

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.06.012

新疆阿魏乙酸乙酯部位对 S - 180 腹水瘤模型小鼠的影响*

伊丽米热·阿布都外力¹, 张海英^{2,3}, 赵生俊^{2△}

(1. 新疆医科大学第四临床医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 3. 新疆中药炮制研究重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 探讨新疆阿魏乙酸乙酯提取物对 S - 180 腹水瘤模型小鼠的影响。方法 将 120 只 KM 小鼠随机分为正常对照组(等体积溶剂), 模型组(等体积溶剂), 顺铂组(5 mg/kg)及阿魏乙酸乙酯部位低、中、高剂量组(实验 I 组、II 组、III 组, 给药剂量以生药计 1.0、2.0、3.0 g/kg), 各 20 只。将含 2×10^6 mL⁻¹ S - 180 细胞的小鼠腹水接种于小鼠腹腔(每只 0.4 mL), 复制 S - 180 腹水瘤小鼠模型。建模成功后, 各组小鼠灌胃给予相应药物或溶剂, 每天 1 次, 连续 10 d。记录小鼠的生存时间; 测定、记录小鼠腹围及腹水量, 观察腹水细胞密度; 记录体质量, 并计算脾指数和胸腺指数。结果 与模型组比较, 顺铂组及实验 I 组、II 组、III 组平均生存时间显著延长, 细胞密度及小鼠腹围显著缩小, 小鼠腹水量显著减少; 顺铂组小鼠体质量显著降低, 实验 I 组、II 组、III 组小鼠脾质量及实验 II 组、III 组小鼠胸腺质量显著增加, 顺铂组和实验 II 组、III 组小鼠脾指数和胸腺指数均显著升高($P < 0.05$)。结论 新疆阿魏乙酸乙酯提取物可减少 S - 180 腹水瘤模型小鼠的腹水量, 延长其生存期, 并对其免疫功能有一定影响。

关键词: 新疆阿魏; S - 180 腹水瘤; 乙酸乙酯部位; 小鼠

中图分类号: R932; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)06-0047-04

Effect of Ethyl Acetate Part from *Ferula Sinkiangensis* on S - 180 Ascites Tumor - Bearing Mice

ABUDOUWAILI Yilimire¹, ZHANG Haiying^{2,3}, ZHAO Shengjun²

(1. Fourth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830000; 2. Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China 830000; 3. Xinjiang Key Laboratory of Processing and Research of Traditional Chinese Medicine, Urumqi, Xinjiang, China 830000)

Abstract: Objective To investigate the effect of ethyl acetate part from *Ferula sinkiangensis* on S - 180 Ascites tumor - bearing model mice. **Methods** A total of 120 KM mice were randomly divided into the control group (equal volume of solvent), the model group (equal volume of solvent), cisplatin group (5 mg/kg), ethyl acetate part from *Ferula Sinkiangensis* low - (experiment group I, 1.0 g/kg), medium - (experiment group II, 2.0 g/kg) and high - dose group (experiment group III, 3.0 g/kg), with 20 mice in each group. The mice were intraperitoneally injected with the ascites which contained 2×10^6 mL⁻¹ S - 180 cells (0.4 mL for each mouse) to replicate the S - 180 ascites tumor - bearing mice model. After successful modeling, mice in each group were gavaged with corresponding drugs or solvent once a day for 10 d, the survival time of mice was recorded, abdominal circumference and amount of ascites of mice were determined and recorded, cell density of ascites was observed, the weight of mice was measured and the spleen index and the thymus index of mice were calculated. **Results** Compared with those in the model group, the survival time was significantly prolonged, the abdominal circumference reduced significantly, the amount and cell density of ascites decreased significantly in cisplatin group, experiment group I, experiment group II and experiment group III, the weight in cisplatin group decreased significantly, the spleen weight in experiment group I, experiment group II and experiment group III and the thymus weight in experiment group II and experiment group III increased significantly. The spleen index and the thymus index in cisplatin group, experiment group II and experiment group III increased significantly. ($P < 0.05$). **Conclusion** Ethyl acetate part from *Ferula Sinkiangensis* can reduce amount of ascites, prolong the survival time and effect the immune function of mice.

Key words: *Ferula sinkiangensis*; S - 180 ascites tumor; ethyl acetate part; mice

阿魏为伞形科植物新疆阿魏 *Ferula sinkiangensis* K. M. Shen 或阜康阿魏 *Ferula fukanensis* K. M. Shen 的树脂^[1], 主要分布在伊朗、阿富汗, 以及哈萨克斯坦等中亚地区^[2], 在我国主要分布在新疆, 具有明显的地域特色。阿魏最早记载于《新修本草》, 自古就从中亚及周边国

家进口^[3]。自沈冠冕发现新疆伊犁、阜康地区有丰富的阿魏药材资源后, 我国实现了自给自足, 结束了长期依赖进口的局面。新疆民间维吾尔族和哈萨克族常用阿魏治疗腹部肿块、食积不化、胃脘胀满等证^[4]。阿魏具有抑制肿瘤细胞生长、促进凋亡、逆转肿瘤耐药性、抑制

*基金项目: 国家自然科学基金[82060734]。

第一作者: 伊丽米热·阿布都外力, 女, 维吾尔族, 在读硕士研究生, 研究方向为中药药理学, (电子信箱) 1009297586@qq.com。

△通信作者: 赵生俊, 男, 汉族, 大学本科, 主任药师, 研究方向为中西药合理用药、药事管理与临床药学, (电子信箱) 1519531677@qq.com。

血管新生等作用^[5-8],且抗炎抗氧化作用较强,有较好的药用价值。本课题组的前期研究表明,新疆阿魏及其含药血清对结肠癌、肝癌、胃癌细胞的增殖具有明显抑制作用,对S-180腹水瘤的生长也有明显抑制作用^[9-10],且阿魏乙酸乙酯部位抗肿瘤效果优于其石油醚、正丁醇和水部位。本研究中探讨了新疆阿魏乙酸乙酯部位对模型小鼠S-180腹水瘤的抑制作用及其免疫功能的影响,为新疆阿魏药材的研发与利用提供了参考。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂、动物与细胞

仪器:371型CO₂培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司);SW-CJ-2F型超净工作台(美国Airtech公司);TDI-5-A型离心机(德国Eppendorf公司);IX71-12FL/PH型显微镜(日本Olympus公司)。

试剂:RPMI 1640培养基(批号为2102002)、胎牛血清(FBS,批号为1850107),均购自以色列Biological Industries公司;磷酸盐缓冲溶液(PBS,批号为AF29511323),青霉素-链霉素双抗溶液(批号为J200012),均购自美国Hyclone实验室;顺铂注射液(江苏豪森药业集团有限公司,批号为190402);新疆阿魏树脂(批号为2019002,由新疆伊犁哈萨克自治州药品检验所提供并鉴定为正品)。

动物:健康清洁级KM小鼠120只,雌雄各半,4~6周龄,体质量(20±4)g,均购自新疆疾病预防控制中心动物实验中心,实验动物生产许可证号为SCXK(新)2005-006。饲养于无病原体实验动物中心,温度(22±1)℃,相对湿度40%~70%,适应性喂养3d后进行实验。

细胞:小鼠S-180细胞株(中国科学院上海生物细胞库)。

1.2 方法

阿魏乙酸乙酯部位的制备:取阿魏树脂适量,用5倍量95%乙醇回流提取2次,每次2h,合并滤液,浓缩为稠浸膏,即得乙醇提取物。取乙醇提取物,加入硅藻土适量,搅拌均匀,加入5倍体积石油醚,超声(功率100W,频率35kHz,下同)提取30min,滤过,重复操作2次,合并滤液,滤液减压回收,得石油醚部位。待残渣挥发至无醚味,精密称定质量,加入5倍量乙酸乙酯,超声提取30min,滤过,重复操作2次,合并滤液,滤液减压回收,得乙酸乙酯部位。取乙酸乙酯部位适量,加入无水乙醇,超声助溶,搅拌,加食用油稀释、分散均匀,加入吐温80,配制所需给药剂量。

细胞培养:取小鼠S-180细胞株适量,含1%青霉素-链霉素双抗溶液和10%FBS的RPMI 1640培养基,

置37℃、CO₂培养箱中培养。取对数生长期的S-180细胞株适量,1000r/min离心5min,弃去上清液,用PBS清洗,以生理盐水调细胞密度至2×10⁶mL⁻¹,无菌条件下以每只0.4mL接种于小鼠腹腔内,7~9d后,可观察到小鼠腹部膨大、腹水。无菌条件下抽取小鼠腹水适量,1000r/min离心5min,即得实验细胞。

建模、分组及给药:将120只小鼠随机分为正常对照组(等体积溶剂),模型组(等体积溶剂),顺铂组(5mg/kg)及阿魏乙酸乙酯部位低、中、高剂量组(实验I组、II组、III组,给药剂量以生药计为1.0,2.0,3.0g/kg),各20只。除正常对照组外,取实验细胞,密度调整为2×10⁶mL⁻¹,以每只0.4mL接种于小鼠腹腔内复制S-180腹水瘤小鼠模型。建模成功后,各组均灌胃给予相应药物或溶剂。每天1次,连续10d。

1.3 观察指标

观察小鼠行为。给药第5天开始量取小鼠腹围,每天1次,并记录数据。末次给药后,每组另取10只小鼠,予常规饮食饮水,观察死亡情况,并记录生存时间。每组10只小鼠,于末次给药1h后,称取体质量。处死小鼠,抽取腹水,量取腹水体积。用等体积生理盐水稀释,显微镜下观察细胞密度。取出胸腺和脾脏,分别称取质量,计算脾指数和胸腺指数。脾(或胸腺)指数(g/kg)=脾(或胸腺)质量/体质量×1000。

1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠日常行为和生存时间

模型组小鼠食欲减退,精神状态欠佳,日常活动较少,接种15d时,腹部明显增大,食欲不振,连续出现死亡现象,至接种17d,全部死亡;平均生存时间(16.2±1.5)d。实验I组、II组、III组小鼠腹部增大不明显,饮食活动正常,精神状态均良好,小鼠开始出现死亡时间较模型组晚,实验I组、II组、III组分别于第19,21,23天全部死亡,平均生存时间分别为(18.2±1.8)d、(19.8±2.2)d、(21.4±1.6)d,均显著长于模型组($P < 0.05$)。详见图1。

2.2 小鼠腹围、腹水量

模型组小鼠腹水均为血性腹水,量较多,实验I组、II组、III组少见血性腹水,多为乳白色腹水,量较少。显微镜下可见,模型组细胞密度最大,顺铂组及实验I组、II组、III组细胞密度显著减小。与模型组比较,顺铂组及实验I组、II组、III组小鼠腹围及腹水量均显著减少($P < 0.05$)。详见表1及图2。

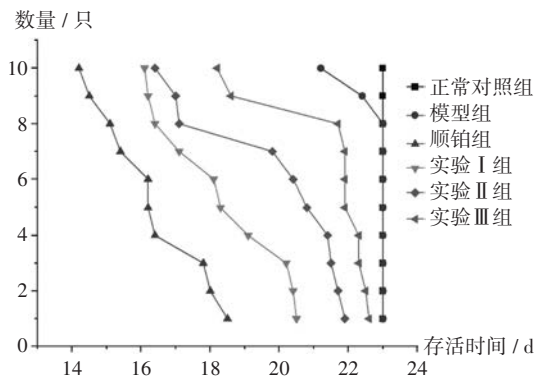


图1 新疆阿魏乙酸乙酯部位对S-180腹水瘤小鼠生存时间的影响
Fig.1 Effect of ethyl acetate part from *Ferula sinkiangensis* on survival time of model mice

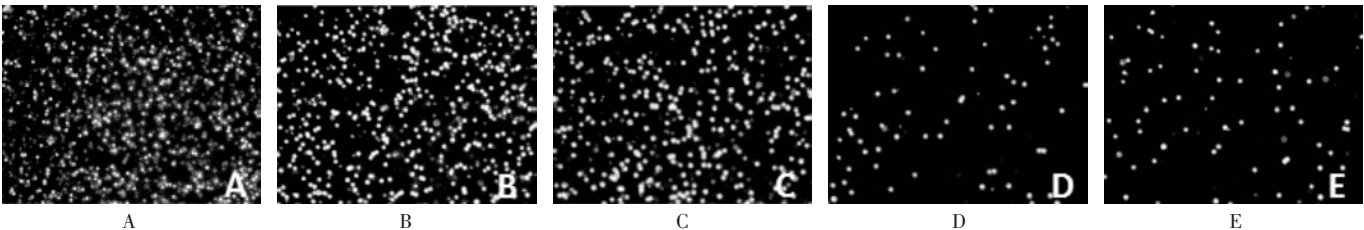


图2 各组小鼠腹水细胞密度($\times 40$)
A. Model group B. Experiment group I C. Experiment group II D. Experiment group III E. Cisplatin group
Fig.2 Cell density of ascites of mice in each group($\times 40$)

2.3 小鼠体质量、脾指数和胸腺指数

与正常对照组比较,模型组小鼠胸腺指数显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,顺铂组小鼠体质量显著降低,实验I组、II组、III组小鼠脾质量及实验II组、III组小鼠胸腺质量均显著增加,顺铂组和实验II组、III组小鼠脾指数和胸腺指数均显著升高($P < 0.05$)。详见表2。

表2 各组小鼠体质量、脾指数、胸腺指数比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)
Tab.2 Comparison of weight, spleen index and thymus index of mice in each group($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	体质量(g)	脾质量(g)	脾指数(g/kg)	胸腺质量(g)	胸腺指数(g/kg)
正常对照组	33.56 $\pm$ 3.27	0.16 $\pm$ 0.03	4.77 $\pm$ 0.31	0.07 $\pm$ 0.02	2.09 $\pm$ 0.22
模型组	36.28 $\pm$ 4.70	0.17 $\pm$ 0.08	4.69 $\pm$ 0.87	0.06 $\pm$ 0.02	1.65 $\pm$ 1.40 [*]
顺铂组	22.64 $\pm$ 2.98 [*]	0.15 $\pm$ 0.03	6.63 $\pm$ 0.30 [*]	0.05 $\pm$ 0.04	2.21 $\pm$ 2.07 [*]
实验I组	38.42 $\pm$ 3.78	0.21 $\pm$ 0.08 [#]	5.47 $\pm$ 0.88	0.07 $\pm$ 0.05	1.82 $\pm$ 1.20
实验II组	33.74 $\pm$ 4.56	0.23 $\pm$ 0.03 [#]	6.82 $\pm$ 1.99 [#]	0.12 $\pm$ 0.02 [#]	3.56 $\pm$ 1.47 [#]
实验III组	31.36 $\pm$ 4.34	0.26 $\pm$ 0.04 [#]	8.29 $\pm$ 2.23 [#]	0.15 $\pm$ 0.07 [#]	4.78 $\pm$ 1.21 [#]

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0.05$ 。
Note:Compared with those in the control group,^{*} $P < 0.05$.

3 讨论

有研究表明,S-180实体瘤模型小鼠给予阿魏乙酸乙酯部位后,其胸腺和脾脏均明显增大增厚,提示阿魏乙酸乙酯部位对免疫器官及其功能有一定影响^[5]。故本研究中以S-180腹水瘤小鼠为实验模型。

表1 各组小鼠腹围、腹水量比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab.1 Comparison of abdominal circumference,ascites amount of mice in each group($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	腹围(cm)	腹水量(mL)
正常对照组	7.2 $\pm$ 0.5	0.0 $\pm$ 0.0
模型组	10.0 $\pm$ 0.7	11.8 $\pm$ 1.0
顺铂组	6.5 $\pm$ 0.6 [#]	2.6 $\pm$ 0.9 [#]
实验I组	9.6 $\pm$ 0.6	8.3 $\pm$ 1.0 [#]
实验II组	8.9 $\pm$ 0.9 [#]	7.3 $\pm$ 1.2 [#]
实验III组	8.6 $\pm$ 1.0 [#]	5.6 $\pm$ 1.2 [#]

注:与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。表2同。
Note: Compared with those in the model group, [#] $P < 0.05$ (for Tab.1-2).

腹腔积液是恶性肿瘤侵袭、迁移的主要表现,临床不易控制。血性腹腔积液的发病原因复杂,常表现为在腹腔积液中红细胞含量增多且伴有出血^[11-12]。本研究中观察到模型组小鼠的腹水量大,且多为血性腹腔积液,提示其病情发展速度较快,各给药组小鼠血性腹水出现较少,多为乳白色或淡黄色腹水。腹腔积液会导致腹部胀满、疼痛、食欲减退等症状,合并恶性腹腔积液时常提示病情已至晚期,生存时间仅3~6个月。实体瘤评价抗肿瘤药效多以肿瘤质量为指标,而腹水瘤模型动物的结局是死亡,故多用生存时间来评价药效^[13]。本研究结果表明,新疆阿魏乙酸乙酯部位可明显减少模型小鼠的腹水量,延长其生存时间。

脾与胸腺是机体重要的免疫器官。脾脏是体内最大的淋巴器官,胸腺是T淋巴细胞分化成熟的免疫器官,故脾指数和胸腺指数可作为衡量免疫功能的指标。本研究中,与正常对照组比较,模型组小鼠的胸腺、脾脏质量无明显改变,实验II组、III组小鼠胸腺、脾脏的质量明显增加,且脾脏出现颜色变深,尖端钝圆的现象。提示阿魏乙酸乙酯部位对小鼠的免疫功能有一定影响。但本研究未进一步进行细胞因子水平、免疫指标的测定,故阿魏乙酸乙酯与S-180腹水瘤模型小鼠免疫功能的相关性还有待深入研究。

综上所述,新疆阿魏乙酸乙酯提取物可减少S-180腹水瘤模型小鼠的腹水,延长其生存期,并对其免疫功能