

## 艾康颗粒对肺癌血管生成及转移影响的实验研究

王志学<sup>1</sup>, 王锡琴<sup>1</sup>, 李安源<sup>1</sup>, 李秀荣<sup>2</sup>, 周延峰<sup>2</sup>, 齐元富<sup>2</sup>, 焦中华<sup>2</sup>

(1. 山东省立医院, 山东 济南 250021; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

**[摘要]** 目的:探讨中药艾康颗粒抑制肺癌血管生成和抗转移的作用机制。方法:①采用鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)模型,将含有艾康颗粒提取液的载体置于7d胚龄的CAM上作用48h,观察抑制血管生成情况,并与氢化可的松比较;②采用家兔角膜移植肿瘤模型观察艾康颗粒对肿瘤血管生成抑制作用;③采用Lewis肺癌皮下接种于C57BL/6小鼠模型,以灌胃给药法及局部给药法观察艾康颗粒对肿瘤血管生成及肺转移的抑制作用。结果:艾康颗粒能够使CAM及家兔角膜移植瘤的血管生成明显减少甚至消失,抑制荷瘤小鼠肿瘤生长,抑瘤率为45.87%±6.78%,降低血管密度,肺转移抑制率为47.62%。结论:中药复方艾康颗粒能够抑制CAM、家兔角膜移植瘤及Lewis肺癌移植瘤的血管生成,并具有抗肿瘤转移作用。

**[关键词]** 肿瘤;血管生成;转移;艾康颗粒

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-659X(2006)04-0329-03

肿瘤血管是肿瘤生长、转移的重要因素之一,肿瘤血管不仅为肿瘤本身提供充足的营养,而且可以促使肿瘤向远处播散,导致肿瘤恶性生长和复发、转移<sup>[1]</sup>。近几年来,针对肿瘤复发转移的研究焦点逐渐集中在肿瘤血管生成方面,抑制肿瘤血管生成成为临床亟待解决的问题。为此,笔者采用血管生成及荷瘤模型,观察了艾康颗粒抑制肿瘤血管生成的作用,并探讨了艾康颗粒预防肺癌转移、复发的机制。

## 1 材料与方

### 1.1 动物

1.1.1 受精鸡卵白色 Leghorn 鸡种蛋,购于济南市养鸡场。

1.1.2 日本大耳白家兔 36 只,雄性,体质量 2.5~3 kg,购于山东省实验动物中心。

1.1.3 Lewis 肺癌瘤株由中国医学科学院药物研究所提供。S<sub>180</sub>瘤株由山东省医学科学院药物所提供。

1.1.4 C57BL/6 小鼠近交系,雌雄各半,体质量 20~24 g,购自中国医学科学院实验动物研究所。昆明种小白鼠,购于山东省实验动物中心。

### 1.2 药物及其制备

1.2.1 艾康颗粒由人参、补骨脂、血竭、干蟾皮、全蝎、蜈蚣、白芥子等按一定比例组成。由山东省立医院制剂室制成浓缩颗粒,每袋 9 g (相当于生药 80 g)。实验时用生理盐水配制成浓度为 200% 的水溶液(每毫升含生药 2 g),置 4℃ 冰箱保存。氢化可的松由山东新华制药厂提供。

1.2.2 药物-甲基纤维素薄片制备 将甲基纤维素按照 0.5% (W/V) 浓度配成甲基纤维素溶液,高压灭菌后,于 4℃ 下搅拌 4 h。将艾康颗粒提取液及氢化可的松药物按所需最终浓度分别溶于 0.5% 甲基纤维素溶液中。在超净工作台下,取不同药物浓度的溶液 10 μl 滴于特制的消毒圆杆(直径为 3 mm)顶部,吹干,形成薄片,小心取下,无菌保存。

### 1.3 观察方法

1.3.1 鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)制备 参照文献方法<sup>[2]</sup>略加改进。取受精卵 50 只,随机分成 5 组:对照组(磷酸缓冲液组),氢化可的松组,中药艾康颗粒高剂量组、中剂量组、低剂量组,每组 10 只。受精鸡

**[收稿日期]** 2006-02-09

**[作者简介]** 王志学(1971-),男,山东阳谷人,医学博士,主治医师,主要从事肿瘤的中西医结合临床及基础研究。

卵在正常孵育条件下孵化3 d。无菌条件下将鸡胚置于含10 ml Fisher's 培养液、直径为15 cm的培养皿中,于65%~70%相对湿度,3% CO<sub>2</sub>,36~37℃培养箱中孵育培养3 d,在解剖显微镜下,将药物-甲基纤维素薄片放置于尿囊膜毛细血管新生区。48 h后,解剖显微镜下观察甲基纤维素薄片周围毛细血管生长情况,计算CAM所有血管主干及其各级分支数。

**1.3.2 家兔角膜移植瘤血管生成抑制实验** 参照 Gimbrone 等的方法并略加改进。将经鉴定的小鼠 S<sub>180</sub> 实体瘤细胞接种于昆明种小白鼠腋下,生长7 d后取出。取家兔36只,随机分成6组:对照组,氢化可的松组,中药艾康颗粒高剂量组、中剂量组、低剂量组,中药+氢化可的松组。每组6只。将家兔用乙醚麻醉,取出肿瘤移植于家兔角膜中,使肿瘤组织到角膜缘距离在2 mm左右。术后2 d用裂隙灯显微镜观察血管生成情况并记录,每日1次,计算血管生长潜伏期(肿瘤植入后到血管开始生长之间的时间)和血管增长速度。

**1.3.3 艾康颗粒对荷瘤小鼠血管生成及转移的抑制作用** 取C57BL/6小鼠70只,随机分为7组:对照组(生理盐水组),中药艾康颗粒高剂量组、中剂量组、低剂量组,CTX组,中药+CTX组,预防组。每组10只。取经鉴定的新鲜Lewis肺癌瘤块,无菌条

件下制成肿瘤单细胞悬液,用生理盐水将悬液稀释成 $6 \times 10^6$ /ml癌细胞悬液,取0.1 ml原液常规方法接种于各组小鼠右侧腋下皮下。每天灌胃给药,连续12 d;预防组在实验前5 d开始给药,环磷酰胺(CTX)组为接种瘤株后第4天开始腹腔给药,隔日给药,连续4次;对照组灌胃生理盐水,容量同中药组。于给药第12天处死动物,剥取瘤组织,称质量,测定抑瘤率、微血管密度及肺转移率。微血管密度采用免疫组化法,试剂盒购于TBD生物技术有限公司。

## 2 结果

**2.1 艾康颗粒对CAM血管生成的抑制作用** 见表1。

表1 艾康颗粒对CAM血管生成的影响( $\bar{x} \pm s$ )

|        | 剂量<br>(V/ $\mu$ l) | 测试鸡胚<br>(个) | 平均血管数              |
|--------|--------------------|-------------|--------------------|
| 对照组    | 10                 | 10          | 28.34 $\pm$ 5.31   |
| 中药高剂量组 | 30                 | 10          | 11.09 $\pm$ 2.65** |
| 中药中剂量组 | 20                 | 10          | 14.43 $\pm$ 4.87*  |
| 中药低剂量组 | 10                 | 10          | 16.76 $\pm$ 2.56*  |
| 氢化可的松组 | 10                 | 10          | 21.26 $\pm$ 4.54*  |

与对照组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.2 艾康颗粒对家兔角膜移植瘤诱发血管生成的影响** 见表2。

表2 艾康颗粒对家兔角膜移植瘤诱发血管生成的影响( $\bar{x} \pm s$ )

|           | n | 移植瘤距角膜缘距离<br>(l/mm) | 潜伏期<br>(t/d)     | 血管生长速度<br>(v/mm $\cdot$ d <sup>-1</sup> ) |
|-----------|---|---------------------|------------------|---|
| 对照组       | 6 | 1.98 $\pm$ 7.22     | 1.83 $\pm$ 0.56  | 0.214 $\pm$ 0.048                         |
| 中药高剂量组    | 6 | 2.01 $\pm$ 7.23     | 2.21 $\pm$ 0.72  | 0.141 $\pm$ 0.064*                        |
| 中药中剂量组    | 6 | 1.97 $\pm$ 7.30     | 1.87 $\pm$ 0.45  | 0.196 $\pm$ 0.071                         |
| 中药低剂量组    | 6 | 1.96 $\pm$ 7.24     | 1.80 $\pm$ 0.63  | 0.183 $\pm$ 0.049                         |
| 氢化可的松组    | 6 | 2.02 $\pm$ 7.22     | 1.67 $\pm$ 0.53  | 0.190 $\pm$ 0.062                         |
| 中药+氢化可的松组 | 6 | 2.01 $\pm$ 7.26     | 2.51 $\pm$ 0.70* | 0.101 $\pm$ 0.055**                       |

与对照组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.3 艾康颗粒对荷瘤小鼠肿瘤血管生成及转移的抑制作用**

**2.3.1 小鼠皮下移植瘤及血管大体所见** 对照组恶病质较重,消瘦,肿瘤颜色红润,毛细血管丰富,且扩张迂曲,易出血,坏死较少,肿瘤体积大,甚至影

响活动;CTX组肿瘤颜色灰暗,毛细血管生长不均,出血少,坏死多,体积小,消瘦,活动减少;艾康颗粒高剂量组肿瘤体积较小,较苍白,出血少,表面较整齐;艾康颗粒低剂量组肿瘤较大,毛细血管较多,表面坏死较少;中药+CTX组体积较小,表面毛细血

管较少,活动尚可。

响 见表3。

### 2.3.2 艾康颗粒对荷瘤小鼠肺癌微血管密度的影

表3 艾康颗粒对荷瘤小鼠肺癌微血管密度及抑瘤率的影响( $\bar{x} \pm s$ )

|         | 始/末样本数 | 微血管密度(MVD)   | 瘤质量(m/g)    | 抑瘤率(%)                  |
|---------|--------|--------------|-------------|-------------------------|
| 对照组     | 10/10  | 24.98±8.21   | 3.27±0.40   |                         |
| 中药高剂量组  | 10/10  | 18.01±4.23*  | 1.77±0.15** | 45.87±6.78              |
| 中药中剂量组  | 10/10  | 21.97±6.30   | 2.01±0.27** | 35.94±3.97              |
| 中药低剂量组  | 10/10  | 21.96±7.24   | 2.53±0.23*  | 22.62±2.85              |
| CTX组    | 10/10  | 12.02±5.22*  | 0.66±0.03** | 80.51±7.43              |
| 中药+CTX组 | 10/10  | 10.01±3.26** | 0.44±0.03** | 96.54±8.91 <sup>▲</sup> |
| 预防组     | 10/10  | 15.23±4.65*  | 1.49±0.13** | 54.43±6.46              |

与对照组比较 \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ;与CTX组比较 <sup>▲</sup> $P<0.01$

### 2.3.3 对肿瘤转移的影响 见表4。

表4 艾康颗粒对Lewis肺癌小鼠肺及淋巴转移的影响

|         | 始/末样本数 | 给药剂量(g/d) | 肺部集落( $\bar{x} \pm s$ ) | 抑瘤率(%) | 淋巴结转移率(%) |
|---------|--------|-----------|-------------------------|--------|-----------|
| 对照组     | 10/10  |           | 12.32±2.31              |        | 100       |
| 中药高剂量组  | 10/10  | 1.50      | 7.16±2.17*              | 47.62  | 40        |
| 中药中剂量组  | 10/10  | 1.00      | 8.65±2.56               | 36.32  | 60        |
| 中药剂量低组  | 10/10  | 0.50      | 10.38±2.33              | 19.37  | 60        |
| CTX组    | 10/10  | 0.02      | 8.23±1.45               | 35.92  | 60        |
| 中药+CTX组 | 10/10  | 1.50+0.02 | 7.20±1.01* <sup>▲</sup> | 41.79  | 60        |
| 预防组     | 10/10  | 1.50      | 6.01±0.90*              | 55.16  | 40        |

与对照组比较 \* $P<0.01$ ,与中药高剂量组比较 <sup>▲</sup> $P<0.05$

## 3 讨论

艾康颗粒是导师焦中华教授数十年临床治疗肿瘤的效验方,该方从中医学整体观念出发,结合肺癌复发与转移的“正虚血瘀、邪毒流注、风痰阻络”病因病机而配伍的。方中君药人参味甘,入肺、脾二经,大补元气,自古以来为扶正之要药,也有祛邪、破坚积等作用。补骨脂补肾助阳,可补肾中真阴、真阳,元气得复,则病症自除。二药相配,共奏调理气血阴阳、扶正培本之功。莪术、血竭行气破血,逐瘀散结;山慈菇、干蟾皮清热解毒,消肿散结;全蝎、蜈蚣熄风通络,以毒攻毒,解毒散结;白芥子搜剔皮里膜外之

痰。纵观全方配伍,扶正与祛邪并用,使补而不助邪,攻而不伤正,既能调理气血阴阳和脏腑功能,以调动机体免疫功能,提高抗病能力,又能活血祛瘀,解毒散结,以消灭体内残存的肿瘤细胞。研究结果证明,艾康颗粒对肿瘤的抑制作用是通过多层次、多环节、多靶点的综合机制来实现的,其中抑制血管的生成是其重要的机制之一,并通过此作用抑制肿瘤生长、减少复发、控制转移。

### [参考文献]

- [1] 赵万洲,韩锐.肿瘤血管生成抑制剂研究策略及进展[J].中华肿瘤杂志,2000,22(2):93.
- [2] 武利存,孙公甲.鸡胚绒毛膜尿囊法检测血管生长抑制剂的研究[J].山东省医学科学院学报,1992,8(1):16.