

敦煌平胃丸及其拆方对 SCG-7901 胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用及对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响

舍雅莉, 赵晓文, 李俊杰, 董娟娟, 刘永琦, 刘喜平, 李长天, 李亚玲*

(甘肃中医药大学敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究省级重点实验室, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用,并从磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路研究敦煌平胃丸及其拆方可能的作用机制。方法:建立 SCG-7901 胃癌皮下荷瘤小鼠模型,随机分为模型组,敦煌平胃丸组(14.04 g·kg⁻¹·d⁻¹),活血解毒组(6.50 g·kg⁻¹·d⁻¹),温中散寒组(3.64 g·kg⁻¹·d⁻¹)和顺铂组(2 mg·kg⁻¹·d⁻¹),每组8只。接种第8天开始给药,连续10 d,隔日小鼠称体质量并观察一般情况;末次给药后次日处死小鼠,剥取肿瘤称质量,计算抑瘤率;苏木素-伊红(HE)染色观察肿瘤组织病理学变化,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和免疫组化法(IHC)分别检测肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR mRNA和蛋白表达情况。结果:接种第10天开始,顺铂组小鼠一般情况较差,体质量下降,模型、敦煌平胃丸、活血解毒和温中散寒组小鼠一般情况尚可,体质量增长,组间差异无统计学意义;敦煌平胃丸、活血解毒、温中散寒和顺铂组抑瘤率分别为30.74%, 24.80%, 4.19%和63.84%,除温中散寒组外,其余给药组瘤质量均较模型组显著降低($P < 0.01$),其中敦煌平胃丸与活血解毒组间差异无统计学意义;敦煌平胃丸和活血解毒组能明显降低肿瘤细胞密度,引起肿瘤细胞坏死;与模型组比较,敦煌平胃丸、活血解毒和顺铂组PI3K, Akt, mTOR mRNA和蛋白表达均明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中敦煌平胃丸与活血解毒组差异无统计学意义。结论:敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方)对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用,其机制可能与下调PI3K/Akt/mTOR信号通路关键分子表达有关。

[关键词] 敦煌平胃丸; 胃癌; 磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K); 蛋白激酶B(Akt); 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)05-0070-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20202229

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200903.0859.007.html>

[网络出版日期] 2020-9-3 11:21

Effect of Dunhuang Pingweiwan and Its Decomposed Recipes on Tumor Inhibition and PI3K/Akt/mTOR Pathway in SCG-7901 Gastric Cancer Mice

SHE Ya-li, ZHAO Xiao-wen, LI Jun-jie, DONG Juan-juan, LIU Yong-qi, LIU Xi-ping, LI Chang-tian, LI Ya-ling*

(Key Laboratory of Dunhuang Medicine, Ministry of Education, Provincial Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and Traditional Chinese Medicine Prevention and Treatment Research, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antitumor effect and the mechanism of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes based on phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in SCG-7901 gastric cancer-mice. **Method:** The subcutaneous tumor bearing model of SCG-7901 gastric cancer in mice was established, and the the mice were randomized

[收稿日期] 20200706(004)

[基金项目] 甘肃省高等学校产业支撑计划项目(2020C-15);甘肃省高等学校创新能力提升项目(2019A-074);敦煌医学与转化教育部重点实验室开放课题项目(DHYX14-010, DHYX18-012)

[第一作者] 舍雅莉, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中医药防治肿瘤研究, E-mail: sheyali@sina.com

[通信作者] *李亚玲, 硕士, 讲师, 从事中医药防治肿瘤研究, E-mail: 2311542597@qq.com

into model group, Dunhuang Pingweiwan group ($14.04 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), Huoxue Jiedu group ($6.50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), Wenzhong Sanhan group ($3.64 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) and cisplatin group ($2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), with 8 mice in each group. From the 8th day of inoculation, the mice were administered for 10 consecutive days. The mice were weighed and the general conditions were observed every other day. On the next day of the last administration, the mice were sacrificed, and the tumor was removed and weighed to calculate the anti-tumor rate. The histopathological changes were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the mRNA and protein expressions of PI3K, Akt, and mTOR in tumor tissues were detected by real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) and immunohistochemistry (IHC), respectively. **Result:** From the 10th day of inoculation, the mice in cisplatin group were generally in poor condition and their body mass decreased. The mice in model group, Dunhuang Pingweiwan group, Huoxue Jiedu group and Wenzhong Sanhan group were generally fair, and their body mass increased without significant difference among groups. The tumor inhibition rates of Dunhuang Pingweiwan, Huoxue Jiedu, Wenzhong Sanhan and cisplatin groups were 30.74%, 24.80%, 4.19% and 63.84%, respectively. Except for Wenzhong Sanhan group, tumor weight of the other treatment groups was significantly lower than that of the model group ($P<0.01$), and there was no significant difference between the Dunhuang Pingweiwan and Huoxue Jiedu group. Dunhuang Pingweiwan and Huoxue Jiedu group could significantly reduce tumor cell density and cause tumor cell necrosis. Compared with the model group, the expressions of PI3K, Akt, and mTOR mRNA and protein in the Dunhuang Pingweiwan, Huoxue Jiedu and cisplatin groups significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), and there was no significant difference between the Dunhuang Pingweiwan group and Huoxue Jiedu group. **Conclusion:** Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes (Huoxue Jiedu) have a certain anti-tumor effect on the SCG-7901 gastric cancer-mice, and the mechanism may be related to the down-regulation of key molecules in the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.

[Key words] Dunhuang Pingweiwan; gastric cancer; phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K); protein kinase B (Akt); mammalian target of rapamycin (mTOR)

在我国,中医药治疗几乎参与恶性肿瘤治疗的全过程,尤其中药复方采用多种治法联合应用,具有多途径、多靶点、多效应的综合作用,因而成为抗肿瘤药物开发和研究的热点^[1-2]。研究表明,活血解毒、消痰通络、健脾益气法等能明显抑制肿瘤的发生发展,而温中散寒法治疗肿瘤报道较少,效果不明确^[3-5]。

敦煌平胃丸方源于《敦煌遗书》^[6],由大黄、当归、麝虫、防风、附子、干姜、人参、藁本、玄参、苦参、桔梗 11 味中药制成,临床常用于治疗慢性萎缩性胃炎及癌前病变^[7-8]。本课题组前期实验也证实方中当归、苦参能有效抑制 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长^[9]。基于此,本研究选用敦煌平胃丸,遵循“法依病机、拆方依法”的拆方研究思路^[10],将复方中的大黄、当归、麝虫、玄参、苦参 5 味中药组合成为活血解毒方,将附子、干姜、人参组合成温中散寒方,研究敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方、温中散寒方)对 SCG-7901 胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用,并从磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路阐述其可能的作用机制,

为敦煌平胃丸治疗胃癌提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞及动物 人 SCG-7901 胃癌细胞,购自北京北纳创联生物技术研究院。SPF 级 BALB/C 裸鼠 48 只,雌雄各半,周龄 4 周,体质量 18~22 g,购买并饲养于甘肃中医药大学动物实验中心,合格证号 SCXK(甘)2015-0002。本研究取得甘肃中医药大学伦理委员会批准,编号 2019-200。

1.2 药物 敦煌平胃丸由大黄 10 g,苦参 10 g,干姜 10 g,藁本 10 g,附子 8 g,防风 10 g,桔梗 10 g,麝虫 10 g,人参 10 g,玄参 10 g,当归 10 g 组成;活血解毒方由大黄 10 g,当归 10 g,麝虫 10 g,玄参 10 g,苦参 10 g 组成;温中散寒方由附子 8 g,干姜 10 g,人参 10 g 组成。全部药物均来源于甘肃中医药大学附属医院中药房,甘肃中医药大学药学院杨扶德教授鉴定为正品。顺铂,合肥巴斯夫生物科技有限公司,批号 BSF190225。

1.3 试剂 RPMI 1640 培养液(美国 Gibco 公司,批号 11835-030);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司,批号 11012-8611);苏木素-伊红(HE)试

剂(北京索莱宝科技有限公司,批号G1120);trizol总RNA提取试剂盒,第一链互补DNA(cDNA) Synthesis Kit, 2×SYBR Green qPCR mix(德国Qiagen公司,批号分别为74256, 205824, 330611);免疫组化(IHC)试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号PV-9000);PI3K, Akt, mTOR单克隆抗体(美国Abcam公司,批号分别为ab140307, ab179463, ab32028)。

1.4 仪器 MCO-18AIC型CO₂细胞培养箱(日本三洋电机公司), BX53型显微镜及图像采集系统(日本奥林巴斯株式会社), BI-2000医学图像分析系统(成都泰盟软件有限公司), CFX96™型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国Bio-Rad公司), AR224CN型电子天平(美国Ohaus公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及荷瘤小鼠模型建立 人SGC-7901胃癌细胞用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液,置于37℃ 5%CO₂孵育箱中常规培养。将处于对数生长期的SCG-7901细胞重悬并调整密度为1×10⁷个/mL,于每只小鼠右腋下接种单细胞悬浮液0.2 mL(含2×10⁶个细胞)。接种5~7 d可触及结节时,随机抽取有结节的雌雄小鼠各4只进行病理检查,8个结节全部确诊为肿瘤组织表示造模成功。

2.2 动物分组和给药 结合结节大小和随机数字表将荷瘤小鼠随机分为模型组、顺铂组、敦煌平胃丸组、活血解毒组、温中散寒组,每组8只。根据人和小鼠间体表面积换算的等效剂量比值为0.002 6^[11],计算小鼠的临床等效给药剂量,顺铂为2 mg·kg⁻¹·d⁻¹,敦煌平胃丸为14.04 g·kg⁻¹·d⁻¹,活血解毒方为6.50 g·kg⁻¹·d⁻¹,温中散寒方为3.64 g·kg⁻¹·d⁻¹,小鼠灌胃体积为0.4 mL·d⁻¹,腹腔注射为0.2 mL·d⁻¹。根据小鼠每日给药量与给药体积,将中药水煎2次,合并浓缩至生药分别含量为敦煌平胃丸方0.72 g·mL⁻¹,活血解毒方0.33 g·mL⁻¹,温中散寒方0.14 g·mL⁻¹,顺铂用生理盐水稀释至0.2 g·L⁻¹。模型组予生理盐水灌胃,敦煌平胃丸组予敦煌平胃丸(14.04 g·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃,活血解毒组予活血解毒方(6.50 g·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃,温中散寒组予温中散寒方(3.64 g·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃,顺铂组予顺铂(2 mg·kg⁻¹·d⁻¹)腹腔注射0.2 mL,每天1次,连续10 d。

2.3 测量各组小鼠体质量、瘤质量并计算抑瘤率 用药后隔日小鼠称质量,并观察小鼠的一般情况,

末次给药后次日处死小鼠,肿瘤剥离称质量。抑瘤率=(模型组平均瘤质量-药物组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量×100%^[12]。

2.4 HE染色观察肿瘤组织病理学变化 取一半新鲜肿瘤组织,于4%多聚甲醛溶液固定。梯度乙醇脱水、二甲苯处理、石蜡包埋组织,切成4 μm厚的薄片,进行HE染色,中性树脂封片。光学显微镜下观察并利用Cellsense图像采集系统拍照。

2.5 Real-time PCR检测肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR mRNA表达 取适量新鲜肿瘤组织,根据trizol法提取组织总RNA,按照逆转录反应试剂盒说明书,合成cDNA,按照Real-time PCR试剂盒说明书,检测基因表达水平。PCR引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,基因引物序列为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH, 128 bp):上游5'-ATGGTTTACATGTTCCAATATG-3',下游5'-ATTTTGGAGGGATCTCGCTC-3'; PI3K(213 bp):上游5'-GGGTACGATAACCGGGAGATA-3',下游5'-CAGCCAGGAGAAATCAAACAG-3'; mTOR(134 bp):上游5'-TGGGAAACTTGCCTCTGGATG-3',下游5'-CAGGGACTTGAAGATGAAGGTGAT-3'。通过2^{-ΔΔC_t}计算各组目标mRNA的相对表达水平。

2.6 IHC检测肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR蛋白表达 将石蜡切片脱蜡、水化,加入PI3K抗体(1:300), Akt抗体(1:300), mTOR抗体(1:200), 4℃孵育过夜,再加二抗,二氨基联苯胺(DAB)显色。每个标本随机选择4个视野拍照,并利用BI-2000医学图像分析系统对蛋白表达的平均灰度值进行检测,灰度值越大表示蛋白表达越低。

2.7 统计学分析 采用SPSS 19.0软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对胃癌荷瘤小鼠体质量及一般情况的影响 接种第8天开始给药,各组小鼠精神尚好,进食水正常。第10天开始,顺铂组小鼠精神萎靡,活动饮食减少,体质量较前次称体质量下降。第12~18天顺铂组体质量较模型组、敦煌平胃丸组显著下降(P<0.01)。其余各组小鼠精神尚好,进食水无明显异常,体质量较前次称体质量增长,各组间差异无统计学意义。见表1。

3.2 对胃癌荷瘤小鼠抑瘤作用的影响 敦煌平胃丸组、活血解毒组、温中散寒组和顺铂组抑瘤率分

表1 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第8天	第10天	第12天	第14天	第16天	第18天
模型		21.15±0.89	21.44±0.76	21.85±0.57	22.34±0.46	22.60±0.39	22.88±0.32
敦煌平胃丸	14.04	21.08±0.54	21.26±0.69	21.78±0.76	22.33±0.76	22.49±0.78	22.75±0.76
活血解毒	6.50	21.03±0.33	21.24±0.3	21.69±0.37	22.13±0.46	22.39±0.49	22.61±0.58
温中散寒	3.64	20.99±0.56	21.23±0.53	21.80±0.42	22.29±0.37	22.54±0.41	22.79±0.48
顺铂	2×10 ⁻³	21.28±0.55	20.63±0.51	20.21±0.45 ^{2,4)}	19.96±0.52 ^{2,4)}	19.63±0.65 ^{2,4)}	19.44±0.59 ^{2,4)}

注:与模型组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与敦煌平胃丸组比较³⁾P<0.05,⁴⁾P<0.01(表2~4同)。

别为30.74%,24.80%,4.19%和63.84%,除温中散寒组外,其余给药组瘤质量均较模型组显著降低(P<0.01),其中敦煌平胃丸组与活血解毒组比较,差异无统计学意义。见表2。

表2 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用

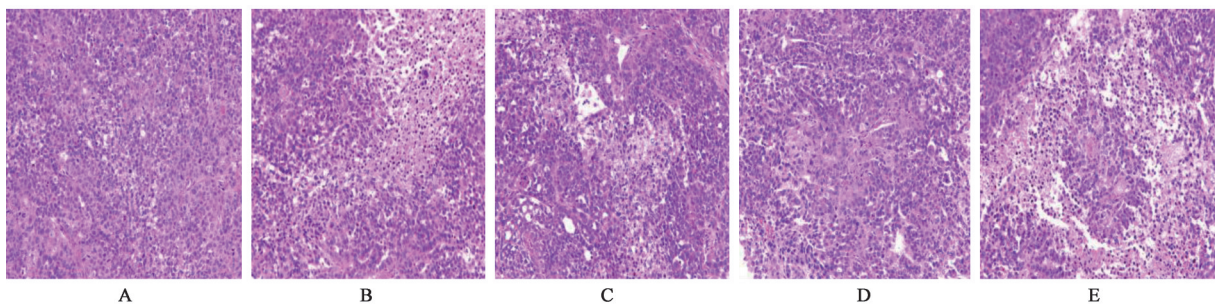
Table 2 Antitumor effect of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes on gastric cancer-mice

组别	剂量/g·kg ⁻¹	瘤质量($\bar{x}\pm s, n=8$)/g	抑瘤率/%
模型		1.43±0.15	-
敦煌平胃丸	14.04	0.99±0.10 ²⁾	30.74
活血解毒	6.50	1.08±0.13 ²⁾	24.80
温中散寒	3.64	1.37±0.18 ⁴⁾	4.19
顺铂	2×10 ⁻³	0.52±0.09 ^{2,4)}	63.84

注: -.无抑瘤率。

3.3 对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织病理学影响 模型组肿瘤细胞密集,病理性核分裂像多见,未见明显肿瘤坏死灶。敦煌平胃丸和活血解毒组肿瘤细胞密度较低,病理性核分裂像多见,可见明显肿瘤坏死灶及大量炎性细胞浸润,另外可见少量纤维组织增生。温中散寒组肿瘤细胞密度较低,病理性核分裂像多见,仅见个别点状坏死灶及少量炎性细胞浸润。见图1。

3.4 对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR mRNA表达的影响 与模型组比较,除温中散寒组外,敦煌平胃丸、活血解毒组和顺铂组PI3K, Akt, mTOR mRNA表达均下降(P<0.01),其中敦煌平胃丸与活血解毒组比较,差异无统计学意义。见表3。



A. 模型组; B. 敦煌平胃丸组; C. 活血解毒组; D. 温中散寒组; E. 顺铂组(图2同)

图1 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Pathological effect of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes on tumor in gastric cancer-mice (HE, ×200)

表3 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR mRNA表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes on expression of PI3K, Akt and mTOR mRNA in gastric cancer-mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PI3K	Akt	mTOR
模型		3.96±0.18	2.60±0.16	3.03±0.17
敦煌平胃丸	14.04	2.81±0.18 ²⁾	0.85±0.1 ²⁾	2.13±0.07 ²⁾
活血解毒	6.50	3.06±0.14 ²⁾	0.99±0.11 ²⁾	2.19±0.11 ²⁾
温中散寒	3.64	3.74±0.19 ⁴⁾	2.49±0.13 ⁴⁾	2.97±0.11 ⁴⁾
顺铂	2×10 ⁻³	0.91±0.15 ^{2,4)}	0.64±0.13 ^{2,3)}	0.72±0.10 ^{2,4)}

3.5 对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR蛋白表达的影响 PI3K, Akt, mTOR蛋白均在胞浆表达。与模型组比较,除温中散寒组外,敦煌平胃

丸、活血解毒和顺铂组PI3K, Akt和mTOR蛋白表达均明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中敦煌平胃丸与活血解毒组比较差异无统计学意义。见图2,表4。

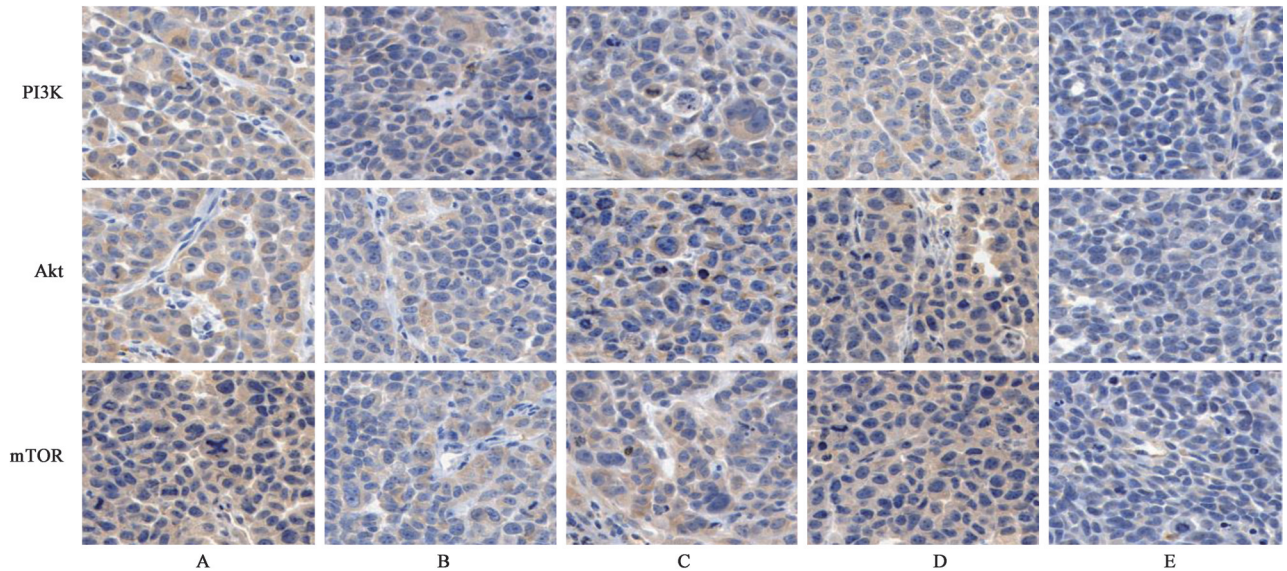


图2 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR蛋白表达的影响(IHC, ×400)

Fig. 2 Effect of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes on expression of PI3K, Akt and mTOR protein in gastric cancer-mice (IHC, ×400)

表4 敦煌平胃丸及其拆方对胃癌荷瘤小鼠肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 4 Effect of Dunhuang Pingweiwan and its decomposed recipes on expression of PI3K, Akt, mTOR protein in gastric cancer-mice ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PI3K	Akt	mTOR
模型		71.98±14.51	76.96±16.58	75.61±14.67
敦煌平胃丸	14.04	127.12±19.13 ²⁾	128.33±23.29 ²⁾	120.83±17.01 ²⁾
活血解毒	6.50	107.69±16.3 ²⁾	108.76±22.05 ¹⁾	105.26±20.42 ¹⁾
温中散寒	3.64	83.40±20.72 ⁴⁾	87.15±17.04 ⁴⁾	85.72±19.24 ⁴⁾
顺铂	2×10 ⁻³	170.09±18.83 ^{2,4)}	172.01±22.98 ^{2,4)}	163.63±9.05 ^{2,4)}

4 讨论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一,其死亡率仅次于肺癌而居第2位,目前胃癌的治疗主要以手术为主,辅以放化疗等手段,但放化疗的毒副反应大,效果不理想^[13]。中药复方在防治肿瘤方面具有一定优势,因其含有多种活性成分,可作用于肿瘤发生发展的各个环节,此外还有不良反应小、不易产生耐药性、可以提高机体免疫力等优势,故而成为抗肿瘤药物开发与研究的热点^[2]。

中医理论认为,胃癌病机总属本虚标实,脾胃阳虚为本,寒、瘀、痰、毒等为标,治疗当标本兼顾^[1]。敦煌平胃丸方用附子、干姜辛热,人参补气,三药合用温中散寒,针对脾胃阳虚之本,大黄、廑虫破血逐瘀,与补血活血之当归、清热解毒养阴之玄参,清热

燥湿之苦参合用,既针对已成之瘀血,又防逐瘀太过而伤血、动血,辅以防风、藁本祛除已成之湿,桔梗宣通气机,气行则血行。全方切合中医对胃癌“本虚标实”的病机认识。因此,本研究选用敦煌平胃丸结合前期研究基础,探讨敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方、温中散寒方)对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用及机制,为敦煌平胃丸治疗胃癌提供实验依据。

本研究通过称量瘤质量、计算抑瘤率和观察肿瘤组织病理学来研究敦煌平胃丸及其拆方对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠的抑瘤作用,结果表明,敦煌平胃丸、活血解毒方对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠抑瘤率和瘤质量均较模型组降低。肿瘤组织病理学也显示,敦煌平胃丸和活血解毒组肿瘤细胞密度较模

型组降低,可见明显肿瘤坏死灶,这些提示敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方)可针对胃癌“瘀、毒”的病机,发挥活血化瘀、消散毒邪的功效,抑制肿瘤的生长,同时也证实了中医活血解毒法治疗肿瘤的有效性。此外,敦煌平胃丸全方药物组成属标本兼顾,以活血祛瘀为主,辅以温中散寒,抑瘤率最高,为30.74%,但是瘤质量与活血解毒组比较,差异无统计学意义,还需在以后实验中增加动物样本量进一步验证。

目前温中散寒法对肿瘤的抑瘤作用不明确,通常和化疗药联合使用时,发挥扶正固本,增效减毒作用,本研究中温中散寒方抑瘤率仅为4.19%,瘤质量与模型组比较,差异无统计学意义,肿瘤组织中仅见个别点状坏死灶。但小鼠的精神状态尚好,进食水正常,体质量增长,这一结果提示,温中散寒方可能只温阳提高机体免疫力,而无活血消积(瘤)之法,故单独使用对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠无明显抑瘤作用。

PI3K/Akt/mTOR是一条经典的抗凋亡、促增殖的信号通路^[14]。PI3K是细胞内重要的信号转导分子,可通过细胞膜表面特异性受体与细胞外信号结合而被激活,然后在细胞膜上产生3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇(PIP3)。PIP3作为第二信使与Akt结合,使Akt的Ser473和Thr308位点发生磷酸化而活化,活化的Akt通过磷酸化作用激活其下游许多靶蛋白如mTOR,从而促进细胞增殖、抑制凋亡,在肿瘤的发生、发展、治疗及转归中发挥重要作用^[15-16]。以其主要成员PI3K, Akt, mTOR, p70s6k作为药物靶点研发的多种抗肿瘤药物在临床上显示了良好的应用前景^[17-18]。因此,调控PI3K/Akt/mTOR信号通路,成为研究抗肿瘤药物的重要途径之一。

本研究基于PI3K/AKT/mTOR信号通路,探讨敦煌平胃丸及其拆方对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠可能的抑瘤作用机制。通过Real-time PCR和IHC分别检测肿瘤组织中PI3K, Akt, mTOR mRNA和蛋白表达情况,结果表明,除温中散寒组外,敦煌平胃丸、活血解毒和顺铂组PI3K, Akt, mTOR mRNA和蛋白表达均较模型组显著下降,其中敦煌平胃丸与活血解毒组比较,差异无统计学意义,提示敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方)可能通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路关键分子mRNA和蛋白表达,从而抑制SCG-7901胃癌荷瘤小鼠移植瘤的生长。

综上所述,敦煌平胃丸及其拆方(活血解毒方)对SCG-7901胃癌荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用,

其机制可能与抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路有关,而温中散寒方无明显抑瘤作用。本研究结果为敦煌平胃丸治疗胃癌提供了实验依据,也为寻找方中抑瘤的主要药物提供了线索,后期可精简复方或与化疗药物联合使用,为敦煌平胃丸治疗胃癌提供更多有效的科学依据。

[参考文献]

- [1] 裴晓华,彭艳梅. 中医药治疗恶性肿瘤70年[J]. 中国肿瘤外科杂志,2019,11(5):305-308.
- [2] 袁选举,邓守恒. 中医药在治疗恶性肿瘤中的研究进展[J]. 时珍国医国药,2019,30(9):2232-2234.
- [3] 贺习婷,杜井富,刘咏菲,等. 常见恶性肿瘤的中医治疗原则浅析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(4):39,55.
- [4] 王春宇,王睿林,艾永强,等. 活血化瘀方对小鼠Hepa1-6肝癌转移和生长的作用及机制初探[J]. 中药药理与临床,2019,35(6):110-116.
- [5] 李怡帆,李娟,卢雯平. 益气活血解毒方对小鼠卵巢癌ID-8细胞株增殖及血管生成过程的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):154-159.
- [6] 刘喜平,李沛清,辛宝,等. 敦煌遗书《亡名氏脉经》佚方考[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(4):362-364.
- [7] 刘喜平. 敦煌医方的理论与实践[M]. 北京:中医古籍出版社,2012:75.
- [8] 付航,刘喜平,李沛清,等. 敦煌平胃丸治疗慢性萎缩性胃炎癌前病变48例[J]. 中医研究,2015,28(1):20-22.
- [9] 舍雅莉,闫德祺,刘永琦,等. 当归贝母苦参丸对顺铂化疗H22荷瘤小鼠肿瘤及肝脏、肾脏和胸腺组织病理形态的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2014,21(5):56-60.
- [10] 祝小惠,钟相根,程发峰,等. 谈“法依病机、拆方依法”的经方拆方研究思路及其优势[J]. 辽宁中医杂志,2011,38(5):857-859.
- [11] 蒋锐沅,莫春梅,满婷婷,等. 西黄丸对炎症微环境下肺癌A549荷瘤小鼠NLRP3炎症小体及其产物和肿瘤增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(17):20-28.
- [12] TATEBAYASHI D, HIMORI K, YAMADA R, et al. High-intensity eccentric training ameliorates muscle wasting in colon 26 tumor-bearing mice [J]. PLoS One,2018,13(6): e0199050.
- [13] 步宏,李一雷. 病理学[M]. 9版. 北京:人民卫生出版社,2018:95.
- [14] BRAGLIA L, ZAVATTI M, VINCETI M, et al. Deregulated PTEN/PI3K/AKT/mTOR signaling in

- prostate cancer: still a potential druggable target? [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(9): 118731.
- [15] MA S S, LIU T F, XU L, et al. Histone deacetylases inhibitor MS - 275 suppresses human esophageal squamous cell carcinoma cell growth and progression via the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 22400-22410.
- [16] GOETZE O T, AL-BATRAN S E, CHEVALLAY M, et al. Multimodal treatment in locally advanced gastric cancer [J]. *Updates Surg*, 2018, 70(2): 173-179.
- [17] BALAKRISHNAN K, PELUSO M, FU M, et al. The phosphoinositide-3-kinase (PI3K) -delta and gamma inhibitor, IPI-145 (Duvelisib), overcomes signals from the PI3K/ AKT/ S6 pathway and promotes apoptosis in CLL [J]. *Leukemia*, 2015, 29(9): 1811-1822.
- [18] ZHENG T, YANG X Y, WU D, et al. Salidroside ameliorates insulin resistance through activation of a mitochondria-associated AMPK/PI3K/Akt/GSK3 β pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(13): 3284-3301.
- [责任编辑 张丰丰]

·书讯·

探讨手术室护理配合在骨科手术应用中对切口感染发生情况的影响 ——评《图解骨科手术配合》

骨科手术应用中存在切口感染问题,其影响效果可大可小。为此有必要探讨手术室护理配合在骨科手术应用中对切口感染发生情况的有效影响。一般来说,相比于常规护理其能够有效降低患者的切口感染率,深度改善患者护理服务的满意度,具有重要的临床意义,非常值得推广应用。

《图解骨科手术配合》由杨小蓉、黄俊华主编,科学出版社有限责任公司出版。全书适用于初入手术室工作的医疗人员,也可供具有一定手术室工作经验的医疗人员阅读。在书中提出了可应用于手术室护士的“三基三严”培训内容,更可作为手术室教学教师备课的重要参考书。全书共有十一章内容,其中主要针对骨科常见手术与手术配合内容,确保手术体位、手术配合与特殊关注点确认到位,重点突出手术配合部分内容。在手术方式与术中护理过程中需要获得临床医师指导,特别强调整体护理观念,其中也关注了手术配合技能,为高质量的手术配合提供全面的解决方案。

在《图解骨科手术配合》中还提到了患者的备皮护理技术。书中首先针对患者的四肢手术备皮范围进行了阐述,它主要以切口为中心,上下各20 cm以上,一般需要对人体整体所有位置皮肤切口进行分析,做好备皮护理操作。以肩膀为例,其切口一般在患者患侧腋窝、甲状软骨到肘弓,肘均过中线;肘部切口一般在患侧肩峰到腕关节位置;手部切口一般在患侧肘关节到手指。当然,所有上肢手术均要求备患侧腋窝,以备麻醉需要。手术护理过程中如果需要取皮或转移皮瓣的患者还需准备供皮区皮肤,供皮区向外20 cm以上。书中还探讨了备皮用物相关内容,其中主要包括了一次性使用备皮包,包含一双无菌手套、一张一次性治疗巾、一小瓶无菌皂液、一块吸附无菌皂液的海绵块、一次性备皮刀、一张纱布块、一张卫生纸、一个一次性治疗盘。有条件的应使用安全电剪处理毛发,避免使用剃刀,以免皮肤破损,增加术后切口感染的风险。

最后在书中探讨了护理备皮流程,首先进行常规清洁,一般在术前3 d就开始,彻底清洗患者患侧皮肤,合理修剪指甲,针对开放伤及皮肤表面完整性受损的应注意防止感染;其次在备皮人员术前需要进行1 d常规患者手术评估,其评估手术位置包括手部部位皮肤,在手术前需要进行手术部位清洗。在手术日,需要在备皮准备期间对工作人员着装进行规范,保证用物齐备。在手术患者正式进入备皮准备后,需要对患者手术患处皮肤进行检查评估,为患者讲解备皮目的,争取在手术护理过程中获取患者配合。在具体操作过程中,需要打开一次性使用备皮包,戴上无菌手套,将一次性治疗巾垫于患者的手术部位下方,用含有无菌皂液的海绵块涂擦备皮部位,左手绷紧皮肤,实施一次性备皮手术操作。

在具体的手术护理技术应用过程中,手术室护士需要做好术前健康教育,保证常规术中配合,为患者接受手术室护理配合创造有利条件。在手术前需要预防患者感冒,确保手术步骤、体位、麻醉方式、手术安全性全部处理到位。实际上这也是为了有效缓解患者的心理压力,减轻患者对于手术的恐惧情绪。

其次,要检查患者手术部位的皮肤准备情况。一般在手术当天做好备皮工作,专门对患者手术部位进行清洁,如果患者皮肤出现任何损伤问题必须及时通知医生。在该护理过程中,医护人员需要严格执行手术卫生制度,其中外科手术医务人员在此时监测患者患处菌落数,保证其要求在 ≤ 5 Cf \cdot cm 2 。整个过程中,手部卫生对控制伤口感染起到重要的影响作用,如此能降低手术感染率超过40%。再次,要在手术过程中合理规范使用抗生素,如果手术时间在3 h以上,超过抗菌药物半衰期,需要对患者出血量进行分析,避免其超过1.5 L。具体来讲还要结合患者追加抗菌药物进行分析,始终保证手术过程中患者体温保暖措施到位,避免出现患者身体低温问题。

在《图解骨科手术配合》一书中,针对手术室护理配合在骨科手术应用中对切口感染发生情况的影响问题进行分析,希望有效护理干预患者伤口恢复情况,减轻患者疼痛,同时也降低患者创伤切口感染率。一般来说,护理人员需要对切口感染中的细菌类型如溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌等进行分析。护理人员必须对手术室护理配合有效强化,良好的护理能减少患者的术后并发症情况,最大程度避免切口感染问题,促进患者快速康复。除上述内容外,《图解骨科手术配合》一书中也探讨了骨科诊疗区域与病房区域中的抗菌器、感应水龙头、干手器等设备配置情况。要强化宣传培训相关内容,同时注重宣传教育确保手术过程中护理工作到位,最大限度降低患者切口感染率。特别强调整体护理观念,关注手术配合技能,为高质量的手术配合提供全面有效医疗护理解决方案。

(作者郭腾楠,河北北方学院附属第一医院,河北 张家口 075000)