

龙血竭对 Lewis 肺癌小鼠放疗模型的辅助治疗效果

戴荣继¹,余博文¹,王冉¹,代胜平¹,陈艳²,林凡凯¹,孟薇薇¹,邓玉林¹

1. 北京理工大学生命学院,北京 100081
2. 北京理工巨元科技有限公司,北京 100081

摘要 龙血竭具有一定的防辐射作用。通过在 C57/BL 小鼠右前腋窝皮下注射 Lewis 肺癌细胞,对小鼠进行 4 Gy 全身一次性 γ 辐射建立 Lewis 肺癌小鼠放疗模型,并给予小鼠龙血竭,进行肿瘤生长、肿瘤转移和血象变化检测,研究了龙血竭对 Lewis 肺癌小鼠放疗模型的血象及肿瘤生长的辅助治疗效果。实验发现,龙血竭不会促进放疗 Lewis 肺癌小鼠的肿瘤生长和转移,并能够有效保护放疗 Lewis 肺癌小鼠的血小板。研究表明,龙血竭应用于肿瘤的放射治疗可以对辐射引起机体的血象损伤起到保护作用。

关键词 龙血竭;放疗;Lewis 肺癌小鼠;放疗辅助用药

中图分类号 R282

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.18.011

Effect of *Resina Draconis* on the efficacy of radiotherapy to Lewis lung carcinoma mice

DAI Rongji¹, YU Bowen¹, WANG Ran¹, DAI Shengping¹, CHEN Yan², LIN Fankai¹, MENG Weiwei¹, DENG Yulin¹

1. School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China
2. BIT &GY Technologies Co., Ltd., Beijing 100081, China

Abstract It is confirmed that the *Resina Draconis* has an anti-radiation effect. In this paper, the Lewis lung carcinoma mice model is established on the C57/BL mice by injecting the Lewis lung carcinoma cell in the right axillary of the mice. The mice are irradiated by the 4 Gy γ -radiation and treated with the *Resina Draconis*. Then the tumor growth and metastasis as well as the blood index are examined to study the effect of the *Resina Draconis* on the efficacy of radiotherapy for the Lewis lung carcinoma mice. The results show that the *Resina Draconis* has no obvious effect on the tumor weight, the tumor volume and the tumor metastasis. But the *Resina Draconis* has a significant protective effect on the blood platelet for the radiotherapy-treated Lewis lung carcinoma mice. Therefore, it might be concluded that the *Resina Draconis* can be used for the radiotherapy treatment of cancer.

Keywords *Resina Draconis* radiotherapy; Lewis lung carcinoma mice; adjuvant drug to radiotherapy

放疗是癌症治疗中不可缺少的手段之一,由于放疗对癌细胞和正常细胞没有选择性,多次放疗后,患者会出现局部放射性损伤,如放射性食管炎、放射性脑炎、放射性肺炎、放射性肠炎等,还会引起一些全身反应,表现为一系列功能紊乱与失调,如精神不振、食欲下降、身体衰弱、疲乏、恶心呕吐

等。放疗同时使用药物进行治疗,一方面可以减轻放疗带来的毒副作用^[1],另一方面可以增强放疗的治疗效果,达到减毒增效的作用。目前已有益调理汤、十全大补汤、夏桑菊含漱液、芩黄地榆汤等很多中医药用于辅助放疗^[2,3]。

龙血竭来源于传统中国医学,并已广泛应用于临床治

收稿日期:2015-04-01;修回日期:2015-06-04

基金项目:国家重大仪器专项(2012YQ040140)

作者简介:戴荣继,教授,研究方向为生物活性物质分离,电子信箱:dairongji@bit.edu.cn

引用格式:戴荣继,余博文,王冉,等.龙血竭对 Lewis 肺癌小鼠放疗模型的辅助治疗效果[J].科技导报,2015,33(18):68-71.

疗,它具有止血、抗溃疡、抗微生物、抗病毒、促伤口愈合、抗肿瘤、抗炎等药用功能^[4,5]。以往研究报道龙血竭中含有丰富的查耳酮,类固醇,萜类化合物和黄酮类化合物^[6,7]。经北京理工大学邓玉林课题组前期的研究,成功从龙血竭中分离鉴定出龙血素A、龙血素B、龙血素C、紫檀芪、白藜芦醇、豆甾醇等20多种化合物^[8];对其药效研究证明,龙血竭对于由重离子、中子、 γ 射线等多种辐射源引起的大鼠损伤模型均具有一定的抗辐射作用^[9-11]。本研究探讨龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠的肿瘤生长、肿瘤转移及血象的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料和仪器

1) 实验动物为雄性健康C57/BL小鼠60只,SPF级,体重18~20 g。由北京大学医学部实验动物科学部提供,合格证号:SCXK(京)2011-0012。

2) 龙血竭由北京理工巨元医药技术开发中心有限公司提供。阳性药为注射用环磷酰胺(齐鲁制药有限公司)。

3) 主要试剂有羧甲基纤维素钠(CMC-Na,北京化工厂)、全血自动分析仪溶血素和稀释液(无锡希森美康生物科技有限公司)、RPMI-1640培养基(美国Gibco公司)、胎牛血清(美国Gibco公司)、0.25%胰蛋白酶-EDTA消化液(北京索莱宝科技有限公司)、100 \times 青链霉素混合液(北京索莱宝科技有限公司)、小鼠SPF级繁殖饲料(北京科澳协力饲料有限公司)、饱和苦味酸(南京建成生物工程研究所)。

4) 瘤株为Lewis肺癌细胞(上海博谷生物科技有限公司)。

5) 主要设备有⁶⁰Co放射源(中国军事医学科学院)、全自动血球计数仪(日本Sysmex公司)。

1.2 肿瘤接种

Lewis肺癌细胞培养至对数生长期,细胞计数,配置成 1×10^7 /mL细胞悬液,在实验小鼠右前腋窝皮下接种0.1 mL Lewis肺癌细胞。接种5 d后,肿瘤直径约5 mm则视为荷瘤成功。

1.3 实验分组

经过适应性饲养后小鼠随机分为6组,每组10只。正常组:给予空白溶剂;辐射组:给予空白溶剂及全身一次性辐射;荷瘤模型组:接种肿瘤细胞及给予空白溶剂;放疗荷瘤模型组:接种肿瘤细胞,给予空白溶剂,并进行全身一次性辐射;龙血竭组:接种肿瘤细胞,给予龙血竭,并进行全身一次性辐射;环磷酰胺组:接种肿瘤细胞,给予空白溶剂,并腹腔注射环磷酰胺溶液。

1.4 给药及照射

龙血竭溶解于质量分数为0.5%的羧甲基纤维素钠溶液(0.5% CMC-Na,即空白溶剂)中。自肿瘤接种起至实验结束,龙血竭组每天灌胃给予龙血竭375 mg/kg,正常组、辐射组、荷瘤模型组、放疗荷瘤模型组、环磷酰胺组小鼠每天灌胃给予0.5% CMC-Na溶液,药物按小鼠体重每10 g给予0.2 mL

药物体积配置。环磷酰胺组小鼠自接种日起至接种后第5天,每天腹腔注射环磷酰胺溶液50 mg/kg,按小鼠体重每10 g给予0.1 mL药物体积配置。肿瘤接种5 d后,对辐射组,放疗荷瘤模型组,龙血竭组小鼠进行4 Gy全身一次性 γ 射线辐照。接种14 d后,脱颈处死小鼠,进行指标测定。

1.5 指标检测

1) 取出小鼠右前腋下的肿瘤体,称量其重量,并用游标卡尺测量其最大长径和最大横径,肿瘤体积为

$$V=LW^2/2 \quad (1)$$

式中, V 为肿瘤体积, mm^3 ; L 为肿瘤最大长径, mm ; W 为肿瘤最大横径, mm 。

2) 取出小鼠肺脏,浸泡于Bouin's固定液(配置体积比为饱和苦味酸:甲醛:冰醋酸=75:25:5)中固定24 h,再用无水乙醇浸泡至肺组织颜色恢复,转移灶为白色结节,记录转移结节数目^[12]。

3) 在辐射前1 d、辐射后4 d和辐射后9 d,小鼠尾静脉取血,分别测血象中白细胞、红细胞、血小板和淋巴细胞数量。

1.6 数据统计

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用SPSS 17.0统计学软件进行方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠肿瘤体积及重量的影响

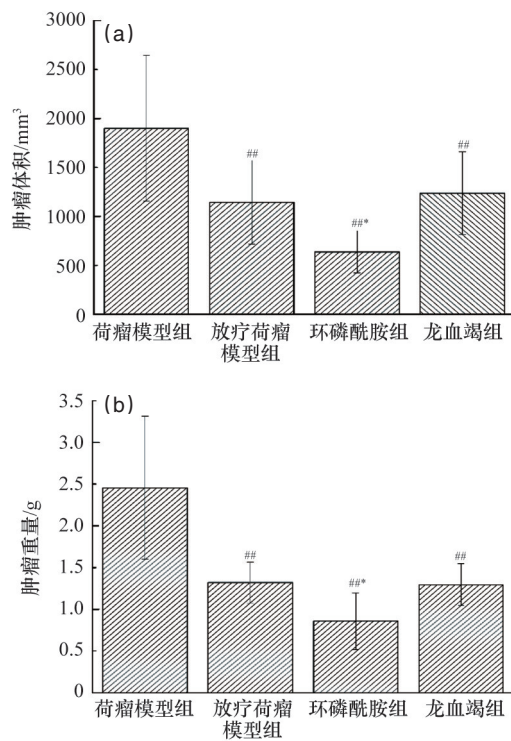
图1为龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠肿瘤体积和重量的影响。荷瘤模型组瘤体体积为 $(1900 \pm 746) \text{mm}^3$,质量为 $(2.46 \pm 0.86) \text{g}$;放疗荷瘤模型组瘤体体积为 $(1145 \pm 428) \text{mm}^3$,重量为 $(1.32 \pm 0.25) \text{g}$;放疗荷瘤模型组与荷瘤模型组相比瘤体体积和重量都有极显著性降低($P < 0.01$)。环磷酰胺组的瘤体体积和重量相比于荷瘤模型组和放疗荷瘤模型组都有显著性差异($P < 0.01$),但龙血竭组的瘤体大小相比于放疗荷瘤模型组没有变化,说明龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠的肿瘤生长没有促进作用。

2.2 龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠肿瘤转移的影响

Lewis肺癌小鼠的肿瘤会特异性向肺部转移。如表1所示,与荷瘤模型组 (6.80 ± 2.32) 个相比,放疗荷瘤模型组的肺表面转移结数目 (4.20 ± 1.72) 个显著减少($P < 0.05$)。环磷酰胺组肺表面转移结数目 (2.40 ± 1.28) 个显著少于荷瘤模型组和放疗荷瘤模型组($P < 0.01$)。由此可见,辐射及环磷酰胺都能有效抑制Lewis肺癌肿瘤的转移。龙血竭组肺表面转移结数目 (4.00 ± 1.55) 个与放疗荷瘤模型组没有差异,说明龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠的肿瘤转移没有促进作用。

2.3 龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠血象的影响

表2为龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠血象的影响。辐射前1 d测得的血象结果显示荷瘤会引起小鼠血象变化,即白细胞、淋巴细胞增加,血小板减少,而龙血竭组小鼠的血象变化幅度比荷瘤模型组小。



与荷瘤模型组比较, #为 $P<0.05$; ##为 $P<0.01$; 与放疗荷瘤模型组比较, *为 $P<0.05$; **为 $P<0.01$, 同表 1

图 1 龙血竭物对放疗 Lewis 肺癌小鼠肿瘤体积(a)及重量(b)的影响

Fig. 1 Effect of *Resina Draconis* on tumor volume (a) and weight (b) of radiotherapy Lewis lung mice

表 1 龙血竭对放疗 Lewis 肺癌小鼠肺表面转移结数目的影响
Table 1 Effect of *Resina Draconis* on tumor metastasis of radiotherapy Lewis lung mice

| 分组 | 小鼠只数/只 | 肺表面转移结数 |
|---------|--------|--------------------------|
| 荷瘤模型组 | 10 | 6.80±2.32 |
| 放疗荷瘤模型组 | 10 | 4.20±1.72 [#] |
| 环磷酰胺组 | 10 | 2.40±1.28 ^{###} |
| 龙血竭组 | 10 | 4.00±1.55 ^{##} |

辐射后 4 d 以及辐射后 9 d 结果显示,与正常组相比,放疗荷瘤模型组血象中的白细胞、红细胞、血小板、淋巴细胞数目减少,均有极显著性差异。

辐射后 4 d,与正常组相比,放疗荷瘤模型组血小板下降了 24% ($P<0.05$),而龙血竭组下降了 4%,龙血竭组血小板水平显著高于放疗荷瘤模型组 ($P<0.05$);辐射后 9 d,与正常组相比,放疗荷瘤模型组血小板下降了 72% ($P<0.01$),而龙血竭组下降了 60% ($P<0.01$),龙血竭组血小板水平比放疗荷瘤模型组高 40%。此结果说明龙血竭对辐射血小板的恢复有一定促进作用,并对白细胞、红细胞及淋巴细胞起到了一定的保护作用。其具体机制可能是龙血竭的抗氧化能力抑制了辐射引起的生物体内水电离产生自由基或活性氧,保护了体内氧化系统与抗氧化系统的平衡,减少了生物大分子(核酸、脂肪和蛋白质)损伤、脂质过氧化和细胞功能紊乱以及细胞凋亡或坏死^[13]。

表 2 龙血竭对放疗 Lewis 肺癌小鼠血象的影响

Table 2 Effect of *Resina Draconis* on blood of radiotherapy Lewis lung mice

10⁹/L

| 分组 | 白细胞(WBC) | | | 红细胞(RBC) | | | 血小板(PLT) | | | 淋巴细胞(LYM) | | |
|---------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 辐射前 1 d | 辐射后 4 d | 辐射后 9 d | 辐射前 1 d | 辐射后 4 d | 辐射后 9 d | 辐射前 1 d | 辐射后 4 d | 辐射后 9 d | 辐射前 1 d | 辐射后 4 d | 辐射后 9 d |
| 正常组 | 23.50± 4.82 | 21.04± 3.11 | 18.90±3.37 | 1.71±0.76 | 11.33± 0.54 | 10.62±0.43 | 1412± 134 | 1440±99 | 1452±118 | 21.64± 3.50 | 19.34±1.63 | 18.26± 3.67 |
| 荷瘤模型组 | 27.40± 2.62 | 22.16± 2.31 | 20.28±5.96 | 11.54± 1.16 | 11.59± 0.32 | 9.22±0.97 [#] | 1298± 163 | 1384± 107 | 1157±404 [#] | 21.66± 2.00 | 17.56± 1.58 [#] | 14.88± 5.79 |
| 放疗荷瘤模型组 | 25.28± 2.03 | 0.68± 0.52 ^{###} | 1.64± 0.32 ^{###} | 11.38± 0.60 | 9.50± 1.09 ^{###} | 7.75±1.07 ^{###} | 1325± 202 | 1094± 265 [#] | 412±62 ^{###} | 20.78± 2.14 | 0.42± 0.40 ^{###} | 0.60± 0.13 ^{###} |
| 环磷酰胺组 | 7.60± 1.95 ^{###} | 12.40± 2.56 ^{###} | 12.44± 5.03 ^{###} | 9.58± 0.76 ^{###} | 9.83± 0.65 ^{###} | 8.77±0.40 [#] | 897± 136 ^{###} | 1205± 219 | 1340±114 | 5.50± 1.17 ^{###} | 6.56± 1.69 ^{###} | 4.32± 1.23 ^{###} |
| 龙血竭组 | 23.40± 2.29 | 0.68± 0.45 ^{###} | 1.58± 0.53 ^{###} | 11.40± 0.45 | 10.24± 1.01 [*] | 8.04±1.11 ^{##} | 1443± 213 | 1377± 100 ^k | 578±104 ^{###} | 17.60± 1.63 | 0.44± 0.19 ^{###} | 0.68± 0.13 ^{###} |
| 辐射组 | 23.14± 3.36 | 0.66± 0.36 ^{###} | 1.68± 0.55 ^{###} | 11.62± 0.56 | 9.66± 0.92 ^{###} | 8.25±0.83 [#] | 1492± 219 | 1163± 209 [#] | 396±53 ^{###} | 22.22± 2.08 | 0.38± 0.16 ^{###} | 0.88± 0.30 ^{###} |

注:与正常组比较, #为 $P<0.05$; ##为 $P<0.01$; 与荷瘤模型组比较, *为 $P<0.05$; **为 $P<0.01$ 。

3 讨论与结论

临床上,骨髓抑制是恶性肿瘤放疗患者的常见并发症,主要表现为贫血、白细胞和血小板减少症等,其中贫血和白细胞减少症可用重组人红细胞生成素(重组EPO),重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子进行治疗,特异性地使红细胞和白细胞数目恢复到正常水平,但目前血小板减少症却一直没有找到高效的治疗方法。而且,辐射后的骨髓造血抑制的轻重和损伤恢复快慢影响着放疗肿瘤患者的好转和康复。

本实验在对Lewis肺癌小鼠进行4 Gy全身一次性⁶⁰Co- γ 辐射之后放疗荷瘤模型组小鼠的外周血白细胞、红细胞、血小板以及淋巴细胞数量较荷瘤模型组显著降低。表明Lewis肺癌小鼠在辐射之后造血受到明显的影响。给予龙血竭的Lewis肺癌小鼠放疗之后外周血红细胞、血小板及淋巴细胞数量均比放疗荷瘤模型组的下降幅度小,尤其是血小板的下降幅度有显著性降低。并且给予龙血竭之后并没有影响到辐射对于肿瘤的治疗效果。龙血竭在本实验中对于放疗治疗小鼠肿瘤,起到了辅助治疗的效果。龙血竭对放疗Lewis肺癌小鼠的肿瘤大小及转移情况没有促进或抑制作用,但却能有效地促进荷瘤辐射之后血小板恢复。此药物初步具备了作为减轻放疗毒副作用药物的基础。

参考文献(References)

- [1] Wang J, Yu M H, Xiao L L, et al. Radiosensitizing effect of oleanolic acid on tumor cells through the inhibition of GSH synthesis *in vitro*[J]. *Oncology Reports*, 2013, 30(2): 917-924.
- [2] Wang L J, Liu X J, Guan Y, et al. Optimal timing of radiotherapy with alternating/sequential radio-chemotherapy for limited-stage small cell lung cancer[J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, 15(14): 5697-5699.
- [3] Selz J, LeScodan R, Menard J, et al. Indication of radiotherapy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer[J]. *Cancer Radiotherapie*, 2014, 18(3): 229-234.
- [4] Zhu Y D, Zhang P, Yu H P, et al. Anti-Helicobacter pylori and thrombin inhibitory components from Chinese dragon's blood, *Dracaena cochinchinensis*[J]. *Journal of Natural Products*, 2007, 70(10):1570-1577.
- [5] Mothana R A A, Mentel R, Reiss C, et al. Phytochemical screening and antiviral activity of some medicinal plants from the Island Soqotra[J]. *Phytotherapy Research*, 2006, 20(4): 298-302.
- [6] Vesela D, Marel R, Ubik K, et al. Dracophane, a metacyclophe derivative from the resin of *Dracaena cinnabari* Bal[J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(8): 967-970.
- [7] Gupta D, Bleakley B, Gupta R K. Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutic uses[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, 115(3): 361-380.
- [8] 刘芳, 戴荣继, 吕芳, 等. 龙血竭总酚提取物化学成分的分离鉴定[J]. *北京理工大学学报*, 2014, 34(1): 102-105.
Liu Fang, Dai Rongji, Lü Fang, et al. Isolation and structural identification of compounds from total phenols extract of dragon's blood [J]. *Transactions of Beijing Institute of Technology*, 2014, 34(1): 102-105.
- [9] Ran Y Y, Wang R, Hasan M, et al. Radioprotective effects of dragon's blood and its extracts on radiation-induced myelosuppressive mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 154(3): 624-634.
- [10] Ran Y Y, Wang R, Gao Q, et al. Dragon's blood and its extracts attenuate radiation-induced oxidative stress in mice[J]. *Journal of Radiation Research*, 2014, 55(4): 699-706.
- [11] Ran Y Y, Wang R, Lin F K, et al. Radioprotective effects of Dragon's blood and its extract against gamma irradiation in mouse bone marrow cells[J]. *Physica Medica-european Journal of Medical Physics*, 2014, 30(4): 427-431.
- [12] Lin Y. Dietary supplementation with curcumin enhances metastatic growth of Lewis lung carcinoma in mice[J]. *International Journal of Cancer*, 2013, 132(2): 269-275.
- [13] Li D G, Lu L, Zhang J L, et al. Mitigating the effects of xuebijing injection on hematopoietic cell injury induced by total body irradiation with gamma rays by decreasing reactive oxygen species levels[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(6): 10541-10553.

(编辑 田恬)

·学术动态·



中国科学技术协会

中国化学会2015年化学前沿论坛暨西部化工论坛在新疆召开

2015年7月30日至8月2日,由中国化学会女化学工作者委员会、中国化学会青年化学工作者委员会主办的“2015年化学前沿论坛暨西部化工论坛”在石河子大学召开。来自国内科研院所、高等学校及西部企业的150余名代表与会,围绕“一带一路”国家战略下化学化工的发展与机遇、未来的研究内容与研究方向如何助力西部发展、如何为管理决策提供科学依据和技术支持等主题,展开深入交流研讨。

详见中国科协网<http://www.cast.org.cn/n35081/n35473/n35518/16598166.html>。