



扶正化积方剂对 H22 肝癌小鼠抑瘤的作用

李晓娟¹, 白云峰², 王睿林², 邬顺全¹, 侯俊¹, 李瑞生¹

(1. 解放军第302医院实验技术研究保障中心, 北京 100039;
2. 解放军第302医院中西医结合肝病诊疗与研究中心, 北京 100039)

【摘要】 目的 研究扶正化积方(FZHJF)对小鼠H22肝癌移植瘤的抑制作用及对免疫功能的影响。方法 建立小鼠皮下H22移植性肝癌模型,随机分为模型对照组、FZHJF低、中、高剂量组(4.55、13.65、40.95 g/kg)和5-氟尿嘧啶组(0.2 mL/10 g),连续给药12 d后,采集肿瘤与脏器称重并计算抑瘤率、肝脏指数、脾脏指数和胸腺指数;同时对各组肿瘤外观和肿瘤病理进行分析。**结果** 肿瘤病理结果显示均为典型的肝细胞癌。FZHJF剂量组的瘤重显著低于模型对照组($P < 0.05$),FZHJF的抑瘤率随剂量升高而增加,高剂量组的抑瘤率(49.02%)接近5-FU组(51.51%);肿瘤外观图显示FZHJF从低剂量至高剂量组的肿瘤体积呈现逐渐减小的趋势,且均小于模型对照组。FZHJF各剂量组的脾脏指数与胸腺指数均显著高于模型对照组与5-FU组($P < 0.05$)。**结论** FZHJF对H22肝癌移植瘤具有显著的抑制作用和免疫增强作用,为今后临床研究提供了试验数据。

【关键词】 FZHJF;移植性肝肿瘤;抑瘤率;免疫功能

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015)11-0042-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2015.11.010

Experimental study of Fuzheng Huaji decoction inhibition effect on H22 tumor bearing mice

LI Xiao-juan¹, BAI Yun-feng², WANG Rui-lin², WU Shun-quan¹, HOU Jun¹, LI Rui-sheng¹

(1. Experimental Research Support Center, Beijing 100039, China; 2. Liver Disease Center for Combined TCM and Western Medicine, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

【Abstract】 **Objective** To study the anti-tumor and immune effects of FZHJF on H22 liver cancer-bearing mice. **Methods** The H22 transplanted mouse models were established and randomly divided into five groups: model group, low-, medium- and high-dose FZHJF (4.55, 13.65, 40.95g/kg) and 5-Fu groups (0.2mL/10g). 12 days after treatment, the tumor inhibitory rate, liver index, thymus index, spleen index were calculated. At the same time, the appearance of liver tumor and tumor pathology in different groups was analyzed. **Results** Pathology results confirmed the tumors were hepatocellular carcinoma. Tumor weight in FZHJF groups were lower than those of the model group ($P < 0.05$); the tumor inhibitory rate increased with the dosage, and the tumor inhibitory rate in high dose group (49.02%) closed to 5-Fu group (51.51%); the results of tumor appearance showed that the tumor volume have the trend of reduce gradually, and is smaller than the control group. Thymus index and spleen index in FZHJF groups were markedly higher than those of the model and

【基金项目】解放军第302医院院长创新基金(YNKT2013026)。

【作者简介】李晓娟(1980-),女,硕士,E-mail: sxlily55@163.com;白云峰(1970-),男,博士;李晓娟和白云峰为并列第一作者。

【通讯作者】李瑞生(1969-),男,博士,副研究员,主要从事人类疾病动物模型研究,E-mail: lrsheng@sohu.com;侯俊(1973-),女,博士,副主任技师,E-mail: houjun5757@sina.com。

5-FU groups ($P < 0.05$). **Conclusion** FZHJF has significant anti-tumor effect on transplanted H22 tumor in mice and has the function of immunological enhancement, and these results will provide theoretical foundation for clinical practice of FZHJF.

【Key words】 FZHJF; Transplanted liver cancer; The tumor inhibitory rate; Immune function

目前临床上的原发性肝癌死亡率较高,位居各种恶性肿瘤的第三位^[1]。由于其起病隐匿,发展迅速,预后差,因而对肝癌的防治研究以及降低其发病率和死亡率仍是目前面临的一个重要课题^[2-3]。迄今为止,肝癌仍以手术治疗为首选,但部分患者发现时已处于中晚期而不能手术,或手术后出现转移造成预后不良,因此迫切需要探索寻找疗效更好的治疗药物和其他方法^[4]。我国是中医药大国,中医药在抑制肿瘤生长,提高患者生存质量和延长患者生命等方面有着得天独厚的优势,已逐渐成为各种疾病研究的热点^[5]。FZHJF(抗癌方)经临床观察,对肝癌有明显的抑制作用并能改善患者生存质量和延长其生命。为探讨该方药的抗癌作用机制,本实验通过建立小鼠 H22 肝癌移植瘤模型,观察 FZHJF 对小鼠 H22 肝癌移植瘤的生长抑制作用及其对免疫功能的影响,以期为该方剂的药理机制研究和临床应用提供可靠的实验数据打下坚实的基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物与瘤株细胞

选择 SPF 级昆明小鼠 45 只,雄性,20~22 g,购自军事医学科学院实验动物中心,生产许可证【SCXK(军)2012-0004】。本实验室具有 SPF 级实验动物使用许可证【SYXK(军)2012-0010】。H22 肝癌细胞株来源于解放军 302 医院药学部实验室。

1.2 实验药物

注射用 5-氟尿嘧啶(5-FU, 0.25 g/10 mL)购自上海旭东海普药业有限公司,批号 FA131122;生理盐水由解放军第 302 医院制剂室提供(石家庄四药有限公司,批号:130527405);抗癌方剂 FZHJF 颗粒是由党参、炙黄芪、焦白术、茯苓、白芍、地龙肉、玄参、草河车、半枝莲、红花、生牡蛎、干姜、天花粉、夏枯草、当归、丹皮、鸡内金、山甲珠、炙甘草、白花蛇舌草配伍组成,由 302 医院药剂室配置,15 g/袋。

1.3 模型制备及分组

将制备好的 H22 细胞悬液(癌细胞数调至 $1 \times$

10^8 /mL)注射于小鼠右侧腋窝下(0.2 mL/只)^[4]。接种 24 h 后将小鼠随机分为 5 组(9 只/组):模型对照组, FZHJF 颗粒低、中、高剂量(4.55、13.65、40.95 g/kg)组、5-FU 组。FZHJF 的剂量根据人临床剂量换算,换算公式:小鼠剂量(g/kg) = $9.1 \times$ 人临床剂量(0.5 g/kg)。此剂量作为低剂量,中剂量与高剂量分别为低剂量的 3 倍和 9 倍。FZHJF 各剂量组的灌胃容量为 0.55 mL/20 g 小鼠体重,模型对照组灌胃等容积的生理盐水,5-FU 组腹腔注射(0.2 mL/10 g),1 次/d,连续 12 d。

1.4 检测指标

末次给药后次日称体重,处死小鼠剖取肿瘤称重。根据公式计算抑瘤率 = $[1 - (\text{实验组平均瘤重} / \text{对照组平均瘤重})] \times 100\%$;同时采集各组小鼠的肝脏、胸腺和脾脏分别称重,计算各组小鼠的肝脏指数、脾脏指数和胸腺指数^[6]。将各组剥离的肿瘤组织置入 10% 甲醛固定,HE 染色观察^[4]。

1.5 统计学方法

应用 SPSS17.0 分析软件进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析并进行组间两两比较分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物对各组 H22 荷瘤小鼠一般状态、体质量和肿瘤的影响

实验前小鼠活动、饮食、毛色均无异常。实验第 5 天各组小鼠腋下均可触及肿瘤,5-FU 组小鼠毛色较暗,易激惹。给药前各组小鼠体重无统计学差异($P > 0.05$),实验结束时,与模型对照组比较,5-FU 组的体质量显著降低($P < 0.05$);而 FZHJF 中、高剂量组的体质量显著高于 5-FU 组($P < 0.05$)。与模型对照组比较, FZHJF 中、高剂量组和 5-FU 组的瘤重显著减轻($P < 0.05$);而 FZHJF 低剂量组的瘤重显著高于 5-FU 组与高剂量组($P < 0.05$)。FZHJF 的抑瘤率随剂量升高而增加,高剂量组抑瘤率接近于 5-FU 组(表 1)。

表 1 FZHJF 对 H22 荷瘤小鼠体质量、瘤重及抑瘤率的影响

Tab. 1 Effect of FZHJF on body weight, the tumor weight and inhibition rate of H22-bearing mice

组别/指标 Group/indicatrix	给药前体重(g) Weight before dose	给药后体重(g) Weight after dose	瘤重(g) Tumor weight(g)	抑瘤率(%) The tumor inhibitory rate (%)
模型对照组 Model group	20.97 ± 1.24	35.78 ± 2.41	1.02 ± 0.67	—
5-FU 组 5-Fu group	21.69 ± 1.07	32.61 ± 3.10 [*]	0.49 ± 0.15 [*]	51.51
FZHJF 低剂量 FZHJF low dose group	21.03 ± 0.69	34.56 ± 2.16	0.90 ± 0.24 ^{Δ#}	11.76
FZHJF 中剂量 FZHJF med dose group	21.63 ± 1.12	36.31 ± 2.63 ^Δ	0.61 ± 0.17 [*]	40.20
FZHJF 高剂量 FZHJF high dose group	21.54 ± 1.14	36.33 ± 1.99 ^Δ	0.52 ± 0.34 [*]	49.02

注:与模型对照组比较;^{*} $P < 0.05$ 。与 5-FU 组比较;^Δ $P < 0.05$ 。与高剂量组比较;[#] $P < 0.05$ 。

Note:Compared with the model group;^{*} $P < 0.05$. Compared with the 5-FU group;^Δ $P < 0.05$. Compared with the high dose group;[#] $P < 0.05$.

2.2 药物对各组 H22 荷瘤小鼠肿瘤大小作用的对比分析

各组荷瘤小鼠的肿瘤病理结果均证实为典型的肝细胞癌。各组小鼠的肿瘤外观图对比显示:模型对照组肿瘤较大,FZHJF 从低剂量至高剂量组的肿瘤体积呈现逐渐减小的趋势,且高剂量组肿瘤的大小与 5-FU 组肿瘤大小相仿(图 1)。

2.3 药物对各组 H22 荷瘤小鼠脏器指数的影响

实验结束时,各剂量组肝脏指数之间均不具有统计学差异($P > 0.05$)。而 FZHJF 各剂量组的胸腺和脾脏指数均显著高于模型对照组和 5-FU 组($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 FZHJF 对 H22 荷瘤小鼠肝脏指数、脾脏指数和胸腺指数的影响

Tab. 2 Effect of FZHJF on liver index, spleen and thymus index of H22-bearing mice

组别/指标 Group/indicatrix	肝脏指数 Liver index	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index
模型对照组 Model group	5.91 ± 0.50	0.14 ± 0.03	0.52 ± 0.11
5-FU 组 5-Fu group	5.74 ± 0.80	0.13 ± 0.03	0.59 ± 0.15
FZHJF 低剂量 FZHJF low dose group	6.03 ± 1.25	0.26 ± 0.12 ^{*Δ}	0.74 ± 0.08 ^{*Δ}
FZHJF 中剂量 FZHJF medium dose group	5.83 ± 0.44	0.30 ± 0.08 ^{*Δ}	0.80 ± 0.14 ^{*Δ}
FZHJF 高剂量 FZHJF high dose group	5.40 ± 0.37	0.28 ± 0.04 ^{*Δ}	0.77 ± 0.16 ^{*Δ}

注:与模型对照组比较;^{*} $P < 0.05$ 。与 5-FU 组比较;^Δ $P < 0.05$ 。

Note:Compared with the model group;^{*} $P < 0.05$. Compared with the 5-FU group;^Δ $P < 0.05$.

3 讨论

中医学认为,原发性肝癌属正气不足,湿热、痰浊、瘀血、气滞等积聚所成。因此,采用扶正培本、活血化瘀、清热解毒是中医治疗肝脏肿瘤的基本原则,而扶正抑瘤法是较高层次的治疗大法,同时需



图 1 各组小鼠移植肿瘤外观比较(标尺 = 1cm)

Fig. 1 The appearance of liver tumors in each group (Bar = 1cm)

要结合不同的治疗方法灵活应用^[7]。邢风举^[8]等报道周仲瑛教授以味少量轻的扶正药物为基础,味多量大的具有不同治疗作用的抗肿瘤药物为主导,佐以数味治疗兼症或新症的药物配伍治疗肝癌,效果甚佳;何仁强^[9]等应用扶正化毒消癌方用于中晚期肝癌患者能改善肝功能、提高生存质量并延长生

存期;苑静波等^[10]以扶正健脾中药联合经肝动脉插管灌注化疗及栓塞治疗肝癌,效果良好。上述研究均在使用“扶正”中药的基础上,加入不同功能的抗肿瘤中药用于临床肝癌的治疗。而本方也同样以扶正培本类中药为基础,加入活血化瘀类和清热解毒类中药(红花、茯苓、半枝莲等),同时配伍软坚散结类药物(牡蛎、夏枯草)以及治疗兼症药物(白芍、地龙肉、玄参等),经长期临床观察效果佳。然而目前国内外有关此方治疗原发性肝癌的基础性研究鲜有报道。

本实验通过建立肝癌 H22 移植瘤小鼠模型,观察 FZHJF(抗癌方)对肝癌移植肿瘤的抑制作用。肿瘤病理结果显示均为典型的肝细胞癌,说明 H22 移植瘤模型成功。中药治疗结果显示,FZHJF 剂量组的瘤重显著低于模型对照组($P < 0.05$),FZHJF 的抑瘤率随剂量升高而增加,高剂量组的抑瘤率(49.02%)接近 5-FU 组(51.51%)。同时肿瘤外观图更加直观地显示 FZHJF 从低剂量至高剂量组的肿瘤体积呈现逐渐减小的趋势。上述结果均说明此方对肝癌荷瘤小鼠的肿瘤生长有明显的抑制作用。众所周知,抗肿瘤治疗必须依靠机体自身免疫功能的增强或者恢复,而胸腺指数和脾脏指数的大小可直接反映机体免疫水平的高低^[11]。本实验结果显示,模型对照组和 5-FU 组的荷瘤小鼠有脾脏指数和胸腺指数降低的现象,说明肿瘤以及化疗药物能导致机体的免疫水平下降。而 FZHJF 各剂量组均能够使荷瘤小鼠的脾脏指数和胸腺指数显著升高($P < 0.05$),说明 FZHJF 可促进胸腺和脾脏细胞的增殖分化,具有一定的免疫增强作用从而增强其抑制肿瘤的效果,此结果与部分中药具有增强机体免疫功能作用结果相一致^[12]。但此方中各味中药各自发挥的抑癌作用需进一步研究。

综上所述,本研究结果表明,FZHJF 对 H22 肝癌移植瘤具有显著的抑制作用,其抑癌作用与 5-FU

相近似,同时还可增强机体胸腺和脾脏细胞的增殖分化,具有免疫增强作用,为 FZHJF(抗癌方)的临床实践提供了试验数据。

参考文献:

- [1] 黄展,辛华,江旭东,等. 独角莲醇提液对 H22 肝癌荷瘤小鼠血清 IL-2 和 TNF- α 水平的影响[J]. 肿瘤药学,2013,3(6): 432-435.
- [2] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. Lancet,2012,379(9822):1245-1255.
- [3] Cao H, Phan H, Yang LX. Improved chemotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. Anticancer Res,2012,32(4):1379-1386.
- [4] 李晓娟,靳雪源,白冰珂,等. PLC ϵ 基因敲除小鼠移植性肝癌模型的建立与分析[J]. 中国比较医学杂志,2014,24(4):5-7.
- [5] Qi F, Li A, Inagaki Y, et al. Chinese herbal medicines as adjuvant treatment during chemo-or radio-therapy for cancer [J]. Biosci Trends,2010,4(6):297-307.
- [6] 李晓娟,张巧云,李蓓,等. BALB/c 突变卷毛小鼠部分生长发育指标初探[J]. 中国比较医学杂志,2013,23(11):36-39.
- [7] 胡陵静,王怀碧,张国铎. 原发性肝癌的中医治疗现状[J]. 中国中医急症,2013,22(2):273-275.
- [8] 邢凤举,李柳,周仲瑛. 周仲瑛教授应用复法大方治疗肝癌[J]. 吉林中医药,2014,34(1):22-25.
- [9] 何仁强,李配富,张宁,等. 扶正化毒消癌方干预原发性肝癌中晚期患者 36 例[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(24):296-300.
- [10] 苑静波,苏春芝,李光荣,等. 扶正健脾中药对介入治疗后肝癌患者相关指标影响观察[J]. 辽宁中医杂志,2011,38(10):2027-2028.
- [11] 李晓晶,王爱洁. 白花蛇舌草和半枝莲微粉配伍对 H22 肝癌小鼠抑瘤作用的实验研究[J]. 江苏中医药,2013,45(7):66-68.
- [12] 蔡鹏,建国,杨士勇,等. 康艾注射液联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中国肿瘤临床与康复,2007,14(2):142.

[修回日期]2015-10-10