

解毒祛瘀方联合化疗对 MCF-7 人乳腺癌 细胞凋亡和 Bcl-2/Bax 表达的影响

王斌¹, 谢广茹¹, 潘战宇¹, 钱钧强¹, 王冬¹, 贾彦焘²

(1. 天津医科大学肿瘤医院, 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”
重点实验室乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060);
2. 天津中医药大学第一附属医院肿瘤科, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察解毒祛瘀方联合化疗对 MCF-7 人乳腺癌细胞凋亡和 Bcl-2/Bax 表达的影响。方法: 采用 MTT 法测定药物对 MCF-7 细胞增殖抑制作用; 流式细胞术双标法检测细胞凋亡指数; 免疫细胞化学检测 Bcl-2, Bax 的表达状况。结果: 解毒祛瘀方能够抑制 MCF-7 细胞的增殖, 且对时间、药物浓度呈依赖关系; 对化疗有增效作用。通过流式细胞术双标法检测发现解毒祛瘀方对诱导早期 MCF-7 细胞凋亡更有优势; 在分子蛋白层面上, 解毒祛瘀方可以明显降低 MCF-7 细胞 Bcl-2 的表达, 且对时间、药物浓度呈依赖关系; Bax 表达与对照组比较则无明显差异; Bcl-2/Bax 呈下降趋势。结论: 解毒祛瘀方能抑制肿瘤细胞增殖, 促进凋亡, 并对化疗有增效作用, 降低 Bcl-2 表达是其可能机制之一。

[关键词] 乳腺癌; 解毒祛瘀方; MCF-7; 流式细胞术; Bcl-2/Bax

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0236-05

[doi] 10.11653/syfj2013210236

Effects of Jiedu Quyu Prescription Combined with Chemotherapy on Expression of Bcl-2/Bax and Apoptosis of MCF-7 Cells

WANG Bin¹, XIE Guang-ru¹, PAN Zhan-yu¹, QIAN Jun-qiang¹, WANG Dong¹, JIA Yan-tao²

(1. Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China;

2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** Observe the effects of Jiedu Quyu prescription combined with chemotherapy on expression of Bcl-2/Bax and apoptosis of MCF-7 cells. **Method:** Use the MTT to determinate the inhibitory action of medicine to MCF-7 cells; flow cytometry to detect the apoptotic index; immunocytochemistry to examine the Bcl-2, Bax expression. **Result:** Jiedu Quyu prescription can inhibit the MCF-7 cells proliferation, and on time, drug concentration-dependent; of chemotherapy synergies. Flow cytometry find that Jiedu Quyu prescription on inducing apoptosis in MCF-7 cells early advantage; and it also can decreasing the Bcl-2 expression in MCF-7 cells, also depend on time and drug concentration. **Conclusion:** The Jiedu Quyu prescription displayed its effect of inhibiting and inducing to apoptotic. It may be associated with the down-regulate of the expression of Bcl-2.

[Key words] breast cancer; Jiedu Quyu prescription; MCF-7; flow cytometry; Bcl-2/Bax

乳腺癌(breast cancer)是发生于乳腺小叶和导管上皮的恶性肿瘤,为女性最常见的恶性肿瘤之一。

全世界每年约有 130 万人被诊断为乳腺癌,而有约 40 万人死于该肿瘤。北美和欧洲是乳腺癌的高发区,其发病率约为亚、非、拉美地区的 4 倍。我国虽是乳腺癌的低发区,但近 20 年来,我国乳腺癌的发病率逐年上升,尤其在上海、北京、天津及沿海地区,乳腺癌已位居女性恶性肿瘤之首,且越来越呈现出年轻化的趋势,严重危害广大妇女的健康。因此乳

[收稿日期] 20130626(015)

[基金项目] 天津市卫生局中医科研项目(13139)

[通讯作者] * 王斌, 硕士, 从事中西医结合肿瘤研究, Tel: 13820156627, E-mail: wbin8888@163.com

腺癌早期发现、及时治疗是保证良好预后的关键。解毒祛瘀方是导师多年治疗乳腺癌的经验方^[1],且在体内动物实验中已证实有确切的疗效^[2]。本研究旨在运用体外细胞学实验检测解毒祛瘀方对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡的影响,并从分子蛋白水平来分析解毒祛瘀方的作用机制,寻找作用靶点。为研制乳腺癌新药提供新的方向。

1 材料

1.1 细胞株 乳腺癌 MCF-7 细胞株,天津医科大学微生物教研室提供,体外培养于含 10% 胎牛血清 RPMI-1640 培养液中,置 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的二氧化碳培养箱中培养。

1.2 药物及试剂 解毒祛瘀方:主要药物为姜黄、马勃、白花蛇舌草等,采用水煎醇提法制备生药,天津中医药大学第一附属医院提供。

5-氟脲嘧啶(5-Fu,天津金耀氨基酸有限公司,批号 1302211),0.9% NaCl 溶液(中国大冢制药有限公司),MTT(Sigma 公司),Annexin-V-FITC 凋亡检测试剂盒(含 PI,美国 Beckman Coulter 公司),SP 免疫组化试剂盒及 DAB 染色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),Bcl-2, Bax 抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 仪器 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Forma 公司),A-5002 型酶标仪(TECAN AUSTRIA,奥地利),TE300 显微镜(Nikon 产品),LKB-2088V 型超薄切片机(瑞典 BROMMER 公司),FACScaliber 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),MD-20 型图象分析仪(德国徕卡)。

2 方法

2.1 细胞培养 常规方法复苏冻存的 MCF-7 细胞,用 RPMI-1640 培养液(内含 10% 胎牛血清,青霉素 100 U·mL⁻¹,链霉素 100 U·mL⁻¹)培养,细胞长成致密单层后,弃去培养基,用 0.25% 胰蛋白酶(含 0.05% EDTA)消化 3~5 min,显微镜下观察细胞回缩时,停止消化,倒去消化液再用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液终止消化,轻轻吹打成均匀单层细胞悬液,按 1:3 比例传代扩增。

2.2 MTT 法测定药物对 MCF-7 细胞增殖抑制作用

取对数生长期 MCF-7 接种于 96 孔板中,每孔细胞数 1×10^4 个,加入各干预组药物,每孔终体积为 200 μ L,每组 6 个平行孔,重复实验 3 次($n = 18$)。设调零孔,正常细胞孔。置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,换无血清 RPMI-1640 培养液,继续置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 48 h 后,每孔加入 MTT 液

(5 g·L⁻¹)20 μ L,继续培养 4 h,弃去孔内培养液,加入 DMSO 200 μ L,振荡器振荡 10 min,用酶标仪于 490 nm 波长处测定各孔的 A,按照下式求出生长抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = (1 - A_{\text{实验组}} / A_{\text{空白对照组}}) \times 100\%$$

实验分组:中药低、中、高剂量组解毒祛瘀方 0.625,1.25,2.5 g·L⁻¹,化疗组 5-Fu 10 mg·L⁻¹,中药低剂量 + 化疗组解毒祛瘀方 0.625 g·L⁻¹ + 5-Fu 10 mg·L⁻¹,中药中剂量 + 化疗组解毒祛瘀方 1.25 g·L⁻¹ + 5-Fu 10 mg·L⁻¹,中药高剂量 + 化疗组解毒祛瘀方 2.5 g·L⁻¹ + 5-Fu 10 mg·L⁻¹。

2.3 流式细胞术双标法检测细胞凋亡指数 用 Annexin-V-FITC/PI 双标法检测 MCF-7 经不同药物干涉组,作用 24 h 后的凋亡率。在二维的流式细胞术(FCM)分析图上,细胞分为 4 个亚群。左下象限是正常细胞群,为 FITC(-)/PI(-);右下象限是凋亡细胞,为 FITC(+)/PI(-);右上象限是坏死细胞,为 FITC(+)/PI(+);左上象限是机械损伤细胞,为 FITC(-)/PI(+)

取生长良好的 MCF-7 细胞接种于 6 孔板,每孔细胞数为 1×10^5 个,用含 10% 胎牛血清及青霉素 100 U·mL⁻¹,链霉素 100 U·mL⁻¹ 的 RPMI-1640 培养液培养 24 h 后,于 24 h 吸弃原培养液,加入各干预组(包括空白组),于 0 h 用 0.25% 胰酶(含 EDTA 0.05%)消化细胞,显微镜下观察细胞出现回缩时,用含 10% 胎牛血清的 1640 液终止消化。1 000 r·min⁻¹,40 °C 离心 5 min,弃上清液。重复清洗离心 2 次。将细胞重悬浮于 200 μ L Binding Buffer 结合缓冲液。顺序加入 5 μ L AnnexinV-FITC,5 μ L PI,40 °C 避光孵育 10 min,FCM 检测细胞凋亡指数。实验重复 3 次,取平均值。

实验分组:空白组含 10% 胎牛血清的 1640 液,作用 24 h;解毒祛瘀方组 2.5 g·L⁻¹,作用 24 h;5-Fu 组 10 mg·L⁻¹,作用 24 h;解毒祛瘀方 + 5-Fu 组(D 组)2.5 g·L⁻¹解毒祛瘀方和 10 mg·L⁻¹ 5-Fu 混合溶液,作用 24 h。

2.4 免疫细胞化学检测 Bcl-2, Bax 的表达状况 按细胞 HE 染色相同方法培养细胞、分组及药物处理。细胞在不同药物浓度、时间作用后,取出长满细胞的盖玻片,PBS 冲洗 3 次,80% 冷丙酮 40 °C 固定 20 min,晾干置于 40 °C 冰箱保存。免疫组化染色:用 0.5% TritonX-100 处理 5 min,然后浸入过氧化物酶阻断液中 10 min,0.01 mol·L⁻¹(pH 7.4) 的 PBS 液洗 3 min \times 3 次;加 50 μ L 1% 白蛋白,室温 10

min;甩掉白蛋白液,加 50 μL 第一抗体 (Bcl-2, Bax), 40 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜;PBS 液洗 3 min \times 3 次;加 50 Biotin 第二抗体,室温 20 min;PBS 液洗 3 min \times 3 次;加 50 μL 链霉素-抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液,室温 20 min;PBS 液洗 3 min \times 3 次;加 100 μL 新鲜配置的 DAB 溶液,显色 3 ~ 10 min,苏木素衬染(需要观察细胞核内表达情况时不需衬染)、脱水透明、中性树胶封片。

染色结果的判定和分析:Bcl-2, Bax 阳性表达主要在细胞胞质靠近细胞核膜的部位,染色由浅黄至棕褐色^[3]。选择高倍镜($\times 400$)视野下随机选取 10 个高倍视野,用图像分析仪测定免疫组化阳性细胞的平均吸光度(A)来评定。

空白对照组:含 10% 胎牛血清 1640 液,分别作用 24, 48 h;解毒祛瘀方组:2.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 分别作用 24, 48 h;中药低剂量组:解毒祛瘀方 0.625 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 作用 48 h;中药中剂量组:解毒祛瘀方 1.25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 作用 48 h;中药高剂量组:解毒祛瘀方 2.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 作用 48 h。

2.5 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;应用 SPSS 15.0 分析软件统计分析,采用两样本均数比较的 t 检验,多个样本均数比较的单因素方差分析法。 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 解毒祛瘀方对 MCF-7 细胞增殖抑制作用 实验结果显示:①空白对照组细胞随时间延长增殖明显,培养 24, 48 h 各药物组 A 与对照组有差异($P < 0.01$),表示抑制了 MCF-7 细胞的生长。培养 48 h 各实验组的这种抑制作用比 24 h 更为明显($P < 0.01$),显示有时效关系的趋势。在同一时段,随着药物浓度的增加,各实验组 A 逐渐减小($P < 0.01$),显示有剂量依赖性的趋势。②各浓药物组在不同时段对 MCF-7 细胞的抑制率随浓度的增大而呈现增长的趋势,随培养时间的延长亦呈现增长的趋势($P < 0.01$)。③化疗组与中药高剂量组相比有显著差异($P < 0.01$),提示其抑制作用强于中药组。中药 + 化疗组与化疗组相比有显著差异($P < 0.01$),提示中药对化疗有增效作用(表 1)。

表 1 MTT 法测定解毒祛瘀方对 MCF-7 细胞增殖抑制作用

组别	剂量	24 h		48 h	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%
空白对照	-	1.119 \pm 0.011	-	1.420 \pm 0.020	-
解毒去瘀方	6.25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	0.959 \pm 0.017 ¹⁾	14.30	0.911 \pm 0.023 ^{1,8)}	35.85
	1.25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	0.852 \pm 0.020 ^{1,2)}	23.86	0.826 \pm 0.010 ^{1,2,8)}	41.83
	2.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	0.765 \pm 0.013 ^{1,2,3)}	31.64	0.703 \pm 0.011 ^{1,2,3,8)}	50.49
化疗	10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.664 \pm 0.010 ^{1,2,3,4)}	40.66	0.614 \pm 0.012 ^{1,2,3,4,8)}	56.76
解毒去瘀方 + 化疗	0.625 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.563 \pm 0.015 ^{1,2,3,4,5)}	49.69	0.508 \pm 0.011 ^{1,2,3,4,5,8)}	64.23
	1.25 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.456 \pm 0.023 ^{1,2,3,4,5,6)}	59.25	0.399 \pm 0.017 ^{1,2,3,4,5,6,8)}	71.90
	2.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.361 \pm 0.018 ^{1,2,3,4,5,6,7)}	67.74	0.311 \pm 0.015 ^{1,2,3,4,5,7,8)}	78.10

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与中药低剂量组比较²⁾ $P < 0.01$;与中药中剂量组比较³⁾ $P < 0.01$;与中药高剂量组比较⁴⁾ $P < 0.01$;与化疗药组比较⁵⁾ $P < 0.01$;与中药低剂量 + 化疗组比较⁶⁾ $P < 0.01$;与中药中剂量 + 化疗组比较⁷⁾ $P < 0.01$;与 24 h 同剂量组比较⁸⁾ $P < 0.01$ 。

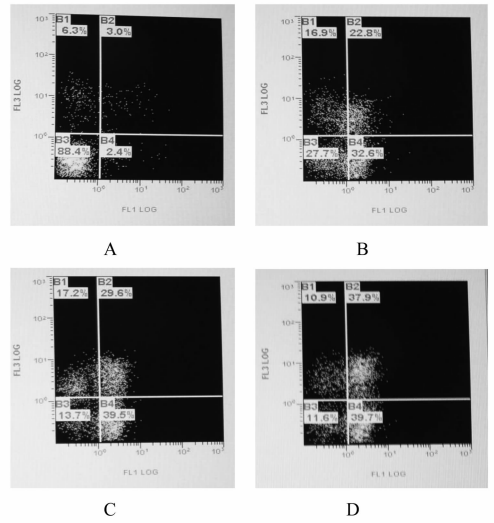
3.2 凋亡率检测 应用 Annexin V-FITC/PI 双荧光染色法可以检测凋亡,并且定量凋亡率。细胞发生凋亡时细胞膜上的磷脂酰丝氨酸(PS)由细胞膜的胞浆一侧转移至外侧。Annexin V 是 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白,与 PS 有高亲和力,用于鉴定暴露有 PS 的凋亡细胞;PI 被用于鉴别存活细胞和非存活细胞,有完整细胞膜的存活细胞可排斥 PI,而死亡或受损细胞的细胞膜可使 PI 渗入;因此 AnnexinV 阳性而 PI 阴性的细胞为早期凋亡的细胞;Annexin V 和 PI 双阳性细胞可以是凋亡的晚期阶段正在发生

坏死,也可能是已经死亡;Annexin V 和 PI 双阴性细胞为活细胞。

空白组和各药物组干预 MCF-7 细胞 24 h 后, Annexin V-FITC/PI 双染用流式细胞仪检测凋亡率。结果显示 A 组(空白对照组)MCF-7 细胞凋亡率为 5.4%(早期凋亡率为 2.4%,晚期凋亡率为 3.0%); B, C, D 组(解毒祛瘀方组、5-Fu 组、解毒祛瘀方 + 5-Fu 组)处理的 MCF-7 细胞凋亡率分别为 55.4%(早期凋亡率为 32.6%,晚期凋亡率为 22.8%), 69.1%(早期凋亡率为 39.5%,晚期凋亡率为 29.6%),

77.6% (早期凋亡率为 39.7%, 晚期凋亡率为 37.9%)。表明解毒祛瘀方能显著诱导肿瘤细胞凋亡,作用较化疗组弱,而与化疗联用能则够进一步增强化疗药物对凋亡的影响。Annexin v-FITC 和 PI 双染后流式细胞仪检测结果见图 1。

3.3 解毒祛瘀方对凋亡相关基因 Bcl-2, Bax 表达的影响 Bcl-2 蛋白随着时间的延长和解毒祛瘀方浓度的增加,其表达渐下降;解毒祛瘀方低剂量组对 MCF-7 作用 48 h 后,使 Bcl-2 蛋白表达下降但不显著;中剂量组作用 48 h 后,Bcl-2 有显著的减少;Bax 的表达在药物作用后有升高,但与 Bcl-2 相比变化幅度不大;由于 Bcl-2 随时间和药物浓度的增加而下降,Bax 升高但幅度不大,因此 Bcl-2/Bax 随之下降(表 2,3,图 2)。



A. 空白对照组; B. 解毒祛瘀方组;
C. 5-Fu 组; D. 解毒祛瘀方 + 5-Fu 组 (图 2 同)
图 1 不同浓度解毒祛瘀方对 MCF-7 细胞凋亡的影响

表 2 解毒祛瘀方 (2.5 g·L⁻¹) 在不同时间对 MCF-7 细胞中 Bcl-2、Bax 表达 (A) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

时间/h	空白对照组			解毒祛瘀方组		
	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
24	0.95 ± 0.07	0.24 ± 0.05	4.15 ± 0.99	0.79 ± 0.16 ¹⁾	0.25 ± 0.04	3.32 ± 0.98 ¹⁾
48	0.96 ± 0.07	0.22 ± 0.06	4.56 ± 1.32	0.60 ± 0.14 ^{1,3)}	0.32 ± 0.04 ^{1,2)}	1.91 ± 0.49 ^{1,2)}

注:与空白对照组比¹⁾ P < 0.05;与 24 h 比较²⁾ P < 0.05。

表 3 不同浓度解毒祛瘀方对 MCF-7 细胞中 Bcl-2、Bax 表达 (A) 的影响 (48 h) ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·L ⁻¹	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
空白	-	0.96 ± 0.07	0.22 ± 0.06	4.56 ± 1.32
解毒祛瘀方	0.625	0.83 ± 0.06	0.25 ± 0.04	3.41 ± 0.69
	1.25	0.71 ± 0.07 ¹⁾	0.28 ± 0.03	2.55 ± 0.48 ¹⁾
	2.5	0.60 ± 0.14 ¹⁾	0.32 ± 0.04	1.91 ± 0.49 ¹⁾

注:与空白对照组比¹⁾ P < 0.05。

4 讨论

解毒祛瘀方为导师经多年临床探索筛选而得,认为治疗肿瘤必须兼顾瘀血、热毒、阴虚 3 个方面。叶天士凉血散血法虽然是为温热病热人营血所制定,已兼顾了瘀血、热毒、阴虚的病机。如,“凉血”为清热凉血,“散血”则包涵活血化瘀和养阴之意,从叶天士选用的药物,生地黄、牡丹皮、阿胶、赤芍,可以证明这一点。以此为指导,制定凉血散血方,旨在活血化瘀,育阴清热解毒^[4]。解毒祛瘀方的立法选方精神与凉血散血方是一脉相承的,反应了导师临床治疗肿瘤重视瘀毒的学术观点。

现代药理研究表明,白花蛇舌草主要成分为甾

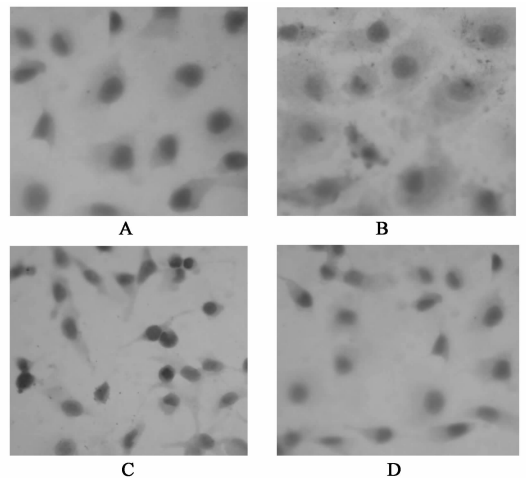


图 2 解毒祛瘀方对凋亡相关基因 Bcl-2, Bax 表达的影响

醇类、三萜类、环烯醚萜苷类、生物碱及蒽醌类等物质,具有良好的抗癌效用。体外试验有杀肝癌细胞作用,体内试验对小鼠肉瘤 (S180) 有明显抑制作用,能使肿瘤细胞的核分裂特别是有丝分裂显著受到抑制,致瘤体变性坏死;平板法体外筛选发现本品对人体肺癌、急性淋巴性白血病、急性粒细胞性白血病细胞及宫颈癌细胞等,均有较强的抑制作用,并能增强机体免疫机制,刺激网状内皮系统增生,促进抗

体形成,增强白细胞的吞噬功能。临床应用研究证实,本品对胃癌、肝癌、恶性淋巴瘤、白血病、绒毛膜癌、鼻咽癌等多种恶性肿瘤有良好的治疗效果。马勃含有马勃素、马勃酸、马勃黏蛋白、马勃素葡萄糖苷、麦角甾醇、尿素、亮氨酸、酪氨酸及类脂质等;大马勃子实体尚含维生素 C 等成分。脱皮马勃有明显的止血作用,且不亚于淀粉海绵或明胶海绵;对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌及少数致病真菌有一定抑制作用;大马勃有抗癌活性^[5]。崔磊等^[6]从灰包科脱皮马勃属真菌脱皮马勃 *Lasiosphaera fenzi* Reich 的干燥子实体的脂溶性部分分得了 6 种化合物,经过理化常数和波谱分析,分别鉴定为 ergosta-7, 22-diene-3 β -one (**1**)、ergosta-5, 7, 22-triene-3 β -ol (**2**)、5 α -lanosta-8(9), 23-diene-3 β , 25-diol-22-acetate ester (**3**)、ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one (**4**)、(2S, 3S, 4R, 2' R)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (**5**)、 β -谷甾醇 (**6**)。并用肝癌细胞 Bel-7402 和神经胶质瘤细胞 C6 对化合物 **1**, **4**, **5** 的抗肿瘤活性进行了初步的筛选,发现化合物 **1** 在测定浓度范围内呈现出良好剂量依赖性抑制作用。其他马勃提取物也多有抗癌作用报导^[7-9],马勃多糖 PS[**3**]在 100 mg·L⁻¹对移植内 S-180 肉瘤细胞具有明显的抑制作用;麦角甾-5 α , 8 α -环二氧-6, 22-二烯-3 β -醇不仅对 MCF-7 和 Walker 256 肿瘤细胞有抑制作用,还具有将其杀死的作用;麦角甾-4, 6, 8(14), 22-四烯-3-酮对 HT-29, Hela 229, Hep 3B 和 AGS 肿瘤细胞均有抑制作用。姜黄主要成分为姜黄酮、姜黄素。现代药理研究证明姜黄在抗肿瘤、抗炎、保护肝脏及胃肠道方面有着广泛的生物活性,可用于呼吸道疾病、胃肠道疾病、结膜炎、皮肤感染、关节炎等的治疗,尤适用于有血栓形成危险的老年病人^[10]。姜黄素是从姜黄的根茎中提取出来的一种脂溶性酚类色素,是一种天然的食品添加剂,常用于食品上色和佐味,是咖喱、芥末的主要色素。姜黄素是姜黄发挥药理作用的主要成分,姜黄素具有多种药理作用,如抗炎、抗氧化、抗诱变、抗凝、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗 HIV 病毒、抗菌及抗肿瘤作用等,尤其是具有天然的抗肿瘤作用,备受关注^[11]。

本实验结果显示,解毒祛瘀方能够抑制 MCF-7 细胞的增殖,且对时间、药物浓度呈依赖关系;对化疗有增效作用。通过流式细胞术双标法检测发现解毒祛瘀方对诱导早期 MCF-7 细胞凋亡更有优势;在分子蛋白层面上,笔者观察到解毒祛瘀方可以明显降低 MCF-7 细胞 Bcl-2 的表达,且对时间、药物浓度呈依赖关系;Bax 表达与对照组比较则无明显差异;Bcl-2/Bax 呈下降趋势。

[参考文献]

- [1] 张蕴超,李小江,贾英杰,等.扶正解毒祛瘀方药联合化疗治疗乳腺癌术后临床观察[J].上海中医药杂志,2011,45(11):64.
- [2] 王斌,谢广茹,潘战宇,等.解毒祛瘀方联合化疗对 EMT-6 乳腺癌细胞株凋亡和 COX-2 表达的影响[J].上海中医药杂志,2011,45(10):75.
- [3] 邓虹,石淑华,肖华伍,等.Bcl-2、Bax 的表达与乳腺癌的临床病理和预后的关系[J].湖南师范大学学报:医学版,2005,2(4):34.
- [4] 贾彦焘,陈亮,贾英杰,等.凉血散血法治疗肿瘤热 40 例[J].中医杂志,2004,45(1):65.
- [5] 张廷模,杨敏,陈勇,等.中药学[M].北京:高等教育出版社,2002:106.
- [6] 崔磊,宋淑亮,孙隆儒.脱皮马勃化学成分研究及抗肿瘤活性的初筛[J].中药材,2006,29(7):703.
- [7] 孟延发,杨国玲,周秀芳.马勃多糖的研究[J].兰州大学学报:自然医学版,1990,26(2):99.
- [8] KirstiKahlos. Ergosterol peroxide, an active compound from *Inونتus radiatus*. [J]. Planta Medica, 1989, 55: 389.
- [9] Wi Yong Lee. Cytotoxic activity of ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraen-3-one from the sclerotia of polyporusumbellatus[J]. Bull Korean Chem Soc, 2005, 26:361.
- [10] 李霞,王晓华,杨保华.姜黄的研究进展[J].药学实践杂志,2003,21(5):298.
- [11] 杨甫文,黄金中.姜黄素抗肿瘤机制研究进展[J].福州总医院学报,2006,13(4):248.

[责任编辑 邹晓翠]