

针灸对 CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数影响的研究

王延超¹, 于冬冬¹, 滕迎春², 路玫³

(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450003; 2. 河南中医学院第一附属医院, 河南 郑州 450000;

3. 河南中医学院国际教育学院, 河南 郑州 450000)

摘 要:目的:观察针灸对 CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数的影响,揭示针灸改善荷瘤小鼠化疗所致免疫功能损伤的机制之一。方法:成功植瘤后,按照荷瘤小鼠体重及白细胞数随机分为荷瘤模型组、荷瘤针刺组、荷瘤艾灸组。4 次性腹腔注射 150 mg/kg CTX 溶液,制备 CTX 荷瘤小鼠模型;荷瘤空白组腹腔注射同等剂量的生理盐水。模型成功后,分别对荷瘤针刺组、荷瘤艾灸组进行针刺、艾灸治疗,荷瘤空白组、荷瘤模型组每日隔日抓取固定,不治疗。治疗 3 d、5 d 后的第 2 天取出脾脏,称重。结果:治疗 3 d、5 d 后,除荷瘤空白组外,其余各组荷瘤小鼠脾脏指数均降低,有显著性差异($P < 0.05$),与荷瘤模型组比,荷瘤针刺组、荷瘤艾灸组脾脏指数较高,有显著性差异($P < 0.05$)。结论:CTX 化疗导致小鼠免疫功能损伤,脾脏指数降低,针刺和艾灸可以提高 CTX 化疗荷瘤小鼠的脾脏指数,对小鼠脾脏起到修复和保护作用,进而改善因 CTX 化疗后引起的免疫功能损伤。

关键词:针灸;化疗;荷瘤小鼠;脾脏指数

中图分类号:R245;R-332 文献标志码:A 文章编号:1000-4719(2015)09-1794-02

化疗在抗肿瘤治疗中被广泛应用,由于大多数化疗药物缺乏特异性,既能杀死肿瘤细胞,也能杀死正常细胞,所以对机体造成一定的损伤^[1]。研究表明,在细胞受到严重损伤时,细胞趋向凋亡,骨髓造血细胞大量凋亡能导致 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、单核细胞和巨噬细胞等免疫细胞减少,进而抑制机体的体液免疫和细胞免疫反应,造成机体免疫功能损伤。因此,保护正常细胞避免化疗的损害从而减轻其不良反应,就是提高治疗效果的关键^[2]。人体自身的免疫反应是保护机体不受致病因素侵害的有力武器,而免疫反应的各种作用是通过免疫细胞和细胞因子实现的^[3]。免疫器官的重量与体重的相对比值即脏器指数,可以作为一个衡量机体免疫功能状态的初步指标,脾脏是 T、B 淋巴细胞定居的场所,也是发生免疫应答的重要场所,在固有免疫与适应性免疫中起着重要作用。通过对脾脏指数的检测,可以初步评价药物的免疫调节功能^[4]。我们前期研究结果证实针灸具有保护化疗机体造血干细胞,减轻骨髓抑制,提升白细胞数量的良好效应,并且针刺升高白细胞的同时还能够增强机体的免疫能力^[5]。本课题通过观察针灸对 CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数的影响,初步揭示针灸改善荷瘤小鼠化疗所致免疫功能损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

河南省实验动物中心购买 SPF 级雌性昆明(KM)

小鼠[合格证号:SCAK(豫)2010-0002],7 周龄,体重 (18 ± 2) g。小鼠在河南中医学院动物实验中心自由饮食饲养 3 d 后进行植瘤。选取植瘤成功(右腋下可触及 0.8 cm 大小肉瘤)的荷瘤小鼠 72 只,采用随机分层分组法分组,每组 9 只。3 天批,5 天批各 36 只,用苦味酸和品红溶液对每组荷瘤小鼠染色。

1.2 模型制备

选取生长良好 8180 肉瘤瘤源小鼠,局部消毒,剪取正常瘤组织,掺入无菌生理盐水匀浆稀释,按照 5×10^5 瘤细胞/0.2 mL/每只剂量分别注射接种于小鼠左腋下(由河南省医药科学研究所协助完成)。接种 7 d 后,采血查 WBC 总数,挑选体重 (21 ± 1) g、瘤体直径 0.8 cm 左右、接近基础 WBC 的小鼠,一次性腹腔注射环磷酰胺 150 mg/(kg·d),停药后 4 h 模型即成^[6]。荷瘤空白组小鼠按照 0.02 mL/g 用药量注入 0.9% 注射生理盐水。

1.3 治疗方法

小鼠穴位定位参考《中国兽医针灸学》^[7],并模拟大鼠穴位定位法“大椎”位于第 7 颈椎与第 1 胸椎间,背部正中;“脾俞”位于第 7 胸椎下两旁,左右各一穴;“肾俞”在第 2 腰椎下两旁肋间,左右各一穴;“足三里”位于小鼠后肢膝关节后外侧,胫骨小头下约 5 mm 处,左右各一穴。

荷瘤针刺组:用华佗牌美容毫针,采用管式进针法直刺,进针深度为 3 mm,留针 6 min,1 次/d。分别治

[2] 孙志,韩海容,孔令斌,等.针灸对 2 型糖尿病大鼠脾脏作用的实

验研究[J].针灸临床杂志,2008,24(3):48-49.

投稿日期:2015-03-21

[3] Popkin BM. The nutrition transition and obesity in the developing world[J].J Nutr,2000,131(3):871-873.

基金项目:国家自然科学基金重大计划项目(90780035)

[4] 陈粉粉,陈爱彬,周太成,等.ICR 小鼠肥胖模型的建立以及肥胖脂肪和脂肪组织形态学比较[J].安徽农业科学,2012,40(5):2720-2723.

作者简介:王延超(1990-),男,河南焦作人,硕士研究生,研究方向:针灸抗化疗不良反应。

[5] 王舒然,麻微微,赵丹,等.高脂饮食诱导肥胖与肥胖抵抗动物模型建立[J].公共卫生,2015,23(7):774-775.

通讯作者:路玫,女,河南新乡人,教授,硕士研究生导师,研究方向:针灸抗化疗不良反应,E-mail:hnm0712@163.com.

疗 3 d 和 5 d。

荷瘤艾炙组:用美容艾条点燃后,在距离穴位皮肤 2 cm 处固定每穴悬灸 3 min,1 次/d。分别治疗 3 d 和 5 d。

荷瘤空白组、荷瘤模型组:每日陪同荷瘤针刺组,荷瘤艾炙组抓取固定,不做任何治疗。

1.4 观察指标及方法

治疗 3 d 和 5 d 后的第 2 天,分别采用脱颈椎法处死各组小鼠,取出脾脏,剔除干净周围的结缔组织,用滤纸吸干水分,用精密电子天平称脾脏的重量,计算脾脏指数,公式如下:脾脏指数 = 脾脏重量(mg)/小鼠体重(g)。

1.5 所需实验仪器 美容毫针(0.19 mm×10 mm,苏州医疗器械用品有限公司);美容艾条(0.4 cm×25 cm,河南南阳卧龙艾绒厂);电子天平(FA2204B,上海精密科学仪器有限公司);电子称(永康市成博衡器有限公司);小鼠固定木板(自制)等。

1.6 统计分析

采用 SPSS 19.0 for Windows 统计分析软件对数据进行分析。计量资料所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。各组间比较首先确定样本是否符合正态分布,若符合正态分布,采用单因素方差分析,先进行方差齐性检验;若方差齐,两两比较采用 LSD 法;若方差不齐,两两比较采用 Tamhane 法;若不符合正态分布则采用非参数检验。

2 结果

针灸对 CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数的影响:见表 1。

表 1 针灸治疗 3 d、5 d CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	治疗 3 d 后	治疗 5 d 后
荷瘤空白组	9	13.64±2.76	13.58±1.03
荷瘤模型组	9	4.96±1.70 ¹⁾	7.11±0.72 ¹⁾
荷瘤针刺组	9	7.25±1.16 ¹⁾²⁾	11.91±2.12 ²⁾
荷瘤艾炙组	9	9.28±1.72 ¹⁾²⁾	11.18±2.95 ²⁾

注:与荷瘤空白组比较,1) $P < 0.05$;与荷瘤模型组比较,2) $P < 0.05$ 。

结果显示,治疗 3 d、5 d 后,与荷瘤空白组比,其余各组脾脏指数均降低,具有显著性差异($P < 0.05$)。说明 CTX 化疗可致荷瘤小鼠脾脏指数降低,引起机体的免疫器官损伤;与荷瘤模型组比,荷瘤针刺组、荷瘤艾炙组的脾脏指数较高,具有显著性差异($P < 0.05$)。说明针刺和艾炙可提高化疗荷瘤小鼠脾脏指数,减轻化疗所致免疫功能损伤,对抗 CTX 的不良反应;与荷瘤针刺组比,荷瘤艾炙组的脾脏指数虽高于荷瘤针刺组,但无显著性差异($P > 0.05$)。说明针刺和艾炙均可提高化疗荷瘤小鼠脾脏指数,但疗效差异不明显。

3 讨论

化疗药物可对机体的整个免疫功能造成损伤并产生抑制作用,临床主要表现出面色苍白、纳差、恶心呕吐、失眠、烦躁、少气乏力、肢体倦怠、舌淡红、脉细弱等一系列虚弱症状,属中医“虚劳”范畴^[8],属“虚者补

之”,“劳者温之”,治疗上以扶正固本、调补气血为纲。课题组前期研究表明针灸大椎、骶俞、肾俞、足三里可有效改善化疗对机体的不良反应,因大椎为诸阳之会,灸之可壮全身之阳,固卫安营;骶俞为血会具有调理气血,养血活血的作用;肾俞为肾脏精气输注之处具有调补元气,益髓填精、激发脏腑之功;足三里乃胃经合穴,功能调补脾胃,补益气血。诸穴同用,共奏扶正固本之功,调和“虚劳”之体。

脾脏是机体最大的免疫器官,含有大量的淋巴细胞和巨噬细胞,其中 B 细胞比例较大,约占脾脏淋巴细胞总数的 60%,T 细胞约占 40%^[9]。脾脏是机体细胞免疫和体液免疫的中心,可以合成多种细胞因子通过多种机制发挥抗肿瘤作用,这些细胞因子在免疫系统中起着很重要的调控作用,某些情况下可产生免疫病理反应^[10]。因此,当机体免疫系统受到化疗药物损伤时,有效的保护脾脏,是改善化疗所致不良反应的重要方式之一。

本实验中,与荷瘤空白组相比,荷瘤小白鼠经过腹腔注射 CTX 后,脾脏指数明显降低,表明 CTX 化疗可降低荷瘤小鼠脾脏指数,致小鼠免疫功能损伤;与荷瘤模型组比,荷瘤针刺组、荷瘤艾炙组的脾脏指数明显较高,表明针刺和艾炙可以有效提高 CTX 化疗荷瘤小鼠脾脏指数;且由针灸治疗 3 d 与 5 d 实验结果比较显示针刺组和艾炙组在治疗第 4、5 天仍然可持续提高化疗荷瘤小鼠脾脏指数,表明针灸改善化疗后免疫损伤的作用可随着治疗次数的增加持续加大,其最佳治疗次数有待进一步研究。本课题研究结果初步表明:针刺和艾炙可以有效提高 CTX 化疗荷瘤小鼠的脾脏指数,对小鼠脾脏起到修复和保护作用,进而改善因 CTX 化疗后引起的免疫功能损伤,揭示提高脾脏指数,是针灸减轻化疗所致免疫功能损伤的作用机理是通过脾脏何种因子实现的,有待于我们下一步深入研究和探讨。

参考文献

- [1] Zaharie K, Paulsen K, Mehle M, et al. Anticipatory nausea: The Role of individual difference related to sensory perception and immunity [J]. *Ann Behav Med*, 2007, 33(1): 69-79.
- [2] Matsuda Y, Kamada K, Saitoh O, et al. Different mechanisms between tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide [J]. *Oncology Reports*, 2006, 16(1): 141-146.
- [3] 杨素珍. 鬼针草煎液对 S180 荷瘤小鼠抑制作用及免疫功能影响的实验研究 [D]. 咸阳:陕西中医学院, 2010.
- [4] 王太平. 熊胆藤总生物碱对小鼠免疫功能的影响 [D]. 银川:宁夏医科大学, 2009.
- [5] 陈政, 曹大周, 赵喜新, 等. 针灸对 CTX 荷瘤小鼠骨髓细胞 DNA 修复基因 MGMT mRNA POLB mRNA 表达的调控研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(10): 1901-1903.
- [6] 中华人民共和国卫生部药政司. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1993:103.
- [7] 于松. 中国兽医针灸学 [M]. 北京:农业出版社出版, 1984:209.
- [8] 吴翰涛. 实用中医血液病学 [M]. 上海:上海中医药大学出版社, 1992:419.
- [9] 莫伟力. 医学免疫学 [M]. 北京:科学技术出版社, 2004:9-10.
- [10] 朱顺英. 人 MHC 重组蛋白的制备及其防治化疗骨髓瘤作用的研究 [D]. 上海:上海交通大学, 2008.