



松花粉辅助紫杉醇联合铂类化疗的增效减毒作用

赵学友¹, 巩 萍¹, 孙 铜², 马玉奎^{3*}

(1. 山东省临朐县人民医院, 山东 临朐 262600; 2. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;
3. 山东省药学科学院, 济南 250100)

【摘要】 目的 研究松花粉对紫杉醇联合铂类(paclitaxel and cisplatin, TP)方案化疗有无减毒和增效作用。**方法** 取人肺癌 H460 细胞株制备的移植瘤裸鼠 48 只,按瘤体积均衡原则分为模型组、松花粉 600、300、150 mg/kg 三个剂量 +TP 方案化疗组、单用 TP 方案化疗组、单用松花粉 600、300、150 mg/kg 三个单剂量组,每组 6 只。各组给予相应的药物后以裸鼠的体重、进食量、抑瘤率、血液学和肝肾功能等为评价指标,全面评价松花粉对 TP 化疗方案有无增效和减毒作用。**结果** 模型动物给予 TP 方案化疗的同时灌胃给予松花粉(150、300、600 mg/kg)可明显提高单用 TP 化疗方案的抑瘤率,抑制化疗药物引起的体重减轻和摄食量的减少、抑制化疗引起的白细胞降低和肝肾功能的损伤。**结论** TP 方案化疗的同时给予松花粉具有明显的增效减毒作用。

【关键词】 松花粉;增效;减毒;肺癌

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 10-0047-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.10.009

Synergism and attenuation effects of Pini Pollen on paclitaxel and cisplatin chemotherapy

ZHAO Xue-you¹, GONG Ping¹, SUN Tong², MA Yu-kui^{3*}

(1. People's Hospital of Linqu County, Linqu 262600, China; 2. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101;
3. Shandong Pharmaceutical Academy, Jinan 250100)

【Abstract】 Objective To investigate the synergism and attenuation effects of Pini Pollen on paclitaxel and cisplatin (TP) chemotherapy in model mice. **Methods** Forty-eight model nude mice with H456 cell line xenograft were divided into 8 groups: model group, TP chemotherapy group, Pini Pollen (150, 300 and 600 mg/kg) group and TP chemotherapy plus Pini Pollen (150, 300 and 600 mg/kg) group. The tumor inhibition rates, body weight, food intake, hematology and blood biochemistry indexes were selected to evaluate the synergism and attenuation effects of intragastric administration of Pini Pollen (150, 300, 600 mg/kg) on TP chemotherapy. **Results** Compared with the TP chemotherapy group, the tumor inhibition rates, body weight, food intake, white blood cell count were increased and liver and kidney function damage were alleviated significantly in the TP chemotherapy plus Pini Pollen groups. **Conclusions** Pini Pollen has a significant synergism and attenuation effects on TP chemotherapy.

【Key words】 Pini Pollen; Synergism; Attenuation; Lung Cancer

松花粉(Pini Pollen)药名松花、松黄,最早记载于唐代的《新修本草》。松花粉是我国传统药材,可

[基金项目] 山东省自主创新及成果转化专项(2014ZZCX02104)。

[作者简介] 赵学友(1975-),男,主管药师,本科,研究方向:临床药学。E-mail: yaoliduli@163.com

[通讯作者] 马玉奎(1975-),男,主任药师,博士,研究方向:新药药理毒理评价。E-mail: yukuima@sina.com

药食兼用的花粉品种,在我国具有悠久的药用历史。《神农本草经》和《本草纲目》中均记载其“气味甘平无毒”,具有润肺、益气、利小便、消瘀血等功效,亦可用于酿酒。松花粉富含蛋白质、磷脂、矿物质和多种维生素和微量元素等营养物质^[1]。现代药理研究证明,松花粉具有降脂、延缓衰老、美容养颜、保肝、降糖、提高机体免疫力等众多功效^[2]。尽管研究证明众多中药均具有抗肿瘤作用,但单味中药用于抗肿瘤临床上几乎没有确切疗效,临床一般多辅助化疗药物应用^[3]。故本文采用人肺癌 H460 裸鼠移植瘤模型初步考察了松花粉对 TP 方案化疗的增效和减毒作用,为松花粉进一步研究和开发利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物及瘤株

BALB/c 裸鼠,雄性,SPF 级,4 周龄,15 ~ 17 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0004]提供。饲养于山东省药学院独立送风 IVC 笼具中[SYXK(鲁)2010-0005]。室温 20℃~23℃,相对湿度 40%~60%。本实验经过山东省药学院新药评价中心实验动物使用与管理委员会审查,编号为 IACUC-2015068。人肺癌 H460 细胞系,济南天长商贸有限公司提供。

1.2 主要试剂与仪器

松花粉(批号:14010412,烟台新时代健康产业有限公司);紫杉醇注射液(TAX,批号:E1400520,江苏奥赛康药业股份有限公司);注射用顺铂(CDDP,批号:140728,上海新百合药业股份有限公司)。

Hemavet 950 型全自动血球计数仪(Drew Scientific 公司);日立 7180 全自动生化分析仪(日本株式会社日立高新技术);BPN-50CH(UV)二氧化碳培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);XSP-18C 型倒置生物显微镜(上海巴拓仪器有限公司);电子数显卡尺(深圳市格雷创科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 裸鼠移植瘤模型建立及动物分组

常规传代培养人肺癌 H460 细胞,收集细胞悬液后调整细胞数为每毫升 $1.0 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^8$ 个细胞。在无菌条件下将肿瘤细胞接种于裸鼠右腋下,每只 0.1 mL。接种后定期测量肿瘤长径、宽径和高,计算瘤体积($V = 3.14 \times \text{宽径} \times \text{长径} \times \text{高} / 6$)^[4],当肿瘤体积为 150 ~ 300 mm³ 时,按瘤体均

衡原则分为模型组、松花粉 600、300、150 mg/kg 三个剂量 + TP 方案化疗组、单用 TP 方案化疗组、单用松花粉 600、300、150 mg/kg 三个单剂量组,每组 6 只。

1.3.2 分组后给药

松花粉各剂量组裸鼠每天灌胃 1 次,给予相应剂量的药物溶液,连续给药 21 d;TP 方案化疗组于分组后第 8 天和 16 天按照 16 mg/kg 剂量各腹腔注射 1 次 TAX,第 10、12 和 14 天按照 6.7 mg/kg 剂量各腹腔注射 1 次 CDDP。松花粉 + TP 方案化疗组在给予 TP 方案化疗的基础上给予松花粉;模型组灌胃给予等体积的纯水和腹腔注射等体积的 0.9% 氯化钠注射液。

1.3.3 结果检测和评价

体重和饲料消耗量每 3 d 称量 1 次,21 d 药后 3 h 戊巴比妥钠麻醉后腹主动脉采血,检测主要血液学指标:红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血红蛋白(HB)和肝肾功能指标:谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(CR)。采血后取每只动物的瘤块并称瘤重,按下面公式计算出抑瘤率和 q 值^[5,6]。

肿瘤抑制率 = $(A-B)/A \times 100\%$, B 为药物组平均瘤重, A 为模型组平均瘤重。

$q \text{ 值} = E(ab) / [Ea + (1 - Ea) \times Eb]$, E(ab) 为两种药物合用的肿瘤抑制率, Ea、Eb 为两种药物单用的肿瘤抑制率, q 大于 0.85 提示两种药物合用有协同作用。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,实验数据以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 松花粉对化疗裸鼠摄食量的影响

裸鼠给予化疗药物后摄食量减少,而同时给予松花粉后,裸鼠摄食量随着给药时间延长逐渐恢复,其中给药 21 d 后化疗和松花粉 300、600 mg/kg 合用组裸鼠的摄食量与模型组基本一致。见表 1。

2.2 松花粉对化疗裸鼠体重的影响

TP 方案化疗后裸鼠体重逐渐减轻,自 12 d 开始体重明显低于模型组($P < 0.05$),而同时给予松花粉后,裸鼠体重随给药时间延长逐渐恢复,给药 21 d 后体重明显高于 TP 化疗组($P < 0.05$),而与

模型组体重基本一致。结果见表 2。

2.3 松花粉对化疗药物的增效作用

与模型组比较,松花粉和 TP 方案化疗合用后瘤重明显减轻,抑瘤率明显高于化疗或松花粉单用

组,其中松花粉 300、600 mg/kg 和化疗合用后 q 值大于 0.85,说明松花粉在 300 mg/kg 以上剂量时可明显增强 TP 方案化疗的抗肿瘤作用。结果见表 3。

表 1 松花粉对裸鼠摄食量的影响 (n = 6)
Tab.1 Effects of Pini Pollen on food intake of the model nude mice

组 别 Groups	剂量/mg/kg Doses	摄食量/g/只/d Food intake			
		6 d	12 d	18 d	21 d
模型 Model	—	4.7	4.8	5.1	5.4
紫杉醇 + 顺铂 Paclitaxel + Cisplatin	16 + 6.7	4.9	2.9	2.3	2.0
松花粉 + 紫杉醇 + 顺铂 Pini Pollen + Paclitaxel + Cisplatin	600 + 16 + 6.7	4.8	3.8	4.6	4.9
	300 + 16 + 6.7	4.6	3.3	3.9	4.7
	150 + 16 + 6.7	4.8	3.0	2.7	3.6

表 2 松花粉对裸鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Tab.2 Effects of Pini Pollen on body weight of the model nude mice

组 别 Groups	剂量/mg/kg Doses	体重/g Body weight				
		0 d	6 d	12 d	18 d	21 d
模型 Model	—	23.2 ± 1.7	24.6 ± 2.0	24.8 ± 1.7	25.9 ± 1.9	26.3 ± 1.7
紫杉醇 + 顺铂 Paclitaxel + Cisplatin	16 + 6.7	23.1 ± 1.9	23.2 ± 1.8	21.8 ± 1.9*	21.2 ± 1.8*	21.0 ± 2.1*
松花粉 + 紫杉醇 + 顺铂 Pini Pollen + Paclitaxel + Cisplatin	600 + 16 + 6.7	23.5 ± 1.6	23.3 ± 1.6	22.4 ± 1.2	23.7 ± 2.1 [#]	24.2 ± 2.1 [#]
	300 + 16 + 6.7	23.0 ± 2.2	22.9 ± 1.9	22.2 ± 1.6	23.4 ± 2.0 [#]	23.9 ± 1.9 [#]
	150 + 16 + 6.7	23.6 ± 2.0	23.0 ± 1.8	21.9 ± 1.6	22.3 ± 1.5	23.4 ± 1.4 [#]

注:与模型组比较,*P < 0.05;与 TP 组比较,[#]P < 0.05。
Note. *P < 0.05,vs the model group;[#]P < 0.05, vs the TP group.

表 3 松花粉对化疗药物的增效作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Tab.3 Synergistic effects of Pini Pollen on chemotherapy in the model nude mice

组 别 Groups	剂量/mg/kg Doses	瘤重/g Tumor weight	抑瘤率/% Tumor inhibition rate	q 值 q value
模型 Model	—	1.52 ± 0.43	—	—
紫杉醇 + 顺铂 Paclitaxel + Cisplatin	16 + 6.7	0.70 ± 0.16*	53.9	—
松花粉 Pini Pollen	600	0.98 ± 0.16* ^{###}	35.5	—
	300	1.08 ± 0.26 [#]	28.9	—
	150	1.12 ± 0.32 [#]	26.3	—
松花粉 + 紫杉醇 + 顺铂 Pini Pollen + Paclitaxel + Cisplatin	600 + 16 + 6.7	0.38 ± 0.17**	75.0	1.07
	300 + 16 + 6.7	0.56 ± 0.26**	63.2	0.94
	150 + 16 + 6.7	0.68 ± 0.15*	55.3	0.84

注:与模型组比较,*P < 0.05,**P < 0.01;与松花粉 + TP 组比较,[#]P < 0.05,^{###}P < 0.01。
Note. *P < 0.05,**P < 0.01,vs the model group;[#]P < 0.05,^{###}P < 0.01 vs the Pini Pollen plus TP group.

表 4 松花粉对化疗引起的血液学和血液生化学减毒作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Tab.4 Attenuation effects of Pini Pollen on hematological and blood biochemical toxicity caused by chemotherapy in the model nude mice

组 别 Groups	剂量/mg/kg Doses	WBC /10 ⁹ /L	RBC /10 ¹² /L	HB /g/L	ALT /U/L	AST /U/L	CR /μmol/L	BUN /mmol/L
模型 Model	—	7.31 ± 0.99	10.1 ± 1.5	13.6 ± 2.1	69.1 ± 17.8	148.7 ± 19.4	30.0 ± 3.5	6.9 ± 1.2
紫杉醇 + 顺铂 Paclitaxel + Cisplatin	16 + 6.7	4.51 ± 0.67**	9.1 ± 0.9	12.0 ± 2.2	125.0 ± 29.9*	221.1 ± 32.4**	54.2 ± 4.0**	10.7 ± 2.0*
松花粉 + 紫杉醇 + 顺铂 Pini Pollen + Paclitaxel + Cisplatin	600 + 16 + 6.7	6.88 ± 1.95 [#]	10.4 ± 2.0	12.6 ± 2.1	79.1 ± 21.1 [#]	162.3 ± 21.5 [#]	35.1 ± 7.6 [#]	7.9 ± 1.1 [#]
	300 + 16 + 6.7	6.31 ± 0.99 [#]	9.8 ± 1.6	11.3 ± 1.9	85.5 ± 17.8 [#]	180.2 ± 24.3 [#]	41.9 ± 6.8 [#]	8.3 ± 1.2 [#]
	150 + 16 + 6.7	5.60 ± 1.22*	10.0 ± 2.0	12.2 ± 1.0	98.2 ± 25.4*	197.2 ± 31.0*	46.1 ± 6.4**	8.7 ± 2.1

注:与模型组比较,*P < 0.05,**P < 0.01;与 TP 化疗药物组比较,[#]P < 0.05。
Note. *P < 0.05,**P < 0.01,vs the model group;[#]P < 0.05,vs the TP group.

2.4 松花粉对化疗引起的血液学和血液生化学毒性减毒作用

与模型组比较,裸鼠 WBC 数量化疗后明显减少,血清中 ALT、AST、CR 和 BUN 含量明显升高,与单用化疗药物组比较,同时给予松花粉 300、600 mg/kg 后裸鼠 WBC 数量明显增多,血清中 ALT、AST、CR 和 BUN 含量明显降低($P < 0.05$),说明松花粉在 300 mg/kg 以上剂量可明显抑制 TP 方案化疗药物引起的白细胞减少和肝肾功能损伤。各个剂量对 RBC 和 HB 无明显影响。结果见表 4。

3 讨论

我国恶性肿瘤的发病率和死亡率逐年上升,我国每年新发肿瘤病例 300 多万,肿瘤病人死亡人数占全球的四分之一左右,已成人类死亡的主要原因^[7]。临床上根据肿瘤的不同生长部位、不同病理类型、不同分期、患者的具体情况等会选择化疗、放疗、手术治疗以及中医药治疗等不同的治疗方式。其中,化疗时最常用的治疗方式,但多数化疗药物存在选择性差,毒副作用大,容易耐药等缺陷,严重制约着化疗的效果。而中医药治疗具有多靶点和多环节效应以及副作用小等化疗不具有的优势,但也存在诸如治疗的肿瘤和疗效有限、作用机制不明确等众多缺陷,故临床上中药多与化疗药物合用,通过增强机体免疫力、活血化瘀、扶正驱邪、补气养血、清热解毒、调理脏腑等多个方面增强化疗药物疗效的同时降低毒副作用,改善肿瘤患者的生活状态,提高肿瘤患者化疗的耐受性等^[8,9]。

选择合适的实验动物模型是新药药效评价的重要一环,目前抗肿瘤药物的增效减毒作用研究多采用 S180 腹水癌小鼠模型,研究对于环磷酰胺等单个化疗药物的辅助作用,但此模型与临床应用存在较大差异,例如肿瘤细胞来源为鼠源性而非人源性瘤株,临床化疗一般不会单个药物而多采用多种化疗药物联合应用等。因此本文采用了人源性的 H460 非小细胞肺癌瘤株制备裸鼠移植瘤模型,给予非小细胞肺癌国际治疗指南中推荐的 TP 标准化疗方案,选择抑瘤率作为增效指标,化疗最常见的食欲不振、体重减轻、白细胞减少和肝肾功能损伤作为减毒指标,初步模拟临床治疗现状来研究松

花粉的增效减毒作用。

本实验研究结果证明,裸鼠给予 TP 方案化疗后出现了体重减轻、进食量减少、WBC 减少、肝肾功能受损等临床肿瘤病人化疗后最容易出现的不反应,说明此模型复制成功,能够较好地模拟临床实际。化疗的同时灌胃给予松花粉后,不良反应明显减轻,体重和进食量随着给药次数增多逐渐恢复正常。与 TP 方案化疗组小鼠比较,合用松花粉 21 d 时检测 WBC 数量明显增多,血清中 AST、ALT、CR、BUN 含量明显降低,说明松花粉对血液系统和肝肾功能具有明显保护作用。抑瘤效果显示,TP 方案化疗和松花粉合用后,与单纯 TP 方案化疗相比,对 H460 裸鼠移植瘤的抑瘤效果显著增强。本实验结果初步证明,松花粉对化疗药物具有明显的增效和减毒作用,其作用可能与松花粉具有抗氧化、保肝、提高免疫力、抗肿瘤作用有关^[2,10],其确切的作用机制仍有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 何晓燕,孙雪园,于智洋. 松花粉的营养成分及药理作用[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(9): 78-80.
- [2] 谢娇,王华,任廷远,等. 松花粉的功效及应用展望[J]. 食品与药品, 2011, 12(3): 139-141.
- [3] 木拉提·扎依别克,哈木拉提·吾普尔. 抗肿瘤中药的分类及作用机理[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(11): 1102-1104.
- [4] 何志军,陈先祥,蔡庆和,等. 移植瘤体积不同计算方法的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(9): 47-50.
- [5] 王作军,马玉奎,贾玉萍,等. 毛蚶提取物辅助 NP 化疗的增效减毒作用[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(5): 37-40.
- [6] 陈颖,茅蕾蕾,胡碧原,等. 银杏外种皮提取物联合顺铂对 S180 荷瘤小鼠抗肿瘤增效减毒作用[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(13): 1569-1572.
- [7] 吴菲,林国帧,张晋昕. 我国恶性肿瘤发病现状及趋势[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(2): 81-85.
- [8] 孙菲. 中药抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(17): 48-54.
- [9] 张顺辰,要晓静. 中药抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国处方药, 2015, 13(5): 19-20.
- [10] 李雯雯,陈才法,李悦,等. 松花粉醇提取物抗肿瘤作用的初步研究[J]. 解放军药学报, 2011, 27(3): 199-201.

[收稿日期] 2017-02-06