

新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对结肠癌模型小鼠免疫功能的影响^Δ

李露^{1*}, 李伟², 刘柏里¹, 张海英^{1,2}, 聂继红^{1,2#} (1.新疆医科大学中医学院中药系, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆医科大学附属中医医院药学部, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2939-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.14

摘要 目的:研究新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对结肠癌模型小鼠免疫功能的影响,为新疆阿魏属植物的进一步开发利用提供参考。方法:体外接种小鼠结肠癌CT-26.WT细胞复制小鼠结肠癌模型。将造模的50只小鼠随机分为模型组(生理盐水,灌胃)、顺铂组(5 mg/kg,腹腔注射)和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低、中、高剂量组(按生药量计分别为1.0、2.0、3.0 g/kg,灌胃),每组10只;另选10只正常小鼠作为空白组(生理盐水,灌胃)。顺铂组小鼠隔天给药1次,其余各组小鼠均每天给药1次,连续给药10 d。给药结束后,测定各组小鼠抑瘤率和脾指数;采用流式细胞术测定各组小鼠血液中T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺以及B淋巴细胞CD19⁺的数量,并计算CD4⁺/CD8⁺值;酶联免疫吸附法测定小鼠血清中免疫球蛋白M(IgM)、IgG的含量。结果:与空白组比较,模型组小鼠脾指数显著升高($P < 0.01$),但血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞的数量以及血清中IgM、IgG含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物各剂量组小鼠的瘤质量均显著降低($P < 0.01$),抑瘤率均在40%以上;新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠脾指数以及血液中CD3⁺细胞数量、CD4⁺细胞数量、CD4⁺/CD8⁺值和血清中IgM、IgG含量均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物各剂量组小鼠血液中CD19⁺细胞数量显著减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但血液中CD8⁺细胞数量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对结肠癌模型小鼠具有一定的改善作用,并可显著提高小鼠自身的细胞免疫能力和体液免疫能力。

关键词 新疆阿魏;乙酸乙酯部位;结肠癌模型;小鼠;免疫功能

Effects of the Extract from Ethyl Acetate Parts of *Ferula sinkiangensis* on the Immune Function of Colon Cancer Model Mice

LI Lu¹, LI Wei², LIU Baili¹, ZHANG Haiying^{1,2}, NIE Jihong^{1,2} (1.Dept. of Chinese Materia Medica, College of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Affiliated TCM Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of the extract from ethyl acetate part of *Ferula sinkiangensis* on immune function of colon cancer model mice, and to provide reference for further development and utilization of plants of the genus *Ferula*. **METHODS:** Colon cancer model mice were induced by incubated with colon cancer CT-26.WT cell. 50 model mice were randomly divided into model group (normal saline, i.g.), cisplatin group (5 mg/kg, i.p.) and ethyl acetate part of *F. sinkiangensis* low-dose, medium-dose and high-dose groups (1.0, 2.0, 3.0 g/kg, calculated by crude drug, i.g.), with 10 mice in each group. Other 10 normal mice were included in blank group (normal saline, i.g.). Cisplatin group was given medicine every other day, and other groups were given medicine once a day, for consecutive 10 d. After medication, the inhibition rate of tumor and spleen index were determined. Flow cytometry was adopted to detect the number of blood T lymphocyte subsets CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and B lymphocytes CD19⁺; CD4⁺/CD8⁺ value was calculated. ELISA method was adopted to detect the content of immune protein IgM and IgG in serum of mice. **RESULTS:** Compared with blank group, spleen index of mice was increased significantly in model group ($P < 0.01$). There was no statistical significance in the number of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD19⁺ cells in the blood, as well as the contents of IgM and IgG in the serum ($P > 0.05$). Compared with model group, the tumor mass of mice in ethyl acetate part of *F. sinkiangensis* groups were significantly reduced ($P < 0.01$), inhibitory rate of tumor was more than 40%. The spleen index, the number of CD3⁺ and CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ value, the contents of IgM and IgG in serum were increased significantly in ethyl acetate part of *F. sinkiangensis* medium-dose and high-dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The number of CD19⁺ cells in blood was decreased significantly in ethyl acetate part of *F. sinkiangensis* groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no statistical significance in the number of CD8⁺ cells in blood ($P > 0.05$). **CONCLUSIONS:** The extract from ethyl acetate part of *F. sinkiangensis* shows inhibitory effect on colon cancer model mice, and can significantly improve cellular immunity

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660657);全国中药特色技术传承人才培养项目(No.国中医药人教函[2015]168号)

* 硕士研究生。研究方向:中药资源调查与中药新药开发。E-mail:1296488918@qq.com

通信作者:教授。研究方向:中药资源调查与中药新药开发。电话:0991-5810646。E-mail:xjnjh411@163.com

function and humoral immunity function.

KEYWORDS *Ferula sinkiangensis*; Ethyl acetate part; Colon cancer model; Mice; Immune function

阿魏为伞形科植物新疆阿魏(*Ferula sinkiangensis* K.M.Shen)或阜康阿魏(*Ferula fukanensis* K.M.Shen)的树脂^[1],为新疆特色珍贵药材,在治疗肿瘤、风湿性关节炎、胃痛等方面有独特的优势^[2-3]。本课题组前期研究已证实,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物能够有效抑制结肠癌肿瘤的生长^[4]。随着对免疫系统与肿瘤作用关系的不断研究,发现肿瘤在发生发展过程中与机体的免疫功能异常有着非常密切的联系,机体免疫功能下降,可导致肿瘤转移、复发和预后效果差^[5]。机体对肿瘤的免疫方式主要有细胞免疫、体液免疫和分泌细胞因子三种。在细胞免疫中,T淋巴细胞是最为重要的效应细胞,被认为是机体免疫系统对肿瘤的直接而又特异的识别者^[6-7],而T淋巴细胞又由多个不同的亚群(如CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺等)组成,CD19⁺则用作标记B淋巴细胞^[8];体液免疫指标的变化也与肿瘤的发生发展有着密切的联系,当肿瘤发生时,机体处于免疫抑制状态,可能表现为体液免疫亢进,此时可以合成和分泌免疫球蛋白(如IgG、IgM等),执行机体的体液免疫^[9-10]。在本研究中,笔者拟建立BALB/c小鼠结肠癌模型,从免疫角度出发,探讨新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物治疗小鼠结肠癌的作用机制,为新疆阿魏属植物的进一步开发利用提供参

1 材料

1.1 仪器

IX71-12FL/PH倒置荧光显微镜(上海赖氏电子科技有限公司);TGL-16B离心机(上海安亭科学仪器厂生产);GUAVAEASYCYTE 8HT流式细胞仪(美国Millipore公司);xMark™酶标仪(美国Thermo公司)。

1.2 药品与试剂

新疆阿魏药材(批号:20161012)由新疆省伊犁州食品药品检验所提供;红细胞裂解液Lysing Buffer 10X Concentrate和CD3-别藻蓝蛋白(APC)、CD4-异硫氰酸荧光素(FITC)、CD8-多甲藻黄素-花青素5.5(Per-cy5.5)、CD19-藻红蛋白(PE)兔抗鼠、CD19单克隆抗体(武汉博士德生物制剂有限公司);青-链霉素混合液(美国Hyclone公司,批号:F170221);顺铂注射液(江苏豪森药业集团有限公司,批号:170402,规格:6 mL:30 mg);IgM、IgG酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(美国Gibco公司,批号:均为466659)。

1.3 动物与细胞

健康BALB/c小鼠60只,♀♂对半,体质量18~24 g,4~6周龄,购自新疆医科大学动物中心,实验动物生产合格证号:SYXK(新)2011-0001;小鼠结肠癌CT-26.WT细胞购自中国科学院上海细胞生物学研究所。

2 方法

2.1 新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物的制备

取100 g新疆阿魏,在研钵中研碎成细颗粒状,过一号筛,以沸程为30~60℃的石油醚500 mL超声(频率53 Hz)提取40 min,以相同的方法将剩余残渣连续提取2次脱脂后,过滤得滤渣约90 g。取提取残渣,用95%乙醇回流提取3次,每次450 mL、提取1 h,合并3次滤液,减压浓缩后硅藻土拌样,用5倍量的乙酸乙酯超声(频率53 Hz)萃取5 min,静置后以抽滤瓶滤过,将滤液浓缩干燥,即得阿魏乙酸乙酯部位浸膏(得率为16.3%),并测得其中阿魏酸、法尼斯甾醇A、法尼斯甾醇C的含量分别为33.4、76.5、72.3 mg/g^[11]。

2.2 造模、分组与给药

将小鼠结肠癌CT-26.WT细胞复苏,调整细胞密度为 2×10^7 个/mL,按0.1 mL/只分别接种于50只(♀♂对半)BALB/c小鼠左前肢腋窝下,复制结肠癌小鼠模型^[12]。将造模的50只小鼠随机分为模型组、顺铂组和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低、中、高剂量组,每组10只(♀♂对半);另取10只(♀♂对半)正常小鼠作为空白组。从造模第2天开始给药,给药前24 h禁食不禁水。新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低、中、高剂量组小鼠每天灌胃1次相应药液1.0、2.0、3.0 g/kg(按生药量计,给药剂量根据本课题组前期研究^[4]及预实验结果调整后设置),顺铂组小鼠隔天腹腔注射1次5 mg/kg顺铂无菌生理盐水溶液,空白组和模型组小鼠每天灌胃1次生理盐水,连续给药10 d。在给药期间,因顺铂组3只小鼠死亡、阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组2只小鼠死亡,为了保证结果的均一稳定性,调整每组小鼠为7只。

2.3 抑瘤率和脾指数的测定

末次给药1 h后,称小鼠体质量,摘眼球取血,然后将小鼠处死,剥取左前肢皮下的瘤块并称质量(g),计算各组小鼠的抑瘤率[抑瘤率(%)=(模型组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量×100%]。解剖小鼠,取脾组织,用吸水纸吸干水分,称质量并计算各组小鼠的脾指数[脾指数=脾质量(mg)/体质量(g)]。然后将各组组织置于-80℃冰箱中保存,备用。

2.4 血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞数量的检测

采用流式细胞术进行检测。吸取小鼠血样100 μL,置于2 mL不含肝素的EP管中,做好标记,分别加入2 μL的CD4-FITC抗体和5 μL的CD3-APC、CD8-Per-cy5.5、CD19-PE兔抗鼠抗体,振荡混匀,室温下避光反应15 min。然后在每个样品中加入1.5 mL的红细胞裂解液Lysing Buffer 10X Concentrate,染色,振荡混匀,4℃下避光静置15 min,再以1 000 r/min离心5 min,弃去上清液,沉淀加入1 mL的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤1次,然后加入0.5 mL的PBS稀释,混匀,上机检测血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞的数量,并计算CD4⁺/

CD8⁺值。

2.5 血清中IgM、IgG含量的测定

采用ELISA法进行检测。将血液在室温下静置1 h左右,然后在4℃下以1 000 r/min离心10 min,收集血清。按照相应试剂盒说明书操作,检测各组小鼠血清中IgM、IgG含量。操作结束后,在酶标仪上测量450 nm波长下各孔的光密度(OD)值,进行定量分析。

2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0统计学软件进行统计分析。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析和Scheffe检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠瘤质量和抑瘤率的测定结果

与空白组比较,模型组小鼠瘤质量显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组小鼠瘤质量均显著降低($P < 0.01$)。新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物各剂量组小鼠的抑瘤率均达到40%以上,且抑瘤效果具有一定的量效关系,高剂量新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物的抑瘤效果与阳性药物顺铂相当。各组小鼠瘤质量和抑瘤率测定结果见表1。

表1 各组小鼠瘤质量和抑瘤率测定结果($\bar{x} \pm s, n=7$)

Tab 1 Determination results of tumor mass and inhibitory rate of tumor in mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	瘤质量,g	抑瘤率,%
空白组		
模型组	0.67±0.11**	
顺铂组	0.04±0.02 ^{##}	93.64±2.99
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低剂量组	0.36±0.13 ^{##}	45.35±19.32
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中剂量组	0.13±0.08 ^{##}	80.59±11.84
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组	0.04±0.04 ^{##}	93.61±5.35

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ^{##} $P < 0.01$

3.2 各组小鼠脾指数的测定结果

与空白组比较,模型组小鼠体质量差异无统计学意义($P > 0.05$),但脾质量和脾指数均显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物各剂量组小鼠体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$),而顺铂因具有一定的化学毒性,顺铂组小鼠的体质量显著减轻($P < 0.01$);新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠的脾指数均显著升高($P < 0.01$)。各组小鼠脾指数测定结果见表2。

3.3 各组小鼠血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞数量的测定结果

与空白组比较,模型组小鼠血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞数量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,顺铂组和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠血液中CD3⁺、CD4⁺细胞数量均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物

表2 各组小鼠脾指数测定结果($\bar{x} \pm s, n=7$)

Tab 2 Determination of spleen index of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	体质量,g	脾质量,mg	脾指数,mg/g
空白组	21.41±2.46	71.41±3.79	3.36±0.27
模型组	21.79±2.85	119.03±8.19**	5.51±0.48**
顺铂组	14.72±1.25 ^{##}	27.26±4.34 ^{##}	1.84±0.16
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低剂量组	21.13±3.53	101.73±18.59	4.82±0.42
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中剂量组	18.97±2.27	156.47±47.16 ^{##}	8.17±2.03 ^{##}
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组	20.99±2.89	182.30±9.88 ^{##}	8.87±0.78 ^{##}

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ^{##} $P < 0.01$

各剂量组小鼠血液中CD19⁺细胞数量显著减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并且新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠血液中CD4⁺/CD8⁺值显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),各给药组小鼠血液中CD8⁺细胞数量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。小鼠血液中CD3⁺细胞检测的流式直方图见图1和CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞检测的流式散点图见图2,测定结果见表3。

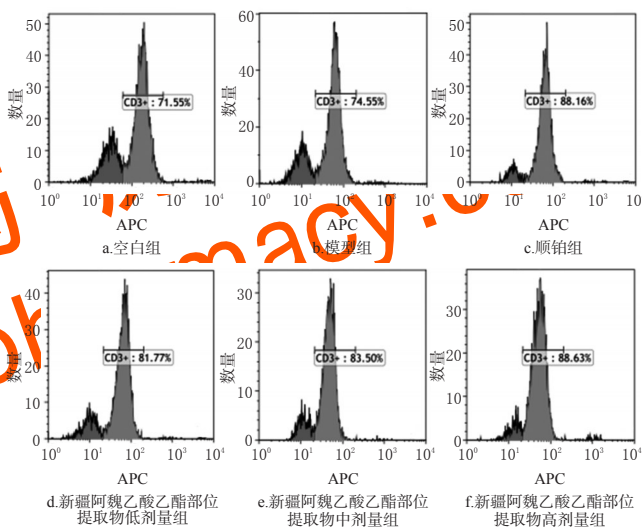


图1 各组小鼠血液中CD3⁺细胞检测的流式直方图

Fig 1 Flow histogram for the determination of CD3⁺ cells in the blood of mice in each group

3.4 各组小鼠血清中IgM、IgG含量的测定结果

与空白组比较,模型组小鼠血清中IgM、IgG含量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,顺铂组和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低剂量组小鼠血清中IgM、IgG含量差异均无统计学意义($P > 0.05$),但新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠血清中IgM、IgG含量均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),这提示新疆阿魏乙酸乙酯部位能够提高结肠癌模型小鼠机体的体液免疫功能,且具有明显的剂量依赖性。各组小鼠血清中IgM、IgG含量测定结果见表4。

4 讨论

《抗肿瘤药物药效学指导原则》^[13]规定,当天然药物对肿瘤的抑制率大于40%时,就可判定其具有一定的抗肿瘤

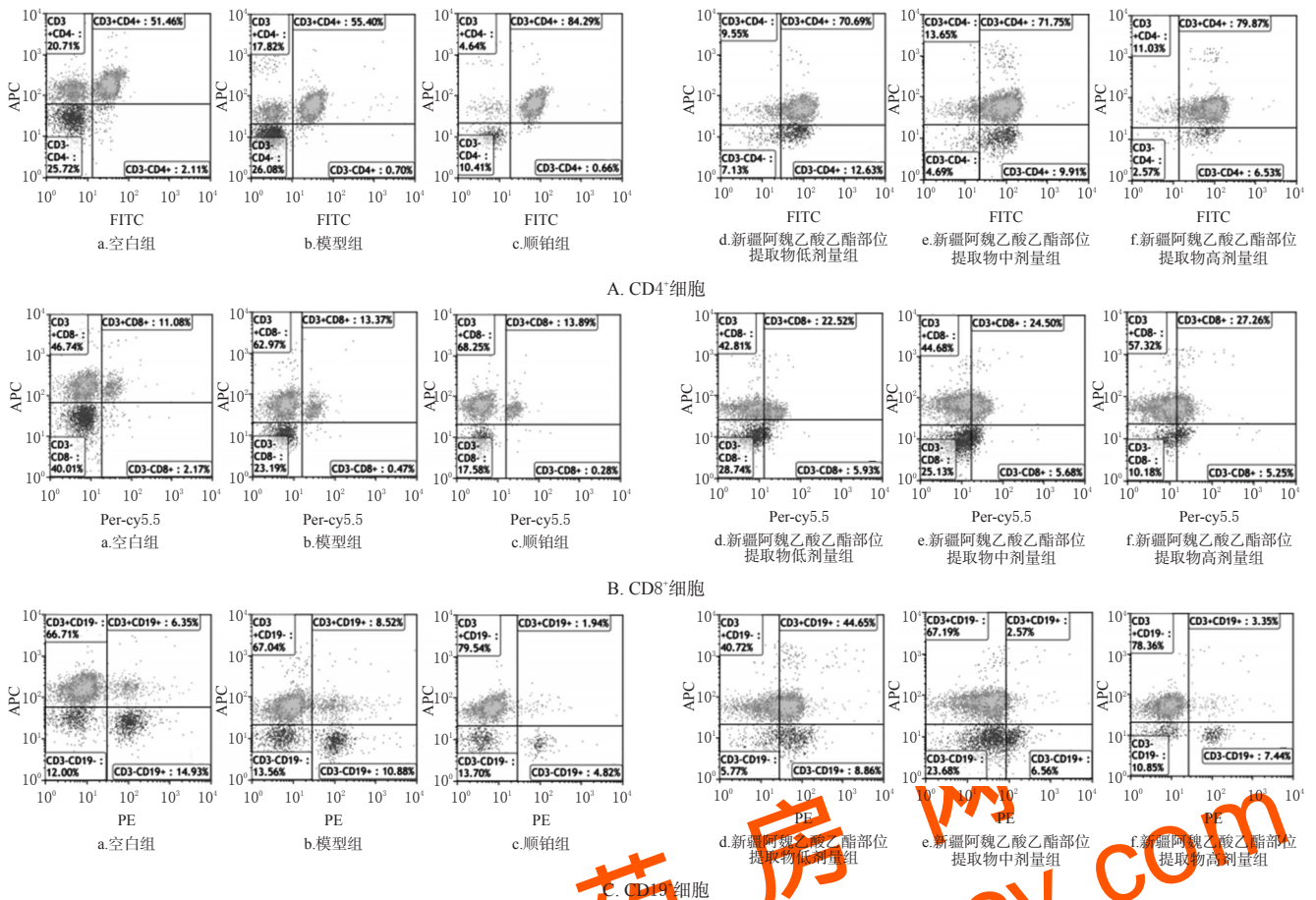


图2 各组小鼠血液中CD4⁺、CD8⁺和CD19⁺细胞检测的流式散点图

Fig 2 Flow scatter diagrams for the determination of CD4⁺, CD8⁺ and CD19⁺ cells in the blood of mice in each group

表3 各组小鼠血液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺细胞数量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=7$)

Tab 3 Determination of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD19⁺ cells in the blood of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	CD3 ⁺ , %	CD4 ⁺ , %	CD8 ⁺ , %	CD19 ⁺ , %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
空白组	68.52 ± 5.49	51.35 ± 4.57	13.12 ± 1.18	9.63 ± 4.86	3.93 ± 0.32
模型组	73.53 ± 1.56	58.16 ± 4.47	15.14 ± 1.48	14.54 ± 1.89	3.88 ± 0.50
顺铂组	84.15 ± 4.31 ^{##}	74.44 ± 10.56 ^{##}	15.31 ± 1.83	10.07 ± 2.22	4.91 ± 0.86
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低剂量组	77.06 ± 6.07	67.09 ± 6.14	17.52 ± 4.93	8.98 ± 3.05 [#]	3.44 ± 0.91
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中剂量组	81.10 ± 2.89 [#]	71.04 ± 2.07 [#]	13.48 ± 1.76	7.01 ± 2.92 [#]	5.34 ± 0.74 [#]
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组	83.13 ± 3.42 ^{##}	74.48 ± 3.01 ^{##}	13.44 ± 1.96	6.64 ± 2.78 ^{##}	5.63 ± 0.78 ^{##}

注:与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

Note: vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

瘤作用。本研究结果显示,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对结肠癌模型小鼠的抑瘤率分别为45.35%、80.59%、93.61%,均高于40%,提示该部位对结肠癌具有抑制作用。脾是重要的免疫器官,常被用来评估机体的免疫功能,脾指数也被当作参考判断实验药物是否对机体的免疫功能有所提高的一项指标^[14]。在本研究中,中、高剂量新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物可显著提高结肠癌模型小鼠的脾指数,由此推测造模中小鼠接种肿瘤后,小鼠对肿瘤的排斥所产生的免疫功能增强,所以使得脾指

表4 各组小鼠血清中IgM、IgG含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=7, \text{ng/mL}$)

Tab 4 Contents determination of IgM and IgG in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7, \text{ng/mL}$)

组别	IgM	IgG
空白组	2.29 ± 0.48	92.82 ± 25.97
模型组	2.15 ± 0.16	96.64 ± 20.48
顺铂组	2.51 ± 0.56	110.27 ± 46.56
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低剂量组	2.43 ± 0.23	133.54 ± 24.57
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中剂量组	2.82 ± 0.16 [#]	151.04 ± 15.47 [#]
新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组	2.95 ± 0.31 ^{##}	154.27 ± 18.49 [#]

注:与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

Note: vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

数有所增加,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物抑制结肠癌异位瘤与提高小鼠自身免疫应答有一定的关系。

细胞免疫在机体免疫对抗肿瘤中扮演着主要的角色^[15],而作为细胞免疫最重要的T淋巴细胞,则通过功能各异的T淋巴细胞亚群来发挥免疫调节作用。其中,CD3⁺细胞分布在每个T淋巴细胞中,代表T淋巴细胞的总数,还可以作为鉴别T淋巴细胞的指标^[16]。CD4⁺细胞主要是辅助体液免疫和细胞免疫,如果CD4⁺细胞的表达水平降低,那么免疫反应的诱导作用也会随之降低,随之机体的抗肿瘤能力也会降低^[17]。CD8⁺细胞在免疫过

程中起负调节作用,可抑制机体自身抗体的生成,是一种抑制性T淋巴细胞^[18]。CD4⁺/CD8⁺值越低,越容易导致机体的免疫功能受损,识别和杀伤突变细胞的能力将下降,继而为肿瘤迅速生长、转移、继发感染创造条件^[19]。本研究流式细胞术检测结果显示,中、高剂量新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物和顺铂均显著增加了小鼠血液中CD3⁺、CD4⁺细胞的数量,表明用药后结肠癌模型小鼠存在免疫功能提高的现象;且中、高剂量新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物能升高模型小鼠血液中CD4⁺/CD8⁺的值,说明用药后结肠癌模型小鼠的细胞免疫功能处于免疫亢进状态,机体识别杀伤突变细胞的能力有所上升。CD19⁺细胞是由B淋巴细胞分泌的,具有两个功能:一是能够抑制反应性T淋巴细胞的活性;二是能够抑制效应T淋巴细胞的增殖以及免疫球蛋白的产生,从而参与细胞免疫的过程^[20]。CD19⁺细胞数量越多,机体效应T淋巴细胞活性就越低。本研究结果显示,新疆阿魏乙酸乙酯部位各剂量组小鼠血液中CD19⁺细胞数量较模型组均显著减少,表明新疆阿魏乙酸乙酯部位可能是通过降低小鼠体内CD19⁺细胞数量,来增加小鼠体内效应T淋巴细胞活性及免疫球蛋白的数量,从而参与机体的细胞免疫调节。

免疫球蛋白同T淋巴细胞亚群一样,属于机体免疫防御机制的重要组成部分。当B淋巴细胞受到抗原刺激时就会分泌免疫球蛋白(如IgA、IgM、IgG),这些抗体对B淋巴细胞的相关抗原进行识别,促进细胞与病原体的结合,进行体液免疫^[21]。血清中免疫球蛋白的主要组成是IgG,其可激活补体以及调理吞噬功能,在机体二次免疫应答中扮演主要角色。本研究结果显示,中、高剂量新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物均显著提高了模型小鼠血清中IgM、IgG的含量,表明其提高了小鼠自身的体液免疫能力。

笔者选用抗肿瘤研究中最常用的顺铂为阳性对照,虽然顺铂抗肿瘤作用强,但是其是一种细胞非特异性药物,是通过破坏细胞DNA的功能而发挥作用的,所以其对机体免疫作用可能影响不大。在肿瘤形成过程中,突变细胞在某些情况下能通过多种机制逃避机体的免疫监视,在体内迅速增殖,形成肿瘤^[22],这也可能是本研究中模型组小鼠各免疫指标与空白组比较没有显著差异的主要原因。但是用药后反而可能刺激机体免疫的产生,这与本研究给药后小鼠免疫水平升高的结果相吻合。另外,本研究结果显示,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物给药后小鼠血液中CD8⁺细胞数量略有下降,而CD4⁺细胞数量越低表示免疫抑制越强,即小鼠的抵抗力就越强,这说明了小鼠机体内还处于自身免疫抗肿瘤状态。

综上所述,新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对结肠癌模型小鼠具有较好的抑瘤作用,这可能与提高小鼠自身的细胞免疫和体液免疫能力有关。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:190.
- [2] 黄雅婷, 岳丽君, 申翔宇, 等. 新疆阿魏化学成分及药理活性研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(6): 495-499.
- [3] 罗福祥, 卢军, 张海英, 等. 新疆阿魏乙酸乙酯部位对小鼠S180实体瘤的抑制作用[J]. 中国药房, 2016, 27(31): 4388-4391.
- [4] 罗福祥, 卢军, 张海英, 等. 新疆阿魏乙酸乙酯部位体内外对CT-26.WT细胞的影响[J]. 中成药, 2017, 39(2): 238-243.
- [5] CHEN Z, CHEN X, ZHOU E, et al. Intratumoral CD8⁺ cytotoxic lymphocyte is a favorable prognostic marker in nodenegative breast cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95475.
- [6] YI JS, COX MA, ZAJAC AJ. T-cell exhaustion: characteristics, causes and conversion[J]. *Immunology*, 2010, 129(4): 474-481.
- [7] SCHREIBER RD, OLD LJ, SMYTH MJ. Cancer immunoeediting: interrating immunitys role in cancer suppression and promotion[J]. *Science*, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [8] ELINAV E, NOWARSKI R, THAISS CA, et al. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(11): 759-771.
- [9] 王晓洪. 恶性肿瘤患者血清免疫球蛋白检测结果分析[J]. 中国民康医学, 2015, 27(1): 83-84.
- [10] 李红. 肿瘤患者血清免疫球蛋白检测结果的分析[J]. 中国医药指南, 2016, 14(5): 92-93.
- [11] 张海英, 李伟, 周龙龙, 等. 新疆阿魏乙酸乙酯部位质量控制方法研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(4): 83-86.
- [12] 王丽娜, 刘义帅, 王洪伟, 等. BALB/c小鼠原位移植肝癌模型的建立及鉴定[J]. 潍坊医学院学报, 2015, 37(1): 1-3.
- [13] 国家食品药品监督管理局. 抗肿瘤药物药效学指导原则[S]. 2006-12-19.
- [14] 刘颖, 敬岳, 郭丽丽, 等. 固本止咳中药对COPD模型小鼠脾、胸腺指数及Th1/Th2失衡的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 8(2): 504-506.
- [15] 夏永欣, 尚品杰, 张向东. 白花蛇舌草方剂联合放疗对食管癌患者生活质量的影响及疗效分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 19(17): 209-211.
- [16] 傅煜, 符爽, 陈芳, 等. 淋巴细胞亚群在免疫相关疾病中的应用[J]. 医学综述, 2016, 22(14): 2708-2712.
- [17] 周莉, 张冠男, 王琳, 等. 非小细胞肺癌患者外周血PD-1表达水平及淋巴细胞亚群分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(3): 413-415.
- [18] ZHU H, YE X, XIAO X, et al. Reteograde antegrade and laparocople approaches to the management of large upper ureteral stones after shockwave lithotripsy failure: a

蒙药肉豆蔻-8散对实验动物心脏的保护作用研究^Δ

肖云峰¹,李文妍^{2,3*},王玉华^{3,4#}(1.内蒙古医科大学新药安全评价研究中心,呼和浩特 010110;2.内蒙古自治区人民医院药学处,呼和浩特 010017;3.天津中医药大学中药研究院,天津 300193;4.内蒙古医科大学药学院,呼和浩特 010110)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2944-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.15

摘要 目的:研究蒙药肉豆蔻-8散对实验动物心脏的保护作用,为其临床应用提供实验依据。方法:以复方丹参滴丸为阳性对照(0.10 g/kg),采用呼吸耗氧法考察低、中、高剂量肉豆蔻-8散(0.75、1.50、3.00 g/kg)连续灌胃给药10 d(每天给药1次)对正常小鼠和盐酸异丙肾上腺素致急性心肌缺血缺氧模型小鼠存活时间的影响。以复方丹参滴丸为阳性对照(0.04 g/kg),考察低、中、高剂量肉豆蔻-8散(0.28、0.56、1.12 g/kg)连续灌胃给药10 d(每天给药1次)对氯仿-肾上腺素致急性心律失常模型兔心律失常潜伏期、心律失常持续期的影响,以及对垂体后叶素致急性心肌损伤模型兔心脏的T波波幅、S-T段波幅和血清中内源性物质[乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和肌酸激酶(CK)]水平的影响。各实验均设置相应的空白对照和模型对照(均给予0.5%羧甲基纤维素钠)。结果:复方丹参滴丸和中、高剂量肉豆蔻-8散均能显著延长正常小鼠和急性心肌缺血缺氧模型小鼠的存活时间($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。复方丹参滴丸和高剂量肉豆蔻-8散均能显著延长兔的心律失常潜伏时间($P<0.05$),显著缩短兔的心律失常持续时间($P<0.05$)。复方丹参滴丸和中剂量肉豆蔻-8散均能显著降低急性心肌损伤模型兔心脏的ST波增幅($P<0.05$ 或 $P<0.01$),复方丹参滴丸和中、高剂量肉豆蔻-8散均能显著降低急性心肌损伤模型兔心脏的S-T段波幅($P<0.05$ 或 $P<0.01$);复方丹参滴丸和低、高剂量肉豆蔻-8散均能显著降低急性心肌损伤模型兔血清中LDH水平($P<0.05$),中、高剂量肉豆蔻-8散分别能显著降低急性心肌损伤模型兔血清中MDA、CK水平($P<0.05$),中、高剂量肉豆蔻-8散均能显著升高急性心肌损伤模型兔血清中SOD水平($P<0.05$)。结论:蒙药肉豆蔻-8散对实验动物的心脏有保护作用。

关键词 蒙药;肉豆蔻-8散;耐缺氧;急性心律失常;急性心肌缺血缺氧;小鼠;兔

Study on the Protective Effects of Mongolian Medicine Roudoukou-8 Powder on Cardiac Tissue of Experimental Animals

XIAO Yunfeng¹, LI Wenyang^{2,3}, WANG Yuhua^{3,4}(1.Center for New Drug Safety Evaluation and Research, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China;2.Dept. of Pharmacy, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot 010017, China;3.TCM Research Institute, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China;4.School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effect of Mongolian medicine Roudoukou-8 powder on cardiac tissue of experimental animals. METHODS: Using Compound danshen dripping pill as positive control (0.10 g/kg), the experimental

four-year retrospective study[J]. *J Endourol*, 2014, 28(1): 100-103.

[19] CHEUNG NW, NAPIER B, ZACCARIA C, et al. Hyperglycemia is associated with adverse outcomes in patients

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81360678);内蒙古自治区高等学校“青年科技英才支持计划”项目(No.NJYT-17-B29);内蒙古医科大学科技百万工程项目(No.YKD2016KJBW013);内蒙古医科大学博士启动基金项目(No.YKD2017BQ001);内蒙古自治区卫生和计划生育委员会医疗卫生科研计划项目(No.201702059)

* 副研究员,博士,硕士生导师。研究方向:蒙药药理学、毒理学。电话:0471-6653156。E-mail:xiaoyunfeng0472@126.com

通信作者:教授,博士,博士生导师。研究方向:中蒙药药效物质基础及质量控制。电话:0471-6653151。E-mail:yuhuaawang59@163.com

receiving total parenteral nutrition[J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(10):2367-2371.

[20] 朱赤红,许沈华,凌雨田.乳腺癌外周血淋巴细胞亚群检测及其预后意义[J].*中国卫生检验杂志*, 2013, 23(14): 2957-2960.

[21] TORRICELLI FC, MONGA M, MARCHINI CS, et al. Semi-rigid ureteroscopic lithotripsy versus laparoscopic ureterolithotomy for large upper ureteral stones: a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Int Brass J Urol*, 2016, 42(4):645-655.

[22] 阎永贞.肿瘤免疫逃逸机制的研究进展[J].*复旦学报(医学版)*, 2013, 40(5):619-624.

(收稿日期:2018-05-23 修回日期:2018-08-24)

(编辑:林静)