

冬虫夏草水煎剂联合顺铂对荷瘤小鼠抑瘤作用的实验研究*

黄展¹, 田寅¹, 李怀荆², 曲桂霞^{1△}, 江清林^{2▲}

(1. 佳木斯大学附属第一医院药剂科, 黑龙江佳木斯 154003; 2. 佳木斯大学基础医学院药理教研室, 黑龙江佳木斯 154007)

摘要:目的 研究冬虫夏草水煎剂联合顺铂对荷瘤小鼠的抑瘤作用。方法 对预先接种结肠癌细胞株 HCT8 的荷瘤小鼠分 5 组, 每组 10 只, 其中 3 组冬虫夏草水煎剂联合顺铂灌胃于荷瘤小鼠(冬虫夏草水剂量为 2.5、5.0、10 g/kg), 每天 1 次, 连用 12 d; 另外, 1 组给予生理盐水灌胃(空白对照组); 1 组给予顺铂灌胃(阴性对照组)。测定应用不同浓度的冬虫夏草水煎剂灌胃, 观察荷瘤小鼠瘤体质量的变化。结果 对冬虫夏草水煎剂各剂量组的平均瘤体质量与生理盐水组相比差异有统计学意义($P < 0.01$), 且冬虫夏草水煎剂 2.5、5.0 g/kg 组和顺铂组小鼠的瘤体质量比较, 瘤体质量减轻, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 冬虫夏草水煎剂对荷瘤小鼠具有一定的辅助抑瘤作用。

关键词:冬虫夏草水煎剂; 辅助抑瘤作用; 荷瘤小鼠

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.15.025

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)15-1896-02

Research on the tumor suppression of Chinese caterpillar fungus water decoction combined cisplatin on tumor burdened mice*

Huang Zhan¹, Tian Yin¹, Li Huaijing², Qu Guixia^{1△}, Jiang Qinglin^{2▲}

(1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154003, China; 2. School of Medicine Pharmacology Teaching and Research, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007, China)

Abstract: Objective To study the tumor suppression of Chinese caterpillar fungus water decoction combined cisplatin on a tumor burdened mice. Methods The beforehand vaccinal HCT8 tumor burdened mice were randomly divided into 5 groups ($n = 10$), then 3 groups of Chinese caterpillar fungus water decoction were given a tumor burdened mice stomach (2.5, 5.0, 10 g/kg), 1 times a day, 12 d, 1 group of mice were given saline. 1 group were given cisplatin. Determination of different concentrations of cordyceps water decoction lavage, then observe the changes of tumor-burdened bone tumors in mice weight. Results For vaccination HCT8 tumor burdened bone tumors had an average weight of each dose group mice compared with saline group have significant difference ($P < 0.01$), while Chinese caterpillar fungus water decoction (2.5, 5.0 g/kg) and cisplatin group mice tumor block is more significant difference ($P < 0.01$), the tumors had the lighter weight. Conclusion Chinese caterpillar fungus water decoction has tumor suppression effect on tumor burdened mice.

Key words: Chinese caterpillar fungus water decoction; secondary tumor suppression effect; a tumor burdened mice

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的干燥复合体。性味与归经为甘, 平。归肺、肾经^[1]。主产于四川、青海、西藏、云南等海拔 4 000~5 000 m 的高山草甸土中, 是较名贵中药材^[2]。据报道, 冬虫夏草含水分 10.84%、粗蛋白 25.32%、粗纤维 18.55%、碳水化合物 28.9%、灰分 4.1%、脂肪 8.4%, 还有多种氨基酸、麦角甾醇及其氧化物、D-甘露醇、硬脂酸、尿嘧啶、腺嘌呤、次黄嘌呤, 并有抑菌、抗病毒抗癌作用的 3'-去氧腺苷等成分^[3]。

本研究通过建立荷瘤小鼠模型, 采用不同浓度的冬虫夏草水煎剂联合顺铂对其作用, 观察不同浓度的冬虫夏草水煎剂联合顺铂抑制肿瘤生长情况, 为冬虫夏草用于肿瘤的预防和辅助治疗提供实验依据。

1 材料与方

1.1 实验动物 清洁级昆明小鼠, 取 50 只小鼠, 体质量 18~22 g, 雌雄各半, 购于大连医科大学实验动物中心, 许可证号: SCXK(辽)2008-0002, 饲养于佳木斯大学实验动物中心: SYXK(黑)2001-021。实验前皮下接种结肠癌细胞株 HCT8

的小鼠各 50 只(在无菌条件下操作)。分 5 组, 每组 10 只, 实验组用冬虫夏草水煎剂设 3 个剂量(2.5、5、10 g/kg, 灌胃给药)联合顺铂的实验组; 顺铂为阳性对照组(5.0 g/kg, 灌胃给药)。空白对照组给予灭菌生理盐水灌胃。每天 1 次, 连续 12 d, 记录荷瘤小鼠的生长体质量情况并处死称取瘤体质量。

1.2 方法 首先将预先接种 HCT8 的荷瘤小鼠断头处死, 由腹腔抽取瘤液, 用生理盐水按 1:3 比例稀释成 5×10^6 /mL 悬液^[4], 每只小鼠皮下注射 0.3 mL 进行接种, 并在无菌条件下进行操作。1 d 后给药。冬虫夏草购于大仁堂药店, 产地为青海玉树, 由青海省藏医药研究所监制。冬虫夏草水煎剂按常规煎制^[5], 制成含量不同浓度的生药(2.5、5.0、10 g/kg), 其水煎剂供小鼠灌胃。实验组于给药 12 d 后, 次日断头处死荷瘤小鼠, 剥离瘤块称其质量(用 NT 型托盘扭力天平称质量)。并计算抑瘤率。抑瘤率 = (对照组瘤质量 - 给药组瘤体质量) / 对照组瘤体质量 $\times 100\%$ ^[5]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目: 黑龙江省卫生厅科研基金资助项目(2013-228)。 作者简介: 黄展(1978-), 主管药师, 硕士, 主要从事肿瘤药物的研究。 △

通讯作者, Tel: (0454)8623363; E-mail: hljyjkx@163.com。 ▲ 通讯作者, Tel: (0454)8623805; E-mail: jqljms@126.com。

表 1 冬虫夏草水煎剂对 HCT8 荷瘤小鼠的抑瘤作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	冬虫夏草水煎剂剂量 (g/kg)	小鼠体质量(g)		瘤体质量(g)	抑瘤率(%)
		开始	结束		
空白对照组	—	20.42±1.71	22.78±1.52	1.25±0.26	—
阳性对照组	—	20.21±1.43	22.36±1.30	0.82±0.04	66.64
实验组	2.5	20.94±1.83	22.48±1.47	0.73±0.15*	68.82
	5.0	20.68±1.40	21.61±1.76	0.61±0.11*#	73.34
	10.0	21.33±1.12	20.86±1.74	0.44±0.08*#	79.32

*: $P < 0.01$, 与空白对照组比较; #: $P < 0.05$, 与阳性对照组比较; —: 表示此项无数据。

2 结 果

2.1 各实验组对荷瘤小鼠体质量和外形变化影响 2.5、5.0、10.0 g/kg 剂量的实验组与空白对照组小鼠相比, 荷瘤小鼠瘤块明显减小, 空白对照组瘤块质地较软, 界限模糊, 难以剥离, 个别还扩散至胸骨和锁骨等处, 小鼠毛发蓬松零乱、行动迟缓, 体质量增加缓慢, 部分小鼠体质量减轻。5.0、10.0 g/kg 剂量的实验组和阴性对照组小鼠的瘤块比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 2.5 g/kg 剂量实验组和阴性对照组小鼠的瘤块比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各剂量实验组瘤块界限清晰, 质地较硬, 容易剥离; 对小鼠的外形基本无影响, 其毛发、活动及体质量基本正常。

2.2 各剂量实验组小鼠体质量及瘤体质量比较 各剂量的冬虫夏草水煎剂顺铂联合对 HCT8 异种移植瘤小鼠有明显的抗肿瘤作用, 使瘤体质量显著减轻, 与空白对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。5.0、10.0 g/kg 实验组和阴性对照组小鼠的瘤块比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 2.5 g/kg 剂量实验组和阴性对照组小鼠的瘤块比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 剂量为 10.0 g/kg 时, 抑瘤率可达到 79.32%, 见表 1。

3 讨 论

肿瘤是严重威胁人类的主要疾病。中国肿瘤发病率和病死率均呈逐渐上升趋势, 成为严重危害患者身心健康的疾病。而化疗药物在治疗恶性肿瘤的过程中杀伤肿瘤细胞的选择性不强, 在杀灭肿瘤细胞的同时, 将人体的正常细胞也一起杀伤, 并有明显的不良反应。有学者研究了灰树花多糖加顺铂对 H22 荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡的影响, 发现有协同作用^[6]。冬虫夏草是中国传统的名贵中药, 含有核苷、多糖、甾醇、氨基酸等多种活性成分, 传统中医认为有补益功效, 具有免疫调节、抗肿瘤、降血糖、抗氧化等多种药理作用^[7]。冬虫夏草作为一种补益类抗肿瘤中药, 具有益精壮阳、扶正益气、补肺平喘、强身延年、抗肾损伤和抗肿瘤等功效^[8]。已有研究表明, 冬虫夏草、冬虫夏草固体发酵物水提液、冬虫夏草菌丝体多糖、冬虫夏草口服液、冬虫夏草子实体等对肾病大鼠肾脏、免疫功能低下小鼠、肾缺血-再灌注大鼠尿 IL-18 水平、小鼠抗疲劳和耐缺氧能力、抗病毒性心肌炎慢性期小鼠心肌纤维化、焦虑小鼠行为干预、大鼠离体肝脏、免疫性肝损伤小鼠模型的保护作用、肝纤维化小鼠 Smad3 蛋白表达及兔 VX2 肝癌模型的疗效均有报道^[9-21]。

本文研究冬虫夏草水煎剂对荷瘤小鼠的抑瘤作用。结果表明, 5、10 g/kg 浓度的冬虫夏草水煎剂加顺铂能明显减轻接种 HCT8 荷瘤小鼠瘤体质量, 较单用顺铂更佳 ($P < 0.05$)。且对不同剂量实验组的荷瘤小鼠外貌和体型保持了基本正常, 表

明在此剂量范围内未出现毒性反应, 为临床应用虫草抗肿瘤治疗和肿瘤化疗辅助剂提供了实验室依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:327-335.
- [2] 赵余庆, 于明, 陈立君, 等. 冬虫夏草属真菌化学研究概况[J]. 中草药, 1999, 30(12):950.
- [3] 郭宏春, 高继仓, 习欠云, 等. 冬虫夏草研究进展[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(1):50-55.
- [4] 杨中林, 付启凤. 炮制甘草对免疫功能的影响[J]. 中药材, 1991, 14(2):29-30.
- [5] 王丽敏, 王跃新, 朱秋爽, 等. 金丝桃苷对荷瘤小鼠肿瘤抑制作用研究[J]. 黑龙江医药科学, 2010, 33(2):62-63.
- [6] 吕冬霞, 杜伟, 范晓艳, 等. 灰树花多糖联合顺铂对 H22 荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34(3):72-74.
- [7] 胡敏, 皮惠敏, 郑元梅. 冬虫夏草的化学成分及药理作用[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11):2804-2806.
- [8] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 915-918.
- [9] 王英. 冬虫夏草对阿霉素肾病大鼠肾脏氧化应激的影响[J]. 中国老年保健医学, 2012, 10(5):9-11.
- [10] 黄仁发, 康雷, 程新, 等. 冬虫夏草对肾缺血-再灌注大鼠尿 IL-18 水平的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(7):739-740.
- [11] 罗小平, 刘曦, 曹闻挺, 等. 冬虫夏草经肿瘤滋养动脉插管注入对兔 VX2 肝癌模型的疗效研究[J]. 重庆医学, 2012, 41(31):3246-3250.
- [12] 袁明霞, 唐荣, 周巧玲, 等. 冬虫夏草对糖尿病肾病大鼠肾脏 HIF-1 α 及 VEGF 表达的影响[J]. 中南大学学报: 医学版, 2013, 38(5):448-455.
- [13] 闫文娟, 李泰辉, 谢意珍. 冬虫夏草固体发酵物水提液对免疫功能低下小鼠的影响[J]. 食用菌学报, 2013, 20(1): 75-79.
- [14] 王盼, 朱培新, 梁运祥, 等. 冬虫夏草菌丝体多糖对小鼠抗疲劳和耐缺氧能力的影响[J]. 食品科技, 2012, 37(10): 64-68.
- [15] 吴岚, 宋丽君, 张春艳, 等. 冬虫夏草抗病毒性心肌炎慢性期小鼠心肌纤维化的研究[J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(4):359-363.
- [16] 汪家春, 朱伟, 张慧, 等. 冬虫夏草口服(下转第 1900 页)

本实验中,实验组豚鼠血清中的 IL-10 水平较对照组明显升高,提示 IL-10 可能也参与了过敏性休克反应过程。研究证实 IL-10 在体内主要由肥大细胞、Treg、Bregs 等细胞产生,IL-10 可抑制肥大细胞 FcεRI 的表达,抑制 T 淋巴细胞增殖,抑制 Th2 细胞因子合成等过敏性休克速发相的关键环节,实现对 IgE 介导 I 型超敏反应速发相的抑制。有研究显示,严重创伤伴休克患者血清中的 IL-10 水平明显升高^[13],感染性休克患者血清中 IL-10 水平明显高于单纯细菌性感染的患者^[15],Stone 等^[16]研究发现临床上诊断为过敏性休克患者血清中 IL-10 的水平较健康人血清中的水平有较显著升高,并且 IL-10 水平升高的幅度与休克严重程度呈正相关,在过敏性休克的病理生理过程中,过敏反应引起的严重休克更具致命性。因此推测当过敏性休克引发严重休克时,血清中的 IL-10 大量合成,其在血清中水平升高程度又与休克的严重程度相关,其可能在扩张血管,引起循环衰竭中起重要作用。目前尚不清楚引发 IL-10 在过敏性休克血清中水平变化的机制,IL-10 在细胞因子网络中如何起调控作用,以及 IL-10 与 IgE 如何相互作用需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Shen YW, Li L, Grant J, et al. Anaphylactic deaths in Maryland(United States) and Shanghai(China): A review of forensic autopsy cases from 2004 to 2006[J]. *Forensic Sci Int*, 2009, 186(1/3): 1-5.
- [2] Lieberman P, Camargo CA, Bohlke K, et al. Epidemiology of anaphylaxis: findings of the American College of Allergy, Asthma and Immunology Epidemiology of Anaphylaxis Working Group [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006, 97(5): 596-602
- [3] 陈炯垣, 赖跃, 李冬日, 等. 混合人血清诱发豚鼠过敏反应死亡模型的改良[J]. *法医学杂志*, 2012, 28(6): 408-412.
- [4] 刘勇, 陈小倩, 李航, 等. 豚鼠过敏性休克死亡白细胞介素-4, 白细胞介素-13 与免疫球蛋白 E 的表达及法医学意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(11): 1322-1324.
- [5] Simons FE, Arduoso LR, Bilò MB, et al. World allergy organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis[J]. *World Allergy Organ J*, 2011, 4(2): 13-37.
- [6] Pumphrey RS, Roberts IS. Postmortem findings after fatal anaphylactic reactions[J]. *J Clin Pathol*, 2000, 53(4): 273-276.

- [7] Castells MC. Anaphylaxis and hypersensitivity reactions [M]. New Jersey: Humana Press, 2011: 33-46.
- [8] 高彩荣, 郭相杰, 孙俊红, 等. 过敏性休克急死豚鼠血清和肺组织内 IgE 的变化及法医学意义[J]. *中国法医学杂志*, 2007, 22(6): 369-371.
- [9] Kevin D, John F, Ross E. Utilization of serum tryptase and immunoglobulin E assay in the postmortem diagnosis of anaphylax[J]. *Am J Forensic Med Pathol*, 2004, 25(1): 37-43.
- [10] Miyajima I, Dombrowicz D, Martin TR, et al. Systemic anaphylaxis in the mouse can be mediated largely through IgG1 and Fc gammaR III. Assessment of the cardiopulmonary changes, mast cell degranulation, and death associated with active or IgE or IgG1 dependent passive anaphylaxis[J]. *J Clin Invest*, 1997, 99(5): 901-914.
- [11] 肖凤, 王伴青, 唐和生, 等. 过敏性休克死亡豚鼠脏器中 IgE、IL-4 的表达及其法医学意义[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2006, 27(2): 181-183, 187.
- [12] Gaspard I, Guinpepain MT, Laurent J, et al. IL-4 and IFN-gamma mRNA induction in human peripheral lymphocytes specific for beta-lactam antibiotics in immediate or delayed hypersensitivity reactions[J]. *J Clin Immunol*, 2000, 20(2): 107-116.
- [13] 丁杰, 吴理香, 付贵峰. 重度创伤伴失血性休克患者血清白介素-10 的动态变化[J]. *中国基层医药*, 2008, 15(3): 357-358.
- [14] Gessner A, Mohrs K, Mohrs M. Mast cells, basophils, and eosinophils acquire constitutive IL-4 and IL-13 transcripts during lineage differentiation that are sufficient for rapid cytokine production[J]. *J Immunol*, 2005, 174(2): 1063-1072.
- [15] 李秀华, 陈永铭, 洪亮, 等. 低剂量氢化可的松治疗感染性休克时对外周血 T 淋巴细胞凋亡的影响及机制[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2011, 31(5): 730-735.
- [16] Stone SF, Cotterell C, Isbister GK, et al. Elevated serum cytokines during human anaphylaxis: Identification of potential mediators of acute allergic reactions[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(4): 786-792.

(收稿日期: 2013-10-08 修回日期: 2014-03-10)

(上接第 1897 页)

- 液对焦虑小鼠行为干预的研究[J]. *中成药*, 2012, 34(3): 569-572.
- [17] 叶良平, 陆璐, 王善如, 等. 冬虫夏草提取物对模型大鼠血糖及氧化应激的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(12): 40-42.
- [18] 张佳伟, 黄建钊, 赵鹏伟, 等. 冬虫夏草在大鼠离体肝脏保存中的实验研究[J]. *中国民族民间医药*, 2013, 2: 12-14.
- [19] 栾洁, 陈雅琳, 储智勇, 等. 冬虫夏草子实体对小鼠抗疲劳及耐缺氧能力的影响[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(1):

47-48.

- [20] 方士英, 徐茂红, 叶良兵, 等. 冬虫夏草对免疫性肝损伤小鼠模型的保护作用研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(10): 891-895.
- [21] 吴建良, 王志勇, 孙丽伟, 等. 冬虫夏草对肝纤维化小鼠 Smad3 蛋白表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2011, 20(11): 1786-1789.

(收稿日期: 2014-01-11 修回日期: 2014-03-15)