

# 芪蟾口服结肠靶向片中有效组分联合 5-FU 对 结肠癌移植瘤小鼠的干预治疗

贾燕丽, 唐晓霞, 宋霄宏\*  
(浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

**[摘要]** **目的:**探讨芪蟾口服结肠靶向片中有效组分(ECOQCOT)联合5-氟尿嘧啶(5-FU)干预治疗对小鼠CT26结肠癌移植瘤的作用,及对小鼠外周血中T淋巴细胞亚群和移植瘤组织中凋亡相关蛋白表达的影响。**方法:**建立CT26结肠癌细胞小鼠皮下移植瘤模型,随机分为模型组,提前干预组,同步干预组,延后干预组,5-FU治疗( $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组,ECOQCOT治疗( $22\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组。绘制各组小鼠移植瘤生长曲线,计算抑瘤率;流式细胞术检测外周血中T淋巴细胞亚群表达;免疫组化法检测各组移植瘤组织中B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达。**结果:**提前干预组,同步干预组,延后干预组,5-FU治疗组,ECOQCOT治疗组抑瘤率分别为43.63%,34.35%,31.12%,26.91%,18.67%。与模型组比较,各用药组 $\text{CD3}^+$ , $\text{CD4}^+$ , $\text{CD8}^+$ 细胞比例及 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 均升高,其中提前干预组和同步干预组 $\text{CD3}^+$ , $\text{CD4}^+$ , $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 均显著高于模型组( $P < 0.01$ )。免疫组化结果显示,与模型组比较,提前干预组、同步干预组Bax蛋白表达明显升高( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ );提前干预组,同步干预组,延后干预组,5-FU组Bcl-2蛋白表达均明显降低( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。**结论:**各ECOQCOT联合5-FU组抑瘤作用明显强于单一5-FU组和单一ECOQCOT组,并以提前干预组抑瘤作用最强;其机制可能与增强机体的免疫功能和诱导肿瘤细胞凋亡有关。

**[关键词]** 芪蟾口服结肠靶向片中有效组分;5-氟尿嘧啶;结肠癌;T淋巴细胞;凋亡

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0132-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016210132

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0934.066.html>

**[网络出版时间]** 2016-09-06 9:34

## Effect of Effective Components of Qi-toads Colon-specific Oral Tablets Combined with 5-FU on CT26 Tumour-bearing Mice

JIA Yan-li, TANG Xiao-xia, SONG Xiao-hong\*  
(College of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University,  
Hangzhou 310053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of effective components of Qi-toads colon-specific oral tablets (ECOQCOT) combined with 5-fluorouracil (5-FU) on CT26 colon carcinoma transplanted tumors, and investigate the T-lymphocyte levels in the peripheral blood and the protein expression of related apoptosis regulatory factors in tumour tissues. **Method:** Subcutaneous transplanted tumor models were established in CT26 tumour-bearing mice, and then were randomly divided into model group, early intervention group, synchronous intervention group, delayed intervention group, 5-FU group ( $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and ECOQCOT group ( $22\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). The growth curves of transplanted tumors were drawn and tumour inhibition rate was calculated in each group. the T-lymphocyte levels in the peripheral blood were detected by flow cytometry, the protein expressions of Bax and Bcl-2 were detected by immunohistochemical staining. **Result:** The tumour inhibition rate was 43.63%, 34.35%, 31.12%, 26.91% and 18.67% respectively in early intervention group, synchronous intervention group, delayed

**[收稿日期]** 20160122(020)

**[基金项目]** 浙江省科技厅公益性技术应用研究计划项目(2013C33179)

**[第一作者]** 贾燕丽, 硕士, 从事中药新药及中药质量标准研究, Tel: 15990094858, E-mail: yanlijia0607@126.com

**[通讯作者]** \* 宋霄宏, 研究员, 从事中药新药及中药质量标准研究, Tel: 0571-86613524, E-mail: songxiaohong999@163.com

intervention group, 5-FU group and ECOQCOT group. As compared with the model group, the percentage of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T cells and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> were increased in all treatment groups, and the above indexes in early intervention group and synchronous intervention group were significantly increased ( $P < 0.01$ ). The results of immunohistochemical staining showed that the protein expressions of Bax in early intervention group and synchronous intervention group were significantly higher than those in model group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the protein expressions of Bcl-2 in early intervention group, synchronous intervention group, delayed intervention group and 5-FU group were significantly lower than those in model group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** ECOQCOT combined with 5-FU had stronger inhibiting effects on CT26 tumours than the single 5-FU group or single ECOQCOT group, and the early intervention group had the strongest inhibiting effects, the mechanism might be related with enhancing immune function and inducing the apoptosis of tumour cells.

[ **Key words** ] effective components of Qi-toads colon-specific oral tablets; 5-fluorouracil; colon carcinoma; T-lymphocyte; apoptosis

结肠癌是常见消化道恶性肿瘤,在我国,随着经济发展、饮食结构和生活方式的改变,结肠癌的发病率和死亡率呈上升之势<sup>[1]</sup>。肿瘤的发生、发展及预后是多因素参与的过程。中药复方联合化疗药已成为临床治疗肿瘤的重要手段之一,已有文献报道,中药或中药与化疗药物联用可通过提高模型小鼠 T 细胞含量,增强免疫应答及诱导肿瘤细胞凋亡,发挥抗肿瘤活性<sup>[2-3]</sup>。T 淋巴细胞是机体细胞免疫的重要参与者,介导体内抗肿瘤作用、多种免疫反应的抗感染免疫及许多自身免疫性疾病。凋亡调控失调是引起多种肿瘤发生的重要原因之一<sup>[4-5]</sup>,B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)家族在线粒体凋亡途径中发挥关键作用。目前,对中药及中药复方联合化疗药的研究较多,但对其在化疗期间介入时机等的选择相关报道甚少。芪蟾口服结肠靶向片由黄芪、地黄、干蟾皮、苦参 4 味中药组成,临床用于治疗脾虚湿热型结肠癌及术后综合症的防治。前期研究表明,芪蟾口服结肠靶向片中有效组分(ECOQCOT)对小鼠 CT26 结肠癌移植瘤生长具抑制作用,本实验在前期研究的基础上,进一步探讨 ECOQCOT 联合 5-FU 干预治疗对小鼠 CT26 肠癌移植瘤的作用及其对模型小鼠免疫功能和细胞凋亡相关蛋白的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级雄性 Balb/c 小鼠,体重 16 ~ 18 g,购于中国科学院上海实验动物中心/上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号 SCXK(沪)2013-0016,饲养于浙江中医药大学动物实验中心。

**1.2 细胞与培养** CT26 WT 小鼠结肠癌细胞,购自中国科学院细胞库。将 CT26 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱中培养,隔日换液。

**1.3 药物与试剂** 结合前期研究,黄芪、地黄、干蟾皮、苦参按总皂苷、总多糖、总蟾毒配基、总生物碱,分别进行提取、分离、浓缩,并按芪蟾口服结肠靶向片处方剂量予以配伍,制得 ECOQCOT 供试样品,低温保存,备用。在前期研究基础上,以临床成人用量 10 倍(22 g·kg<sup>-1</sup>)作为 ECOQCOT 用药剂量<sup>[6]</sup>。5-氟尿嘧啶(5-FU)注射液(天津金耀药业有限公司,批号 1404141);RPMI 1640 培养液(美国 Gibco 公司,批号 8115154);胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号 141203);0.25% 胰蛋白酶(吉诺生物医药技术有限公司,批号 14041501);Anti-Mouse CD3e PE-Cy5, Anti-Mouse CD4 FITC, Anti-Mouse CD8a PE 单克隆抗体(美国 eBioscience 公司,批号分别为 E01036-1636, E0077-1831, E08288-1637);红细胞裂解液(美国 BD 公司,批号 349202);Bax 和 Bcl-2 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 12910, B1011);GTVision™ Two-Step 免疫组化检测试剂盒(丹麦 DAKO 公司,批号 1410171)。

**1.4 仪器** BCM-1000A 型超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),3111 型 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(美国赛默飞世尔科技有限公司),IX71 型倒置荧光显微镜和 CX31 型显微镜(日本 Olympus 公司),FACS Calibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司),GNP-9080 型隔水式恒温培养箱(中国上海精宏医疗设备有限公司)。

## 2 方法

**2.1 小鼠 CT26 结肠癌移植瘤模型建立** 小鼠经适应性饲养后开始造模。选择常规培养生长至对数期的 CT26 结肠癌细胞,0.25% 胰酶消化,收集细胞,用无菌生理盐水将细胞密度调整为 5 × 10<sup>6</sup> 个/mL。用 1.0 mL 微量注射器接种于 Balb/c 小鼠右腋

皮下,每只 0.2 mL,整个接种过程在 1 h 内完成。

**2.2 分组与给药** 接种 24 h 后将小鼠随机分为模型组,提前干预组,同步干预组,延后干预组,5-FU 治疗组(20 mg·kg<sup>-1</sup>),ECOQCOT 治疗组(22 g·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只。移植瘤接种当天记 D0,提前干预组于 D1~D6 给予 ECOQCOT(22 g·kg<sup>-1</sup>)灌胃,D7~D12 给予 5-FU(20 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射;同步干预组于 D7~D12 同步给予 ECOQCOT(22 g·kg<sup>-1</sup>)灌胃和 5-FU(20 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射;延后干预组于 D7~D12 给予 5-FU(20 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射,D13~D18 给予 ECOQCOT(22 g·kg<sup>-1</sup>)灌胃;5-FU 治疗组于 D7~D12 给予 5-FU 腹腔注射;ECOQCOT 治疗组于 D7~D12 给予 ECOQCOT 灌胃;均为每日 1 次,共 18 d。观察小鼠的移植瘤生长情况、精神、活动状况、毛色光泽、饮食、体重变化及大小便等情况。

**2.3 移植瘤体积生长情况观察及抑瘤率** 观察各组小鼠的移植瘤生长情况,小鼠自接种后第 6 天开始,隔日用游标卡尺测量移植瘤最长径(a)和最短径(b)并记录,隔日 1 次,按公式<sup>[7]</sup> V(mm<sup>3</sup>) = 1/2 × ab<sup>2</sup> 计算移植瘤体积。末次给药 24 h 后,颈椎脱臼处死小鼠,完整剖取瘤体,称质量,计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (1 - \text{平均瘤重}_{\text{治疗组}} / \text{平均瘤重}_{\text{模型组}}) \times 100\%$$

**2.4 流式细胞术检测外周血中 T 淋巴细胞亚群表达水平** 末次给药 24 h 后,各组小鼠摘眼球取血,收集于肝素抗凝管中。取全血标本 100 μL,加入红细胞裂解液 500 μL,避光孵育 10 min,15 000 r·min<sup>-1</sup>,去上清液;磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,离心,去上清液;加入荧光素标记的抗体 10 μL,用微量移液器轻轻吹打混匀,4 ℃或置冰上孵育 30 min~1 h;离心 10 min;洗涤,加入 PBS 500 μL,吹打混匀,置流式管中,4 ℃避光检测。

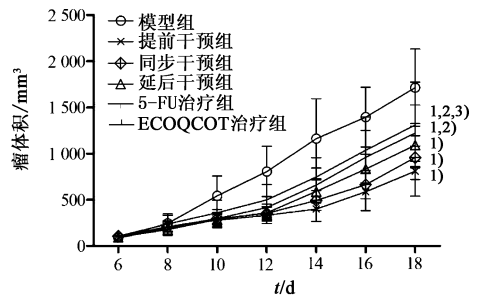
**2.5 免疫组化检测移植瘤组织中 Bax, Bcl-2 蛋白表达** 取固定后组织,常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片后,进行免疫组化染色。脱蜡至水;采用高温高压修复抗原;3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水溶液阻断内源性过氧化物酶;滴加 Bax, Bcl-2 一抗(1:100),孵育;滴加二抗,孵育;DAB 显色液显色;苏木素复染;脱水、透明、封片。Bax, Bcl-2 阳性表达主要为移植瘤肿瘤细胞的胞浆内,呈黄色或棕黄色,颗粒状。采用 Image-Pro Plus 5.0 图像系统进行分析,即在显微镜 200 倍视野下随机选择 5 个视野,用 Image-Pro Plus 5.0 图像分析软件测量视野内表达阳性细胞的积分吸光度 IA。

**2.6 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 进行统计学分析。计量数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较进行单因素

方差分析。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠一般状况观察及移植瘤生长曲线的影响** 各组小鼠接种后第 3 天,右腋皮下均可触摸到米粒大小硬粒;接种后第 5 天,皮下可触及直径约 5 mm 明显肿块,造模成功,成功率 100%。接种后第 12 天开始,各组小鼠移植瘤体积增长速度明显加快,以模型组增长最为明显。提前干预组和同步干预组小鼠移植瘤体积增长缓慢,精神状况良好。5-FU 治疗组经腹腔注射 5-FU 后,于第 13 天开始,小鼠体重略有下降,并出现活动、觅食减少等现象,延后干预组有类似情况出现。其余各用药组小鼠均未发现明显异常。各给药组在给药第 18 天移植瘤体积均显著小于模型组(P < 0.01)。提前干预组移植瘤体积显著小于 5-FU 治疗组和 ECOQCOT 治疗组(P < 0.01)。见图 1。



与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.01;与提前干预组比较<sup>2)</sup> P < 0.01;与同步干预组比较<sup>3)</sup> P < 0.05

图 1 各组小鼠移植瘤体积变化( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig.1 Size changes of transplanted tumors in mice of each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

**3.2 对小鼠结肠癌移植瘤的抑制作用** 与模型组比较,各治疗组瘤重均明显下降(P < 0.05, P < 0.01);提前干预组瘤重明显低于 5-FU 治疗组和 ECOQCOT 治疗组(P < 0.05, P < 0.01)。见表 1。

表 1 ECOQCOT 联合 5-FU 对 CT26 移植瘤小鼠瘤重和抑瘤率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of ECOQCOT combined with 5-FU on tumour weight of CT26 tumor-bearing mice( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	平均瘤重/g	抑瘤率/%
模型	-	3.637 7 ± 1.039 3	-
提前干预	22 + 0.02	2.050 5 ± 0.439 4 <sup>2)</sup>	43.63
同步干预	22 + 0.02	2.388 0 ± 0.407 3 <sup>2)</sup>	34.35
延后干预	0.02 + 22	2.505 5 ± 0.395 2 <sup>2)</sup>	31.12
5-FU 治疗	0.02	2.658 8 ± 0.587 5 <sup>2,3)</sup>	26.91
ECOQCOT 治疗	22	2.958 6 ± 0.818 5 <sup>1,4)</sup>	18.67

注:与模型组比较<sup>1)</sup> P < 0.05,<sup>2)</sup> P < 0.01;与提前干预组比较<sup>3)</sup> P < 0.05,<sup>4)</sup> P < 0.01(表 3 同)。

**3.3 对小鼠外周血中 T 细胞亚群表达水平的影响**  
与模型组比较,各治疗组 CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> 细胞比例均显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较,提前干预组和同步干预组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均显著升高 ( $P < 0.01$ )。提前干预组、同步干预组和延后干预组 CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> T 细胞比例较 5-FU 治疗组均显著升高

( $P < 0.01$ ); 提前干预组、同步干预组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均显著高于 5-FU 治疗组 ( $P < 0.01$ )。提前干预组 CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ECOQCOT 治疗组较 5-FU 治疗组明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 同步干预组 CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均明显高于 ECOQCOT 治疗组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 ECOQCOT 联合 5-FU 对移植瘤小鼠外周血 T 细胞亚群的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of ECOQCOT combined with 5-FU on T-lymphocyte level in peripheral blood ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CD3 <sup>+</sup> /%	CD4 <sup>+</sup> /%	CD8 <sup>+</sup> /%	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
模型	-	17.23 ± 3.93	12.73 ± 2.94	4.24 ± 0.82	2.99 ± 0.34
提前干预	22 + 0.02	37.10 ± 5.30 <sup>1)</sup>	30.13 ± 4.56 <sup>1)</sup>	7.70 ± 0.87 <sup>1)</sup>	3.90 ± 0.27 <sup>1)</sup>
同步干预	22 + 0.02	35.59 ± 3.17 <sup>1)</sup>	28.26 ± 2.48 <sup>1)</sup>	7.81 ± 0.89 <sup>1)</sup>	3.64 ± 0.31 <sup>1)</sup>
延后干预	0.02 + 22	35.28 ± 6.86 <sup>1)</sup>	27.81 ± 5.69 <sup>1)</sup>	8.50 ± 1.47 <sup>1)</sup>	3.29 ± 0.58 <sup>3)</sup>
5-FU 治疗	0.02	27.33 ± 7.12 <sup>1,3,5,6)</sup>	20.56 ± 5.63 <sup>1,3,5,6)</sup>	6.69 ± 1.54 <sup>1)</sup>	3.07 ± 0.54 <sup>3,5)</sup>
ECOQCOT 治疗	22	31.10 ± 7.02 <sup>1,2)</sup>	23.87 ± 5.13 <sup>1,3,4)</sup>	7.43 ± 2.00 <sup>1)</sup>	3.27 ± 0.33 <sup>3,4)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与提前干预组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ; 与同步干预组比较<sup>4)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.01$ ; 与延后干预组比较<sup>6)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.4 对小鼠移植瘤组织 Bax, Bcl-2 蛋白表达的影响**  
与模型组比较,提前干预组、同步干预组 Bax 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); ECOQCOT 治疗组 Bax 蛋白明显低于提前干预组 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,提前干预组、同步干预组、延后干预组、5-FU 治疗组抑凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白均明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 3, 图 2, 3。

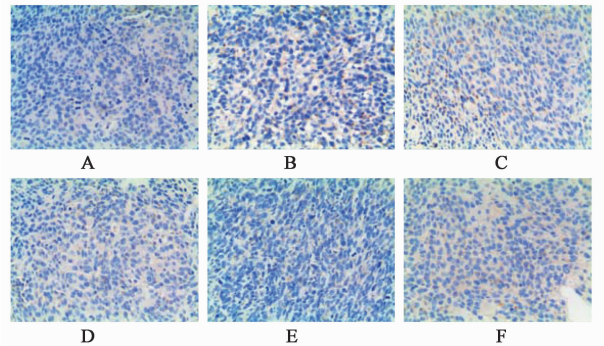


图 2 ECOQCOT 联合 5-FU 对小鼠移植瘤组织 Bax 蛋白表达的影响 (IHC, ×200)

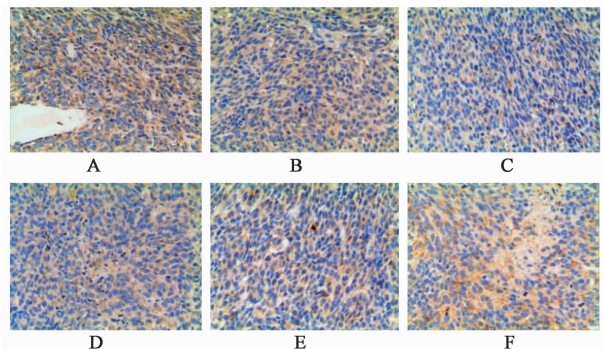
表 3 ECOQCOT 联合 5-FU 对移植瘤组织中 Bax, Bcl-2 积分吸光度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of ECOQCOT combined with 5-FU on IA of Bax and Bcl-2 in tumour tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Bax	Bcl-2
模型	-	2.597 ± 0.730	17.878 ± 3.838
提前干预	22 + 0.02	4.368 ± 0.886 <sup>2)</sup>	8.852 ± 4.174 <sup>2)</sup>
同步干预	22 + 0.02	3.924 ± 0.977 <sup>1)</sup>	8.877 ± 2.164 <sup>2)</sup>
延后干预	0.02 + 22	3.885 ± 1.850	10.982 ± 4.098 <sup>1)</sup>
5-FU 治疗	0.02	3.461 ± 1.049	11.028 ± 5.383 <sup>1)</sup>
ECOQCOT 治疗	22	3.237 ± 0.657 <sup>3)</sup>	11.371 ± 6.845

图 3 ECOQCOT 联合 5-FU 对小鼠移植瘤组织 Bcl-2 蛋白表达的影响 (IHC, ×200)

Fig. 3 Effect of ECOQCOT combined with 5-FU on protein expressions of Bcl-2 in CT26 tumour tissues (IHC, ×200)



**4 讨论**

研究表明,芪蟾口服结肠靶向片中有效组分如黄芪多糖、地黄多糖能够促进免疫器官生长、促进 T 淋巴细胞活性,增强机体免疫功能<sup>[8-9]</sup>; 黄芪甲苷、蟾毒配基等可通过诱导细胞凋亡等途径发挥不同程度的抗肿瘤作用<sup>[10-13]</sup>。有研究报道,中药及中药复方联合化疗药,在增效减毒、治疗结肠癌并发症、控制症状、延长疾病进展时间,提高生活质量<sup>[14-15]</sup>等方面均有显著疗效。本实验结果显示,各联合给药组抑瘤作用明显强于 5-FU 治疗组,ECOQCOT 治疗组,并以提前干预组抑瘤作用最强;且联合用药可在一定程度上减小 5-FU 引起的毒副作用。

CD3<sup>+</sup> 细胞是成熟 T 淋巴细胞的标志, CD8<sup>+</sup> T 细胞是细胞毒性 T 淋巴细胞,具有抑制免疫效应和

直接清除肿瘤细胞双重作用<sup>[16]</sup>; CD4<sup>+</sup> T 细胞是辅助性 T 淋巴细胞,其可提高机体免疫应答,通过各种途径发挥对肿瘤细胞的杀伤作用<sup>[17-18]</sup>。CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>能较全面反映机体细胞免疫总体情况和抗肿瘤能力<sup>[19]</sup>。一般认为,当恶性肿瘤患者体内 CD4<sup>+</sup>细胞减少,CD8<sup>+</sup>细胞增多,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>逐渐变小,表现为免疫功能降低。本实验结果表明,各联合给药组可提高移植瘤小鼠外周血 T 淋巴细胞数量,增强机体的免疫功能;各联合给药组对模型小鼠免疫功能调节作用明显优于单一中药和化疗药组。

Bcl-2 是抑凋亡蛋白,研究发现,大肠癌、乳腺癌、甲状腺乳头状癌等多种癌组织中均可检测到 Bcl-2 蛋白表达高于癌周组织<sup>[20-22]</sup>。Bax 蛋白在细胞受到凋亡刺激时,通过增加线粒体膜其通透性,释放细胞色素 C 等促凋亡因子,诱导细胞凋亡<sup>[23]</sup>, Jeong 等<sup>[24]</sup>研究发现 Bax 蛋白表达高低与消化道肿瘤复发和转移患者平均存活期成正比。因此,诱导肿瘤细胞凋亡对肿瘤的预防、治疗及康复均具有重要意义。本实验结果表明,各给药组均能上调 Bax 蛋白,下调 Bcl-2 蛋白表达。推测 ECOQCOT 联合 5-FU 抗肿瘤作用机制与诱导肿瘤细胞凋亡有关,且联合用药各组对肿瘤细胞凋亡促进作用均优于单一中药治疗组和化疗药治疗组。

[参考文献]

[1] 陈筱婷,葛鑫宇,刘彬,等. 西黄丸含药血清对 SW480 人结肠癌细胞迁移及侵袭的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(2):136-141.

[2] Xu H, Yu J, Sun Y, et al. *Scutellaria barbata* D. Don extract synergizes the antitumor effects of low dose 5-fluorouracil through induction of apoptosis and metabolism[J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(10):897-903.

[3] 周青,连磊凡,吴丽珍,等. 佛甲草对荷瘤小鼠的抗肿瘤作用及其免疫机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(6):83-86.

[4] 杨洋博君,王爽,李舒,等. 复方大七气汤联合顺铂对裸鼠卵巢癌皮下移植瘤 Bcl-2/Bax 表达的影响[J]. 中国中药杂志,2015,40(8):1575-1579.

[5] 曾庆平,郭勇. 细胞凋亡异常及其药物疗法[J]. 中国药理学杂志,1997,32(12):733-736.

[6] 田港,黄玉叶,余跃,等. 芪螭口服结肠靶向片初步药效学研究[J]. 中华中医药学刊,2012,30(3):598-601.

[7] Shakeri-Zadeh A, Khoee S, Shiran M B, et al. Synergistic effects of magnetic drug targeting using a newly developed nanocapsule and tumor irradiation by ultrasound on CT26 tumors in BALB/c mice[J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3(9):1879-1887.

[8] 荆雪宁. 黄芪多糖诱导树突状细胞成熟并促进特异性抗肿瘤免疫的实验研究[D]. 济南:山东中医药大学,2013.

[9] 王志江,魏国栋,马思缙. 地黄多糖的化学和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(16):231-234.

[10] 张丽敏,贺永贵,伊红丽,等. 黄芪甲苷药理作用研究进展[J]. 河北联合大学学报,2014,16(2):160-162.

[11] Han Y, Zhang S, Wu J, et al. Matrine induces apoptosis of human multiple myeloma cells via activation of the mitochondrial pathway [J]. *Leuk Lymphoma*, 2010, 51(7):1337-1346.

[12] Li H, Tan G, Jiang X, et al. Therapeutic effects of matrine on primary and metastatic breast cancer[J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(6):1115-1130.

[13] 唐晓霞,贾燕丽,田港,等. 干蟾皮中酯蟾毒配基和华蟾酥毒基的纯化及其体外抗结肠癌活性的研究[J]. 中华中医药学刊,2015,33(9):2243-2245.

[14] Zhang Y, Zhang Q, Fan Z Z, et al. A Chinese herbal formula, Chang-Wei-Qin, synergistically enhances antitumor effect of oxaliplatin [J]. *Pathol Oncol Res*, 2015, 21(2):389-397.

[15] 王辉. 扶正消积汤联合 FOLFOX4 方案治疗晚期结肠癌临床分析[D]. 郑州:郑州大学,2014.

[16] 邹宁,李许锋,丁为民,等. 微波消融联合 CpG ODN 治疗小鼠移植性结肠癌及对免疫状态的影响[J]. 南方医科大学学报,2010,30(5):984-988.

[17] 曾瑞红,房桂珍,魏林. CD4<sup>+</sup> T 细胞在肿瘤免疫治疗中的作用[J]. 细胞生物学杂志,2008,30(1):30-34.

[18] 孙君重,肖文华,于力. CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞功能研究新进展[J]. 中国实验血液学杂志,2010,18(2):544-548.

[19] 周青,连磊凡,吴丽珍,等. 佛甲草对荷瘤小鼠的抗肿瘤作用及其免疫机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(6):83-86.

[20] 张印春. 乳腺肿瘤组织中 Bag-1、Bcl-2、Bax 的表达及意义[D]. 天津:天津医科大学,2012.

[21] 孙念峰,王国斌,陈景波. 结肠癌组织中抗凋亡基因 bag-1 和 bcl-2 的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(3):180-182.

[22] 王迎雪. Bcl-2、survivin 基因多态性与甲状腺乳头状癌的发病风险及其蛋白表达差异的相关性研究[D]. 济南:山东大学,2013.

[23] 张丽. Bcl-2 耐药在紫杉醇耐药胃腺癌细胞中的表达及意义[D]. 合肥:安徽医科大学,2013.

[24] Jeong S H, Han J H, Kim J H, et al. Bax predicts outcome in gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin palliative chemotherapy[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(1):131-138.

[责任编辑 张丰丰]