

肠胃清介导 CXCR4/CXCL12 信号转导 通路干预小鼠结肠癌肝转移

吴东辉, 朱晏伟*

(上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科, 上海 200062)

[摘要] **目的:** 观察中药复方肠胃清对小鼠结肠癌肝转移的抑制作用, 从趋化因子受体 4 (CXCR4)/趋化因子 12 (CXCL12) 信号转导通路及基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 的表达探讨肠胃清抑制结肠癌肝转移的作用机制。**方法:** 采用原位瘤块接种法建立小鼠结肠腺癌细胞 CT26 肝转移模型, 实验共分为 4 组, 即假手术组、模型组、肠胃清低剂量组和高剂量组。假手术组和模型组均给予生理盐水, 肠胃清低、高剂量组小鼠每日给药量分别为 10.37, 20.74 g·kg⁻¹。HE 染色法判断肝转移; 免疫组织化学和实时荧光定量 PCR 实验方法检测 CXCR4, CXCL12 和 MMP9 的表达。**结果:** 肠胃清低、高剂量组小鼠结肠癌原位瘤的质量抑制率分别为 24.73%, 45.91%; 体积抑制率分别为 27.93%, 63.48%。模型组与肠胃清低、高剂量组肝转移率分别为 75%, 37.5%, 12.5%。模型组结肠癌组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 的蛋白和 mRNA 表达显著高于假手术组 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 肠胃清低剂量组和高剂量组 CXCR4 的蛋白和 mRNA 表达显著减低 ($P < 0.05$); 肠胃清低剂量组和高剂量组 CXCL12 的蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$); 肠胃清高剂量组 CXCL12 的 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$); 肠胃清高剂量组 MMP9 的蛋白和 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$)。**结论:** 肠胃清抑制小鼠结肠癌原位瘤的生长和肝转移的发生率, 肠胃清抑制结肠癌肝转移可能与其下调小鼠结肠癌原位瘤组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 的表达有关。

[关键词] 肠胃清; 结肠癌; 肝转移; 趋化因子 12; 趋化因子受体 4; 基质金属蛋白酶 9

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0242-06

Changweiqing Cediates CXCR4/CXCL12 Signal Pathway to Intervene Liver Metastasis of Colorectal Cancer in Mice

WU Dong-hui, ZHU Yan-wei*

(Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the inhibitory effect of Changweiqing on liver metastasis of colorectal cancer in mice, and investigate the related mechanism of Changweiqing on liver metastases of colorectal cancer, by Chemokine Ligand 12 (CXCL12)/Chemokine Receptor 4 (CXCR4) the signal transduction pathway and the expression of Matrix metalloproteinase 9 (MMP9). **Method:** We established the liver metastases model of mice with implanted colon cancer CT26. Mice were divided into four groups, namely sham operation group, model group, the low dose group and the high dose group of Changweiqing. Sham operation group and model group were given normal saline, Changweiqing low and high dose groups were administrated with 10.37, 20.74 g·kg⁻¹ respectively. The HE staining was performed to judge liver metastasis. The expression of the CXCR4, CXCL12, and MMP9 was detected by immunohistochemistry and quantitative real-time PCR in the colorectal tumor tissues and the normal colon tissue. **Result:** The weight inhibition rates of colon in situ tumor in Changweiqing low and high dose groups were 24.73%, 45.91%; while the volume inhibition rates were 27.93%, 63.48%. The liver metastasis rates were 75%, 37.5%, 12.5% in the model group, Changweiqing low and high dose groups respectively. The CXCR4, CXCL12, MMP9 protein and mRNA expression of the colon tumor tissue in model group

[收稿日期] 20120212(014)

[基金项目] 院级课题(Y-46)

[第一作者] 吴东辉, 硕士, 住院医师, 从事中医药治疗肿瘤临床研究, Tel:13816794905, E-mail:wudonghui100@live.cn

[通讯作者] * 朱晏伟, 硕士, 主任医师, 从事中医药治疗肿瘤临床研究, Tel:13818018601, E-mail:shzxn@hotmail.com

were significantly higher than that in the sham operation group ($P < 0.05$), while the low and high dose Changweiqing could reduce their expressions ($P < 0.05$). CXCR4 protein and mRNA expression in Changweiqing low dose and high dose groups showed significant decrease compared with those in model group ($P < 0.05$). CXCL12, protein expression in Changweiqing low dose and high dose groups was significantly decreased compared with that in the model group ($P < 0.05$). CXCL12 mRNA in Changweiqing high dose group was significantly decreased compared with that in the model group ($P < 0.05$). For MMP9 protein and mRNA expression, Changweiqing high dose could decrease them significantly compared with those in the model group ($P < 0.05$).

Conclusion: Changweiqing inhibits the colorectal cancer tumor growth in situ and the incidence of liver metastasis in mice, The mechanism is likely related to the down-regulation of CXCR4, CXCL12, MMP9 expression in the tumor tissue.

[Key words] Changweiqing; colorectal cancer; liver metastasis; CXCL12; CXCR4; MMP9

结直肠癌(CRC)是常见的消化道恶性肿瘤之一。在美国,其发病率居恶性肿瘤的第3位,死亡率居恶性肿瘤第2位^[1]。在我国,随着生活习惯和饮食结构等因素的改变,CRC的发病率和死亡率呈逐年上升的趋势。2008年《中国卫生统计提要》示CRC病死率位居恶性肿瘤第5位^[2],发病率以每年4.2%的速度上升^[3],全世界以3%的速度上升^[4],严重危害人类的健康。随着诊断技术的发展,越来越多的CRC患者得以在早期发现,但仍约20%~40%的患者在确诊时已发生肝转移,失去手术根治的机会。然而即使在早期切除原发肿瘤后,仍有50%患者发生复发和转移^[5],术后5年生存率徘徊在50%左右^[6],对于死于CRC的患者,尸检发现肝转移率高达60%~71%^[7]。因此,研究CRC肝转移的分子机制以阻止或延缓其发生是提高患者生存率的主要途径之一。

近年来研究发现,趋化因子及其受体在肿瘤细胞侵袭转移中发挥重要作用,其分子机制涉及促进细胞增殖^[8]、增强基质降解^[9]、加快血管新生^[10]、提高黏附能力^[11]、诱导细胞运动^[12]等诸多因素。目前发现至少有23种肿瘤细胞高表达趋化因子受体4(CXCR4),而其转移的靶器官可以释放趋化因子受体12(CXCL12),从而促进肿瘤细胞的定向转移^[13]。本实验采用原位瘤块接种法建立小鼠结肠癌细胞CT26肝转移模型,观察我院范忠泽教授的经验方肠胃清抑制CRC肝转移的作用,并从CXCR4/CXCL12信号转导通路及基质金属蛋白酶的表达探讨肠胃清的作用机制,为中医药抗肿瘤转移靶向治疗提供新的实验依据。

1 材料

1.1 细胞 小鼠结肠腺癌细胞株CT26,购自上海市麦莎生物科技有限公司。

1.2 动物 BALB/c小鼠50只雄性,5~6周龄,平均体重(20±2)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物许可证号SCXK(沪)2008-0016,清洁级条件下饲养。

1.3 仪器 SVE-6A1型双人垂直流超净工作台(新加坡ESCO公司);RS-232-C型生物分光光度计(德国Eppendorf公司);Mastercycler EP型逆转录仪(德国Eppendorf公司);Prism 7300型PCR扩增仪(美国ABI公司);CKX41/U-RFLT50型荧光倒置显微镜(日本OLMYPUS公司);5702R型台式低速离心机(德国Eppendorf公司);MD-U53V型超低温冰箱(日本SANYO公司)。

2 方法

2.1 模型制备 取指数生长期的细胞,用0.25%胰蛋白酶加0.02%EDTA的消化液消化收集。使用PBS配制细胞密度为 $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 的单细胞悬液。随机抽取10只BALB/C小鼠,在其右腋下注射小鼠结肠癌CT26细胞0.5 mL,即接种细胞数为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 。10 d后长出直径约1 cm的实体瘤。原位接种时,先处死皮下荷瘤小鼠,皮肤消毒,剥离皮下肿瘤,立即浸入含青霉素、链霉素各 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的生理盐水中,剔除周围结缔组织,取肿瘤生长旺盛的组织,剪碎成 1 mm^3 大小的瘤块备用。将待造模的小鼠分别称重,1%戊巴比妥钠($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔内注射麻醉后,取仰卧位,固定四肢,乙醇消毒腹部术野。左下腹部切口入腹,显露盲结肠,用4号针头轻轻刮去盲结肠交界处少许浆膜,有血液渗出,随机选取1粒已制备好的瘤块贴于划破处,轻轻往里推压后于其表面滴1滴OB胶,见瘤块迅速粘牢(约10 s),将外置肠段回纳入腹,缝合腹壁^[15]。待小鼠麻醉清醒后置于清洁级动物房中常规饲养。整个操作过程遵循无菌操作原则。

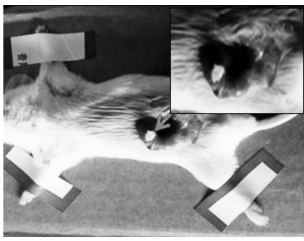


图 1 小鼠结肠癌原位接种

2.2 分组及给药 实验分为假手术组、模型组、肠胃清低剂量组、肠胃清高剂量组,每组 8 只,假手术组仅行开腹手术。于造模后第 4 天开始给药干预。采用人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表计算,肠胃清低、高剂量组小鼠每日给药量分别为 10.37, 20.74 g·kg⁻¹。假手术组和模型组给予生理盐水。每天每只小鼠灌胃 1 mL,连续 2 周。同时密切观察小鼠精神状态,活动及摄食量。

2.3 标本处理 造模 4 周后以颈椎脱臼法处死小鼠,剖腹观察腹腔内肿瘤生长和肝脏转移情况,同时剥离原位瘤和肝脏可疑转移处组织。肝脏可疑转移处组织以 10% 福尔马林固定送病理检查,取部分原位瘤组织进行免疫组化检测,余组织液氮中保存 RT-PCR 备用。

2.4 检测指标

2.4.1 抑瘤率 肿瘤体积抑制率 = (1 - 实验组平均瘤体积/对照组平均瘤体积) × 100%, 肿瘤质量抑制率 = (1 - 实验组平均瘤重/对照组平均瘤重) × 100%。测量原位瘤的长、宽及质量后。肿瘤体积(TV)的计算公式^[16]为:TV = 1/2 × a × b²,其中 a, b 分别表示瘤体的长、宽。

2.4.2 肝转移率 常规 HE 染色,光镜观察癌组织形态,判断其是否为转移瘤。

2.4.3 CXCR4, CXCL12, MMP9 蛋白表达 取蜡块制成 4 μm 连续切片,贴于多聚赖氨酸包被的载玻片上,37 °C 恒温箱烘烤 24 h,二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水,0.01 mol·L⁻¹ pH 7.4 PBS 清洗;将切片放入微波炉中,内含 0.01 mol·L⁻¹ 枸橼酸钠缓冲液(pH 6.0),95 °C,持续 20 min,进行抗原修复,取出在室温下自然冷却,PBS 洗;0.3% H₂O₂ 抑制内源性过氧化物酶,室温孵育 20 min,PBS 清洗;滴加 20% 山羊血清封闭,室温孵育 30 min;甩去山羊血清,每张切片滴加足够量的一抗工作液,4 °C 过夜;PBS 冲洗;滴加 Envision 试剂(HRP/R)37 °C 孵育 30 min,PBS 清洗;甩去 PBS 液,0.5% 的 DAB + 0.3% H₂O₂ 显色 10 min;苏木素复染,蓝化,0.5% 盐酸酒精分化;递增梯度乙醇脱水,二甲苯透明,封片;显微镜下观察,

阳性产物为棕黄色或黄色,背景为蓝紫色。每批染色均用已知的阳性切片做阳性对照,用 PBS 代替一抗做阴性对照。采用 Image-Pro Plus(IPP)6.0 专业图像分析软件定量分析各组 BALB/C 小鼠结肠癌组织 CXCR4, CXCL12, MMP9 蛋白表达的免疫组化结果。每张切片在高倍镜(×400)下随机选取 3 个视野,摄像并存入计算机,然后用 IPP 进行分析,在“measure-calibration-intensity”中进行光密度校正和定义背景色,在“Count/Size”中将阳性目标从背景色中分离出来,用阳性细胞的阳性面积(Area)和吸光度(A)值代表各蛋白表达量的多少^[17-18]。

2.4.4 CXCR4, CXCL12, MMP9 的 mRNA 表达 用研杵研磨 50 mg 组织至研磨成粉末状,后加 1 mL RNAiso,反复吹打至呈透明状,室温放置 5 min,12 000 r·min⁻¹ 4 °C 离心 5 min,吸取上清液,移入 EP 管中。加入氯仿 200 μL,用力振荡,待呈乳白状后,再室温静置 5 min;12 000 r·min⁻¹ 4 °C 离心 15 min;吸取上清液移至另一 EP 管中;加入等体积的异丙醇,上下颠倒 EP 管充分混匀后,室温静置 10 min;12 000 r·min⁻¹ 4 °C 离心 10 min,EP 管底部会出现沉淀;弃上清,缓慢加入 75% 酒精 1 mL,12 000 r·min⁻¹ 4 °C 离心 5 min 后小心弃去乙醇。室温干燥沉淀 2 min;加 100 uL DEPC 水溶解 RNA 后于 -80 °C 冰箱保存。使用分光光度仪检测浓度。应用反转录试剂盒进行反转录,条件:37 °C 15 min,85 °C 5 s。反应结束所得 cDNA 保存于 -20 °C 冰箱中。进行 Real Time PCR 反应,分两步法 PCR 扩增程序:预变性 95 °C 30 s Reps:1;PCR 反应 95 °C 5 s 60 °C 31 s Reps:40。所得到的数据采用 ABI7300 SDS 软件分析。

上、下游引物和探针

由上海闪晶分子生物科技有限公司设计并合成,见表 1。

表 1 上下游引物和探针

基因名称	序列(5'-3')
GAPDH	FP--TGTTGCCGTCGTGGATCTGA
	RP--CCTGCTTACCACCTTCTTGA
	Probe--CCGCTGGAGAAAACCTGCCAAGTATG
CXCR4	FP--GCTGGCTGAAAAGGCAGTCT
	RP--ACGTCGGCAAAGATGAAGTCA
	Probe--TGTGGCGCTCTGGATCCCAGC
CXCL12	FP--GCCAACGTCAGCATCTGAA
	RP--TGCACTTGTCTGTGTGTTGTTCT
	Probe--ATCCTCAACACTCCAAACTGTGCCCTTCA
MMP9	FP--CAGGGAGATGCCCATTTTCG
	RP--GGGCACCATTTGAGTTTCCA
	Probe--CGCTGGCAAAGCGCTCG

注:FP 为上游引物,RP 为下游引物,Probe 为探针。

2.5 统计方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析:计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述,多个样本均数间的比较采用单因素方差分析,方差齐者采用最小显著差(LSD)检验,方差不齐者采用 Dunnett's T_3 法;计数资料多个样本率的比较采用 Fisher's 精确概率率检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3 结果

3.1 对小鼠结肠癌原位瘤生长的抑制作用 与模

表 2 肠胃清对小鼠结肠癌原位瘤生在的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	瘤重 /g	瘤重抑制率 /%	体积 /cm ³	瘤体抑制率 /%
模型		2.00 ± 0.52	-	3.38 ± 1.96	-
肠胃清	10.37	1.51 ± 0.27 ¹	24.73	2.43 ± 1.62	27.93
	20.74	1.08 ± 0.37 ²³	45.91	1.23 ± 0.69	63.48

与模型组比较¹ $P < 0.05$,² $P < 0.01$,与肠胃清低剂量组比较³ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 对小鼠结肠癌肝转移的抑制作用 与模型组比较,肠胃清低剂量组小鼠结肠癌肝转移率有下降趋势,但无统计学差异;与模型组比较,肠胃清高剂量组转移率明显降低($P < 0.05$),提示肠胃清可以延缓或抑制结肠癌肝转移的发生(表 3)。

表 3 肠胃清对小鼠结肠癌肝转移的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	转移/只	未转移/只	肝脏转移率/%
模型		6	2	75(6/8)
肠胃清	10.37	3	5	37.5(3/8)
	20.74	1	7	12.5 ¹ (1/8)

3.3 对小鼠结肠癌原位瘤组织中 CXCR4, CXCL12,

表 4 肠胃清对小鼠结肠癌原位瘤组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	A		
		CXCR4	CXCL12	MMP9
对照	-	853.33 ± 439.19	625.43 ± 48.31	1184.56 ± 528.52
模型	-	10 822.78 ± 3 032.72 ¹⁾	7 224.08 ± 2 761.37 ¹⁾	1 1903.94 ± 4 528.70 ¹⁾
肠胃清	10.37	6 401.21 ± 1 956.01 ²⁾	4 860.60 ± 2 254.09 ²⁾	10 220.56 ± 1 900.55
	20.74	2 689.01 ± 1 437.43 ³⁾	2 106.60 ± 996.69 ³⁾	4 861.06 ± 2 551.45 ³⁾

3.4 肠胃清对小鼠结肠癌原位瘤组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 mRNA 表达的影响 采用 Real-time PCR 检测组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9mRNA 的表达。结果显示,模型组结肠癌组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 的 mRNA 表达显著高于假手术组($P < 0.05$);与模型组比较,肠胃清低剂量组和高剂量组 CXCR4mRNA 表达显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,肠胃清高剂量组 CXCL12, MMP9 mRNA 显著降低($P < 0.01$)。

型组比较,肠胃清低、高剂量组小鼠结肠癌原位瘤质量均显著减轻($P < 0.05$),肠胃清高剂量组与肠胃清低组比较瘤重明显减轻($P < 0.05$),呈剂量依赖性;与模型组比较,肠胃清低剂量组小鼠结肠癌原位瘤体积有下降趋势;但无统计学差异,肠胃清高剂量组与模型组比较,原位瘤体积下降明显($P < 0.05$),提示说明肠胃清低、高剂量组均能不同程度的抑制小鼠结肠癌原位瘤的生长(表 2)。

MMP9 蛋白表达的影响 Envision 法进行免疫组化染色,CXCR4 表达主要在细胞膜和细胞质,呈淡黄至棕黄色,有时可呈“菊花样”巢状分布。CXCL12 表达于细胞膜上,呈淡黄至棕黄色。MMP-9 亦表达于细胞膜和细胞质,呈淡黄至棕黄色。量化结果显示,模型组结肠癌组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 的蛋白表达显著高于假手术组($P < 0.01$);与模型组比较,肠胃清低剂量组和高剂量组 CXCR4, CXCL12 的蛋白表达显著降低($P < 0.05$),呈良好剂量依赖关系。与模型组比较,肠胃清高剂量组 MMP9 的蛋白表达显著降低($P < 0.01$)(表 4)。

4 讨论

趋化因子是细胞因子超家族成员中的一类具有化学趋化作用的小分子(8 ~ 10 kD)分泌蛋白,由多种细胞产生。近年研究发现,趋化因子及其受体在恶性肿瘤侵袭转移中具有多种作用,包括控制白细胞浸润、刺激肿瘤细胞的生长增殖、促进细胞外基质的降解、调节肿瘤新生血管的形成、引导肿瘤细胞迁移和运动以及激活宿主的免疫应答等^[19]。CXCR4 是 CRC 细胞表达的最主要的趋化因子受体,认为高

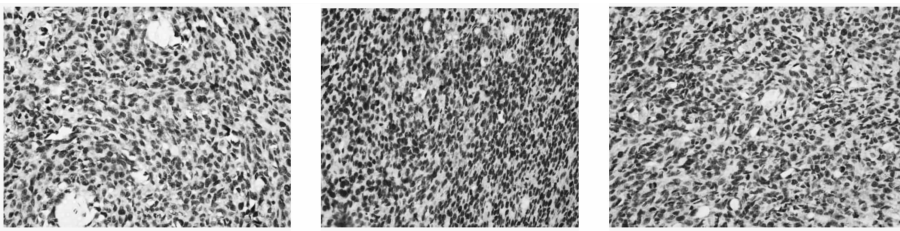


图 2 模型组 CXCR4, CXCL12, MMP9 蛋白表达 (免疫组化染色, ×400)

表达 CXCR4 的 CRC 细胞,在 CXCL12 的趋化、牵引下,逆浓度梯度转移至作为配体产生源的某些器官,进而发生肿瘤的远处转移^[20]。

表 4 肠胃清对小鼠结肠癌原位瘤组织中 CXCR4, CXCL12, MMP9 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	CXCR4 (×10 ⁻²)	CXCL12 (×10 ⁻³)	MMP9 (×10 ⁻³)
对照	-	0.55 ± 0.29	0.64 ± 0.51	1.21 ± 1.18
模型	-	4.46 ± 2.41 ¹	2.22 ± 1.16 ¹	6.41 ± 3.49 ¹
肠胃清	10.37	1.59 ± 1.21 ²	1.41 ± 1.48	4.64 ± 2.46
	20.74	0.57 ± 0.20 ³⁾	0.88 ± 0.77 ³⁾	2.00 ± 1.15 ³⁾

MMP9 是 MMPs 家族的主要成员,能够降解细胞外基质中的多种成分,破坏基底膜的完整,进而促进肿瘤细胞的侵袭和转移。CXCL12 与 CXCR4 相互作用可以介导细胞内快速的钙离子动员,活化细胞外信号调节激酶(ERK-1/2),并介导分泌基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9,促进细胞外基质(ECM)的降解进而使肿瘤发生转移^[21]。CXCR4 与 MMP-9 的表达在 CRC 转移过程中起着非常重要的作用,且二者可能存在某种调控或协同作用,联合检测 CXCR4, MMP-9 可预测 CRC 淋巴结及远处转移情况并指导临床用药^[22]。

中医认为,大肠癌大多由于饮食不节(洁),恣食生冷、肥甘厚味等伤及脾胃,使脾失运化,湿浊内蕴,日久化热,湿热下注,浸淫肠道,大肠络脉受阻,气血不畅,湿热痰瘀蓄积而成。初期以标实为主,后期以本虚为主。现代临床研究^[23-24]认为,脾胃功能失调,机体免疫力下降,加之各种致癌因子以及遗传因素相互作用,导致 CRC 的形成。由此可见,脾虚是大肠癌发生、发展的基本病机,根据“治病求本”的原则,健脾法贯穿大肠癌治疗过程的始终。

中药复方肠胃清是我院范忠泽教授根据结直肠癌的病因病机结合临床经验和科研结果总结的经验方,由黄芪、党参、生白术、八月札、薏苡仁、野葡萄藤、红藤、猪苓组成,具有健脾理气、化湿解毒功效。临床常用于胃肠道恶性肿瘤的治疗,对于中晚期

CRC 患者不但可以缓解症状,改善生存质量,延长生存期,减轻放疗、化疗引起的毒副反应,而且对于术后的患者又可提高机体的免疫能力,预防肿瘤的复发和转移,促使机体康复。体外实验研究表明肠胃清口服液可以抑制 CRC 细胞 LS-174T 细胞的黏附、运动、浸润能力,进而抑制肿瘤的侵袭转移^[25],其机制可能与降低 MMP-2, MMP-9 的蛋白表达有关^[26]。本实验在前期研究的基础上,从调控信号转导通路的角度,进一步探讨中药复方肠胃清干预 CRC 肝转移的作用机制,检测小鼠 CRC 原位瘤组织中的 CXCR4, CXCL12 和 MMP-9 的蛋白及 mRNA 表达,积极探寻中药调控靶基因及降解细胞外基质的理论依据。结果显示 CXCR4, CXCL12 和 MMP-9 三者在大肠癌肝转移形成过程中均起着非常重要的作用,肠胃清可以不同程度的下调其表达,并呈剂量依赖性。基于 CXCR4/CXCL12 信号转导通路与 MMP-9 的存在一定的相关性^[27],我们认为肠胃清可能通过下调 CXCR4, CXCL12 在大肠癌原位瘤组织中的表达,降低 MMP9 的表达,减少细胞外基质的降解,从而抑制结肠癌肝转移的发生。

[参考文献]

[1] Ahmedin J, Rebecca S, Elizabeth W, et al. Cancer statistics [J]. Cancer Journal for Clinicians, 2009, 59 (4):225.

[2] 中华人民共和国卫生部. 2008 中国卫生统计年鉴 [M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2008:52.

[3] 聂绍发,姚璇,朱桂荣,等. 武汉市大肠癌危险因素的 2:3 配比病例对照研究 [J]. 中国公共卫生, 2003, 29 (23):2593.

[4] 顾晋. 下消化道肿瘤学 [M]. 北京:北京大学医学出版社, 2004:2.

[5] Little V R, Warren R S, Moore D, et al. Molecular cytogenetic analysis of cytokeratin 20-labeled cells in primary tumors and bone marrow aspirates from colorectal carcinoma patients [J]. Cancer, 1997, 79 (9):1664.

[6] 董志伟,乔友林,李连弟,等. 中国癌症控制策略研究

- 报告[R]. 中国肿瘤,2002,11(5):250.
- [7] 王正康. 结肠癌的转移和外科治疗[J]. 中国实用外科杂志,2002,22(6):327.
- [8] Brand S, Dambacher J, Beigel F, et al. CXCR4 and CXCL12 are inversely expressed in colorectal cancer cells and modulate cancer cell migration, invasion and MMP9 activation [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 310 (1):117.
- [9] Chinni S R, Sivalogan S, Dong Z, et al. CXCL12/CXCR4 signaling activates Akt1 and MMP9 expression in prostate cancer cells; the role of bone microenvironment-associated CXCL12 [J]. *Prostate*, 2005, 66(1): 32.
- [10] Kryczek I, Lange A, Mottram P, et al. CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(2):465.
- [11] Sun Y X, Fang M, Wang J H, et al. Expression and activation of $\alpha v \beta 3$ integrins by SDF-1/CXCL12 increases the aggressiveness of prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2007,67(1):61.
- [12] Retz M M, Sidhu S S, Blaveri E, et al. CXCR4 expression reflects tumor progression and regulates motility of bladder cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2005, 114(2):182.
- [13] Albert Z. Chemokines in neoplastic progression [J]. *Semin Cancer Biol*,2004, 14(3):181.
- [14] 严鹏霄,吴文溪,丁强,等. IFN- γ 转基因治疗结肠癌小鼠肝转移的抑制效应 [J]. *南京医科大学学报*, 2006,26(10):902.
- [15] 鱼达,余海,陈丽荣,等. 改进原位接种技术建立裸小鼠人大肠癌(SW1116)模型 [J]. *上海实验动物科学*, 2000,20(2):97.
- [16] Iwanuma Y, Chen F A, Egilmez N K, et al. Antitumor immune response of human peripheral blood lymphocytes coengrafted with tumor into severe combined immunodeficient mice [J]. *Cancer Res*, 1997, 57 (14):2937.
- [17] 于萍,步宏,王华,等. 免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2003,20(2):288.
- [18] 李涛,范好,刘芳. 免疫组织化学图像光密度分析的标准化方法 [J]. *解剖学杂志*,2008,31(5):727.
- [19] Balkwill F. Chemokine biology in cancer [J]. *Semin Immunol*, 2003,15(1):49.
- [20] Kim J, Takeuchi H, Lam S T, et al. Chemokine receptor CXCR4 expression in colorectal cancer patients increases the risk for recurrence and for poor survival [J]. *J Clin Oncol*,2005,23(12):2744.
- [21] Chu H, Zhou H, Liu Y, et al. Functional expression of CXC chemokine receptor-4 mediates the secretion of matrix metallo proteinases from mouse hepatocarcinoma cell lines with different lymphatic metastasis ability [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007,39(4): 197.
- [22] 吴卫东,沈云,李继坤,等. 结肠癌组织中趋化因子受体 CXCR4、基质金属蛋白酶-9 的表达及其意义 [J]. *上海医学*, 2008,31(4):282.
- [23] 吴苏东,周冬枝,邓景元,等. 胃肠道肿瘤脾虚证与血液检测指标的相关性研究 [J]. *陕西中医学院学报*, 2003,26(2):46.
- [24] 王志良,樊青霞,王冬青,等. 消化系统恶性肿瘤脾虚证患者 T 淋巴细胞亚群分布关系的初步观察 [J]. *河南肿瘤学杂志*, 1994,7(2):111.
- [25] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清口服液抑制结肠癌细胞 LS-174T 侵袭转移的体外研究 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2005,13(6):357.
- [26] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清抗结肠癌转移的机制研究 [J]. *中国中医药科技*, 2006,13(3):148.
- [27] Brand S, Dambacher J, Beigel F, et al. CXCR4 and CXCL12 are inversely expressed in colorectal cancer cells and modulate cancer cell migration, invasion and MMP-9 activation [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 310 (1):117.

[责任编辑 李玉洁]