

本文引用:郭忠聪,杨宇婷,王智贤,龚纯. 抗癌防移片对结直肠癌肝转移 BALB/c 小鼠 P65、STAT3、TNF- α 因子的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(11): 1823-1829.

抗癌防移片对结直肠癌肝转移 BALB/c 小鼠 P65、STAT3、TNF- α 因子的影响

郭忠聪¹, 杨宇婷², 王智贤², 龚纯^{1*}

(1. 湖南中医药大学第一附属医院肿瘤科, 湖南 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学研究生院, 湖南 长沙 410208)

[摘要] **目的** 通过研究抗癌防移片对结直肠癌肝转移小鼠模型肝脏组织中癌基因蛋白质 p65(oncogene protein p65, P65)、信号传导转录激活因子 3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)蛋白表达,以及血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)浓度检测,探讨抗癌防移片预防结直肠癌肝转移的作用机制。**方法** 采用脾脏注入 CT26 细胞的方法制备结直肠癌小鼠模型,按照随机分配的原则分为 6 组:模型组、阳性对照组、中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组、中西药组,每组 5 只。模型组予以等体积生理盐水灌胃,1 次/d;阳性对照组予以奥沙利铂甘露醇注射液(L-OHP)、氟尿嘧啶注射液(5-Fu)、亚叶酸钙注射液(CF),腹腔注射,1 次/周;中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组裸鼠以抗癌防移片中药混悬液灌胃,1 次/d;中西药组采用阳性对照组和中药高剂量组两种方式结合给药。分组干预 3 周后,采集肝脏组织和血清,采用 HE 染色法观察各组小鼠肝组织病理切片分析细胞结构,采用 Western bolt 检测 P65 及 STAT3 蛋白表达量,ELISA 法检测血清中 TNF- α 蛋白浓度。**结果** 给药后 3 周,与模型组比较,中药高剂量组、中西药组、阳性对照组小鼠的体质量均明显增加($P<0.05$);小鼠肝组织瘤体质量均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,阳性对照组、抗癌防移片高剂量组、中西药组小鼠组织细胞排列整齐,结构清晰,仅可见少许异型细胞。与模型组比较,抗癌防移片高剂量组 P65、STAT3 蛋白表达水平及 TNF- α 浓度含量降低($P<0.05$)。**结论** 抗癌防移片可能通过抑制 P65、STAT3、TNF- α 蛋白表达,改善组织炎症环境,从而发挥抑制结直肠癌肝转移的作用。

[关键词] 结直肠癌;肝转移;抗癌防移片;炎症环境;癌基因蛋白质 p65;信号传导转录激活因子 3;肿瘤坏死因子

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.009

Effects of Anti-cancer and Anti-migration Tablets on the expression of P65, STAT3 and TNF- α factors in BALB/c mice with liver metastasis of colorectal cancer

GUO Zhongcong¹, YANG Yuting², WANG Zhixian², GONG Chun^{1*}

(1. Department of Oncology, The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To discuss the mechanism of Anti-cancer and Anti-migration Tablets in preventing liver metastasis of colorectal cancer by investigating the expression of oncogene protein p65 (P65), signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) protein in liver tissues of mice model of liver metastasis of colorectal cancer, and the concentration of tumor necrosis factor (TNF- α) in serum. **Methods** The mice model of colorectal cancer was prepared by injecting CT26 cells into the spleen. According to the principle of random distribution, the mice were divided into 6 groups: model group, positive control group, low-dose group, medium-dose group, high-dose group, and Chinese and western medicine group. There were 5 mice in each group. The model group was given equal volume of normal saline by gavage once a day; The positive control group was given oxaliplatin mannitol injection (L-OHP), fluorouracil injection (5-Fu), calcium folinate injection (CF), intraperitoneal injection once a week; The low dose group, middle dose group and high dose group of Chinese medicine were administered

[收稿日期] 2022-09-01

[基金项目] 湖南省卫生健康委一般项目(20200588)。

[第一作者] 郭忠聪,男,副主任医师,研究方向:中医药对于恶性肿瘤的防治研究。

[通信作者] * 龚纯,女,硕士,主治医师, E-mail: gc89785189@sina.com。

orally with anti-cancer anti migration tablet suspension of Chinese medicine once a day; The positive control group and the high dose group of traditional Chinese medicine were used in the Chinese and western medicine group. After 3 weeks of intervention, liver tissues and serum were collected, and cell structures were analyzed by observing the pathological sections of liver tissues using HE staining. Western bolt was used to detect the expression of P65 and STAT3 proteins, and ELISA was applied to detect TNF in serum- α protein concentration. **Results** Three weeks after administration, compared with the model group, the body mass of mice in the high-dose Anti-cancer and Anti-migration Tablets group, the Chinese and western medicine group, and the positive control group increased significantly ($P < 0.05$); the tumor mass of mice liver tissues was significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the positive control group, the high-dose Anti-cancer and Anti-migration Tablets group, and the Chinese and western medicine group showed orderly arranged tissue cells with clear structure, with only a few heterotypic cells. Compared with the model group, the expression level of P65, STAT3 proteins and the concentration of TNF- α in the high-dose Anti-cancer and Anti-migration Tablets group decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Anti-cancer and Anti-migration Tablets may inhibit P65, STAT3 and TNF- α protein expression, and improve the tissue inflammatory environment, so as to take effects in inhibiting liver metastasis of colorectal cancer.

[**Keywords**] colorectal cancer; liver metastases; Anti-cancer and Anti-migration Tablets; inflammatory environment; oncogene protein p65; signal transduction and activator of transcription 3; tumor necrosis factor

结直肠癌(colorectal cancer)指发生在结肠及直肠部位的恶性肿瘤,是全球第三大恶性肿瘤,其严重威胁着人类生命健康。饮食结构改变、肥胖、吸烟等均是导致结直肠癌发生的不利因素^[1]。近年来,随着生活方式及饮食结构的改变,我国结直肠癌发病率急剧上升^[2]。目前,结直肠癌的治疗方法以手术切除为主,但术后总的5年生存率只有50%左右^[3]。多数导致结直肠癌患者的死亡原因主要是由结直肠癌肝转移引起,随着肿瘤病情的进展,在50%的结直肠癌患者中都会发生肝转移,发生肝转移的结直肠癌患者中位生存期仅为6~12个月。因此,研究结直肠癌肝转移发生、发展的机制及有效防治方法意义深远^[4-5]。

中医药防治疾病重视整体观念,由多味中药配伍而成的中药复方可通过多个环节起效,可在改善肿瘤患者的临床证候、提高化疗敏感性、降低化疗不良反应、调节机体免疫力、降低复发转移率等方面发挥重要作用。近年来湖南中医药大学第一附属医院肿瘤科在临床实践中运用抗癌防移片防治常见恶性肿瘤的复发转移,收到了满意的临床疗效。前期临床研究显示,抗癌防移片联合化疗不仅可提高结直肠癌肝转移患者的疾病缓解率,还可降低Ⅲ期结肠癌术后患者的复发转移率^[6-10]。前期实验显示,抗癌防移片可降低结直肠癌模型小鼠肝转移发生率,通过抑制血清肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,抑制血管新生,从

而抑制结直肠癌肝转移^[11]。本研究拟在前期证实抗癌防移片可降低结直肠癌肝转移率的基础上,以结直肠癌肝转移裸鼠模型为对象,围绕炎性微环境相关因子,以癌基因蛋白质 p65、信号传导转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)为切入点,研究抗癌防移片抗结直肠癌肝转移的可能机制,为中医药防治结直肠癌肝转移提供更多的科学依据。

1 材料

1.1 实验动物

选择 SPF 级别的 BALB/c 小鼠共 40 只,体质量 18~22 g,6~8 周龄。购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。动物许可证号:SCXK(湘)2016-0002;实验单位使用许可证号:SYXK(湘)2015-0003。饲养环境:温湿度适宜、人工 12 h 昼/夜循环照明的 SPF 级动物房。动物实验伦理批号:ZYFY20190920。

1.2 药物组成

抗癌防移片系三湘名医经验方(由红参、半枝莲、黄芪、薏苡仁、姜黄、女贞子、墨旱莲、莪术、九香虫、枸杞子、白术、湘曲等组成,湖南中医药大学第一附属医院药剂科生产,批号:040106)。奥沙利铂甘露醇注射液(L-OHP),规格:100 mL:0.1 g,商品名:艾恒,购自江苏恒瑞医药股份有限公司,产品批号:国药准字 H20050962。氟尿嘧啶注射液(5-Fu),规格:

10 mL, 0.25 g, 购自天津金耀药业有限公司, 国药准字 H12020959。亚叶酸钙注射液 (calcium folinate injection, CF), 规格: 10 mL: 0.1 g (以亚叶酸计), 购自江苏恒瑞医药股份有限公司, 国药准字 H20000584。

1.3 主要试剂

快速金 BCA 蛋白测定试剂盒 (皮诺飞生物公司, 批号: P0009); 5×蛋白上样缓冲液 (皮诺飞生物公司, 批号: PN0033); 磷酸化蛋白酶抑制剂 (Servicebio 公司, 批号: G2007); BCA 蛋白定量检测试剂盒 (Servicebio 公司, 批号: G2026); RIPA 裂解液 (皮诺飞生物公司, 批号: P0005); 磷酸化蛋白酶抑制剂 (皮诺飞生物公司, 批号: P0007); 蛋白酶抑制剂 (Beyotime, 批号: P1030); PVDF 膜 (MILLIPORE 公司, 批号: IPVH00010); 小鼠 TNF- α 酶联免疫吸附测定试剂盒 (伊莱瑞特, 批号: E-EL-M3063); 小鼠白介素 6 (IL-6) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (伊莱瑞特, 批号: E-EL-M0044c)。

1.4 主要仪器

高速组织研磨仪 (Jingxin 公司, 型号: JXFST-PRP-48); 高速离心机 (科析仪器有限公司, 型号: TGL-16); 台式冷冻离心机 (SCILOGEX 公司, 型号: CF1524R); 电磁炉 (SUPOR 公司, 型号: C22-IH69E5); 电泳电源 (型号: 164-5070)、转膜槽 (型号: 170-3930); 电泳槽 (型号: 165-8001) 均购自 BIO-RAD 公司; 数显钟摆摇床 (Servicebio 公司, 型号: DS-S100); 暗匣 (广东粤华医疗器械厂有限公司, 型号: AX-II; FlexStation); 多功能酶标仪 (Molecular Devices 公司, 型号: Flexstation3); 离心机 (湖南湘仪仪器有限公司, 型号: H1650-W)。

2 实验方法

2.1 模型制备

BALB/C-nu/nu 雄性裸鼠饲养于温湿度适宜、人工 12 h 昼夜循环照明的 SPF 级动物房, 适应性饲养 1 周后, 按随机分配的原则分为模型组、阳性对照组、中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组、中西药组 (中药+阳性对照药)。小鼠均用 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔注射麻醉后, 于背侧中部、左侧腋中线与腋后线间, 取 1 cm 左右纵形切口进腹, 暴露脾脏, 于脾脏下极贴近脾包膜沿脾脏纵轴向上进针,

注入敲除 NF- κ B p65、STAT3 表达的 CT26 细胞悬液 0.2 mL, 退针后立即用蘸有络合碘的消毒棉签轻压针眼数秒, 查看无出血后, 将脾脏放回原位, 依次间断缝合腹膜、皮肤, 关腹^[12-13]。

2.2 实验分组

将造模后的 BALB/c 小鼠按随机原则进行分配, 每组 5 只。模型组裸鼠以 0.5 mL 生理盐水灌胃, 1 次/d; 阳性对照组根据《CSCO 结直肠癌诊疗指南 (2022)》选择晚期结直肠癌一线治疗方案, 具体药物为: L-OHP、5-Fu、CF, 剂量 L-OHP 1 mg、5-Fu 4 mg、CF 0.4 mg, 腹腔注射, 1 次/周; 中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组裸鼠以抗癌防移片中药混悬液灌胃, 剂量分别相当于 60 kg 成人等效剂量的 1、3、5 倍, 分别为 1、3、5 g/mL 抗癌防移片混悬液, 1 次/d; 中西药组裸鼠以 5 g/mL 抗癌防移片中药混悬液灌胃, 1 次/d, 并联合 L-OHP 1 mg、5-Fu 4 mg、CF 0.4 mg 腹腔注射, 1 次/周。所有组别连续给药 3 周。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 一般情况观察 给药过程中每日定时观察小鼠状态, 包括精神、饮食、活动、皮毛、排泄物以及腹部。每隔 3 天称量并记录小鼠体质量, 各组小鼠灌胃 3 周治疗结束后, 进行采血工作等相关工作后, 处死小鼠, 立即解剖观察腹腔内情况, 包括肝脏转移和其他脏器受累情况, 腹腔淋巴结转移情况, 有无血性腹水。测量肝脏重量, 将肝转移癌组织切下进行称重, 计算癌重/肝重比和抑瘤率。抑瘤率 = (1 - 治疗组平均瘤重/对照组平均瘤重) × 100%。

2.3.2 肝脏组织的病理学检测 剖腹观察并记录各组小鼠肝脏成瘤情况, 摘取肝脏, 称重, 进行数据统计分析。首先用多聚甲醛对肝脏组织进行固定包埋, 流水冲洗组织中残存的多聚甲醛, 组织转入脱水机中进行梯度乙醇脱水, 彻底脱水后浸入无水乙醇, 浸蜡包埋。将组织切成厚度为 4 μ m 的切片, 通过展片、捞片、烤片、脱蜡、乙醇浸入等 HE 染色程序, 采用中性树胶封片, 在光镜下观察、拍照, 得到相应的图片进行分析。

2.3.4 Western bolt 实验检测 P65 及 STAT3 蛋白表达 首先针对进行蛋白提取, 用 PBS 缓冲液冲洗组

织块,加入组织蛋白提取试剂,充分匀浆后,在4℃ 12 000 r/min离心15 min,收集总蛋白溶液。总蛋白溶液变性,向每个样品的总蛋白溶液中加入5× loading buffer上样缓冲液,加热,离心,涡旋混匀后再离心。配制分离胶、浓缩胶后立即灌胶;玻璃板固定好后加入预先配制好的分离胶。待胶凝固后,加入浓缩胶并插入梳子,待胶再次凝固后轻轻拔出梳子。处理好的各组蛋白样品并开始电泳。PVDF膜于甲醇中活化1 min,分离胶,加入预冷的转膜液,设定电流为250 mA,于冰浴中转膜1 h。封闭:将PVDF膜放入适量5%脱脂奶粉中,于脱色摇床上振荡封闭1 h。经过一抗孵育、二抗孵育。滴加新鲜配制的ECL混合溶液到膜的蛋白面侧,发光检测。根据不同的光强度调整曝光条件,显影、定影。采用AlphaEaseFC软件处理系统分析目标带的光密度值。

2.3.5 ELISA法检测血清中TNF- α 蛋白浓度 将样本血清3000 r/min离心10 min,取上清检测。设置空白孔、标准孔、待测样品孔。分别于各空中按实验规定加入样品稀释液100 μ L。覆膜,37℃孵育90 min。将孔内液体丢弃,甩干,不用洗板,每孔中加入生物素化抗体工作液100 μ L,将覆膜盖上酶标板,37℃温育1 h。将剩余液体丢弃,洗板3次,每次浸泡30 s,大约350 μ L/孔,最后用吸水纸将孔内液体擦干。每孔加入酶结合物工作液100 μ L,覆膜盖上,37℃温育30 min。将孔内液体丢弃,甩干,洗板5次。将显色剂(TMB)加入每个孔中约90 μ L,将覆膜盖上酶标37℃避光孵育15 min。每孔加入终止液终止反应,在450 nm波长下用酶标仪测量各孔的光密度即OD值。

2.4 统计学处理

实验数据采用SPSS 21.0软件进行统计学分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,数据符合正态分布及方差齐性时,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用LSD法;数据符合正态分布但方差不齐时,两组间比较用Satterthwaite近似 T 检验,多组间比较采用近似 T 检验Welch法;数据不符合正态分布,则采用非参数

检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况观察

模型组小鼠活动度最低,进食量最少,四肢消瘦,腹水严重;阳性对照组小鼠活动度低,但进食情况较模型组好,依然存在腹水情况;中药低剂量组小鼠活动度差,进食情况差,存在大量腹水情况;中药中剂量组小鼠活动度一般,进食量中等,有较多腹水;中药高剂量组小鼠活动度良好,进食情况良好,无腹水;中西药组小鼠活动度可,进食情况良好,无腹水。给药前及给药后1周,各组间比较体质量无明显差异($P>0.05$);给药后3周,与模型组比较,中药高剂量组、中西药组、阳性对照组小鼠的体质量差异明显($P<0.05$)。详见表1。

表1 各组小鼠体质量变化情况($g, \bar{x}\pm s, n=5$)

组别	给药前	给药1周	给药2周	给药3周
模型组	19.98 \pm 5.62	17.57 \pm 3.82	13.29 \pm 4.25	11.02 \pm 3.50
阳性对照组	20.18 \pm 4.14	16.22 \pm 2.67	17.47 \pm 2.05	25.92 \pm 2.09* Δ
中药低剂量组	20.39 \pm 2.06	17.65 \pm 4.70	13.84 \pm 1.94	11.96 \pm 3.52
中药中剂量组	20.04 \pm 3.67	17.21 \pm 4.02	15.39 \pm 3.89	14.03 \pm 4.54
中药高剂量组	19.85 \pm 6.96	16.39 \pm 2.90	17.49 \pm 5.76	25.29 \pm 4.61* Δ
中西药组	20.21 \pm 1.97	16.83 \pm 6.28	18.08 \pm 4.30* Δ	26.69 \pm 1.90* Δ

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与中药低剂量组比较, $\Delta P<0.05$ 。

3.2 各组肝组织瘤体比较

与模型组相比,中药高剂量组、中西药组阳性对照组、肝组织瘤体重量明显降低($P<0.05$)。详见表2、图1。

表2 肝组织瘤体重量($g, \bar{x}\pm s$)

组别	n	瘤体重量
模型组	5	2.8 \pm 0.25
阳性对照组	5	1.00 \pm 0.23*
中药低剂量组	5	1.54 \pm 0.24
中药中剂量组	5	1.24 \pm 0.23
中药高剂量组	5	1.46 \pm 0.23*
中西药组	5	0.96 \pm 0.21*

注:与模型组比较,* $P<0.05$ 。

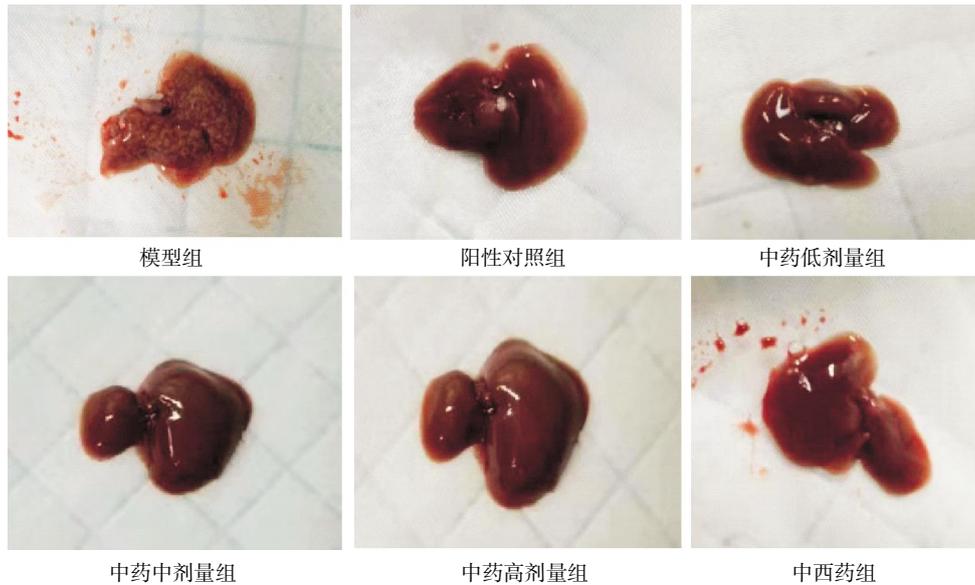


图 1 各组肝转移瘤情况

注:图中红色箭头所指是肝组织瘤体情况。

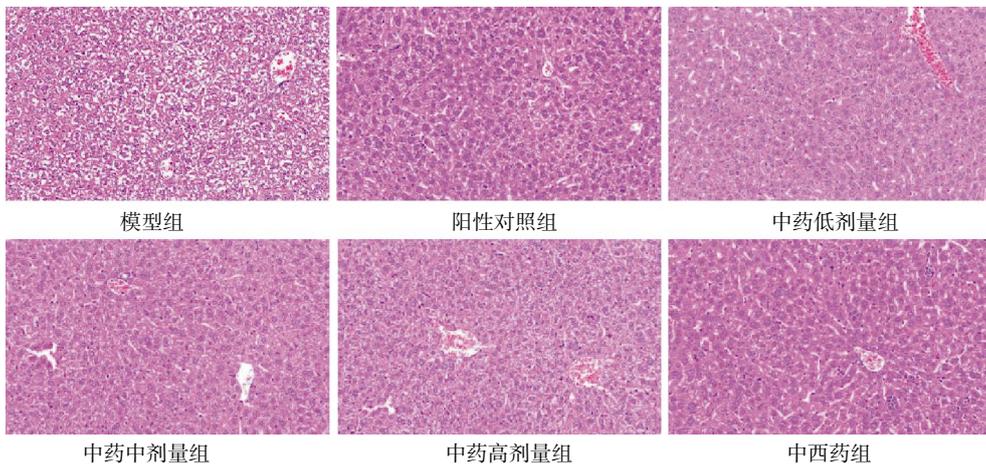


图 2 各组小鼠灌胃 3 周后肝脏组织的 HE 染色($\times 100$)

3.3 肝脏组织的 HE 染色

模型组肝脏组织上可见多个大小不等的结节, HE 染色后在光镜下观察, 肝脏细胞结构排列无序, 细胞大小不一, 异型性明显, 细胞核增多, 可见病理性核分裂, 与肠上皮病灶形态类似。与模型组比较, 中药高剂量组、中西药组、阳性对照组小鼠肝脏组织结节明显少于模型组, 细胞排列整齐, 结构清晰, 仅可见少许异型细胞。详见图 2。

3.4 Western bolt 检测结肠癌肝转移瘤中 P65 及 STAT3 蛋白表达情况

与模型组比较, 中药高剂量组、中西药组、阳性对照组 P65、STAT3 蛋白表达显著降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 与阳性对照组比较, 中西药组 P65、STAT3 蛋白表达显著降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。中药低、中、高剂量组中 P65 及

STAT3 蛋白进行组间比较, 呈剂量依赖相关, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。详见图 3、表 3。

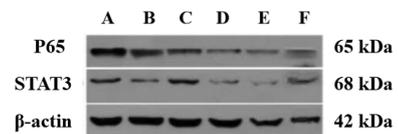


图 3 瘤组织中 P65 和 STAT3 蛋白表达灰度条带

注: A. 模型组; B. 阳性对照组; C. 中药低剂量组; D. 中药中剂量组; E. 中药高剂量组; F. 中西药组。

表 3 各组 P65、STAT3 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	P65	STAT3
模型组	3.77±0.56	2.79±0.67
阳性对照组	1.06±0.36*	0.68±0.28*
中药低剂量组	3.15±0.29* [△]	2.75±0.23
中药中剂量组	2.78±0.12	1.82±0.19
中药高剂量组	1.21±0.30* [△]	0.64±0.08*
中西药组	0.62±0.16* [△]	0.28±0.07* [△]

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$; 与阳性对照组比较, [△] $P < 0.05$ 。

3.5 ELISA 检测裸鼠血清中 TNF- α 浓度含量情况

与模型组相比,中药低剂量组、中药中剂量组以及中药高剂量组的 TNF- α 浓度含量呈下降趋势,差异有统计学意义($P<0.05$)。中药低、中、高剂量组进行组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),与阳性对照组相比中西药组, TNF- α 浓度降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。详见表 4。

表 4 各组 TNF- α 浓度表达水平($\mu\text{g/mL}$, $\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	TNF- α 浓度
模型组	223.574 \pm 15.253
阳性对照组	93.657 \pm 10.273*
中药低剂量组	208.452 \pm 12.354* Δ
中药中剂量组	175.147 \pm 12.281* Δ
中药高剂量组	68.382 \pm 13.607* Δ
中西药组	65.955 \pm 10.020* Δ

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与阳性对照组比较, $\Delta P<0.05$ 。

4 讨论

目前研究发现,有两种相对成熟的学说可以解释为何结直肠癌较易发生肝转移:“种子-土壤”及“机械和解剖”学说。“种子-土壤”学说认为肿瘤的转移不仅取决于自身的繁殖、分裂、扩张能力,还取决于肿瘤细胞天生生长的“土壤”,即肿瘤微环境。肿瘤微环境中包含了一种重要的状态即肿瘤炎性微环境^[14]。肿瘤炎性微环境主要由巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞,及其分泌的细胞因子、趋化因子和生长因子等炎性介质构成^[15]。NF- κ B 被认为是肿瘤炎症反应的关键调节器,在哺乳动物中,通常以 P65/P50 二聚体的形式传递转录活性。信号转导子和转录激活子 3(STAT3)是一种重要的转录因子,亦可通过磷酸化(p-STAT3)被激活,激活后的 STAT3 可通过诱导细胞因子和趋化因子等的表达,在调节炎症反应中发挥重要作用。不同细胞的活化、细胞因子水平的变化、炎性反应失衡等导致肝脏转移前微环境改变,是循环肿瘤细胞最终在肝脏定植、生长的关键^[16-17]。多种复杂类型细胞存在于人体肝脏内,其中的 Kupffer 细胞本质属于巨噬细胞,其主要起到抗原呈递的作用,IL-1、IL-6、P65、STAT3、TNF- α 等细胞因子在一定条件下可由 Kupffer 细胞释放从而影响肝脏微环境。因此,炎性相关因子在肝脏转移瘤的形成过程中可能扮演较重要的角色^[18]。

结直肠癌发病机制复杂,涉及多条通路和多种基因的调控,这与中医药治疗具有“多成分、多途径、多靶点”等作用特点契合^[25],因此,中医药在治疗肿瘤方面的作用被越来越多的科研工作者所关注。在中医中,结直肠癌属于“肠覃”“脏毒”和“锁肛痔”等病症范围。《医宗金鉴·脏毒》中论述:“此病有内外阴阳之别”说明结直肠癌的病因复杂,与饮食不节、邪毒内侵、情志不遂、脏腑虚损等因素相关,其局部以湿热瘀毒为主属实,全身气血亏虚以脾肾为主属虚,因此,正虚为本,湿热瘀毒为标是结直肠癌发病的病机特点^[19-20]。抗癌防移片系三湘名医经验方,主要由红参、半枝莲、黄芪、薏苡仁、姜黄、女贞子、墨旱莲、莪术、九香虫、枸杞子、白术、湘曲等中药组成。方中以红参为君,起到大补元气、健脾益气之功;半枝莲为臣,奏清热解毒、化痰利尿之效;黄芪、白术、薏苡仁益气健脾;湘曲消食健胃,女贞子、墨旱莲、枸杞子滋补肝肾;莪术、九香虫、姜黄行气破血;全方合用,具有疏肝健脾、补肾益气,化痰解毒等功效。多年的临床应用显示,抗癌防移片可降低结直肠癌患者术后复发转移率。

本研究结果显示,造模成功后,中药高剂量组的小鼠的精神状态、大便稀溏、腹水等一般情况有明显改善,并且造模后小鼠体质量增加。中药高剂量组肝组织瘤体平均体质量均低于模型组,一定程度上可抑制结直肠癌肝转移瘤的生长。光镜下观察肝脏病理组织变化提示,与模型组比较,中药高剂量组、中西药组、阳性对照组小鼠组织细胞排列整齐,结构清晰,仅可见少许异型细胞。抗癌防移片抑制结直肠癌肝转移,分子机制研究结果显示,抗癌防移片可显著抑制结直肠癌肝转移瘤组织中 P65 和 STAT3 的蛋白表达,同时也可显著抑制结直肠癌肝转移瘤动物模型血清中外泌的 TNF- α 蛋白浓度表达,上述结果证实了抗癌防移片抑制结直肠癌肝转移的作用机制之一与调控 NF- κ B 和 STAT3 信号通路的蛋白及基因表达相关。本次动物实验研究结果提示,抗癌防移片对预防结直肠癌肝转移有一定的作用,其机制与抑制 P65、STAT3、TNF- α 蛋白表达有一定的关系。综上所述,抗癌防移片可通过 NF- κ B 及 STAT3 通路,

发挥其抑制结直肠癌肝转移治疗目的,为抗癌防转移片治疗结直肠癌的临床应用提供实验基础。

参考文献

- [1] SAWICKI T, RUSZKOWSKA M, DANIELEWICZ A, et al. A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis[J]. *Cancers*, 2021, 13(9): 2025.
- [2] ZHANG X, LIAN X M, GU X F, et al. Utilization of genetic biomarkers testing and its associated factors in advanced colorectal cancer patients in China: A nationwide multicenter clinical epidemiological study[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2022, 10(6): 324.
- [3] 石远凯.临床肿瘤内科手册[M].6版.北京:人民卫生出版社,2015.
- [4] OOF T S N, WEEBER F, SCHIPPER L, et al. Prospective experimental treatment of colorectal cancer patients based on organoid drug responses[J]. *ESMO Open*, 2021, 6(3): 100103.
- [5] DI NICOLANTONIO F, VITIELLO P P, MARSONI S, et al. Precision oncology in metastatic colorectal cancer—From biology to medicine[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2021, 18(8): 506–525.
- [6] 郭忠聪,唐敏莉,曾柏荣.抗癌防转移片治疗结直肠癌肝转移疗效观察[J].*中医药导报*,2018,24(8):37–39.
- [7] 曾柏荣,刘华,何欣.抗癌防转移片预防Ⅲ期结肠癌术后复发转移的临床观察[J].*中华中医药杂志*,2008,23(7):654–655.
- [8] 刘华,孙梅飞.抗癌防转移片配合化疗治疗中晚期结直肠癌临床观察[J].*中国中医药信息杂志*,2009,16(1):71–72.
- [9] 王东波,郭忠聪.抗癌防转移片联合化疗治疗中晚期胃癌肝转移临床观察[J].*湖南中医药大学学报*,2019,39(8):1008–1010.
- [10] 曾柏荣,刘华,李阳.抗癌防转移片在结直肠癌术后治疗中的作用[J].*中国中医药信息杂志*,2009,16(3):61–62.
- [11] 郭忠聪,龚纯,文枝,等.抗癌防转移片对 BALB/c 小鼠结直肠癌肝转移 HGF、VEGF 蛋白表达的影响[J].*江西中医药大学学报*,2020,32(2):87–90.
- [12] 宋大迁,熊盈,方金,等.活体成像下评价脾脏注射法结直肠癌肝转移动物模型[J].*现代肿瘤医学*,2016,24(14):2187–2190.
- [13] 杨扬,李乃卿,李兰芳,等.两种小鼠结肠癌肝转移造模方法的比较[J].*中国实验方剂学杂志*,2008,14(4):53–55.
- [14] SCHMITT M, GRETEN F R. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2021, 21(10): 653–667.
- [15] 刘丽乔.茶多糖对炎症微环境下结肠肿瘤生物学行为的影响及其作用机制[D].南昌:南昌大学,2018.
- [16] PIAN G Z, HONG S Y, OH S Y. Prognostic value of advanced lung cancer inflammation index in patients with colorectal cancer liver metastases undergoing surgery[J]. *Tumori Journal*, 2022, 108(1): 56–62.
- [17] ZHANG K L, ZHU W W, WANG S H, et al. Organ-specific cholesterol metabolic aberration fuels liver metastasis of colorectal cancer[J]. *Theranostics*, 2021, 11(13): 6560–6572.
- [18] 徐婷婷.趋化因子 CXCL8 与 CCL20 在结直肠癌患者血清中表达与肝转移发生的临床研究[D].昆明:昆明医科大学,2019.
- [19] 沈政洁,程海波,沈卫星,等.肿瘤炎症微环境与“癌毒”病机相关性探讨[J].*北京中医药大学学报*,2015,38(1):14–17.
- [20] 曾伟,陈洋洋.中医药治疗大肠癌的优势及特色[J].*世界最新医学信息文摘*,2016,16(94):38–39.

(本文编辑 苏维)