

苏木含药血清对人肺癌 PG 细胞增殖周期影响的对比研究

郭秀伟^{1,2} 张培彤¹ 杨 栋¹ 乔路敏^{1,2} 马雪曼^{1,2}

摘要 **目的** 探讨苏木含药血清对人肺癌 PG 细胞株的周期阻滞作用及其分子机制。**方法** 将肺癌 PG 细胞分为空白组、苏木组、苏木加顺铂组、顺铂组 4 组,分别用 20% 空白血清的 1640 培养液、20% 苏木含药血清的 1640 培养液、20% 苏木含药血清的 1640 培养液加 1 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂、20% 空白血清的 1640 培养液加 1 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂培养 PG 细胞,采用光镜和激光共聚焦显微镜观察各组 PG 细胞学形态,流式细胞仪检测细胞周期,PCR 法检测 Rb1、P16 mRNA 的表达。**结果** 光镜和激光共聚焦显微镜下苏木组 PG 细胞的凋亡程度明显,但低于顺铂组和苏木加顺铂组。与空白组比较,苏木组 PG 细胞的 G_0/G_1 和 S 期比例增加 ($P < 0.05$), G_2/M 期降低 ($P < 0.01$); 顺铂组和苏木加顺铂组的 S 和 G_2/M 期比例增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), G_0/G_1 期降低 ($P < 0.01$)。与苏木组比较,顺铂组和苏木加顺铂组的 S 期和 G_2/M 期比例增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), G_0/G_1 期降低 ($P < 0.01$)。苏木加顺铂组 PG 细胞各期与顺铂组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白组比较,苏木组 P16、Rb1 mRNA 表达增加,顺铂组和苏木加顺铂组亦增加且优于苏木组 ($P < 0.05$); 与顺铂组比较,苏木加顺铂组 P16、Rb1 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 苏木含药血清通过上调 P16、Rb1 mRNA 转录水平引起 PG 细胞 G_0/G_1 、S 期阻滞,从而诱导细胞凋亡,这与顺铂通过 cyclinB1 使细胞停滞在 G_2/M 、S 期不同。

关键词 苏木;含药血清;细胞周期;P16; Rb1

Effect of *Lignum Sappan* Containing Serum on the Proliferation Cycle of Human Lung Cancer Cell Line PG: a Comparative Study GUO Xiu-wei^{1,2}, ZHANG Pei-tong¹, YANG Dong¹, QIAO Lu-min^{1,2}, and MA Xue-man^{1,2} 1 Department of Oncology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053), China; 2 Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029), China

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of *Lignum Sappan* (LS) containing serum on the proliferation cycle arrest of human lung cancer cell line PG and its molecular mechanism. **Methods** The lung cancer PG cells were divided into four groups, i.e., the blank control group, the LS group, the LS plus cisplatin group, and the cisplatin group. They were cultured by RPMI-1640 with 20% blank serum, RPMI-1640 with 20% LS containing serum, RPMI-1640 with 20% LS containing serum plus 1 $\mu\text{g/mL}$ cisplatin, and RPMI-1640 with 20% blank serum plus 1 $\mu\text{g/mL}$ cisplatin, respectively. The morphology of PG cells was observed using light microscope and laser scanning confocal microscope in each group. The cell cycle arrest was observed using flow cytometry. The expression of P16 and Rb1 mRNA was tested by PCR method. **Results** Under the light microscope and laser scanning confocal microscope, the apoptosis degree of PG cells in the LS group was significant, but less than that of the LS plus cisplatin group as well as the cisplatin group. Compared with the blank control group, the proportion of PG cells increased at G_0/G_1 and S phases ($P < 0.05$) and decreased at G_2/M phase ($P < 0.01$) in the LS group; The proportion of PG cells increased at G_2/M and S phases ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and decreased at G_0/G_1 phase ($P < 0.01$) in the LS plus cisplatin group as well as the cisplatin group. Compared with the LS group, the proportion of

基金项目:北京市自然科学基金资助项目 (No. 7122152)

作者单位:1.中国中医科学院广安门医院肿瘤科 (北京 100053); 2.北京中医药大学临床医学院 (北京 100029)

通讯作者:张培彤, Tel:010-88001322, E-mail:zhangpeitong@sohu.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.06.0745

PG cells increased at G₂/M and S phases ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and decreased at G₀/G₁ phase ($P < 0.01$) in the LS plus cisplatin group as well as the cisplatin group. There was no statistical difference in PG cells at each phase between the cisplatin group and the LS plus cisplatin group ($P > 0.05$). The expression of P16 and Rb1 mRNA increased in the LS group, when compared with the blank control group. They also increased in the cisplatin group and the LS plus cisplatin group, higher than that of the LS group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in the expression of P16 and Rb1 mRNA between the cisplatin group and the LS plus cisplatin group ($P > 0.05$). Conclusion LS containing serum induced PG cell apoptosis by up-regulating the mRNA transcription levels of P16 and Rb1, thus resulting in PG cell arrest at G₀/G₁ and S phases, which was different from the manner of cisplatin (achieved by arresting PG cells at G₂/M and S phases through regulating cyclinB1 mRNA transcription).

KEYWORDS *Lignum Sappan*; drug containing serum; cell cycle; P16; Rb1

苏木作为活血化瘀药,在临床上广泛用于治疗肺癌等各种恶性肿瘤。近年来有关苏木的体内外研究表明,其对各种肿瘤均有一定抑制作用^[1-4]。肺癌是常见的预后较差的恶性肿瘤之一,绝大部分患者到医院就诊时,已经失去了外科手术和多学科治疗的最佳时机。几十年以来,化疗是肿瘤治疗的基本措施,尽管它能杀死肿瘤细胞,但也可以杀死处于细胞周期中的非肿瘤细胞,如肠上皮细胞、毛囊细胞、造血干细胞,这些副作用可造成严重的后果,限制了化疗的应用。因此,寻求新的抗肿瘤药物,提高肺癌患者的生活质量,延长其生存时间,一直是亟待解决的问题之一。本实验采用了苏木含药血清、苏木含药血清联合顺铂、单药顺铂作用于体外培养的人肺癌 PG 细胞,观察其对 PG 细胞周期各期比例、细胞形态及 Rb、P16 mRNA 表达量的影响,为苏木的抗肺癌作用机制提供实验依据。

材料与方 法

1 材料

1.1 动物 60 只 SD 大鼠,雄性,体重为 (200 ± 30)g,清洁级,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证号: SCXK(京)2009-0007;中国中医科学院广安门医院动物室喂养,许可证号: SYXK(京)2009-0034。

1.2 细胞株 人肺癌 PG 细胞株由中国中医科学院广安门医院肿瘤研究室提供。

1.3 主要试剂 苏木由中国中医科学院广安门医院制剂中心提取并浓缩成膏后消毒备用,批号: 20120416;10%水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司)由生理盐水配制,批号:20120522;顺铂:10 mg/支,由 1640 培养液配制至浓度为 1 μg/mL,云南个旧生物药业有限公司提供,批号:121101;细胞 DNA 含量检测试剂盒[南京凯基生物科技发展有限公司(KGA512)];抗荧光淬灭封片剂[碧云天生物技术研

究所(P0126)];4%的多聚甲醛溶液(北京索莱宝科技有限公司);免疫荧光封闭液[碧云天生物技术研究 所(P0102)];DAPI 染色液[武汉博士德(AR1177)];TritonX-100/曲拉通 X-100(碧云天生物 技术研究所);TRizol Reagent(美国 Life Technol- ogies 公司);无水乙醇(北京化工厂);异丙醇(北京 化工厂);三氯甲烷(北京化工厂);DEPC 水(碧云天 生物技术研究 所);DEPC(美国 Sigma 公司);DNA 上样缓冲液(碧云天生物技术研究 所);DNA Ladder (碧云天生物技术研究 所);10 × TBE Buffer(北京普 利莱基因技术有限公司);EB 替代染料(北京普利莱 基因技术有限公司);Ultrapure™Agarose(美国 Life Technologies 公司);High Capacity RNA-to-cDNA kit(美国 Life Technologies 公司);TaqMan Gene Expression Master Mix(美国 Life Technologies 公 司);HE 染色试剂盒(南京建成科技有限公司);无毒环保 封固剂(南京建成科技有限公司);引物 Rb1(序列号: Hs01078066 mL)、P16(序列号: Hs00923894 mL)、 GAPDH(序列号: Hs03929097 gL)由美国 Life Tech- nologies 公司设计合成。

1.4 主要仪器 FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司);FV1000 激光共聚焦显微镜(奥林巴斯);NanoDrop 2000 超微量分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司);DYC-31D 型电泳槽(北京市六一仪器厂); DYY-12 型电脑三恒多用电泳仪(北京六一仪器厂); ChemiDoc XRS 凝胶电泳分析系统(美国 Bio-Rad 公 司);Touch gene PCR 基因扩增仪(英国 Techene 公 司);ABI7500 Real-Time PCR Systems(美国 ABI 公 司);TE2000-U 荧光显微镜(日本尼康公司)。

2 方法

2.1 大鼠含药血清的制备 60 只 SD 大鼠按随 机区组法^[5]分为 2 组,即空白组和苏木等效剂量组, 每组 30 只。大鼠适应性喂养 24 h 后,苏木膏生药含

量每克 6.67 g,按大鼠的等效剂量相当于人的 6.3 倍(苏木溶液正常成人的口服剂量为 10 g)量给药,每日 2 次,每组均以 10 mL/kg 灌胃,空白组灌以生理盐水。共灌胃 5 次,前 2 天每天灌胃 2 次,第 3 天灌胃 1 次后 1 h,以 10% 水合氯醛按 0.3 mL/100 g 体重的浓度麻醉大鼠,腹主动脉取血。将已采动脉血室温静置 4 h 后,以 3 000 r/min 离心 15 min,然后用 10 mL 注射器吸取上清液,即大鼠血清,装入相应标号的 50 mL 的离心管中,在 56 ℃ 水浴锅中灭活 30 min,在超净台下用 0.2 μL 小过滤器过滤除菌后分装于 1.5 mL 离心管中(0.5 ~ 1.5 mL/管),用封口条封口于 -80 ℃ 冰箱保存备用。

2.2 细胞培养及分组 PG 细胞常规培养于含 10 % FBS 的 1640 培养基中,经胰蛋白酶溶液消化传代,在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中进行培养。本实验共分为 4 组,即空白组、苏木组、苏木加顺铂组、顺铂组,分别用 20% 空白血清的 1640 培养液、20% 苏木含药血清的 1640 培养液、20% 苏木含药血清的 1640 培养液加 1 μg/mL 顺铂、20% 空白血清的 1640 培养液加 1 μg/mL 顺铂培养 PG 细胞。

2.3 HE 染色观察细胞形态 PG 细胞以 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板内做细胞爬片,常规培养 PG 细胞,待细胞贴壁后,弃去培养液,分组及加药同步步骤“2.2”,每组 4 孔。培养 24 h 后弃去培养液,用 95% 乙醇固定 20 min,以 PBS 洗 2 次,每次 1 min;然后向每孔中加入核染液 1 mL,染色 5 min;吸除核染液,水洗约 5 s;向每孔中加入浆染液 1 mL,染色 1 min;吸除浆染液,取出爬片,用增色液冲洗 2 次;封片;电子显微镜观察。

2.4 激光共聚焦显微镜拍摄细胞核形态变化 PG 细胞以 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板内做细胞爬片,分组及加药同步步骤“2.2”,每组 4 孔。继续培养 24 h,吸除培养液,每孔用 PBS 洗 1 次;4% 的多聚甲醛溶液固定 10 min;吸除多聚甲醛,用 PBS 洗涤 3 次,每次洗涤 5 min;向每孔加入 0.5% 的 Triton-100 溶液,通透 10 min, PBS 洗涤 3 次,每次洗涤 5 min;加入封闭液,室温封闭 1 h;吸除封闭液,用 PBS 洗涤 2 次,每次 1 min;加入细胞核染色液(DAPI),室温染色 5 min;吸除 DAPI,洗涤液洗涤 3 次,每次 5 min;封片;于激光共聚焦成像系统拍照。

2.5 流式细胞仪分析细胞周期 PG 细胞以 1×10^6 个/瓶接种于 25 cm² 培养瓶内,分组及加药同步步骤“2.2”,每组 3 瓶;继续培养 24 h,消化收集细胞,用 PBS 洗涤细胞 1 次(离心 2 000 r/min, 5 min),收

集并调整细胞浓度为 1.5×10^6 /mL;取 1 mL 单细胞悬液离心后,去上清,用 75% 冷乙醇固定,4 ℃ 保存;上机前 PBS 洗去固定液,加 100 μL RNase A 在 37 ℃ 水浴 30 min,再加入 400 μL PI 染液混匀,4 ℃ 避光 30 min;上机检测,记录激发波长 248 nm 处的红色荧光。

2.6 PCR 检测 Rb、P16 mRNA 的表达影响 PG 细胞 3×10^5 个/孔种于 6 孔板中,分组及加药同步步骤“2.2”,每组 4 孔;孵育 24 h 后用 1 mL Trizol 提取总 RNA;琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 的完整性;Nano-Drop 2000 超微量分光光度计测 OD 值定量 RNA 浓度;上 PROGENE PCR 扩增仪反转录为 cDNA,逆转录循环参数为:37 ℃ 60 min、95 ℃ 5 min、4 ℃ 保持;上 7500 Real-time PCR Systems 进行 PCR 检测,设置 PCR 条件如下:50 ℃, 2 min; 95 ℃, 10 min; 95 ℃, 15 s, 40 个循环;60 ℃, 1 min; 4 ℃ 保存。SDS 软件中创建相对定量研究文件,分析并查看相对定量研究结果(relative quantification, RQ)。

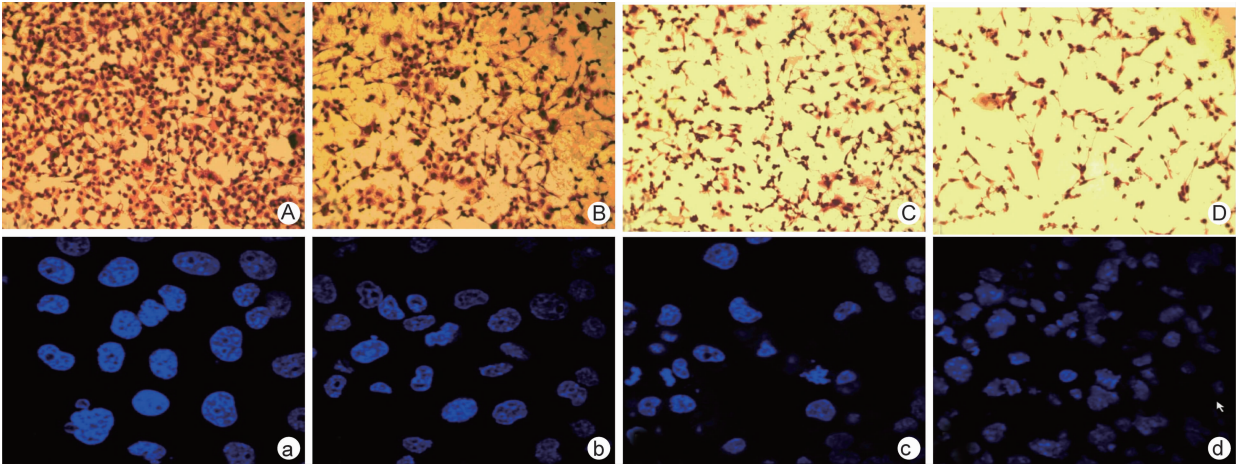
2.7 统计学方法 数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较进行单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 HE 染色观察细胞形态(图 1A - D) 空白组的 PG 细胞数量明显增多,体积较大,外形呈多角形,相邻细胞生长晕融合成片,胞质丰富,胞核较大,颜色较浅,分裂细胞偶尔出现(图 1A);与空白组比较,苏木组细胞数相对较少,细胞体积相对较小,膜表面绒毛较少,偶见凋亡细胞(图 1B);顺铂组(图 1C)和苏木加顺铂组(图 1D)干预后的细胞数明显减少,细胞间接触松弛,细胞体积缩小,细胞膜表面绒毛基本消失,细胞质和胞核浓缩,颜色深染,可见凋亡小体的出现,PG 细胞质内出现空泡;苏木加顺铂组和顺铂组在形态上相差不多。

2 激光共聚焦显微镜观察 PG 细胞形态(图 1a - d) 空白组细胞核多呈圆形,少量细胞核处于分裂相,细胞体积较大,呈弥漫均匀的荧光(图 1a)。苏木组细胞核多为半月形,可见少量的凋亡细胞,细胞体积变小(图 1b)。顺铂组(图 1c)和苏木加顺铂组(图 1d)细胞核浓缩,核碎裂成多个块状,出现典型的凋亡小体和较多的凋亡细胞,细胞体积较苏木组变小,细胞核可见致密的颗粒状强荧光。苏木加顺铂组和顺铂组在形态上相差不多。

3 各组 PG 细胞周期分布结果比较(表 1、图 2)



注：光镜下 A 为空白组；B 为苏木组；C 为顺铂组；D 为苏木加顺铂组；激光共聚焦显微镜下 a 为空白组；b 为苏木组；c 为顺铂组；d 为苏木加顺铂组

图 1 光镜及激光共聚焦显微镜下各组 PG 细胞形态图
(A ~ D 为 HE 染色法, ×100; a ~ d 为免疫荧光法, ×1 000)

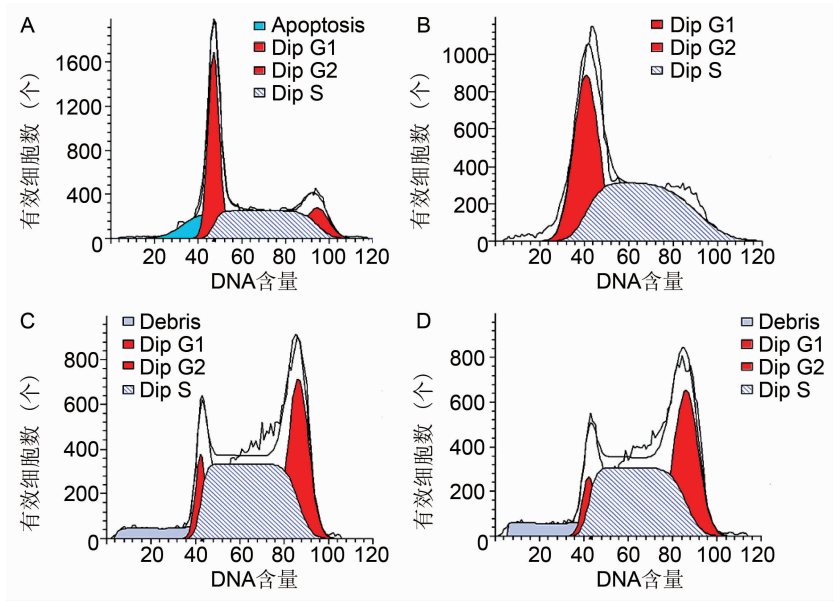
与空白组比较,苏木组 PG 细胞的 G_0/G_1 和 S 期比例增加($P < 0.05$), G_2/M 期降低($P < 0.01$);顺铂组和苏木加顺铂组 PG 细胞的 S 和 G_2/M 期比例增加($P < 0.05$, $P < 0.01$), G_0/G_1 期降低($P < 0.01$)。与苏木组比较,顺铂组和苏木加顺铂组 PG 细胞的 S 期和 G_2/M 期比例增加($P < 0.05$, $P < 0.01$), G_0/G_1 期降低($P < 0.01$)。与顺铂组比较,苏木加顺铂组 PG 细胞

的各期差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组作用于 PG 细胞后的细胞周期分布比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞周期		
		G_0/G_1	S	G_2/M
空白	3	44.53 ± 1.52	40.75 ± 2.04	14.71 ± 0.58
苏木	3	$50.74 \pm 2.95^*$	$46.93 \pm 2.79^*$	$2.34 \pm 0.21^{**}$
顺铂	3	$9.37 \pm 0.45^{**\Delta\Delta}$	$55.49 \pm 1.44^{**\Delta}$	$35.14 \pm 1.33^{**\Delta\Delta}$
苏木加顺铂	3	$8.23 \pm 0.35^{**\Delta\Delta}$	$54.72 \pm 0.21^{**\Delta}$	$37.05 \pm 0.22^{**\Delta\Delta}$

注：与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与苏木组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$



注：A 为空白组；B 为苏木组；C 为顺铂组；D 为苏木加顺铂组

图 2 各组流式分析仪检测细胞周期分布图

4 各组 PG 细胞 Rb1、P16 mRNA 表达结果比较(表 2) 与空白组比较,苏木组 P16、Rb1 mRNA 的表达增加($P < 0.05$),顺铂组和苏木加顺铂组 P16、Rb1 mRNA 的表达亦增加($P < 0.01$);且顺铂组和苏木加顺铂组 P16、Rb1 mRNA 的表达优于苏木组($P < 0.05$)。与顺铂组比较,苏木加顺铂组 P16、Rb1 mRNA 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组作用于 PG 细胞后的 P16、Rb1 基因表达量(RQ)结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	基因表达量(RQ)	
		P16	Rb1
空白	4	0.64 ± 0.09	0.68 ± 0.04
苏木	4	1.01 ± 0.07 *	1.21 ± 0.08 *
顺铂	4	1.44 ± 0.15 **Δ	1.84 ± 0.16 **Δ
苏木加顺铂	4	1.36 ± 0.09 **Δ	1.94 ± 0.27 **Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与苏木组比较,Δ $P < 0.05$,ΔΔ $P < 0.01$

讨 论

中医学认为,瘀血与癌毒胶结不解,产生癌瘤。现代医学通过对肿瘤患者血液高凝、高黏状态的调查发现,95 % 的肿瘤转移患者拥有 1 项或多项实验室检查的凝血异常。据此,活血化瘀药一直广泛应用于肿瘤的治疗中。苏木为临床常用的活血化瘀药,具有祛瘀通经、活血疗伤、消肿定痛的功效,可以治疗骨折筋伤、跌打损伤、瘀滞肿痛等血瘀性疾病^[6]。本课题在既往的体内实验中,研究了川芎、鸡血藤、苏木、水蛭 4 种活血化瘀药对不同阶段 Lewis 肺癌生长和转移的影响,结果表明苏木的抑瘤及抑制转移的作用显著^[1]。前期体外实验的结果表明,苏木含药血清在常氧环境下作用 24 h、培养液中含药血清比例为 20% 时有明显抑制人肺癌 PG 细胞增殖的效果^[2]。本次实验中,笔者同样发现不论是光镜还是电镜下,苏木组细胞凋亡程度较空白组明显增加,却不及顺铂组和苏木加顺铂组。而苏木含药血清引起人肺癌 PG 细胞凋亡的细胞及分子机制研究尚未见报道。

随着分子肿瘤学的发展,发现细胞周期失控是癌变的重要原因。细胞周期有两个重要的时相转换:G₁-S(G₁-S 期即控制进入 S 期的调控点)和 G₂-M(G₂-M 期即控制进入 M 期的调控点)。有文献报道苏木可以阻滞人肺癌 A549 细胞的细胞周期,使大部分的癌细胞阻断在 S 期和 G₂/M 期^[7]。还有研究表明氧化苏木素将人乳癌 MCF-7 的细胞周期阻滞在 G₁期^[8]。通过流式细胞分析技术,笔者发现苏木组较空白组 G₀/G₁、S 期肿瘤细胞增多,说明苏木含药血清可以将 PG 细

胞周期阻滞在 G₀/G₁、S 期,从细胞周期方面证明了苏木含药血清对人肺癌 PG 细胞的抑制作用。顺铂作为细胞周期非特异性药物,可杀伤细胞周期中各期细胞,从而促使癌细胞凋亡,而发挥抗癌作用。本研究中,顺铂组 S、G₂/M 期肿瘤细胞较空白组明显增多,说明顺铂组人肺癌 PG 细胞被阻滞在 S 和 G₂/M 期,与苏木组对 PG 细胞阻滞周期不同。有研究指出顺铂使细胞停滞在 G₂/M 期是通过 cyclinB1 分子实现的^[9,10]。苏木加顺铂组较空白组和苏木组阻滞的细胞周期不同,S、G₂/M 期肿瘤细胞明显增多($P < 0.05$),其与顺铂组细胞比较阻滞周期比例差异无统计学意义($P > 0.05$),并未出现预料的叠加效果。

研究表明,P16-cyclinD1-CDK4/CDK6-Rb 途径是对周期调控的一种重要机制,细胞在 G₁ 期,生长信号通过信号转导,上调 cyclinD1 的表达,从而激活 CDK4,活化的 CDK4 可高磷酸化抑癌基因表达产物 Rb 蛋白,使其失去对细胞周期的制动功能,从而释放大量的转录因子(如 E2F)最终促使细胞由 G₁ 期向 S 期演进,促进细胞分裂。P16 作为一种有效的肿瘤抑制基因^[11],通过与 CyclinD1 竞争结合 CDK4,从而抑制细胞进入 S 期。在本研究中,苏木组较空白组 P16、Rb1 mRNA 的表达量上调($P = 0.049$),也就从分子机制进一步证明了苏木含药血清对人肺癌 PG 细胞的抑制作用。顺铂组 P16、Rb1 mRNA 的表达量较空白组明显增加($P = 0.001$)且较苏木组表达量明显上调($P = 0.025$)。这印证了顺铂诱发人肺癌 PG 细胞凋亡的程度比苏木含药血清明显。苏木加顺铂组较空白组和苏木组 P16、Rb1 mRNA 的表达增加显著($P < 0.05$),而其较顺铂组 P16、Rb1 mRNA 的表达比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),也未出现预料的叠加效果。这与前期体内结果部分雷同。前期试验中,分 7、14、21 天 3 个时间点动态观察苏木对 C57BL 小鼠肺癌重度的影响,结果发现同一时间点各组的抑瘤率由低到高依次为苏木低剂量、苏木高剂量组、化疗组、化疗加苏木低剂量组、化疗加苏木高剂量组。其中化疗加苏木高剂量组的瘤重低于同期化疗组,而化疗加苏木低剂量组的瘤重与同期化疗组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),后者印证了本实验苏木未协同顺铂起到增效结果的原因,可能是血药浓度过低,还不足以对 PG 细胞产生抑制效果。

综上所述,苏木含药血清通过诱导 P16、Rb1 mRNA 表达,通过 P16-cyclinD1-CDK4/CDK6-Rb 途径使人肺癌 PG 细胞停滞在 G₀/G₁、S 期,从而诱发人肺癌 PG 细胞凋亡。自古以来,益气、养阴、化痰、清热解毒、

活血化瘀是肺癌的主要治疗原则,文献报道益气、养阴、化痰、清热解毒、活血化瘀药及其主要成分可以将细胞阻滞在不同的细胞周期,从而使细胞周期变化呈现不同的规律^[11-15]。而苏木作为活血化瘀药物中最常用的药物之一,可以与益气、养阴、化痰、清热解毒药相互配伍,可能会使肿瘤细胞在各个周期出现不同的阻滞效用,协同抑制肺癌细胞的增殖,这将为今后在中医肿瘤临床上制定科学的现代方剂配伍原则提供分子基础。

参 考 文 献

- [1] 田甜,张培彤,于明薇,等. 4 种活血化瘀药物对不同阶段 Lewis 肺癌生长和转移影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(3): 546-548.
- [2] 张明辉,张培彤,任为民,等. 活血化瘀药物苏木、川芎含药血清对 PG 细胞增殖影响的实验研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(5): 323-327.
- [3] 赵莉莉,任连生. 苏木抗癌有效成分分析及其对膀胱癌细胞抑制作用的研究[D]. 太原:山西医科大学. 2011: 18-23.
- [4] 陶黎阳,黎渐英,张建业. 氧化苏木素诱导人乳癌 MCF-7 细胞凋亡及其作用机制[J]. 中山大学学报, 2011, 32(4): 449-453.
- [5] 于仲波,吴南翔,何臻,等. 大鼠 90d 喂养试验的一种随机分组方法[J]. 卫生毒理学杂志, 2004, 18(2): 116-117.
- [6] 高学敏主编. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:335.
- [7] 彭新,顾立刚. 苏木醇提物对人肺癌 A549 细胞作用影响的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(7): 547-549.
- [8] 陶黎阳,黎渐英,张建业. 氧化苏木素抑制人乳癌 MCF-7 细胞生长及其相关机制[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(12): 1955-1957.
- [9] Xu CT, Pan BR. Current status of gene therapy in gastroenterology [J]. World J Gastroenterol, 1998, 4(1): 90-94.
- [10] Links M, Ribeiro J, Jackson P. Regulation and de-regulation of G₂ checkpoint proteins with cisplatin [J]. Anticancer Res, 1998, 2(18): 4057-4066.
- [11] 丁晓霜. 人参炔三醇抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞周期停止于 G₂/M 期[J]. 国外医学(中医中药分册), 2004, 26(1): 42-43.
- [12] 欧嘉文,何冬梅,李江滨. 枸杞子对人宫颈癌 Hela 细胞生长的影响[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(3): 69-71.
- [13] 黄鹃,张伟云. 半夏醇提取物对人肝癌 HepG2 细胞增殖与细胞周期的影响[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(1): 89-93.
- [14] 刘彦珠,罗国安,龙致贤. 清热解毒药对血管平滑肌细胞增殖、细胞周期的影响[J]. 清华大学学报, 2000, 40(6): 13-16.
- [15] 胡家才,李清泉. 川芎嗪对肺癌 A549 细胞增殖与凋亡的影响及其机制[J]. 武汉大学学报, 2010, 31(1): 19-21.

(收稿:2013-09-30 修回:2014-03-19)

全国西医学习中医班(西苑班)招生通知

中国中医科学院西苑医院系集医疗、科研、教学于一体的三级甲等中医医院,自 1956 年开始,受中华人民共和国卫生部委托,开办“全国西医学习中医班”,为国内外培养了大批中西医结合骨干。现第十七期“全国西医学习中医班”开始招生,将于 2014 年 9 月正式开学。本班学制二年(全日制),由长期从事临床并具有多年教学经验的专家系统讲授 15 门中医课程,一年理论课,一年在本院临床实习。课程考试和实习合格者颁发中国中医科学院西医学习中医班毕业证书。西医院校毕业的医务人员及中医药工作者均可报名参加。欲报名者请向西苑医院教育处函索招生简章,也可通过中国中医科学院西苑医院网下载招生简章和报名表。通讯处:北京海淀区中国中医科学院西苑医院教育处,邮编:100091,电话:(010)62887973 或 62835037,网址:www.xyhospital.com。