

生脉姜黄散对鼻咽癌 CNE-2 细胞裸鼠移植瘤的放射增敏作用

黄沐¹, 李爱武², 刘钊汝², 朱道琦¹, 杨家彬¹, 刘诗雅¹, 吕英^{2*}, 范钦^{1*}

(1. 南方医科大学 中医药学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学 南方医院, 广州 510515)

[摘要] 目的:探讨生脉姜黄散对人鼻咽癌细胞 CNE-2 裸鼠移植瘤的放射增敏作用及对细胞周期素依赖性激酶 6 (cyclin-dependent kinase 6, CDK6) 蛋白表达的影响,并讨论其增敏作用的相关机制。方法:通过皮下注射肿瘤细胞的方法建立人鼻咽癌裸鼠移植瘤模型,荷瘤鼠随机分为空白组、照射组、生脉姜黄散组、生脉姜黄散联合照射组、顺铂联合照射组,其中生脉姜黄散组和生脉姜黄散联合照射组按照药物高、低剂量(12.87, 4.29 g·kg⁻¹)各分为 2 个亚组。经处理后各组隔日测量移植瘤的最大径,计算肿瘤体积抑制率和抑瘤率。免疫组化、蛋白免疫印迹法检测 CDK6 蛋白表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 CDK6 mRNA 表达。结果:与空白组比较,其余各组肿瘤生长都受到一定程度的抑制,与照射组比较,生脉姜黄散(12.87 g·kg⁻¹)联合照射组、顺铂联合照射组肿瘤生长明显受到抑制($P < 0.05$),肿瘤体积抑制率分别为 54.94%, 64.9%。与照射组比较,生脉姜黄散(12.87 g·kg⁻¹)联合照射组、顺铂联合照射组 CDK6 mRNA 和蛋白表达均明显升高($P < 0.05$)。结论:生脉姜黄散对人鼻咽癌裸鼠移植瘤具有放射增敏作用,其增敏作用可能与细胞周期调控因子 CDK6 相关。

[关键词] 鼻咽癌; 移植瘤; 裸鼠; 生脉姜黄散; 放射增敏

[中图分类号] R22; R2-031; R273; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0145-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180682

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171213.0851.010.html>

[网络出版时间] 2017-12-13 14:40

Radiosensitization Effect of Shengmai Jianguang Powder on Human Nasopharyngeal Carcinoma CNE-2 Cell in Nude Mice

HUANG Mu¹, LI Ai-wu², LIU Zhao-ru², ZHU Dao-qi¹, YANG Jia-bin¹,
LIU Shi-ya¹, LYU Ying^{2*}, FAN Qin^{1*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
2. Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the radiosensitization effect of Shengmai Jianguang powder on human nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cell in nude mice and the effect on the expressions of cyclin-dependent kinase 6 (CDK6) proteins, in order to explore the mechanism of radiosensitization. **Method:** The tumor-bearing mice were randomly divided into 7 groups: control group, irradiation group, Shengmai Jianguang powder group, Shengmai Jianguang powder and irradiation combined group, cisplatin and irradiation combined group. Shengmai Jianguang powder group, Shengmai Jianguang powder and irradiation combined group were divided into high and low-dose subgroups with the concentration of 12.87, 4.29 g·kg⁻¹ respectively. The maximal diameter of the transplanted tumor was measured every other day after treatment, and the tumor volume inhibition rate and the tumor inhibition

[收稿日期] 20170911(017)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673718);广东省省级科技计划项目(2013A032500003, 2016A020226034);广东省自然科学基金项目(2016A030313833);广州市白云区科技计划项目(2016-KJ-001)

[第一作者] 黄沐, 硕士, 从事中医药抗肿瘤研究, Tel:020-62789493, E-mail:hnan2015@163.com

[通信作者] * 吕英, 硕士, 主任医师, 从事小儿肿瘤体制辨识研究, Tel:020-62786209, E-mail:lvying1966@163.com;

* 范钦, 博士, 教授, 从事中医药抗肿瘤研究, Tel:020-62789493, E-mail:fqin@163.com

rate were calculated. The protein expression of CDK6 was detected by immunohistochemistry and Western blot. The mRNA expression of CDK6 was detected by Real-time PCR. **Result:** Compared with the control group, the tumor growth was inhibited to a certain extent. Compared with the irradiation group, the growth of tumor was significantly inhibited in the high-concentration Shengmai Jianghuang powder and irradiation combined group and the cisplatin and irradiation combined group, with the tumor volume inhibition rates of 54.94% and 64.9%, respectively. Immunohistochemistry, Western blot and Real-time PCR showed significant differences in the expression of CDK6 between the high-concentration Shengmai Jianghuang powder and irradiation combined group and the cisplatin and irradiation combined group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shengmai Jianghuang powder has a radiosensitizing effect on human nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cells in nude mice, which may be related to the cell cycle regulatory factor CDK6.

[**Key words**] nasopharyngeal carcinoma; transplantation tumor; nude mice; Shengmai Jianghuang powder; radiosensitization

鼻咽癌(NPC)是我国常见的恶性肿瘤之一,发病率为头颈部恶性肿瘤之首,严重威胁人类健康。目前放射治疗仍是鼻咽癌的首选治疗方法^[1],鼻咽癌发病位置为人的头颈部,放射治疗不可避免地会对肿瘤周围的正常组织造成损伤,出现如放射性皮肤损伤、口腔黏膜损伤、颈部皮肤放射性纤维化等症状^[2],加重患者的负担,甚至被迫中断治疗。所以有效增加放疗的疗效以减少放射次数,降低副作用非常必要。提高放射的敏感性,增加放射治疗对肿瘤组织的杀灭作用可以直接提高疗效,但是不同NPC个体的放射敏感性存在很大的差异,过程中会使鼻咽癌细胞产生放射抗拒性^[3],导致放射效果大打折扣。所以采用有效的措施抑制肿瘤的放射抗拒,提高放射治疗的敏感性,已经成为提高放疗疗效的关键^[4]。

目前临床使用的主要为西药放射增敏剂,有铂类^[5],环氧化酶-2抑制剂^[6],硝基咪唑类^[7]等,中药放射增敏剂的研发尚处于初级阶段。近年已发现多种中草药或其提取分离物对鼻咽癌细胞具有一定的放射增敏作用^[8]。中药增敏剂具有纯天然,副作用小,成本低的优点,所以研究有效的中药放射增敏剂成为新热点^[9]。前期本课题组已经通过实验获得了姜黄^[10]、生脉散^[11]等中药提高鼻咽癌细胞放射敏感性的证据,在此基础上改良的生脉姜黄散能益气生津、养阴活血,对放疗后的并发症有缓解作用,并能提高放射敏感性,增强了放射对肿瘤的杀灭作用。本实验旨在通过观察2种不同浓度的生脉姜黄散对鼻咽癌CNE-2细胞株裸鼠移植瘤放射治疗后生长情况的影响和细胞周期素依赖性激酶6(CDK6)表达的不同,发现生脉姜黄散对人鼻咽癌CNE-2细胞株裸鼠移植瘤的放射增敏作用,进而通

过检测肿瘤组织中CDK6表达的差异,探讨其作用产生的相关分子机制。该结果为中药组方辅助鼻咽癌治疗提供了新靶标,也为阐明鼻咽癌放射增敏的机制提供了新的视角。

1 材料

1.1 细胞及裸鼠 人鼻咽癌细胞株CNE-2由中山大学肿瘤防治中心惠赠,常规复苏后使用。SPF级BALB/C-nu裸鼠,4~5周龄,雌雄各半,体质量分布(18 ± 3)g,购买于南方医科大学实验动物中心,合格证号SCXK(粤)2016-0041。动物实验开展已通过南方医科大学实验动物伦理委员会批准,批号L2016063。

1.2 药物 生脉姜黄散由姜黄(广东天诚中药饮片有限公司,批号150101),人参(吉林,批号Y1105027),麦冬(广东和翔制药有限公司,批号HX16F01),五味子(广东天诚中药饮片有限公司,批号160101)4味中药组成。经南方医科大学中药鉴定教研室马骥教授鉴定,姜黄为姜科植物姜黄*Curcuma longa*的根茎,人参为五加科植物人参*Panax ginseng*的干燥根,麦冬为百合科植物麦冬*Ophiopogon japonicus*的干燥块根,五味子为五味子科植物五味子*Schisandra chinensis*的干燥成熟果实。按照“人和动物之间按体表面积折算的等效剂量比值表”计算出裸鼠等效剂量,并分别以成人正常剂量和成人正常剂量的3倍设2个浓度^[12],即 $4.29 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (低剂量), $12.87 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (高剂量),常规煎煮,冷却后 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。顺铂(齐鲁制药有限公司,国药准字H37021358)。

1.3 试剂 RPMI 1640培养基,胎牛血清(美国Gibco公司,批号分别为C11875500BT,10099-141);胰酶(杭州吉诺生物医药技术有限公司,批号GNM-

15050);CDK6 单克隆抗体(美国 Novus Biologicals 公司,批号 NBP1-87262); β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体,二抗(鼠),二抗(兔)(美国 Earthox 公司,批号分别为 E021020-03, E030110-01, E030120-01);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天试剂有限公司,批号 P0010);ECL 发光液(美国 Millipore 公司,批号 WBKLS0100);DAB 试剂盒(英国 Vision 公司,批号 GK500705),RNAiso Plus 试剂,逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司,批号分别为 AKA3001, RR036A);SYBR Green 试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司,批号 A25742)。

1.4 仪器 552BR173057 Mini-Protein 型电泳槽及转膜仪(美国 Bio-Rad 公司),Kodak Image Station 2000MM 型成像系统(美国 Kodak 公司),Stratagene MX3005P 型荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司),E100 型生物显微镜(日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 在 37 ℃ 5% CO₂ 孵育条件下,CNE-2 细胞在含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中培养。当细胞融合度达到 90% 时,用 0.25% 的胰酶消化传代。

2.2 模型建立、分组及给药 移植瘤动物模型的制备^[13],42 只 BALB/C-nu 裸鼠适应性喂养 3 d,随机分为 7 组,即空白组(A 组),照射组(B 组),生脉姜黄散组低、高剂量组(C, D 组),生脉姜黄散低剂量联合照射组(E 组),生脉姜黄散高剂量联合照射组(F 组),顺铂联合照射组(G 组),每组 6 只,分别将收集好的对数生长期 CNE-2 细胞株,用无血清培养基调整细胞密度至 5 × 10⁶ 个/mL,按相应分组接种 0.2 mL 肿瘤细胞于裸鼠右大腿皮下。接种后 9 d 成瘤,第 10 天开始各组裸鼠分别给予相关药物干预。A, B, G 组蒸馏水灌胃(与生脉姜黄组同体积蒸馏水),早晚各 1 次;C, E 组裸鼠进行生脉姜黄散灌胃 4.29 g · kg⁻¹,分 2 次给药,早晚各 1 次,D, F 组生脉姜黄散灌胃 12.87 g · kg⁻¹,分 2 次给药,早晚各 1 次。1 周后另给予 B, E 组 X 射线照射 4 Gy,隔天 1 次,连续 3 次。G 组给予 0.001 g · kg⁻¹ 顺铂腹腔注射后,同时和 B, E 组接受相同剂量照射,隔天 1 次,连续 3 次。

2.3 观测指标

2.3.1 移植瘤体积、抑瘤率 最后 1 次照射后第 2 天处死全部动物。无菌剥取移植瘤,测量皮下移植瘤的最大长径(*a*)和横径(*b*),计算移植瘤体积, $V =$

$ab^2/2$ (*a* 为瘤体最长径,*b* 为瘤体最短径)。剥离瘤体称质量,并计算肿瘤体积抑制率和抑瘤率。

$$\text{瘤体积抑制率} = (1 - \text{实验组平均瘤体积} / \text{空白组平均瘤体积}) \times 100\%$$

$$\text{抑瘤率} = (1 - \text{实验组平均瘤质量} / \text{空白组平均瘤质量}) \times 100\%$$

2.3.2 移植瘤中 CDK6 蛋白检测 免疫组化法,切片常规脱蜡水化后,3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶的活性;组织抗原修复,动物血清封闭,滴加 CDK6 一抗(1:350),4 ℃ 孵育过夜,二抗孵育后 DAB 显色,苏木素复染,依次脱水、透明、固定。图像分析,在 20 倍物镜下,随机测量 100 个阳性细胞的积分吸光度 *IA* (背景 *IA* - 实测 *IA*),颜色越深,*IA* 越小。

蛋白免疫印迹法,取少量标本液氮研磨后裂解液充分裂解,提取总蛋白,采用 BCA 法定量蛋白浓度,灌制 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶,电泳,转膜,封闭,滴加 CDK6 一抗(1:35),4 ℃ 过夜,二抗室温孵育(1:5 000)1 h,在 PVDF 膜上滴加 ECL 发光液,柯达 2000MM 图像工作站分析蛋白表达情况。以 β -actin 为内参,应用图像分析系统测定条带灰度值。实验重复 3 次。

2.3.3 实时荧光定量 PCR 检测 CDK6 mRNA 表达

取各实验组肿瘤,取肿瘤组织 50 mg,按 RNAiso Plus 试剂说明书提取总 RNA。逆转录为 cDNA,然后扩增 CDK6 基因,扩增条件 50 ℃ 2 min;95 ℃ 2 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 20 s 42 个循环,4 ℃ 保温。Stratagene MX3005P 荧光定量 PCR 仪检测 *C_t* 值,并计算 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)及目的基因引物根据 Primer Premier 5.0 软件自行设计,并由赛默飞公司合成,见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
CDK6	上游 TGCACAGTGTACGAAACAGA	150
	下游 ACCTCGGAGAAGCTGAAACA	
GAPDH	上游 ATCATCAGCAATGCCTCCTG	102
	下游 ATGGACTGTGCTCATGAGTC	

2.4 统计学处理 所有数据均用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。裸鼠肿瘤体积采用重复测量的方差分析,处死裸鼠后的肿瘤质量比较、免疫印迹及荧光定量 PCR 结果采用单因素方差分析,组间两两比较,方差齐时采用 LSD 法,不齐采用 Dunnett T3 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 生脉姜黄散对裸鼠移植瘤体积及质量变化的影响 与空白组比较,照射组、生脉姜黄散高、低剂量 + 照射组、顺铂 + 照射组肿瘤体积、瘤质量均受到

显著抑制 ($P < 0.01$); 与照射组比较,生脉姜黄散高剂量联合照射组、顺铂联合照射组肿瘤体积抑制率及抑瘤率高,表示肿瘤生长受到显著抑制 ($P < 0.01$)。见表 2,3。

表 2 生脉姜黄散对裸鼠移植瘤体积的影响

Table 2 Effect of Shengmai Jianghuang powder on volume of transplanted tumor in each group of nude mice

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	治疗前瘤体积 ($\bar{x} \pm s, n=6$)/ mm^3	治疗后瘤体积 ($\bar{x} \pm s, n=6$)/ mm^3	体积抑制率/%
空白	-	57.70 \pm 9.31	1 022.71 \pm 58.17	-
照射	-	65.24 \pm 10.22	711.34 \pm 115.82 ²⁾	30.45
生脉姜黄散	4.29	63.71 \pm 12.04	873.36 \pm 148.42	14.60
	12.87	55.65 \pm 10.67	861.31 \pm 102.17 ¹⁾	15.78
生脉姜黄散 + 照射	4.29	59.80 \pm 13.32	679.25 \pm 137.07 ²⁾	33.58
	12.87	63.33 \pm 11.40	460.87 \pm 60.26 ^{2,3)}	54.94
顺铂 + 照射	0.001	58.77 \pm 11.23	359.98 \pm 93.98 ^{2,3)}	64.90

注:照射剂量均为 4 Gy; 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与照射组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 3 ~ 5 同)。

表 3 生脉姜黄散对鼻咽癌 CNE-2 细胞裸鼠移植瘤质量的影响

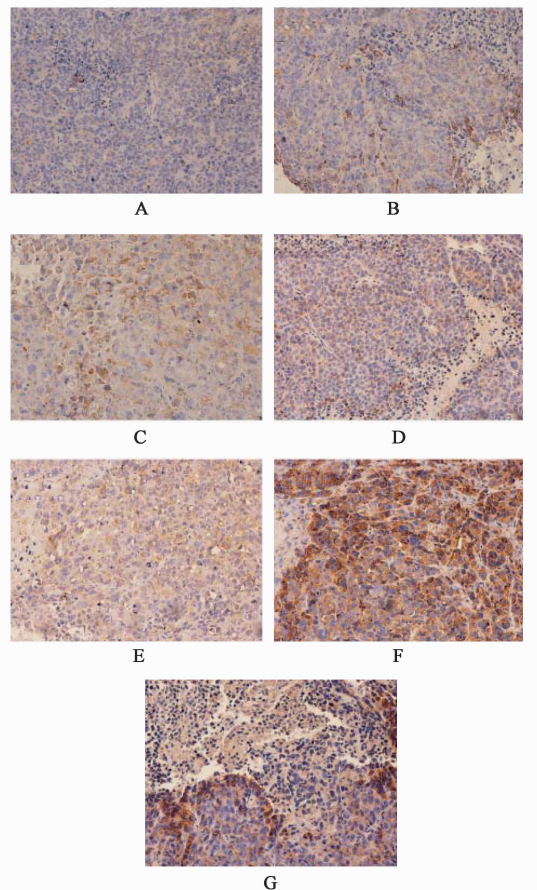
Table 3 Effect of Shengmai Jianghuang powder on weight of transplanted tumor of nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cells in nude mice

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	瘤质量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)/g	抑瘤率/%
空白	-	0.598 \pm 0.060	-
照射	-	0.425 \pm 0.046 ²⁾	28.90
生脉姜黄散	4.29	0.530 \pm 0.786	11.34
	12.87	0.524 \pm 0.069	12.34
生脉姜黄散 + 照射	4.29	0.418 \pm 0.104 ²⁾	30.02
	12.87	0.271 \pm 0.035 ^{2,3)}	54.70
顺铂 + 照射	0.001	0.237 \pm 0.038 ^{2,3)}	60.39

3.2 生脉姜黄散对裸鼠移植瘤 CDK6 蛋白表达的影响 空白组几乎无棕黄色颗粒表达;照射组棕黄色颗粒较少;CDK6 蛋白低表达,生脉姜黄散低、高剂量组、生脉姜黄散低剂量联合组照射,生脉姜黄散高剂量联合照射组、顺铂联合照射组棕黄色颗粒增多,CDK6 蛋白高表达;生脉姜黄散高剂量联合照射组、顺铂联合照射组棕黄色颗粒显著增多,CDK6 蛋白表达最高。见图 1。

3.3 生脉姜黄散对裸鼠 CDK6 蛋白表达的影响 与空白组、照射组比较,生脉姜黄散低、高剂量 + 照射组、顺铂 + 照射组可显著上调 CDK6 蛋白表达 ($P < 0.01$)。见图 2,表 4。

3.4 生脉姜黄散对裸鼠 CDK6 mRNA 表达的影响 与空白组、照射组比较,生脉姜黄散低、高剂量 + 照射组、顺铂 + 照射组可显著上调 CDK6 mRNA



A. 空白组; B. 照射组; C, D. 生脉姜黄散低、高剂量组; E, F. 生脉姜黄散低、高剂量联合照射组; G. 顺铂联合照射组 (图 2 同)

图 1 生脉姜黄散对肿瘤组织中 CDK6 蛋白表达的影响 (免疫组化, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of Shengmai Jianghuang powder on protein expression of CDK6 in tumor tissues (IHC, $\times 200$)

表达 ($P < 0.01$)。见表 5。

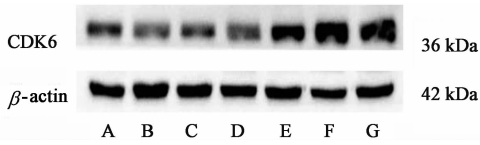


图 2 生脉姜黄散对肿瘤组织中 CDK6 蛋白表达电泳

Fig. 2 Effect of Shengmai Jianghuang powder on protein expression of CDK6 in tumor tissues

表 4 生脉姜黄散对肿瘤组织中 CDK6 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Table 4 Effect of Shengmai Jianghuang powder on protein expression of CDK6 in tumor tissues ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CDK6/ β -actin
空白	-	1.065 \pm 0.054
照射	-	1.090 \pm 0.226
生脉姜黄散	4.29	1.340 \pm 0.065
	12.87	1.430 \pm 0.438
生脉姜黄散 + 照射	4.29	2.141 \pm 0.281 ^{2,3)}
	12.87	2.645 \pm 0.359 ^{2,3)}
顺铂 + 照射	0.001	2.543 \pm 0.319 ^{2,3)}

表 5 生脉姜黄散对肿瘤组织中 CDK6 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Table 5 Effect of Shengmai Jianghuang powder on mRNA expression of CDK6 in tumor tissues ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	CDK6
空白	-	1.00 \pm 0.00
照射	-	1.097 \pm 0.167
生脉姜黄散	4.29	1.479 \pm 0.565
	12.87	1.750 \pm 0.754
生脉姜黄散 + 照射	4.29	2.306 \pm 0.281 ^{2,3)}
	12.87	3.901 \pm 0.532 ^{2,3)}
顺铂 + 照射	0.001	2.742 \pm 0.644 ^{1,3)}

4 讨论

放射治疗是目前鼻咽癌治疗中的常规方法,鼻咽癌放疗过程中容易产生放射抗拒性,不仅加重患者的负担,也影响放疗的效果,所以研究有效的放疗增敏剂能提高放疗疗效,降低治疗后肿瘤复发和转移风险。接受放疗的鼻咽癌患者,在放射线作用下,内损脏腑,伤阴耗气,形成了以正虚血瘀、气耗阴伤证为主的病机^[14]。鼻咽癌患者病情复杂,尤其是中晚期鼻咽癌,更是虚实夹杂,“若单纯驱邪,正气恐不支”,因此,在逐瘀化滞的同时,又加入益气活血养阴的药物,驱邪而不伤正。生脉散出自金人张元素所著《医学启源》^[15],由人参、麦门冬、五味子

组成。药理研究表明,生脉散具有增强免疫功能,改善血液循环,抗炎、抗癌,镇静、解热、镇痛等功效^[16]。而姜黄具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗氧化等多种作用^[17]。有文献报道姜黄^[18]、生脉散^[11]等中药在提高鼻咽癌细胞放射敏感性上也有显著效果,在此基础上组方的生脉姜黄散(人参 9 g,姜黄 9 g,麦冬 9 g,五味子 6 g)对于放疗或化疗后处于正虚血瘀、气耗阴伤的患者在临床上取得了良好疗效。本实验研究生脉姜黄散对鼻咽癌裸鼠移植瘤的作用,结果显示,生脉姜黄散低剂量联合照射组、生脉姜黄散高剂量联合照射组以及顺铂联合照射组与照射组比较,能有效延缓肿瘤的生长,体积抑制率和抑瘤率均升高。证明生脉姜黄散在体内对鼻咽癌具有增加放射敏感性促进放射对肿瘤杀灭作用。

目前临床上常用的放射增敏剂主要为硝基咪唑类、铂类等,主要是通过抑制放射损伤修复,阻滞细胞周期在放射敏感期,改善肿瘤细胞缺氧环境等机制达到增敏作用^[18]。所以细胞周期调控是放射敏感性重要的决定因素,本实验研究的 CDK6 是细胞周期调控因子,Tigan 等^[19]文章指出,CDK6 不再是人们以往认知的,只是 CDK4 的一个类似物,它可独立于 CDK4 而发挥作用,已报道的鼻咽癌、肺癌、乳腺癌、大肠癌等恶性肿瘤中,CDK6 表达均异常,近年来有关 CDK6 表达情况与肿瘤放疗敏感性的关系也有报道^[20]。CDK6 与 cyclin D 相结合形成的复合物在 G₁ 期的进程中起重要的作用,它能引起 Rb 蛋白磷酸化,启动 DNA 的合成使细胞由 G₁ 期过渡到 S 期。本实验通过不同方法检测了各组之间肿瘤组织中细胞周期调控因子 CDK6 的表达。发现与单纯照射组比较,生脉姜黄散组和生脉姜黄散联合照射组以及顺铂联合照射组 CDK6 均有不同程度的上升,尤其以高剂量生脉姜黄散联合照射组和顺铂联合照射组上升趋势明显。这可能是因为放射引起的 DNA 双链断裂或单链断裂,激活 DNA 损伤检测点,暂时阻滞细胞周期进展^[21],主要发生在 G₁/S 期和 G₂/M 期的细胞周期阻滞可对损伤的 DNA 进行修复,从而促进细胞生存,而 CDK6 增加,使细胞 G₁/S 调控点失控,不能出现细胞 G₁/S 期阻滞,导致受照射后对细胞受损的 DNA 不能得到充足的修复,引起细胞凋亡,促进了肿瘤细胞杀灭作用,增加了放疗的效果^[22],从而抑制了肿瘤的生长。由此可以推测生脉姜黄散对人鼻咽癌裸鼠移植瘤的放射增敏作用产生的机制可能与细胞周期调控因子 CDK6 相关,CDK6 很可能是与放射敏感性相关的重要分子。

[参考文献]

- [1] 王启瑞,魏辉,刘英,等. 加味生脉散对鼻咽癌裸鼠移植瘤放射增敏作用研究及机制探讨[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 125-126.
- [2] 丘文泽,黄培钰,施君理,等. 调强放疗结合诱导化疗或同期加辅助化疗治疗局部晚期鼻咽癌的疗效比较[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(4): 231-235.
- [3] CHEN W, HU G H. Biomarkers for enhancing the radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Biol Med*, 2015, 12(1): 23-32.
- [4] Koosha F, Neshasteh-Riz A, Takavar A, et al. The combination of A-966492 and Topotecan for effective radiosensitization on glioblastoma spheroids [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(4): 1092-1097.
- [5] 刘丽,张石川. 铂类在鼻咽癌同步放化疗中的应用[J]. 肿瘤预防与治疗, 2017, 30(2): 136-142.
- [6] 冉晨曦,何人可,汤小玲,等. 肿瘤放射治疗中辐射增敏剂的应用进展[J]. 山东医药, 2015, 55(3): 86-88.
- [7] 江曼,钱晓萍,刘宝瑞. 恶性肿瘤放射增敏剂研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(1): 226-228.
- [8] 黄伟,钱梦,谢鸣. 肿瘤放射治疗配合中药增效减毒的临床研究进展[J]. 中国药师, 2017, 20(8): 1374-1381.
- [9] 张巧丽,黄金昶. 中药放疗增敏剂的研究进展[J]. 中国临床医生杂志, 2014, 42(11): 23-25.
- [10] WANG Q, FAN H, LIU Y, et al. Curcumin enhances the radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells involving the reversal of differentially expressed long non-coding RNAs [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(3): 858-864.
- [11] 魏辉,王启瑞,刘英,等. 加味生脉散对气虚型鼻咽癌大鼠的放射增敏作用及相关机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(24): 233-236.
- [12] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [13] 郭俊宇,陈应超. 异甘草素对人鼻咽癌 CNE2 细胞裸鼠移植瘤模型的放疗增敏作用[J]. 河北医药, 2016, 38(24): 3704-3707.
- [14] 吴春萍,周梁. 鼻咽癌中西医结合治疗研究进展[J]. 中西医结合研究, 2010, 2(4): 209-212.
- [15] 徐伟伟,孙刚. 张国伦教授运用生脉散加减治疗胸痹临证经验[J]. 贵阳中医学院学报, 2014, 36(5): 106-107.
- [16] 梁华,王勋,鲍希静. 生脉散加味在恶性肿瘤治疗中的应用[J]. 中国医药指南, 2012, 10(12): 660-661.
- [17] 范昊宁,佟丽,范钦. 姜黄素对肿瘤的抑制和放射增敏作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 333-335.
- [18] FAN H, SHAO M, HUANG S, et al. MiR-593 mediates curcumin-induced radiosensitization of nasopharyngeal carcinoma cells *via* MDR1 [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(6): 3729-3734.
- [19] Tigan A S, Bellutti F, Kollmann K, et al. CDK6-a review of the past and a glimpse into the future; from cell-cycle control to transcriptional regulation [J]. *Oncogene*, 2016, 35(24): 3083-3091.
- [20] Whiteway S L, Harris P S, Venkataraman S, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinase 6 suppresses cell proliferation and enhances radiation sensitivity in medulloblastoma cells [J]. *J Neurooncol*, 2013, 111(2): 113-121.
- [21] PENG A. Working hard for recovery: mitotic kinases in the DNA damage checkpoint [J]. *Cell Biosci*, 2013, 3(1): 20.
- [22] 曲颂,朱小东. 鼻咽癌放射敏感性的分子生物学研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(24): 2040-2043.

[责任编辑 张丰丰]