

本文引用:许志,谢梦洲,许必祥,刘雪辉,贺静,王筱宇. 芩芪口服液联合化疗对 Lewis 肺癌小鼠增效减毒作用研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(5): 696-700.

芩芪口服液联合化疗对 Lewis 肺癌小鼠增效减毒作用研究

许志¹, 谢梦洲^{2*}, 许必祥¹, 刘雪辉¹, 贺静¹, 王筱宇¹

(1.湖南天劲制药有限公司,湖南长沙 410205;2.湖南中医药大学,湖南长沙 41007)

[摘要] **目的** 观察芩芪口服液联合化疗对 Lewis 肺癌小鼠化疗效果的影响。**方法** 将腋下接种 Lewis 肺癌细胞小鼠随机分为 6 组,分别为模型对照组、化疗组、化疗+贞芪扶正颗粒组(贞芪扶正组)、化疗+芩芪口服液低剂量组(芩芪低剂量组)、化疗+芩芪口服液中剂量组(芩芪中剂量组)、化疗+芩芪口服液高剂量组(芩芪高剂量组),同时设立正常对照组,各组按照给药方法进行连续给药 21 d。给药后每隔 3 天,对 Lewis 肺癌小鼠的肿瘤的长径和短径进行测定、给药 21 d 后对血液中炎性细胞 WBC、Neu、Lym、Mon、Eos、Bas 的数目进行测定,并对胸腺、脾脏、胃进行组织病理学检查。**结果** 与化疗组比较,芩芪低、中剂量组小鼠给药第 15~21 天肿瘤体积减少;芩芪高剂量组小鼠给药第 21 天肿瘤体积明显减少($P<0.05$)。与化疗组比较,芩芪低、中、高剂量组小鼠血液中 WBC、Neu、Mon、Eos 数目明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。芩芪口服液联合化疗能明显改善小鼠脾脏红髓造血情况,改善胸腺萎缩和局灶性纤维化。**结论** 芩芪口服液联合化疗用药对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠具有明显的增效减毒作用。

[关键词] 芩芪口服液;化疗;肿瘤体积;增效减毒;炎性细胞

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.05.008

The Study About Effect-enhancing and Toxicity-reducing Effects of Wuqi Oral Liquid Combined with Chemotherapy in Mice with Lewis Lung Cancer

XU Zhi¹, XIE Mengzhou^{2*}, XU Bixiang¹, LIU Xuehui¹, HE Jing¹, WANG Xiaoyu¹

(1. Hunan Tianjin Pharmaceutical Co., Ltd. Changsha, Hunan 410205, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Wuqi Oral Liquid combined with chemotherapy on the chemotherapy effect of Lewis lung cancer mice. **Methods** Mice inoculated with Lewis lung cancer cells under the armpits were randomly divided into 6 groups: model control group, chemotherapy group, chemotherapy+Zhenqi Fuzheng granule group (Zhenqi Fuzheng group), chemotherapy+Wuqi Oral Liquid low-dose group (Wuqi low-dose group), chemotherapy+Wuqi Oral Liquid medium-dose group (Wuqi medium-dose group), chemotherapy+Wuqi Oral Liquid high-dose group (Wuqi high-dose group), and a normal control group was set up at the same time, each group was dealt with the administration method. The administration of drug was continued for 21 days. The long and short diameters of the tumors in Lewis lung cancer mice were measured every 3 days after the administration. After 21 days of administration, the blood inflammatory cells WBC, Neu, Lym, Mon, Eos and Bas was measured, and histopathological examination was performed on the thymus, spleen, and stomach. **Results** Compared with the chemotherapy group, the volume of tumors in mice of Wuqi low and medium doses group decreased from 15 to 21 days after administration; the volume of tumors in mice of Wuqi high-dose group was significantly reduced on the 21st day ($P<0.05$). Compared with the chemotherapy group, the number of WBC, Neu, Mon, Eos inflammatory cells in the blood of mice of Wuqi low, medium and high doses group

[收稿日期] 2021-01-11

[基金项目] 湖南省教育厅创新平台基金项目(19K070)。

[作者简介] 许志,男,硕士,制药工程师,研究方向:中药新药开发。

[通讯作者] * 谢梦洲,女,教授,博士研究生导师,E-mail:1173511369@qq.com。

significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$). Wuqi Oral Liquid combined with chemotherapy can significantly improve the hematopoiesis of the red marrow of the mouse spleen, and improve thymic atrophy and focal fibrosis. **Conclusion** Wuqi Oral Liquid combined with chemotherapy has a significant effect of increasing efficacy and reducing toxicity in mice with Lewis lung cancer.

[**Keywords**] Wuqi Oral Liquid; chemotherapy; tumor volume; effect-enhancing and toxicity-reducing; inflammatory cells

肿瘤化疗是目前癌症治疗的主要手段之一,化疗药物进入机体后广泛分布于肝脏、肾脏、血液等组织器官,并主要由肝脏、肾脏代谢和排出^[1]。因此,化疗药物在杀灭肿瘤细胞的同时,也不可避免地损伤了机体正常的细胞,表现出一系列化疗的不良反应,如免疫功能下降、骨髓抑制、肝脏毒性、肾脏毒性、消化道障碍等^[2-4]。中医学认为化疗属于以毒攻毒的治法^[5],最易伤人正气,而表现出机体虚弱等症状。在全球癌症(GLOBOCAN)2018 数据库中,每年全球估计有 209 万新病例,176 万人死于肺癌^[6]。鹭芪口服液为湖南天劲制药有限责任公司独家品种,以鸭为君药入药,功效为养阴益气、补虚扶正,能够提升机体正气。本次采用 Lewis 肺癌细胞接种小鼠,进行肿瘤小鼠模型制备,研究鹭芪口服液联合化疗药物对增加化疗耐受性的影响,贞芪扶正颗粒是化疗期间常用的中成药^[7],对化疗所致的毒性有一定的减毒作用,此次研究以此药作为阳性对照药。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 140 只,体质量 12~15 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物质量合格证号:43004700057020、43004700060135,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2016-0002;在湖南省药物安全评价研究中心屏障环境饲养,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2015-0016。

1.2 主要药品

鹭芪口服液(10 mL/支,批号:1812012,湖南天劲制药有限责任公司);贞芪扶正颗粒(15 g/袋,批号:20180403,湖南时代阳光药业股份有限公司);顺铂注射液(2 mL:10 mL,批号:181204,江苏豪森药业集团有限公司);依托泊苷注射液(5 mL:0.1 g,批号:CB1K7005,齐鲁制药(海南)有限公司);0.9%氯化钠注射液(批号:18073101C,湖南康源制药有限公司)

1.3 主要仪器

BC-5000Vet 型兽用五分类血液细胞分析仪(迈

瑞公司);游标卡尺(永康正丰五金有限公司);ME2002E 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

2 方法

2.1 分组及剂量设计

接种 Lewis 肺癌细胞小鼠,根据瘤体体积随机分为 6 组,每组 20 只,分别为:模型对照组、化疗组(依托泊苷 3.0 mg/kg+顺铂 2.0 mg/kg)、化疗+贞芪扶正颗粒组(贞芪扶正组,3.9 g/kg)、化疗+鹭芪口服液低剂量组(鹭芪低剂量组)(2.6 mL/kg)、化疗+鹭芪口服液中剂量组(鹭芪中剂量组,5.2 mL/kg)、化疗+鹭芪口服液高剂量组(鹭芪高剂量组,10.4 mL/kg)。另外取 20 只未接种 Lewis 肺癌细胞小鼠作为正常对照组。鹭芪口服液成人临床剂量为 10 mL,2次/d,20 mL/d,按体表面积法换算动物等效剂量为 2.6 mL/kg。鹭芪口服液低、中、高剂量分别为 2.6、5.2、10.4 mL/kg。贞芪扶正颗粒成人拟推荐剂量为 15 g,2次/d,30 g/d,按体表面积法换算动物等效剂量为 3.9 g/kg。顺铂注射液临床使用 15 mg/d,换算小鼠等效剂量为 2 mg/kg。经查阅文献,依托泊苷注射液剂量为 3.0 mg/kg^[8]。

2.2 给药方法

除正常对照组与模型对照组外,化疗组、贞芪扶正组、鹭芪低剂量组、鹭芪中剂量组、鹭芪高剂量组动物均腹腔注射给予化疗药物,1次/d,连续给药 7 d,同时贞芪扶正组、鹭芪低剂量组、鹭芪中剂量组、鹭芪高剂量组分别给予相应浓度药液,给予体积为 20 mL/kg,1次/d,连续给药 21 d,正常对照组、模型对照组、化疗组小鼠分别灌胃给予同体积蒸馏水。

2.3 测定方法

2.3.1 公式法测定瘤体体积 给药后每隔 3 d 用游标卡尺检测肿瘤的长径和短径,根据公式计算肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线。计算公式为:肿瘤体积= $ab^2/2$ (a 为长径,b 为短径)^[9]。

2.3.2 血液细胞分析仪测定血液中炎性细胞数目 造模后及末次给药后采用 BC-5000Vet 型兽用五分类血液细胞分析仪进行血常规功能检测,检测指标为:白细胞(white blood cell, WBC)、中性粒细胞(neutrophil, Neu)、淋巴细胞(lymphocyte, Lym)、单核细胞(monocytes, Mon)、嗜酸性粒细胞(eosinophils, Eos)、嗜碱性粒细胞(basophils, Bas)。

2.3.3 苏木素-伊红(HE)染色法观测组织病理学变化 末次给药后,对正常对照组、模型对照组、化疗组、贞芪扶正组、薏苡低剂量组、薏苡中剂量组、薏苡高剂量组进行固定、包埋、切片、HE染色、显微镜观察,进行组织病理学检查,受检脏器为:胸腺、脾脏、胃。

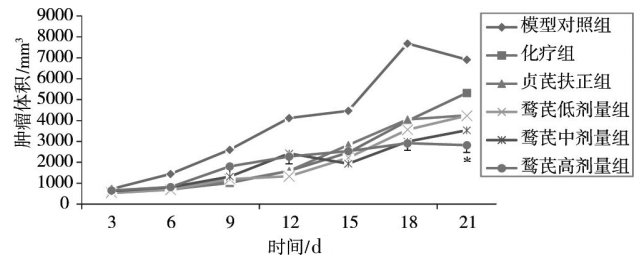
2.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 进行统计分析,计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,用 *Leven's test* 方法检验正态性和方差齐性,如果符合正态性和方差齐性($P>0.05$),用单因素方差分析(*ANOVA*)和 *LSD* 检验进行统计分析;如果符合正态性和方差齐性,则用 *Kruskal-Wallis* 检验,如果 *Kruskal-Wallis* 检验有统计学意义($P\leq 0.05$),则用 *Dunnett's Test* (非参数方法)进行比较分析,统计学意义的水平设定为 $P<0.05$ 。

3 结果

3.1 薏苡口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤体积的影响

模型对照组小鼠肿瘤体积在第 0~18 天持续增长,在第 21 天有所减少;与化疗组比较,薏苡低剂量组、薏苡中剂量组、薏苡高剂量组,小鼠在给药第 15~21 天肿瘤体积减小;与化疗组比较,薏苡高剂量组小鼠在给药第 21 天肿瘤体积明显减少($P<0.05$)。见图 1。



注:与化疗组比较,* $P<0.05$

图 1 薏苡口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤体积的影响

3.2 薏苡口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠炎性细胞数目影响

给药 21 d 后,与正常对照组比较,模型对照组小鼠血液中 WBC、Neu、Mon、Eos、Bas 明显升高($P<0.01$)。与模型对照组比较,化疗组小鼠血液中 Bas 明显减少($P<0.05$);贞芪扶正组小鼠血液中 WBC、Neu、Bas 明显减少($P<0.05$);薏苡低、中、高剂量组小鼠血液中 WBC、Neu、Mon、Eos、Bas 明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与化疗组比较,贞芪扶正组小鼠血液中 WBC、Neu 明显减少($P<0.05$);薏苡低、中、高剂量组小鼠血液中 WBC、Neu、Mon、Eos 明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);薏苡中、高剂量组小鼠血液中 Bas 明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表 1。

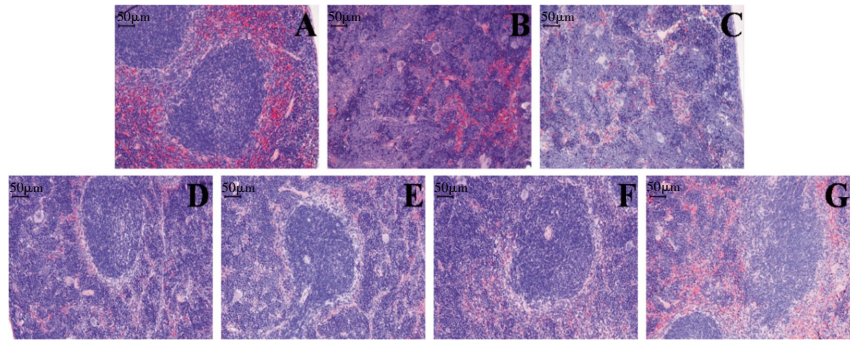
3.3 薏苡口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠脾脏、胸腺和胃组织病理学检查

正常对照组小鼠脾脏、胸腺、胃组织学结构清楚,未见明显异常。模型对照组、化疗组小鼠脾脏红髓造血明显,细胞类型多样,红系、粒系、巨核细胞均增生,胸腺萎缩、纤维化,脂肪组织包裹;贞芪扶正组小鼠脾脏白髓淋巴组织尚存,红髓中度造血,细胞类型多样,粒系为主,胸腺萎缩、纤维化,脂肪组织包裹;薏苡低剂量组小鼠白髓淋巴组织尚存,红髓轻度造血,胸腺萎缩、纤维化,脂肪组织包裹;薏苡中高剂

表 1 薏苡口服液对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠炎性细胞数目的影响($\bar{x}\pm s, n=20, 10^9/L$)

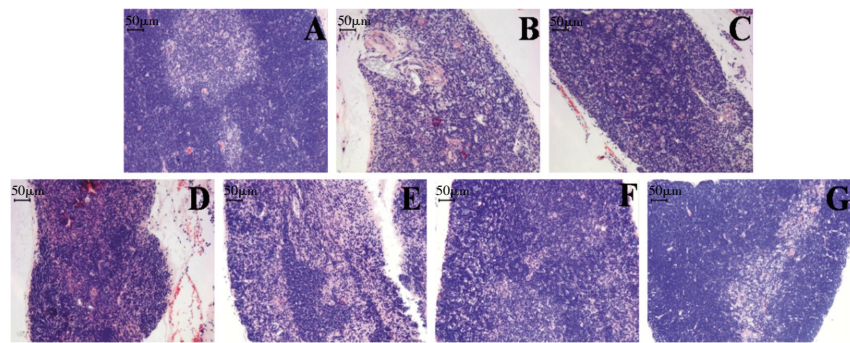
组别	WBC	Neu	Lym	Mon	Eos	Bas
正常对照组	7.14±2.61	0.71±0.38	6.18±2.18	0.14±0.10	0.10±0.06	0.01±0.01
模型对照组	159.10±28.83 ^{##}	139.10±29.94 ^{##}	5.49±0.67	8.08±0.91 ^{##}	2.43±0.92 ^{##}	4.01±0.89 ^{##}
化疗组	141.17±80.15	125.99±73.00	5.25±2.88	5.99±3.94	1.67±0.90	2.27±1.50 [†]
贞芪扶正组	98.60±50.36 [*]	84.86±45.91 ^{**}	4.89±2.23	5.08±2.86	1.51±0.95	2.27±1.78 [†]
薏苡低剂量组	70.76±46.41 ^{***}	61.17±43.45 ^{****}	4.03±2.36	3.22±1.76 ^{**}	0.97±0.50 ^{***}	1.37±1.20 ⁺⁺
薏苡中剂量组	27.88±18.43 ^{***}	22.33±17.03 ^{****}	3.18±1.94	1.56±1.06 ^{***}	0.40±0.25 ^{****}	0.42±0.39 ^{****}
薏苡高剂量组	51.28±28.74 ^{**}	40.44±25.78 ^{***}	6.15±6.41	2.76±1.47 ^{**}	0.94±0.75 ^{***}	0.99±0.94 ^{**}

注:与正常对照组比较,^{*} $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与模型对照组比较,[†] $P<0.05$,⁺⁺ $P<0.01$;与化疗组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$



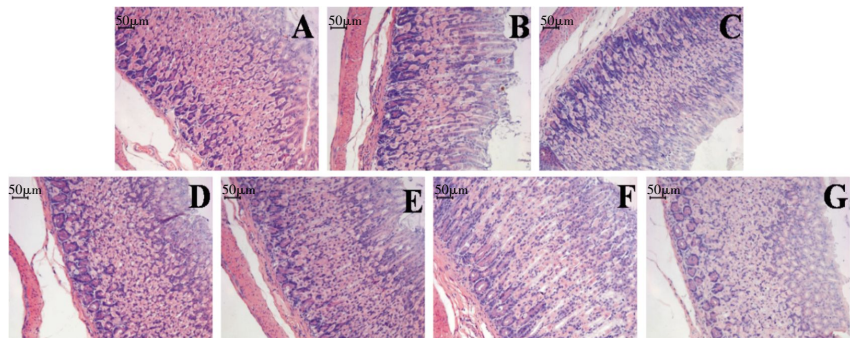
注:A.正常对照组;B.模型对照组;C.化疗组;D.贞芪扶正组;E.贞芪低剂量组;F.贞芪中剂量组;G.贞芪高剂量组

图2 脾脏组织病理学检查(HE,×200)



注:A.正常对照组;B.模型对照组;C.化疗组;D.贞芪扶正组;E.贞芪低剂量组;F.贞芪中剂量组;G.贞芪高剂量组

图3 胸腺组织病理学检查(HE,×200)



注:A.正常对照组;B.模型对照组;C.化疗组;D.贞芪扶正组;E.贞芪低剂量组;F.贞芪中剂量组;G.贞芪高剂量组

图4 胃组织病理学检查(HE,×200)

量组小鼠骨髓淋巴组织尚存,红髓轻度造血,胸腺轻度萎缩,局灶性纤维化。各组小鼠胃组织均未见明显异常。见图2-4。

4 讨论

化疗为目前治疗癌症的主要手段之一^[10],化疗药物治疗肿瘤易产生骨髓抑制、白细胞下降、腹泻等副作用,为了降低副反应发生率,临床上建议使用中药辅助治疗^[11],并且大量的临床实践已经证明中医

药辅助化疗能减少化疗毒性的发生率,减轻化疗毒性程度,保证化疗的顺利完成^[12]。

全身炎症反应与恶性肿瘤的发生与发展密切相关^[13]。Balkwill等^[14]研究表明,宿主的炎性细胞可促进肿瘤生长、进展并抑制宿主的免疫系统,实验中减少宿主的炎性细胞介质或阻断其作用通路可以抑制肿瘤的进展。中性粒细胞作为一种重要的炎性细胞,其绝对值可以反映肿瘤导致机体的炎症反应。胸腺和外周免疫器官均有调节作用,脾脏具有非特异性

和特异性免疫功能,机体的免疫状态与恶性肿瘤的发生、进展、治疗措施的效果和患者的存活时间均密切相关,在肿瘤的发生、发展过程中,免疫功能往往被抑制,而对免疫器官化疗过程中的保护有助于肿瘤的治疗^[15]。

鹭芪口服液主要成份是鸭(去毛,内脏留胃、肠、肝)、丹参、女贞子、黄芪、山楂、大枣、枸杞子、甘草,具有养阴益气 and 补虚扶正作用^[16]。本研究中发现鹭芪口服液联合化疗药物使用能够明显减少 Lewis 肺癌荷瘤小鼠血液中 WBC、Neu、Mon、Eos 等炎性细胞数目,同时,鹭芪中、高剂量组可明显减少 Bas 数量,缓解肿瘤发展的分期和进程,能够明显改善 Lewis 肺癌小鼠脾脏、胸腺的组织病理学变化,可在一定程度上缓解免疫器官的损伤。

综上所述,鹭芪口服液在肿瘤化疗过程中能够发挥中药在减轻化疗副反应方面的优势,因此,鹭芪口服液联合化疗对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠具有明显的增效减毒作用。

参考文献

- [1] BANDU R, AHN H S, LEE J W, et al. Distribution study of cisplatin in rat kidney and liver cancer tissues by using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Mass Spectrometry: JMS*, 2015, 50(6): 844-853.
- [2] 曹思思,张毕奎.顺铂肝毒性机制的研究进展[J].*中南药学*,2016, 14(6):641-643.
- [3] TOMINAGA T, NONAKA T, SUMIDA Y, et al. The C-reactive protein to albumin ratio as a predictor of severe side effects of adjuvant chemotherapy in stage III colorectal cancer patients[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167967.
- [4] LI S L, LIU J N, VIRNIG B A, et al. Association between adjuvant chemotherapy and risk of acute kidney injury in elderly women diagnosed with early-stage breast cancer[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2017, 161(3): 515-524.
- [5] 曹利平,陈国庆.肺癌放疗后中医诊疗思路[J].*现代中医药*,2012, 32(3):69-70.
- [6] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. *International Journal of Cancer*, 2019, 144(8): 1941-1953.
- [7] 黄常新,陈灵芝,赵建刚,等.贞芪扶正颗粒对结直肠癌术后化疗骨髓毒性的保护作用[J].*中国中西医结合外科杂志*,2008,14(5):441-446.
- [8] 李 寨,陆 榕,李荣珊,等.依托泊苷亚微乳在大鼠体内的药动学研究[J].*现代药物与临床*,2015,30(8):938-942.
- [9] 李 曜,王志恒,李鹏鹏,等.三维可视化技术与公式法测定肝脏肿瘤体积的对比研究[J].*腹部外科*,2019,32(1):17-22.
- [10] 王安峰,刘 明,翟福山,等.益气健脾法防治恶性肿瘤化疗毒副作用[J].*河北中医*,2008,30(9):935-936.
- [11] 顾玉彪,冯 辉,郑 林,等.加味血府逐瘀汤联合利伐沙班对全膝关节置换术后深静脉血栓发生的影响[J].*中医杂志*,2018,59(18):1578-1582.
- [12] 甄永苏.抗肿瘤药物研究与开发[M].北京:化学工业出版社,2004.
- [13] GOH B K, CHOK A Y, ALLEN J C Jr, et al. Blood neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios are independent prognostic factors for surgically resected gastrointestinal stromal tumors[J]. *Surgery*, 2016, 159(4): 1146-1156.
- [14] BALKWILL F, MANTOVANI A. Inflammation and cancer: Back to Virchow?[J]. *The Lancet*, 2001, 357(9255): 539-545.
- [15] SALEHI-RAD R, DUBINETT S M. Understanding the mechanisms of immune-evasion by lung cancer in the context of chronic inflammation in emphysema[J]. *Journal of Thoracic Disease*, 2019, 11(2): 382-385.
- [16] 陈建军.18例高血压并糖尿病患者用鹭芪口服液治疗的临床分析[J].*中西医结合心血管病电子杂志*,2020,8(36):186.

(本文编辑 苏 维)