

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.07.06

蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠血细胞的毒性的初步研究

王奇, 章红燕, 姜志明

(浙江省肿瘤医院 药剂科, 浙江 杭州 310006)

摘要: [目的]观察蛇六谷粗粉的乙烯醇提取物对小鼠血细胞的毒性作用。 [方法]采用系统溶剂法,经初步提取得到蛇六谷乙烯醇部位,在正常小鼠皮下接种 MFC 胃癌肿块,连续喂食蛇六谷的乙烯醇提取物 3 周后,观察小鼠外周血中的血象,及小鼠脾重的前后变化。 [结果]蛇六谷荷瘤组和荷瘤对照组相比,在观察期内小鼠体重无显著差异,小鼠血细胞的各项指标也无显著差变化,表明蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠血细胞没有不良影响,并未产生毒性作用;而荷瘤对照组和无瘤对照组相比,小鼠白细胞明显增多,说明瘤块对小鼠产生了免疫应激反应。 [结论]蛇六谷乙烯醇提取物作为抗胃癌药物,不会产生毒性作用,是安全的抗肿瘤药物。

关键词: 蛇六谷; 乙烯醇提取物; 小鼠 MFC 细胞; 血细胞; 脾

中图分类号: R9

文献标志码: A

文章编号: 1671-038X(2016)07-0512-03

Toxicity evaluation of Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja on blood cells in mice with gastric cancer

WANG Qi, ZHANG Hong-yan, JIANG Zhi-ming

(Department of Pharmacy, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310006, China)

Corresponding author: WANG Qi, E-mail: WQ1991618@163.com

Abstract: [Objective] To observe the toxic effect of Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja on blood cells in mice with gastric cancer. [Methods] Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja was obtained by systematic solvent extraction. Normal mice were inoculated subcutaneously with MFC gastric tumor, fed with Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja for 3 weeks, then peripheral hemogram and spleen weight changes were detected. [Results] In the observation period, between the tumor-bearing mice fed with and without Amorphophallus Konja, no significant differences in weight and hemogram parameters were demonstrated. It indicated that no adverse effect was induced by Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja. Besides, leukocytes in tumor-bearing mice were significantly increased compared to those in tumor-free mice, indicating immune response was induced in mice by the gastric tumor. [Conclusion] As an effective anti-gastric cancer drug, Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja extract has no toxic effect, which makes it also a safe therapy in clinic.

Key words: Vinyl Alcohol Extract of Amorphophallus Konja extract; MFC mouse cells; blood cells; spleen

蛇六谷,又称魔芋,最早可见于《神农本草经》,为天南星科魔芋属(Amorphophallus)多年生草本植物的块茎,是近年来中医药治疗癌症的最有特色的中药之一。《本草纲目》等古籍记载魔芋性寒、味平,具有化痰散积、行淤消肿之功效,临床用于治疗咳嗽、积滞、疟疾、跌打损伤、痈肿风毒等疾患。《中

药大辞典》记载它为一味常用抗肿瘤中药,具有有软坚散结、清热解毒、抗癌等功效。据记载,蛇六谷最早被用于治疗痈肿毒疔,现在临床中广泛用于治疗各种癌患,如:上颌窦癌、鼻咽癌、喉癌、脑癌、胃癌^[1]。

世界范围内,目前胃癌高居肿瘤死亡的第2位,也是消化系统较为常见的肿瘤之一。据卫生部统计,我国自90年代以来恶性肿瘤死亡率排名第1位为胃恶性肿瘤。目前对于胃癌的治疗仍然以全身化疗为主要方法,化疗无标准方案,对于晚期胃癌的患者主要采用以顺铂为基础的联合化疗。近年来,关于中药治疗胃癌的生物疗效得到了大量的研究^[1]。化疗过程中使用的化学合成药物价格较为昂贵,有

收稿日期:2015-12-01

基金项目:浙江省中医药管理局基金项目(No:2013ZA024)

作者简介:王奇,男,副主任中药师,学士,研究方向:中药药理和实验研究

通讯作者:王奇, E-mail: WQ1991618@163.com

些甚至贵如黄金,而且很多毒副作用较大,中药及其有效组分对于肿瘤的治疗作用比化学药物有着的较好甚至无可比拟的优势。因此中药及其有效组分的治疗肿瘤的研究在世界范围内已逐渐成为热门的研究课题。不断发掘中医中药的优势,协同现代医学治疗,发挥药物的最佳疗效,在临床应用中取得了较有意义的疗效。抗肿瘤中药,如蛇六谷,在配合化疗过程中使用,可在抗肿瘤转移中起到更大作用。

通过前期研究,发现蛇六谷乙烯醇提取物在体外具有抑制 MFC 胃癌细胞增殖的作用^[2-3],是能够治疗胃癌小鼠的有效部位。临床治疗上,在研究抗肿瘤中药治疗效果的同时,其可能引发的不良反应也是需要关注的重点。在此基础上,本实验旨在探究蛇六谷乙烯醇提取物对胃癌小鼠免疫能力的影响,是否可能产生毒性反应。本文观察了正常小鼠皮下接种 MFC 胃癌,使用蛇六谷乙烯醇提取物连续喂食 3 周后,其外周血中的血象,从而探究蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 瘤株及实验动物 MFC 胃癌细胞株购自上海中科院细胞库;清洁级,C57 BL/6 小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司(许可证号:SCXK(沪)2012-0002),4-6 周龄。40 只,雌雄各半。

1.1.2 主要药剂及试剂 蛇六谷粗粉由浙江省肿瘤医院中药库提供,经芦柏震主任中药师鉴定为蛇六谷。顺铂为齐鲁制药有限公司产品(批号 20141031),多聚羧基纤维素钠为国药集团化学试剂有限公司产品。

RPMI 1640 培养基(美国 Gibco),小牛血清(杭州四季青)。

1.2 方法

1.2.1 蛇六谷乙烯醇提取物的获取 称取定量蛇六谷饮片,磨成粗粉,并用 95%乙醇浸泡回流,重复多次并回收乙醇,然后依次用乙烯醇萃取,将萃取层液体减压浓缩,过滤除菌,4℃冰箱保存待用。

1.2.2 小鼠肿瘤模型建立 小鼠 MFC 胃癌使用添加 10%小牛血清的 RPMI 1640 培养液,于 37℃ 5%CO₂培养箱中培养。将 MFC 胃癌细胞消化后,配置细胞浓度为 200 万/ml,小鼠腋窝下注射 0.2 ml,饲养 3 周后,瘤块长至大小约直径 1 cm。无菌

条件下取出肿瘤,切成大约 1 mm³的小块,用套管针将肿瘤小块平均注射至小鼠腋腹部皮下,约为 8 mm³/只。2 周后至肿瘤大小长到约半个黄豆大进行实验。

1.2.3 实验分组与给药 将小鼠随机分为 3 组,每组 8 只,雌雄各半,分别是无瘤,荷瘤生理盐水对照喂食组和荷瘤蛇六谷乙烯醇提取物喂食组。提取物粉末用生理盐水配成悬浊液,浓度为 0.2 g/ml。溶剂对照组灌食等量生理盐水溶液,操作同前。

1.2.4 实验步骤及观察指标 小鼠接种部位接种前 2 d 用过硫酸钠脱毛,方便以后测量。接种 2 周后至肿瘤大小长到约黄豆大进行实验。每只小鼠每次灌胃 0.2 ml,灌前摇匀。每天一次,每周灌胃 5 d。给药前各组鼠称重(W₁),并在给药 19 d 和 33 d 后分别称重,记为 W₂ 和 W₃,并用游标卡尺测量肿块长(L)短(W)径。33 d 称重后眼球放血处死小鼠,血液经肝素抗凝处理后测定血细胞数量。将小鼠解剖,取脾称重(W_s),荷瘤组将肿瘤剥离称瘤重(W_t)。

小鼠肿块体积按公式 $V=1/2LW^2$ 计算。

抗凝血上血球分析仪分析计数。

1.3 统计学处理

实验结果采用 $\bar{x} \pm s$ 方式表示,采用 SPSS 17.0 软件,用 ANOVA 进行总体及两组间比较分析。

2 结果

2.1 各组间不同时间点体重比较

将 W₃-W_t 记为 W₄,W₁、W₂、W₃ 和 W₄ 值见表 1。

由表 1 可见,前 3 组在整个实验过程中体重变化差异均无统计学意义,在将荷瘤组处死前体重减轻去处死后剥取的肿瘤重后,体重同样差异无统计学意义。

2.2 各组间点血细胞计数比较

由表 2 可见,荷瘤组较无瘤组的白细胞明显增多,其它各项血细胞变化差异无统计学意义。

荷瘤蛇六谷组跟荷瘤组比较的各项血细胞变化差异无统计学意义。

2.3 各组间脾重变化比较

由表 3 可见,与荷瘤对照组比较,无瘤对照组和荷瘤蛇六谷组无论是脾重还是脾重/体重差异均无统计学意义。

表 1 各实验组小鼠在不同时间点的体重变化

组别	W ₁	W ₂	W ₃	W ₄
无瘤对照	26.73±2.39	26.80±2.67	26.83±2.27	26.83±2.27
荷瘤对照	26.56±2.96	26.06±2.68	26.44±2.89	26.19±2.68
荷瘤蛇六谷	28.87±2.61	28.60±2.56	28.97±2.45	28.92±2.45

g

表2 各实验组小鼠的血细胞计数变化

组别	白细胞	红细胞	血红蛋白	血小板
无瘤对照	7.79±2.48 ^{D)}	10.14±0.98	14.61±1.61	886.38±403.48
荷瘤对照	9.60±2.52	9.99±0.77	13.82±1.36	673.20±442.51
荷瘤蛇六谷	9.33±2.70	10.13±1.19	11.73±5.92	976.00±742.24

与荷瘤对照比较,^{D)} $P < 0.05$ 。

表3 各实验组小鼠脾重变化

组别	脾重	脾重/体重
无瘤对照	0.10±0.00	0.38±0.04
荷瘤对照	0.12±0.05	0.45±0.15
荷瘤蛇六谷	0.10±0.00	0.35±0.03

3 讨论

中药中提取抗癌的相关成分已经成为肿瘤研究中的一个富有前景的方向。由于肿瘤常规化疗过程中使用的化学药物价格昂贵,且对患者机体的伤害较大,相比之下,中药及从中提取的有效组分对于肿瘤的治疗作用有一定的优势。因此,筛选临床疗效显著、具有应用前景的中药治疗肿瘤,必将有利提高肿瘤的治疗水平。前期的临床观察显示,含有蛇六谷的复方中药对于减少肿瘤患者不良反应、提高患者生存质量、降低肿瘤的转移复发、延长生存时间具有一定的作用。据报道^[4],含有白花蛇舌草、黄芪、蛇六谷等中药复方结合介入治疗乳腺癌肝转移,其总有效率为40%,1、2、3年的生存率分别为62.24%,31.12%,10.37%。使用中药复方蛇六谷、黄芪等配合化疗治疗胃癌术后36例患者,结果表明,相比对照组单纯化疗治疗32例患者,1年内局部淋巴结转移及远处转移分别为10例/18例,未见复发及转移22例/11例,表明含有蛇六谷的中药复方在治疗肿瘤过程中可起到提高晚期肿瘤患者的生活质量,降低胃癌等恶性肿瘤的转移作用。近来,有研究者对蛇六谷使用乙醇、石油醚、乙酸乙酯及水分别进行抽提,得到四个提取成分,经过抗肿瘤的体内外研究来进行活性筛选的研究,证实其乙酸乙酯、石油醚萃取物有较好的抑制肿瘤作用。通过前期研究我们发现蛇六谷乙烯醇提取物在体外具有抑制MFC胃癌细胞增殖的作用,因此,本文中我们进一步探究了蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠血细胞的影响,研究其对血细胞的毒性作用,为临床蛇六谷乙烯醇的广泛应用提供指导。

体重变化是衡量小鼠生长状态的重要指标之一,短期暴长或暴瘦都说明小鼠生长不正常。在本实验中,各组小鼠在33 d时间内3次称量体重,无瘤组小鼠、荷瘤对照组和蛇六谷治疗组的体重基本没有变化,表明蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠没有急性毒性作用。

脾是重要的淋巴造血器官,具有造血、滤血、清除衰老血细胞及产生淋巴细胞及单核细胞,参与免疫反应等功能。血细胞毒性试验中,3组小鼠脾体积正常,3组小鼠之间脾重差异无统计学意义。将脾重除以相应体重后,其比值可以消除小鼠个体差异的影响,可以更客观地反映小鼠的脾的情况,结果显示,3组小鼠的脾重/体重比值也无显著差异。通过自动血球计数仪计数,我们发现荷瘤组较无瘤组的白细胞明显增多,而其它各项血细胞变化无显著差异,表明接种MFC肿瘤块能引起小鼠生理应激反应,从而引起血液细胞的指标变化。荷瘤蛇六谷组较荷瘤对照组,小鼠的各项血细胞变化并未表现出显著差异,说明蛇六谷乙烯醇提取物对小鼠的血细胞并不会引起不良免疫反应,无毒性作用。

综上所述,本实验验证了蛇六谷乙烯醇部位对小鼠血细胞无毒性作用,是安全的抗胃癌部位。为以后的治疗实验奠定了良好的基础,并为蛇六谷的乙烯醇提取物作为抗肿瘤药物提供了临床前研究的指导。

参考文献

- [1] 韩安榜,林崇良. 中药蛇六谷的研究进展[J]. 中国药业, 2009, 18(12):88-90.
- [2] 陈培丰,常中飞,潘磊. 蛇六谷乙酸乙酯部位抗肿瘤活性组分筛选[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2):121-124.
- [3] 陈培丰,吴巧凤,丁志山,等. 中药蛇六谷提取物对人大胃癌SGC-7901细胞增殖影响的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(11):2313-2316.
- [4] 蔡永,李小平. 健脾理气中药结合介入治疗乳腺癌肝转移40例[J]. 陕西中医, 2005, 26(6):491-493.