西黄丸含药血清经 Wnt 信号转导通路细胞周期蛋白 D1 调控人肺癌干细胞增殖的机制

肖桦*,秦旭华,赖宇,金沈锐,赖莉
(成都中医药大学,成都 610075)

[摘要] **目的**:研究西黄丸含药血清经 Wnt 信号转导通路关键蛋白细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)调控人肺癌干细胞增殖的机制。**方法**:10 只日本大耳白兔随机分为 5 组,西黄丸浸出液高、中、低剂量组按 32,16,8 $g·kg^{-1}·d^{-1}$ ig,空白组给以等量生理盐水 ig;环磷酰胺(CTX)组按 7.5 $mg·kg^{-1}·d^{-1}$ ip,各组连续给药 3 d 后腹主动脉采血,离心,获得含药血清。体外培养人肺腺癌细胞系(LAC),应用流式细胞荧光激活(FACS)技术,筛选鉴定具干细胞特性的 SP 细胞(side population cells)。50 只 C57BL/6 小鼠分西黄丸高、中、低剂量组, CTX 组,模型组 5 组,SP 细胞以培养基稀释调整瘤细胞密度 1×10^7/mL,于每只小鼠右腋皮下接种 0.2 mL 瘤细胞悬液,每组分别给予西黄丸药液 32,16,8 $g·kg^{-1}·d^{-1}$ ig,等量生理盐水 ig 和 CTX 7.5 $mg·kg^{-1}·d^{-1}$, ip,连续 14 d,处死小鼠,剥取瘤块称瘤重,并计算抑瘤率。SP 细胞密度调至 2×10^6/mL,分别种入培养瓶,设西黄丸高、中、低剂量组, CTX 组,空白组 5 组,分别加入如前所述制备的各组血清(血清、培养液体积比 30%),培养 24 h 后上流式细胞仪检测各组细胞周期。按同样方法制备 5 组 SP 细胞,加入各组含药血清培养 24 h 后用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法和蛋白印迹(Western blot)法分别检测 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达。**结果**:与模型组相比, 西黄丸高、中剂量组和 CTX 组瘤重明显降低($P<0.01$);与空白组 30% 血清比较,西黄丸高、中剂量 30% 含药血清组和 CTX 30% 含药血清组 G_1 期细胞数量比例明显增高,S 期、G_2 期细胞数量比例明显减少($P<0.05$);与空白组 30% 血清比较,西黄丸高、中剂量 30% 含药血清组及 CTX 30% 含药血清组 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达均明显低于空白血清组 ($P<0.05$,$P<0.01$)。**结论**:西黄丸可通过抑制 Wnt 信号通路中关键蛋白 Cyclin D1 表达,阻止肺癌干细胞从 G_1 向 S 期转化,从而达到抑制肺癌细胞增殖的作用。

[关键词] 西黄丸; 肺癌干细胞; Wnt 信号通路; 细胞周期蛋白 D1
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)15-0172-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150172

[收稿日期] 20140410(013)
[基金项目] 四川省教育厅科研项目(12ZB025)
[通讯作者] * 肖桦,硕士,讲师,从事中医药抗肿瘤研究工作,Tel:13679005519,E-mail:892155473@qq.com

[3] 张亚宏,郭敬功,郭子华,等. 白藜芦醇通过激活 p38-p53 通路诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡[J]. 药学学报,2011,46(11):1332.
[4] 黄春芳,牛建昭,王继峰,等. 白藜芦醇影响 OVCAR3 细胞生长并通过活化 caspase-3 诱导细胞凋亡的研究[J]. 北京中医药大学学报,2009,32(10):683.
[5] 赵鸿宾,陈华国,周欣,等. 虎杖中白藜芦醇的提取工艺[J]. 华西药学杂志,2010,25(1):85.
[6] 吴孟超. 中医药在肝癌防治中的作用、地位和存在的问题[J]. 中西医结合学报,2003,1(3):163.
[7] Ozkan O V, Yuzbasioglu M F, Ciralik H, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. [J]. Tohoku J Exp Med,2009,218(3):251.
[8] Adhami V M, Afaq F, Ahmad N. Involvement of the retinoblastoma (p-Rb)-E2F/DP pathway during antiproliferative effects of resveratrol inhuman epidermoid carcinoma (A431) cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001,288(3):579.
[9] Kundu J K, Surh Y J. Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: mechanistic perspectives[J]. Cancer Letters, 2008,269(2):243.
[10] Goswami S K, Das D K. Resveratrol and chemoprevention[J]. Cancer Lett,2009,284(1):1.
[11] Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials [J]. Cancer Prev J Portal,2009,2(5):409.
[12] 曾斌,李胜昔,曹文涛,等. 白藜芦醇体外对肝癌 HepG-2 细胞分化及 P21WAF/CIPI表达的影响[J]. 中国现代医学杂志,2010,20(8):1130.
[13] 张力,龚明玉,李毅学,等. 放疗联合热疗诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡及其与 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达关系的研究[J]. 中国全科医学,2011,14(20):627.
[14] Hyun J H,Kim S C,Kang J I,et al. Apoptosis inducing activity of fucoidan in HCT-15 colon carcinoma cells [J]. Biol Pharm Bull,2009,32(10):1760.

[责任编辑 聂淑琴]

Containing Xihuang Pill Drug Serum Regulates Growth of Lung Cancer Stem Cells by Controlling Cyclin D1 of Wnt Signaling Pathway

*XIAO Hua**, *QIN Xu-hua*, *LAI Yu*, *JIN Shen-rui*, *LAI Li*
(*Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*, *Chengdu* 610075, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To study the mechanism of regulating the growth of the lung cancer stem cells containing by Xihuang pill drug serum. **Method**: Ten rabbits were divided 5 groups, the therapeutic dose of 32, 16, 8 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ ig of Xihuang pill liquid and 7.5 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ ip of cyclophosphamide (CTX) were given. Drug serum of rabbits were prepared. Side population cells (SP cells) of the human lung adenocarcinoma cells (LAC) were sorted by Fluorescence-activated cell sorting assay (FACS). Fifty C57BL/6 mice were divided model group, Xihuang pill low, middle and high-dose group, and the CTX group. SP cells were regulated to 1×10^7/mL and sc, Xihuang pill liquid (32, 16, 8 $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, ig) and CTX (7.5 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, ip) were given lasted 2 weeks. Then the tumors were weighted for calculating the tumor growth inhibition rate. SP cells were regulated to 2×10^6/mL and put into 5 culture bottles, divided into control group, Xihuang pill low, middle and high-dose groups, and the CTX group. Drug serum of groups were put into corresponding SP cells (drug serum occupies 70% of cell medium). The cell cycle was analyzed by flow cytometry (FCM). In the same way, SP cells were affected by drug serum of groups and the expression of Cyclin D1 mRNA and protein was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. **Result**: The Xihuang pill middle, high-dose group and CTX group significantly inhibited tumors of all groups, compared with the control group ($P < 0.01$). Cells in G_1 phase of the Xihuang pill middle, high-dose group and CTX group increased, cells in G_2 phase and S phase of the Xihuang pill middle, high-dose group and CTX group decreased ($P < 0.05$). The Xihuang pill middle and high-dose group could regulate down the expression of Cyclin D1 mRNA and protein compared with the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion**: Xihuang pill could down-regulate the expression of Cyclin D1of lung cancer stem cells. It could prevent their G_1 period turning into S period, so as to block the growth of lung cancer cells.

[**Key words**] Xihuang pill; lung cancer stem cells; Wnt signaling pathway; cyclinD1

肺癌的治疗常因癌细胞的复发和转移而疗效欠佳,多年来是困扰肺癌治疗领域的难题。肺癌难根治、易复发是由于癌组织内存在具有极强自我更新和分化能力的肺癌干细胞[1],因此,作为调控肺癌干细胞增殖的重要信号通路,Wnt 信号转导通路的研究成为当前肿瘤研究的热点。最新研究表明,Wnt 信号转导通路不恰当激活,可促进肺癌干细胞活跃增殖成为肺癌细胞[2]。西黄丸是临床常用抗肿瘤经典方药,国内大量临床文献报道及疗效实验研究显示,西黄丸可有效抑制肺癌细胞的生长[3-4]。在西黄丸治疗肿瘤的作用机制研究领域,笔者项目组前期对其作用机制的研究发现西黄丸能通过阻滞肿瘤细胞的细胞周期延缓肿瘤细胞增殖[5],也可抑制肿瘤细胞分泌血管内皮生长因子(VEGF)及基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9),抗肿瘤血管生成和抗肿瘤转移[6];但西黄丸是否经由肺癌干细胞的 Wnt 信号转导通路调控肺癌干细胞增殖从而控制肺癌细胞生长这一机制研究领域目前国内尚无报道,不利于这一传统抗肿瘤经典方药的进一步应用和开发。本实验即从肺癌干细胞增殖调控这一全新角度出发,在已有研究基础上,将西黄丸作用机制与调节肺癌干细胞增殖机制这一最新热点研究领域相结合,从肿瘤干细胞层面研究西黄丸经 Wnt 信号转导通路调控肺癌干细胞增殖、从而治疗肺癌的最新作用机制。

1　材料

1.1　动物与细胞系　日本大耳白兔(3.5 ~ 4 月龄,体重 2.0 ~ 2.4 kg)10 只,雌雄各半;BALB/c 裸鼠(5 ~ 6周龄,15 ~ 20 g)30 只,雌雄各半,在无特定病原体(SPF)条件下饲养;C57BL/6 小鼠(6 ~ 8 周龄,

18～25 g)50 只,雌雄各半,均购自四川大学实验动物中心,许可证号 SCXK(川)2009;人肺腺癌细胞系 LAC,购自中国科学院上海生命科学院细胞库。

1.2 药物 西黄丸(通化金马药业集团股份有限公司,批号 12010052)。西黄丸高、中、低剂量组的动物每日每千克体重用药量分别约相当于成人每日每千克体重用药量的 24,12,6 倍, 给药剂量分别为 32,16,8 $g\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$,剂量换算参考文献[7]方法。药物制备:清水漂洗干燥后放入超微粉碎机,过 300 目筛, 取超微细末 80,40,20 g, 分别浸入 3 个装有 50 mL 蒸馏水的烧杯中, 置于超声波水槽中,30 min 后取出,密封,即为西黄丸高、中、低剂量组用药;环磷酰胺(CTX)注射液(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 H32020857),生理盐水稀释至质量浓度为 0.3 $g\cdot L^{-1}$溶液, 给药剂量 7.5 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$。

1.3 试剂 RPMI1640 培养基(美国 Gibco 公司,批号 815654), 胎牛血清(美国 Gibco 公司, 批号 12877-153),0.25% 胰酶-EDTA(美国 Gibco 公司,批号 1055271),DMEM 培养基(美国 Gibco 公司,批号 693112),DL 2000 Marker(大连宝信生物工程有限公司,批号 CB5277),电泳琼脂糖(Sigma 公司,批号 00124901),RNA 提取试剂盒 Trizol (Invitrogen 公司,规格 100 mL,批号 1312825)。

1.4 仪器 FACSAria 型流式细胞仪(美国 BD),Scientific Series 8000 型 CO_2 培养箱(美国 Thermo),5810R 型台式冷冻离心机(德国 Eppendorf), PCR 仪(德国 Sensoqvest),BIO-RAD550 型酶标仪 (美国 BIO-RAD 公司),显微摄像装置(日本 Olympus 公司),SW-CJ-2F 型超净工作台(苏州净化)。

2 方法

2.1 肺癌干细胞筛选与鉴定 培养人肺腺癌细胞系 LAC,应用流式细胞荧光激活(FACS)技术,分选具干细胞功能的 SP 细胞亚群,并通过 MTT 法、体外克隆形成试验和体内成瘤试验、细胞分化实验以及流式细胞仪分析分析细胞周期等实验方法鉴定 SP 细胞的干细胞功能,具体方法参考文献[8-9]。

2.2 动物模型建立、分组与含药血清制备 将日本大耳白兔随机分为西黄丸高剂量组、中剂量组、低剂量组, 环磷酰胺(CTX)对照组、空白组、5 组(依次简称为高剂量组、中剂量组、低剂量组、CTX 组、空白组,以下同), 每组 2 只,用制备好的不同浓度西黄丸药液分别按高、中、低剂量 32,16,8 $g\cdot kg^{-1}$ 每日 ig 4 mL,空白组给以等量生理盐水 ig;环磷酰胺(CTX)组将 CTX 注射液生理盐水稀释至 0.3 $g\cdot L^{-1}$, 按剂量 7.5 $mg\cdot kg^{-1}$每日 ip 10 mL,各组连续给药 3 d 后禁食,于第 4 日最后 1 次 ig 后 1 h 与其他组白兔一起腹主动脉采血,2 000 $r\cdot min^{-1}$离心 10 min,合并同组动物血清,0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌, −20 ℃保存,使用时以 1640 培养基稀释,具体制备过程参照文献[7]。

2.3 观察指标及检测方法

2.3.1 各组 C57BL/6 小鼠体内成瘤抑瘤率测定 50只 C57BL/6 小鼠分西黄丸高、中、低剂量组,CTX 组,模型组 5 组,SP 细胞以培养基稀释调整瘤细胞密度 1×10^7/mL, 于每只小鼠右腋皮下接种 0.2 mL 瘤细胞悬液,每组分别按西黄丸药液高、中、低剂量 32,16,8 $g\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ ig,模型组给以等量生理盐水 ig,CTX 组按 7.5 $mg\cdot kg^{-1}$剂量每日 0.5 mL ip,连续给药 14 d,观察到腋下肿瘤形成明显,末次给药后次日颈椎脱臼处死小鼠, 完整剥取瘤块, 称瘤重, 计算抑瘤率。

抑瘤率 = [1 − (实体瘤组平均瘤重/空白组平均瘤重)] ×100%

2.3.2 流式细胞仪检测肺癌干细胞细胞周期 SP 细胞分为西黄丸高、中、低剂量组,CTX 组,空白组 5 组,细胞密度调至 2×10^6/mL,分别种入 5 个 100 mL 培养瓶,每瓶 10 mL 细胞悬液,再分别加入上述各组含药血清及空白组兔血清,使血清、培养液体积比为 30%,37 ℃ 5% CO_2 的培养箱内培养 24 h 后,将培养细胞用 0.25% 的胰蛋白酶消化,加培养基用吸管将细胞从瓶壁上轻轻吹打下来,并移入离心管中,1 000 $r\cdot min^{-1}$离心 5 min 弃上清, 4 ℃预冷的 PBS 液洗 2 次,在离心管中留 1 mL PBS 液打散细胞团,加入 Rnase (10 $g\cdot L^{-1}$),37 ℃ 置1 h,加碘化丙啶(100 $mg\cdot L^{-1}$),室温避光染色 30 min,每组细胞取 10 份样品,每份样品计数 10 000 个细胞,上流式细胞仪检测各组细胞周期。

2.3.3 肺癌干细胞 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达的检测 SP 细胞分组及各组药物血清干预同 **2.3.2** 步骤,各组细胞加入含药血清后 37 ℃ 5% CO_2 的培养箱内培养 24 h 后,收集各组细胞,每组细胞悬液分为 20 份,10 份样品进行 Cyclin D1 mRNA 检测,10 份样品进行 Cyclin D1 蛋白表达检测。按照 RNA 抽提试剂盒说明书提取总 RNA, 以 β-actin 作为内参照。RT-PCR 引物由 Invitrogen 公司设计并合成,SLAN 实时荧光定量 PCR 仪扩增 Cyclin D1 基因。反应完成后在软件系统中调整基线和阈值, 读出各反应孔 *Ct* 值,计算变化倍率,比较基因表达水平差异。

变化倍率 $=2^{-\Delta\Delta Ct}$

$\Delta\Delta Ct=$（Ct 目的基因 $-Ct$ 内参基因）$-$（Ct 阴性对照 $-Ct$ 内参基因）

采用 Western blot 法，应用 Bandscan 5.0 图像分析软件，结果以测定的 Cyclin D1 蛋白条带的积分吸光度与内参蛋白条带的吸光度对比来表示肺癌细胞 Cyclin D1 蛋白量的相对表达水平。

2.4 统计学处理方法　应用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析，各组数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间及组内分别采用方差分析比较，$P<0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对肺癌干细胞在 C57BL/6 小鼠体内成瘤瘤重与抑瘤率的影响　实验结果显示，除西黄丸低剂量组外，其他各组抑瘤率均在 43% 以上，可明显抑制肿瘤生长。与模型组相比，除西黄丸低剂量组外，其余各组瘤重均有统计学差异（$P<0.01$）；西黄丸中剂量组与 CTX 组瘤重比较，差异有统计学意义（$P<0.05$），西黄丸高剂量组与 CTX 组之间瘤重无统计学差异，见表 1。

表 1　西黄丸对肺癌干细胞 C57BL/6 小鼠体内成瘤瘤重与抑瘤率的影响（$\bar{x}\pm s,n=10$）

组别	剂量 /g·kg^{-1}	瘤重 /g	抑瘤率 /%
模型	–	2.51 ± 0.67	–
西黄丸	8	2.13 ± 0.44	17.01
	16	1.42 ± 0.35$^{1,2)}$	43.81$^{1)}$
	32	1.09 ± 0.31$^{1)}$	54.72$^{1)}$
环磷酰胺	7.5 × 10^{-3}	0.87 ± 0.30$^{1)}$	61.03$^{1)}$

注：与模型组比较$^{1)}$ $P<0.01$；与环磷酰胺组比较$^{2)}$ $P<0.05$。

3.2 对人肺癌干细胞细胞周期的影响　加药后 24 h 流式细胞仪检测各组细胞周期。与空白组比较，可见西黄丸高剂量、中剂量组和 CTX 含药血清组 G_1 期细胞数量比例明显增高，S 期、G_2 期细胞数量比例减少（$P<0.05$），且西黄丸含药血清中药物浓度与 G_1 期细胞数量比例呈正相关变化，见表 2。

表 2　西黄丸含药血清对肺癌干细胞细胞周期的影响（$\bar{x}\pm s,n=10$）　%

组别	剂量/g·kg^{-1}	血清终体积 /%	周期 G_1	周期 S	周期 G_2
空白	–	30	51.66 ± 1.98	36.55 ± 1.82	11.01 ± 0.35
西黄丸	8	30	52.31 ± 2.51	36.77 ± 1.70	9.57 ± 0.81
	16	30	61.98 ± 2.07$^{1)}$	30.04 ± 2.16$^{1)}$	2.33 ± 0.64$^{1)}$
	32	30	66.74 ± 2.81$^{1)}$	27.78 ± 1.25$^{1)}$	1.58 ± 0.57$^{1)}$
环磷酰胺	7.5 × 10^{-3}	30	74.01 ± 3.01$^{1)}$	23.96 ± 1.13$^{1)}$	0.96 ± 0.61$^{1)}$

注：与空白组比较$^{1)}$ $P<0.05$。

3.3 各剂量组药物血清对人肺癌干细胞 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达的影响　结果显示：与空白 30% 血清组比较，西黄丸 30% 高、中剂量组含药血清及 CTX 组含药血清肺癌干细胞 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达均低于空白组（$P<0.05$，$P<0.01$），且随剂量增加，有逐渐递减的趋势，药物剂量与 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达呈负相关关系，西黄丸低剂量组与空白组比较，差异无统计学意义，见表 3，图 1。

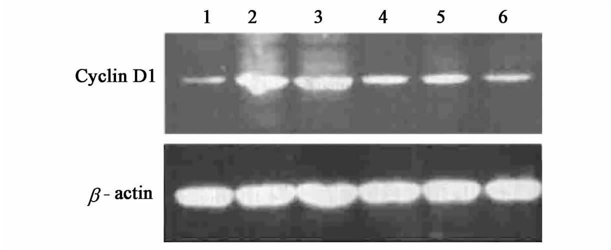
表 3　西黄丸含药血清对肺癌干细胞 Cyclin D1 mRNA 及蛋白相对表达量的影响（$\bar{x}\pm s,n=10$）

组别	剂量 /g·kg^{-1}	血清终体积/%	Cyclin D1 mRNA	Cyclin D1 蛋白
空白	–	30	2.75 ± 0.41	0.94 ± 0.28
西黄丸	8	30	1.85 ± 0.12	0.61 ± 0.27
	16	30	1.77 ± 0.05$^{1)}$	0.50 ± 0.19$^{1)}$
	32	30	1.39 ± 0.11$^{2)}$	0.41 ± 0.24$^{2)}$
环磷酰胺	7.5 × 10^{-3}	30	1.24 ± 0.12$^{2)}$	0.35 ± 0.18$^{2)}$

注：与空白组比较$^{1)}$ $P<0.05$，$^{2)}$ $P<0.01$。

4 讨论

西黄丸出自清代王洪绪所著的《外科全生集》，为治疗"乳岩"、"瘰疬"、"痰核"、"肺痈"之经典复方中药，由牛黄、麝香、乳香、没药 4 味中药组成，主要功效是活血化瘀、消坚化结、解毒散痈。国内有大量西黄丸的临床疗效文献报道，笔者项目组前期对其作用机制的研究验证了它有抑制 T24，HL-60，A549 等诸多肿瘤细胞株增殖的作用，并发现它能通过阻滞肿瘤细胞的细胞周期延缓肿瘤细胞增殖，但更进一步的机制研究近年来少有报道。Wnt 信号转导通路是近年来研究最多的调控肿瘤细胞增殖的信号通路之一，Lu 等对基因表达谱进行信号通路分析研究显示，只有 Wnt 信号通路与肺癌干细胞密切相关[10]。Koch 等在研究中发现，Cyclin D1 是 Wnt 通路中控制细胞自 G_1 期进入 S 期的关键调控因子之



1. 空白组;2. 模型组;3. 西黄丸 8 g·kg^{-1}组;4. 西黄丸 16 g·kg^{-1}组;5. 西黄丸 32 g·kg^{-1}组;6. 环磷酰胺 0.007 5 g·kg^{-1}组

图 1 西黄丸对肺癌干细胞 Cyclin D1 蛋白表达的影响

一,正常细胞增殖周期分为间期与分裂期,其中间期包括 G_1 期的 DNA 合成前期、S 期的 DNA 合成期与 G_2 期的 DNA 合成后期,Cyclin D1 在正常细胞胞膜上无表达或极少量表达,而它一旦在肺癌干细胞中表达激活,即可促进肺癌干细胞从 G_1 向 S 期转换,加速肺癌细胞增殖[11],故只要能抑制 Cyclin D1 的因素都可阻滞肺癌干细胞的增殖停留于 G_1 期,从而抑制肺癌细胞的生长。

本实验在已有研究基础上,将西黄丸作用机制与调节肺癌干细胞增殖机制这一最新热点研究领域相结合,从肿瘤干细胞层面研究西黄丸经 Wnt 信号转导通路调控肺癌干细胞增殖、从而治疗肺癌的新作用机制。实验通过不同剂量西黄丸干预肺癌干细胞,分别采用 RT-PCR 和 Western blot 法检测肺癌干细胞中 Cyclin D1 mRNA 和蛋白表达水平。结果显示与模型组相比,西黄丸高、中剂量组和 CTX 组瘤重明显低于模型组($P<0.01$);与空白组比较,西黄丸高、中剂量组和 CTX 组 G_1 期细胞数量比例显著增高,S 期、G_2 期细胞数量比例显著减少($P<0.05$),且 3 组肺癌干细胞的 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达均低于空白组($P<0.05$, $P<0.01$)。因此,笔者认为,西黄丸可通过抑制 Wnt 信号通路中关键蛋白 Cyclin D1 的表达,阻止肺癌干细胞从 G_1 期向 S 期转化,从而达到抑制肺癌细胞增殖的治疗作用。复方中药抗肿瘤作用的发挥具有多途径、多靶点的特点,这使得复方中药的研究多停留在药效学阶段,其深入的作用机制及具体作用靶点研究成果较少,此次研究在肺癌干细胞层面验证了西黄丸在其 Wnt 信号通路上的作用靶点 Cyclin D1 和调控机制,可为临床更好运用抗肿瘤复方中药及新药开发提供理论依据。

[参考文献]

[1] Cortes-Dericks L, Galetta D, Spaggiari L, et al. High expression of octamer-binding transcription factor 4A, prominin-1 and aldehyde dehydrogenase strongly indicates involvement in the initiation of lung adenocarcinoma resulting in shorter disease-free intervals [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2012, 41(6):e173.

[2] Rodini C O, Suzuki D E, Saba-Silva N, et al. Expression analysis of stem cell-related genes reveal OCT-4 as a predictor of poor clinical outcome in medulloblastoma[J]. J Neurooncol, 2012, 106(1):71.

[3] 何欣,黄立中.犀黄丸临床应用及实验研究进展[J].湖南中医药导报,2003,9(4):82.

[4] 郭卉,田菲贾,文娟,等. 西黄丸联合化疗治疗中晚期非小细胞肺癌临床观察[J].中国中医急症,2008,17(1):22.

[5] 金沈锐,祝彼得,秦旭华,等. 西黄丸对人肝癌细胞 SMMC7721 及小鼠宫颈癌细胞 U14 周期的影响[J].时珍国医国药,2007,18(11):2782.

[6] 金沈锐,张新胜,祝彼得,等. 西黄丸对肝癌细胞 SMMC7721 分泌的血管内皮生长因子及基质金属蛋白酶 2,9 的影响[J].中成药,2014,30(7):1079.

[7] 郭雄明,薛霞,谢忠忱,等.兔血清制备及兔来源细胞培养实验[J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22(4):10.

[8] Ricci-Vitiani L, Lombardi D G, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells[J]. Nature, 2007, 445(7123):111.

[9] Eramo A, Lotti F, Sette G, et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population[J]. Cell Death Differ, 2008, 15(3):504.

[10] Luo F K, Zhao Z G, Zhao W P, et al. Analysis of the different gene expression profiles between lung adenocarcinoma stem cells and normal lung stem cells with cDNA microarrays[J]. Chin J Blood Transfusion, 2009, 22(4):269.

[11] Koch U, Krause M, Baumann M. Cancer stem cells at the cross-roads of current cancer therapy failures-Radiation oncologyspective [J]. Emin Cancer Bio, 2010, 20(2):116.

[责任编辑 聂淑琴]