

健脾消癌方及其拆方对肠癌模型裸鼠体质量、瘤体、转移率及 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达的影响

简小兰¹, 何兰², 李勇敏¹, 吕元¹, 谭小宁¹, 罗吉¹, 罗燕¹, 蒋益兰^{1*}

(1. 湖南省中医药研究院附属医院, 长沙 410006; 2. 湖南中医药大学研究生院, 长沙 410208)

[摘要] 目的:观察健脾消癌方及其拆方对肠癌模型裸鼠体质量、瘤体、转移率及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3),抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-xL (B-cell lymphoma/leukemia-xL, Bcl-xL) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 表达的影响。方法:建立裸鼠肠癌原位瘤模型,分为模型组,健脾益气组(15 g·kg⁻¹),化瘀解毒组(15 g·kg⁻¹),健脾消癌方组(全方组,15 g·kg⁻¹),5-氟尿嘧啶组(5-Fu,20 mg·kg⁻¹),共 5 组。分别予以相应药物干预 4 周,观察裸鼠体重、瘤体抑制率、转移率,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达。结果:健脾益气组、全方组体重下降低于模型组($P < 0.05$),化瘀解毒组体重下降高于模型组($P < 0.05$);健脾益气组对瘤体的抑制与模型组比较无统计学差异,与空白组比较,化瘀解毒组、全方组对瘤体均有较好抑制作用($P < 0.05$);各组均出现不同程度地转移,其中模型组、健脾益气组总体转移率达 90%,化瘀解毒组、全方组转移率分别为 70%,60%,低于模型组($P < 0.05$);与模型组比较,化瘀解毒组及全方组能够上调 Bax 蛋白表达,下调 Caspase-3, Bcl-xL 蛋白表达($P < 0.01$)。结论:健脾消癌方中健脾益气组优势在于稳定体重,化瘀解毒组优势在于抑制肿瘤,抑制转移;全方组能够稳定体质量,抑制肿瘤,抑制转移,全方配伍疗效最优,其抗肿瘤机制可能是上调凋亡相关蛋白 Bax 及下调 Caspase-3, Bcl-xL, 诱导肿瘤细胞凋亡。

[关键词] 肠癌; 健脾消癌方; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3; B 细胞淋巴瘤/白血病-xL; Bcl-2 相关 X 蛋白

[中图分类号] R285.5; R22; R241.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0156-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180684

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171213.0851.002.html>

[网络出版时间] 2017-12-13 13:34

Effect of Jianpi Xiaoi Prescription and Its Decomposed Recipes on Body Weight, Tumors, Metastasis Rate and Expressions of Caspase-3, Bcl-xL, Bax in Colorectal Cancer Model Nude Mice

JIAN Xiao-lan¹, HE Lan², LI Yong-min¹, LYU Yuan¹, TAN Xiao-ning¹,
LUO Ji¹, LUO Yan¹, JIANG Yi-lan^{1*}

(1. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Changsha 410006, China;

2 Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Jianpi Xiaoi prescription and its decomposed recipes on the body weight, tumors, metastasis rate and expressions of Caspase-3, B-cell lymphoma/leukemia-xL (Bcl-xL) and Bcl-2 associated X protein (Bax) in colorectal cancer model nude mice. **Method:** The colorectal cancer model was established, and divided into control group, the Jianpi Yiqi group (15 g·kg⁻¹), the Huayu Jiedu group (15 g·kg⁻¹), the Jianpi Xiaoi prescription group (omni-recipe group, 15 g·kg⁻¹) and the 5-fluorouracil group

[收稿日期] 20171030(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373602,81774287);中央引导地方科技发展专项(2017CT5029)

[第一作者] 简小兰,博士,医师,从事肿瘤病中西医结合防治方法和规律研究,Tel:13469047364,E-mail:jianxiaolan1988@126.com

[通信作者] *蒋益兰,主任医师,博士生导师,从事肿瘤病中西医结合防治方法和规律研究,Tel:13907319712,E-mail:tianshangren624@163.com

(5-Fu, 20 mg·kg⁻¹). The body weight, tumor inhibition rate and metastasis rate were observed, and the protein expressions of Caspase-3, Bcl-xL, and Bax of nude mice were detected by Western blot after the corresponding drug intervention for 4 weeks. **Result:** The weight loss of the Jianpi Yiqi group and the omni-recipe group was less than that of control group ($P < 0.05$), Huayu Jiedu group' weight loss was higher than that of control group ($P < 0.05$). The Jianpi Yiqi group had no statistical differences from control group in tumor inhibition rate; the Huayu Jiedu group and the omni-recipe group had a better tumor inhibition rate ($P < 0.05$). All of the groups had different degrees of metastasis. Specifically, the control group and the Jianpi Yiqi group had the overall metastasis rate of 90%, and the Huayu Jiedu group and the omni-recipe group had the metastasis rate of 70% and 60%, respectively, both of which were lower than that of control group ($P < 0.05$). Compared with control group, the Huayu Jiedu group and the omni-recipe group showed increase in the protein expression of Bax, and decrease in the protein expressions of Caspase-3, Bcl-xL ($P < 0.01$). **Conclusion:** The Jianpi Yiqi group shows a stable weight, while the Huayu Jiedu group shows inhibitions in tumor and metastasis. The omni-recipe group shows a stable weight and inhibitions in tumor and metastasis, with the best effect. The antitumor mechanism of Jianpi Xiaoi prescription may be correlated with the up-regulation in expressions of apoptosis-associated proteins Bax and the down-regulation in Caspase-3, Bcl-xL induced apoptosis of tumor cells.

[Key words] colorectal cancer; Jianpi Xiaoi prescription; Caspase-3; B-cell lymphoma/leukemia-xL; Bcl-2-associated X protein

结直肠癌为我国常见恶性肿瘤之一,发病率呈逐年上升趋势^[1],发病率和死亡率分别为常见恶性肿瘤的第 4 位和第 5 位^[2-3]。近 10 年,一些新的治疗方式的出现,包括靶向治疗,如抑制血管内皮生长因子或者表皮生长因子受体应用于结直肠癌治疗并显示出一定的临床疗效^[4],但 5 年总体生存率仍不及 50%,复发转移是造成死亡的主要原因。中医药作为肿瘤综合治疗的手段之一,可以协同手术、放化疗以减轻相关不良反应,具有抗复发和转移、提高生存质量、调节免疫力、延长生存期等作用^[5]。本课题组运用中医药治疗结直肠癌也取得了较好疗效,既往临床及实验研究已证实健脾消癌方的有效性^[6-8],细胞实验提示,健脾消癌方具有抑制肠癌细胞增殖,阻滞周期,促进细胞凋亡的作用,其促进结直肠癌细胞凋亡的机制可能是通过上调凋亡相关蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),下调蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3),B 细胞淋巴瘤/白血病-xL 蛋白(Bcl-xL)^[9],但其体内抗肿瘤机制研究尚有待进一步完善,既往研究主要以整方为单位研究,其不同治法组中药发挥抗肿瘤、抗转移作用及机制也需进一步探索。健脾消癌方以健脾益气,化痰解毒为治法,核心方中以人参、薏苡仁健脾益气,重楼、半枝莲清热解暑,莪术、郁金活血化瘀,全方配伍,扶正抗癌,标本兼顾。本实验进一步观察健脾消癌方及其拆方抗肿瘤作用特点,分析不同治法组药物在结直肠癌治疗中的作用,检测凋亡与抗凋亡相关

蛋白Caspase-3, Bcl-xL, Bax 表达情况,进一步明确健脾消癌方及其拆方对结直肠癌的疗效机制,为临床配伍提供科学依据。

1 材料

1.1 动物和细胞株 64 只 SPF 级 BALB/C-nu/nu 裸鼠,体质量(20 ± 2)g,雌雄各半,购自湖南长沙斯莱克实验动物中心,合格证号 SCXK(湘)2013-0004,动物实验符合湖南省中医药研究院附属医院实验动物伦理委员会规定。人结肠癌细胞株 HCT116 购买于中国科学院细胞库,编号 TCHu 99。

1.2 试剂 DMEM 培养基(Hyclone 公司,批号 NZD1131);胎牛血清(Biological Industries 公司,批号 1616316);BCA 蛋白浓度测定试剂盒,RIPA 裂解液(碧云天生物技术研究,批号分别为 P0012, P0013b);蛋白酶抑制剂 PMSF(Merck 公司,批号 539134-1ML);Caspase-3, Bcl-xL, Bax, β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(Abcam 公司,批号分别为 ab32351, ab32370, ab32503, ab6276);山羊抗小鼠免疫球蛋白(Ig)G(康为世纪生物科技有限公司,批号 01325/50237);山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物公司,批号 119986);5-氟尿嘧啶(5-Fu,上海旭东海普药业有限公司,批号 FA161115,0.25 g/支)。

1.3 仪器 HERAcell 2401 型细胞培养箱(美国 Thermo 公司);EIX808U 型全自动酶标仪(美国 BioTek 公司);SE300 型电泳仪,SE300 型转膜仪(美国 Hoefer 公司);G:BOX 型凝胶成像系统(美国 Syngene 公司)。

2 方法

2.1 健脾消癌方及其拆方制备 药物组成为人参

10 g, 薏苡仁 30 g, 半枝莲 30 g, 重楼 10 g, 莪术 10 g, 郁金 15 g; 分为全方组、健脾益气组(人参 10 g, 薏苡仁 30 g), 化瘀解毒组(半枝莲 30 g, 重楼 10 g, 莪术 10 g, 郁金 15 g)。制备全方与拆方的中药煎剂。药物购自湖南省中医药研究院附属医院中药房, 由湖南省中医药研究院附属医院马荣丽中药师鉴定为正品, 按所需药量 2 倍量处方, 温水中浸泡 1 h, 水量超出药物 3 ~ 5 cm, 大火煮沸, 小火继续煎煮 30 min, 药渣按前法再煎煮 1 次, 将 2 次药液混匀, 用离心沉淀器除去药物残渣, 恒温水浴箱上浓缩为相当于生药 1.5 g·mL⁻¹, 4 ℃ 保存备用。

2.2 瘤源制备 培养 HCT116 细胞, 收集细胞悬液, 调整密度为 2 × 10⁷ 个/mL, 取细胞悬液 0.1 mL, 即接种细胞数为 2 × 10⁶ 个, 注射到 10 只 BALB/C-nu/nu 裸鼠腋下, 观察裸鼠腋下种植瘤生长, 长出直径 1 cm 左右的实体瘤, 作为原位移植瘤的瘤源, 需要 2 周左右。

2.3 结直肠癌动物模型造模^[10] 脱颈处死瘤源裸鼠, 75% 乙醇消毒皮肤, 将腋下肿瘤小心剥离, 立即浸入含青-链霉素 100 U·mL⁻¹ 的生理盐水中, 清除瘤块周围结缔组织, 取肿瘤中心靠近边缘处, 肉眼观察呈鱼肉状的组织, 剪成大小 1 mm³ 的肿瘤组织块备用。10% 水合氯醛(40 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉裸鼠, 裸鼠仰卧位, 络合碘消毒后左下腹部切口进入腹腔, 寻找盲结肠并暴露, 用 1 mL 小针头轻轻将盲结肠交界处浆膜刮破, 稍有渗出血液, 将制备好的瘤块 1 粒贴于浆膜划破处, 将瘤组织轻轻往里推压, 在其表面用移液器吸取医用 OB 胶 10 μL 黏贴, 粘牢瘤块(约 10 s), 将外置盲结肠小心回纳入腹腔, 缝合腹壁。整个操作过程要迅速, 保温(可用加热毯), 注意遵循无菌操作原则。麻醉清醒后的小鼠, 常规饲养在 SPF 级动物房中。造模约 15 d 后, 腹部可扪及小肿块, 并处死 2 只观察到有瘤体种植生长, 可评定为造模成功。

2.4 分组与给药 将造模成功的裸鼠 50 只随机分为模型组, 健脾益气组, 化瘀解毒组, 全方组, 5-Fu 组, 每组 10 只。造模后第 15 天开始给药干预, 模型组予以生理盐水 0.2 mL 灌胃, 每天 1 次, 每周 5 d; 中药各组按 70 kg 人体等效浓度 120 g·d⁻¹, 裸鼠 20 g 等效量按成人的 0.002 6 倍计算, 裸鼠每日应给 15 g·kg⁻¹(约 0.2 mL)灌胃给药^[11], 每天 1 次, 每周 5 d; 5-Fu 组按 20 mg·kg⁻¹腹腔注射给药, 每周 2 次,

并生理盐水灌胃, 剂量与次数同模型组; 以上干预连续 4 周。

2.5 常规观察 每天记录动物精神、活动、饮食、大小便, 每周测定体质量。死亡裸鼠, 进行瘤体剥离及称质量。

2.6 肿瘤组织取材 4 周后处死裸鼠, 取盲肠、腹腔淋巴结、肝、肺组织, 剥离肿瘤, 称质量, 按转移部位记录各组肿瘤转移情况, 淋巴结转移以病理切片阳性为准, 血性腹水者定为腹膜转移。瘤重抑制率(肠道移植瘤) = (1 - 药物组平均瘤重/模型组平均瘤重) × 100%。

2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达 取各组瘤体 0.2 g 分别置于装有预冷生理盐水的平皿中, 在平皿中剪碎肿瘤组织并转移到 1.5 mL 离心管中, 加入含有 PMSF 10 μL 的 RIPA 裂解液 1 mL, 用组织捣碎机 10 000 ~ 15 000 r·min⁻¹ 上下研磨制成组织匀浆, 匀浆时间 10 s/次, 间隔 60 s, 连续 5 ~ 6 次, 并摇床上充分裂解 30 min, 4 ℃, 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清, BCA 试剂盒进行蛋白定量测定蛋白浓度, 加入 SDS-PAGE 蛋白缓冲液, 煮沸 5 min, 置 -80 ℃ 备用。取蛋白 50 μg 上样, SDS-PAGE 凝胶电泳后转膜至 PVDF 膜, 封闭, 一抗 Caspase-3 (1 : 5 000), Bcl-xL (1 : 1 000), Bax (1 : 5 000), β-actin (1 : 10 000) 分别室温孵育 4 h, 二抗(1 : 5 000)室温孵育 2 h, ECL 发光, 分别检测 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达灰度值, 以 β-actin 为内参。以 Image J 软件分析结果, 目的蛋白/β-actin 表示蛋白相对表达量。

2.8 统计方法 采用 SPSS 18.0 进行统计分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布检验及方差齐性者, 两组采用成组 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 不符合者采用非参数检验中的多个独立样本 Kruskal-Wallis *H* 进行统计处理。计数资料采用 χ^2 检验。 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对裸鼠一般症状、体征的影响 与治疗第 0 天比较, 5-Fu 组, 化瘀解毒组消瘦明显, 精神稍差, 活动减少, 5-Fu 组饮水量稍减少, 化瘀解毒组饮水量未见减少, 大小便正常。健脾益气组、全方组体质量较稳定, 精神、活动、二便正常。实验过程中由于裸鼠灌胃不当或自然死亡, 5-Fu 组死亡 3 只。

3.2 对裸鼠体质量的影响 与治疗第 0 天比较, 各组治疗后体质量均有不同程度地下降, 其中模型组, 健脾益气组, 化瘀解毒组, 5-Fu 组下降明显 (*P* <

0.05); 治疗 28 d 与治疗 0 d 体质量差值比较, 模型组较健脾益气组、全方组体质量下降明显 ($P < 0.05$), 化瘀解毒组、5-Fu 组体质量较模型组下降明

显 ($P < 0.01$), 说明健脾益气组、全方组能够稳定体质量, 化瘀解毒组、5-Fu 组对裸鼠体质量的下降有一定影响。见表 1。

表 1 健脾消癌方及其拆方对裸鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Jianpi Xiaoi prescription and its decomposed recipes on weight in nude mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	0 d	14 d	28 d	28 d 与 0 d 差值
模型	-	10	22.94 ± 0.45	21.48 ± 1.31 ³⁾	20.80 ± 1.01 ⁴⁾	2.14 ± 0.94
健脾益气	15	10	22.81 ± 0.63	22.96 ± 1.18 ⁶⁾	21.84 ± 0.50 ^{3,6)}	0.97 ± 0.33 ^{1,6)}
化瘀解毒	15	10	22.69 ± 0.44	19.38 ± 0.98 ^{1,4)}	18.53 ± 0.62 ^{2,4,5)}	4.17 ± 0.96 ¹⁾
全方	15	10	22.55 ± 0.55	23.21 ± 0.80 ^{1,6)}	22.39 ± 1.51 ⁶⁾	0.16 ± 1.38 ^{1,6)}
5-Fu	20	7	22.57 ± 0.48	19.14 ± 0.91 ^{1,4)}	17.06 ± 1.12 ^{2,4)}	5.50 ± 1.44 ²⁾

注: 与模型组同期比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与治疗第 0 天比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 与 5-Fu 组同期比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对裸鼠肠道移植瘤体抑制率的影响 在瘤体抑制方面, 健脾益气组与模型组比较无统计学差异; 化瘀解毒组、全方组均有较好抑制作用, 肿瘤抑制率分别为 27.2%, 30.4%, 较模型组明显升高 ($P < 0.05$)。说明健脾益气组对瘤体的抑制较小, 化瘀解毒组、全方组均有较好抑制作用。见表 2。

表 2 健脾消癌方及其拆方对裸鼠肠道移植瘤体抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

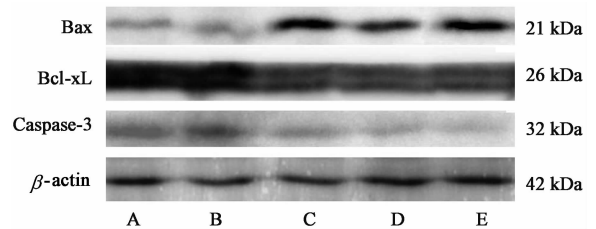
Table 2 Inhibitory effect of Jianpi Xiaoi prescription and its decomposed recipes on intestinal transplantation tumors in nude mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	瘤体质量/g	瘤重抑制率/%
模型	-	10	0.514 ± 0.09	-
健脾益气	15	10	0.502 ± 0.08 ³⁾	2.3
化瘀解毒	15	10	0.374 ± 0.07 ¹⁾	27.2
全方	15	10	0.358 ± 0.06 ¹⁾	30.4
5-Fu	20	7	0.284 ± 0.07 ²⁾	44.7

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 5-Fu 组比较³⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 对裸鼠转移的影响 各组均出现不同程度转移, 转移最常见部位是淋巴结, 其次是肝、肺、腹膜。其中模型组、健脾益气组总体转移率达 90%, 化瘀解毒组、全方组转移率分别为 70%, 60%, 5-Fu 组转移率为 57%, 均较模型组明显降低 ($P < 0.05$), 说明化瘀解毒组、全方组有抑制裸鼠结肠癌转移的作用。

3.5 对裸鼠瘤体 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达的影响 与模型组比较, 化瘀解毒组、全方组中 Bax 蛋白表达明显上调 ($P < 0.01$), Caspase-3, Bcl-xL 蛋白表达显著下调 ($P < 0.01$)。见图 1, 表 3。



A. 模型组; B. 健脾益气组; C. 化瘀解毒组; D. 全方组; E. 5-Fu 组

图 1 裸鼠瘤体 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白表达电泳

Fig. 1 Protein electrophoresis of Caspase-3, Bcl-xL and Bax in nude mice

表 3 健脾消癌方及其拆方对裸鼠瘤体 Caspase-3, Bcl-xL, Bax 蛋白相对表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Jianpi Xiaoi prescription and its decomposed recipes on relative expressions of Caspase-3, Bcl-xL and Bax on intestinal transplantation tumors in nude mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	Caspase-3/β-actin	Bcl-xL/β-actin	Bax/β-actin
模型	-	10	1.16 ± 0.03	2.48 ± 0.03	0.77 ± 0.02
健脾益气	15	10	1.33 ± 0.02 ^{1,3,4)}	2.84 ± 0.04 ^{1,3,4)}	0.80 ± 0.02 ^{3,4)}
化瘀解毒	15	10	0.63 ± 0.02 ^{1,3,4)}	2.27 ± 0.06 ^{1,3,4)}	2.08 ± 0.04 ^{1,2,4)}
全方	15	10	0.38 ± 0.01 ^{1,3)}	2.05 ± 0.06 ¹⁾	1.65 ± 0.02 ^{1,3)}
5-Fu	20	7	0.34 ± 0.01 ¹⁾	2.02 ± 0.05 ¹⁾	2.17 ± 0.06 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 5-Fu 组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$; 与全方组比较⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

本研究在既往临床及实验证实全方组有效性基础上, 进一步拆方研究不同组分健脾消癌方在结直肠癌稳定体质量、抑制肿瘤生长、肿瘤转移等方面的

临床作用及各自优势。研究发现健脾益气组优势在于稳定体质量, 对肠癌瘤体的抑制及转移作用不明显。化瘀解毒组优势在于抑制肿瘤, 抑制转移, 对裸鼠的体质量有明显的下降作用。全方组在体质量稳

定、瘤体的抑制率、转移率方面均优于化瘀解毒组、健脾益气组。

脾胃为后天之本, 气血生化之源, 脾胃得健, 饮食摄纳正常, 化生气血, 脾主肉, 以实四肢, 故而健脾益气组、全方组裸鼠体质量稳定。现代药理研究表明清热解毒中药可以通过直接抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡、调节和增强机体的免疫能力、诱导细胞的分化与逆转、调控细胞信号通路及传导、抗突变等作用达到抗肿瘤的目的^[12], 活血化瘀中药可通过抑制肿瘤血管生成、抑制肿瘤细胞增殖、提高机体免疫力等直接抗肿瘤, 还可以通过纠正肿瘤细胞的缺氧微环境、抑制肿瘤转移相关黏附分子表达、增强其对化疗药物的敏感性、抑制肿瘤微血管生成等作用抗肿瘤转移^[13-14], 化瘀解毒药物寒凉、辛散, 久用易损伤脾胃、耗散气血, 伤及正气^[15-16], 故而裸鼠体质量下降明显, 但其抑制肿瘤、抑制转移疗效较优, 全方组配合健脾益气组分使裸鼠体质量维持稳定, 抗癌不伤正, 减轻化瘀解毒药物伤正的弊端, 故全方配伍既能抑制肠癌生长及转移, 裸鼠的体质量也得到一定的稳定, 疗效最佳。

线粒体途径和死亡受体途径是细胞凋亡的两条主要信号途径。Caspase 是凋亡信号转导的共同通路, Caspase 酶系在细胞凋亡过程中起作用, 其中 Caspase-3 被称为“死亡蛋白酶”, Caspase-3 主要负责对凋亡途径最后执行阶段的全部或部分关键性蛋白的酶切, 当 Caspase-3 被激活, 活化的 Caspase-3 能够激活、破坏某些酶, 能够破坏细胞外基质及骨架蛋白, 能够裂解 DNA 修复相关因子等, 导致特征性 DNA 断裂, 介导肿瘤细胞发生凋亡^[17]。Bcl-xL, Bax 蛋白均是 Bcl-2 蛋白家族的重要成员, Bcl-xL 通过干扰 Caspase-3 的活性阻止凋亡, 也可以通过阻断 Bax 蛋白发挥抗凋亡作用。而 Bax 蛋白是一种促凋亡蛋白, Bax 蛋白可以通过信号传导激活下游的 Caspase-3 等引起细胞凋亡。本研究发现化瘀解毒组及全方组中 Bax 蛋白表达不同程度上调, 而 Caspase-3, Bcl-xL 蛋白有不同程度的表达下调, 健脾益气组蛋白上下调控不明显, 进一步揭示健脾消癌方抗癌成分可能是化瘀解毒组分, 其抗肿瘤机制可能通过上调凋亡相关蛋白 Bax 及下调 Caspase-3, Bcl-xL 诱导肿瘤细胞凋亡。

目前中药抗癌机制研究方面, 中药单药及单体化合物的研究较多, 也更容易被接受, 但中药单药及单体化合物的研究不能体现中医的辨证论治理论、中药配伍原则, 中药的方剂是建立是在中医基本

理论基础上的, 其临床疗效绝非单药及单体化合物所能达到, 因此中药复方的研究才是符合临床的研究, 其结论才更具有临床指导意义, 深入探讨复方的疗效机制具有重要意义。

[参考文献]

- [1] 李道娟, 李倩, 贺宇彤. 结直肠癌流行病学趋势[J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(3): 305-310.
- [2] 万德森. 结直肠癌流行病学与预防[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2011, 17(1): 3-7.
- [3] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7.
- [4] Segal N H, Saltz L B. Evolving treatment of advanced colon cancer[J]. Annu Rev Med, 2009, 60: 207-219.
- [5] 崔晓茹, 侯勇, 于庆生. 中医药辅助治疗结直肠癌研究进展[J]. 安徽中医药大学学报, 2017, 36(2): 94-96.
- [6] 蒋益兰, 潘敏求, 蔡美. 健脾消癌饮配合化疗拮抗大肠癌术后复发转移 62 例总结[J]. 湖南中医杂志, 2007, 23(1): 1-3.
- [7] 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直肠癌的临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1732-1736.
- [8] 蒋益兰, 朱克俭, 李勇敏, 等. 健脾消癌方防止裸鼠大肠癌术后肝转移的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(5): 379-380.
- [9] 简小兰, 杨晓, 罗吉, 等. 健脾益气化瘀解毒方含药血清对结肠癌 HCT116 细胞增殖、周期、凋亡的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(11): 909-914.
- [10] 张国锋, 王元和, 王强. 人结肠癌裸鼠原位种植癌及转移模型的建立[J]. 中国普通外科杂志, 2003, 12(11): 823-826.
- [11] 贺石林, 王键, 王净净. 中医科研设计与统计学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2012: 48-49.
- [12] 潘磊, 陈培丰. 清热解毒中药抗肿瘤作用机理研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(3): 569-571.
- [13] 汤芷妮, 骆小鹏, 葛菲, 等. 活血化瘀抗肿瘤中草药作用机制的研究进展[J]. 中国药房, 2016, 27(8): 1146-1149.
- [14] 黄良文, 刘建民, 袁淮涛. 活血化瘀中药抗肿瘤转移作用的研究进展[J]. 中国医药科学, 2014, 4(6): 37-39, 67.
- [15] 富琦, 张青. 郁仁存应用清热解毒药物治疗肿瘤经验[J]. 中医杂志, 2014, 55(21): 1815-1817.
- [16] 李圣耀, 史大卓, 冒慧敏, 等. 常见内科病治疗中活血化瘀药的运用[J]. 中医杂志, 2015, 56(18): 1605-1607.
- [17] Galluzzi L, Lopez-soto A, Kumar S, et al. Caspases connect cell-death signaling to organismal homeostasis[J]. Immunity, 2016, 44(2): 221-231.

[责任编辑 张丰丰]