

· 基础研究 ·

紫柏凝胶对宫颈癌裸鼠移植瘤生长及
瘤组织 E6、E7 蛋白表达的影响

温利娟 薛晓鸥 谢 伟

摘要 **目的** 观察紫柏凝胶对宫颈癌裸鼠的抑瘤作用及对 E6、E7、Rb、P53 蛋白表达的影响。**方法** 建立人宫颈癌 Siha 细胞荷瘤裸鼠模型,将成瘤裸鼠按随机数字表法分为模型组、顺铂组、紫柏凝胶高、中、低剂量组,每组 7 只。模型组不干预,顺铂组腹腔内注射 0.5 mL 顺铂(5 mg/kg),每 4 日 1 次,紫柏凝胶高、中、低剂量组分别在瘤体表面涂抹紫柏凝胶 0.9428、0.4714、0.2357 g/kg,每日 1 次,连续用药 28 日。每日测量肿瘤体积、裸鼠重量、进食水量,停药 24 h 后处死裸鼠,完整取出肿瘤组织,称重并测量体积,将肿瘤组织切片后,行 HE 染色,行移植瘤组织病理学观察,并采用免疫组化 SP 的方法,检测肿瘤组织中 E6、E7、Rb 和 P53 蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,紫柏凝胶中、高剂量组及顺铂组在治疗第 22、28 日肿瘤体积减小($P<0.05$),瘤重降低($P<0.05$),E6、Rb 蛋白表达均降低($P<0.05$),紫柏凝胶高剂量组及顺铂组 E7、P53 蛋白表达均降低($P<0.05$)。与顺铂组比较,紫柏凝胶各剂量组瘤重升高($P<0.05$),抑瘤率降低($P<0.05$),E6、P53、E7、Rb 蛋白表达均升高($P<0.05$)。与紫柏凝胶低剂量组比较,紫柏凝胶中、高剂量组瘤重降低($P<0.05$),抑瘤率升高($P<0.05$),E6、P53、E7、Rb 蛋白表达均降低($P<0.05$)。**结论** 紫柏凝胶对人宫颈癌 Siha 细胞移植瘤的生长具有明显抑制作用,其机制与下调致癌蛋白 E6 和 E7 的表达有关。

关键词 紫柏凝胶;宫颈癌;人乳头瘤病毒;E6 蛋白;E7 蛋白

Effect of Zibai Gel on Tumor Growth and Expression of E6 and E7 Protein in Cervical Mouse Transplant WEN Li-juan, XUE Xiao-ou, and XIE Wei *Department of Gynecology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100700)*

ABSTRACT **Objective** To observe anti-tumor effect of Zibai Gel on cervical cancer in nude mice and its effect on the expression of E6, E7, Rb and P53 proteins. **Methods** The nude mice bearing human cervical cancer Siha cells were established, and the tumor-bearing nude mice were randomly divided into model group, cisplatin group, and high-, medium-, low-dose Zibai Gel groups, 7 nude mice in each group. The cisplatin group was intraperitoneally injected with 0.5 mL cisplatin (5 mg/kg) once every 4 days. The high-, medium-, low-dose Zibai Gel groups were respectively coated with Zibai Gel 0.9428, 0.4714, 0.2357 g/kg on the tumor surface, once a day for 28 consecutive days. The tumor volume, nude mice weight, and water intake were measured daily. The nude mice were sacrificed at 24 h after drug withdrawal. The tumor tissues were completely removed, weighed and measured. The tumor tissues were sliced and then stained with HE. The protein expressions of E6, E7, Rb and P53 in tumor tissues were detected by immunohistochemical SP method. **Results** Compared with model group, tumor volume was significantly decreased in medium-dose Zibai Gel group, high-dose Zibai Gel group, and cisplatin group at both 22 days and 28 days ($P<0.05$), the weight of tumors was significantly decreased ($P<0.05$), E6, Rb expression were decreased ($P<0.05$). E7, P53 expression were decreased in high-dose Zibai Gel group and cisplatin group ($P<0.05$). Compared with cisplatin group, the weight of tumors was significantly increased in various Zibai

基金项目:北京市科技计划课题 G20 工程支撑保障项目 (No. Z151100003815014)

作者单位:北京中医药大学东直门医院妇科(北京 100700)

通讯作者:薛晓鸥, Tel: 010-84013325, Email: pro_xue@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200409. 008

Gel groups ($P < 0.05$), the tumor inhibitory rate was significantly decreased ($P < 0.05$), E6, E7, P53 and Rb expression were increased ($P < 0.05$). Compared with low-dose Zibai Gel group, the weight of tumors was significantly decreased in medium-dose Zibai Gel group and high-dose Zibai Gel group ($P < 0.05$), the tumor inhibitory rates were increased ($P < 0.05$), E6, E7, Rb and P53 expression were decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** Zibai Gel can significantly inhibit the growth of human cervical cancer by Siha cells transplanted *in vitro*. The mechanism is related to down-regulating E6 and E7 oncoprotein expressions.

KEYWORDS Zibai Gel; cervical carcinoma; human papillomavirus; E6 protein; E7 protein

宫颈癌是世界范围内女性人群第二大常见的恶性肿瘤,仅次于乳腺癌,严重危害妇女健康^[1],全球平均每年报告新发病人数 50 余万例,死亡 25 余万例,在我国,每年新增发病数占全球报告新发宫颈癌病例数的 25%^[2]。宫颈癌是目前癌症中唯一病因明确,可以预防的癌症^[3]。1995 年国际癌症协会也提出人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染,尤其是高危型 HPV (high-risk human papillomavirus, HR-HPV) 的持续感染是导致宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN),进一步发展为宫颈癌的主要病因^[4]。

东直门医院名老中医郭志强教授认为应在感受湿热之邪早期针对宫颈 HPV 感染治以清热利湿,解毒杀虫,并选用清热利湿法,并创立了紫草散^[5]。临床研究发现该药治疗宫颈 HPV 持续性感染转阴率达 40%^[6],实验研究显示该药可提高宫颈局部 CD4、CD8 等免疫因子表达水平^[7],后经薛晓鸥教授团队进一步制剂优化为紫柏凝胶。本研究建立人宫颈癌 Siha 细胞裸鼠荷瘤模型,观察紫柏凝胶抗肿瘤效应。

材料与方法

1 实验动物 SPF 级 BALB/c (nu/nu) 裸小鼠 35 只,雌性,5~6 周龄,体重 16~18 g,购于维通利华实验动物中心,动物合格证号:SCXK(京)2012-0001。医学实验动物使用许可证编号:SYXK(京)20120028。饲养条件:裸小鼠均在 SPF 屏障系统的洁净层流架内适应性饲养 3 日,实验室相对湿度为 50%~70%,室温为(24±2)℃,采用 12 h/12 h 昼夜间断照明,自由饮水。本研究经北京中医药大学东直门医院伦理委员会批准(No. 1647)。

2 宫颈癌细胞株 宫颈癌 Siha 细胞株购自上海复祥生物科技有限公司(货号:8322)。

3 药物 紫柏凝胶由紫草、黄柏、莪术、金银花、苦参、百部、儿茶、白及、冰片九味中药组成,药物比例为 20:20:20:20:20:20:15:6:2,饮片由北京中医药大学附属东直门医院药剂科提供,按工艺提取后制作

而成,由北京百川飞虹技术有限公司生产(15 g/瓶,含生药量约 2.7 g,批号:20160501),制备方法:莪术浸泡后水蒸气蒸馏提取,挥发油与冰片用 β-环糊精包合制成包合物,蒸馏后的水溶液另器保存,药渣与银花、白及再次煎煮,煎液与蒸馏后的水溶液合并,过滤,滤液减压浓缩为清膏。紫草、黄柏、苦参、百部、儿茶用乙醇回流提取法提取,并滤液浓缩为清膏。合并上述清膏,喷雾干燥,得干膏粉。工艺中基质的选用可用卡波姆 940 为基本辅料,再加入促吸收剂和稳定剂,调节 pH 值 4.5~5.5。凝胶成型后,每次用凝胶量不超过 3 g,其中药物所占比不低于 25%。注射用顺铂,10 mg,齐鲁制药有限公司,批号:H37021358。

4 主要试剂及仪器 抗 HPV 16(E7)抗体(货号:ab70808)、山羊抗兔 IgG(货号:ab79032)、山羊抗鼠 IgG(b32451)、抗 HPV 16(E6)、18(E6)抗体(货号:ab56072)、抗 RB 抗体(货号:ab38029)、抗 P53 抗体(货号:ab42156)均产自英国 Abcam 公司,免疫组化试剂盒(北京中衫生物科技有限公司,货号:GB42681),细胞培养箱(德国 Thermo 公司,型号:RB2015/1510037),酶标仪(德国 Thermo 公司,型号:RM2015/1523014),倒置显微镜(日本 Nikon,型号:B2-220),生物洁净使用超净台(杭州 Opti MAIR 公司,型号:FCH-1300B),低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司,型号:GB11007),游标卡尺(深圳市 SYNTEK 公司,型号:QB87007),高精度电子称重天平(北京时代科技公司,型号:BSA3202S-CW)。

5 宫颈癌 Siha 细胞悬液制备 宫颈癌 Siha 细胞株复苏后行细胞培养。培养条件:含 10% 胎牛血清、100 mg/mL 链霉素和 100 U/mL 青霉素的 DMEM 培养液,置于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱内培养。取对数生长期细胞,用 2.5% 胰酶消化,离心,弃上清。培养基悬浮沉淀细胞,计数后调整细胞浓度 2×10⁷/mL。

6 模型制备及分组方法 将 0.2 mL 浓度为 2×10⁷/mL 的宫颈癌 Siha 细胞悬液在无菌条件下皮下用 0.5 mL 注射器注射于 35 只裸鼠右前肢腋窝处皮下。在 SPF 环境饲养裸鼠,并观察裸鼠生长状态及

肿瘤生长情况,成瘤时间 5~7 日,以皮下结节直径>0.5 cm 为成瘤标准^[8]。本实验成瘤率为 100%。成瘤后裸鼠称重,采用随机数字表法分成紫柏凝胶高、中、低剂量组,顺铂组及模型组,每组 7 只。

7 干预方法 造模第 8 日开始给药,紫柏凝胶高、中、低剂量组分别使用无菌棉签在瘤体表面涂抹紫柏凝胶 0.9428(相当于临床剂量 2 倍)、0.4714(相当于临床剂量)、0.2357(相当于临床剂量 1/2)g/kg,每日 1 次;顺铂组腹腔内注射 0.5 mL 顺铂(5 mg/kg,相当于临床化疗方案 100 mg/(m²·d)用量)^[8],每 4 日 1 次;模型组不干预。各组均干预 4 周。

8 观察指标及方法

8.1 一般状态观察 每日观察裸鼠精神状态、活动力、反应、饮食、皮下种植区外观及触感。治疗过程中死亡裸鼠均行解剖以明确死因。

8.2 裸鼠体质量及瘤体体积测量 每日用药前裸鼠体质量,并测量裸鼠瘤体的长径(a)和短径(b),计算肿瘤体积(V), $V=ab^2/2$ 。

8.3 瘤重及抑瘤率检测 停药 24 h 后,用裸鼠颈椎脱臼法处死裸鼠,剥取瘤组织,称重并测量体积,计算抑瘤率。抑瘤率(%)=[(对照组平均瘤重-治疗组平均瘤重)/对照组平均瘤重]×100%。

8.4 移植瘤组织病理学观察 采用 HE 染色法。常规石蜡包埋,切片厚度 4 μm,二甲苯 2 次去蜡处理,每次 15 min。清洗切片:100%乙醇 5 min 共 2 次,80%乙醇 5 min 1 次,蒸馏水 5 min 1 次。苏木精液染色 5 min。流水冲洗 5 min,1%盐酸乙醇 30 s,水洗 30 s,蒸馏水过洗 5 次。0.5%伊红液染色 3 min,蒸馏水稍洗 30 s,80%乙醇稍洗 30 s,95%乙醇 1 min 2 次,无水乙醇 3 min 2 次,二甲苯 3 min 2 次。中性树胶封固。

8.5 免疫组化法检测瘤组织中 E6、E7、Rb 及 P53 蛋白表达

第 1 日:(1)切片放入 37℃烘培箱内 30 min,取出后室温放置 10 min;(2)脱蜡:切片放入纯二甲苯中脱蜡 3 次,每次 15 min;切片放入 100%酒精 2 次,每次 10 min;切片放入 90%酒精 2 次,每次 10 min;80%酒精 1 次,每次 10 min;将切片放入 70%酒精 1 次,每次 10 min;将切片放入蒸馏水中 3 min;将切片放入 PBS 中 3 次,每次 3 min^[9];(3)灭活:双氧水直接滴加,室温内放置 10 min;PBS 洗 3 次,每次 3 min;(4)热修复抗原:将切片浸入枸橼酸盐缓冲液中,大火煮沸 3 min;(5)室温内静置 2 h 直至完全冷却,PBS 洗 3 次,每次 3 min;(6)滴加 5%BSA 封闭

液,室温放置 20 min;(7)滴加一抗,将切片放入湿盒中,4℃冷藏冰箱内过夜。

第 2 日:(1)将湿盒从冰箱内取出,PBS 洗 3 次,每次 2 min;(2)滴加二抗,室温放置 20 min,PBS 洗 3 次,每次 2 min;(3)滴加 SABC,室温放置 20 min,PBS 洗 4 次,每次 5 min;(4)DAB 室温显色,蒸馏水洗中止反应,自来水冲洗 30 min;(5)苏木素轻度复染,40~45 s,自来水流水冲洗 30 min 中止反应;(6)将切片放入 70%酒精 1 次 10 min;80%酒精 1 次 10 min;将切片放入 90%酒精 2 次,每次 10 min;将切片放入 100%酒精 2 次,每次 10 min;(7)封片:中性树胶封片,要求胶少,无气泡。

结果判定标准:采用免疫组化法半定量分析检测蛋白表达水平,根据阳性细胞比率和染色强度进行评分。所有切片观察经 3 名研究人员独立在光镜下完成,结果取平均值。随机选择 10 个高倍视野,计算其中的阳性细胞比率,然后评分,<5%为 0 分,5%~25%为 1 分,25%~50%为 2 分,50%~75%为 3 分,>75%为 4 分。染色强度:无显色为 0 分,浅黄色或黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。蛋白表达水平=阳性细胞比率评分×染色强度^[10]。光镜下 E6、E7、Rb 及 P53 蛋白阳性细胞均表现为细胞浆或细胞膜呈棕黄色,而细胞核不着色。

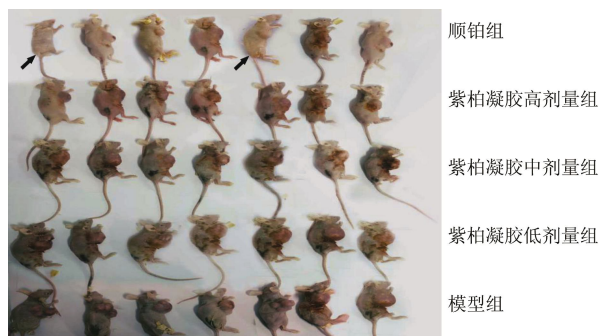
9 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件,全部实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,瘤体生长曲线采用重复测量方差分析,两组间比较采用 One-Way ANOVA 分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组裸鼠一般状态比较(图 1) 裸鼠接种 Si-ha 细胞后,2 d 种植区皮肤呈白色改变,3~4 d 白色皮肤改变消失,5~6 d 种植区皮下可触及 2~3 mm 瘤样结节,质地韧,7~8 d 种植区皮下可触及直径 5 mm 瘤样结节,质地稍硬。顺铂组裸鼠在用药后 1 周出现活动量减少,厌食水,消瘦,皮肤干涩,其中 2 只裸鼠分别在用药 17、18 d 死亡,死亡裸鼠解剖其肝、肺、肾脏后未见明显异常,考虑为死亡为化疗不良反应所致。其余各组裸鼠无明显消瘦,无死亡。

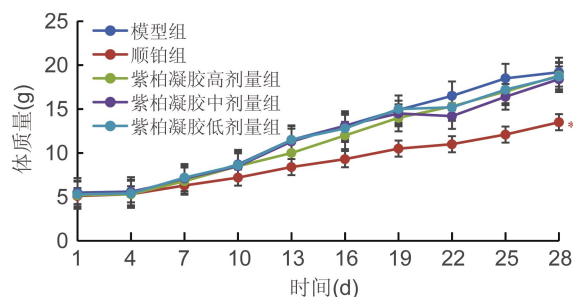
2 各组裸鼠各时间点体质量比较(图 2) 与模型组比较,顺铂组裸鼠体质量降低($P<0.05$)。与顺铂组比较,各剂量紫柏凝胶组裸鼠体质量增加($P<0.05$)。

3 各组裸鼠各时间点肿瘤体积比较(图 3) 与模型组比较,紫柏凝胶中、高剂量治疗组及顺铂组在治疗第 22、28 d 肿瘤体积减小($P<0.05$)。



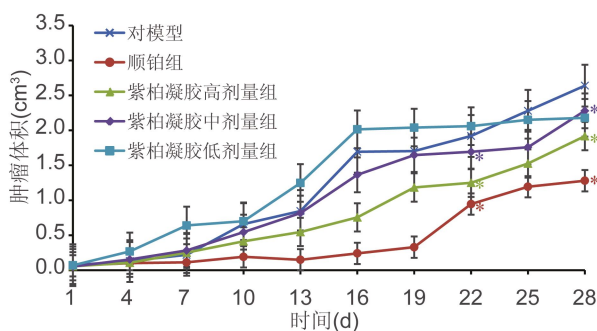
注:箭头处为治疗过程中死亡裸鼠

图 1 各组裸鼠一般情况



注:与模型组比较, * $P < 0.05$; 与顺铂组比较, $\Delta P < 0.05$

图 2 各组裸鼠体重比较



注:与模型组比较, * $P < 0.05$

图 3 各组裸鼠各时间点肿瘤体积比较

4 各组裸鼠瘤重及抑瘤率比较(表 1) 与模型组比较,顺铂组及紫柏凝胶高、中剂量组瘤重降低 ($P < 0.05$)。与顺铂组比较,紫柏凝胶各剂量组瘤重升高 ($P < 0.05$),抑瘤率降低 ($P < 0.05$)。与紫柏凝胶低剂

量组比较,紫柏凝胶中、高剂量组瘤重降低 ($P < 0.05$),抑瘤率升高 ($P < 0.05$)。

表 1 各组裸鼠瘤重及抑瘤率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	瘤重(g)	抑瘤率(%)
模型	7	2.70±0.63	—
顺铂	7	0.65±0.14*	75.82*
紫柏凝胶高剂量	7	1.72±0.63* $\Delta\Delta$	36.23* $\Delta\Delta$
紫柏凝胶中剂量	7	1.81±0.74* $\Delta\Delta$	31.24* $\Delta\Delta$
紫柏凝胶低剂量	7	2.30±0.81 Δ	14.94 Δ

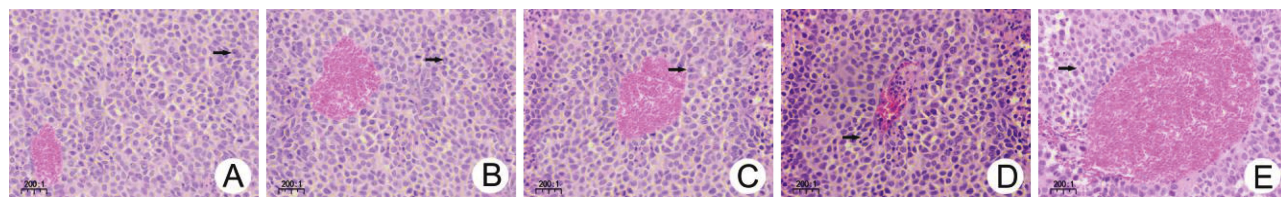
注:与模型组比较, * $P < 0.05$; 与顺铂组比较, $\Delta P < 0.05$; 与紫柏凝胶低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

5 各组裸鼠移植瘤组织病理学观察结果比较(图 4) 肉眼观察各组裸鼠移植瘤组织呈结节状,肿瘤组织血供明显、丰富,组织切面呈鱼肉样,可见局灶性坏死,以顺铂组及紫柏凝胶高剂量组明显。镜下见各组肿瘤细胞呈圆形或卵圆形,肿瘤细胞核大且清晰,可见病理性核分裂,肿瘤细胞呈漩涡、簇团状生长,瘤团间可见坏死病灶形成,呈均质红染色样,细胞变大,细胞核染色加深,见核固缩、溶解、碎裂。各给药组的肿瘤组织坏死区域均有增大,其中顺铂组坏死区域增大较为明显。紫柏凝胶用药组随着治疗剂量的增高,肿瘤组织坏死区域呈逐渐增大趋势。

6 各组 E6、P53、E7、Rb 蛋白表达比较(表 2、3, 图 5) 与模型组比较,紫柏凝胶中、高剂量组及顺铂组 E6、Rb 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$),紫柏凝胶高剂量组及顺铂组 E7、P53 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$)。与顺铂组比较,紫柏凝胶各剂量组 E6、E7、P53、Rb 表达均升高 ($P < 0.05$)。与紫柏凝胶低剂量组比较,紫柏凝胶中、高剂量组 E6、E7、P53、Rb 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$)。

讨 论

宫颈癌是女性第二大恶性肿瘤,持续性 HR-HPV 感染引发 CIN 会进一步发展为宫颈癌^[11],是唯一病因明确,可以预防的癌症。治疗 HR-HPV 感染,逆转 HR-HPV 感染持续状态对防治宫颈癌起到至关重要的



注:A 为模型组;B 为紫柏凝胶低剂量组;C 紫柏凝胶中剂量组;D 紫柏凝胶高剂量组;E 为顺铂组;箭头所指为肿瘤坏死细胞

图 4 各组裸鼠移植瘤组织病理学结果 (HE, ×200)

表 2 各组平均阳性细胞比率及染色强度比较 ($\bar{x} \pm s$)

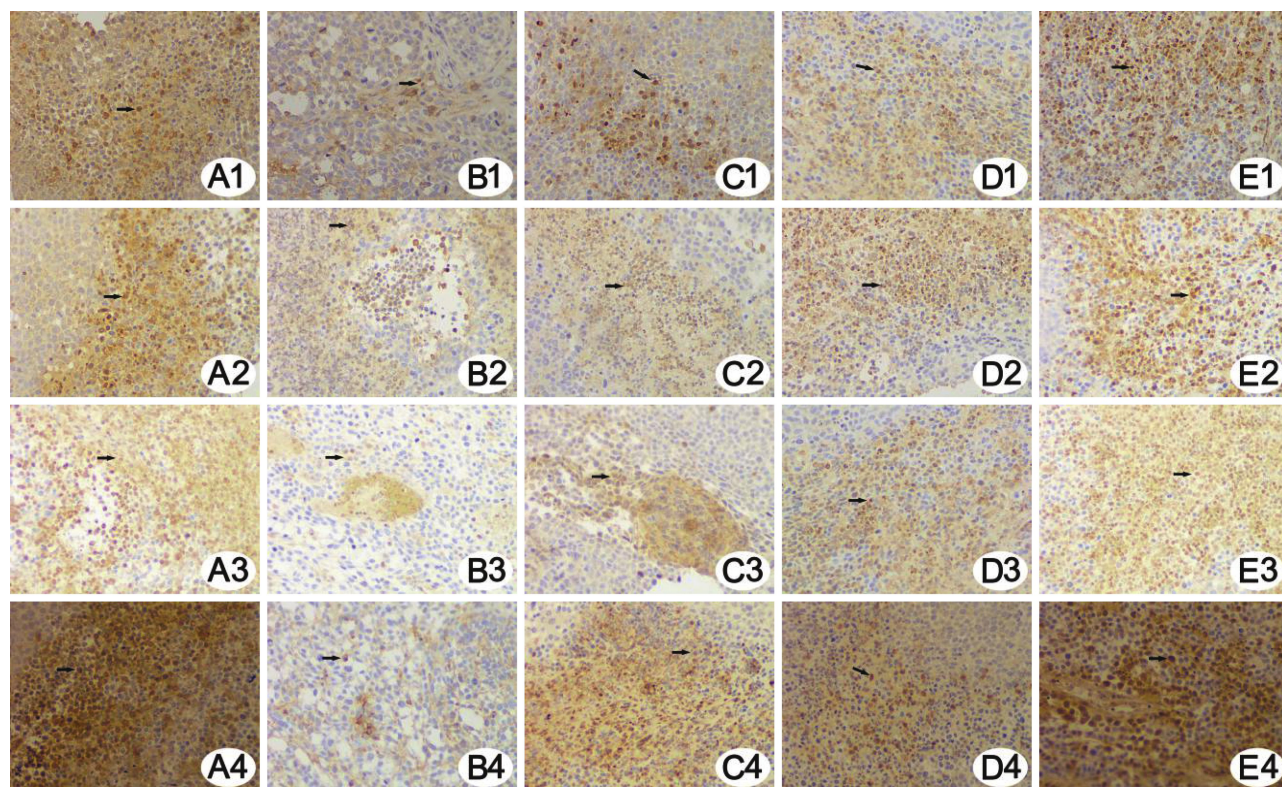
组别	n	阳性细胞比率(%)				染色强度			
		E6	E7	Rb	P53	E6	E7	Rb	P53
模型	7	51.32±4.37	56.26±6.21	53.42±6.91	49.11±3.92	2.96±0.32	2.31±0.29	2.58±0.39	3.04±0.11
顺铂	7	20.45±5.35	23.08±4.19	24.65±4.37	21.19±3.38	1.47±0.26 [*]	2.25±0.26 [*]	2.01±0.41 [*]	1.62±0.34 [*]
紫柏凝胶高剂量	7	32.70±6.22	33.47±9.25	36.51±5.09	29.91±7.51	1.98±0.80 ^{*△▲}	3.17±0.24 ^{*△▲}	2.03±0.58 ^{*△▲}	2.24±0.21 ^{*△▲}
紫柏凝胶中剂量	7	38.41±4.42	40.36±6.21	36.56±5.37	36.71±2.96	2.04±0.15 ^{*△▲}	3.08±0.25 ^{*△▲}	2.31±0.62 ^{*△▲}	2.52±0.45 ^{*△▲}
紫柏凝胶低剂量	7	42.70±6.63	45.76±6.21	40.82±9.17	41.83±4.23	2.47±0.60 [△]	3.32±0.47 [△]	3.42±0.31 [△]	3.14±0.57 [△]

注:与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与顺铂组比较,[△] $P<0.05$;与紫柏凝胶低剂量组比较,[▲] $P<0.05$

表 3 各组 E6、E7、Rb、P53 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	E6	E7	Rb	P53
模型	7	7.19±0.83	9.02±0.64	8.07±0.42	8.31±0.29
顺铂	7	2.85±0.48 [*]	5.12±0.58 [*]	3.71±0.29 [*]	3.41±0.52 [*]
紫柏凝胶高剂量	7	3.76±0.65 ^{*△▲}	6.06±0.42 ^{*△▲}	4.03±0.75 ^{*△▲}	4.63±0.37 ^{*△▲}
紫柏凝胶中剂量	7	4.21±0.36 ^{*△▲}	6.93±0.71 ^{△▲}	5.15±0.42 ^{*△▲}	5.59±0.62 ^{△▲}
紫柏凝胶低剂量	7	5.82±0.74 [△]	7.52±0.67 [△]	6.17±0.48 [△]	6.04±0.53 [△]

注:与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与顺铂组比较,[△] $P<0.05$;与紫柏凝胶低剂量组比较,[▲] $P<0.05$



注: A 紫柏凝胶高剂量组; B 紫柏凝胶中剂量组; C 紫柏凝胶低剂量组; D 为模型组; E 为顺铂组; 1 为 E6 蛋白; 2 为 E7 蛋白; 3 为 Rb 蛋白; 4 为 P53 蛋白; 箭头所指为蛋白表达

图 5 各组裸鼠 E6、E7、Rb、P53 蛋白表达结果 ($\times 200$)

作用^[12]。HR-HPV 感染导致宫颈细胞病变直至癌变的主要机制涉及病毒攻击和机体免疫功能失调两个方面,目前公认 16 型和 18 型病毒致癌力最强^[13]。HR-HPV 基因由 3 个部分组成:早期区、晚期区、长控制区。早期区(early region, E)含 E1、E2、E4、E5、E6、E7 共 6 个基因,是维持病毒复制、编码病毒蛋白、维持细胞内病毒的高拷贝数的基因^[12]。其致癌机制主要

与 E6、E7 蛋白有关。E6 蛋白与 P53 蛋白结合,促使 P53 蛋白降解,从而促进细胞增殖,减少细胞凋亡,而 E7 能与成视网膜细胞瘤(Rb)肿瘤抑制蛋白结合,导致蛋白降解^[14]。目前,针对首要病因 HPV 的治疗,由于病毒本身具有高度的宿主细胞选择特异性,目前还不能离体细胞培养病毒,实验研究方面缺乏很成功的动物模型。

中医学中并无“宫颈癌”病名,根据其临床表现,可归属于“癥瘕”“带下病”等范畴。中医学认为宫颈癌发病主要涉及肝、脾、肾三脏,脾虚湿蕴、肝气郁滞、肾气亏虚,冲任损伤,督、带二脉失约,而至癥瘕、带下病。对于宫颈癌的治疗,中医学运用整体观念,治疗上不仅考虑消除癌瘤,同时重视阴阳、气血、脏腑等整体调治,可增强肿瘤患者机体免疫力,提高自生抗肿瘤能力,对预防肿瘤复发转移及提高生活质量方面有重要意义。目前,中医药内治法治疗宫颈癌临床研究开展较多,但是中医药治疗宫颈癌的作用机制研究较少,尤其是外用中医药治疗宫颈癌的作用机制极少。

郭志强教授认为宫颈癌的主要病机是湿热下注损伤任、带二脉,任脉失于固摄,带脉失于约束,湿热之邪进而酿湿蕴热为毒,热蕴而肉腐,湿毒、热毒交结,毒侵而败坏机体,正虚邪盛,日久结局不良,发展为宫颈癌。并根据清利湿热法创立了“紫柏凝胶”^[5]。“紫柏凝胶”由紫草、黄柏、莪术、金银花、苦参、百部、白及、冰片、儿茶共九味中药组成,针对湿邪、热邪、毒邪、血瘀等几方面因素而制定,其中以紫草为君药,以黄柏、莪术、金银花、苦参为臣药,以百部、白芨、冰片为佐药,儿茶为使药。全方共奏清热祛湿、解毒活血、杀虫止痒、敛疮生肌之功^[5]。紫草素是君药紫草的主要有效活性成分,药理研究表明紫草素具有抑制宫颈癌细胞增殖,诱导宫颈癌细胞凋亡的作用^[15]。

本研究建立宫颈癌荷瘤裸鼠模型,观察紫柏凝胶治疗宫颈癌的抑瘤效应及作用机制,结果发现紫柏凝胶对宫颈癌具有一定的抑制作用。顺铂组肿瘤生长抑制率为 75.82%,实验期间裸鼠体质量明显下降,裸鼠死亡率为 28.57%;紫柏凝胶高、中、低剂量组肿瘤抑制率分别为 36.23%、31.24%、14.94%,抑瘤效果呈剂量依赖性,随治疗剂量的增加,抑瘤效果增强,且实验期间裸鼠无明显消瘦,未发生死亡,提示紫柏凝胶中剂量及高剂量均有抑瘤作用,且无明显毒副作用。前期临床观察发现紫柏凝胶治疗宫颈 HR-HPV 感染临床疗效显著^[16],本研究发现紫柏凝胶可下调 HPV 致癌蛋白 E6、E7 表达,上调抑癌蛋白 Rb、P53 表达,因此,笔者认为紫柏凝胶可应用于宫颈 HR-HPV 感染的治疗,紫柏凝胶对宫颈癌有一定的抑瘤作用。另外,本研究尚未对紫柏凝胶联合顺铂组进行对照观察,有待今后研究进一步完善。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

参 考 文 献

[1] Neerja B, Daisuke A, Daya N, et al. Cancer of the

cervix uteri[J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2018, 143(2): 22–36.

- [2] Mariani L, Preti M, Cristoforoni P, et al. Overview of the benefits and potential issues of the non-avalent HPV vaccine[J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2017, 136(3): 1–8.
- [3] Li M, Du X, Lu M, et al. Prevalence characteristics of single and multiple HPV infections in women with cervical cancer and pre-cancerous lesions in Beijing[J]. *J Med Virol*, 2019, 91(3): 473–481.
- [4] Ge Y, Zhong S, Ren M, et al. Prevalence of human papillomavirus infection of 65 613 women in East China[J]. *BMC Public Health*, 2019, 19(1): 178–182.
- [5] 徐垲, 薛晓鸥, 李健, 等. 紫柏凝胶对宫颈癌 SiHa 细胞的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 27(7): 60–62.
- [6] 徐垲, 薛晓鸥, 马秀丽, 等. 紫柏凝胶外治方治疗宫颈高危型人乳头瘤病毒感染的临床观察[J]. *北京中医药大学学报*, 2015, 38(8): 566–568, 572.
- [7] 马秀丽. “紫柏凝胶”治疗宫颈 HR-HPV 感染的临床研究及对宫颈组织 HLA-I 及 CD8 的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [8] 朱彩英, 陈武炼, 杜明, 等. 紫杉醇纳米复合物体内体外抗宫颈癌活性评价[J]. *复旦学报(医学版)*, 2019, 46(4): 485–493.
- [9] 吕鹏, 赵欢, 石凤芹, 等. 复方浙贝颗粒联合顺铂对 L1210/CDDP 移植瘤小鼠的抑瘤作用及相关凋亡蛋白的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2019, 14(7): 894–897, 901.
- [10] 刘禹熙, 陈璐, 陈丽羽, 等. 助孕宁 I 号方对复发性自然流产孕鼠滋养及蜕膜细胞凋亡的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(5): 566–571.
- [11] 江星元, 刘应南, 陶霞. HPV E6/E7 在宫颈癌变恶性进展或宫颈癌复发中的预测作用[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1): 97–99.
- [12] 谢幸, 沈源明. 宫颈癌预防和治疗中的争议及其对策[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2019, 35(10): 1081–1084.
- [13] 张勤, 王冬. 高危型 HPV 感染在宫颈癌前病变、宫颈癌中的临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(5): 788–791.
- [14] Marret G, Borcoman E, Le Tourneau C. Pembrolizumab for the treatment of cervical cancer[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, 19(9): 871–877.
- [15] 杨阳, 陶仕英, 牛建昭, 等. 紫草素对宫颈癌 SiHa 细胞增殖周期的影响[J]. *环球中医药*, 2018, 11(1): 6–10.
- [16] 温利娟. 外用中药方治疗宫颈 HR-HPV 持续感染疗效及对宫颈癌抑瘤作用的实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.

(收稿: 2018-11-07 在线: 2020-05-27)

责任编辑: 赵芳芳