

鼻咽清颗粒对鼻咽癌细胞裸鼠移植瘤的放疗增敏作用及机制研究

范彩霞, 陈志喜, 范世平, 赖淑贞, 张相国, 郑锦坤, 赖新华

汕头大学医学院附属粤北人民医院, 广东 韶关 512026

摘要: **目的** 体内考察鼻咽清颗粒对人鼻咽癌细胞(CNE-2)裸鼠种植瘤的放疗增敏作用并对其可能机制进行初步探索。**方法** 建立CNE-2细胞的裸鼠种植瘤模型,取荷瘤成功裸鼠30只,随机分成5组,分别为模型组,鼻咽清颗粒低、高剂量(生药剂量5.2、10.4 g/kg)组,放疗组,鼻咽清颗粒(生药剂量5.2 g/kg)+放疗组,每天2次ig给药;放疗照射剂量为4 GY,隔日1次,连续2周。给药期间每5天测量肿瘤体积,至给药30 d处死,取瘤组织,称质量并计算抑瘤率;免疫组化检测P53、Bcl-2蛋白表达。**结果** 与模型组比较,各治疗组均对移植瘤体积、质量发挥显著抑制作用($P < 0.05$ 、 0.01);鼻咽清颗粒+放疗组瘤体积、质量均显著低于放疗组($P < 0.05$ 、 0.01)。免疫组化结果提示,与模型组比较,各治疗组移植瘤组织中P53、Bcl-2蛋白表达阳性细胞率均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01);与放疗组比较,鼻咽清颗粒+放疗组P53、Bcl-2蛋白表达阳性细胞率显著降低($P < 0.01$)。**结论** 鼻咽清颗粒抑制鼻咽癌的生长且具有放疗增敏作用,可能与同时抑制突变性P53和Bcl-2蛋白表达相关。

关键词: 鼻咽清颗粒; 鼻咽癌; 放疗增敏; p53; Bcl-2

中图分类号: R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)12-1688-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.003

Radiosensitization of Bi-Yan-Qing Granules on human nasopharyngeal planted tumor and its mechanism

FAN Cai-xia, CHEN Zhi-xi, FAN Shi-ping, LAI Shu-zhen, ZHANG Xiang-guo, ZHENG Jin-kun, LAI Xin-hua

Affiliated YueBei People's Hospital of Medical College of Shantou University, Shaoguan 512026, China

Abstract: Objectives To study the radiosensitization effect of Bi-Yan-Qing granules on xenograft tumor of human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2 in the BALB/C nude mice and explore the possible mechanism. **Methods** CNE2 cells were injected subcutaneously into nude mice to establish transplanted tumor mice model, Then, 30 mice were randomly divided into five groups: model group, Bi-Yan-Qing Granules low and high dosage (crude drug dosage: 5.2, 10.4 g/kg) groups, irradiation group, and Bi-Yan-Qing Granules (crude drug dosage: 5.2 g/kg) combined with irradiation group. Ig administered for twice a day, radiotherapy dose was 4 GY, once two days for two weeks. The tumor volume was measured every five days during dosing period. Nude mice were killed after 30 days administration, and the tumor tissue was weighed to calculate tumor inhibition rate. The immunohistochemistry assay was used to detect the expression levels of P53 and Bcl-2 protein in tumor tissues in each group. **Results** Compared with model group, the transplantation tumor volume and weight of each treatment group were significantly inhibited ($P < 0.05$, 0.01). The tumor volume and quality of combination group (Bi-Yan-Qing Granules and irradiation) were significantly lower than those of the radiotherapy group ($P < 0.05$, 0.01). Immunohistochemistry results showed that, compared with model group, the positive cellular rate of P53 and Bcl-2 protein expression were significantly decreased in tumor tissue of each treatment group ($P < 0.05$, 0.01). Compared with radiotherapy group, the positive cellular rate of P53 and Bcl-2 protein expression in the combination group was significantly reduced ($P < 0.01$). **Conclusions** Bi-Yan-Qing Granules inhibit the growth of nasopharyngeal carcinoma and have a radiosensitization effect, which may be related to the inhibition of mutation in P53 and Bcl-2 protein expression at the same time.

Keywords: Bi-Yan-Qing granules; nasopharyngeal carcinoma; radiosensitization effect; p53; Bcl-2

收稿日期: 2017-06-04

基金项目: 广东省中医药管理局项目(20122035); 韶关市医药卫生科研计划项目(Y12159)

作者简介: 范彩霞, 女, 研究方向为临床药学和中药制剂。Tel: 0751-6913465 E-mail: mydream0509@qq.com

鼻咽癌是我国一种常见的恶性肿瘤,目前以放射治疗为主,可辅以化疗和手术治疗(鼻咽复发的病灶及残留的肿大淋巴结)。鼻咽癌作为一种放疗剂量依赖型肿瘤,治疗过程中通过提高局部放射剂量可提高局部控制率及生存率,但接受放射治疗患者会出现放射反应,特别是急性放射反应,明显影响患者的生活质量和放射治疗的进程,给患者造成极大的损害和痛苦。因此,寻找有效的放射增敏药物对于预防放射副反应具有重要意义^[1]。目前常用的放射增敏剂有氟尿嘧啶和顺铂,其在杀死肿瘤细胞的同时也对正常的组织细胞产生了毒性作用,从而限制临床应用。为提高鼻咽癌患者的总生存率,改善鼻咽癌患者的生存质量,寻找一种安全低毒的放射增敏药物并阐明其增敏机制,具有重要的临床价值和科学意义。

鼻咽清颗粒是我院研制的传统制剂,主要由重楼、夏枯草、两面针、蛇泡勒、野菊花、苍耳子、龙胆草、太子参 8 味中药组成^[2],方中重楼清热解毒^[3];夏枯草清泄肝火,散结消肿^[4];两面针清热燥湿^[5];蛇泡勒味甘酸性平,功善散瘀止痛、消肿止痛、凉肝定惊等^[6],龙胆草清热燥湿,共为辅药。太子参补气生精、健运中气,鼓舞清阳,为佐药;诸药合用,具有清热解毒,消炎散结之功效,主要用于治疗鼻咽部慢性炎症,咽喉肿痛以及鼻咽癌放射治疗后分泌物增加。现代药理学研究证实,组方中重楼、夏枯草、两面针、蛇泡勒、野菊花、龙胆草等都具有抗肿瘤活性^[5-9]。本课题组前期的细胞水平研究证实,鼻咽清颗粒联合照射治疗能将 CNE-2 细胞周期阻断在 G₂/M 期,具有放射增敏作用^[10]。本研究在前期细胞学实验的基础,建立 CNE-2 裸鼠荷瘤动物模型,体内考察鼻咽清颗粒对鼻咽癌的抑制作用及放疗增敏作用,免疫组化法检测 CNE-2 种植瘤组织中 P53 和 Bcl-2 的蛋白表达,初步阐述鼻咽清颗粒对荷瘤裸鼠 CNE-2 种植瘤放疗增敏作用及可能机制。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

胰蛋白酶、DMEM 高糖培养基、RPMI-1640 培养基(Gibco 公司);胎牛血清(杭州四季青生物材料有限公司);青链霉素双抗溶液(上海约麦尔生物技术有限公司);Bcl-2、p53 小鼠抗人单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);SP 试剂盒和 DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 细胞株

人鼻咽癌 CNE-2 细胞,由南方医科大学肿瘤中心实验室传代培养赠送。

1.3 实验动物

实验用裸鼠,购自南方医科大学动物中心,4 周龄,雄性,体质量 16~18 g,实验动物生产许可证号 SCXK(粤)-2015-0015。在 SPF 条件下饲养,室温 18~22 °C,相对湿度 68%,所有裸鼠均自由进水,常规饲料饲养。

1.4 主要仪器

HH-8 恒温水浴锅(金坛市晶玻实验仪器厂);Bio-II-A/M 生物安全柜(西班牙 TELSTAR 公司);IX73 倒置显微镜(德国奥林巴斯公司);Thermo Scientific Series 8000 直热式 CO₂ 培养(德国 Thermo 公司);PRIUM 直线加速器(德国西门子公司);DMR+Q550 病理图象分析仪(德国 LEICA 公司);ZK 组织捣碎机(盐城龙岗医疗器械厂)。

2 方法

2.1 鼻咽清浓缩液的配制

按照鼻咽清颗粒处方(重楼 32 g、夏枯草 32 g、两面针 32 g、蛇泡勒 32 g、野菊花 16 g、苍耳子 16 g、龙胆草 16 g、太子参 16 g)组成比例,取地道药材(购于国药控股韶关有限公司,由本单位赖新华和王定生两位副主任中药师鉴定,均符合《中国药典》2015 年版一部规定),置提取罐中,加水回流提取 2 次,每次沸后 2 h,滤过弃渣,合并滤液,充分搅拌,浓缩至密度为 1.20~1.30 g/mL (80 °C),1 mL 浓缩液对应 1 g 干药材质量,灌注,灭菌,4 °C 保存备用。质量标准符合广东省食品药品监督管理局医疗机构制剂注册标准[粤 ZB20110730(Z)]。

2.2 细胞培养

CNE-2Z 细胞培养于含 10%胎牛血清、100 kU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 DMEM 培养液中,37 °C、5% CO₂,饱和湿度细胞培养箱培养,2 d 换液一次,取对数生长期细胞用于实验。

2.3 建立 CNE-2 细胞裸鼠移植瘤模型

取处于对数生长期的 CNE2 细胞,0.25%胰蛋白酶消化后用无血清培养液离心洗涤 2 次,并用无血清培养液调整细胞浓度为 1×10^7 /mL,0.4%台盼蓝染色法活细胞计数 >98%。无菌条件下用带 6 号针头的注射器抽取 0.2 mL 细胞悬液接种于 BALB/C 裸鼠右后肢外侧(经 75%酒精消毒)皮下。接种时局部出现明显皮丘,整个操作过程在 SPF 室内进行,

严格遵守无菌操作原则,于SPF环境下喂养。从接种后第5天开始,用游标卡尺测定肿瘤体积,隔天1次,直至细胞接种14 d,长径大于5 mm,肿瘤体积大于64 mm³视为造模成功。

30只裸鼠接种细胞悬液,第4天开始出瘤,至第14天所有被接种裸鼠均出现直径5 mm左右的结节,表明动物移植瘤模型建立。移植瘤早期为圆形或椭圆形,表面光滑后期为不规则形有些肿瘤表面凹凸不平呈多个结节融合状。

2.4 动物分组及治疗

将荷瘤裸鼠随机分成5组,每组6只,分别为模型组,鼻咽清颗粒低、高剂量(生药剂量5.2、10.4 g/kg)组,放疗组,鼻咽清颗粒(生药剂量5.2 g/kg)+放疗组,每天2次ig给药,模型组和放疗组给予等体积生理盐水。以体质量70 kg人临床用药剂量为参照,按照“人和动物按体表面积折算的等效剂量比率表”计算,鼻咽清颗粒低剂量为临床等效剂量。

放疗组和鼻咽清颗粒+放疗组裸鼠置于小鼠辐射笼中,医用直线加速器给予照射,源皮距(SSB)100 cm,用有机玻璃板进行剂量校正,从上向下照射,照射剂量为4 GY,隔日1次,连续2周。

2.5 抑瘤率检测

每5天用游标卡尺测量移植瘤的长径(*a*)、短径(*b*),计算肿瘤体积 $V(\text{mm}^3) = ab^2/2$,观察至给药30 d;称裸鼠体质量后,颈椎脱臼处死,取瘤组织,称质量,计算抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量

2.6 移植瘤的处理

将各组取出的皮下移植瘤组织切成小块,分成3份。固定于4%多聚甲醛磷酸缓冲液中,用于P53和Bcl-2蛋白免疫组化实验。

2.6.1 免疫组化法检测移植瘤P53蛋白表达 参照即用型免疫组织化学超敏Ultra Sensitive™ S-P试剂盒说明书进行实验,按标准方法进行石蜡包埋组织的免疫组织化学染色,显微镜下,对所测区域进行定位后,在相同显微镜条件下采集图像,移植瘤组织P53蛋白染色结果判断:光镜观察,免疫组化阳性着色为棕黄色,P53蛋白阳性染色主要定位于细胞核,计数1 000个细胞中P53蛋白表达为阳性的细胞所占比率。

2.6.2 免疫组化法检测移植瘤Bcl-2蛋白表达 参照即用型免疫组织化学超敏Ultra Sensitive™ S-P试剂盒说明书进行。一抗选择鼠抗人Bcl-2免疫组化单克隆抗体,具体操作步骤同“2.6.1”项。移植瘤组织Bcl-2蛋白染色结果判断:光镜观察,免疫组化阳性着色为棕黄色,Bcl-2蛋白阳性染色主要定位于细胞膜或细胞浆。

2.7 统计分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS 13.0分析软件进行统计分析,各组间的均数比较采用LSD方差分析,率的统计学检验采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 对CNE-2裸鼠移植瘤体积和瘤质量的影响

如表1所示,给药初期各组移植瘤体积均随时间延长呈增大趋势;给药10 d后,与模型组比较,鼻咽清颗粒低、高剂量组,放疗组,鼻咽清颗粒+放疗组,移植瘤的体积均显著低于对照组($P < 0.05$ 、 0.01);随着时间延长,给药15 d后,放疗组和鼻咽清颗粒+放疗组肿瘤体积出现停止增大、反而逐步缩小的现象,且鼻咽清颗粒+放疗组移植瘤体积显著小于与单纯放疗组,两组差异显著($P < 0.01$)。

如表2所示,与模型组比较,各治疗组均对移植瘤质量发挥显著抑制作用($P < 0.05$ 、 0.01)。鼻咽清颗粒+放疗组瘤质量显著低于放疗组($P < 0.01$)。

表1 各组裸鼠移植瘤体积变化情况 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Growth trend curves of transplanted tumors in nude mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	移植瘤体积/cm ³						
		给药前	给药后5 d	给药后10 d	给药后15 d	给药后20 d	给药后25 d	给药后30 d
模型	—	118.5±5.25	186.37±11.21	458.02±55.98	726.03±111.2	1 035.64±145.65	1 453.54±189.21	2 046.23±210.42
鼻咽清颗粒	5.2	117.5±3.56	182.56±3.56	353.25±13.67*	524.36±23.56**	709.36±25.306*	925.63±35.30*	1113.23±35.42**
	10.4	120.4±2.62	180.56±9.87	334.56±13.44*	506.38±13.65**	600.52±18.94**	800.25±35.25**	880.63±33.56**
放疗	—	119.3±2.6	174.56±9.87	324.56±12.56*	456.23±19.23**	386.5±22.12**	296.3±12.30**	240.56±21.13**
鼻咽清颗粒+放疗	5.2	116.3±5.2	165.56±9.07	294.56±9.58*	398.42±12.23***	293.12±9.65***	183.62±11.09***	112.35±8.69***

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与放疗组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs radiotherapy group

表2 鼻咽清颗粒及放疗对 CNE-2 细胞裸鼠移植瘤抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Growth of transplanted tumor in nude mice among different groups ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	体质量/g		瘤质量/g	抑制率/%
		给药前	给药后		
模型	—	19.4±1.1	18.7±1.2	2.08±0.15	—
鼻咽清颗粒	5.2	20.2±1.2	20.9±1.3	1.65±0.21 [*]	20.67%
	10.4	19.8±1.3	20.1±1.2	1.25±0.13 [*]	39.91%
放疗	—	19.0±0.9	18.2±0.9	0.58±0.12 ^{**}	72.11%
鼻咽清颗粒+放疗	5.2	19.6±1.0	20.2±1.3	0.34±0.10 ^{**##}	83.65% ^{##}

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与放疗组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; ^{##} $P < 0.01$ vs radiotherapy group

3.2 免疫组化检测结果

3.2.1 P53 蛋白免疫组化检测结果 P53 蛋白阳性染色主要定位于细胞核, 免疫组化阳性着色为棕黄色或棕褐色颗粒。如图 1 所示, 模型组移植瘤组织中, P53 表达阳性, 部分肿瘤细胞 P53 表达强阳性; 放疗组移植瘤组织中, P53 表达阳性, 部分肿瘤细胞 P53 表达强阳性; 鼻咽清颗粒高剂量组移植瘤组织中, 部分肿瘤细胞 P53 表达中等阳性; 低剂量组+放疗组移植瘤组织中, 部分肿瘤

细胞 P53 表达中等阳性; 低剂量组移植瘤组织中, P53 表达阳性。

计数 1 000 个细胞中 P53 蛋白表达阳性细胞率, 结果见表 3。模型组最高, 为 (68.42±8.65)%; 其次是放疗组, 为 (53.43±10.26)%。与模型组比较, 各治疗组移植瘤组织中 P53 蛋白表达阳性细胞率均显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 与放疗组比较, 鼻咽清颗粒+放疗组 P53 蛋白表达阳性细胞率显著降低 ($P < 0.01$)。

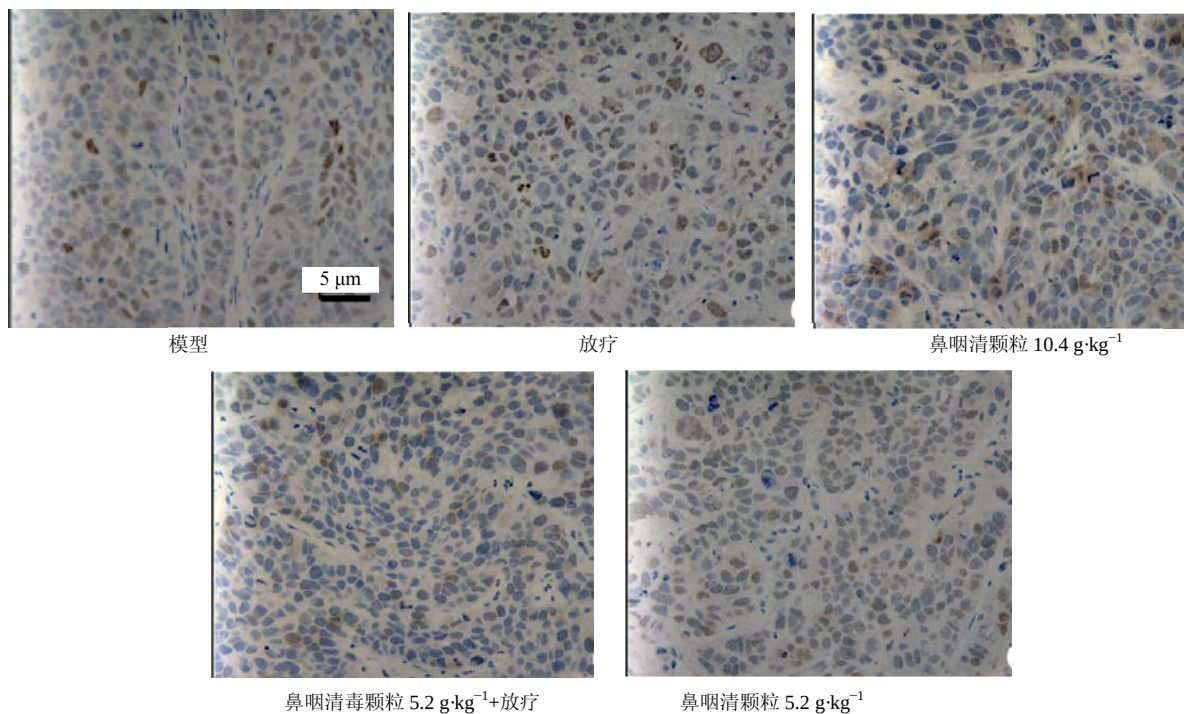


图1 P53 蛋白免疫组化图片

Fig. 1 Immunohistochemistry for expression level of P53 protein

3.2.2 Bcl-2 蛋白免疫组化检测结果 Bcl-2 蛋白阳性染色主要定位于细胞膜或细胞浆, 免疫组化阳性着色为棕黄色颗粒。如图 2 所示, 模型组和放疗组

移植瘤组织中, Bcl-2 蛋白表达阳性; 鼻咽清毒颗粒高剂量组移植瘤组织中, Bcl-2 蛋白表达阳性, 但较模型组弱; 鼻咽清颗粒+放疗组、低剂量组移植瘤

表3 p53在CNE-2裸鼠移植瘤组织中的表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 3 Expression of P53 in CNE-2 planted tumor in nude mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	P53 蛋白阳性细胞率/%
模型	—	68.42±8.65
鼻咽清颗粒	5.2	49.21±13.56*
	10.4	36.32±15.21**
放疗	—	53.43±10.26*
鼻咽清颗粒+放疗	5.2	28.21±15.21***

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与放疗组比较: *** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; *** $P < 0.01$ vs radiotherapy group

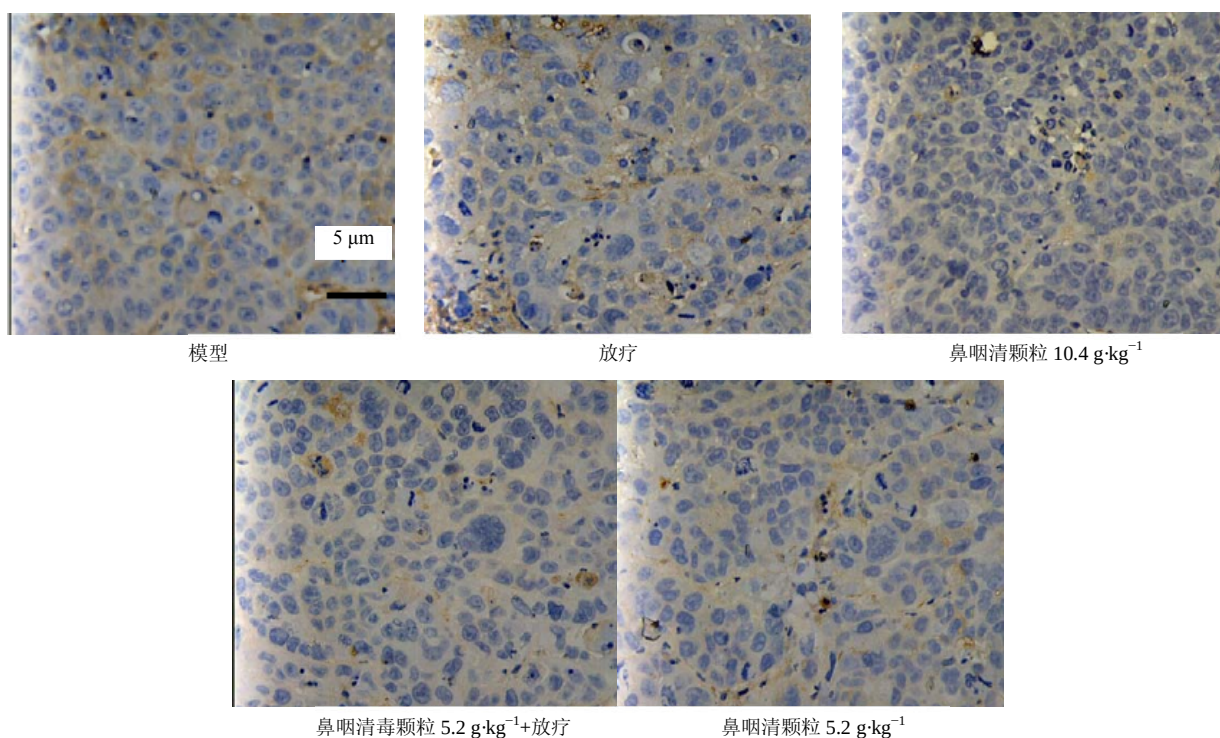


图2 Bcl-2蛋白免疫组化图片

Fig. 2 Immunohistochemistry for expression level of Bcl-2 protein

表4 Bcl-2在鼻咽癌CNE-2裸鼠移植瘤组织中的表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 Express of Bcl-2 in CNE-2 planted tumor in nude mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Bcl-2 蛋白阳性细胞率/%
模型	—	69.21±9.52
鼻咽清颗粒	5.2	50.32±12.98*
	10.4	41.35±8.65**
放疗	—	59.68±11.21*
鼻咽清颗粒+放疗	5.2	33.54±6.52***

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与放疗组比较: *** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; *** $P < 0.01$ vs radiotherapy group

组织中 Bcl-2 蛋白表达阳性, 但阳性较弱。

计数 1 000 个细胞中 Bcl-2 蛋白表达阳性细胞率, 结果见表 4。模型组最高, 为 (69.21±9.52) %; 其次是放疗组, 为 (59.68±11.21) %。与模型组比较, 各治疗组移植瘤组织中 Bcl-2 蛋白表达阳性细胞率均显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 与放疗组比较, 鼻咽清颗粒+放疗组 Bcl-2 蛋白表达阳性细胞率显著降低 ($P < 0.01$)。

4 讨论

鼻咽癌属中医学“控脑砂”“上石疽”和“失荣”等范畴。中医理论认为其基本病因病机不外乎正气虚弱, 肝气郁结, 损肝伤脾, 或五志化火, 结疾生

痰, 从而诱发鼻咽癌并促进其病理演变过程^[2]。p53、Bcl-2 和 Caspase-3 等基因在调节细胞凋亡的过程中相互联系、共同作用, 在细胞凋亡的调控中扮演着重要角色^[4-5, 11-13]。肿瘤细胞对于电离辐射的反应, 与其在细胞周期中所处的时相密切相关, 本课题组前期研究证实, 鼻咽清颗粒通过降低 Bcl-2、升高 Caspase 3 表达, 促进细胞凋亡, 与照射结合, 可以将 CNE-2 细胞阻滞于 G₂/M, 而达到放疗增敏的目的^[10]。

本研究建立裸鼠 CNE-2 移植瘤模型, 考察鼻咽清颗粒对裸鼠鼻咽癌移植瘤的影响和其放疗增敏作

用,免疫组化考察可能机制。各组裸鼠移植瘤的肿瘤体积动态变化可见,给药初期,各组移植瘤体积均呈增大趋势,随着时间延长,放疗组和放疗+鼻咽清颗粒组,肿瘤体积逐步缩小。鼻咽清颗粒对CNE-2移植瘤的生长具有抑制作用,其抑制强度与剂量呈正相关。鼻咽清颗粒+放疗组瘤体积和质量低于放疗组,两组差异显著,说明鼻咽清颗粒具有放射增敏作用。

p53基因分为野生型(wt p53)和突变型(mt p53)两种,wt p53是存在于细胞内的正常状态,是一种抑癌基因;mt p53是一种癌基因,可以促进肿瘤的发生发展。当wt p53基因发生突变时,一方面不能阻止细胞增殖,使含大量错误DNA的细胞继续生存,从而引起肿瘤发生;另一方面,mt p53基因有协助基因致癌的能力。因此mt p53基因不仅丧失了抑癌活性,反而具有促进恶性转化的功能,由抑癌基因转化为癌基因^[11, 13-17]。另有文献提出,wt P53蛋白半衰期短,仅为6~10 min,用常规的免疫组织化学方法检测不到;mt P53蛋白降解缓慢,代谢半衰期延长,可达4~8 h,常积聚在核内易于检测到^[14]。因此本研究中采用免疫组化法检测的P53蛋白为mt P53。

随着鼻咽清颗粒剂量的增加,mt P53的表达量逐步下降,肿瘤质量及体积也随着鼻咽清颗粒剂量的增加而下降;放疗+鼻咽清颗粒组mt P53的表达显著低于放疗组,且肿瘤体积及质量变化也提示,放疗+鼻咽清颗粒组肿瘤生长缓于放疗组;免疫组化结果与瘤体积、瘤质量结果是一致的。但是对于放疗组与鼻咽清颗粒低剂量组比较,鼻咽清颗粒低剂量组mt P53的表达低于放疗组,这与移植瘤的体积和瘤重变化曲线不一致。可能原因是,鼻咽癌首要的治疗手段为放疗,其原理是放射线主要作用于双链DNA使其断裂,致使正常蛋白翻译受阻或启动凋亡程序引起细胞死亡^[14]。但是射线对mt P53蛋白的影响不大,而鼻咽清颗粒的作用机制是通过抑制mt P53的表达,减少细胞癌变,达到抑制肿瘤生长的目的。然而鼻咽清颗粒与放疗结合其肿瘤生长曲线、mt P53的表达均与其他组差异显著,说明鼻咽清颗粒与放疗结合后通过抑制mt P53的表达,增加放疗敏感性,从而抑制肿瘤的生长,达到放疗增敏的目的。

Bcl-2为凋亡抑制基因,通过抑制线粒体膜电位的降低、细胞色素和凋亡诱导因子的释放及Caspase

的激活抑制细胞凋亡。此外,当Bcl-2以Bcl-2二聚体形式存在时,具有抑制细胞凋亡的生理功能^[11-15]。Bcl-2蛋白阳性染色主要定位于细胞膜或细胞浆,免疫组化阳性着色为棕黄色颗粒。鼻咽清颗粒可以抑制Bcl-2表达,促进肿瘤凋亡,随着鼻咽清颗粒剂量的增加,Bcl-2表达下降,肿瘤凋亡增加,肿瘤生长变缓、瘤体积变小,瘤体积、质量变化与免疫组化结果一致。放疗为鼻咽癌治疗的首选治疗方案,放射线主要作用于双链DNA使其断裂,致使正常蛋白翻译受阻或启动凋亡程序引起细胞死亡^[11]。鼻咽清颗粒可以通过抑制Bcl-2蛋白的表达,增强促凋亡蛋白酶,caspase-2/3的活性,增加鼻咽癌细胞放疗后的凋亡率,达到放疗增敏效果,因此鼻咽清颗粒+放疗组Bcl-2表达量明显低于放疗组,瘤体积和质量变化也提示,鼻咽清颗粒+放疗组肿瘤生长较放疗组缓慢,免疫组化实验与肿瘤生长结果是一致的。鼻咽清颗粒抑制肿瘤生长的机制是通过抑制肿瘤组织Bcl-2凋亡相关蛋白表达而抑制肿瘤细胞生长,而射线本身对细胞凋亡相关蛋白的表达影响不是其导致肿瘤细胞死亡的主要机制,因此会出现放疗组Bcl-2表达略高于鼻咽清颗粒低剂量组的现象。

研究表明,鼻咽清颗粒与放疗结合可以显著提高放疗的敏感性,抑制mt P53和Bcl-2的表达,可能是其主要机制。

参考文献

- [1] 马骏. 鼻咽癌治疗的研究进展 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2010, 32(2): 179-184.
- [2] 梅全喜. 鼻咽癌的中医药治疗 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010: 114-116.
- [3] 陈志红, 龚先玲, 刘义. 重楼总皂苷对人鼻咽癌细胞CNE-2Z周期及凋亡的影响 [J]. 中成药, 2011, 33(1): 25-29.
- [4] 刘悦, 宋少江, 徐绥绪. 夏枯草的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(1): 55-59.
- [5] 马春玉. 两面针的药理作用与临床应用 [J]. 吉林中医药, 2007, 27(1): 50.
- [6] 梅全喜, 房志坚, 戴卫波, 等. 广东地产药材蛇泡勒临床应用、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 2010, 6(2): 102-104.
- [7] 郑振, 张玲菊, 黄常新, 等. 茅莓总皂苷体外抗肿瘤作用研究 [J]. 浙江临床医学, 2007, 9(5): 611.
- [8] 梅全喜, 房志坚, 戴卫波, 等. 广东地产药材蛇泡勒临

- 床应用、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 2010, 6(2): 102-104.
- [9] 金沈锐, 祝彼得, 秦旭华. 野菊花注射液对人肿瘤细胞 SMMC7721、PC3、HL60 增殖的影响 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(3): 39240.
- [10] 范彩霞, 范世平, 陈志喜, 等. 鼻咽清颗粒对鼻咽癌 CNE-2 细胞周期和凋亡的影响及可能机制研究 [J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 24(5): 330-334.
- [11] Lowe S W, Lin A W. Apoptosis in cancer [J]. Carcinogenesis, 2000, 21: 485-495.
- [12] Soussi T, Lozano G. p53 mutation heterogeneity in cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 331(3): 834-842.
- [13] Zhou B B, Elledge S J. The DNA damage response: putting check-points in perspective [J]. Nature, 2000, 408(6811): 433-439.
- [14] Russo A, Terrasi M, Aqnesse V, et al. Apoptosis: a relevant tool for anticancer therapy [J]. Ann Oncol, 2006, 17(7): 115-123.
- [15] 徐丽丽, 高世勇, 季宇彬. 细胞凋亡相关蛋白的研究进展 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2008, 29(11): 1361-1363.
- [16] 周 桔, 罗荣保, 汤长发, 等. Bcl-2 蛋白家族和 p53 基因在细胞凋亡中的调控效应 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(10): 1950-1952.
- [17] 顾红燕, 郭青龙. p53 最新研究进展 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34(11): 801-803.

(上接第 1687 页)

- [11] 沈小波, 代洪宾. 男性骨质疏松症研究进展 [J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2010, (02): 89-92.
- [12] 詹志伟, 裴 育, 王熙然, 等. 老年男性骨质疏松症与发病相关危险因素分析 [J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2008, (3): 247-250.
- [13] 苗懿德, 刘 杰, 刘忠厚. 老年男性骨质疏松与相关影响因素的关系 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2001, (3): 34-36
- [14] 渠海波, 张 朝. 骨质疏松的研究进展 [J]. 包头医学院学报, 2013, 29(3): 119-121.
- [15] 宋 敏, 李 晶. 大鼠骨质疏松模型的复制方法及意义 [J]. 当代医学, 2010, 16(15): 16-17.
- [16] 蔡 辉, 徐佳杨, 赵智明. 淫羊藿总黄酮对高脂血症大鼠血脂水平的影响 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, (9): 4-6, 10.
- [17] 赵振坤, 王淑玲, 丁刘涛, 等. 中药药渣再利用研究进展 [J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2012, 01: 38-42.