

吲哚美辛联合茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠抗肿瘤作用的初步研究

张利娟, 龚泉, 李雪芹, 周春艳, 赵学强, 王存德

(云南省肿瘤医院, 昆明医学院第三附属医院姑息医学科, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 探索吲哚美辛联合茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长的抑制作用. **方法** 建立 C57 小鼠 Lewis 肺癌皮下移植瘤模型并随机分为 4 组: 吲哚美辛组、茶多酚组、吲哚美辛联合茶多酚组和生理盐水对照组, 每天灌胃给药 1 次, 连续 16 d. 观察各组小鼠的出瘤时间、瘤体大小和肿瘤抑制率. **结果** 与对照组相比, 吲哚美辛和茶多酚低、高剂量对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长均有显著的抑制作用 ($P < 0.05$), 二者联合应用低、高剂量对肿瘤的抑制作用高于单独用药 ($P < 0.05$). **结论** 联合应用吲哚美辛和茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长具有显著的抑制作用, 且有一定增效作用.

[关键词] 吲哚美辛; 茶多酚; 小鼠 Lewis 肺癌细胞; 联合用药

[中图分类号] R 734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 02 - 0023 - 04

The Combination of Indomethacin and Tea Polyphenols Inhibits Tumor Growth in Mice with Lewis Pulmonary Tumor

ZHANG Li - juan, GONG Quan, LI Xue - qin, ZHOU Chun - yan, ZHAO Xue - qiang, WANG Cun - de
(Dept. of Palliative Medicine, Yunnan Tumor Hospital, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031, China)

[Abstract] **Objective** To prove the inhibition effects of combination of indomethacin and tea polyphenols on growth of Lewis pulmonary tumor (LLC) in mice. **Methods** LLC transplant model was built in mice. The model mice were divided randomly into 4 groups: control group, indomethacin group, tea polyphenols group and combination administration group. The tumor volume change and tumor suppressor rate of LLC in mice in four groups were observed. **Results** The indomethacin and tea polyphenols group had obvious inhibiting effect on the transplanted Lewis pulmonary tumor in mice, compared with control group ($P < 0.05$). The inhibiting effect was enormously enhanced by drug combination of indomethacin and tea polyphenols. **Conclusions** Combination of indomethacin and tea polyphenols has obvious inhibition effect on the tumor growth of transplanted Lewis pulmonary tumor in mice, which could significantly enhance the inhibition effect to a certain degree, compared with independent administration.

[Key words] Indomethacin; Tea polyphenols; Lewis pulmonary tumor; Drug combination

恶性肿瘤严重威胁人类的生命健康, 随着人们对恶性肿瘤认识的逐步深入, 靶向治疗在恶性肿瘤治疗中发挥着愈来愈重要的作用, 其中以肿瘤血管为靶点的治疗策略已经成为许多学者关注的焦点^[1]. 近年来研究发现: 吲哚美辛可作用于血

管内皮细胞, 抑制促血管生长因子 VEGF 表达, 从而阻断肿瘤血管生成^[2]; 茶多酚能抑制某些肿瘤细胞 VEGF 表达, 抑制 VEGF 与受体结合, 从而遏制肿瘤形成新生血管^[3]. 本研究旨在探讨联合应用吲哚美辛和茶多酚对荷瘤小鼠的抗肿瘤作用.

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2009CB089)

[作者简介] 张利娟 (1983~), 女, 云南寻甸县人, 医学硕士, 住院医师, 主要从事恶性肿瘤的姑息治疗工作.

[通讯作者] 王存德. E-mail:wcd69@foxmail.com

1 材料与方法

1.1 主要试剂与药品

RPMI 1640 培养基粉剂及胎牛血清均购于 Gibco 公司；吡哆美辛、二甲基亚砷购自 Sigma 公司；茶多酚粉剂购自红河唐人生物科技发展有限公司。

1.2 实验动物及细胞

SPF 级 C57 小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，Lewis 小鼠肺癌细胞株购自美国典型培养物保藏中心 (ATCC)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养与接种 Lewis 细胞株用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养，当细胞贴壁长满单层后用 0.25% 胰蛋白酶消化，将培养液吹打混匀，1 000 r/min × 5 min 离心，收集细胞用无菌 PBS 稀释，倒置显微镜下计数后将浓度调整至 1×10^7 /mL，每只小鼠取 0.2 mL 细胞悬液接种于右侧腋后线皮下，观察肿瘤生长，待体积达 1 000 mm³ 左右时移植。

1.3.2 造模与分组 选择生长良好、瘤体无破溃的荷瘤小鼠，断颈法处死，在超净工作台内完整剥离瘤结，无菌生理盐水清洗血渍，清除中心坏死组织，充分匀浆以制备瘤细胞悬液，加生理盐水调整细胞悬液浓度至 1×10^7 /mL。每只小鼠取 0.2 mL 悬液接种于右侧腋后线皮下，构建荷瘤小鼠 54 只（接种操作在 30 min 内完成）。10 d 肿瘤体积达到 (100 ~ 300) mm³ 时，将建立好的小鼠模型随机分为实验 A、B、C 组（各 16 只小鼠）和对照组（6 只）。A 组为吡哆美辛组，每天以吡哆美辛灌胃；B 组为茶多酚组，每天以茶多酚灌胃；C 组为吡哆美辛联合茶多酚组，每天以吡哆美辛 + 茶多酚灌胃；对照组为生理盐水 D 组，每天以生理盐水灌胃。实验 A、B、C 3 组又分别分为高剂量和低剂量，高剂量每天以加倍剂量药物灌胃。观察各组小鼠的出瘤时间、瘤体的大小、肿瘤抑制率及小鼠整体状况，如体重、饮水量、皮肤色泽、活动能力及反应灵敏度等。

1.3.3 给药剂量与方法 分组当天开始灌胃给药，1 次/d，连续 16 d。A 组：吡哆美辛分别按 2 mg/(kg·d) 和 4 mg/(kg·d) 给药；B 组：茶多酚每天 112.5 mg/kg 和 225 mg/kg 给药；C 组：联合给药组高、低剂量分别与单用组相同；D 组：生理盐水每

天 0.2 mL/10 g 灌胃。

1.3.4 肿瘤体积和肿瘤抑制率测定方法 肿瘤体积：给药前后每 4 d 用毫米游标卡尺测量肿瘤长、宽最大垂直直径并计算肿瘤体积：

$$\text{肿瘤体积 (mm}^3\text{)} = \frac{\text{肿瘤长径} \times \text{肿瘤短径}^2}{2}$$

绘制各组小鼠生长曲线。

肿瘤抑制率：用药结束后 2 d 处死小鼠，仔细分离瘤体并称重，计算肿瘤抑制率：

$$\text{肿瘤抑制率} \% = \frac{1 - \text{治疗组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\%$$

1.4 统计学分析

所有计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 SPSS 统计软件进行数据分析。采用 *t* 检验或单因素方差分析，方差齐性时用 S-N-K 检验，方差不齐用 Tamhane's T2 检验进行各组间比较，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

造模前各组小鼠一般状况良好，对照组与实验各组小鼠平均体重分别为 (17.67 ± 1.48) g、(17.72 ± 0.89) g。对照组小鼠进食、饮水情况基本正常，但活动较植瘤前明显减少，反应较为迟钝；实验各组小鼠进食、饮水、活动等状况良好，反应较对照组灵敏。吡哆美辛组小鼠有轻度腹泻及粪便中带血情况，但未见明显消瘦等异常现象。实验完成时 54 只小鼠均存活。

2.2 肿瘤体积

茶多酚、吡哆美辛单药及两者联合用药对 C57 小鼠 Lewis 肺癌移植瘤体积变化结果：从用药后第 4 天开始，6 个用药组肿瘤体积均小于生理盐水对照组 (*P* < 0.05)；茶多酚与吡哆美辛联合用药组体积均小于单药治疗组 (*P* < 0.05)；但低剂量与高剂量肿瘤体积比较无统计学差异 (*P* > 0.05)；其余单用药组间肿瘤体积两两比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05)，见表 1、图 1。

2.3 肿瘤抑制率

结果表明，与对照组比较，实验各组低高剂量对小鼠的肿瘤抑制率明显增高 (*P* < 0.05)；茶多酚与吡哆美辛联合用药对小鼠肿瘤抑制率高于单药治疗 (*P* < 0.05)，见表 2、图 2。

表 1 各组小鼠肿瘤体积的动态变化 [mm³, ($\bar{x} \pm s$)]

Tab. 1 Tumor volume change of mice in each group [mm³, ($\bar{x} \pm s$)]

组 别	n	剂 量	0 d	4 d	8 d	12 d	16 d
对照组	6	0.2 mL/10 g	84.92 ± 15.39	162.04 ± 39.38	351.12 ± 39.68	944.62 ± 79.84	1 638.43 ± 256.63
茶多酚组							
低剂量	8	112.5 mg/kg	83.87 ± 18.99	116.47 ± 16.74*	215.50 ± 19.06*	689.16 ± 71.88*	1 310.45 ± 172.90*
高剂量	8	225.0 mg/kg	83.81 ± 11.61	118.36 ± 16.03*	215.15 ± 13.42*	693.70 ± 49.18*	1 298.15 ± 142.71*
吡啶美辛组							
低剂量	8	2 mg/(kg·d)	83.07 ± 16.19	120.90 ± 15.76*	211.14 ± 16.97*	678.05 ± 76.01*	1 262.47 ± 168.08*
高剂量	8	4 mg/(kg·d)	84.57 ± 13.13	121.57 ± 13.37*	204.72 ± 15.20*	692.09 ± 66.54*	1 254.47 ± 99.26*
联合组							
低剂量	8	112.5 mg/kg +2 mg/(kg·d)	83.49 ± 15.33	106.86 ± 10.95*	203.64 ± 8.83*	551.14 ± 58.27*▲	1 051.88 ± 116.77*▲
高剂量	8	225.0 mg/kg +4 mg/(kg·d)	81.47 ± 14.65	100.17 ± 9.16*	194.11 ± 17.69*	491.93 ± 51.94*▲	927.20 ± 97.44*▲

与对照组比较, *P<0.05; 与单药治疗组比较, ▲P<0.05.

表 2 各组小鼠肿瘤重量与抑制率 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Tumor weight and suppressor rate of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量	n	瘤重 (g)	肿瘤抑制率 (%)
对照组		6	1.42 ± 0.18	0.0
茶多酚组	低剂量	8	0.80 ± 0.07*	13.9*
	高剂量	8	0.82 ± 0.10*	12.5*
吡啶美辛组	低剂量	8	0.81 ± 0.10*	13.3*
	高剂量	8	0.83 ± 0.18*	11.9*
联合组	低剂量	8	0.60 ± 0.05*▲	27.8*▲
	高剂量	8	0.56 ± 0.12*▲	30.9*▲

与对照组比较, *P<0.05; 与单药治疗组比较, ▲P<0.05.

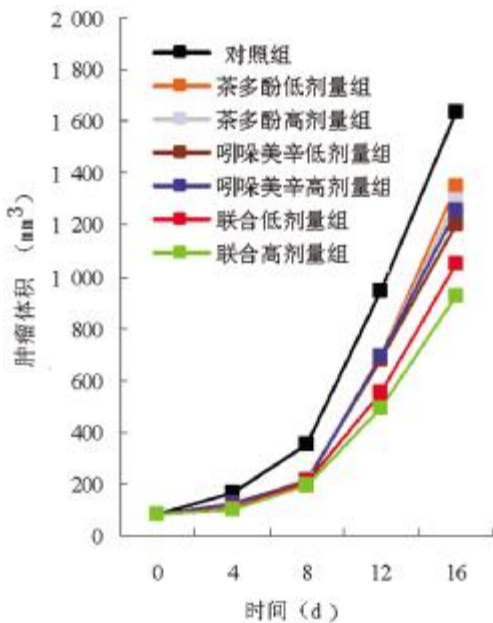


图 1 肿瘤体积生长曲线

Fig. 1 Tumor growth curve of mice in each group

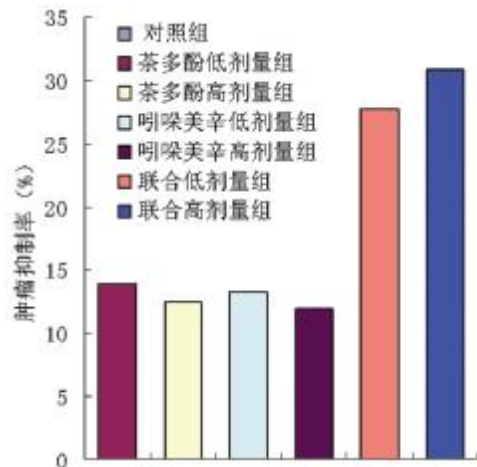


图 2 各组肿瘤抑制率 (%)

Fig. 2 Tumor suppressor rate of mice in each group (%)

3 讨论

经过数 10 a 的努力,对恶性肿瘤的治疗已经有了长足的进步,但整体治愈率依然低下、预后较差^[6]。加强对恶性肿瘤的基础和临床研究,寻找积极有效的治疗方法和经济、实用的药物无疑具有巨大的现实意义^[5]。

本研究初步探索了吲哚美辛和茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤抑制作用以及两药联合应用的效果。研究证实,与对照组相比,应用吲哚美辛和茶多酚后,实验各组肿瘤体积均有显著缩小 ($P < 0.05$),联合用药组肿瘤体积小于单药组 ($P < 0.05$);上述结果表明,应用吲哚美辛和茶多酚对小鼠 Lewis 肺癌肿瘤生长有明显的抑制作用,联合用药疗效好于单药治疗。然而,研究发现单药和联合用药低剂量与高剂量肿瘤体积变化无统计学意义 ($P > 0.05$)。

对肿瘤抑制率的统计分析发现,茶多酚组低、高剂量,吲哚美辛组低、高剂量,联合组低、高剂量的肿瘤抑制率与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$);其中联合用药组与单药组比较,抑制率的差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而联合用药组低剂量与高剂量比较无统计学差异 ($P > 0.05$),单药组不同剂量两两比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。上述结果表明,联合用药与单药治疗相比肿瘤抑制率更高,而各组高、低剂量之间没有明显差异。本次研究的用药剂量均由人类用药剂量换算而得,药物对肿瘤的抑制作用是否呈剂量依赖性,以及最佳抑瘤剂量仍需进一步研究。

从天然植物或常见药物中寻找新型抗肿瘤药物是当前肿瘤治疗研究的热点之一^[6],积极探求多种药物的联合应用,达到减毒增效的效果,也成为抗肿瘤的新策略^[7,8]。本研究从与人们生活息息相关的茶多酚及常见的非甾体类解热镇痛药物吲哚美辛出发^[9],初步研究证实了吲哚美辛和茶多酚对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤具有显著的抗肿瘤作用^[10],2者联合用药疗效优于单药治疗,这些初步

结果为今后进一步开展对联合用药抗肿瘤机制的研究,尤其是抗血管生成等方面机制的研究提供了一定研究基础。

[参考文献]

- [1] FERRARA N, KERBEL R S. Angiogenesis as a therapeutic target[J]. *Nature*, 2005, 438(7070): 967 - 974.
- [2] FOLKMAN J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications [J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21): 1 182 - 1 186.
- [3] BENELLI R, MORINI M, CARROZZINO F, et al. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation [J]. *FASEB J*, 2002, 16(2): 267 - 269.
- [4] MAHMUD S M, FRANCO E L, APRIKIAN A G, et al. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer risk: a meta-analysis [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(7): 1 680 - 1 691.
- [5] LANAS A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase inhibition in the gastrointestinal tract: a trip from peptic ulcer to colon cancer [J]. *Am J Med Sci*, 2009, 338(2): 96 - 106.
- [6] HULL M A, GARDNER S H, HAWCROFT G. Activity of the nonsteroidal anti-inflammatory drug indomethacin against colorectal cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2003, 29(4): 309 - 320.
- [7] CHEN S Z, QIU Z G. Combined treatment with GH, insulin, and indomethacin alleviates cancer cachexia in a mouse model [J]. *J Endocrinol*, 2011, 208(2): 131 - 136.
- [8] WANG H M, ZHANG G Y. Indomethacin suppresses growth of colon cancer via inhibition of angiogenesis in vivo [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(3): 340 - 343.
- [9] XIAO H, YANG C S. Combination regimen with statins and NSAIDs: a promising strategy for cancer chemoprevention [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(5): 983 - 990.
- [10] JUNG Y D, KIM M S, SHIN B A, et al. EGCG, a major component of green tea, inhibits tumor growth by inhibiting VEGF induction in human colon carcinoma cells [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(6): 844 - 850.

(2012 - 01 - 14 收稿)