/8	灌胃	8	17.8±2.24	-1.98±0.86	0.015±0.063	94.3	0.000
蒿甲醚治疗组								
33.3	8/8	灌胃	8	17.5±1.98	2.25±0.71	0.585±0.527	42.3	0.024
50.0	8/8	灌胃	8	16.9±1.41	2.50±0.60	0.486±0.146	51.4	0.006
66.6	8/8	灌胃	8	16.9±2.15	2.13±0.64	0.493±0.312	52.0	0.007
50.0+1.5	8/8	灌胃	8	17.5±1.25	2.1±0.73	0.470±0.085	53.5	0.004

注:△P 值为与生理盐水空白对照组比较

3 讨论

目前认为青蒿素及其衍生物抗癌效应的始发机制,与肿瘤细胞铁代谢旺盛的特点有关^[2,3]。所有增殖态的细胞都需要摄入铁,铁摄入越多,其增殖就愈快。因此,肿瘤细胞将比正常细胞吸收更多的铁离子,在有转铁蛋白存在的情况下或给硫酸亚铁,青蒿素分子内的过氧化基团与亚铁原子起反应产生自由基或亲电子中间产物,攻击细胞膜或细胞内其他膜性结构,或直接氧化损伤蛋白质分子或生命大分子(这些蛋白质对肿瘤细胞的过度增殖起关键作用),导致细胞死亡。这样可选择性杀伤癌细胞而对正常细胞损伤较小^[4,5]。

本研究显示:口服蒿甲醚片对小鼠 CT-26 结直肠癌有显著的抑制作用。蒿甲醚在体内经转化代谢所产生的氧自由基可能是它的主要抗癌有效成分之一。口服药物往往作用时间长,经消化道作用吸收分解,再经肝脏转化后,产生出更多的活性自由基和相关代谢产物及其相应的酶类而呈现对结直肠癌细胞生长的抑制作用。

本研究还显示:蒿甲醚与铁剂合用能增加抑瘤率,其增加抑瘤率的机理可能与上述的杀瘤机制有关。已知铁为机体所必需的微量元素,缺铁可能是产

肠癌的抑瘤率分别为:42.3%、51.4%、52.0%、53.5%,各实验组与生理盐水组比较,差异有显著性(分别 $P=0.024, P=0.006, P=0.007, P=0.004$),各实验组间比较,差异无显著性($P>0.05$)。各实验组与阳性对照组卡培他滨比较,除 I 组:蒿甲醚 33.3mg/(kg·d),差异有显著性($P<0.05$)外,其余各组,统计差异无显著性($P>0.05$)。见表 1。

生或加强人体免疫缺损状态的一个因素,严重缺铁可促使癌的发生。因此,肿瘤细胞将比正常细胞吸收更多的铁离子,致使癌细胞更易受到青蒿素及其衍生物类药物的攻击。

综上所述,在一定的剂量下范围内,口服蒿甲醚片对小鼠 CT-26 结直肠癌有明显的抑制作用;蒿甲醚与卡培他滨相比,具有较小的毒副作用,与铁剂合用能使抑瘤率增加。

参考文献

[1] Efferth A, Dunstan H, Sauerbrey A, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer[J]. Int J Oncol, 2001, 18(4): 767-771.

[2] Lai H, Tomikazu S, Singh NP. Targeted treatment of cancer with artemisinin and artemisinin tagged iron-carrying compounds [J]. Expert Opinion, 2005, 9(5): 995-1007.

[3] Lai H, Singh NP. Oral artemisinin prevents and delays the development of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced breast cancer in the rat [J]. Cancer Lett, 2006, 231: 43-48.

[4] Singh NP, Lai H. Synergistic cytotoxicity of artemisinin and sodium butyrate on human cancer cells [J]. Anticancer Res. 2005, 25(6B): 4325-4331.

[5] Mooce JC, Lai H, Li JR, et al. Oral administration of dihydroartemisinin and ferrousulfate retarded implanted fibrosarcoma growth in the therat [J]. Cancer Letter, 1995, 98(7): 83-87.