

益肾解毒方对小鼠肺腺癌骨转移瘤 RNase L 蛋白表达的调控作用

张平^{*}, 孙凯, 李永秀, 邱成新, 胡佩岩
(中国中医科学院 望京医院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**研究益肾解毒方对小鼠溶骨性骨转移瘤细胞核糖核酸酶 L (ribonuclease L, RNase L) 蛋白及凋亡终末蛋白半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 蛋白表达的调控作用。**方法:**将已经获得国家专利的肺腺癌溶骨性骨转移细胞株, 给予裸鼠左心室注射, 制备溶骨性骨转移模型, 随机分为 5 组, 益肾解毒方高、中、低剂量 (24, 12, 3 g·kg⁻¹) 组, 帕米磷酸二钠组及模型组, 以 MicroSPECT/CT 显像及病理组织学方法观察骨转移发生情况, 定时定量给药并于 5 周后取材, 通过免疫组织化学、蛋白免疫印迹法 (Western blot) 以及反转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 等方法研究 RNase L, Caspase-3 及益肾解毒方的干预作用。**结果:**与模型组比较, 帕米磷酸二钠组、益肾解毒方高、中、低剂量组骨转移瘤细胞 RNase L 蛋白, mRNA 表达降低 ($P < 0.01$), 益肾解毒方中、低剂量组及帕米磷酸二钠组骨转移灶中 Caspase-3 蛋白, mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)。**讨论:**肺腺癌骨转移灶中 RNase L 高表达, 而细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶 Caspase-3 表达降低, 其内在机制可能与肺腺癌骨转移细胞的凋亡逃避机制相关, 益肾解毒方能够降低 RNase L 表达, 增强 Caspase-3 表达, 一定程度上抑制了肿瘤细胞的凋亡逃避, 这可能是益肾解毒方抗肿瘤的内在机制。

[关键词] 益肾解毒; 肺腺癌; 骨转移; 核糖核酸酶 L; 半胱氨酸蛋白酶-3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)20-0114-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017200114

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170629.0859.002.html>

[网络出版时间] 2017-06-29 8:59

Regulatory Effect of Yishen Jiedu Prescription on Protein Expression of RNase L in Bone Metastasis from Lung Adenocarcinoma

ZHANG Ping^{*}, SUN Kai, LI Yong-xiu, QIU Cheng-xin, HU Pei-yan
(Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the regulating effect of Yishen Jiedu prescription on the protein expression of ribonuclease L (RNase L) and the apoptosis terminal protein Caspase-3 in bone metastasis from lung adenocarcinoma. **Method:** Lung adenocarcinoma cell lines that had won the national patent were injected into left ventricle of nude mice to prepare the bone metastasis model. Then, the mice were randomly divided into five groups: high, middle and low-dose (24, 12, 3 g·kg⁻¹) Yishen Jiedu groups, disodium phosphate group and control group. Finally, with histopathological method and microSPECT/CT imaging method, we can observe the outcome of bone metastases. After administration at fixed time and dose for 5 weeks, dissection was performed, and the expressions of RNase L protein and Caspase-3 protein in bone metastasis from lung adenocarcinoma, and the regulatory effect of Yishen Jiedu prescription was analyzed through immunohistochemistry methods, Western blot and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) methods. **Result:** The model group had the highest expression of RNase L protein and mRNA in bone metastases tumor cells, with significant statistical differences

[收稿日期] 20170104(013)

[基金项目] 中国中医科学院中央级公益性科研院所科研基本业务费自主选题项目 (ZZ070805)

[通讯作者] ^{*}张平, 博士, 主任医师, 从事于中西医结合肿瘤方向研究, Tel: 010-84739040, E-mail: pinglele@sina.com

between the model group and others ($P < 0.01$). However, the model group showed the lowest expression of Caspase-3 protein and mRNA, with significant statistical differences between the middle low dosage group of Yishen Jiedu and disodium phosphate groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** There was a high expression in RNase L expression in bone metastases in patients with lung adenocarcinoma, while Caspase-3, a main terminal protein in the process of cell apoptosis, was extremely low. The internal mechanism may be correlated with the cell apoptosis escape of lung adenocarcinoma bone metastases. The prescription of Yishen Jiedu prescription can inhibit the apoptosis of tumor escape by reducing the expression of RNase L and enhancing caspase-3 protein.

[**Key words**] Yishen Jiedu prescription; lung adenocarcinoma; bone metastasis; RNase L; Caspase-3

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,肺癌的发病率和死亡率已跃居肿瘤前列,一旦发生骨骼转移,严重威胁患者生命。根据临床研究显示,80%的进展期恶性肿瘤患者可能发生骨骼转移,前列腺癌骨转移率最大为 65%~75%,肺癌为 30%~40%^[1],因此,寻找与恶性肿瘤骨转移发生密切相关的关键蛋白或者通路尤为重要。核糖核酸酶 L (ribonuclease L, RNase L) 是一种在干扰素 (interferon, IFN) 抗病毒通路中非常重要的核酸内切酶,属于 2-5 寡腺苷酸合成 (2'-5' oligoadenylate, 2-5A) 系统,主要作用为诱导细胞凋亡及抗肿瘤细胞生长, RNase L 酶功能的正常发挥是控制病毒感染及抵抗肿瘤的基础^[2]。关于 RNase L, 国外研究较多,而国内报道较少,最初对 RNase L 与肿瘤的关系研究源于遗传性前列腺癌, RNase L 基因突变是遗传性前列腺癌的关键候选基因, RNase L 基因突变尤其是缺失突变后,不能发挥其诱导细胞凋亡的作用,导致肿瘤细胞免于程序性凋亡过程^[3], 国外专家将其解释为凋亡逃避。后来各国专家学者对 RNase L 不断研究,发现 RNase L 基因突变与多种肿瘤发病有关,比如肺癌^[4], 胰腺癌^[5], 遗传性非息肉性结直肠癌^[6], 宫颈癌^[7], 乳腺癌^[8], 胆管癌^[9], 口腔癌^[10] 等,基本确定了 RNase L 与肿瘤之间存在密切关联,但具体机制及通路尚不明确, 既知前列腺癌和肺癌均具有较高的骨转移发生率,但 RNase L 是否参与了骨转移的发生,国内外研究尚属空白。益肾解毒方为六味地黄汤加减清热解毒类抗癌中药组成,课题组在前期研究中发现其在改善肾阴亏虚、瘀血阻滞型肿瘤骨转移患者临床症状上具有较好的疗效^[11],但其内在分子生物学机制仍不明,本研究从 RNase L 及凋亡着手,研究肺腺癌骨转移内在机制及益肾解毒方的干预作用。

1 材料

1.1 动物及细胞 免疫缺陷小鼠 BNX75 只, 8~10 周龄, 体重 18~20 g, 雌雄兼用。所有小鼠由

上海浦东新区西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2008-0043,由上海市肿瘤研究所在 SPF 环境下饲养。人肺腺癌溶骨性骨转移细胞株 SPC-A-1 BM 购自上海胸部肿瘤研究所。

1.2 药品及试剂 中药组所需药物益肾解毒方煎剂,成分为熟地黄 20 g, 山药 15 g, 吴茱萸 15 g, 牡丹皮 10 g, 泽泻 10 g, 茯苓 10 g, 骨碎补 10 g, 白花蛇舌草 10 g, 白僵蚕 10 g, 半枝莲 10 g, 由中国中医科学院望京医院中药房提供,并中国中医科学院望京医院王景红主任药师鉴定为正品,由制剂室煎煮水提浸膏,每 1 g 浸膏含生药 3.4 g; 帕米磷酸二钠组注射药物为帕米磷酸二钠 (浙江奥托康制药集团,批号 120106); 哈瑞氏苏木素染液 (北京世济合力生物科技有限公司,批号 20121203); 乙二胺四乙酸 (EDTA, 北京化工厂,批号 20120418); 细胞培养液 (美国 Scellcell 公司,批号 6143); BSA 蛋白标准溶液, SDS-PAGE 上样缓冲液, SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒, 抗 β -肌动蛋白 (β -actin) 鼠单克隆抗体, 山羊抗小鼠免疫球蛋白 (Ig) G 抗体, ECL 高灵敏度化学发光检测试剂盒, 逆转录 (RT) 试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司,批号分别为 CW0017S, CW0027A, CW0022, CW0096, CW0102, CW0049S, CW0740M); 抗体 RNase L 与 Caspase-3 由美国克利夫兰大学临床化学系 Aimin Zhou 教授赠送。引物序列由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, RNase L (544 bp): 上游 5'-ACCAGAACACTGTGGGTGAT-3', 下游 5'-GCATTAGGGGTCAAGGCACT-3'; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH, 309 bp): 上游 5'-GGGAACTGTGGGGTGAT-3', 下游 5'-AAAGGTGGAGGAGTGGGT-3'。

1.3 仪器 BX51 型显微镜 (日本 Olympus 公司); HF SAFE1500 型生物安全柜 (上海力申科学仪器有限公司); BB16UV/BB5060UV 型二氧化碳培养箱 (德国 Heraeus 公司); TE2000-S 型倒置显微镜 (日

本 Nikon 公司);680 型酶标仪,Powerpac Basic 型电泳仪及转膜仪,HeMA9600 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 肺腺癌骨转移裸鼠模型制备及分组给药 根据高转移性人肺腺癌溶骨性骨转移细胞株 SPC-A-1 BM 专利发明人杨顺芳教授的指导下进行操作^[12],将人肺腺癌细胞株 SPC-A-1 BM 用 PBS 溶液制成单细胞悬液(1×10^7 个/mL)。将麻醉后的裸鼠仰卧于固定板上,消毒皮肤,剑突右侧进针,轻轻回抽注射器,可见压力较高的血液进入针筒,显示针尖已进入左心室,注射单细胞悬液(0.1 mL/只),操作完毕,将鼠放回笼中,通过放射性核素扫描观察肿瘤细胞转移到骨组织即为造模成功。将裸鼠随机分为 5 组,每组 15 只,于造模后第 2 天按不同分组进行药物干预。根据临床实际用药剂量即成人每日服 1 剂算,并按照人与小鼠体表面积换算,给药剂量如下,益肾解毒方低、中、高剂量(3,12,24 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组分别给予益肾解毒方浸膏剂混悬液灌胃,1 次/d;帕米磷酸二钠($4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组皮下注射帕米磷酸二钠,2 次/周;模型组皮下注射生理盐水 0.5 mL/只,2 次/周,同时灌胃生理盐水 1 mL,1 次/d。所有动物给药 5 周。

2.2 micro SPECT/CT 显像检测骨组织 分组给药 5 周后,对小鼠行放射性核素骨扫描。每只小鼠尾静脉注射 99 m Tc-MDP 74MBq,分别使用 SIMMENS MULT I-SPECT 机行平面显像,GZ-B 大视野伽马相机行改良型针孔显像^[11]。记录有放射性核素分布异常浓聚或缺损的骨组织。

2.3 苏木素-伊红(HE)染色检测病理组织学 分组给药 5 周后,处死裸鼠,每只裸鼠取其鄂骨、胸骨、椎骨、左右肩胛骨、左右肱骨、左右股骨共 9 个部位的骨组织,脱钙、取材、组织脱水、蜡块包埋、蜡块切片及 HE 染色,光镜下观察裸鼠肿瘤转移情况,并计算各组裸鼠骨转移部位数量。

2.4 免疫组织化学检测 各组小鼠 RNase L 及 Caspase-3 蛋白表达 将切片脱蜡入蒸馏水,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,抗原修复,PBS 洗涤,3%过氧化氢孵育 10 min,PBS 洗涤,一抗(1:200)37 °C 作用 2 h,PBS 洗涤,二抗 37 °C 作用 1 h,PBS 洗涤,显色,苏木素复染,盐酸乙醇分色,饱和碳酸铯返蓝,脱水,透明,封片,运用 MIAS 图像分析管理系统分析结果。

2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 各组小鼠 RNase L 蛋白表达 称取组织 50 mg 加入裂解液 500 μL 中,匀浆器匀浆,10 000 $\times g$ 离心 20 min,取

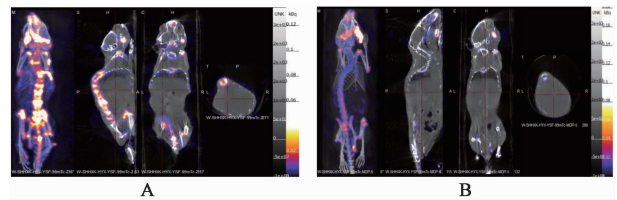
上清液分装备用,BSA 法进行总蛋白定量,绘制标准曲线,计算蛋白浓度,将 SDS-PAGE 上样缓冲液与蛋白样品按照 1:4 混匀,沸水煮 5 min,冷却后离心,电泳,浓缩胶 90 V,分离胶 120 V,转膜,将剪好的滤纸及 NC 膜按从负极到正极,封闭,鼠抗 RNase L (1:100)孵育过夜,二抗室温孵育 50 min,ECL 孵育 1 min,暗室曝光,分析目的条带灰度值,以目的蛋白灰度值/内参灰度值表示蛋白相对表达量。

2.6 逆转录-PCR(RT-PCR)检测 各组小鼠 RNase L mRNA 表达 称取组织 50 mg,匀浆器匀浆,加三氯甲烷离心,取上层水相,加等体积异丙醇,混匀,离心,弃上清,加焦碳酸二乙酯(DEPC)水 40 μL ,把 RNA 沉淀吹匀,用分光光度计检测 260,280 nm 处吸光度 A,RNA 电泳,转 cDNA 试剂盒操作,根据 GenBank 提供相关序列合成引物,PCR 加引物,进行 PCR 扩增,反应条件:95 °C 5 min;95 °C 30 s,58 °C 30 s,72 °C 30 s,30 次循环;72 °C 10 min,1.5%琼脂糖凝胶电泳,以目的条带/内参表示 mRNA 相对表达量。

2.7 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行数据处理,组间比较采用单因素方差分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 益肾解毒方对裸鼠放射性核素扫描显像的影响 放射性核素骨显像是目前诊断骨转移较为先进的技术^[12],本研究中裸鼠肺腺癌骨转移灶在骨扫描片子上表现为放射性核素浓聚,所有骨转移灶均为病理组织学切片证实,模型组发生 100% 的骨转移,益肾解毒方低剂量组未发生骨转移。见图 1。



A. 模型组;B. 益肾解毒方低剂量组

图 1 益肾解毒方对裸鼠肺腺癌骨转移灶放射性核素扫描的影响
Fig.1 Effect of Yishen Jiedu prescription on radionuclide scans

3.2 益肾解毒方对裸鼠骨转移率、骨转移部位数量的影响 模型组免疫缺陷鼠骨转移率为 100%,其他各组骨转移率有不同程度的减小;模型组免疫缺陷鼠骨转移灶个数为 12 个,其他各组转移灶个数有不同程度的减少。表明益肾解毒方与帕米磷酸二钠均可减轻溶骨性骨转移程度,益肾解毒方效果优于帕米磷酸二钠。见表 1。

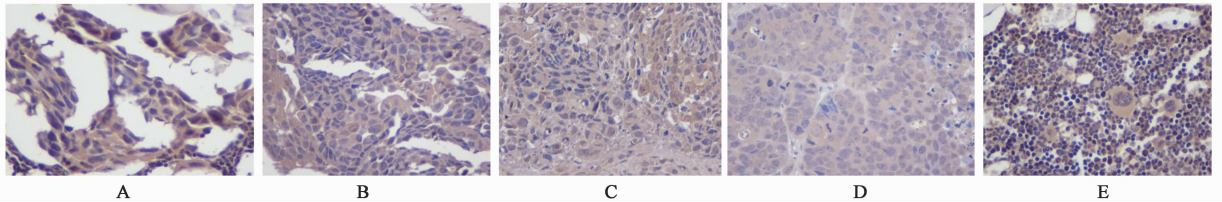
表 1 益肾解毒方对裸鼠骨转移部位数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Yishen Jiedu prescription on number of bone metastases and bone metastases ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	骨转移部位数/个
模型	-	12
帕米磷酸二钠	0.004 5	10
益肾解毒方	24	4
	12	2
	3	0

3.3 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L 及 Caspase-3 蛋白表达的影响

模型组骨转移癌细胞



A. 模型组; B. 帕米磷酸二钠组; C. 益肾解毒方高剂量组; D. 益肾解毒方中剂量组; E. 益肾解毒方低剂量组 (图 3 同)

图 2 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L 蛋白表达的影响 (IHC, ×400)

Fig. 2 Effect of Yishen Jiedu prescription on expression of RNase L in bone metastasis cells (IHC, ×400)

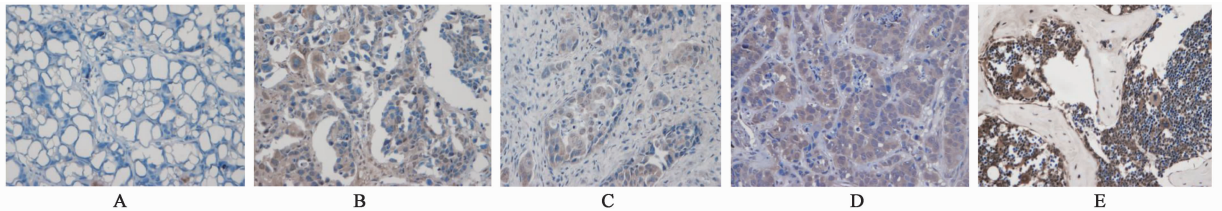


图 3 益肾解毒方对骨转移癌细胞 Caspase-3 蛋白表达的影响 (IHC, ×400)

Fig. 3 Effect of Yishen Jiedu prescription on expression of Caspase-3 in bone metastasis cells (IHC, ×400)

表 2 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L, Caspase-3 蛋白表达积分吸光度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Yishen Jiedu prescription on IA expression of RNase L, Caspase-3 in bone metastasis cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

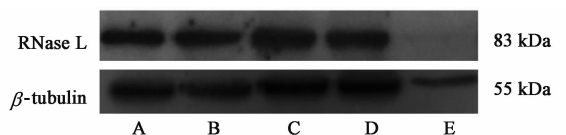
组别	剂量/g·kg ⁻¹	RNase L	Caspase-3
模型	-	61.91 ± 14.06	12.88 ± 2.56
帕米磷酸二钠	0.004 5	21.40 ± 8.63 ¹⁾	39.20 ± 7.89 ¹⁾
益肾解毒方	24	34.56 ± 10.22 ¹⁾	14.42 ± 3.44 ^{1,2)}
	12	20.29 ± 7.01 ¹⁾	29.57 ± 6.63 ^{1,2)}
	3	14.45 ± 7.91 ¹⁾	-

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与帕米磷酸二钠比较²⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 益肾解毒方对裸鼠 RNase L 表达蛋白的影响

与模型组、益肾解毒方高、中剂量组、帕米磷酸二钠组比较,益肾解毒方低剂量组未发生骨转移瘤,骨组织 RNase L 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。表明益肾解毒方低剂量能够降低 RNase L 蛋白的表达。见图 4,表 3。

RNase L 蛋白高表达,与模型组比较,益肾解毒方高、中、低剂量组,帕米磷酸二钠组肿瘤细胞 RNase L 表达显著降低 ($P < 0.01$)。益肾解毒方中剂量组表达最低,与益肾解毒方高剂量组和帕米磷酸二钠组均无统计学差异;表明益肾解毒方益肾解毒方能够降低 RNase L 蛋白表达。模型组 Caspase-3 蛋白低表达,与模型组比较,益肾解毒方中、高剂量组及帕米磷酸二钠组 RNase L 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$),帕米磷酸二钠组 Caspase-3 蛋白表达较益肾解毒方高、中剂量组升高 ($P < 0.01$),益肾解毒方与帕米磷酸二钠可促进 Caspase-3 蛋白表达。见图 2,3,表 2。



A. 模型组; B. 益肾解毒方中剂量组; C. 益肾解毒方高剂量组; D. 帕米磷酸二钠组; E. 益肾解毒方低剂量组

图 4 骨转移癌细胞 RNase L 蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of Yishen Jiedu prescription on expression of RNase L in bone metastasis cells

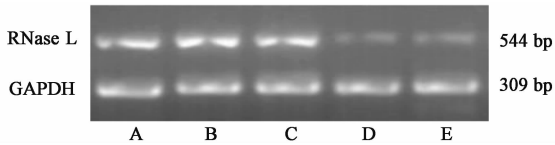
表 3 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Yishen Jiedu prescription on expression of RNase L in bone metastasis cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	RNase L/ β -tubulin
模型	-	1.27 ± 0.91
帕米磷酸二钠	0.004 5	1.01 ± 0.87
益肾解毒方	24	1.22 ± 0.68
	12	1.41 ± 0.79
	3	0.04 ± 0.03 ^{1,2,3)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与帕米磷酸二钠比较²⁾ $P < 0.01$;与益肾解毒方高、中剂量组比较³⁾ $P < 0.01$ 。

3.5 益肾解毒方对裸鼠 RNase L mRNA 表达的影响 与模型组、益肾解毒方高、中剂量组、帕米磷酸二钠组比较,益肾解毒方低剂量组未发生骨转移瘤,骨组织 RNase L mRNA 表达降低($P < 0.05$);与模型组、益肾解毒方高、中剂量组比较,帕米磷酸二钠组骨组织 RNase L mRNA 表达降低($P < 0.05$)。上述结果表明益肾解毒方低剂量与帕米磷酸二钠可以降低 RNase L 蛋白的表达。见图 5,表 4。



A. 模型组; B. 益肾解毒方高剂量组; C. 益肾解毒方中剂量组; D. 帕米磷酸二钠组; E. 益肾解毒方低剂量组

图 5 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L mRNA 表达的影响
Fig. 5 Effect of Yishen Jiedu prescription on mRNA expression of RNase L gene in bone metastasis cells

表 4 益肾解毒方对骨转移癌细胞 RNase L 基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of Yishen Jiedu prescription on expression of RNase L gene in bone metastasis cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	RNase L/GAPDH
模型	-	0.79 ± 0.42
帕米磷酸二钠	0.004 5	0.16 ± 0.13 ^{1,3)}
益肾解毒方	24	1.16 ± 0.79
	12	0.79 ± 0.55
	3	0.04 ± 0.03 ^{1,2,3)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与帕米磷酸二钠比较²⁾ $P < 0.05$;与益肾解毒方高、中剂量组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

本研究通过细胞、蛋白、基因水平的结果证明,肺腺癌骨转移灶中 RNase L 蛋白高表达,与国外学者研究结果一致,国外 YIN 等^[4]研究肺癌组织中 RNase L 的表达发现,肺癌组织中 RNase L 表达是正常组织的 3~9 倍。证明 RNase L 异常高表达参与了肺癌的骨骼转移。历年来,RNase L 以其独特诱导凋亡的能力被大家熟知,通过诱导已被病毒感染的细胞的凋亡来抑制病毒复制,通过诱导增殖失控的肿瘤细胞凋亡来抑制肿瘤细胞生长,细胞凋亡过程中下游蛋白是否加入了 RNase L 的凋亡战线,Caspase-3 蛋白是细胞凋亡的关键执行蛋白,是凋亡过程中最主要的终末剪切酶,又称死亡蛋白酶^[13]。研究结果显示模型组骨转移灶中 Caspase-3 蛋白表达极低,无法正常发挥凋亡机制,可能致使肿瘤细胞

失去正常的生长调控机制,即国外专家解释的“凋亡逃避”。这可能是肺癌骨转移发生的内在分子生物学机制之一。在此基础上,本研究进一步探讨益肾解毒方干预肺腺癌骨转移的内在机制。

本研究通过放射性核素扫描显像确认造模成功,结果显示,益肾解毒方低剂量组未发生骨转移,而模型组发生 100% 骨转移,证明益肾解毒方在治疗肺腺癌骨转移疾病方面切实有效。微观方面,益肾解毒方能够降低 RNase L 表达,增强 Caspase-3 蛋白表达,一定程度上抑制了肿瘤的凋亡逃避,在凋亡通路上起到抗肿瘤细胞生长的作用。

众所周知,骨骼转移是肺癌远处转移的好发器官,骨转移后发生一系列骨相关事件如骨疼痛、活动障碍、病理性骨折、脊髓压迫导致瘫痪、高钙血症等^[14],不仅明显影响患者的饮食、睡眠、情绪、生活能力,甚至威胁患者生命,西药治疗方面,双磷酸盐类药物是目前被证明对骨转移有效的西药,但是不可避免的出现一系列的不良反应,包括疲乏、发热、寒战、肌痛和关节痛等流感样症状,肾功能损害,血浆磷酸盐水平降低及颌骨损害等^[15]。中医学在肿瘤骨转移的治疗方面可以起到增效减毒的作用。中医认为,肺肾两虚,痰毒凝聚,络脉痹阻是肺腺癌骨转移的重要病机,治疗以益肾养精,通络解毒为主。治疗当辨证与辨病相结合,益肾与祛邪兼顾^[16]。有学者研究骨转移癌的中医证型,结果显示骨转移癌患者以肾阴亏虚、热毒蕴结、瘀血阻滞型占比重较大,肾阴亏虚型为 45.5%,热毒蕴结型占比 30.8%,而瘀血阻滞型 13.5%^[17]。紧扣病机,探索治法,益肾解毒方由熟地黄、山药、骨碎补、白花蛇舌草、半枝莲等 10 味中药组成,功能益肾养精、通络解毒,具备较好的临床效果。本文从分子生物学方面研究,结果显示益肾解毒方能够通过 RNase L 及凋亡通路抑制肺腺癌骨转移的发生。

[参考文献]

[1] 陈怀罡,李峻岭. 骨转移瘤治疗进展[J]. 癌症进展, 2011,9(3):259-261.

[2] DONG B, Kim S, HONG S, et al. An infectious retrovirus susceptible to an IFN antiviral pathway from human prostate tumors[J]. PNAS, 2007,104(5):1655-1660.

[3] XIANG Y, WANG Z, Murakami J, et al. Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2', 5'-oligoadenylates [J]. Cancer Res, 2003,63(20):6795-6801.

[4] YIN H, ZHOU A, DAI Y, et al. The association of elevated 2', 5'-oligoadenylate-dependent RNase L with

- lung cancer correlated with deficient enzymatic activity and decreased capacity of RNase L dimerization [J]. *Lung Cancer*, 2012, 78(1):30-38.
- [5] Bartsch D K, Fendrich V, Slater E P, et al. RNase L germline variants are associated with pancreatic cancer [J]. *Int J Cancer*, 2005, 117(5):718-722.
- [6] Krüger S, Silber A S, Engel C, et al. Arg462Gln sequence variation in the prostate-cancer-susceptibility gene RNase L and age of onset of hereditary non-polyposis colorectal cancer: a case-control study [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(8):566-572.
- [7] Barbisan G, Contreras A, Pérez L O, et al. The effect of TP53 codon 72 and RNase L codon 462 polymorphisms on the development of cervical cancer in Argentine women [J]. *Cancer Genet*, 2011, 204(5):270-277.
- [8] Madsen B E, Ramos E M, Boulard M, et al. Germline mutation in RNase L predicts increased risk of head and neck, uterine cervix and breast cancer [J]. *PLoS One*, 2008, 3(6):e2492.
- [9] Hsing A W, Sakoda L C, Rashid A, et al. Variants in inflammation genes and the risk of biliary tract cancers and stones: a population-based study in China [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(15):6442-6452.
- [10] WANG L, ZHANG M, LIU D X, et al. Knock-down of ABCE1 gene induces G₁/S arrest in human oral cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9):5495-5504.
- [11] 张平. 益肾骨康方治疗骨转移癌痛临床研究及对骨转移瘤信号转导机制作用 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [12] 杨顺芳, 董强刚, 姚明, 等. 高转移性人肺腺癌细胞株 SPC-A-1BM 的建立及其特性分析 [J]. *肿瘤*, 2006, 26(12):1059-1063.
- [13] ZHANG Y, Goodyer C, Blanc A L. Selective and protracted apoptosis in human primary neurons microinjection with active Caspase-3, -6, -7 and -8 [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(22):8384-8389.
- [14] Rove K O, Crawford E D. Metastatic cancer in solid tumors and clinical outcome: skeletal-related events [J]. *Oncology*, 2009, 23(14):21-27.
- [15] 孙燕, 管忠震, 廖美琳, 等. 肺癌骨转移诊疗专家共识 (2014 版) [J]. *中国肺癌杂志*, 2014, 95(2):57-72.
- [16] 侯炜, 李杰. 益肾解毒活血抗转移的研究 [J]. *中国肿瘤*, 1999, 8(10):449-450.
- [17] 周红, 胡炳杰. 骨髓转移瘤与中医证型相关分析 [J]. *实用中西医结合杂志*, 1996, 9(9):535-536.

[责任编辑 张丰丰]