

• 论著-实验研究 •

补中益气汤对人胃癌顺铂耐药细胞株
奥沙利铂化疗敏感性的作用及机制胡佳楠^{1△} 宋正波² 符丹丽³ 骆平平³ 徐益元³

[摘要] 目的:观察补中益气汤对人胃癌顺铂耐药细胞株 SGC-7901CDDP 奥沙利铂化疗敏感性的增强作用及机制。方法:将 30 株 SGC-7901CDDP 细胞株随机分为空白对照组、奥沙利铂组和补中益气组,每组 10 株,均置于 DMEM 高糖培养液中培养。空白对照组不添加其他药液培养,奥沙利铂组添加奥沙利铂注射液 1 mL 模拟化疗环境,补中益气组添加奥沙利铂注射液 1 mL+补中益气汤 3 mL 进行培养。培养 48 h 后进行细胞化疗敏感性指标(细胞凋亡率、细胞迁移率、细胞周期、细胞生物学参数及化疗增敏比)及反应机制相关因子(survivin、Bcl-2、NF- κ B)检测。结果:与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的细胞凋亡率均较高($P<0.05$),且补中益气组的细胞凋亡率明显高于奥沙利铂组($P<0.05$)。在 24 h 和 48 h 两个时点,奥沙利铂组和补中益气组的划痕面积明显低于空白对照组($P<0.05$),且补中益气组的划痕面积更小($P<0.05$)。与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组细胞处于 G2/M 期的 DNA 占比明显下调,处于 G1/S 期的 DNA 占比明显上升($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组细胞 G2/M 期 DNA 占比明显较低,处于 G1/S 期的 DNA 占比明显较高($P<0.05$)。与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的细胞化疗生物学参数(D_0 、 D_q 、N)均显著下降,而化疗增敏值显著上升($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组的细胞化疗生物学参数(D_0 、 D_q 、N)均显著下降,而化疗增敏值显著上升($P<0.05$)。与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF- κ B 表达均明显下调($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF- κ B 表达均明显降低($P<0.05$)。结论:补中益气汤能通过抑制细胞迁移、诱导细胞凋亡和提升人胃癌顺铂耐药细胞株的奥沙利铂化疗敏感性,其作用机制可能是补中益气汤通过下调 survivin、Bcl-2、NF- κ B 细胞因子水平,从而提升化疗效果。

[关键词] 补中益气汤;人胃癌顺铂耐药细胞株;化疗敏感性;奥沙利铂;作用机制

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2022.02.03

[中图分类号] R473.73 **[文献标志码]** A

Effect and mechanism of Buzhong Yiqi Decoction on enhancing
chemosensitivity of cisplatin-resistant human gastric cancer cell lineHU Jianan¹ SONG Zhengbo² FU Danli³ LUO Pingping³ XU Yiyuan³

(¹Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, 310053, China; ²Phase I Clinical Trial Ward of Zhejiang Cancer Hospital; ³Department of Oncology, Lishui People's Hospital)

Corresponding author: HU Jianan, E-mail: dingdu5@163.com

Abstract Objective: To observe the enhancement effect and mechanism of Buzhong Yiqi Decoction on the chemosensitivity of cisplatin-resistant human gastric cancer cell line SGC-7901CDDP to oxaliplatin. **Methods:** Thirty SGC-7901CDDP cell lines were randomly divided into blank control group, oxaliplatin group and Buzhong Yiqi Decoction group, with 10 cells in each group, all cultured in DMEM high glucose medium. The blank control group was cultured without adding other liquid medicines. In the oxaliplatin group, 1 mL of oxaliplatin injection was added to simulate a chemotherapy environment. The Buzhong Yiqi Decoction group was supplemented with oxaliplatin injection 1 mL+Buzhong Yiqi Decoction 3 mL for culture. After 48 hours of culture, the chemosensitivity indicators(apoptosis rate, cell migration rate, cell cycle, cell biological parameters, and chemosensitization ratio) and response mechanism-related factors(survivin, Bcl-2, NF- κ B) were detected. **Results:** Compared with

¹浙江中医药大学(杭州,310053)

²浙江省肿瘤医院 I 期临床试验病房

³丽水市人民医院肿瘤放疗科

[△]现在工作单位为丽水市人民医院肿瘤放疗科(浙江丽水,323000)

通信作者:胡佳楠, E-mail:dingdu5@163.com

the blank control group, the cell apoptosis rates in the oxaliplatin group and the Buzhong Yiqi Decoction group were both higher ($P < 0.05$), and the cell apoptosis rate in the Buzhong Yiqi Decoction group was significantly higher than that in the oxaliplatin group ($P < 0.05$). At 24 h and 48 h, the scratch areas of the oxaliplatin group and the Buzhong Yiqi Decoction group were significantly lower than those of the blank control group ($P < 0.05$), and the Buzhong Yiqi Decoction group had a lower scratch area than the oxaliplatin group ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the proportion of DNA in the G2/M phase of the oxaliplatin group and the Buzhong Yiqi Decoction group was significantly down-regulated, and the proportion of DNA in the G1 and S phases was significantly higher ($P < 0.05$). Compared with the oxaliplatin group, the proportion of DNA in the G2/M phase of the Buzhong Yiqi Decoction group was significantly lower, and the proportion of DNA in the G1 and S phases was significantly higher ($P < 0.05$). Compared with the blank culture group, the biological parameters of cell chemotherapy (D_0 , D_q , N) in the oxaliplatin group and Buzhong Yiqi Decoction group were significantly decreased, while the chemotherapy sensitization value increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the oxaliplatin group, the biological parameters (D_0 , D_q , N) of cell chemotherapy were significantly decreased, and the sensitization value was significantly increased in the Buzhong Yiqi Decoction group ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, the expressions of survivin, Bcl-2, and NF- κ B in the oxaliplatin group and Buzhong Yiqi Decoction group were all down-regulated ($P < 0.05$). Compared with the oxaliplatin group, the expressions of survivin, Bcl-2, and NF- κ B in the Buzhong Yiqi Decoction group were all lower ($P < 0.05$). **Conclusion:** Buzhong Yiqi Decoction can inhibit cell migration, induce cell apoptosis and improve the chemosensitivity of cisplatin-resistant human gastric cancer cell lines to oxaliplatin. The expression of Bcl-2 and NF- κ B cytokines decreased, thereby enhancing the effect of chemotherapy.

Key words Buzhong Yiqi Decoction; cisplatin-resistant human gastric cancer cell line; chemosensitivity; oxaliplatin; mechanism of action

胃癌在消化道肿瘤中属于常见的恶性肿瘤, 2015 年我国癌症数据报告显示, 每年胃癌新发病例为 67.9 万例, 死亡病例为 49.8 万例^[1]。目前胃癌患者的临床预后并未得到明显改善, 其重要原因在于胃癌细胞所产生的耐药性^[2]。虽然放化疗是临床治疗胃癌的重要方案, 但此治疗方法具有明显的不良反应, 对治疗效果产生了重要影响, 因此如何提升癌细胞化疗敏感性一直是临床研究的热点^[3]。当前中医辨证疗法在胃癌临床治疗中已经积累了丰富的经验, 其中补中益气汤在癌症的临床治疗中应用比较广泛, 在一定程度上不仅可改善癌症患者术后的化疗效果, 还可明显降低胃癌术后化疗不良反应的发生率^[4]。但补中益气汤是否对胃癌细胞化疗敏感性产生影响笔者未见文献报道。鉴于此, 本研究以人胃癌顺铂耐药细胞株 SGC-7901CDDP 为实验材料, 观察补中益气汤对人胃癌顺铂耐药细胞株 SGC-7901CDDP 奥沙利铂化疗敏感性的增强作用及反应机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞株 人胃癌顺铂耐药细胞株(型号: SGC-7901/CDDP), 购自南京凯基生物科技公司。细胞株顺铂耐药强度 IC_{50} 值为 80%。

1.1.2 药剂配制 补中益气汤根据新世纪版《方剂学》(中国中医药出版社, 邓中甲主编)中规定用药及临床常用剂量(黄芪 18 g, 甘草 9 g, 人参 6 g, 当归 3 g, 橘皮 6 g, 升麻 6 g, 柴胡 6 g, 白术 9 g)配制, 通过浙江中医药大学药理实验室鉴定, 煎煮沸

约 0.5 h, 两层纱布过滤; 药材再加水将药物淹没, 水煎煮约 15 min 滤过。合并二次滤液, 浓缩为含原生药量 0.25 g/mL 的汤剂。分别取上述组方中的药物各 1 kg, 用 95% 的乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 回收滤液, 过滤, 烘干, 得乙醇提取物 5 g, 按生药 0.25 g/mL 浓度计算, 将乙醇提取物溶于羧甲基溶液中, 使其完全溶解。

1.1.3 实验试剂及主要仪器 SP 免疫组织化学试剂盒、DAB 显色试剂盒均购自美国 OMEGA 生物公司; cDNA 合成试剂、细胞凋亡试剂盒及定量 PCR 试剂盒均购自北京中杉金桥生物公司; 细胞培养液购自美国 GIBCO 公司; 细胞培养箱购于美国 Thermo Forma 公司; 台式高速冷冻离心机购于德国 Eppendorf 公司; 实时定量 PCR 仪购自美国 GIBCO 公司; iMake 多功能酶标仪购自美国 ProteinSimple 公司; CX41 倒置光学显微镜购自日本 OLYMPUS 公司。流式细胞仪购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞株培养 实验期间将 SKOV3 细胞株置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中, 置于 37℃, 5% CO_2 培养箱中培养, 使菌落生长 14~21 d 后准备开始实验。实验开始时于超净工作台取出细胞株置于洁净试管制备细胞悬浊液, 离心计数后调整细胞浓度为 1.0×10^7 个/mL, 种植于 96 孔板中培养, 37℃ 孵育过夜。标记细胞 96 孔板标号(1~30), 并随机分为空白培养组、奥沙利铂组和补中益气组。空白对照组不添加其他药液培养。参照徐叔云等^[5]主编的《药理实验方法学》药物剂

量折算方法[成人 60 kg 折算:人日服药量(60 kg)×0.018]配制实验药物:补中益气汤实验溶液的各药物成分均乘以 0.018 煎制成 10 mL;奥沙利铂成人应用剂量为 130 mg,故取药液量为 2.34 mg (0.018×130 mg)。奥沙利铂组的每株 SGC-7901CDDP 细胞均于 DMEM 高糖培养液中添加奥沙利铂注射液(剂量:2.34 mg 奥沙利铂注射液溶于 1 mL 纯净生理盐水)模拟化疗环境。补中益气组的每株 SGC-7901CDDP 细胞 DMEM 高糖培养液中,除添加奥沙利铂注射液外,另添加补中益气汤药液 10 mL。3 组细胞株均培养 48 h 后待检测。

1.2.2 细胞凋亡及转移检测 采用 MTS 法进行抑制细胞增殖敏感性检测。具体步骤为:取每组细胞株,以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的悬溶液,分别铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L),置于 37℃,5% CO₂ 孵箱中培养 24 h 后,按照实验设计药物浓度分别将药物及对照加入各孔,继续培养 24 h。加 MTS:各孔分别加入 MTS 20 μ L,37℃,5% CO₂ 孵箱中孵育 4 h。自动酶标仪上以 490 nm 处为测定波长,测量各孔的吸收度值(A 值)。采用流式细胞术进行诱导细胞凋亡敏感性检测,具体步骤为^[6]:以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的悬溶液,分别铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L),以 0.25%胰酶消化和 PBS 洗 2 次,并作 1200 r/min 的离心处理 10 min,加入 5 μ L AnnexinV-FITC 和 10 μ L Propidium Iodide 混匀后,于 1 h 内应用流式细胞仪观察细胞凋亡情况。采用划痕试验进行抑制细胞迁移敏感性检测,具体步骤为^[7]:取每组细胞株,以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的悬溶液,分别铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L,每孔设置宽 1 mm,高 0.5 mm 凹槽,模拟划痕)。确保划痕处充满悬溶液,并将划痕外的细胞采用 PBS 洗净,然后每孔中加入 2 mL DMEM 高糖培养液,封好口膜。分别于 0、24 h、48 h 三个时点采用普光显微镜进行拍照,拍照时让划痕统一呈垂直方向,拍照后计算划痕面积,以此作为细胞迁移敏感性检测指标。

1.2.3 细胞周期检测 采用流式细胞仪进行细胞周期检测,具体步骤为:取培养中的细胞株,以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的

悬溶液,铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L,每孔设置宽 1 mm,高 0.5 mm 凹槽),转染细胞 72 h 后,1000 r/min 离心 5 min 后弃去固定液,放入流式细胞仪进行细胞周期检测。设置激发波长 546 nm,接受波长 647 nm,荧光红色,采用流式细胞仪自带软件分析各细胞周期的 DNA 所占比例。

1.2.4 细胞化疗增敏比观察 取培养中的细胞株,以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的悬溶液,铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L,每孔设置宽 1 mm,高 0.5 mm 凹槽),振摇培养板 3~5 min 后进行 48 h 内的细胞化疗生物学参数测定。测定参数 D₀、D_q、N 值,其中 D₀ 表示细胞存活数,D_q 表示平均细胞凋亡数,N 值为细胞存活 80% 时所需时间。化疗增敏比计数公式为: $(D_0/D_q) \times N$ 。

1.2.5 相关因子检测 取每组细胞株,以 0.25%胰蛋白酶制成细胞密度为 1×10^5 个/mL 的悬溶液,分别铺设于标记组别的 96 孔板中(每孔 100 μ L),然后严格运用 ACHI80 化学免疫发光仪采用 RT-PCR 法检测细胞中 survivin、Bcl-2、NF- κ B 的表达情况,各相关因子检测严格参考试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析。计量资料如细胞凋亡率、划痕面积等以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 促进细胞凋亡率及抑制转移敏感性分析

与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的细胞凋亡率均较高($P < 0.05$),且补中益气组的细胞凋亡率明显高于奥沙利铂组($P < 0.05$),提示补中益气汤可使奥沙利铂化疗的促进细胞凋亡敏感性更佳。随时间推移(0、24 h、48 h),空白对照组的划痕面积轻微增大,奥沙利铂组和补中益气组的划痕面积均逐渐变小,且补中益气组划痕面积缩小更大。在 24 h 和 48 h 两个时点,奥沙利铂组和补中益气组的划痕面积明显低于空白对照组($P < 0.05$),且补中益气组的划痕面积更小($P < 0.05$),提示补中益气汤可使奥沙利铂化疗的抑制细胞转移敏感性更佳,见表 1。

表 1 3 组细胞凋亡率及细胞划痕面积比较

$\bar{X} \pm S$

组别	株	细胞凋亡率/%	细胞划痕面积/mm ²		
			0	24 h	48 h
空白对照组	10	-0.71±0.14	22.13±3.91	27.56±3.93	28.71±4.01
奥沙利铂组	10	32.54±3.18 ¹⁾	22.23±3.84	16.54±3.54 ¹⁾	13.68±3.39 ¹⁾
补中益气组	10	43.94±4.13 ¹⁾²⁾	22.29±3.79	12.18±2.94 ¹⁾²⁾	9.63±2.82 ¹⁾²⁾

与同一时点空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与同一时点奥沙利铂组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

2.2 抑制细胞生长周期敏感性分析

与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组细胞处于 G2/M 期的 DNA 占比明显下调,处于 G1、S 期的 DNA 占比明显上升($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组细胞 G2/M 期 DNA 占比明显下调,处于 G1、S 期的 DNA 占比明显上升($P<0.05$),见图 1。

2.3 细胞化疗生物学参数及化疗增敏比分析

与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的细胞化疗生物学参数(D_0 、 D_q 、 N)均显著下降,而化疗增敏值显著上升($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组的细胞化疗生物学参数(D_0 、 D_q 、 N)均显著下降,而化疗增敏值显著上升($P<0.05$),见表 2。

2.4 细胞病理学分析及细胞中 survivin、Bcl-2、NF-κB 表达情况

空白对照组肿瘤细胞结构清晰,黏膜上皮完整,肺泡腔结构完整,具备较强生物活性;奥沙利铂

组肿瘤细胞萎陷,炎性细胞浸润有所减轻,生物活性较空白对照组有所降低;补中益气组肿瘤细胞结构消失、萎陷、断裂、增宽,生物学活性相对最低,见图 2。与空白对照组比较,奥沙利铂组和补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF-κB 表达均明显下调($P<0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF-κB 表达均明显降低($P<0.05$),见表 3。

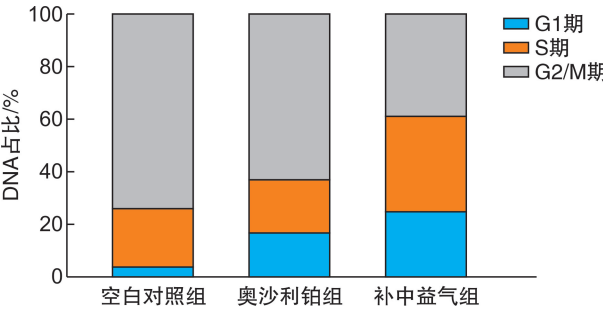
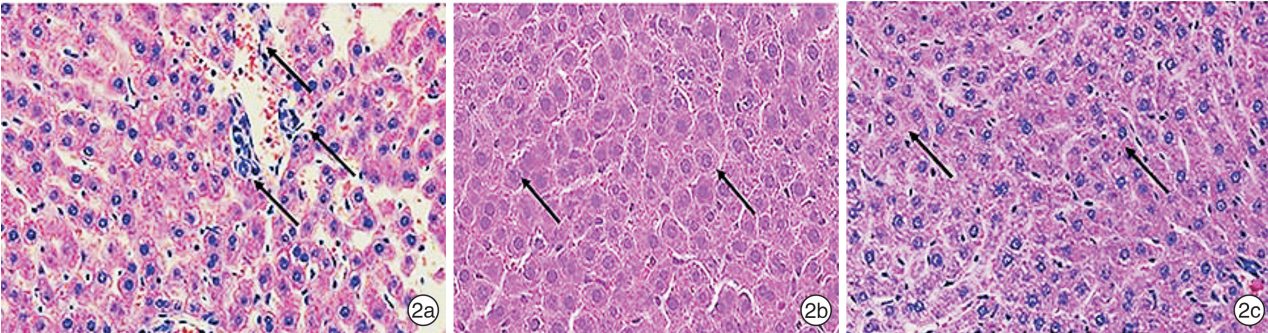


图 1 3 组细胞生长周期分布比较

表 2 3 组细胞化疗生物学参数及化疗增敏值比较					$\bar{X} \pm S$
组别	株	$D_0 / \%$	$D_q / \%$	$N / \%$	化疗增敏值
空白对照组	10	13.49 ± 0.17	3.32 ± 0.21	1.28 ± 0.10	
奥沙利铂组	10	$9.34 \pm 0.12^{1)}$	$1.65 \pm 0.14^{1)}$	$0.83 \pm 0.08^{1)}$	$1.43 \pm 0.70^{1)}$
补中益气组	10	$6.26 \pm 0.08^{12)}$	$0.56 \pm 0.10^{12)}$	$0.62 \pm 0.04^{12)}$	$2.18 \pm 0.12^{12)}$

与空白对照组比较,¹⁾ $P<0.05$;与奥沙利铂组比较,²⁾ $P<0.05$ 。



2a:空白对照组;2b:奥沙利铂组;2c:补中益气组。3 组病理学图片箭头所指位置为细胞活性的情况。

图 2 3 组细胞病理学图(×100)

表 3 3 组细胞中 survivin、Bcl-2、NF-κB 表达比较				$\mu\text{mol/L}, \bar{X} \pm S$
组别	株	survivin	Bcl-2	NF-κB
空白对照组	10	1.97 ± 0.49	3.08 ± 0.52	17.26 ± 2.68
奥沙利铂组	10	$1.34 \pm 0.30^{1)}$	$2.17 \pm 0.48^{1)}$	$14.23 \pm 2.03^{1)}$
补中益气组	10	$0.91 \pm 0.19^{12)}$	$1.48 \pm 0.34^{12)}$	$10.26 \pm 1.71^{12)}$

与空白对照组比较,¹⁾ $P<0.05$;与奥沙利铂组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

目前临床治疗胃癌的主要方法有手术治疗、放疗和化疗,而奥沙利铂作为实体肿瘤化疗的一线铂类药物,在化疗中能起到良好的抗肿瘤细胞增殖、

诱导细胞凋亡和抗肿瘤细胞转移等效果,但奥沙利铂与其他铂类化疗药物一样存在化疗不良反应,如骨髓抑制、造血功能抑制、心脏毒性反应等,对胃癌患者的临床预后造成明显影响^[8-9]。不仅如此,随

着奥沙利铂用药剂量和用药时间的延长,还会发生不良反应,如耐药性所导致的化疗敏感性降低就是其中一种^[10]。因此,提升顺铂耐药胃癌患者化疗敏感性一直是临床研究的热点。对于奥沙利铂等铂类耐药胃癌患者化疗药物敏感性降低问题,临床多采用更换药物、增加药物剂量或联合其他化疗药物来解决,但这些化疗方案虽能在短时间内起到化疗效果,降低化疗耐药性对化疗效果的影响,但也可能导致其他化疗药物敏感性的减低^[11-12]。因此,临床将增强胃癌顺铂耐药患者化疗敏感性的研究方向指向了中医药。

中医学认为,胃癌为脾胃虚弱所导致的气血失源、气机失调、正不御邪等,故中医药可以补益中气治之^[13]。补中益气汤源自古经典中医典籍《脾胃论》,原方主含党参、甘草、黄芪、薏苡仁等成分,是具有补中益气之功效的良方。本研究的药物组方为黄芪、甘草、人参、当归、橘皮、升麻、柴胡、白术等,具有健脾益气、补气养血、燥湿化痰、祛痰祛湿和健脾补气的作用,可起到健脾利胃、补中益气之功效^[14-15]。补中益气汤在胃癌临床治疗中已经得到应用。高文正^[16]观察了补中益气汤对胃癌手术患者胃肠功能恢复的影响,显示补中益气汤可缩短术后首次排气排便时间,促进胃肠功能恢复,延长胃癌患者生存时间。麦柳芳^[17]采用随机平行对照研究法观察了补中益气汤对胃癌患者术后化疗效果的影响,研究显示补中益气汤能提升胃癌术后化疗效果,降低化疗不良反应发生率。但目前笔者未见补中益气汤是否对顺铂化疗耐药胃癌患者化疗敏感性产生影响的报道。本研究以细胞凋亡率、细胞迁移划痕试验、细胞周期、细胞化疗生物学参数及化疗增敏比为化疗敏感性观察指标,结果显示奥沙利铂组和补中益气组的细胞凋亡率均明显高于空白对照组($P < 0.05$),且补中益气组的细胞凋亡率明显高于奥沙利铂组($P < 0.05$)。细胞划痕面积显示,在 24 h 和 48 h 两个时点,奥沙利铂组和补中益气组的划痕面积明显低于空白对照组($P < 0.05$),且补中益气组的划痕面积更小($P < 0.05$)。与奥沙利铂组比较,补中益气组细胞 G2/M 期的 DNA 占比明显较低,处于 G1/S 期的 DNA 占比明显较高($P < 0.05$)。与奥沙利铂组比较,补中益气组的细胞化疗生物学参数(D_0 、 D_q 、N)均显著下降,而化疗增敏值显著上升($P < 0.05$)。提示补中益气汤可抑制人胃癌顺铂耐药细胞株转移、诱导细胞凋亡及降低细胞处于有丝分裂 G2/M 期的比例,同时补中益气汤也能降低人胃癌顺铂耐药细胞株的化疗生物学参数,增强人胃癌顺铂耐药细胞株奥沙利铂化疗的敏感性。

凋亡抵抗是肿瘤细胞耐药中最重要的机制,凋亡相关基因调控可直接对肿瘤化疗敏感性产生影

响。Survivin 作为肿瘤细胞凋亡抑制蛋白,是迄今为止临床发现的最强肿瘤细胞凋亡抑制因子。国内外研究显示,沉默 survivin 基因(或降低 survivin 基因)表达可有效提升肝癌、胃癌等实体肿瘤化疗敏感性,与激活 caspase-3 所介导的凋亡通路有关^[18]。在胃癌术后化疗研究中,Shima 等^[19]的动物实验研究显示,survivin 敲除可提升胃癌细胞化疗药物敏感性。此外,于秋菊^[20]通过临床对照研究显示,survivin 表达降低可明显抑制胃癌病情进展,提升塞来昔布化疗敏感性。Bcl-2 是临床最早被发现的肿瘤细胞凋亡抑制基因,也是目前研究最深入的抗肿瘤细胞凋亡基因之一。近年研究显示,Bcl-2 基因过度表达可显著降低化疗敏感性,对细胞凋亡产生影响,Bcl-2 的抗凋亡作用是导致化疗药物耐药性的主要作用机制之一^[21-22]。NF- κ B 作为肿瘤细胞中表达较为广泛的转录因子,在未激活状态时,细胞质中的 NF- κ B 可与肿瘤凋亡抑制因子 I κ B 结合形成无活性的三聚体,但化疗所导致的肿瘤细胞 DNA 损伤可激活肿瘤凋亡抑制因子 I κ B 降解,故 NF- κ B 低表达可抑制肿瘤细胞凋亡^[23]。一般认为肿瘤细胞化疗耐药性与 NF- κ B 的激活密切相关,故降低 NF- κ B 表达可抑制肿瘤细胞凋亡,从而提升化疗敏感性(黄李冰雪等,2019)。以上相关肿瘤细胞耐药相关基因(survivin、Bcl-2、NF- κ B)的研究显示,这些相关基因均是胃癌细胞株产生顺铂耐药性的重要发生机制,亦是增强胃癌细胞耐药株化疗敏感性的重要基因,提示降低这些肿瘤细胞耐药相关基因的表达可有效提升胃癌细胞耐药株化疗敏感性。本研究 RT-PCR 检测数据显示,与空白对照组比较,奥沙利铂组、补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF- κ B 表达均明显下调($P < 0.05$);与奥沙利铂组比较,补中益气组的 survivin、Bcl-2、NF- κ B 表达均明显降低($P < 0.05$),提示补中益气汤提升化疗增敏作用效果的机制可能与降低了胃癌细胞耐药相关基因(survivin、Bcl-2、NF- κ B)的表达有关。

综上所述,提升化疗敏感性是顺铂耐药胃癌患者临床研究的热点,本研究观察了补中益气汤对人胃癌顺铂耐药细胞株 SGC-7901CDDP 化疗敏感性的增强作用及反应机制。本研究结果显示,补中益气汤能通过抑制人胃癌顺铂耐药细胞株转移、诱导细胞凋亡及降低细胞处于有丝分裂 G2/M 期的比例,同时补中益气汤也能降低人胃癌顺铂耐药细胞株的生物学参数,增强人胃癌顺铂耐药细胞株奥沙利铂化疗的敏感性,其作用机制可能与降低了胃癌细胞耐药相关基因(survivin、Bcl-2、NF- κ B)的表达有关。但本研究仍有局限性,如由于经费问题未能探讨补中益气汤的应用剂量与提升人胃癌顺铂耐药细胞株 SGC-7901CDDP 化疗敏感性的关系,这

仍需后续研究证实。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华中医药学会脾胃病分会,中国医师协会中西医结合医师分会消化病学专业委员会.胃黏膜定标活检技术临床应用共识(2018)[J].中国中西医结合杂志,2018,38(12):1496-1500.
- [2] 于斌,朱蔚远,彭文斌,等.胃癌患者Hp感染与TNM分期及肿瘤恶性程度的关系分析[J].中国中西医结合消化杂志,2020,28(9):663-667.
- [3] 王祥财,郭蒸,黄莉,等.ER β 增加胃癌细胞氟尿嘧啶化疗敏感性的机制研究[J].赣南医学院学报,2019,18(5):446-450,454.
- [4] 郑勇洪,侯凯哲.补中益气汤治疗胃癌术后患者临床研究[J].新中医,2019,51(7):79-81.
- [5] 徐叔云,卞如谦,陈修,等.药理实验方法学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2016:1-20.
- [6] Bueno MJ, Pérez de Castro I, Gómez de Cedrón M, et al. Genetic and epigenetic silencing of micro RNA-214 enhances ABL1 and BCR-ABL1 oncogene expression[J]. Cancer Cell, 2016, 13(6):496-506.
- [7] Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Circulating micro RNAs in plasma of patients with gastric cancers[J]. Br J Cancer, 2016, 102(7):1174-1179.
- [8] 戴蕾,罗灵和,吴黎艳,等.miR-222、MBD2在胃癌患者中的表达及对铂类化疗敏感性的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2019,10(6):623-629.
- [9] Villagomez OV, Delgadillo DE, Marino MI, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx and larynx[J]. Cir Cir, 2016, 84(5):617-633.
- [10] 陈渠发,陈毅斌,张锡迎,等.PBK/TPK在HCC组织中的表达与HCC对奥沙利铂敏感性的关系研究[J].解放军预防医学杂志,2019,37(3):35-37.
- [11] 邹利波.口腔鳞状细胞癌新辅助化疗前后多药耐药相关蛋白的表达及临床疗效分析[D].南昌:南昌大学,2016.
- [12] Mengjia SX, Chen XF, Wang LP, et al. Future of anti-PD-1/PD-L1 applications: Combinations with other therapeutic regimens[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(2):157-172.
- [13] 王恩倩.中医辨证护理对胃癌晚期疼痛的改善效果研究[J].湖南中医杂志,2019,35(7):106-107,113.
- [14] 周学文.结直肠癌化疗患者采用补中益气汤加减治疗对其便秘症状的改善效果分析[J].数理医药学杂志,2019,32(8):1224-1225.
- [15] 葛姗.补中益气汤联合吉非替尼治疗肺腺癌随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2019,33(6):27-30.
- [16] 高文正.补中益气汤加减对胃癌术后气虚血瘀证胃肠功能恢复的影响[J].天津药学,2019,31(2):37-38.
- [17] 麦柳芳.补中益气汤联合化疗治疗胃癌术后随机平行对照研究[J].实用中医内科杂志,2019,33(1):36-39.
- [18] Terufumi K, Giichiro TW, Yoshihiko HR, et al. Immunohistological analysis of pancreatic carcinoma after vaccination with survivin 2B peptide: Analysis of an autopsy series[J]. Cancer Sci, 2019, 110(8):2386-2395.
- [19] Shima HE, Tsurita GH, Wada S, et al. Randomized phase II trial of survivin 2B peptide vaccination for patients with HLA-A24-positive pancreatic adenocarcinoma[J]. Cancer Sci, 2019, 110(8):2378-2385.
- [20] 于秋菊.替吉奥胶囊对老年胃癌患者Survivin和sI-CAM-1及肿瘤标志物水平的影响分析[J].当代医学,2019,25(5):135-136.
- [21] 宋艳琦,霍永利,董笑一,等.浊毒1号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜细胞凋亡及Bcl-2基因表达的影响[J].新中医,2019,51(4):19-21.
- [22] Farrow ES, Boulanger TF, Wojcik AS, et al. Magnetic resonance imaging and computed tomography in the assessment of mandibular invasion by squamous cell carcinoma of the oral cavity. Influence on surgical management and post-operative course[J]. Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale, 2016, 117(5):339-361.
- [23] 雷蕾,张涛,叶斌,等.RNA干扰FLOT2基因表达下调NF- κ B信号对胃癌细胞凋亡诱导作用研究[J].胃肠病学和肝病学杂志,2019,28(6):620-624.

(收稿日期:2021-10-12)