

黄芪多糖注射液对X射线治疗U14宫颈癌模型小鼠 增效减毒作用

宋易航, 郭忠, 窦春江, 努尔妮萨·艾力, 赵晋*
(西北民族大学医学部, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究黄芪多糖注射液(APS)对X射线治疗U14宫颈癌模型小鼠的增效和减毒作用。方法:体外培养U14小鼠宫颈癌细胞,注射接种于昆明小鼠右前肢腋下构建宫颈癌皮下荷瘤模型。将荷瘤小鼠随机分为模型组,X射线干预组(IR,6 Gy),APS组(APS,10 mL·kg⁻¹·d⁻¹),X射线联合黄芪多糖注射液组(IR+APS)。观察各组小鼠状态、体质量、进食量,并测量瘤体体积大小变化;通过流式细胞术检测瘤体细胞周期和凋亡;蛋白免疫印迹法(Western blot)和实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测瘤组织凋亡相关蛋白p53,B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2相关X蛋白(Bax)和剪切后半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-3(cleaved Caspase-3)蛋白和mRNA水平的变化。结果:与模型组比较,IR组小鼠精神状态不佳,活动度减少,第8天开始,IR组和IR+APS组进食量降低、体质量降低($P<0.05$, $P<0.01$),第9天开始,IR组和IR+APS组小鼠瘤体体积更小($P<0.01$),IR组小鼠瘤组织中细胞G₁期比例升高,S期比例降低($P<0.01$),IR+APS组小鼠瘤组织中细胞G₁比例升高,G₂和S期比例降低($P<0.05$, $P<0.01$),IR组和IR+APS组凋亡率显著增加($P<0.01$)。与模型组比较,IR组和IR+APS组瘤组织中cleaved Caspase-3和Bax蛋白和mRNA表达均升高,Bcl-2和p53蛋白和mRNA表达降低($P<0.05$, $P<0.01$);与IR组比较,IR+APS组小鼠活动度和毛发较好,小鼠体质量和进食量升高($P<0.05$),IR+APS组瘤体体积减小($P<0.05$),瘤组织中细胞G₂期降低,S期升高($P<0.05$),凋亡率增加($P<0.05$),瘤组织中Bax蛋白表达均升高,Bcl-2和p53蛋白表达降低($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:APS能够维持X射线治疗U14宫颈癌模型小鼠生命状态稳定,促进肿瘤细胞凋亡,具有增效和减毒的作用。

[关键词] 宫颈癌;X射线;黄芪多糖注射液;增效减毒

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)04-0084-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220421

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211209.0722.002.html>

[网络出版日期] 2021-12-11 15:10

Effect Enhancing and Toxicity-reducing Activities of Astragalus Polysaccharide Injection on U14 Cervical Cancer in Model Mice Receiving X-Ray Treatment

SONG Yi-hang, GUO Zhong, DOU Chun-jiang, Nuernisa Aili, ZHAO Jin*
(Medical College, Northwest Minzu University, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect-enhancing and toxicity-reducing activities of astragalus polysaccharide injection (APS) on U14 cervical cancer in model mice receiving X-ray treatment. **Method:** U14 mouse cervical cancer cells were cultured *in vitro* and injected into the right forelimb armpit of Kunming mice for constructing a subcutaneous tumor-bearing model of cervical cancer. The tumor-bearing mice were randomly divided into the model group, X-ray intervention (IR, 6 Gy) group, APS (10 mL·kg⁻¹·d⁻¹) group, and IR + APS group. Following the observation of the state, body mass, and food intake of mice in each group, the volume of the tumor was measured. The tumor cell cycle and apoptosis were determined by flow cytometry. The protein and mRNA expression levels of apoptosis-related proteins p53, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2-

[收稿日期] 20210901(012)

[基金项目] 中央高校重点项目(31920190099)

[第一作者] 宋易航,在读博士,讲师,从事妇科肿瘤及DNA损伤机制研究,E-mail:lichenghao222021@163.com

[通信作者] *赵晋,博士,教授,从事细胞衰老及DNA损伤机制研究,E-mail:gz768@163.com

associated X protein (Bax), and cleaved cysteine-dependent aspartate-directed protease-3 (Caspase-3) in tumor tissues were assayed by Western blot and real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Result:** The comparison with the model group showed that mice in the IR group had poor mental status and reduced mobility. The IR group and IR + APS group exhibited reduced food intake and body mass since the 8th d ($P<0.05$, $P<0.01$) and narrowed tumor volume since the 9th d ($P<0.01$). In the IR group, the proportion of cells in the G₁ phase was increased, while the proportion of those in the S phase was decreased ($P<0.01$). In the IR + APS group, the proportion of cells in the G₁ phase rose, whereas the proportion of those in the G₂ and S phases cells declined ($P<0.05$, $P<0.01$). The apoptotic rates in both the IR group and IR + APS group were elevated significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, the IR group and IR + APS group displayed up-regulated cleaved Caspase-3 and Bax protein and mRNA expression in tumor tissues, but down-regulated Bcl-2 and p53 protein and mRNA expression ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the IR group, the mice in the IR + APS group had better mobility and hair, normal body mass, and increased food intake ($P<0.05$). The tumor volume in the IR + APS group was reduced ($P<0.05$). The proportion of cells in the G₂ phase was reduced, but the proportion of those in the S phase was raised ($P<0.05$). The apoptosis rate was increased ($P<0.05$). The apoptosis-related protein Bax protein expression in the tumor tissue was up-regulated, while the protein expression levels of Bcl-2 and p53 were down-regulated ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** APS maintains the life state of U14 cervical cancer model mice treated with X-ray and promotes tumor cell apoptosis, thus enhancing the efficiency and reducing toxicity.

[Keywords] cervical cancer; X-ray; astragalus polysaccharide injection (APS); enhancing efficiency and reducing toxicity

宫颈癌是女性中最常见的癌症之一,分别占全球癌症新发病例的3.1%和全球癌症新发死亡病例的3.4%,同时在女性癌症患者中的发病率和死亡率均居于第4位^[1]。宫颈癌的高发年龄在30~35岁,近年来其发病更加趋向于年轻化^[2-3]。目前,针对宫颈癌的治疗主要采用以放疗为主、化疗为辅的综合治疗方案。放疗是宫颈癌常用的治疗手段,通常中晚期患者、不适宜手术的早期患者或者宫颈有较大病灶的患者术前均被建议进行放疗^[4-5]。但是,由于宫颈与骨盆中其他关键器官距离很近,宫颈癌的放疗通常会引起不良反应,最常见的是肠和膀胱的并发症^[6]。此外,部分患者对放射线的敏感性低,放疗在宫颈癌治疗的过程中存在局限^[7-8]。因此,提高宫颈癌细胞对射线敏感性的同时减少其毒副作用,是进一步提高放疗疗效的关键。目前,黄芪多糖在肿瘤治疗的相关研究中越来越受到关注。秦勤^[9]发现替吉奥联合黄芪多糖注射液(APS)对头颈部肿瘤患者放疗的增效作用显著,并能减轻不良反应;张树聪等^[10]发现黄芪多糖与X射线联用可以抑制CNE-1鼻咽癌细胞的迁移和侵袭,增加放疗引起的细胞凋亡;杨晓岚^[11]发现APS与放射治疗的联合治疗具有较高的癌症治疗率、降低了不良反应和血液中肿瘤标志物水平。但目前针对宫颈癌进行黄芪

多糖与放疗联合治疗的研究较少,因此,本研究拟通过U14宫颈癌细胞建立荷瘤小鼠模型,并观察APS对X射线的增效和减毒的作用,为APS联合化疗的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞来源及培养 U14宫颈癌细胞株,小鼠U14宫颈癌细胞购自上海中乔新舟(目录号ZQ0948)。细胞培养液用1640培养基含有10%胎牛血清。细胞于T25细胞培养瓶中培养,置于37℃,5%CO₂,饱和湿度细胞培养箱内培养。细胞传至P3代时,取对数生长期细胞进行实验。

1.2 动物 SPF级昆明种雌性小鼠60只,体质量(200±20)g,甘肃中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号SCXK(甘)2015-0002。该实验通过甘肃中医药大学伦理委员会批准,批号2018-114。

1.3 药物与试剂 APS[合肥中龙神力公司,批号20201205,兽药字120152711,以葡萄糖(C₆H₁₂O₆)0.1g(10mL)⁻¹];周期试剂盒(杭州联科生物公司,批号A00114);细胞凋亡双染试剂盒(AnnexinV-FITC/PI,美国BD公司,批号9197303);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)转录试剂盒,荧光实时扩增和定量试剂盒(日本Takara公司,批号分别为AKG1212A,AL12412A);抗体p53, B淋巴

细胞瘤-2蛋白(Bcl-2), Bcl-2相关X蛋白(Bax)和剪切后半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(cleaved Caspase-3)(杭州Hua Biol公司,批号分别为HH0319, HN1019, HNL211, HN0927);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,美国GeneTex公司,批号GTX100118);山羊抗兔辣根酶标记的二抗(美国Immunoway公司,批号RS0002);1640培养基(美国Hyclone公司,批号AF29520450);胎牛血清(以色列BI公司,批号1919555)。

1.4 仪器 FACS Celesta™型流式细胞仪(美国BD公司);Mini Protean Tetra Cell Mini Trans-blot cell型蛋白核酸凝胶电泳转印系统,PowerPac型电泳仪,PowerPac Universal型转膜仪(美国Bio-Rad公司);ChemiDoc-610型蛋白凝胶成像系统(美国UVP公司);SHZ-82型低温高速离心机(德国Eppendorf公司);SKYJH-1112型二氧化碳培养箱(美国Thermo公司);FAXITRON RX-650型X射线辐射仪(美国Faxitron公司)。

2 方法

2.1 模型建立与分组 体外培养U14小鼠宫颈癌细胞,取对数生长期细胞用完全培养基将细胞密度调整为 5×10^6 个/mL,并将其注射接种于昆明小鼠右前肢腋下,每只注射量为0.2 mL,构建宫颈癌皮下荷瘤模型^[12]。以右前肢腋下长出0.1 cm×0.1 cm左右大小瘤体的小鼠为建模成功的宫颈癌荷瘤小鼠。

挑选建模成功的小鼠,游标卡尺测量瘤体积,筛选出瘤体长短径为0.1 cm×0.1 cm左右的模型小鼠进行称质量、编号并随机分为模型组,X射线干预组(IR),APS组,X射线联合APS组(IR+APS组),每组10只。根据人与动物间药物剂量的换算方法^[12],根据前期预实验结果,将APS的注射量设定为0.2 mL。模型组每天腹腔注射生理盐水0.2 mL,每天1次,连续10 d;APS组每天腹腔注射APS 0.2 mL,每天1次,连续10 d;IR组每天腹腔注射0.2 mL生理盐水,每天1次,连续10 d,于第7天给予X射线照射,照射剂量为6 Gy;IR+APS组每天腹腔注射APS 0.2 mL,每天1次,连续10 d,于第7天给予X射线照射。

X射线照射方法,X射线辐照装置,剂量率为 $0.6 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ (100 keV, 5 mA),照射剂量为6 Gy。在小鼠腹腔注射药物30 min后,对小鼠进行5%水合氯醛麻醉,将小鼠放入10 cm厚的定制铅板中进行固定,并确保铅板中的圆孔能基本暴露肿瘤组织。

2.2 一般情况观察 每日观察小鼠活动状态,统计小鼠体质量、进食量和瘤体体积大小变化。计算各组的体质量,进食量和生存率,并进行统计学分析。体质量计算公式=第n天体质量(g)/第1天体质量(g)×100%;瘤体体积计算公式= $0.5 \times \text{长径} \times \text{短径}^2$ 。

2.3 流式细胞术检测宫颈癌细胞周期 于第10天处死各组动物并取材,将肿瘤组织用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后,用组织剪剪碎,并分别通过200目和300目的筛网进行研磨。取研磨后的细胞悬液,加入PBS混匀清洗。通过周期试剂盒对细胞进行PI染色,并通过流式细胞仪检测细胞周期。

2.4 流式细胞术检测宫颈癌细胞凋亡 分别于第9,10天处死各组动物并取材,将肿瘤组织用PBS清洗,用组织剪剪碎,并分别通过200目和300目的筛网进行研磨。取研磨后的细胞悬液,加入PBS混匀清洗后。通过细胞周期试剂盒对宫颈癌组织中细胞进行AV/PI双染,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测凋亡相关蛋白表达 于第10天处死并获取各组小鼠的瘤组织,提取各组小鼠瘤组织中蛋白并定量。各组取蛋白40 μg上样,经5%,12%SDS-PAGE分离,转膜,封闭后,分别与p53, Bax, Bcl-2, cleaved Caspase-3(1:1 000),GAPDH(1:5 000)蛋白相结合,摇床过夜;次日分别与山羊抗兔辣根酶标记的二抗(1:1万)结合反应,ECL发光显色后,凝胶成像系统曝光检测,并采用Quantity One 4.6.2软件对图像进行光密度分析,以GAPDH作内参,结果将目的蛋白条带与内参GAPDH条带的比值作为参照。

2.6 Real-time PCR检测凋亡相关基因表达 于第10天处死并获取各组小鼠的瘤组织,提取各组小鼠瘤组织中RNA并进行浓度测定。以20 μL的体系反转录合成cDNA,并进行实时荧光定量检测,反应条件:95℃预变性1 min,95℃变性10 s;57℃退火20 s;72℃延伸20 s收集荧光,40个循环,溶解曲线制备65~95℃,0.5℃·s⁻¹。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算与β-肌动蛋白(β-actin)标准化后的基因的相对表达水平。引物由日本Takara公司设计与合成。序列见表1。

2.7 统计学分析 应用SPSS 21.0统计软件分析。结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数的比较采用one-way ANOVA,两两比较采用最小显著性差异法(LSD)检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 APS对X射线照射后小鼠一般情况的影响 模型组和APS组小鼠精神状态良好,活动良好,

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'-3')	长度/bp
Bax	上游 CAGGATGCGTCCACCAAGAA	102
	下游 CGTGTCCACGTCAGCAATCA	
Bcl-2	上游 CATTGTCTGGGCCATGAAG	168
	下游 CACCTGGCCCAATCTAGGA	
p53	上游 AACTTACCAGGGCAACTATGGCTTC	132
	下游 AACTGCAGGGCACGTCTTC	
Caspase-3	上游 AGAGACATTCATGGGCCTGAAATAC	143
	下游 CACCATGGCTTAGAATCACACACAC	
β -actin	上游 CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC	171
	下游 ATGGAGCCACCGATCCACA	

毛发出现轻微脱毛;与模型组比较,APS组进食量仅在第9天增加($P<0.05$),IR组小鼠精神状态不佳,活动度减少,缩头,弓背,毛发无光泽,脱毛,消瘦,第8天开始IR组,IR+APS组小鼠进食量均减少($P<0.05, P<0.01$);与IR组比较,IR+APS组小鼠活动度明显增加,缩头、弓背现象减少,第9天开始进食量增加,差异有明显统计学意义($P<0.05$),见表2。

3.2 APS对X射线照射后小鼠体质量的影响 与模型组比较,IR组和IR+APS组在第8天(X射线照射后第1天)开始,体质量持续显著下降($P<0.01$)。与IR组比较,IR+APS组小鼠在X射线照射后体质量明显升高($P<0.05$),从第10天开始体质量有开始回升的趋势。见表3。

表2 APS对X射线照射后的进食量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of APS on food intake of mice after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
模型			17.30±1.90	16.44±1.43	18.67±1.77	15.91±0.94	15.01±1.12
APS	10		17.82±1.37	18.31±0.90	16.57±2.30	15.88±1.78	16.62±2.04
IR		6	16.62±1.77	15.96±1.29	16.25±0.89	16.38±1.04	17.33±2.33
IR+APS	10	6	15.89±1.33	16.67±1.52	16.23±0.80	17.35±2.02	17.11±1.25

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
模型			16.06±1.10	16.80±1.37	17.06±1.86	16.22±2.04	15.97±1.67
APS	10		17.10±1.88	17.12±1.82	16.45±1.35	16.93±1.22 ¹⁾	16.21±1.64
IR		6	16.02±1.68	16.52±1.30	12.19±0.46 ²⁾	10.02±0.73 ²⁾	10.05±0.52 ²⁾
IR+APS	10	6	16.35±0.65	16.24±1.74	13.15±0.88 ²⁾	13.37±1.35 ^{2,3)}	14.07±1.72 ^{1,3)}

注:与模型组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与IR组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.05$ (表3~9同)。

表3 APS对X射线照射后小鼠体质量比值的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of APS on body weight of mice after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	APS /mL·kg ⁻¹	X射线 /Gy	1 d /1 d	2 d /1 d	3 d /1 d	4 d /1 d	5 d /1 d	6 d /1 d	7 d /1 d	8 d /1 d	9 d /1 d	10 d /1 d
模型			100±5	104±5	104±7	108±9	110±10	110±9	111±12	113±12	115±14	118±14
APS	10		100±4	102±4	104±8	105±10	108±10	109±12	110±13	112±15	116±15	116±17
IR		6	100±3	102±4	105±4	106±7	106±8	108±11	113±12	106±5 ²⁾	98±5 ²⁾	99±8 ²⁾
IR+APS	10	6	100±6	104±4	104±6	108±8	110±8	112±11	113±11	106±9 ²⁾	104±5 ^{2,3)}	108±13 ^{2,3)}

3.3 APS对X射线照射后小鼠瘤体积变化的影响

与模型组比较,APS组瘤体积无明显变化,IR组和IR+APS组在第9天(X射线照射后第2天)开始瘤体积显著减小($P<0.01$)。与IR组比较,IR+APS组小鼠在X射线照射后第10天(X射线照射后第3天)瘤体积明显减小($P<0.05$)。见表4。

3.4 APS对X射线照射后小鼠瘤组织中细胞周期的影响 与模型组比较,APS组G₁期比例升高,G₂

期比例降低($P<0.05$),IR组小鼠瘤组织中细胞G₁期比例升高,S期比例降低($P<0.01$),IR+APS组小鼠瘤组织中细胞G₁比例升高,G₂和S期比例降低($P<0.05, P<0.01$);与IR组比较,IR+APS组小鼠瘤组织中细胞G₁期比例差异无统计学意义,G₂期降低,S期升高($P<0.05$)。见表5。

3.5 APS对X射线照射后小鼠瘤组织中细胞凋亡的影响 分别于第9天(X射线照射后第2天)和第

表4 APS对X射线照射后小鼠瘤体积的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
模型			0.001±0.001	0.016±0.001	0.059±0.001	0.078±0.002	0.103±0.009
APS	10		0.001±0.001	0.020±0.002	0.046±0.004	0.073±0.007	0.098±0.007
IR		6	0.001±0.002	0.016±0.003	0.052±0.0064	0.076±0.009	0.084±0.009
IR+APS	10	6	0.001±0.002	0.017±0.004	0.056±0.007	0.069±0.009	0.090±0.010

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
模型			0.196±0.011	0.295±0.028	0.477±0.041	0.683±0.066	0.964±0.093
APS	10		0.176±0.016	0.275±0.051	0.458±0.058	0.625±0.081	0.854±0.106
IR		6	0.183±0.011	0.305±0.031	0.437±0.047	0.443±0.056 ²⁾	0.524±0.084 ²⁾
IR+APS	10	6	0.172±0.031	0.272±0.076	0.407±0.030	0.403±0.053 ²⁾	0.415±0.058 ^{2,3)}

表5 APS对X射线照射后小鼠瘤组织中细胞周期的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	G ₀ -G ₁ 期	S期	G ₂ -M期
模型			22.62±3.13	48.57±5.70	28.81±3.99
APS	10		42.22±4.96 ¹⁾	44.98±2.66	12.80±7.11 ¹⁾
IR		6	60.69±4.01 ²⁾	8.02±5.35 ²⁾	31.29±3.45
IR+APS	10	6	60.86±5.44 ²⁾	18.16±3.92 ^{2,3)}	20.99±4.72 ^{1,3)}

10天(X射线照射后第3天)取材获取瘤组织,与模型组比较,第10天APS组瘤组织细胞凋亡率增加($P<0.05$),第9,10天IR组和IR+APS组小鼠瘤组织中细胞凋亡率增加($P<0.01$);与IR组比较,第9,10天IR+APS组小鼠瘤组织中细胞凋亡率增加($P<0.05$)。见表6,7。

表6 APS对X射线照射后第9天小鼠瘤组织中细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of APS on cell apoptosis in tumor tissues of mice on the 9th day after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=3$)

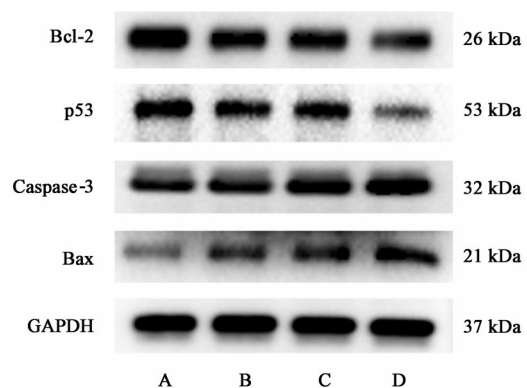
组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	凋亡率/%
模型			4.22±0.61
APS	10		8.52±0.92
IR		6	18.93±1.77 ²⁾
IR+APS	10	6	22.65±3.19 ^{2,3)}

表7 APS对X射线照射后第10天小鼠瘤组织中细胞凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of APS on cell apoptosis in tumor tissues of mice on the 10th day after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	凋亡率/%
模型			5.97±0.72
APS	10		13.44±1.01 ¹⁾
IR		6	23.01±2.54 ²⁾
IR+APS	10	6	27.38±4.17 ^{2,3)}

3.6 APS对X射线照射后小鼠瘤组织凋亡相关蛋白表达的影响 与模型组比较,APS组小鼠瘤组织中促凋亡相关蛋白Bax蛋白表达明显增加,抑凋亡蛋白Bcl-2和p53表达明显减少($P<0.05$),促凋亡相关蛋白cleaved Caspase-3蛋白表达差异无统计学意义,IR组和IR+APS组小鼠瘤组织中促凋亡相关蛋白Bax,cleaved Caspase-3蛋白表达明显增加,抑凋亡蛋白Bcl-2和p53表达明显减少($P<0.05, P<0.01$);与IR组比较,IR+APS组小鼠瘤组织促凋亡相关蛋白Bax表达明显增加,抑凋亡蛋白Bcl-2和p53明显减少($P<0.05, P<0.01$)。见图1,表8。



A. 模型组;B. IR组;C. APS组;D. IR+APS组

图1 APS对X射线照射后小鼠瘤组织凋亡相关蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of APS on expression of apoptosis-related proteins in tumor tissues of mice after X-ray irradiation

表8 APS对X射线照射后小鼠瘤组织凋亡相关蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of APS on expression of apoptosis-related protein in tumor tissues of mice after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	Bcl-2/GAPDH	p53/GAPDH	cleaved Caspase-3/GAPDH	Bax/GAPDH
模型			1.33±0.22	0.87±0.22	0.54±0.19	0.13±0.07
APS	10		0.96±0.11 ¹⁾	0.74±0.21 ¹⁾	0.67±0.07	0.37±0.12 ¹⁾
IR		6	0.65±0.38 ²⁾	0.58±0.11 ²⁾	0.91±0.08 ¹⁾	0.62±0.28 ²⁾
IR+APS	10	6	0.44±0.18 ^{2,3)}	0.24±0.06 ^{2,4)}	1.09±0.16 ²⁾	0.88±0.10 ^{2,3)}

3.7 APS对X射线照射后小鼠瘤组织凋亡相关基因表达的影响 与模型组比较,APS组小鼠瘤组织中促凋亡相关基因Bax,抑凋亡基因Bcl-2和p53无明显变化,差异无统计学意义,Caspase-3 mRNA表达增高($P<0.05$),IR组小鼠瘤组织中促凋亡相关基

因Bax,Caspase-3 mRNA表达明显增加,抑凋亡基因Bcl-2,p53 mRNA表达减少($P<0.05, P<0.01$),IR+APS组小鼠瘤组织促凋亡相关基因Bax,Caspase-3 mRNA表达增加,抑凋亡基因Bcl-2,p53 mRNA表达减少($P<0.01$)。见表9。

表9 APS对X射线照射后小鼠瘤组织凋亡相关基因表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 9 Effect of APS on expression of apoptosis-related genes in mouse tumor tissues after X-ray irradiation ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	APS/mL·kg ⁻¹	X射线/Gy	Bcl-2	p53	Caspase-3	Bax
模型			1.00±0.08	1.00±0.06	1.00±0.10	1.00±0.09
APS	10		0.95±0.17	0.94±0.13	1.27±0.17 ¹⁾	1.21±0.16
IR		6	0.75±0.18 ¹⁾	0.67±0.08 ¹⁾	1.81±0.18 ²⁾	1.69±0.21 ²⁾
IR+APS	10	6	0.40±0.11 ²⁾	0.40±0.15 ²⁾	1.90±0.14 ²⁾	1.77±0.30 ²⁾

4 讨论

放疗是治疗肿瘤的重要手段之一,射线能够直接或间接地损伤癌细胞DNA,并且抑制其快速增殖和转移,而射线引起的癌细胞DNA损伤也会加速细胞凋亡^[13]。放疗是中晚期宫颈癌的重要治疗手段之一^[4],但在临床上放疗对宫颈癌疗效有限,主要原因是宫颈癌细胞对放射线的敏感性较低^[7-8]。因此,提高宫颈癌细胞对放射线的敏感性,对于放疗在宫颈癌的临床应用十分必要。

黄芪多糖是中药黄芪的主要成分之一,在既往研究中,其被广泛应用于抗肿瘤的探索中^[9-11]。在本研究中,与单纯X射线干预比较,连续为宫颈癌模型小鼠给药10 d并联合X射线局部照射后瘤体体积变小,瘤组织中细胞增殖明显更低,且其凋亡率明显升高。在进一步对促进凋亡的蛋白Bax,cleaved Caspase-3和抑制凋亡蛋白p53,Bcl-2在蛋白和mRNA水平进行检测后发现,在联合APS后,瘤组织中凋亡相关蛋白表达明显更高。以上结果均提示APS能够促进X射线照射后宫颈癌细胞的凋亡,同时能抑制其增殖。

此外,相对于单纯X射线干预组,联合APS干预后,小鼠活动度增加,缩头、弓背现象减少,进食量增加,且体质量也更稳定。提示,APS不仅能够增加X射线照射对于肿瘤的敏感性,同时也可以

维持小鼠一般情况的稳定,减轻X射线对机体的不良影响。

综上,本研究认为黄芪注射液能够维持X射线治疗宫颈癌模型小鼠一般状态的稳定,并能够促进肿瘤细胞凋亡,具有增效和减毒的作用。虽然,本研究通过动物实验对这一假设进行的验证,但后期还需进一步对其提高敏感性的机制进行进一步研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-14.

[2] TIMOTEO-LIAINA I, KHOZAIM K, CHEN Y A, et al. The rising relative and absolute incidence of uterine cancer in specific populations [J]. Int J Gynaecol Obstet, 2021, 153(2): 330-334.

[3] BUSKWOFIE A, DAVID-WEST G, CLARE C A. A review of cervical cancer: incidence and disparities [J]. J Natl Med Assoc, 2020, 112(2): 229-232.

[4] YANG J, CAI H, XIAO Z X, et al. Effect of radiotherapy on the survival of cervical cancer patients: an analysis based on SEER database [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(30): e16421.

[5] SMALL W J, BOSCH W R, HARKENRIDER M M, et al. NRG oncology/RTOG consensus guidelines for delineation of clinical target volume for intensity

- modulated pelvic radiation therapy in postoperative treatment of endometrial and cervical cancer: an update [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 109(2):413-424.
- [6] FENG C H, MELL L K, SHARABI A B, et al. Immunotherapy with radiotherapy and chemoradiotherapy for cervical cancer [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2020, 30(4):273-280.
- [7] NAGA CH P, GURRAM L, CHOPRA S, et al. The management of locally advanced cervical cancer [J]. *Curr Opin Oncol*, 2018, 30(5):323-329.
- [8] NAKASONE T, TAIRA Y, SHIMOJI Y, et al. Hysterectomy for recurrent/residual cervical cancer following definitive radiotherapy [J]. *In Vivo*, 2020, 34(4):2173-2177.
- [9] 秦勤. 替吉奥联合黄芪多糖注射液对头颈部肿瘤放疗的增效作用 [J]. *医学理论与实践*, 2021, 34(14):2449-2451.
- [10] 张树聪, 蔡治祥, 王学涛, 等. 黄芪多糖对人鼻咽癌 CNE-1 细胞的放疗增敏及上皮间质转化的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(20):59-66.
- [11] 杨晓岚. 黄芪多糖注射液联合放疗对胃癌患者的疗效观察 [J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29(1):66-70.
- [12] 舍雅莉, 赵晓文, 李俊杰, 等. 敦煌平胃丸及其拆方对 SCG-7901 胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用及对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(5):70-76.
- [13] CITRIN D E. Recent developments in radiotherapy [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(11):1065-1075.
- [责任编辑 张丰丰]

· 书讯 ·

重症急性胰腺炎患者采用早期肠内营养治疗的作用 ——评《重症急性胰腺炎临床新技术》

重症急性胰腺炎的治疗一直是临床工作上的难点,因其发病急,伴随并发症和病死率较高。重症急性胰腺炎加重的因素是体内大量细胞坏死及酶释放,突发全身感染或残余感染毒素至休克,化学性腹膜炎,腹膜大量渗出等,造成肠麻痹和电解质出现紊乱。有关资料表明,重症急性胰腺炎患者导致多器官功能衰竭的机率较高。近年来随着对该病的深入研究,重症急性胰腺炎患者采用合理的早期肠内营养,具有一定的可行性。

《重症急性胰腺炎临床新技术》张圣道主编,由人民军医出版社2002年出版。本书系统的介绍了重症急性胰腺炎诊治方案,涉及外科、重症监护、营养支持及影像学等多学科相结合的综合诊疗体系。全书不仅涵盖对基础理论和临床进展的分析,还着重对新技术的临床应用进行阐述,该书共分二十三章,包括急性胰腺炎(AP)病理学、胰腺炎的超声诊断、重症急性胰腺炎的手术与非手术治疗、重症急性胰腺炎诊治方案等内容。第一章为胰腺外科解剖学,阐述了急性胰腺炎解剖学知识;第二章为急性胰腺炎病理学的内容;第三章对重症胰腺炎和细胞因子的关系进行探讨,促炎症细胞因子在该疾病中的重要性;第四章至第五章则根据发病机制和疾病演变过程进行描述,分析了重症急性胰腺炎的三次演变病程,主要是急性反应期、全身感染期、残余感染期;第六章至第八章介绍了重症急性胰腺炎的诊断技术,分别为计算机断层扫描与磁共振成像(MRI)是诊断AP的新技术,对轻症急性胰腺炎(MAP)、重症急性胰腺炎(SAP)及局部并发症均有很好的诊断及超声诊断和实验室检查技术;第九章实用性较强,适合广大医师阅读,通过对重症胰腺炎的临床诊断要点,将疾病的严重程度分级进行细致化表述;第十章概述了内镜治疗急性胰腺炎患者的意义与重要性;第十一章对急性胰腺炎患者的营养支持,针对肠外和肠内营养支持的选择与应用作了详细分析,重点论述了谷氨酰胺和生长抑素对急性胰腺炎患者的临床意义和应用;第十二章研究了急性胰腺炎由浅入深的个体化治疗;第十三章至第十六章侧重对胰腺炎的治疗进行概述,包括非手术治疗、手术治疗和外科治疗;第十七章为胰腺外科与引流技术的相关内容,反映了目前临床上对胰腺外科疾病的重视与关注;第十八章至第十九章的内容是短时血液滤过对重症胰腺炎的治疗及诊疗方案讨论,第二十章至第二十一章对急性胰腺炎并发症的防治展开描述;第二十二章概括了重症急性胰腺炎并发深部真菌感染的危害与诊治措施;第二十三章作为全书结尾的章节部分,早期肠内营养应用在重症胰腺炎患者中,有利于改善营养不良,做到直接给予肠道黏膜营养,避免肠道黏膜出现萎缩,达到肠道屏障功能的正常,有效改善肠黏膜血流灌注状态,促进肠道蠕动。进而调整患者的免疫功能,使体内炎症因子水平下降,改善患者症状及预后性。总之,肠内营养对肠道功能具有显著保护作用,可有效使患者腹痛状态得到缓解,从而加快患者的康复。由于患者重症急性胰腺炎早期出现全身性炎症反应,机体代谢状态加快,导致身体出现极度营养不良,给予营养支持对病情恢复具有积极意义。肠外营养对患者肠道屏障功能会有不利,会破坏黏膜及菌群稳固状态,有加重肠源性感染的可能性。营养素的功效是维持肠道功能,与肠黏膜作用能提供肠黏膜代谢所需营养物质,缓解肠黏膜氧化损伤现象。

《重症急性胰腺炎临床新技术》一书,在早期肠内营养在重症急性胰腺炎治疗中具有临床应用价值,对重症急性胰腺炎患者来说,有利于促进预后效果,有效降低肠源性感染指标,加快病情恢复速度。是顺应现代医学发展的形势与状况,结合临床工作实践汇总的胰腺炎治疗新技术,提高广大医师汲取新知识的能力,可供胰腺外科及医学专业的学者阅读参考。

(作者王卿,武汉市蔡甸区人民医院,武汉 430100)