

本文引用:史雯,陈信义,田劭丹,姚靓,何昊. 黄连汤与加味黄连汤对小鼠胰腺癌移植瘤的抑制作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(4): 576-582.

黄连汤与加味黄连汤对小鼠胰腺癌移植瘤的抑制作用

史雯^{1,2}, 陈信义¹, 田劭丹^{1*}, 姚靓¹, 何昊³

(1.北京中医药大学东直门医院,北京 100700;2.北京市第六医院,北京 100007;3.西安医学院药学院,陕西 西安 710021)

[摘要] **目的** 观察黄连汤、加味黄连汤对胰腺癌移植瘤模型小鼠体质量、游泳时间、肿瘤体积、肿瘤抑制率的影响。**方法** 将小鼠胰腺癌细胞接种于BALB/c小鼠右前肢腋窝下,构建胰腺癌移植瘤模型。造模后将84只小鼠随机分为7组:模型对照组(0.01 mL/g),黄连汤中剂量组(5.98 mg/g)、黄连汤高剂量组(11.96 mg/g)、加味黄连汤中剂量组(8.32 mg/g)、加味黄连汤高剂量组(16.64 mg/g)、吉西他滨中剂量组(0.25 mg/g)、吉西他滨高剂量组(0.50 mg/g),每组12只。模型对照组每日给予生理盐水灌胃,黄连汤中、高剂量组给予相应剂量黄连汤灌胃,加味黄连汤中、高剂量组给予相应剂量加味黄连汤灌胃,吉西他滨中、高剂量组皮下注射相应剂量注射用盐酸吉西他滨,各组均连续干预14 d。实验过程中和实验结束后,观察各组小鼠体质量、游泳时间、肿瘤体积、肿瘤抑制率。**结果** 模型对照组、黄连汤中剂量组、黄连汤高剂量组第4、8、12天,加味黄连汤高剂量组第8、12天,吉西他滨高剂量组第4、8天肿瘤体积均明显大于给药前($P<0.05$)。黄连汤中、高剂量组第12天,加味黄连汤高剂量组第8天肿瘤体积均明显大于第4天($P<0.05$)。模型对照组、黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组第12天肿瘤体积均明显大于第8天($P<0.05$)。吉西他滨高剂量组第12天肿瘤体积明显小于第8天($P<0.05$)。黄连汤中剂量组、黄连汤高剂量组、加味黄连汤中剂量组第4、8、12天,加味黄连汤高剂量组第12天体质量均明显大于给药前($P<0.05$)。加味黄连汤中、高剂量组第12天体质量均明显大于第8天($P<0.05$)。吉西他滨中、高剂量组第12天体质量均明显小于第4、8天($P<0.05$)。黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组、加味黄连汤高剂量组第7、14天,黄连汤高剂量组、吉西他滨中剂量组、吉西他滨高剂量组第14天游泳时间均明显短于给药前($P<0.05$)。模型对照组第14天游泳时间明显短于第7天($P<0.05$)。第12天,黄连汤高剂量组、加味黄连汤高剂量组体质量、肿瘤体积均明显大于吉西他滨高剂量组($P<0.05$);黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组体质量均明显大于吉西他滨中剂量组($P<0.05$)。第14天,黄连汤高剂量组、加味黄连汤高剂量组游泳时间均明显长于吉西他滨高剂量组($P<0.05$);黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组游泳时间均明显长于吉西他滨中剂量组($P<0.05$)。加味黄连汤高剂量、吉西他滨中剂量组、吉西他滨高剂量组肿瘤抑制率均明显高于模型对照组($P<0.05, P<0.01$)。**结论** 高剂量的加味黄连汤抑制小鼠胰腺癌移植瘤的效果与吉西他滨相近,虽然在缩小肿瘤体积方面不如吉西他滨,但在增加体质量及延长游泳时间方面明显优于吉西他滨。而黄连汤仅在增加体质量及延长游泳时间方面优于吉西他滨。

[关键词] 胰腺癌;黄连汤;加味黄连汤;胰腺癌移植瘤;肿瘤抑制率;吉西他滨;疏肝健脾;平调寒热

[中图分类号] R273

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.04.010

Inhibitory effect of Huanglian Decoction and Jiawei Huanglian Decoction on mouse pancreatic cancer transplanted tumor

SHI Wen^{1,2}, CHEN Xinyi¹, TIAN Shaodan^{1*}, YAO Liang¹, HE Hao³

(1. Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China; 2. The Sixth Hospital of Beijing, Beijing 100007, China; 3. School of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi 710021, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effects of Huanglian Decoction and Jiawei Huanglian Decoction on the body weight, swimming time, tumor volume and tumor inhibition rate of pancreatic cancer transplanted tumor model mice. **Methods** Mouse pancreatic cancer cells were inoculated under the armpit of the right forelimb of BALB/c mice to construct a pancreatic cancer transplanted tumor model. After tumor formation, 84 mice were randomly divided into 7 groups: model control group (0.01 mL/g), Huanglian Decoction medium-dose group (5.98 mg/g), Huanglian Decoction high-dose group (11.96 mg/g), Jiawei Huanglian Decoction

[收稿日期] 2022-01-10

[基金项目] 北京市科学技术委员会科技计划课题(D131100002213002)。

[第一作者] 史雯,女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:中西医结合肿瘤学。

[通信作者] *田劭丹,女,主任医师,博士研究生导师,E-mail:olivatsd@126.com。

medium-dose group (8.32 mg/g), Jiawei Huanglian Decoction high-dose group (16.64 mg/g), gemcitabine medium-dose group (0.25 mg/g) and gemcitabine high-dose group (0.50 mg/g), with 12 mice in each group. The model control group was given normal saline intragastric administration daily, the medium-dose and high-dose groups of Huanglian Decoction were given corresponding doses of Huanglian Decoction, the medium-dose and high-dose groups of Jiawei Huanglian Decoction were given corresponding doses of Jiawei Huanglian Decoction intragastric administration, and the medium-dose and high-dose gemcitabine groups were subcutaneously injected with appropriate doses of gemcitabine hydrochloride for injection, and the intervention lasted for 14 days. During and after the experiment, the body weight, swimming time, tumor volume and tumor inhibition rate of each group were observed. **Results** The tumor volume of model control group, medium-dose and high-dose groups of Huanglian Decoction on the 4th, 8th and 12th day, Jiawei Huanglian Decoction high-dose group on the 8th and 12th day, and gemcitabine high-dose group on the 4th and 8th day were significantly higher than before ($P<0.05$). The tumor volume of medium-dose and high-dose groups of Huanglian Decoction on the 12th day and Jiawei Huanglian Decoction high-dose group on the 8th day were significantly higher than that on the 4th day ($P<0.05$). The tumor volume of model control group, Huanglian Decoction medium-dose group and Jiawei Huanglian Decoction medium-dose group on the 12th day was significantly higher than that on the 8th day ($P<0.05$). The tumor volume of gemcitabine high-dose group on the 12th day was significantly lower than that on the 8th day ($P<0.05$). The body weight in medium-dose and high-dose groups of Huanglian Decoction, Jiawei Huanglian Decoction medium-dose group on the 4th, 8th and 12th day and Jiawei Huanglian Decoction medium-dose group on the 12th day were significantly higher than before ($P<0.05$). The body weight on the 12th day in the medium-dose and high-dose groups of Jiawei Huanglian Decoction was significantly higher than that on the 8th day ($P<0.05$). In medium-dose and high-dose groups of gemcitabine, the body weight on the 12th day was significantly lower than that on the 4th day and 8th day ($P<0.05$). The swimming time of the Huanglian Decoction medium-dose group, the medium-dose and high-dose groups of Jiawei Huanglian Decoction on the 7th and 14th day, the Huanglian Decoction high-dose group, the medium-dose and high-dose groups of gemcitabine on the 14th day were significantly shorter than before ($P<0.05$). The swimming time of model control group on the 14th day was significantly shorter than that on the 7th day ($P<0.05$). On the 12th day, body weight and tumor volume of Huanglian Decoction high-dose group and Jiawei Huanglian Decoction high-dose group were significantly higher than those of gemcitabine high-dose group ($P<0.05$); the body weight of the Huanglian Decoction medium-dose group and Jiawei Huanglian Decoction medium-dose group was significantly higher than that of gemcitabine medium-dose group ($P<0.05$). On the 14th day, the swimming time of Huanglian Decoction high-dose group and Jiawei Huanglian Decoction high-dose group was significantly longer than that of gemcitabine high-dose group ($P<0.05$); the swimming time of Huanglian Decoction medium-dose group and Jiawei Huanglian Decoction medium-dose group was significantly longer than that of gemcitabine medium-dose group ($P<0.05$). The tumor inhibition rate of Jiawei Huanglian Decoction high-dose, medium-dose and high-dose groups of gemcitabine were significantly higher than that of model control group ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** The inhibitory effect of high-dose Jiawei Huanglian Decoction on transplanted mouse pancreatic cancer is similar to gemcitabine. Although it is not as effective as gemcitabine in reducing tumor volume, it is superior to gemcitabine in increasing body weight and prolonging swimming time. Huanglian Decoction is superior to gemcitabine only in increasing body weight and prolonging swimming time.

[**Keywords**] pancreatic cancer; Huanglian Decoction; Jiawei Huanglian Decoction; pancreatic cancer transplanted tumor; tumor inhibition rate; gemcitabine; soothing liver and strengthening spleen; moderating cold and heat

胰腺癌是一种恶性程度高、预后差的消化系统恶性肿瘤。总体发病率和病死率在全世界范围内均呈逐年上升趋势。研究表明,2018年胰腺癌全球发病人数超45万例,死亡人数超过43万例^[1],死亡与发病人数比值超过0.9。其中,美国新发胰腺癌病例数 $\geq 55\ 000$ 例,死亡病例数达44 330例。预计至2030年,胰腺癌病死率将跃居肿瘤相关病死率第2位^[2-3]。对于早期、没有转移的胰腺癌,外科切除依然是目前重要的治疗方式。晚期胰腺癌治疗的重点已从无效的化学治疗逐步转向包括靶向、免疫等综合治疗,为长期生存争取了条件^[4-6]。

黄连汤来源于《伤寒杂病论》,由黄连、人参、干姜、桂枝、半夏、大枣、甘草组成。《伤寒杂病论·辨阳明病脉证并治》曰:“伤寒胸中有热,胃中有邪气,腹中痛,欲呕吐者,黄连汤主之。”全方诸药合用,辛开苦降,寒散热消,中焦得和,升降复常^[7]。现代多用于急慢性胃炎等^[8-9]。临床实践发现,60%的胰腺癌患者以腹痛为首发症状,病程中有90%的患者出现中上腹或左侧季肋部腹痛;大部分患者会出现食欲减退、消化不良等症状,如腹胀、恶心、呕吐等^[10-11]。基于中医病机理论,结合胰腺癌常见临床症状,认为胰腺癌与中焦寒热失调,肝木克土,胃失和降密切相关^[12],

宜用和胃降逆法治疗^[13-14]。故而,陈信义教授在黄连汤基础上,加柴胡、枳实组成“加味黄连汤”疏肝健脾、平调寒热,治疗胰腺癌或消化道肿瘤,以控制患者临床症状,改善生存质量。本研究团队试通过黄连汤、加味黄连汤对胰腺癌移植瘤模型小鼠相关指标影响的比较性实验研究,为临床应用提供依据。

1 材料与方

1.1 主要实验药物

黄连汤由黄连 9 g,人参 10 g,干姜 3 g,桂枝 3 g,清半夏 9 g,大枣 6 g,甘草 6 g 组成。加味黄连汤由黄连 9 g,人参 10 g,干姜 3 g,桂枝 3 g,清半夏 9 g,大枣 6 g,柴胡 9 g,枳实 9 g,甘草 6 g 组成。两方均由中国北京康仁堂药业有限公司按照原国家食品药品监督管理局确定的颗粒饮片制备工艺和质量标准制备(单味中药水提后混合),并提供。注射用盐酸吉西他滨(江苏豪森药业股份有限公司,批号:20170311)。

1.2 细胞系

小鼠胰腺癌细胞 Panc02 细胞系,购自于中国医学科学院基础医学研究所,培养条件为 DMEM 培养基,10%FBS,湿度 95%,5%CO₂,37 ℃。

1.3 实验动物

BALB/c 小鼠(实验动物质量合格证号:0034331),雌雄各半,体质量(19.92±2.55) g,由中国空军军医大学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(陕)2014-002。饲养于中国西安医学院中药药理实验室,使用许可证号:SYXK(陕)2016-004,室温 20~25 ℃,相对湿度 45%~70%。

1.4 主要试剂与仪器

CO₂ 培养箱、超纯水机、高速离心机均来自美国 Thermo Fisher 公司(型号分别为 3111、MicroPure、Stratos);倒置显微镜(日本 Nikon 公司,型号:IX73);超净工作台(天津泰斯特仪器有限公司,型号:CJ-2S104);电子天平(美国 OHAUS 公司,型号:AX224ZH型)。

DMEM 培养基、FBS 胎牛血清、青链霉素混合液均购自美国 HyClone 公司(批号分别为 AD17628284、NYM1035、J180029);二甲基亚砜(美国 Sigma 公司,批号:RNBG6370);PBS 磷酸盐缓冲液(北京中杉金

桥生物技术有限公司,批号:181127)。

1.5 胰腺癌移植瘤模型的建立

取对数生长的小鼠胰腺癌细胞 Panc02 细胞,0.5%胰蛋白酶消化,离心洗涤 3 次,无血清培养基调整细胞浓度为 1×10⁷ 个/mL,1 mL 的 6 号针头注射器抽取细胞悬液接种于小鼠右前肢腋窝,每只小鼠接种 0.2 mL^[15]。模型小鼠皮下出现肿瘤结节,直径>5 mm,表明胰腺癌皮下移植瘤小鼠模型构建成功^[16]。

1.6 实验药物计算

参照《药理实验方法学》^[17]“种属间等效剂量的折算表”进行给药剂量计算,其中,70 kg 人与 20 g 小鼠间系数为 0.0026。黄连汤,人每日用药剂量为 46 g,即 46 g/70 kg=0.6571 g/kg,换算成小鼠中剂量为 5.98 mg/g。加味黄连汤,人每日用药剂量为 64 g,即 64 g/70 kg=0.9142 g/kg,换算成小鼠中剂量为 8.32 mg/g。以上两方中剂量乘以 2 为相应高剂量。注射用盐酸吉西他滨按照人体标准用药剂量,换算成小鼠剂量,吉西他滨中剂量为 0.25 mg/g,高剂量为 0.50 mg/g。

1.7 实验分组给药

接种 6 d 后,小鼠右前肢腋窝皮下可触及肿瘤结节,将出瘤的 84 只小鼠随机分为模型对照组、加味黄连汤中剂量组、加味黄连汤高剂量组、黄连汤中剂量组、黄连汤高剂量组、吉西他滨中剂量组、吉西他滨高剂量组,共 7 组,每组 12 只。模型对照组每日给予 0.01 mL/g 生理盐水(约为 0.01 mg/g)灌胃。加味黄连汤中、高剂量组及黄连汤中、高剂量组每日给予相应剂量药物灌胃。吉西他滨中、高剂量组每日给予相应剂量注射用盐酸吉西他滨皮下注射。各组均连续干预 14 d。

1.8 观察指标

1.8.1 肿瘤体积 待肿瘤形成后,给药前及给药后第 4、8、12 天分别测量瘤径 1 次,利用游标卡尺测量其最长径(a)及其垂直径(b),计算肿瘤体积(V),公式为 $V=1/2ab^2$ 。

1.8.2 肿瘤抑制率 实验结束,断颈处死小鼠,迅速剥离肿瘤并称质量,计算肿瘤抑制率。肿瘤抑制率=(1-给药组平均瘤质量/模型对照组平均瘤质量)×100%^[18]。

1.8.3 体质量 各组小鼠给药前及给药后第 4、8

天、12天分别称体质量。

1.8.4 游泳时间 水深 20 cm,水温(20±0.5)℃,在尾部加质量 2 g 左右重物。将小鼠分别放入水缸内游泳,并记录时间。当小鼠头部沉入水中 3 s 不能浮出水面即为体力耗竭,捞出小鼠,记录时间。药物给药前及给药后第 7、14 天各测 1 次。可体现各组实验药物对小鼠抗疲劳效果的影响。

1.9 统计学方法

分析采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析。计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”进行描述,数据分析前均进行正态性检验及方差齐性检验排除抽样误差,两组多个时间点间比较采用重复测量方差分析;计数资料组间差异性分析采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠肿瘤体积比较

给药前,各组肿瘤体积比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。模型对照组、黄连汤中、高剂量组第 4、8、12 天肿瘤体积均明显大于给药前($P<0.05$)。加味黄连汤高剂量组第 8、12 天肿瘤体积均明显大于给药前($P<0.05$)。吉西他滨高剂量组第 4、8 天肿瘤体积均明显大于给药前($P<0.05$)。黄连汤中、高剂量组第 12 天肿瘤体积均明显大于第 4 天($P<0.05$)。加味黄连汤高剂量组第 8 天肿瘤体积明显大于第 4 天($P<0.05$)。模型对照组、黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组第 12 天肿瘤体积均明显大于第 8 天($P<0.05$)。吉西他滨高剂量组第 12 天肿瘤体积明显小于第 8 天($P<0.05$)。第 12 天,黄连汤高剂量组、加味黄连汤高剂量组肿瘤体积均明显大于吉西他滨高剂量组($P<0.05$)。见表 1、图 1。

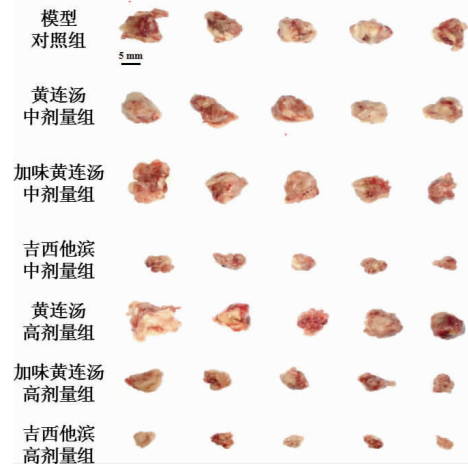


图 1 各组裸鼠肿瘤标本情况

2.2 各组小鼠体质量比较

给药前,各组体质量比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。黄连汤中剂量组、黄连汤高剂量组、加味黄连汤中剂量组第 4、8、12 天体质量均明显大于给药前($P<0.05$)。加味黄连汤高剂量组第 12 天体质量明显大于给药前、第 8 天($P<0.05$)。加味黄连汤中剂量组第 12 天体质量明显大于第 8 天($P<0.05$)。吉西他滨中、高剂量组第 12 天体质量均明显小于第 4、8 天($P<0.05$)。第 12 天,黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组体质量均明显大于吉西他滨中剂量组($P<0.05$)。第 12 天,黄连汤高剂量组、加味黄连汤高剂量组体质量均明显大于吉西他滨高剂量组($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组小鼠游泳时间比较

给药前,各组游泳时间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组、加味黄连汤高剂量组第 7、14 天游泳时间均明显短于给药前($P<0.05$)。黄连汤高剂量组、吉西他滨中剂量组、吉西他滨高剂量组第 14 天游泳时

表 1 各组小鼠肿瘤体积变化($\bar{x}\pm s, n=12, \text{mm}^3$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	给药前	第 4 天	第 8 天	第 12 天
模型对照组	0.01	79.59±25.12	124.96±51.06*	148.15±39.40*	217.62±98.61* [▲]
黄连汤中剂量组	5.98	104.75±30.16	147.63±68.76*	157.78±67.81*	179.33±56.44* [▲]
加味黄连汤中剂量组	8.32	98.37±41.97	123.96±64.45	118.57±51.50	150.85±77.06* [▲]
吉西他滨中剂量组	0.25	91.94±42.26	133.16±89.61	140.93±91.63	123.82±73.05
黄连汤高剂量组	11.96	68.41±39.60	108.50±44.26*	157.78±56.44*	179.33±56.44* [▲]
加味黄连汤高剂量组	16.64	81.44±58.73	116.13±85.87	147.66±85.66* [#]	145.32±55.03* [▲]
吉西他滨高剂量组	0.50	82.10±48.77	135.01±99.40*	113.21±47.24*	90.40±36.17 [▲]

注:与给药前比较,* $P<0.05$;与第 4 天比较,[#] $P<0.05$;与第 8 天比较,[▲] $P<0.05$;与吉西他滨高剂量组比较,[△] $P<0.05$

表 2 实验各组小鼠体质量变化($\bar{x}\pm s, n=12, g$)

分组	剂量/(mg·g ⁻¹)	给药前	第 4 天	第 8 天	第 12 天
模型对照组	0.01	20.16±2.96	23.70±3.36	22.99±3.39	24.01±3.89
黄连汤中剂量组	5.98	20.40±3.04	23.60±3.45*	23.46±3.52*	25.30±4.36*♦
加味黄连汤中剂量组	8.32	20.13±3.00	23.54±3.97*	25.27±4.02*	25.34±4.51**♦
吉西他滨中剂量组	0.25	20.08±1.39	23.30±1.94	21.77±2.02	19.12±1.72*▲
黄连汤高剂量组	11.96	20.91±1.89	24.17±2.56*	23.66±3.43*	25.31±3.29*▲§
加味黄连汤高剂量组	16.64	19.49±2.17	22.94±2.77	22.81±3.07	25.20±3.76*▲§
吉西他滨高剂量组	0.50	19.80±2.91	23.61±3.72	21.95±3.60	20.58±3.15*▲

注:与给药前比较,* $P<0.05$;与第 4 天比较,† $P<0.05$;与第 8 天比较,▲ $P<0.05$;与吉西他滨中剂量组比较,♦ $P<0.05$;与吉西他滨高剂量组比较,§ $P<0.05$

表 3 实验各组小鼠游泳时间变化($\bar{x}\pm s, n=12, s$)

分组	剂量/(mg·g ⁻¹)	给药前	第 7 天	第 14 天
模型对照组	0.01	67.00±18.51	67.29±25.81	46.14±20.36*†
黄连汤中剂量组	5.98	68.00±20.82	46.57±15.82*	49.29±18.18*♦
加味黄连汤中剂量组	8.32	72.57±26.30	48.86±19.33*	49.71±24.96*♦
吉西他滨中剂量组	0.25	76.13±17.27	58.57±18.65	35.21±14.38*
黄连汤高剂量组	11.96	77.00±29.94	72.29±21.52	66.43±16.92*§
加味黄连汤高剂量组	16.64	81.57±20.22	52.86±12.54*	58.29±11.37*§
吉西他滨高剂量组	0.50	65.38±13.67	49.38±16.51	32.97±11.84*

注:与给药前比较,* $P<0.05$;与第 7 天比较,† $P<0.05$;与吉西他滨中剂量组比较,♦ $P<0.05$;与吉西他滨高剂量组比较,§ $P<0.05$

间均明显短于给药前($P<0.05$)。模型对照组第 14 天游泳时间明显短于第 7 天($P<0.05$)。第 14 天,黄连汤高剂量组、加味黄连汤高剂量组游泳时间均明显长于吉西他滨高剂量组($P<0.05$)。第 14 天,黄连汤中剂量组、加味黄连汤中剂量组游泳时间均明显长于吉西他滨中剂量组($P<0.05$)。见表 3。

2.4 各组小鼠肿瘤抑制率比较

黄连汤中剂量组、黄连汤高剂量组、加味黄连汤中剂量组肿瘤抑制率与模型对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。加味黄连汤高剂量、吉西他滨中剂量组、吉西他滨高剂量组肿瘤抑制率均明显高于模型对照组($P<0.05, P<0.01$)。见表 4。

表 4 实验各组小鼠肿瘤抑制率($\bar{x}\pm s, n=12$)

分组	剂量/(mg·g ⁻¹)	瘤质量/g	肿瘤抑制率/%
模型对照组	0.01	0.34±0.18	0.00
黄连汤中剂量组	5.98	0.35±0.29	-2.24
加味黄连汤中剂量组	8.32	0.39±0.30	-12.18
吉西他滨中剂量组	0.25	0.07±0.06	80.00 ^{###}
黄连汤高剂量组	11.96	0.31±0.20	9.05
加味黄连汤高剂量组	16.64	0.23±0.27	32.36 [#]
吉西他滨高剂量组	0.50	0.08±0.05	77.11 ^{###}

注:与模型对照组比较,† $P<0.05$,^{###} $P<0.01$

3 讨论

基于方药现代研究分析,本研究团队拟定的加味黄连汤中的药物有直接或间接的抗肿瘤效应。

君药黄连内含有多种化学成分,小檗碱是黄连中有效成分的一种,又称黄连素,可通过调节自噬、增敏增效、逆转耐药、抑制肿瘤细胞侵袭及转移、抗血管生成、调控细胞周期、抑制细胞增殖、清除自由基等多种机制参与抗肿瘤过程^[19]。

干姜温中散寒,与黄连配伍可以显著抑制葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎症状和局部的病理损伤,其作用机制可能与抑制 IL-6/STAT3 信号通路有关,黄连-干姜可能作为炎性肠病的一种有效预防药物,黄连-干姜寒热相伍,和胃止痛,可用于消化道肿瘤及化疗过程中出现的胃肠道反应^[20]。

人参大补元气,尚有抗炎、抗过敏、抗利尿及抗肿瘤等多种作用。人参的药理活性常因机体功能状态不同而呈双向作用。研究发现,人参炔醇在体外能有效地抑制胰腺癌 SW1990 细胞的迁移能力,而实现这一效应的主要机制,可能是通过抑制细胞的增殖及上皮细胞向间充质细胞转化^[21]。

佐药桂枝的主要化学成分为桂皮醛等,另外尚含有酚类、有机酸、多糖、苷类、香豆精等。研究表明,桂枝水提取物桂皮醛对人胃癌细胞 BCG823 细胞、人乳腺癌细胞 MDA-MB-4355 细胞、人宫颈癌细胞 HeLa 细胞株和人肺癌细胞株 A549,均有诱导凋亡及抑制细胞增殖作用^[22]。桂枝提取物主要作用于细胞周期的 G1 期,并通过与微管蛋白的作用,导致微管解聚,破坏细胞的有丝分裂和纺锤体的形成,从而使细胞有丝分裂停止于 G1 期,促使细胞凋亡,达到抑制细胞增殖的目的,因此,在分子生物学水平检测桂枝的生物活性,进一步阐明桂枝提取物抗肿瘤机制^[23]。

半夏的稀醇和水浸液或其多糖组分、生物碱具有较广泛的抗肿瘤作用。半夏多糖对 3 种瘤株引发的实体瘤均有不同程度的抑制作用。其中对 S₁₈₀ 抑制作用较好,对 H22、EAC 的抑制作用较弱,可能是 S₁₈₀ 瘤株对药物较敏感所致,半夏多糖不良反应较小。半夏能诱导肿瘤细胞凋亡,多糖可能是其诱导凋亡的有效成分之一^[24]。

柴胡具有抗肿瘤、保肝、抗菌、解热等作用^[25],柴胡皂苷是从柴胡中提取的具有多种药理特征的提取物,柴胡皂苷主要通过以下机制发挥抗肿瘤作用:诱导肿瘤细胞凋亡、分化,抑制肿瘤血管生长,抑制肿瘤侵袭转移,逆转肿瘤细胞多药耐药,免疫调节作用,调控肿瘤细胞自噬、抑制环氧合酶等。肿瘤的生长与细胞凋亡过程被抑制从而延长已转化的细胞生存期限有关,通过药物改变肿瘤细胞或其生存环境,在体内诱导肿瘤细胞凋亡,从而控制肿瘤细胞的生长速度,可以达到治疗肿瘤的目的。研究证实,柴胡皂苷可以通过以上途径诱导肿瘤细胞凋亡^[26]。

现代药理研究发现,枳实具有一定的抗肿瘤作用,黄酮类在枳实中的含量高达 5%~28%,是枳实通达气滞、消积祛痰的重要基础物质^[27],枳实的抗肿瘤作用与其黄酮类成分密切相关。如柚皮苷可以下调 PI3K p110、cyclin D1 和 bcl-2 蛋白表达,促进 bax 蛋白表达来抑制胶质瘤细胞的生长^[28]。此外还可通过上调 ARHI 基因的表达提高结肠癌细胞的抑制率和凋亡率^[29]。橙皮苷和柚皮苷可能通过抑制血管内皮细胞生长因子释放达到抑制大鼠乳腺癌的作用^[30]。而柚皮苷又具备一定的抗突变作用。橙皮苷能抑制

结肠癌 HCT116 细胞的增殖、迁移和侵袭,并诱导其凋亡,其机制与抑制 AKT 的活化相关^[31]。

研究发现,大枣多肽裂解液提取物对小鼠 MFC 实体肿瘤模型及小鼠 S₁₈₀ 肉瘤模型均有抑制作用,重现性好,且未见有明显不良反应,对小鼠的 MFC 的抑制作用较强,而对小鼠 S₁₈₀ 的抑制作用较弱,大枣多肽裂解液可刺激小鼠脾淋巴细胞发生增殖反应,提高了小鼠的细胞免疫活性,对白细胞有一定的保护作用,从而缓解放化疗中白细胞下降等不良反应^[32]。朱虎虎等^[33]研究通过与环磷酰胺等传统化疗药物比较,新疆大枣不但可以直接杀伤肿瘤细胞,而且通过明显的非特异性免疫系统,使免疫状态由低下恢复到接近于正常,使肿瘤生长受抑制,从而发挥其抗癌作用。

使药甘草药理作用非常广泛,甘草酸是甘草的主要成分,分子结构中含 1 分子甘草次酸和 2 分子葡萄糖醛酸。体外研究表明,甘草酸可显著抑制抗原对 T 细胞的过度激活作用及由肿瘤坏死因子- α 介导的细胞毒作用,从而调节免疫反应,调节 T 细胞释放细胞因子,使 Th1/Th2 保持平衡。近年来研究发现,甘草酸苷从多方面发挥抗肿瘤作用,如抑制肿瘤细胞 N-乙酰转移酶活性^[34],降低肿瘤细胞增殖速度^[35],抑制肿瘤转移^[36]。

本实验发现:高剂量加味黄连汤对小鼠胰腺癌移植瘤具有良好的抑制作用,尚能维持该模型小鼠体质量增长,避免因使用吉西他滨出现的模型小鼠游泳时间快速缩短的现象。目前,我国中医药在抗恶性肿瘤生长、改善放化疗不良反应、提高患者生活质量方面取得一定疗效,但是中医药治疗胰腺癌的循证医学证据不多,还需要积极开展临床多中心实验研究^[37]。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] KAMISAWA T, WOOD L D, ITOI T, et al. Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2016, 388(10039): 73-85.
- [3] SAAD A M, TURK T, AL-HUSSEINI M J, et al. Trends in pancreatic adenocarcinoma incidence and mortality in the United

- States in the last four decades; a SEER-based study[J]. *BioMed Central Cancer*, 2018, 18(1): 688.
- [4] 韩连强,谭 杨,杨 奇,等.胰腺癌治疗进展[J].*中华消化病与影像杂志(电子版)*,2019,9(2):49-54.
- [5] 崔瀚之,杜丽文,樊梦娇,等.晚期胰腺癌治疗现状与进展[J].*解放军医学院学报*,2020,41(9):926-929.
- [6] 刘 旭,董 勤.胰腺癌干细胞作为胰腺癌治疗靶点的研究进展[J].*重庆医学*,2021,50(7):1212-1216.
- [7] 陈 梅,王盼盼,贾六金,等.黄连汤方义探析及临床应用[J].*辽宁中医药大学学报*,2021,23(5):162-165.
- [8] 张 玲,张婷婷.基于中药整合药理学平台分析黄连汤治疗胃炎的作用机制研究[J].*临床合理用药杂志*,2021,14(1):114-115.
- [9] 罗光芝,韩成恩,韩晓春,等.基于和法探讨黄连汤治疗慢性非萎缩性胃炎的机制[J].*中国实验方剂学杂志*,2019,25(18):36-42.
- [10] 余志良,李兆申,周国中,等.胰腺癌临床症状调查:附 1027 例分析[J].*解放军医学杂志*,2002,27(4):286-288.
- [11] 张 涛,孙 备.2019 年 NCCN 胰腺癌临床实践指南:V2 版更新解读[J].*临床外科杂志*,2020,28(1):8-11.
- [12] 孙 玲,赵智强.84 例中晚期胰腺癌的中医病机证素探析[J].*国际中医中药杂志*,2016,38(5):400-402.
- [13] 陈钧泽,齐元富.中医药治疗胰腺癌应用研究进展[J].*山东中医杂志*,2021,40(3):315-318.
- [14] 余 奎,张静喆,梁晓强,等.胰腺癌的综合治疗研究进展[J].*中西医结合外科杂志*,2020,26(1):190-194.
- [15] 刘 丽,刘大晟,李震东,等.琼玉膏对胰腺癌小鼠化疗增效减毒作用研究[J].*中国病理生理杂志*,2019,35(12):2181-2186.
- [16] 代云龙,吴礼国,章志军,等.淫羊藿苷抑制 β -catenin 和 NF- κ B p65 的活性对小鼠胰腺癌皮下移植瘤生长和运动的调节[J].*中国免疫学杂志*,2020,36(3):343-348.
- [17] 魏 伟,吴希美,李元建.药理学实验方法学[M],4 版.北京:人民卫生出版社,2010:1698.
- [18] 黎旭光,刘开睿,仇成江,等.加味扶正抑瘤汤及联合吉西他滨对胰腺癌的抑制作用[J].*广州中医药大学学报*,2019,36(6):879-885.
- [19] 付红星,张志敏,彭文苗,等.黄连素抗肿瘤作用的研究进展[J].*重庆医学*,2018,47(29):3804-3806,3809.
- [20] 李 阳,郝艺照,傅熠俊,等.黄连-干姜药对预防 DSS 诱导的小鼠结肠炎作用及其机制[J].*中国实验方剂学杂志*,2017,23(15):154-159.
- [21] 王 颖,朱海涛,黄文斯,等.人参炔醇体外抑制人胰腺癌 SW1990 细胞迁移作用研究[J].*中华肿瘤防治杂志*,2015,22(21):1662-1666.
- [22] 黄敬群,王四旺,罗晓星,等.桂皮醛对裸鼠人胃癌细胞移植瘤生长及凋亡的影响[J].*解放军药理学学报*,2006,22(5):343-346.
- [23] 孙鹏达,孙 冬.桂枝水提物诱导人结肠癌 SW480 细胞周期进程及其凋亡机制[J].*中国老年学杂志*,2020,40(20):4396-4399.
- [24] 赵永娟,王 蕾,侯 琳,等.半夏多糖抗肿瘤作用研究[J].*中国药理学通报*,2006,22(3):368-371.
- [25] HU S C, LEE I T, YEN M H, et al. Anti-melanoma activity of *Bupleurum chinense*, *Bupleurum kanoi* and nanoparticle formulation of their major bioactive compound saikosaponin-D[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 179: 432-442.
- [26] 刘 丹,王佳贺,柴胡皂苷抗肿瘤作用机制的研究进展[J].*现代药物与临床*,2018,33(1):203-208.
- [27] 曲中原,冯晓敏,邹 翔,等.枳实研究进展[J].*食品与药品*,2017,19(6):455-459.
- [28] 王 维,赵子龙,高 伟,等.柚皮苷对胶质瘤细胞生长的抑制作用的机制研究[J].*沈阳药科大学学报*,2020,37(9):815-818.
- [29] 旷历琼,王 娜.柚皮苷通过调控 ARHI 基因表达对结肠癌细胞增殖、凋亡的影响[J].*胃肠病学和肝病学杂志*,2020,29(7):756-761.
- [30] SCHINDLER R, MENTLEIN R. Flavonoids and vitamin E reduce the release of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor from human tumor cells[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(6): 1477-1482.
- [31] 李岩溪,张 昊,国星奇,等.橙皮素对结肠癌 HCT116 细胞凋亡、迁移与侵袭的影响及机制研究[J].*解剖科学进展*,2020,26(2):196-200.
- [32] 孙秀娥,曹柏营,昌友权,等.大枣多肽裂解液抗肿瘤作用研究[J].*食品科学*,2008,29(11):597-600.
- [33] 朱老虎,玉苏甫·吐尔逊,斯坎德·白克力.新疆大枣的抗肿瘤作用[J].*中国实验方剂学杂志*,2012,18(14):188-191.
- [34] CHUNG J G, CHANG H L, LIN W C, et al. Inhibition of N-Acetyltransferase activity and DNA -2-Aminofluorene adducts by glycyrrhizic acid in human colon tumour cells[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2000, 38(2/3): 163-172.
- [35] ROSSI T, CASTELLI M, ZANDOMENEGHI G, et al. Selectivity of action of glycyrrhizin derivatives on the growth of MCF-7 and HEP-2 cells[J]. *Anticancer Research*, 2003, 23(5A): 3813-3818.
- [36] KOBAYASHI M, FUJITA K, KATAKURA T, et al. Inhibitory effect of glycyrrhizin on experimental pulmonary metastasis in mice inoculated with B16 melanoma[J]. *Anticancer Research*, 2002, 22(6C): 4053-4058.
- [37] 中国抗癌协会胰腺癌专业委员会. 胰腺癌综合诊治指南(2018 版)[J].*中华外科杂志*,2018,56(7):481-494.

(本文编辑 黎志清)