

参苓白术散对H22肝癌移植瘤小鼠化疗后肿瘤 凋亡相关因子的影响

彭樱, 奚胜艳, 王彦晖, 符必谦, 史萌萌, 彭杨, 杨海龙, 刘雨薇, 李茜, 蒙艳村

(厦门大学医学院中医系, 厦门 361102)

摘要: 目的: 研究参苓白术散(SLBZP)对H22肝癌移植瘤小鼠化疗后肿瘤凋亡相关因子Caspase-3、Caspase-9、X染色体连锁凋亡抑制因子(XIAP)、血小板源生长因子-BB(PDGF-BB)、血管生成素-1(Ang-1)、血管生成素-2(Ang-2)表达的影响。方法: SPF级昆明小鼠64只, 将肝癌H22细胞悬液(2×10^7 /mL)接种于小鼠右前腋下, 1周全部形成移植瘤后, 行环磷酰胺(CTX, 0.20g/kg, 0.2mL/10g)腹腔注射, 建立肿瘤化疗模型。随机分组为8组: 模型组, CTX(0.02g/kg)组, SLBZP高、中、低(6.00、3.00、1.50g/kg)剂量组, SLBZP高、中、低剂量+CTX(0.02g/kg)组, 给药14d后, 运用蛋白印迹法(Western blot)测定小鼠瘤组织中Caspase-3、Caspase-9、XIAP蛋白表达; 酶联免疫吸附(ELISA)测定小鼠血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2表达。结果: SLBZP联合治疗各组抑瘤作用明显, CTX组, SLBZP高剂量组, SLBZP高、中剂量+CTX组抑瘤率分别为52.39%、45.84%、58.41%、52.77%。与模型组比较, 各治疗组血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2及瘤组织中XIAP表达呈现出被下调的趋势, 瘤组织中Caspase-3、Caspase-9表达呈现出被上调的趋势, 且以SLBZP高剂量加CTX组变化幅度最为显著($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论: SLBZP联合化疗可以更有效调节H22肝癌移植瘤小鼠肿瘤凋亡相关因子的表达, 促进肿瘤细胞凋亡可能是其改善化疗的机制之一。

关键词: 参苓白术散; 肝癌; 凋亡; XIAP; Caspase-3; Caspase-9

基金资助: 国家自然科学基金青年基金项目(No.81202659), 福建省自然科学基金项目(No.2014J01373), 福建省大学生创新创业训练项目(No.2015Y0738)

Effects of Shenling Baizhu Powder on expression of apoptosis related proteins of tumor chemotherapy model mice with H22 hepatocellular carcinoma cells

PENG Ying, XI Sheng-yan, WANG Yan-hui, FU Bi-qian, SHI Meng-meng, PENG Yang, YANG Hai-long, LIU Yu-wei, LI Qian, MENG Yan-cun

(Department of Traditional Chinese Medicine, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Objective: To investigate the effects of Shenling Baizhu Powder (SLBZP) on expression of apoptosis related proteins such as Caspase-3, Caspase-9, X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP), PDGF-BB, Ang-1, Ang-2 of tumor chemotherapy model mice with H22 hepatocellular carcinoma cells. Methods: Sixty-four Kunming mice were subcutaneously injected with suspension of H22 hepatocellular carcinoma cells (2×10^7 /mL) into the right anterior armpit. After 1 week, all transplanted tumors were formed and the mice were received intraperitoneal injection with cytoxan (CTX) with the dosage of 0.2g/kg to establish the tumor chemotherapy model. Then mice were randomly divided into eight groups. CTX group was treated with CTX (0.02g/kg), the model group was treated with physiologic saline, three SLBZP groups were treated with SLBZP (6.00, 3.00, 1.50g/kg), and other three groups were treated with SLBZP (6.00, 3.00, 1.50g/kg) plus CTX (0.02g/kg). After all groups were treated for 14 days, Western blot was used to detect the expression of Caspase-3, Caspase-9 and XIAP proteins in tumor tissue, and protein expression of PDGF-BB, Ang-1, Ang-2 in blood was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Results: The combined treatment group had obvious effect on tumor inhibition. Tumor inhibitory ratios in CTX alone, SLBZP (H), SLBZP (H) plus CTX, and SLBZP (M) plus CTX groups were 52.39%, 45.84%, 58.41% and 52.77% respectively. Compared to the model group, the protein expressions of PDGF-BB, Ang-1, Ang-2, and XIAP in tumor tissue were obviously lower than those in all treated groups. And the expressions of Caspase-3 and Caspase-9 in tumor tissue showed a trend of up-regulation. And the effect in SLBZP (H)

plus CTX group was the most significant ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusion: SLBZP can more effectively adjust the expression of apoptosis related proteins of tumor in mice with H22 hepatocellular carcinoma cells, and promoting tumor apoptosis may be one of the possible mechanisms of SLBZP to improve chemotherapy in treating hepatic cancer.

Key words: Shenling Baizhu Powder; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP); Caspase-3; Caspase-9

Funding: Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China (No.81202659), Natural Science Foundation of Fujian Province (No.2014J01373), Undergraduate Innovation and Pioneer Training Programs of Fujian Province (No.2015Y0738)

参苓白术散出自于《太平惠民和剂局方》，功效益气健脾、渗湿止泻，为治疗脾虚夹湿证的基本方，由人参、白术、茯苓、山药、白扁豆、莲子、薏苡仁、砂仁、桔梗、甘草10味药物组成，临床上常用于肝癌化疗后的辅助治疗。肝细胞癌(以下简称肝癌)是我国常见恶性肿瘤之一，在肿瘤相关死亡中仅次于肺癌，居第2位^[1]。目前，化疗仍然是肝癌治疗的重要手段，存在明显的胃肠道不良反应和骨髓抑制作用，其所带来的副作用常使患者难以忍受而终止治疗^[2]。参苓白术散在临床上应用广泛，近年的研究表明参苓白术散具有显著的化疗辅助治疗作用，化疗联合使用能降低患者的化疗不良反应，提高化疗的耐受性等^[3-5]。化疗药物能作用在肿瘤细胞生长繁殖的不同环节，抑制或杀死肿瘤细胞。细胞凋亡是一种由基因控制的细胞自主死亡过程，恶性肿瘤不仅与细胞过度增殖、分化受阻有关，而且与细胞凋亡受到抑制密切相关。研究证实肿瘤细胞在增殖过程中能释放大量的生长因子，如血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、血管生成素1(angiogenesis 1, Ang-1)、血管生成素2(angiogenesis 2, Ang-2)等以促进瘤组织微血管的生成，改变微环境以加速肿瘤生长^[6]。研究发现凋亡抑制因子(X-linked inhibitor of apoptosis, XIAP)主要通过Caspase蛋白酶激活级联反应抑制凋亡，其表达与肿瘤的进展、复发、预后以及肿瘤化疗的耐药密切相关^[7]。因而如能减少H22肝癌移植瘤小鼠化疗后PDGF、Ang-1、Ang-2的表达，激活Caspase蛋白酶，促进瘤细胞的凋亡，治疗上可能会取得一定疗效，而目前经方在辅助化疗方面的深入研究少见。有鉴于此，本项目旨在从影响细胞凋亡相关因子角度探讨参苓白术散对肝癌移植瘤小鼠化疗辅助作用可能存在的作用机制及效应靶点，为肝癌化疗后临床用药提供实验依据。

材料

1. 动物 SPF级昆明小鼠64只，雌雄各半，4周龄，体质量(20±2)g，购自于上海斯莱克实验动物有限责任公司，动物合格证号：SCXK(沪)2012-0002。动物饲养于厦门大学实验动物中心，自由饮食、水1周后供实验用。采用腹水型H22肝癌小鼠腹水传代1

周的H22细胞悬液，由厦门大学实验动物中心培养并于无菌条件供给接种。

2. 药物 参苓白术散，由山西华康药业股份有限公司生产，批号：20140704，一次性从莲福堂药店购进。环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)注射液，规格：每安瓿200mg，批号：131207，由吉林通化茂祥医药有限公司(中国通化)生产。0.9%氯化钠注射液，规格：100mL/瓶，批号：1407312311，由辰欣药业股份有限公司(中国山东)生产。

3. 主要试剂 CSB-E08925m小鼠血小板衍生生长因子BB(PDGF-BB)ELISA Kit(批号：II9018251)，CSB-E08529m小鼠Ang-1 ELISA Kit(批号：II1015111)，CSB-E04495m小鼠Ang-2 ELISA Kit(批号：II2015879)，均购自GUSABIO公司。BCA蛋白定量试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司，批号：BCA01)。激活型XIAP抗体(CST公司，批号：2042)。激活型Caspase-3抗体(批号：CN75131)，激活型Caspase-9抗体(批号：AA00111)，GAPDH抗体(批号：TDY042)，均购自天德悦公司。

4. 主要仪器 ZS-3板式酶标仪(北京市新凤机电技术公司)，迷你双垂直电泳槽DYCZ-24DN、迷你转印电泳槽DYCZ-40D(北京市六一仪器厂)，TDK-2水平摇床、电泳仪DG-300C(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司)，JY92-II超声波细胞粉碎机(上海新芝生物技术研究所、宁波新芝科器研究所)，TGL-20M型台式高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)，GNP-9080-上海精宏隔水式恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司)。

方法

1. 药品配置 将参苓白术散用蒸馏水溶解，高、中、低剂量组分别配成3.00、1.50、0.75g/mL，4℃冰箱保存。以0.9%的氯化钠注射液稀释CTX，调整浓度为1.00、10.00mg/mL(相当于20、200mg/kg)。

2. 造模 无菌条件下在超净台内，抽取传代H22肝癌腹水型小鼠腹水，腹水呈乳白色，置于倒置显微镜下计数(×100)。以台盼蓝染色计数法测定活细胞>95%，然后用PBS稀释，制成肝癌细胞悬液，调整浓度为 2×10^7 个/mL，接种于小鼠右前腋下，

每只0.2mL (约为 4×10^6 /mL), 以出现皮丘为皮下接种部位正确。于小鼠移植瘤形成后, 腹腔注射CTX (200mg/kg, 0.2mL/10g) 造模。

3. 分组与给药 造模24h后将64只小鼠, 随机分为模型组, CTX组, SLBZP高、中、低剂量组、SLBZP高、中、低剂量加CTX组, 共8组, 每组8只。造模成功24h后开始给药: 分组后称重, 模型组以0.9%氯化钠溶液, 0.2mL/10g, 1次/d; CTX组以20mg/kg CTX注射液腹腔注射0.2mL/10g, 1次/2d; SLBZP高、中、低剂量组分别以3.00、1.50、0.75g/mL中药复方灌胃, 0.2mL/10g, 1次/d; SLBZP高、中、低剂量分别加CTX组以3.00、1.50、0.75g/mL中药复方灌胃, 0.2mL/10g, 1次/d, 并以20mg/kg CTX注射液腹腔注射0.2mL/10g, 1次/2d。连续给药14d。

4. 药物抑瘤率的观察 等肉眼可见小鼠皮下移植瘤后, 用游标卡尺测量移植瘤的最长径(a)和最短径(b), 按公式 $V=1/2ab^2$ 计算瘤体体积。末次给药24h后, 经眼球摘除取外周血0.5-1.0mL, 静置离心后, 取血清于-70℃低温冰箱保存备用。完整剥离肿瘤组织, 称量瘤体重量, 计算抑瘤率(IR)。IR(%) = (模型组平均瘤重 - 给药组平均瘤重) / 模型组平均瘤重 × 100%。

5. ELISA法检测小鼠血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2蛋白的表达 将样本转移至匀浆器中, 加入提取液, 冰浴匀浆后转移至离心管, 15 000r/min离心30min, 弃沉淀, 取上清液做蛋白定量后, 分装, -20℃保存待用。加样后, 37℃振荡孵育120min; 分别加PDGF-BB、Ang-1、Ang-2抗体, 温育60min; 加入工作液, 温育30min; 加显色液显影, 于酶标仪450nm处读板, 依序测量各孔的光密度(OD值), 计算浓度。检测结果重复3次。

6. Western blot法检测瘤组织Caspase-3、Caspase-9、XIAP磷酸化蛋白表达 每份样品取瘤组织一小块(因不影响药物作用机制判断, SLBZP低剂量组以及SLBZP低剂量组+CTX组Caspase-3、Caspase-9磷酸化蛋白表达未予检测), RIPA buffer裂解液提取总蛋白, BCA法进行蛋白定量; SDS-PAGE电泳后用半干转印仪转膜, 5%脱脂奶粉TBST(0.05%Tween-20)封闭1h; 一抗(Caspase-3、Caspase-9、XIAP抗体)4℃孵育过夜, Caspase-3、Caspase-9抗体按二抗说明书1:2 000比例稀释, XIAP抗体1:1 000稀释, 孵育1h; 洗膜后放射自显影1min, GAPDH为内参对照, 显影、定影、晾干后, 扫描, 用Quantity One图像分析软件对显影目标条带及GAPDH内参条带的光密度值进行分析。检测结果重复3次。

7. 统计学方法 所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用GraphPad Prism 5统计软件对数据进行分析, 采用One-Way ANOVA单因素方差分析, LSD检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠的抑瘤作用观察 见表1。SLBZP高、中、低剂量组的抑瘤率分别为45.84%、28.25%、29.88%, 持续CTX化疗组抑瘤率为52.39%, SLBZP高、中、低剂量+CTX各组抑瘤率分别为58.41%、52.77%、37.96%。小鼠在造模第4天后肉眼可见右前腋下微小突起形成。第15天, 各组瘤体积差异明显。与模型组比较, SLBZP高、中剂量+CTX组瘤体体积明显较小, 差异具有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。实验过程中, 各组小鼠共死亡4只, 其余小鼠活动自由, 反应尚可。

表1 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠的抑瘤作用($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肿瘤体积(mm ³)		抑瘤率(%)
		第5天	第15天	
模型组	6	98.21±33.00	732.23±338.83	-
CTX组	7	47.86±24.50	369.49±153.95	52.39
SLBZP高剂量组	6	59.88±18.65	440.10±240.36	45.84
SLBZP中剂量组	7	64.63±23.85	452.01±279.46	28.25
SLBZP低剂量组	7	85.40±56.88	512.74±246.80	29.88
SLBZP高剂量+CTX组	7	39.38±29.69	223.58±75.97*	58.41
SLBZP中剂量+CTX组	6	45.27±27.47	338.87±166.31*	52.77
SLBZP低剂量+CTX组	6	47.20±21.09	394.47±212.62	37.96

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。表2同。

2. 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2表达的影响 见表2。取血过程中, 部分小鼠取血失败, 已剔除。ELISA实验统计表明: 与模型组比较, SLBZP高、中剂量+CTX组PDGF-BB含量显著下降($P < 0.01$, $P < 0.05$), SLBZP高剂量+CTX组Ang-1、Ang-2含量显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表2 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PDGF-BB (ng/mL)	Ang-1 (pg/mL)	Ang-2 (ng/mL)
模型组	6	36.34±9.41	15.13±1.73	81.09±15.97
CTX组	7	26.50±4.90	10.12±4.53	67.91±10.91
SLBZP高剂量组	6	25.00±6.59	8.63±6.15	68.40±17.27
SLBZP中剂量组	7	28.51±3.93	9.53±4.76	77.09±10.17
SLBZP低剂量组	7	31.07±4.86	12.04±8.60	73.45±11.45
SLBZP高剂量+CTX组	7	20.52±5.76**	4.40±2.52**	53.01±12.93*
SLBZP中剂量+CTX组	6	22.08±8.69*	9.25±2.95	58.73±18.35
SLBZP低剂量+CTX组	6	26.07±7.64	9.16±4.35	67.23±19.00

3. SLBZP对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠瘤组织XIAP、Caspase-3、Caspase-9蛋白含量的影响 见表3-表4,图1-图2。蛋白印迹检测结果显示:与模型组比较,SLBZP高剂量组和SLBZP高、中、低剂量+CTX组XIAP含量显著下降($P<0.05$, $P<0.01$);其中SLBZP高、低剂量+CTX组与CTX组比较,差异亦具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,SLBZP高、中剂量+CTX组Caspase-3、Caspase-9表达量显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);与CTX组比较,SLBZP中剂量+CTX组Caspase-3表达量显著升高($P<0.05$);SLBZP高剂量加CTX组Caspase-9含量亦显著升高($P<0.05$)。SLBZP高、中剂量组,CTX组与模型组比较,Caspase-3、Caspase-9表达量升高不显著,差异无统计学意义。

表3 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠瘤组织XIAP蛋白表达水平或含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	XIAP
模型组	0.60±0.22
CTX组	0.47±0.13
SLBZP高剂量组	0.35±0.08*
SLBZP中剂量组	0.38±0.06
SLBZP低剂量组	0.45±0.13
SLBZP高剂量+CTX组	0.18±0.10** [△]
SLBZP中剂量+CTX组	0.24±0.12**
SLBZP低剂量+CTX组	0.22±0.13** [△]

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与CTX比较,[△] $P<0.05$ 。表4同。

表4 参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗模型小鼠瘤组织Caspase-3、Caspase-9蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	Caspase-3	Caspase-9
模型组	0.33±0.13	1.28±0.35
CTX组	0.39±0.09	1.39±0.43
SLBZP高剂量组	0.52±0.16	2.35±0.62
SLBZP中剂量组	0.55±0.07	1.91±0.92
SLBZP高剂量+CTX组	0.62±0.21*	2.87±0.69** [△]
SLBZP中剂量+CTX组	0.66±0.10** [△]	2.55±0.88*

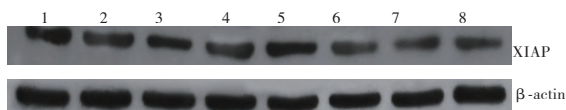


图1 H22移植瘤磷酸化XIAP表达蛋白印迹图

注:1.模型组;2.CTX组;3.SLBZP高剂量组;4.SLBZP中剂量组;5.SLBZP低剂量组;6.SLBZP高剂量+CTX组;7.SLBZP中剂量+CTX组;8.SLBZP低剂量+CTX组。

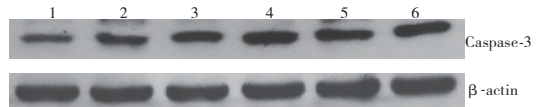


图2 H22移植瘤磷酸化Caspase-3表达蛋白印迹图

注:1.模型组;2.CTX组;3.SLBZP高剂量组;4.SLBZP中剂量组;5.SLBZP高剂量+CTX组;6.SLBZP中剂量+CTX组。下同。

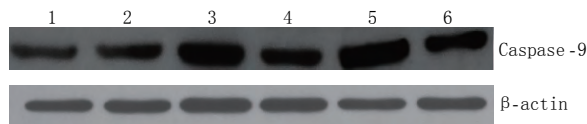


图3 H22移植瘤磷酸化Caspase-9表达蛋白印迹图

讨论

细胞凋亡是机体消除有害细胞、防止细胞过度增殖的正常生理过程,细胞凋亡的失衡与肿瘤的形成、发展及预后密切相关。Caspases是一组半胱氨酸蛋白酶家族,是细胞凋亡的核心成分,在细胞凋亡中起关键作用。其中Caspase-9是内源性细胞凋亡传导通路中最重要的凋亡启动因子,它属于上游Caspase,能激活凋亡效应关键分子Caspase-3,被激活的Caspase-3能使调节细胞结构、细胞周期及DNA修复等相关蛋白失活,从而导致细胞凋亡发生^[8]。Caspase-3、Caspase-9在多项研究中均作为肿瘤凋亡的重要指标。XIAP是凋亡抑制蛋白(IAPs)家族中的重要成员,在正常组织中低表达,在多种肿瘤组织中呈高表达状态,是评估肿瘤恶性程度和预后的重要指标,XIAP是IAPs家族中最有效力的Caspase抑制物,可直接抑制Caspase-3、Caspase-9活性,也可以通过RING结构域催化Caspase泛素化降解,阻止多种因素诱导的细胞凋亡^[9]。通过抑制XIAP的表达,激活Caspase-3、Caspase-9酶,可促进肿瘤细胞的凋亡。

肿瘤组织是由肿瘤细胞和血管两部分有机构成,肿瘤细胞可促进血管生成,而血管生成又是肿瘤细胞增殖、侵袭、转移等行为的基础和必要条件^[10]。肝癌是典型的富血管肿瘤,其生长和转移都依赖于血管生成因子的调控。H22肝癌细胞的增生导致其自身缺氧,启动血管生成。肿瘤细胞通过释放PDGF、Ang等血管生成因子,调控血管的生成,新血管形成给肿瘤组织提供足够的养分,以利于肿瘤细胞增殖和转移。研究发现,随着肿瘤血管形成比例的降低,肿瘤细胞增殖转移的机会也明显下降^[11]。研究发现^[12],PDGF-BB发挥其促肿瘤增殖和转移机制主要有:直接作用于肿瘤细胞,刺激其增殖;刺激肿瘤血管生成,新生血管为肿瘤生长提供营养、氧气及排泄代谢废物;刺激肿瘤淋巴生成和淋巴转移。舒静等^[13]通过RNA干扰技术抑制Ang的mRNA和蛋白的表达,发现沉默Ang表达可抑制细胞增殖活力,调节凋亡相关蛋白的表达,从而诱导肿瘤细胞的凋亡。提示可以通过下调PDGF、Ang等血管生成因子,抑制肿瘤血管的生成,阻碍肿瘤细胞的转移,从而诱导肿瘤细胞凋亡。

肝癌是我国常见恶性肿瘤之一,具有恶性程度高、生存时间较短、易转移复发、预后差等特点。目

前化疗仍然是现代医学治疗恶性肿瘤的常规治疗方法,诱导肿瘤细胞凋亡可能是许多化疗药物抑制肿瘤生长的机制之一。近年研究表明^[14],中药治疗能够抑制肝癌细胞增殖、诱导其凋亡,抗肿瘤侵袭,抗肿瘤血管生成,调节机体免疫功能等。中药联合化疗,能增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性、提高机体对化疗的耐受力、延长生存期等^[17-18]。参苓白术散作为经典名方,在临床上被广泛应用。范先基等^[4]研究发现,参苓白术散联合化疗、对症治疗恶性肿瘤效果显著,参苓白术散可明显降低化疗药物所致恶心呕吐、食欲不振、腹泻以及骨髓抑制等不良反应。刘嘉宁^[3]指出参苓白术散加减治疗妇科恶性肿瘤后白细胞下降疗效显著,并可明显提高患者生活质量。

应用参苓白术散作为肝癌化疗后的辅助复方,符合中医治病求本的治疗原则。肝癌根据临床症状,在中医中可归属于“肝积”“臌胀”“胁痛”“虚劳”等范畴,多因血瘀、痰凝、毒聚、气滞等引起,病理基础与虚、痰、瘀(郁)等相关^[15]。化疗药物易损伤全身正气,尤其会耗伐脾胃及气血生化功能,造成机体的虚损之象,且存在耐药性等弊端,长期疗效欠佳。脾为后天之本,气血生化之源,是其他各脏腑功能正常发挥的基础,脾之运化功能减退,气血生成无源,致气虚血瘀,血瘀进一步阻碍津液运行,形成痰饮,痰瘀交结可形成肿块。且中医认为,实脾则肝病自愈,正如《金匱要略》所言:“夫治未病者,见肝之病,知肝传脾,当先实脾”,杨宏丽^[16]指出脾虚是肝癌病理病机的重中之重。参苓白术散是治疗脾胃气虚的基本方剂,主治脾胃虚弱、食少便溏、气短咳嗽、肢倦乏力,其作为肝癌化疗的辅助用药,切合肿瘤化疗后的中医病机。

虽然目前对参苓白术散的辅助化疗作用有了一定的探索,但多局限在临床观察,随着参苓白术散在临床上的广泛应用以及目前肝癌发病率的增高,阐明参苓白术散对肝癌辅助化疗的作用机制显得尤为必要。本实验研究参苓白术散对H22肝癌移植瘤小鼠化疗后肿瘤凋亡相关因子的影响:通过蛋白印迹法对瘤组织Caspase-3、Caspase-9、XIAP蛋白的检测,ELISA对血清中PDGF-BB、Ang-1、Ang-2表达的检测,从细胞凋亡调控的角度深入研究参苓白术散对H22肝癌移植瘤化疗小鼠血清和瘤组织的影响及可能作用机制。实验结果显示,H22肝癌移植瘤小鼠在用CTX或SLBZP治疗后,血清PDGF-BB、Ang-1、Ang-2及瘤组织中XIAP表达呈现出被下调的趋势,瘤组织中Caspase-3、Caspase-9表达呈现出被上调的趋势,且以SLBZP高剂量加CTX组变化幅度最为显著

($P<0.01$, $P<0.05$);另外SLBZP高、中、低剂量+CTX组治疗作用优于单独的SLBZP或CTX治疗组,存在一定的量效关系。表明联合使用适当浓度的中药,可通过抑制凋亡抑制因子的表达,同时上调促凋亡因子表达,协同化疗药促进肿瘤细胞凋亡,从而增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,提高化疗药治疗肝癌的疗效。研究中药复方在肿瘤化疗中的辅助作用及效应靶点,可为其化疗联合应用的合理性提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] 叶胜龙,秦叔逵,吴孟超,等.原发性肝癌规范化诊治的专家共识.肿瘤,2009,29(4):295-304
- [2] Ciarimboli G. Membrane transporters as mediators of cisplatin side-effects. *Anticancer Res*, 2014, 34(1): 547-550
- [3] 刘嘉宁.参苓白术散加减治疗化疗后白细胞下降42例临床研究. *中医杂志*, 2012, 53(12): 1038-1041
- [4] 范先基,杨子玉,石或.参苓白术散联合化疗、对症治疗恶性肿瘤随机平行对照研究. *实用中医内科杂志*, 2013, 27(2): 25-27
- [5] 刘包欣子,邹玺,周锦勇,等.中药复方防治肿瘤化疗后胃肠道反应概述. *山东中医杂志*, 2012, 31(11): 845-846
- [6] Linkous A G, Yazlovitskaya E M. Novel therapeutic approaches for targeting tumor angiogenesis. *Anticancer Res*, 2012, 32(1): 1-12
- [7] Rathore R, McCallum J E, Varghese E, et al. Overcoming chemotherapy drug resistance by targeting inhibitors of apoptosis proteins (IAPs). *Apoptosis*, 2017, 22(7): 898-919
- [8] 郭晓东,李志伟,杨美,等. Caspase-9和Survivin在肝癌组织中的表达及意义. *临床肝胆病杂志*, 2014, 30(3): 253-256
- [9] 李敏,武彦. XIAP在肿瘤中的研究进展. *疾病监测与控制*, 2013, 7(9): 541-543
- [10] 何胜利,高勇,刘道永,等. Ang-1、Ang-2和Tie-2表达与肝癌血管生成的关系. *临床肿瘤学杂志*, 2009, 14(5): 439-442
- [11] 戚会波,李杨,邢雪.肝细胞性肝癌血管生成因子的研究进展. *中国现代普通外科进展*, 2011, 14(9): 719-722
- [12] 张楠,高爱琴,刘杰,等.非小细胞肺癌中PDGF-BB及其受体PDGF-R- β 的表达与淋巴管生成及淋巴道转移的关系. *中国肿瘤临床与康复*, 2011, 18(4): 289-292
- [13] 舒静,田文琳,李林,等.下调血管生成素对人膀胱癌T24细胞增殖、凋亡的影响. *第三军医大学学报*, 2014, 36(14): 1460-1466
- [14] 徐燕立,孟志强,刘鲁明.中药抗肝癌复发和转移的实验研究进展. *中华中医药杂志*, 2010, 25(10): 1634-1637
- [15] 洪荣健,奚胜艳,王彦晖.基于《丹溪心法·痰》探讨肝癌发病与痰的相关性. *中华中医药学刊*, 2014, 32(1): 164-166
- [16] 杨宏丽.试析从脾论治肝癌的临床价值. *中医杂志*, 2013, 54(7): 623-624
- [17] 朱渊红,吕昕,徐婷贞.利肺健脾方联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌临床疗效观察. *中华中医药杂志*, 2017, 32(1): 360-362
- [18] 王容容,王其美,蒋益兰,等.健脾消癌方联合化疗治疗晚期转移性结肠癌的临床研究. *中华中医药杂志*, 2016, 31(5): 1732-1736

(收稿日期: 2016年5月7日)