

· 药理 ·

健脾消癌方对结肠癌肝转移裸鼠模型肿瘤微环境转移 相关因子表达的影响

何威华^{1,2}, 邓兰³, 蒋益兰^{4*}

(1. 湖南中医药大学 研究生院, 长沙 410208;

2. 武汉市中医医院, 武汉 430050;

3. 江西中医药大学 附属医院, 南昌 330006;

4. 湖南省中医药研究院 附属医院, 长沙 410006)

[摘要] 目的:研究健脾消癌方对结肠癌肝转移裸鼠模型肝组织中趋化因子受体4(CXCR4)、转化生长因子- β (TGF- β)、整合素 $\alpha_v\beta_3$ (ITG $\alpha_v\beta_3$)、血清钙结合蛋白A4(S100A4)、血清钙结合蛋白A8(S100A8)、血清钙结合蛋白A9(S100A9)等肿瘤微环境转移相关因子蛋白表达的影响,探讨其抗结肠癌肝转移的可能作用机制。方法:将BALB/c裸鼠随机分为正常组、模型组、健脾消癌方低、中、高剂量组。建立人结肠癌肝转移裸鼠模型。健脾消癌方低、中、高剂量组分别灌胃5.4、10.8、21.6 g·kg⁻¹药液,模型组及正常组给予等体积蒸馏水灌胃,每天给药1次,连续给药3周。末次给药后24 h脱颈处死,观察各组裸鼠肝转移情况,并通过蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肝组织中CXCR4、TGF- β 、ITG $\alpha_v\beta_3$ 、S100A4、S100A8、S100A9等肿瘤微环境中转移相关因子蛋白表达情况。结果:模型组、健脾消癌方低、中、高剂量组转移瘤面积占比分别为73%、72%、55%、42%。健脾消癌方高剂量组明显低于模型组($P<0.05$)。与模型组比较,健脾消癌方高、中剂量组CXCR4、TGF- β 、ITG $\alpha_v\beta_3$ 、S100A8、S100A9表达均明显降低($P<0.05$);健脾消癌方高、中、低剂量组S100A4表达均明显降低($P<0.05$)。健脾消癌方低剂量组CXCR4、TGF- β 、ITG $\alpha_v\beta_3$ 、S100A8、S100A9与模型组比较表达差异无统计学意义。结论:健脾消癌方能抑制结肠癌肝转移,其机制可能与降低CXCR4、TGF- β 、ITG $\alpha_v\beta_3$ 、S100A4、S100A8、S100A9等肿瘤微环境中转移相关因子的表达相关。

[关键词] 健脾消癌方; 结肠癌; 肝脏; 转移; 肿瘤微环境

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)03-0081-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230128

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20221128.0946.001.html>

[网络出版日期] 2022-11-28 13:29:33

Effect of Jianpi Xiaoi Prescription on Expression of Metastasis-related Factors in Tumor Microenvironment of Nude Mouse Model of Liver Metastasis of Colon Cancer

HE Weihua^{1,2}, DENG Lan³, JIANG Yilan^{4*}

(1. Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430050, China;

3. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;

4. Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Jianpi Xiaoi prescription on the protein expression of metastasis-related factors in tumor microenvironment such as chemokine receptor 4 (CXCR4), transformation

[收稿日期] 2022-07-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774287);武汉市卫生健康委科研项目(WZ21Q19);湖南省研究生创新科研项目(CX2018B477)

[第一作者] 何威华,博士,主治医师,从事恶性肿瘤的中西医结合防治研究,E-mail:heweihua86@126.com

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

growth factor- β (TGF- β), integrin $\alpha_v\beta_3$ (ITG $\alpha_v\beta_3$), serum calcium-binding protein A4 (S100A4), serum calcium-binding protein A8 (S100A8), and serum calcium-binding protein A9 (S100A9) in the liver tissue of the nude mouse model of liver metastasis of colon cancer, and to explore the possible mechanism of its anti-liver metastasis of colon cancer. **Method:** BALB/c nude mice were randomly divided into blank group, model group, and Jianpi Xiaoai prescription low, medium, and high-dose groups. A nude mouse model of liver metastasis of human colon cancer was established. Jianpi Xiaoai prescription low, medium, and high-dose groups were given 5.4, 10.8, 21.6 g·kg⁻¹ liquid medicine, respectively, and the model group and the blank group were given the same volume of distilled water by gavage, once a day for 3 consecutive weeks. 24 h after the last administration, the nude mice were sacrificed by neck removal, and the liver metastasis of each group was observed. Western blot was used to determine the protein expression of metastasis-related factors in the tumor microenvironment, such as CXCR4, TGF- β , ITG $\alpha_v\beta_3$, S100A4, S100A8, and S100A9. **Result:** The proportion of metastatic tumor area was 73% in the model group, 72% in the low-dose group, 55% in the medium-dose group, and 42% in the high-dose group. The high-dose group was significantly lower than the model group ($P<0.05$). As compared with the model group, the expression of CXCR4, TGF- β , ITG $\alpha_v\beta_3$, S100A8, and S100A9 in the Jianpi Xiaoai prescription high and medium-dose groups were significantly decreased ($P<0.05$). As compared with the model group, the expression of S100A4 in the Jianpi Xiaoai prescription high, medium, and low-dose groups was significantly decreased ($P<0.05$). The expression of CXCR4, TGF- β , ITG $\alpha_v\beta_3$, S100A8, and S100A9 in the Jianpi Xiaoai prescription low-dose group was not significantly different from that in the model group. **Conclusion:** Jianpi Xiaoai prescription can inhibit liver metastasis of colon cancer, and its mechanism may be related to the reduction of the expression of metastasis-related factors such as CXCR4, TGF- β , ITG $\alpha_v\beta_3$, S100A4, S100A8, and S100A9 in tumor microenvironment.

[Keywords] Jianpi Xiaoai prescription; colorectal cancer; liver; metastasis; tumor microenvironment

结直肠癌的发病及死亡率分别居于世界第2及第3位^[1]。2020年,结直肠癌的病例数占全球新增癌症病例的10%,占总癌症死亡人数的9.4%^[2]。肝脏是结直肠癌最主要的转移部位,也是结直肠癌患者最常见死因,15%~25%的结直肠癌患者在初治时既有肝转移^[3]。因此探索肝转移机制并采取有效的防治措施是十分必要的。研究表明肿瘤转移之所以具有器官趋向性,肿瘤微环境(TME)在其中发挥重要作用^[4]。肿瘤微环境是由包含肿瘤细胞在内的多种细胞、相关信号因子、细胞因子等共同构成的局部内环境,具有低氧、低pH、间质高压、多种生长因子和蛋白水解酶产生、炎症反应及免疫抑制等生物学特征,为肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移等恶性生物学行提供了必要的条件^[5-6]。研究显示TME中与结直肠癌肝转移相关的因子有趋化因子受体4(CXCR4)、转化生长因子- β (TGF- β)、整合素 $\alpha_v\beta_3$ (ITG $\alpha_v\beta_3$)、血清钙结合蛋白A4(S100A4)、血清钙结合蛋白A8(S100A8)、血清钙结合蛋白A9(S100A9)等^[7-13]。鉴于肿瘤微环境在肿瘤转移中的重要作用,靶向其相关因子已成为防治肿瘤转移的

新策略^[14]。肿瘤微环境是一个复杂的系统,肿瘤转移是一个多步骤、多因素、多阶段共同作用的结果。因此以肿瘤微环境为对象的防治措施,也因从整体去着眼,而不仅仅是针对某一分子或某一靶点。中医药复方是在中医理论的指导下制定的处方,互相之间具有协同作用,具有多通路、多靶点、多成分的特点^[15]。

健脾消癌方是湖南省名中医蒋益兰主任医师的经验方,由六君子汤化裁而来。临床研究显示其能降低结直肠癌术后复发、转移率,延长无病生存期及总生存期^[16-17]。实验研究发现健脾消癌方可降低结直肠癌裸鼠模型肝转移率^[18]。课题组前期研究发现健脾消癌方能抑制结肠癌细胞增殖、迁移、促进凋亡,其机制为通过下调缺氧微环境中结肠癌细胞缺氧诱导因子(HIF)-1 α 水平,间接影响其下游靶基因的表达,从而发挥抗癌作用^[19]。本研究在前期研究基础上,通过建立结肠癌肝转移裸鼠模型,观察健脾消癌方干预后对肝转移面积的影响及对CXCR4、TGF- β 、ITG $\alpha_v\beta_3$ 、S100A4、S100A8、S100A9等肿瘤微环境中转移相关因子表达的影响,以从

“整体”的角度进一步探索健脾消癌方抗结肠癌肝转移的可能作用机制,为健脾消癌方的临床应用进一步提供科学依据。

1 材料

1.1 动物与细胞株 人结肠癌 HCT116 细胞株购自广州吉尼欧生物公司,编号 JNO-373,传至第 4 代。SPF 级 BALB/c 裸鼠 30 只,6 周龄,雄性。购自常州卡文斯实验动物有限公司,合格证号 SCXK(苏)2016-0010。本实验获得武汉市中医医院伦理委员会通过,伦理审批号武中医伦 KW2021-039。动物分笼饲养,自由饮食进水,适应性饲养 1 周后开始实验。

1.2 试剂 苏木素-伊红(HE)染色剂(美国 Sigma 公司,批号 H9627);兔多抗 CXCR4、S100A4(中国 Bioss 公司,批号分别为 bs-1011R、bs-3759R);兔多抗 TGF- β 、S100A8、S100A9、Integrin beta 5(澳大利亚 Affinity 公司,批号分别为 AF1027、DF6556、DF7596、AF0185);辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号 BA1054);兔多抗甘油醛 3-磷酸脱氢酶(GAPDH,杭州贤至生物有限公司,批号 AB-P-R001);RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为 P0013B、P0010);异氟烷(深圳瑞沃德生命科技有限公司,批号 217180101)。

1.3 仪器 MOP175 型二氧化碳恒温培养箱(日本 Sanyo 公司);IX51 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);Multiskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo 公司);DYCZ-40D 型电泳仪及转膜仪(北京六一仪器厂);R500 通用型小动物麻醉机(深圳瑞沃德生命科技有限公司)。

2 方法

2.1 药物及制备 健脾消癌方由人参、郁金、薏苡仁、白花蛇舌草、重楼、藤梨根等组成。以上药材按 2020 年版《中华人民共和国药典》标准规格采购,由武汉市中医医院中药房提供,并由张义生主任药师鉴定均为正品。按生药量加入 10 倍水,煎煮 1 h;保存药液;药渣再加入 8 倍量水,煎煮 1 h;合并药液,浓缩成近 2 倍水量时,放置过夜。去沉淀,继续浓缩至含生药 2.4 g·mL⁻¹,密封后,4℃保存备用。

2.2 细胞培养 HCT116 细胞采用含 10% 胎牛血清+1%青-链霉素的 DMEM 高糖培养基,于 37℃、5% CO₂饱和湿度的培养箱中培养,待细胞贴壁,约铺满培养瓶底 90%时,进行细胞传代,传代比率为 1:3。细胞培养至约合 80 个 T25 瓶量时(每瓶长满

约 2×10⁶ 个细胞),于细胞对数生长期用胰酶消化后收集细胞,并以 2 000 r·min⁻¹离心 5 min(离心半径为 4.48 cm),用生理盐水调整细胞密度为 4×10⁷个/mL。

2.3 动物饲养与分组 将 BALB/c 裸鼠在动物中心饲养 1 周适应环境后再开始实验。随机分为正常组、模型组、健脾消癌方低、中、高剂量组,每组 6 只。

2.4 动物造模 参考文献[20]方法将 BALB/c 裸鼠脾脏注射 HCT116 细胞造成结肠癌肝转移模型。麻醉机麻醉裸鼠,将裸鼠放入麻醉诱导盒,麻醉机气体流量保持 1 L·min⁻¹,异氟烷体积浓度为 5%;待裸鼠停止活动后 30 s,将裸鼠口鼻连接麻醉机面罩,同时转换气体流向至麻醉面罩,异氟烷体积浓度调为 1.5%以维持裸鼠麻醉。俯卧位固定裸鼠于手术台上。左侧腹部乙醇消毒备皮。左侧腹部开腹 0.5 cm,暴露脾脏。用 50 μ L 显微注射器向脾脏内注射 HCT116 细胞 50 μ L,脾脏返回腹腔,分层缝合肌肉和皮肤。正常组仅开腹,不注射细胞。

2.5 动物给药 按分组不同分别给予不同剂量的中药,根据前期实验经验,健脾消癌方低、中、高剂量组分别灌胃 5.4、10.8(临床等效剂量)、21.6 g·kg⁻¹药液,模型组及正常组给予等体积蒸馏水灌胃,每天给药 1 次,连续给药 3 周。

2.6 动物处死 末次给药后 24 h,随机取模型组、健脾消癌方低、中、高剂量组各 1 只裸鼠,脱颈处死,观察裸鼠肝组织,见肝脏有转移灶,终止实验。脱颈处死余下裸鼠,取裸鼠肝组织。以 4%多聚甲醛溶液固定贮存。除正常组外,造模后由于腹水的产生、肿瘤负荷过大、感染的发生,其他各组出现不同程度的死亡情况,提前死亡的裸鼠,则提前解剖取出肝脏,于 4%多聚甲醛溶液中浸泡保存。

2.7 指标观察

2.7.1 肉眼观察 动物死亡或处死后即刻打开腹腔,充分暴露肝脏,仔细观察肝脏表面有无转移结节。

2.7.2 组织学观察 每组取裸鼠部分肝脏标本(有转移癌结节者以结节为中心取材),以 10% 甲醛固定 24 h,以 HE 染色制作病理切片,置于显微镜下观察裸鼠肝转移情况。

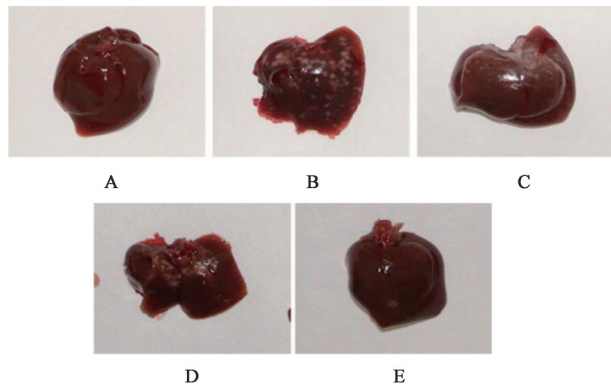
2.7.3 检测肝脏 CXCR4、TGF- β 、ITG α 、 β ₅、S100A4、S100A8、S100A9 蛋白表达 称取肝组织 0.1 g,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次,加入 RIPA 蛋白裂解液 200 μ L,提取细胞总蛋白,采用苯二甲苄基氯化铵(BCA)蛋白浓度测定法进行蛋白定量,按照比例加

入SDS-PAGE蛋白缓冲液,煮沸5 min,立即分装,置于-20℃保存备用。取蛋白50 μg上样,SDS-PAGE凝胶电泳后转膜至PVDF膜,封闭,一抗(1:5 000)室温孵育4 h,二抗(1:5 000)室温孵育2 h,ECL发光液体显影,分别检测CXCR4、TGF-β、ITGα_vβ₅、S100A4、S100A8、S100A9蛋白的表达水平,用BandScan分析胶片灰度值。以GAPDH条带作为内参,通过测量各蛋白条带与内参蛋白条带的灰度比来反映各蛋白的相对表达水平。独立重复实验3次。

2.8 统计学分析 采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,多组比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD)-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对裸鼠肝转移的影响 模型组肝脏出现大量灰白色点状肝转移结节,健脾消癌方低、中、高剂量组也可见多发灰白色点状肝转移结节,随着剂量增加,肝转移结节数量逐步变少。正常组肝脏未见转移结节,肝脏颜色无变化,表面光滑,结构完整,质地柔软。见图1。



注:A.正常组;B.模型组;C-E.健脾消癌方低、中、高剂量组(图2、图3同)

图1 健脾消癌方对各组裸鼠肝转移的影响

Fig. 1 Effect of Jianpi Xiaoi prescription on liver metastasis in nude mice

3.2 对裸鼠肝转移的影响 正常组肝细胞分布均匀,肝窦完好分布均一;模型组肝脏形成肿瘤结节,炎症浸润明显,肝窦形态变异,大小不一,形态各异;健脾消癌方低、中、高剂量组呈现不同程度的炎症浸润、结节,并随剂量增加,炎症浸润减轻,结节变少。用Image J软件对转移瘤面积进行分析,模型组转移瘤面积占比为73%;健脾消癌方低、中、高剂

量组转移瘤面积占比分别为72%、55%、42%。健脾消癌方高剂量组转移瘤面积显著低于模型组($P < 0.01$)。见图2。

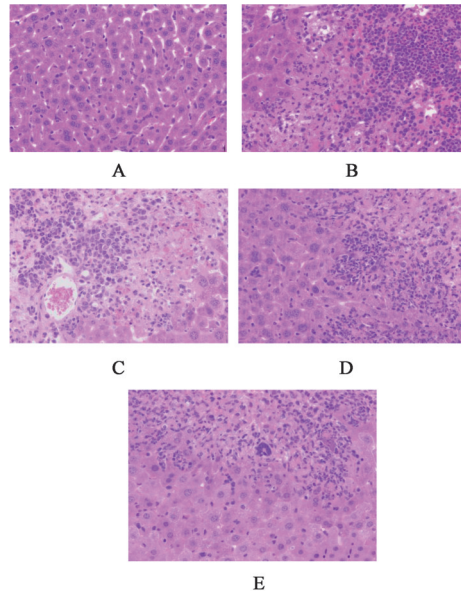


图2 健脾消癌方对裸鼠肝脏病理形态的影响(HE, ×400)

Fig. 2 Effect of Jianpi Xiaoi prescription on liver pathological morphology in nude mice (HE, ×400)

3.3 对裸鼠肝组织CXCR4、TGF-β、ITGα_vβ₅、S100A4、S100A8、S100A9蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组CXCR4、TGF-β、ITGα_vβ₅、S100A4、S100A8、S100A9蛋白表达均明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,健脾消癌方高、中剂量组CXCR4、TGF-β、ITGα_vβ₅、S100A8、S100A9表达均明显降低($P < 0.05$);健脾消癌方高、中、低剂量组S100A4表达明显降低($P < 0.05$);健脾消癌方低剂量组CXCR4、TGF-β、ITGα_vβ₅、S100A8、S100A9与模型组比较差异无统计学意义。见图3、表1。

4 讨论

肿瘤微环境在结直肠癌侵袭、迁移、肿瘤血管生成、免疫逃逸、定向转移到肝脏等方面发挥重要作用。研究显示TGF-β的高表达与结直肠癌术后转移密切相关^[21]。TGF-β的高表达有助于TME中的自分泌和旁分泌功能,通过激活JAK/信号转导子和转录激活因子3(STAT3)信号通路,诱导间充质干细胞分化为肿瘤相关成纤维细胞,促进结直肠癌细胞的迁移和侵袭^[22]。CXCL12/CXCR4轴被激活后,结直肠癌细胞分泌的miRNA可以被巨噬细胞吸收,并通过靶向PTEN将巨噬细胞转化为M2表型。M2极化巨噬细胞通过分泌VEGF促进结直肠癌肿瘤血管生成和肝转移^[23]。研究还显示ITGα_vβ₅在高转移

表1 健脾消癌方对CXCR4、TGF-β、S100A4、S100A8、S100A9、ITGα_vβ₅蛋白表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 1 Effect of Jianpi Xiaocai prescription on protein expression of CXCR4, TGF-β, S100A4, S100A8, S100A9, ITGα_vβ₅ (̄x±s, n=3)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	CXCR4 /GAPDH	TGF-β /GAPDH	S100A4 /GAPDH	S100A8 /GAPDH	S100A9 /GAPDH	ITGα _v β ₅ /GAPDH
正常组		0.180±0.068	0.105±0.033	0.127±0.075	0.096±0.012	0.094±0.028	0.123±0.031
模型组		0.764±0.031 ¹⁾	0.647±0.107 ²⁾	0.712±0.047 ¹⁾	0.659±0.128 ¹⁾	0.669±0.085 ¹⁾	0.722±0.093 ¹⁾
健脾消癌方低剂量组	5.4	0.758±0.038	0.644±0.110	0.580±0.042 ²⁾	0.575±0.130	0.601±0.089	0.658±0.062
健脾消癌方中剂量组	10.8	0.561±0.054 ²⁾	0.390±0.080 ²⁾	0.410±0.105 ²⁾	0.492±0.119 ²⁾	0.386±0.070 ²⁾	0.425±0.152 ²⁾
健脾消癌方高剂量组	21.6	0.332±0.091 ²⁾	0.241±0.068 ²⁾	0.218±0.076 ²⁾	0.236±0.042 ²⁾	0.171±0.018 ²⁾	0.233±0.103 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05

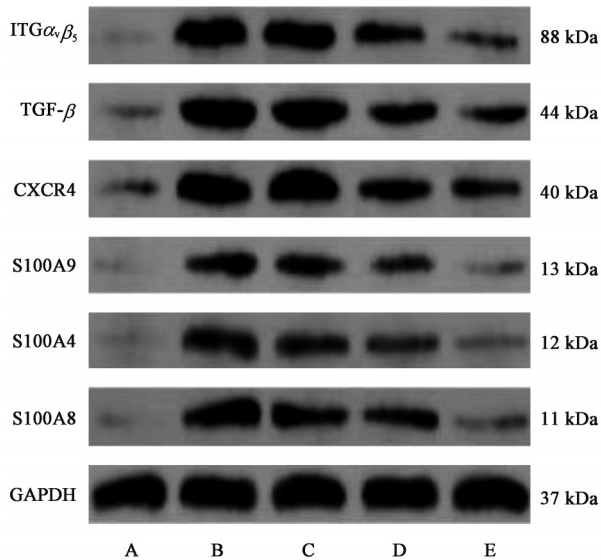


图3 裸鼠肝组织中CXCR4、TGF-β、S100A4、S100A8、S100A9、ITGα_vβ₅蛋白电泳

Fig. 3 Electrophoresis of CXCR4, TGF-β, S100A4, S100A8, S100A9, ITGα_vβ₅ protein in liver tissue of nude mice

的结肠癌细胞表面呈现高表达,在肝细胞来源的调蛋白的作用下可以促进结肠癌肝转移^[24]。还有研究表明肿瘤细胞相关的成纤维细胞在ITGα_vβ₅的黏附作用下与结肠癌细胞黏附在一起,通过分泌运动因子和细胞外基质加工酶促进结肠癌的侵袭^[25]。S100A4、S100A8、S100A9是S100蛋白家族的重要成员。S100A4存在于细胞核、细胞质和细胞外空间,S100A4的高表达与结肠直肠癌的侵袭性肿瘤生长、转移和不良预后密切相关^[26]。S100A8和S100A9是属于S100家族的钙黏蛋白,他们通常以异源二聚体的形式存在。在炎症过程中,S100A8/A9被主动释放,通过刺激白细胞招募和诱导细胞因子分泌,在调节炎症反应中发挥关键作用,也是一种促炎蛋白,在炎症性疾病中表达上调,并通过招募髓系细胞和诱导肿瘤细胞侵袭从而具有促肿瘤活性^[27]。

健脾消癌方是蒋益兰主任医师根据对结肠

癌“虚、瘀、毒”的病机认识而在临床中总结出的经验方。“虚”以脾胃虚弱为主,脾胃气血生化之源,后天之本,脾胃虚弱,则正气虚衰,抗邪无力,易生癌变^[28]。脾失健运,气化失常,水液代谢紊乱,则聚湿生痰,湿性趋下,浸淫肠道,阻滞脉络,毒邪内生,正虚无力抗邪,邪气聚集不解而成痰湿、日久癌毒内生,阻滞气机,则成气滞血瘀或因脾气亏虚,导致推动无力,血行不畅而致气虚血瘀,日久痰瘀毒互结壅阻肠道而成肿瘤,脾气亏虚,失于固摄导致癌毒逃逸扩散形成转移^[29]。其方药为人参、薏苡仁、郁金、藤梨根、白花蛇舌草、重楼。人参、薏苡仁健脾益气;白花蛇舌草、藤梨根、重楼解毒散结;郁金行气活血化瘀。诸药合用,共奏健脾益气、行气活血解毒之功,以达到“健脾消癌”的目的。

恶性肿瘤是全身疾病在局部的表现,远处转移是恶性肿瘤的主要死因。治疗恶性肿瘤,单靠“消灭”战略是不够的,还要考虑“改造”机体,改造癌细胞所处的“环境”,使之不适宜癌细胞的生长^[30]。肿瘤微环境是微观的整体,其与中医的整体观有着相似之处,近年来开展了众多相关研究^[31-33]。学者们认为中医药防治肿瘤转移的优势在于通过长期中医药治疗改善患者机体的内环境,从而起到抗肿瘤转移的作用。“肿瘤微环境”学说认为“土壤”既肿瘤微环境可以影响“种子”既癌细胞的转移潜能^[34]。理论上认为以整体观为指导思想的中医药治疗,一方面可以抑制“种子”既癌细胞及其分泌或携带的相关物质的活性,另一方面又可以调整“土壤”既肿瘤微环境,以使癌细胞难于在此微环境中种植、存活、生长,从而达到抗肿瘤转移的作用。本研究发现高剂量组健脾消癌方能减少肝转移面积减少,中、低剂量组也有减少肝转移的趋势。高、中、低剂量组健脾消癌方能降低裸鼠肝转移模型肝组织中S100A4蛋白表达;高、中剂量组健脾消癌方均能降低裸鼠肝转移模型肝组织中CXCR4、TGF-β、

S100A8、S100A9、ITGa_vβ5 蛋白表达。本研究结果表明健脾消癌方可能通过影响肿瘤微环境中转移相关因子的表达,从而发挥抗结肠癌肝转移的作用,但其具体通过何种途径从而发挥抑制结肠癌肝转移的作用仍待进一步研究。下一步将从影响肿瘤血管生成、促进上皮间质转化过程、维持癌细胞增殖、辅助癌细胞侵袭以及在转移器官的定植、生长等方面进行相关研究。

[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] LU L, MULLINS C S, SCHAFMAYER C, et al. A global assessment of recent trends in gastrointestinal cancer and lifestyle-associated risk factors[J]. *Cancer Commun(Lond)*, 2021, 41(11): 1137-1151.

[3] FOSTER J H. Treatment of metastatic disease of the liver: A skeptic's view[J]. *Semin Liver Dis*, 1984, 4(2): 170-179.

[4] RIBEIRO FRANCO P I, RODRIGUES A P, DE MENEZES L B, et al. Tumor microenvironment components: Allies of cancer progression[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, doi:10.1016/j.prp.2019.152729.

[5] WANF W M, SHEN H, LIU Z N, et al. Interaction between tumor microenvironment, autophagy, and epithelial-mesenchymal transition in tumor progression[J]. *Cancer Treat Res Commun*, 2022, doi:10.1016/j.ctarc.2022.100592.

[6] RUNA F, HAAMALIAN S, MEAD K, et al. Tumor microenvironment heterogeneity: Challenges and opportunities[J]. *Curr Mol Biol Rep*, 2017, 3(4): 218-229.

[7] 李旻珉. CXCR4在大肠癌预后中的作用研究[J]. 临床医药文献杂志,2018,5(20):21-24.

[8] WANG X, DING X, NAN L, et al. Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis[J]. *Oncol Rep*, 2015,33(5):2445-2453.

[9] MUNGER JS, HUANG X, KAWAKATSU H, et al. The integrin α_vβ₆ binds and activates latent TGF beta 1: A mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis[J]. *Cell*, 1999, 96(3): 319-328.

[10] ITATANI Y, KAWADA K, SAKAI Y. Transforming growth factor-beta signaling pathway in colorectal cancer and its tumor microenvironment[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23):5822.

[11] NILAND S, EBLE J A. Hold on or cut? Integrin-and MMP-mediated cell-matrix interactions in the tumor microenvironment [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22

(1): 238.

[12] ENNA A, KORB T, SCHLUTER K, et al. Avβ5-integrins mediate early steps of metastasis formation [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(7): 1065-1072.

[13] LUKANIDIN E, SIEEMAN J P. Building the niche: The role of the S100 proteins in metastatic growth[J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22:216-225.

[14] MILETTE S, SICKLICK J K, LOWY A M, et al. Molecular pathways: Targeting the microenvironment of liver metastases [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(21): 6390-6399.

[15] LIN W, LU J, CHENG B, et al. Progress in research on the effects of traditional Chinese medicine on the tumor microenvironment[J]. *J Integ Med*, 2017, 15(4): 282-287.

[16] 蒋益兰,俞天俊,赵晔. 健脾消癌方治疗老年中晚期大肠癌临床观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2014(3):94-96.

[17] 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.

[18] 杨晓,蒋益兰,李勇敏,等. 健脾消癌方对大肠癌肝转移裸鼠模型肝组织 MMP-9、TIMP-1 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016,22(10):1323-1325.

[19] 宋琳,张利,蒋益兰. 健脾消癌方对缺氧微环境诱导的结肠癌细胞生物学行为影响及抑癌机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2021,41(2):211-217.

[20] HOTTA Y, KASUYA H, BUSTOSU I, et al. Curative effect of HF10 on liver and peritoneal metastasis mediated by host antitumor immunity [J]. *Oncolytic virotherapy*, 2017, doi: 10.2147/OV.S127179.

[21] MAKRODOULI E, OIKONOMOU E, KOC M, et al. BRAF and RAS oncogenes regulate Rho GTPase pathways to mediate migration and invasion properties in human colon cancer cells: A comparative study[J]. *Mol Cancer*, 2011, doi:10.1186/1476-4598-10-118.

[22] TAN H, CAO Z, HE T, et al. TGFβ₁ is essential for MSCs-CAFs differentiation and promotes HCT116 cells migration and invasion via JAK/STAT3 signaling [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5323-5334.

[23] WANG D, WANG X, SI M, et al. Exosome-encapsulated miRNAs contribute to CXCL12/CXCR4-induced liver metastasis of colorectal cancer by enhancing M2 polarization of macrophages [J]. *Cancer Lett*, 2020, 474: 36-52.

[24] YOSHIOKA T, NISHIKAWA Y, ITO R, et al. Significance of integrin α_vβ₅ and erbB3 in enhanced cell migration and liver metastasis of colon carcinomas stimulated by hepatocyte-derived heregulin [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(9): 2011-2018.

[25] KNUCHEL S, ANDERLE P, WERFELLI P, et al.

- Fibroblast surface-associated FGF-2 promotes contact-dependent colorectal cancer cell migration and invasion through FGFR-SRC signaling and integrin $\alpha_5\beta_3$ -mediated adhesion [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(16): 14300-14317.
- [26] STEIN U, BUROCK S, HERRMANN P, et al. Diagnostic and prognostic value of metastasis inducer S100A4 transcripts in plasma of colon, rectal, and gastric cancer patients[J]. *J Mol Diagn*, 2011, 13(2): 189-198.
- [27] NARUMI K, MIYAKAWA R, UEDA R, et al. Proinflammatory proteins S100A8/S100A9 activate NK cells via interaction with RAGE[J]. *J Immunol*, 2015, 194(11): 5539-5548.
- [28] 白建平, 邓宏, 张海波, 等. 刘伟胜教授治疗大肠癌经验简介[J]. *新中医*, 2010, 42(11): 132-133.
- [29] 杨晓, 罗吉, 刘佳琴, 等. 大肠癌肝转移的中医发病机制和预防[J]. *中医药导报*, 2019, 25(7): 99-101.
- [30] 汤钊猷. 消灭与改造并举[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2015: 135.
- [31] 李卫东, 花宝金. 中医药调控肿瘤微环境“稳态”影响肿瘤复发转移的机制初探[J]. *中医杂志*, 2011, 52(22): 1891-1894.
- [32] 刘瑞, 花宝金. 调理脾胃法防治肿瘤的理论基础及分子机制[J]. *中医杂志*, 2013, 54(18): 1608-1612.
- [33] CHEN C, YAO X, XU Y, et al. Dahuang Zhechong pill suppresses colorectal cancer liver metastasis via ameliorating exosomal CCL2 primed pre-metastatic niche[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.jep.2019.111878.
- [34] 程海波, 沈政洁, 孙东东, 等. 抗肿瘤中药对肿瘤微环境的干预作用评述[J]. *中医杂志*, 2014, 55(15): 1343-1346.

[责任编辑 张丰丰]

· 书讯 ·

肛周脓肿术后采用紫草油与康复新液缓解创面愈合的临床观察 ——评《肛肠呵护指南》

肛周脓肿是由大肠埃希菌感染引起的肛门周围软组织化脓性改变,大多来源于肛隐窝感染。肛隐窝呈口袋状,有一个向上的开口,容易积攒粪便,当肛隐窝内堵塞粪便,就成了细菌繁殖的培养皿,引起肛隐窝感染,炎症沿肛门腺和淋巴引流方向扩散到肛管便形成肛周脓肿。大肠埃希菌是机会致病菌,患者可出现肛门周围胀痛,疼痛呈持续性,排便加重。脓肿严重者甚至可出现会阴、腰骶部的疼痛,以及发热乏力等全身炎症表现。根据肛周脓肿出现部分的不同,临床上将其分为肛周皮下脓肿、坐骨直肠窝脓肿、肛提肌上脓肿、直肠黏膜下脓肿、括约肌间脓肿和肛门会阴区坏死性筋膜炎。肛周脓肿的治疗目前以手术治疗为主,手术需彻底清理脓液,紫草油是一种外用药,具有清热解毒、消肿止痛的功效,康复新液可以养阴生肌,通利血脉,促进皮肤伤口愈合。对紫草油与康复新液缓解患者肛周脓肿术后创面疼痛展开了研究。

《肛肠呵护指南》王晏美主编,由中国医药科技出版社2020年出版。该书主要针对肛肠疾病进行系统讲解,对临床上常见的肛肠疾病以及肛肠疾病患者常见的问题做出全面解答。文章内容精炼,重点突出,通过解决问题的方式叙述疾病相关知识。有关肛周脓肿部分分为药物治疗,手术根治、术后护理等方面要点,简要分析紫草油与康复新液缓解肛周脓肿术后创面疼痛的临床效果。肛周脓肿的治疗方式需要根据患者自身情况做出评估后选择,临床上一般采取手术治疗,手术具有治疗彻底,复发率低的特点,但手术创面大,愈合慢,术后患者不适感强烈,术后需要给予有效的措施和护理缓解患者的不适。肛周脓肿术后患者由于创面大、愈合时间长,疼痛明显,会出现较为明显的焦虑心理。医护人员在缓解患者不良情绪的同时要严密观察手术创面,指导患者便后温水清洗伤口,再行换药,换药操作要规范,否则会导致伤口长久不愈合。术后要指导患者多活动,促进康复,多食用富含蛋白的食物。针对患者术后疼痛情况,采用紫草油和康复新液做对比,观察二者缓解疼痛的效果。紫草油与康复新液的治疗区别在于参与的阶段不同。紫草油介入创面愈合的言行反应阶段,紫草油主要在第一阶段加速炎症的消除,通过达到抑制细菌再生、消炎镇痛的作用,激活组织细胞,促进创面愈合,缩短愈合时间使疾病快速进入到恢复阶段;康复新液多用于外伤、烫伤、溃疡等疾病,主要干预创面恢复的细胞增殖和组织重建阶段,减轻创面水肿、促进肉芽肿的形成,提高机体修复能力。紫草油和康复新液通过促进受损部位血管重建,加速坏死组织脱落,达到消炎消肿、促进创面恢复的效果。有相关研究指出,紫草油和康复新液在缓解肛周脓肿术后创面疼痛的临床效果相当,使用两组药物后第6天起,均可开始出现创面腐败组织的脱落,但康复新液促进腐物脱落最长所需时间较紫草油短;在创面愈合缩小率及促进肉芽生长方面,紫草油表现出更优的临床效果。此外,紫草油在换药时引起的创面疼痛相对较小,康复新液换药时需冲洗伤口故引起的不适相对紫草油强烈;而二者最终疗效及创面愈合时效性方面,两种药物效果相当,均具有较好的临床价值。作为外用的中成药,两组药物各有各的特点,且均未出现不良反应和毒性反应,安全性良好,对肛周脓肿术后创面疼痛的缓解和愈合均表现出明确的疗效。综上,紫草油与康复新液在缓解肛周脓肿术后创面疼痛上均有较好的疗效,不易出现耐药性,患者接受程度高,值得在临床上推广。

《肛肠呵护指南》基于大量文献和资料,结合常见肛肠疾病的发病因素、诊断、治疗、调理等,肛肠疾病医学知识,帮助患者认识和了解所患疾病,以便在就诊时能与医生有效交流,更好地配合治疗。非常适合肛肠科及想要在该领域深入研究的相关医师、护理人员研读。

[基金项目] 河北省中医药管理局项目(2019015)

(作者贾佳¹,位艳贵²,周颖^{2*},1.石家庄华药医院,石家庄 050000; 2.河北省中医院,石家庄 050000)