

复方灵芝孢子精油软胶囊对S180荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[△]

鲍蕾蕾^{1*}, 苏羽², 陈海飞¹, 卞俊¹, 袁兵¹(1.解放军第411医院药学科, 上海 200434; 2.江西中医学院, 南昌 330004)

中图分类号 R285;R96 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)15-1351-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.15.03

摘要 目的: 研究复方灵芝孢子精油软胶囊(CGOC)对S180荷瘤小鼠的抗肿瘤作用。方法: 通过皮下注射S180荷瘤小鼠腹水至小鼠右腋以复制小鼠实体瘤模型。实验分为模型对照(等容食用油)、环磷酰胺(75 mg/kg)、灵芝孢子油(193 mg/kg)与CGOC高、中、低剂量(1 540、770、385 mg/kg)组。灌胃给药, 每天1次, 连续10 d。末次给药后颈椎脱臼处死大鼠, 剥离肿瘤、胸腺、脾脏, 称质量, 计算抑瘤率与胸腺、脾脏指数; 采用血液分析仪计数血液中白细胞、淋巴细胞的数量。结果: 与模型对照组比较, CGOC高、中、低剂量组抑瘤率、白细胞总数显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$); CGOC中剂量组胸腺指数、脾脏指数、淋巴细胞总数显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论: CGOC能抑制S180荷瘤小鼠的肿瘤生长, 并对免疫系统具有一定的保护作用。

关键词 复方灵芝孢子精油软胶囊; 荷瘤小鼠; 抑瘤率; 免疫器官指数

Study on Anti-tumor Effect of Compound *Ganoderma lucidum* Spore Oil Soft Capsule on S180 Tumor-bearing Mice

BAO Lei-lei¹, SU Yu², CHEN Hai-fei¹, BIAN Jun¹, YUAN Bing¹(1.Dept. of Pharmacy, No. 411 Hospital of PLA, Shanghai 200434, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study anti-tumor effect of Compound *Ganoderma lucidum* spore oil soft capsule (CGOC) on S180 tumor-bearing mice. METHODS: The mice were inoculated with sarcoma S180 ascites on right armpit and divided into six groups randomly: blank control group (constant volume of edible oil), cyclophosphamide group (75 mg/kg), *G. lucidum* spore oil group (193 mg/kg), CGOC high, medium and low-dose groups (1 540, 770 and 385 mg/kg). They were given medicine intragastrically once a day for consecutive 10 days. After last administration, the mice were sacrificed. The tumor, thymus and spleen were isolated and weighted, and the inhibition rates of tumor and thymus and spleen index were calculated. The hematology analyzer was used to count the number of leukocytes and lymphocytes. RESULTS: Compared with model control group, the inhibition rate of tumor and the number of leukocytes in CGOC high, medium and low-dose groups increased significantly, and thymus, spleen index and the number of lymphocytes in CGOC medium-dose group increased significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$). CONCLUSION: CGOC could inhibit tumor growth of S180 tumor-bearing mice and protect the immune system.

KEY WORDS Compound *Ganoderma lucidum* spore oil soft capsule; Tumor-bearing mice; Anti-tumor rate; Immune organ index

复方灵芝孢子精油软胶囊(以下简称CGOC)是解放军第411医院自行研制的院内制剂,由灵芝孢子粉、人参、黄芪、红景天、刺五加等药材经过科学配伍加工而成。由于灵芝孢子粉中含有大量挥发性的精油成分,不易制成传统的溶液剂或硬胶囊,所以本复方制剂最终选用软胶囊,将复方中的其他提取物经二次胶体磨碎最终变成微米级的颗粒均匀地混悬于精油中,制成质地均匀、质量可控、易于吸收的软胶囊。该软胶囊具有益气固本、补脾益肺、镇痛安神、活血通脉的功效,临床上用于抑制肿瘤生长,提高人体免疫功能,减轻放、化疗产生的毒副作用等。本研究以S180荷瘤小鼠为模型,探讨CGOC对荷瘤小鼠的抑瘤作用及对免疫器官的影响。

1 材料

1.1 仪器

MS6002S型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KX21

[△]基金项目:全军医学科学技术研究“十二五”计划资助课题(No. CWS11J178);上海市卫生局青年科研项目(No.2009Y118)

*主管药师,硕士。研究方向:中药药理学活性成分。电话:021-65283984-15。E-mail: annabao212@qq.com

型全自动血液分析仪(日本Sysmex公司);RE-52型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);HHS-4型恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂)。

1.2 药品与试剂

CGOC(解放军第411医院,批号:20101022,规格:每粒含生药4g);注射用环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:20110942,规格:200mg/支);灵芝孢子油(上海神怡生物科技有限公司,批号:20100307)。

1.3 动物与瘤株

清洁级昆明种小鼠,♂,体质量(20±2)g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供(动物使用合格证号:SCXK(沪)2007-0005);小鼠实体移植肉瘤180(S180),由上海市医药工业研究院提供,液氮冻存,复苏,经小鼠腹腔接种传代3次后用于实验。

2 方法

2.1 复制模型与分组、给药

无菌抽取传代8d、生长良好的S180荷瘤小鼠的腹水,加入生理盐水调瘤细胞分子浓度至 1×10^7 /ml,于每只小鼠右腋sc 0.2 ml^[1-2]。接种24h后,将小鼠随机分为6组,即模型对照

(等容食用油)、灵芝孢子油(193 mg/kg)、环磷酰胺(75 mg/kg)与CGOC高、中、低剂量(1 540、770、385 mg/kg)组。ig给药,每天1次,连续10 d。

2.2 CGOC对S180荷瘤小鼠抑瘤率、胸腺指数、脾脏指数的影响

末次给药24 h后,颈椎脱臼处死小鼠,剥离肿瘤、胸腺、脾脏,称质量,计算抑瘤率、胸腺与脾脏指数,公式如下^[3-4]:

抑瘤率(%)=[(模型对照组肿瘤质量-用药组肿瘤质量)/模型对照组肿瘤质量]×100%;胸腺(脾脏)指数=胸腺(脾脏)质量(mg)/体质量(g)

2.3 CGOC对S180荷瘤小鼠血液中白细胞、淋巴细胞总数的影响

小鼠摘眼球采血于2.0 ml离心管内并摇动抗凝(每管预先加入40 μl肝素钠注射液),用于血液分析仪测定血液中白细胞、淋巴细胞总数。

2.4 统计学方法

所有实验数据均采用SPSS 13.0软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间差异采用LSD-*t*法进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CGOC对S180荷瘤小鼠抑瘤率的影响

给药10 d后处死小鼠,剥离肿瘤。肿瘤呈肉粉色至血红色,浸润,质硬;形状不规则,各组肿瘤体积大小有明显的差异。与模型对照组比较,CGOC中剂量组的抑瘤率最高,达到43.70% ($P < 0.01$),CGOC高、低剂量组的抑瘤率分别为15.66%、17.72% ($P < 0.05$)。肿瘤外观见图1;CGOC对S180荷瘤小鼠肿瘤质量及抑瘤率的影响见表1。

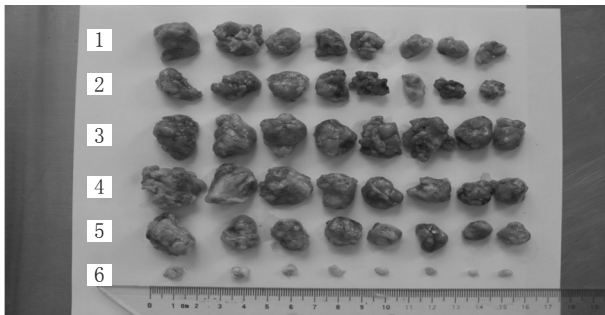


图1 肿瘤外观

1.CGOC低剂量组;2.CGOC中剂量组;3.CGOC高剂量组;4.模型对照组;5.灵芝孢子油组;6.环磷酰胺组

Fig 1 Appearance of tumor tissue

1.CGOC low-dose group; 2.CGOC medium-dose group; 3.CGOC high-dose group; 4.model control group; 5. *G. lucidum* spore oil group; 6. cyclophosphamide group

3.2 CGOC对S180荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数的影响

与模型对照组比较,CGOC中剂量组的胸腺指数、脾脏指数显著升高($P < 0.01$)。CGOC对S180荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数的影响见表2。

3.3 CGOC对S180荷瘤小鼠血液中白细胞、淋巴细胞数量的影响

表1 CGOC对S180荷瘤小鼠肿瘤质量及抑瘤率的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 1 Effects of CGOC on tumor weight and anti-tumor rate in mice by CGOC($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/kg	肿瘤质量,g	平均抑瘤率,%
模型对照组		2.54±0.96	
CGOC低剂量组	385	2.03±0.89*	17.72*
CGOC中剂量组	770	1.43±0.45**	43.70**
CGOC高剂量组	1 540	2.14±0.85*	15.66*
灵芝孢子油组	193	1.68±0.99*	33.98*
环磷酰胺组	75	0.054±0.037**	97.88**

与模型对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs.model control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表2 CGOC对S180荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Effects of CGOC on thymus and spleen index in S180 tumor-bearing mice($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/kg	胸腺指数,mg/g	脾脏指数,mg/g
模型对照组		2.61±0.50	6.50±1.07
CGOC低剂量组	385	2.63±0.46	6.60±0.95
CGOC中剂量组	770	3.41±0.51**	8.36±1.63**
CGOC高剂量组	1 540	2.68±0.62	6.72±1.52
灵芝孢子油组	193	3.01±0.46*	6.99±1.24*
环磷酰胺组	75	0.81±0.24**	3.36±0.80**

与模型对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs.model control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

与模型对照组比较,CGOC高、中、低剂量组的白细胞总数显著增加($P < 0.05$),CGOC中剂量组的淋巴细胞总数显著增加($P < 0.05$)。CGOC对S180荷瘤小鼠血液中白细胞、淋巴细胞数量的影响见表3。

表3 CGOC对S180荷瘤小鼠血液中白细胞、淋巴细胞数量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 3 Effect of CGOC on the number of leukocytes and lymphocytes in S180 tumor-bearing mice($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量,mg/kg	白细胞总数,×10 ⁹ L ⁻¹	淋巴细胞总数,×10 ⁹ L ⁻¹
模型对照组		9.47±1.78	6.89±0.34
CGOC低剂量组	385	10.81±1.89*	6.97±0.44
CGOC中剂量组	770	11.48±1.42*	7.93±1.10*
CGOC高剂量组	1 540	10.76±1.76*	7.28±0.66
灵芝孢子油组	193	9.69±2.15	7.37±0.97
环磷酰胺组	75	3.52±1.02**	0.83±0.22**

与模型对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs.model control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

CGOC是由破壁灵芝孢子粉经超临界流体萃取得到孢子精油再配以人参、黄芪、刺五加、红景天提取物而制成的软胶囊制剂,其中的主要组分灵芝孢子精油具有抗肿瘤^[5-6]、降血脂^[7]、抗炎^[8]、增强免疫^[9]和抗病毒^[10]等功效,其抗肿瘤机制包括通过调节免疫功能间接抑制肿瘤细胞生长,甚至杀伤肿瘤细胞^[11];激活半胱氨酸蛋白酶(Caspase)3从而引起细胞凋亡^[12];抑制拓扑异构酶活性,从而避免异常DNA结构出现、染色体单体分离异常、复制又受阻等,最终达到抑制细胞增殖的目的^[7]。同

时,本次研究中笔者还设定了灵芝孢子油组。从研究结果可见,高、中、低剂量CGOC可不同程度地抑制肿瘤,同时提高S180荷瘤小鼠的胸腺指数、脾脏指数、白细胞总数、淋巴细胞总数,其中中剂量组作用最明显。而灵芝孢子油组的药物剂量与CGOC中剂量组的孢子油量相同,该组的抑瘤率达到33.98%,仅低于CGOC中剂量组;在胸腺指数、脾脏指数改善方面,灵芝孢子油组也优于CGOC高、低剂量组,说明灵芝孢子精油作为该软胶囊的君药对于抑制S180荷瘤小鼠的肿瘤生长及对S180荷瘤小鼠免疫器官的保护具有重要的作用。也提示该软胶囊除了君药灵芝孢子精油发挥主要药效外,人参、黄芪、刺五加等组对S180荷瘤小鼠的抗肿瘤及对免疫器官的保护作用也发挥了作用,这可能与中药复方制剂各单味药相辅相成、协同通过多种途径作用于机体的多个靶点来发挥作用有关。

本研究所选的阳性药物环磷酰胺具有广谱抗癌作用,是治疗恶性肿瘤最常用的烷化剂代表药物,但该药具有较强的免疫抑制作用^[13]。从研究结果来看,环磷酰胺对S180荷瘤小鼠的平均抑瘤率高达97.88%,但其会大大降低S180荷瘤小鼠胸腺指数、脾脏指数和血液中白细胞总数、淋巴细胞总数,对免疫器官的损伤极大。

通过本研究可见,CGOC具有抑制S180荷瘤小鼠的肿瘤生长并同时保护免疫器官的作用,这为该软胶囊用于临床抑制肿瘤生长、提高人体免疫功能、缓解癌症症状提供了一定的实验依据。

参考文献

- [1] 侯晓青,程桂芝.灰树花多糖抗荷瘤小鼠S180肉瘤的实验研究[J].中国药房,2007,18(3):180.
- [2] 胡建楣,陈凤仪.高乌甲素对S180荷瘤小鼠的免疫调节作用研究[J].中国药房,2008,19(30):2343.
- [3] 郭慧君,朱金华,刘春花,等.不同滋阴中药对小鼠诱发性肺肿瘤发生及抗肿瘤免疫功能的影响[J].中国实验方剂

学杂志,2012,18(13):226.

- [4] 张胜霞,吴海歌,姚子昂,等.两种海洋寡糖对S180荷瘤小鼠抗肿瘤及免疫调节作用研究[J].现代免疫学,2012,32(1):5.
- [5] 陈小君.萌动激活赤灵芝孢子抑瘤作用的研究[J].中草药,2000,31(增刊):94.
- [6] 陈雪华.灵芝孢子粉对荷HAC肝癌小鼠抗肿瘤的的实验性研究[J].上海免疫学杂志,2000,20(2):10.
- [7] Li CH, Chen PY, Chang UM, et al. Ganoderic acid X, a lanostanoid triterpene, inhibits topoisomerases and induces apoptosis of cancer cells[J]. *Life Sci*, 2005, 77(3):252.
- [8] Ko HH, Hung CF, Wang JP, et al. Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae*[J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(1):234.
- [9] 王明宇,林志彬.灵芝三萜类成分在体外对小鼠免疫性肝损伤模型的影响[J].中国药学杂志,2000,35(12):809.
- [10] Iwatsuki K, Akihisa T, Tokuda H, et al. Lucidenic acids P and Q, methyl lucidenate P, and other triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation[J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(12):1580.
- [11] 陈纯,王恒邦,吴盈莹,等.灵芝及灵芝孢子提取物的抗肿瘤及对DNA拓扑异构酶作用的研究[J].中药药理与临床,2008,24(2):45.
- [12] 张娟,高文信,王翔,等.灵芝三萜防治口腔黏膜癌及其对细胞的作用[J].口腔医学研究,2008,10(24):487.
- [13] 牛宗新,李兴暖,何巍.土鳖虫水提物联合环磷酰胺抗肿瘤增效减毒作用研究[J].中华中医药学刊,2012,30(6):1264.

(收稿日期:2012-10-28 修回日期:2013-01-18)

国家食品药品监督管理局部署开展贴敷类医疗器械注册专项检查工作

本刊讯 2013年3月18日,国家食品药品监督管理局发布了《关于开展贴敷类医疗器械注册专项检查工作的通知》,要求省、市两级食品药品监督管理部门,针对其所审批的贴敷类医疗器械是否存在将非医疗器械作为医疗器械审批,是否存在高类低批,已批准的产品名称和适用范围等注册信息是否存在夸大、断言功效以及容易造成与药品名称混淆等情况,开展注册专项检查工作。在各级食品药品监督管理部门自查、检查的基础上,国家局将组织督查组进行督查,并对专项检查情况予以通报。

这次专项检查工作将进一步明确含有化学成分、中药材(或天然植物)及其提取物的贴敷类产品,无论《中国药典》是

否收载,或者是否属于药食同源,如所添加成分发挥药理作用的,不能按照医疗器械审批;对于仅含有磁性或发热材料等物质,不含其他添加成分的,但具有治疗或辅助治疗相关疾病作用的贴敷类产品,应按照第二类医疗器械管理。

这次专项检查工作是按照2013年全国医疗器械监管重点工作部署的。国家局要求各级食品药品监督管理部门在专项检查过程中,要注重加强宣传报道,营造良好的氛围,增强企业的责任意识、守法意识、诚信意识和自律意识,增强消费者自我保护意识,及时报道专项检查和规范注册管理工作取得的成效。