

# 小柴胡汤对 Lewis 荷瘤小鼠抑瘤及免疫功能影响的初步研究<sup>※</sup>

● 梁靓靓<sup>\*</sup> 殷东风 周立江

**摘要** 目的:探讨小柴胡汤对 Lewis 肺癌小鼠抑瘤及免疫功能的影响。方法:将荷瘤成功的小鼠随机分四组:模型组(MG),小柴胡组(BG),参一组(SG)和顺铂组(DG),每组 10 只;另取健康的 10 只小鼠组成空白组(CG)。各组分别给药 12 天,观察其日常生活状况和肿瘤生长情况、对白细胞计数以及脾脏指数和胸腺指数的影响。结果:(1)BG 能改善 Lewis 小鼠一般状况,与 MG 比,五分钟自主活动及站立次数增加,差异显著( $P < 0.05$ )。(2)BG、SG 和 DG 对肿瘤细胞的生长均有抑制作用,其抑瘤率分别为 26.98%,30.93% 和 74.90%。(3)BG 可使荷瘤小鼠的脾脏指数降低并趋向正常,与 CG 比较无统计学意义( $P > 0.05$ ),对胸腺指数影响较小。(4)治疗前后 BG 对白细胞计数无影响。结论:小柴胡汤能改善荷瘤小鼠的生活状况,对 Lewis 肺癌生长的抑制作用,与促进荷瘤小鼠免疫系统功能有关。

**关键词** 小柴胡汤 Lewis 肺癌 免疫功能

近年来,有实验表明小柴胡汤在治疗肿瘤方面有一定的优势<sup>[1]</sup>,本文在前期研究基础上,探讨小柴胡汤对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的初步影响。

## 1 实验材料

**1.1 动物与瘤株** 清洁级近交系 C57BL/6J 小鼠 60 只,均为雌性,10 周龄,体重 19~21 克,购于中国医学科学院实验动物研究所,许可证编号:SCXK(京)2004-001。Lewis 肺癌细胞株,由中国医科大学免疫实验室提供。

**1.2 药物制备** 小柴胡汤(柴胡 20g、黄芩 15g、人参 10g、半夏 15g、炙甘草 10g、生姜 10g、大枣 4 枚),按照中药常规煎法制成相当于生药 1g/ml 的药液,存 4℃ 备用。参一胶囊(吉林亚泰制药公司),10mg/粒,每日给药前用蒸馏水配制成 1mg/ml 药液。注射用顺铂(DDP)(齐鲁制药公司),10mg/支,每日给药前用生理盐水配制成 1mg/ml 溶液。

**※基金项目** 教育部留学回国人员科研启动基金,教外司留(No:2002247)

**\*作者简介** 梁靓靓,女,博士研究生,主治医师。研究方向:恶性肿瘤的中医药基础与临床研究。

**•作者单位** 辽宁中医药大学(110032)

**1.3 试剂与仪器** 台盼蓝染色液,20% 乌拉坦注射液,ZZ-6 小鼠自主活动测试仪(成都泰盟公司),QL-901 漩涡混合器(海门其林贝尔公司),毛细管(华西医科大学),全自动多物种五分类动物血液分析仪(英国 Drew 公司),NIKON 显微镜,电子天平等。

## 2 实验方法

**2.1 造模** 无菌条件下,抽取接种 Lewis 瘤株 10d 的小鼠腹水,经生理盐水洗涤后,调整细胞浓度至约  $2 \times 10^6$  个/ml 的瘤细胞悬液,台盼蓝染色观察记录活细胞数( $> 95\%$ );在每只小鼠右腋窝皮下接种瘤细胞 0.2ml,共接种 48 只。

**2.2 分组及给药** 接种 5d 后,选取荷瘤成功的小鼠 40 只,随机分为模型组(MG)、小柴胡组(BG)、参一组(SG)和顺铂组(DG),每组 10 只,另取健康的 10 只小鼠组成空白组(CG)。根据人和鼠给药剂量换算公式<sup>[2]</sup>: $d_B = d_A \times R_B/R_A \times (W_A/W_B)^{1/3}$ ,计算出 BG 组予浓度为 90% 的小柴胡汤,SG 组予浓度为 30% 的参一胶囊溶液,MG 组、CG 组及 DG 组予生理盐水,每日晨起空腹 0.4ml 灌胃,连续 12d;DG 组予顺铂注射液,其余组予生理盐水,隔日 0.12ml 腹腔注射,共 3 次。停药后 24h,放血法处死小鼠。

2.3 实验观察指标

2.3.1 生活状况评价 每日称小鼠体重,观察进食、活动状态及死亡情况。实验结束前用小鼠自主活动测试仪,检测荷瘤小鼠在五分钟内的活动和站立次数。

2.3.2 计算抑瘤率 抑瘤率 = (模型组平均瘤重 - 实验组平均瘤重) / 模型组平均瘤重 × 100%。

2.3.3 外周血白细胞计数 给药前及给药后每三天从眼眶取静脉血,检测白细胞计数。

2.3.4 计算胸腺、脾脏指数 免疫器官指数 = 免疫器官重(mg) / 体重(g)。

2.4 统计学方法 实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,数据处理用 SPSS10.0 软件包,进行方差分析(AVONA), $P < 0.05$  为差异具有显著性意义。

3 实验结果与分析

3.1 小鼠的生活状况评价 给药 12d 后,顺铂组小鼠死亡 2 只,其余组无死亡。顺铂组小鼠体重明显下降,与模型组比差异显著( $P < 0.01$ ),其余各荷瘤组体重均有不同程度增加,但差异不显著( $P > 0.05$ )。见表 1。

与模型组比,小柴胡组和参一组小鼠反应较灵敏,毛色润泽,活动次数和饮食量均有增加;顺铂组小鼠反应迟钝,毛色晦暗、稀疏,活动次数和饮食量明显减少。实验结束前,记录各组小鼠五分钟自主活动及站立次数,小柴胡组和参一组比模型组增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组之间无明显差异( $P > 0.05$ );顺铂组比模型组明显减少( $P < 0.01$ )。见图 1。

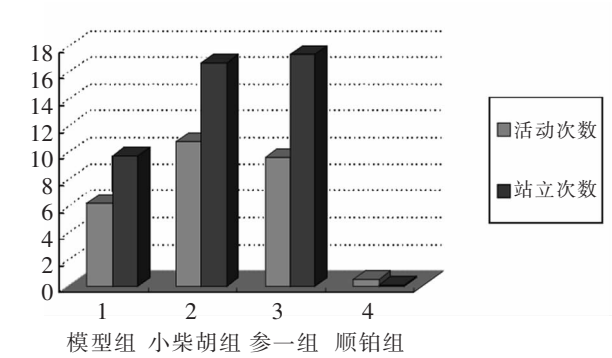


图 1 五分钟自主活动、站立次数比较图

3.2 对 Lewis 小鼠的抑瘤作用 从表 1 看出,治疗组的瘤重均显著低于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),小柴胡和参一两组间无明显差异( $P > 0.05$ )。

表 1 小柴胡汤对荷瘤小鼠的抑瘤作用( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数量		给药前体重(g)	给药后体重(g)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
	始	末				
模型组	10	10	20.45 ± 0.54	20.53 ± 0.49	1.012 ± 0.122	-
小柴胡组	10	10	20.52 ± 0.71	20.92 ± 0.55	0.739 ± 0.123**	26.98**
参一组	10	10	20.33 ± 0.60	21.14 ± 0.64	0.699 ± 0.171**	30.93**
顺铂组	10	8	20.49 ± 0.53	15.91 ± 0.85**	0.254 ± 0.106**	74.90**

注:与模型组比较,★★ $P < 0.01$ 。

3.3 对 Lewis 小鼠免疫器官的影响 从表 2 的脾脏指数可见,模型组升高,是空白组的 121%,差异显著( $P < 0.05$ );小柴胡组与参一组介于空白组和模型组之间,与空白组比较无统计学意义( $P > 0.05$ );顺铂组

明显降低,是空白组的 41%,差异显著( $P < 0.01$ )。胸腺指数显示,顺铂组是空白组的 32.4%,明显降低( $P < 0.01$ ),其余荷瘤组均略下降,但与空白组无差异( $P > 0.05$ )。

表 1 小柴胡汤对荷瘤小鼠的抑瘤作用( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数量		脾脏指数(mg/g)	比率(%)	胸腺指数(mg/g)	比率(%)
	始	末				
空白组	10	10	4.42 ± 0.69	100	0.145 ± 0.031	100
模型组	10	10	5.33 ± 0.80*	121	0.141 ± 0.018	97.2
小柴胡组	10	10	4.94 ± 0.73	112	0.139 ± 0.044	95.9
参一组	10	10	5.09 ± 0.84	115	0.143 ± 0.032	98.6
顺铂组	10	8	1.81 ± 0.21**	41	0.047 ± 0.013**	32.4

注:与模型组比较,★★ $P < 0.01$ 。

3.4 观察外周血白细胞计数 给药前后,各荷瘤组白细胞计数均在正常范围,但给药后,顺铂组白细胞计数明显降低,与模型组相比差异显著( $P < 0.01$ );小柴胡组和参一组与模型组比较无明显差异( $P > 0.05$ )。见表3。

表3 给药前后 Lewis 小鼠外周血白细胞计数( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数量		给药前(k/ $\mu$ l)	给药后(k/ $\mu$ l)始
	始	末		
模型组	10	10	4.18 $\pm$ 0.94	4.11 $\pm$ 0.93
小柴胡组	10	10	4.28 $\pm$ 0.96	4.47 $\pm$ 1.05
参一组	10	10	4.35 $\pm$ 0.70	4.64 $\pm$ 0.71
顺铂组	10	8	4.19 $\pm$ 0.78	2.15 $\pm$ 0.17**

注:与模型组比较,\*\* $P < 0.01$ ;正常值:1.8-10.7(k/ $\mu$ l)。

## 4 讨论

小柴胡汤是《伤寒论》的著名代表方,有报道称<sup>[3,4]</sup>用该方治疗肝癌、乳腺癌、宫颈癌、胰腺癌、胃癌等等,取得很好的疗效。参一胶囊是国药准字抗肿瘤中成药,可提高机体的免疫功能,故选其作为阳性对照药。

通过实验我们可以看出,小柴胡组能改善 Lewis 小鼠的一般状况,与模型组比,五分钟自主活动及站立次数增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),顺铂组比模型组明显减少( $P < 0.01$ )。小柴胡组、参一组和顺铂组的瘤重均显著低于模型组,抑瘤率分别为26.98%,30.93%,74.90%,小柴胡和参一两组间无明显差异( $P > 0.05$ )。由此可以得出,小柴胡汤可以提高荷瘤小鼠的生存质量,对肺癌细胞的生长有抑制作用。

机体的免疫功能状态与肿瘤的发生、发展及预后密切相关。一旦肿瘤发生,只有不断地调节免疫,充分发挥机体自身抗肿瘤的能力,控制转移和复发,使癌细胞逐渐向正常细胞发生逆转,肿瘤患者才能逐渐走向康复<sup>[5]</sup>。免疫器官的脏器指数是衡量机体免疫功能的初步指标。骨髓抑制及免疫

功能降低是化学抗肿瘤药物的主要副作用之一<sup>[6]</sup>,说明其抗肿瘤疗效好的代价是在损伤整体的基础上实现的。

本实验显示,给药后顺铂组白细胞计数明显降低,与模型组相比差异有统计学意义( $P < 0.01$ );小柴胡组和参一组与模型组比较无明显差异( $P > 0.05$ ),说明小柴胡汤在抑瘤的同时,对荷瘤小鼠的骨髓无抑制作用。小鼠荷瘤后出现免疫指标异常,模型组表现为脾脏指数的升高,考虑这种情况的发生可能与肿瘤的刺激引起反应性增生有关。小柴胡组和参一组均可使荷瘤小鼠的脾脏指数降低并趋向正常,与空白组比较无统计学意义( $P > 0.05$ );顺铂组明显降低,是空白组的41%,差异显著( $P < 0.01$ )。胸腺指数显示,顺铂组是空白组的32.4%,明显降低( $P < 0.01$ ),其余荷瘤组均略下降,但与空白组无差异。实验结果证实,化疗药抗肿瘤的同时,明显损害荷瘤小鼠的免疫器官,小柴胡汤对免疫器官无损害作用,既能抑制肿瘤的生长,又能提高宿主免疫功能,从而达到攻邪扶正之效。推测其抑瘤作用可能与促进荷瘤小鼠免疫系统功能有关。目前随着对肿瘤患者带瘤生存质量评价的重视,在临床治疗中要兼顾杀灭癌细胞与维护宿主内环境平衡两方面,使患者能够更好地带瘤生存,这也体现了中医药治疗肿瘤的一个优势。

## 参考文献

- [1]茅敏,付虹,黄秀深,等.小柴胡汤诱导荷瘤小鼠 S180 细胞凋亡及对细胞周期的影响[J].现代中西医结合杂志,2005,14(20):2646-2648.
- [2]孙敬方.动物实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2001:357.
- [3]邢向荣,殷东风.运用柴胡剂从肝论治提高恶性肿瘤患者生存质量的临床分析.第十届全国中西医结合肿瘤学术大会,2006:320-325.
- [4]胡淑全.用小柴胡汤加味治疗胰腺癌的体会[J].四川中医,2007,25(7):44-45.
- [5]Hayakawa Y, Smyth MJ. Innate immune recognition and suppression of tumors[J]. Adv Cancer Res, 2006, 95:293-322.
- [6]韩锐.肿瘤化学预防及药物治疗[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1991:12.