

六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸治疗前列腺癌骨转移的作用及机制研究

张小青¹, 李 禄⁴, 王为民¹, 谢海波¹, 吴 思¹, 邵荣江¹, 李 庆¹, 杜学忠¹, 李洋洋², 牟睿宇^{2,3}, 贾春鑫^{2,3}, 廖 洋^{2,3}, 李小江^{2,3*}

1. 天津中医药大学第一附属医院 骨伤科, 天津 300381

2. 天津中医药大学第一附属医院 肿瘤科, 天津 300381

3. 天津中医药大学第一附属医院 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

4. 天津市南开医院 针灸科, 天津 300100

摘 要: **目的** 研究六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸治疗前列腺癌骨转移的作用及机制。**方法** 将前列腺癌骨转移小鼠随机分为模型组、六味地黄汤合三圣散组、唑来膦酸组和联合组, 给予药物干预 2 周, 采用 ELISA 法检测血清中碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性; 采用全自动生化分析仪检测血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性及尿肌酐 (urine creatinine, CRE)、尿素氮 (urine urea nitrogen, BUN)、血钙、血磷水平; 采用 Western blotting 法检测股骨组织中 p63、C-X-C 基序趋化因子受体 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4) 和基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 六味地黄汤合三圣散与唑来膦酸联用显著降低小鼠血清中 ALP、AST、ALT 活性及 CRE、BUN、血钙、血磷水平 ($P < 0.05$), 显著上调股骨组织中 p63 表达 ($P < 0.05$), 显著下调股骨组织中 CXCR4 和 MMP9 表达 ($P < 0.05$)。**结论** 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸能够通过上调 p63 表达, 抑制 CXCR4 和 MMP9 表达, 从而延缓前列腺癌骨转移进程。

关键词: 六味地黄汤; 三圣散; 唑来膦酸; 前列腺癌; 骨转移

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)23-7461-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.23.017

Effect and mechanism of Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder and zoledronic acid on treatment of prostate cancer bone metastases

ZHANG Xiao-qing¹, LI Lu⁴, WANG Wei-min¹, XIE Hai-bo¹, WU Si¹, SHAO Rong-jiang¹, LI Qing¹, DU Xue-zhong¹, LI Yang-yang², MOU Rui-yu^{2,3}, JIA Chun-xin^{2,3}, LIAO Yang^{2,3}, LI Xiao-jiang^{2,3}

1. Department of Orthopedics, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Department of Oncology, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

4. Department of Acupuncture, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Abstract: Objective To study the effect and mechanism of Liuwei Dihuang Decoction (六味地黄汤) combined with Sansheng Powder (三圣散) and zoledronic acid in treatment of prostate cancer bone metastasis. **Methods** Mice with prostate cancer bone metastasis were randomly divided into model group, Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder group, zoledronic acid group and combination group. Mice were given drug intervention for 2 weeks, and alkaline phosphatase (ALP) activity in serum was detected by ELISA; Automatic biochemical analyzer was used to detect alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) activities and urinary creatinine (CRE), urea nitrogen (BUN), blood calcium and blood phosphorus levels in serum; Western blotting were used to detect p63, C-X-C motif chemokine receptor 4 (CXCR4) and matrix metalloproteinase 9 (MMP9)

收稿日期: 2022-03-10

基金项目: 天津市中医药管理局中医中西医结合科研课题 (2021106); 天津市教委课题 (2020KJ163); 天津中医药大学第一附属医院拓新工程 (院 YB202125)

作者简介: 张小青, 男, 医学硕士, 主治医师, 从事中西医结合防治骨伤疾病研究。Tel: (022)27986533

*通信作者: 李小江, 女, 医学博士, 博士生导师, 从事中西医结合防治恶性肿瘤的临床与基础研究。E-mail: zxqlvelxj@126.com

protein expressions in femoral tissue. **Results** Compared with model group, combination of Liuwei Dihuang Decoction and Sansheng Powder with zoledronic acid significantly decreased the activities of ALP, AST, ALT and levels of CRE, BUN, calcium and phosphorus in serum of mice ($P < 0.05$). Expression of p63 in femoral tissue was up-regulated ($P < 0.05$), and expressions of CXCR4 and MMP9 in femoral tissue were significantly down-regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder and zoledronic acid can delay the process of bone metastasis of prostate cancer by up-regulating the expression of p63 and inhibiting the expressions of CXCR4 and MMP9.

Key words: Liuwei Dihuang Decoction; Sansheng Powder; zoledronic acid; prostate cancer; bone metastasis

在全球男性常见的恶性肿瘤中,前列腺癌发病率仅次于肺癌,占恶性肿瘤总数的 14.1%,死亡率达到 6.8%,位列男性癌症死亡率第 5 位^[1]。根据 2019 年中国新发癌症数据显示,我国前列腺癌发病率位居男性发病第 6 位,死亡率位居男性发病第 9 位,且发病率呈上升趋势^[2]。预计到 2030 年,前列腺癌将超越胃癌成为男性第 3 大常见癌症^[3]。由于前列腺癌早期症状不明显以及前列腺癌的筛查和早期诊断在我国尚未全面普及,部分患者确诊时已处于晚期,大约 50% 的患者确诊即伴有骨转移,基本丧失手术根治的机会^[4-5]。前列腺癌骨转移患者一线治疗以内分泌治疗、近距离放疗等方法为主^[6]。目前,前列腺骨转移临床大多采用唑来膦酸治疗,效果较为明显^[7]。虽然近年来通过改进治疗技术、优化治疗方案,前列腺癌骨转移患者的中位生存期有所提高^[8],但前列腺癌伴骨转移患者在治疗过程中同样面临治疗所带来的严重不良反应,其中最为明显的是脊髓压迫、病理性骨折等骨骼并发症,如果患者不经及时治疗,最终可能出现全身器官功能衰竭而导致死亡^[9-11]。骨相关不良事件的发生提示应该尽快明确前列腺癌产生骨转移的生物学机制,寻求防治前列腺癌骨转移的新靶点,这对于前列腺癌伴骨转移患者生活质量乃至疾病预后都具有积极意义。

中医理论从整体观和辨证论治的角度出发,可以提升正气、稳固癌灶,防止复发转移,进而提高生活质量,延长生存期。六味地黄汤源于宋代《小儿药证直诀》,由熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、茯苓、丹皮组成,素有“补其不足、泻其有余”之称,与肿瘤的防治原则“扶正祛邪”相一致^[12]。现代药理学研究发现,六味地黄汤的抗肿瘤作用主要体现在调节机体免疫功能、抑制肿瘤细胞的增殖、抑制肿瘤血管生成、增殖及转移及抑制原癌基因表达等方面^[13-14]。余绍龙等^[15]发现六味地黄汤联合内分泌治疗晚期前列腺癌能有效降低患者治疗期间的不良反应。陈高峰等^[16]发现六味地黄汤联合西医规范治疗方案能够降低前列腺癌患者肿瘤标志物水平,缩

小瘤体,改善患者的生活质量。三圣散源于宋代《太平惠民和剂局方》,由胡黄连、银柴胡、生鳖甲组成,主治“骨蒸劳气烦热、四肢无力、夜卧虚汗、唇口干焦、面无血色、日渐羸瘦”,与前列腺癌骨转移患者临床症状类似。天津中医药大学第一附属医院贾英杰教授在辨治癌性发热中也提倡使用胡黄连、银柴胡、生鳖甲等咸寒药物,大补真阴,直走入肾,扶正祛邪^[17]。中医辨证发现前列腺癌骨转移患者临床症状及体征多与六味地黄汤及三圣散相似,并且六味地黄汤在前列腺癌治疗中发挥着积极的作用,能够有效改善患者预后及生存质量。因此,本研究考察六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠的影响,为研究前列腺癌骨转移的中西医结合治疗提供新的思路。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只,体质量 18~20 g,6~7 周龄,购自北京维通利华有限公司,动物合格证号 SYXK(京)2017-0021。动物饲养于 SPF 级动物房,温度 20~22 ℃,相对湿度 45%~55%,保证空气流动正常,自由进食饮水,适应性饲养 6 d 后开始实验。动物实验遵循天津中医药大学第一附属医院有关实验动物管理和使用的规定,符合 3R 原则^[18-19]。

1.2 细胞

小鼠前列腺癌 RM-1 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.3 药材

六味地黄汤组方药材熟地黄(批号 202003772)、酒茱萸肉(批号 20207781)、山药(批号 20209809)、牡丹皮(批号 20200311)、泽泻(批号 20200667)、茯苓(批号 20206711),三圣散组方胡黄连(批号 20207191)、银柴胡(批号 202007619)、醋鳖甲(批号 202001677)均购自天津中医药大学附属第一医院精品药房,经天津中医药大学第一附属医院药学部王津燕副主任药师鉴定为正品,符合

《中国药典》2020 年版规定。

1.4 药品与试剂

注射用唑来膦酸 (4 mg/支, 批号 H20041953) 购自江苏恒瑞医药股份有限公司; p63 抗体 (批号 ab124762)、C-X-C 基序趋化因子受体 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4) 抗体 (批号 ab181020)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 抗体 (批号 ab76003)、羊抗兔 IgG 荧光二抗 (批号 ab150157)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) ELISA 试剂盒 (批号 ab252640) 均购自英国 Abcam 公司; 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 检测试剂盒 (批号 2400617)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 检测试剂盒 (批号 FS-E9670)、尿肌酐 (urine creatinine, CRE) 检测试剂盒 (批号 2400450)、尿素氮 (urine urea nitrogen, BUN) 检测试剂盒 (批号 BJ-S963436)、血钙检测试剂盒 (批号 QYS-239714)、血磷检测试剂盒 (批号 QYS-235060) 均购自 Advansta 公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 FT-LG1234)、 β -actin 抗体 (批号 WL01980) 购自北京索莱宝科技有限公司; 超特敏 ECL 化学发光试剂 (批号 HZ0018AS) 购自武汉博士德生物公司。

1.5 仪器

ZF-288 型全自动凝胶成像分析系统 (上海嘉鹏科技有限公司); 小型垂直电泳槽、小型转印槽转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司); 全自动生化仪 (美国 MD 公司); qRT-PCR 仪 (德国 SensoQuest 公司); 离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司)。

2 方法

2.1 六味地黄汤合三圣散的制备

熟地黄 24 g、酒茱萸肉 12 g、山药 12 g、牡丹皮 9 g、泽泻 9 g、茯苓 9 g (后下), 胡黄连、银柴胡、醋鳖甲 (先煎) 各 9 g, 上述药材按先煎后下之顺序, 煎煮 3 次, 将 3 次水煎液混合, 并加热浓缩至 10.608 g/mL 的混悬液, 于 4 °C 保存备用。

2.2 前列腺癌骨转移小鼠模型的建立

60 只雄性 C57BL/6J 小鼠 ip 0.2 mL 5% 水合氯醛麻醉, 备皮, 碘伏消毒 3 次右下膝关节周围, 用微量注射器从右下肢胫骨近端胫骨头凹点进针, 旋转穿刺 2~3 mm, 缓慢注射 10 μ L RM-1 细胞悬液 (5×10^7 个/mL), 拔出注射器, 碘伏消毒, 待小鼠苏醒后放回笼中。

2.3 分组及给药

前列腺癌骨转移小鼠模型制备成功后, 随机分为模型组、六味地黄汤合三圣散 (68 g/kg) 组、唑来膦酸 (0.35 mg/kg) 组和联合给药组, 每组 15 只。六味地黄汤合三圣散组 ig 六味地黄汤合三圣散混悬液 (68 g/kg), 2 次/d, 连续 2 周; 唑来膦酸组尾 iv 唑来膦酸 (0.35 mg/kg), 1 次/d, 连续 2 周; 联合给药组尾 iv 唑来膦酸 (0.35 mg/kg), 1 次/d, 并 ig 六味地黄汤合三圣散 (68 g/kg), 2 次/d, 连续 2 周; 模型组 ig 生理盐水, 2 次/d, 连续 2 周。

2.4 各组小鼠血清中 ALP 活性的测定

末次给药后, 摘眼球取血, 室温静置 1 h, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清, 按 ELISA 试剂盒说明书测定血清中 ALP 活性。

2.5 各组小鼠血清肝肾功能指标的测定

采用全自动生化仪测定血清中 ALT、AST 活性及 CRE、BUN、血钙、血磷水平。

2.6 Western blotting 检测股骨组织 p63、CXCR4 和 MMP9 蛋白表达

取各组小鼠股骨组织, 研磨后, 加入裂解液裂解, 提取蛋白, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于封闭液中室温封闭 2 h, 加入 p63、CXCR4、MMP9 和 β -actin 抗体, 4 °C 孵育过夜; TBST 洗涤 3 次, 加入二抗, 37 °C 摇床孵育 2 h; TBST 洗涤后, 加入 ECL 化学发光试剂显影, 采用 LabWorksTM 凝胶成像系统对条带进行分析。

2.7 统计分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布采用 t 检验, 不符合正态分布则用秩和检验。

3 结果

3.1 X 射线鉴定前列腺癌骨转移小鼠模型

如图 1 所示, 肿瘤细胞在小鼠骨组织内生长,

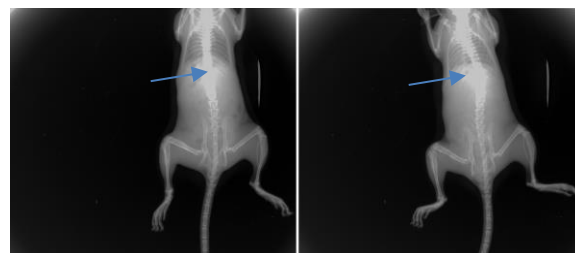


图 1 X 射线鉴定前列腺癌骨转移小鼠模型

Fig. 1 X-ray identification of a mouse model of prostate cancer bone metastases

并对骨质造成明显破坏,成功模拟了前列腺癌细胞在骨组织中的生长过程以及在此过程中对骨组织所造成的侵蚀和破坏,成功建立了成骨性骨转移模型。

3.2 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠血清中 ALP 水平的影响

如表 1 所示,与模型组比较,唑来膦酸组和联合给药组小鼠血清中 ALP 活性显著降低($P<0.05$);与唑来膦酸组比较,联合给药组血清中 ALP 活性显

表 1 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠血清中 ALP 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 1 Effect of Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder and zoledronic acid on ALP activity in serum of mice with prostate cancer bone metastasis ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)
模型	—	180.3 ± 15.9
六味地黄汤合三圣散	6.8 × 10 ⁴	150.4 ± 14.7
唑来膦酸	0.35	90.5 ± 8.4*
联合给药	6.8 × 10 ⁴ + 0.35	80.7 ± 10.7*#

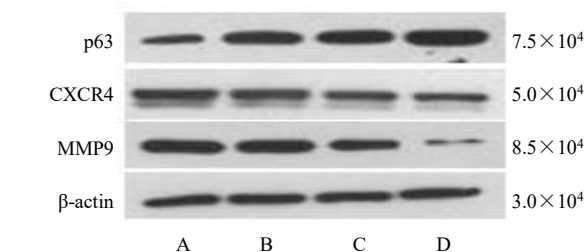
与模型组比较: * $P<0.05$; 与唑来膦酸组比较: # $P<0.05$, 下表同

* $P < 0.05$ vs model group; # $P < 0.05$ vs zoledronic acid group, same as below tables

表 2 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠血清中血钙、血磷、CRE、BUN 水平和 ALT、AST 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 2 Effect of Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder and zoledronic acid on levels of serum calcium, serum phosphorus, CRE, BUN levels and ALT, AST activities in serum of mice with prostate cancer bone metastasis ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血钙/(mmol·L ⁻¹)	血磷/(mmol·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	CRE/(mmol·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)
模型	—	3.01 ± 0.21	1.59 ± 0.34	70.0 ± 14.3	255.1 ± 81.4	62.5 ± 13.9	22.1 ± 2.5
六味地黄汤合三圣散	6.8 × 10 ⁴	2.69 ± 0.12	1.56 ± 0.26	65.1 ± 7.8	210.5 ± 17.9*	31.5 ± 1.8*	17.3 ± 2.1*
唑来膦酸	0.35	2.58 ± 0.15	1.46 ± 0.19	60.9 ± 4.7	193.6 ± 14.7*	34.1 ± 4.7*	14.8 ± 0.6*
联合给药	6.8 × 10 ⁴ + 0.35	2.41 ± 0.16*	1.44 ± 0.41*	43.2 ± 9.7*#	175.4 ± 13.5*#	29.0 ± 3.4*#	11.4 ± 1.5*#



A-模型组 B-六味地黄汤合三圣散组 C-唑来膦酸组 D-联合给药组 与模型组比较: * $P<0.05$; 与唑来膦酸组比较: # $P<0.05$

A-model group B-Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder group C-zoledronic acid group D-combined administration group

* $P < 0.05$ vs model group; # $P < 0.05$ vs zoledronic acid group

著降低 ($P<0.05$)。

3.3 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠血清中血钙、血磷、CRE、BUN 水平和 ALT、AST 活性的影响

如表 2 所示,与模型组比较,六味地黄汤合三圣散组、唑来膦酸组和联合给药组小鼠血清中 AST 活性及 CRE、BUN 水平均显著降低 ($P<0.05$),联合给药组小鼠血清中血钙、血磷水平及 ALT 活性均显著降低 ($P<0.05$);与唑来膦酸组比较,联合给药组血清中 ALT、AST 活性及 CRE、BUN 水平均显著降低 ($P<0.05$)。

3.4 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠股骨组织中 p63、CXCR4 和 MMP9 蛋白表达的影响

如图 2 所示,与模型组比较,各给药组小鼠股骨组织中 p63 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),唑来膦酸组和联合给药组小鼠股骨组织中 CXCR4 和 MMP9 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$);与唑来膦酸组比较,联合给药组股骨组织中 p63 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),CXCR4 和 MMP9 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$)。

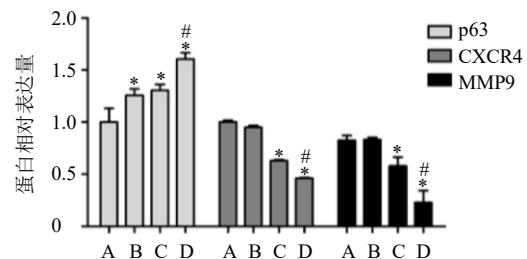


图 2 六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸对前列腺癌骨转移小鼠股骨组织中 p63、CXCR4 和 MMP9 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Fig. 2 Effect of Liuwei Dihuang Decoction combined with Sansheng Powder and zoledronic acid on p63, CXCR4 and MMP9 protein expressions in femoral tissues of mice with prostate cancer bone metastasis ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

4 讨论

前列腺癌骨转移属于中医“骨痹”“骨瘤”“骨疽”的范畴,《素问·阴阳应象大论》中曰:“肾生骨髓”,《外科枢要·论瘤赘》云:“若劳伤肾水,不能荣骨而为肿瘤……夫瘤者,留也。随气凝滞,皆因脏腑受伤,气血乖违。”由此可见,肿瘤疾病中出现骨转移与肾关系密切。六味地黄汤是中医“滋补肾阴”的基础方剂,常被用于糖尿病及肾脏相关疾病的治疗^[20-21]。现代药理学研究发现,六味地黄汤具有多途径的抗肿瘤作用。在调节机体免疫功能方面,邹超^[22]发现六味地黄汤可提高荷瘤小鼠血清中白细胞介素-2、 γ 干扰素水平及 CD4⁺/CD8⁺ 比例,从而改善机体免疫功能;在抑制肿瘤血管生成方面,周牡娜等^[23]发现六味地黄汤通过降低血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素-2(angiotensin-2, Ang-2)蛋白表达,上调凝血酶敏感蛋白(thrombospondin, TSP)、组织金属蛋白酶抑制剂-2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)蛋白表达,从而抑制人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡及肿瘤血管生成。但目前关于六味地黄汤在前列腺癌骨转移方面的实验研究甚少,其具体作用及机制尚不明确。

p63 作为新发现的肿瘤抑制基因,其结构和功能与 p53 具有同源性,被认为是 p53 基因家族的成员。p63 选择性表达于具有增殖功能的基底细胞层,在维持基质细胞增殖分化和触发胚胎上皮组织层化方面发挥重要作用^[24]。因此, p63 通常在前列腺癌组织中低表达或不表达,而在正常前列腺组织中选择性表达。在前列腺癌疾病进程中, CXCR4 表达持续增加,其转录调控水平是 CXCR4 在癌细胞中发挥功能的关键决定因素,往往与肿瘤的侵袭性表型密切相关^[25]。相关研究表明, CXCL12/CXCR4 轴参与了前列腺癌癌细胞转移到骨骼的过程,在骨骼中,癌细胞会异常表达 CXCR4 趋化因子的受体^[26]。MMP9 参与了肿瘤细胞在基底膜和间质细胞外基质(stromal extracellular matrix, ECM)的渗透过程,从而诱导肿瘤的侵袭转移表型的产生。此外,靶向 MMP9 治疗的抑制剂已经在治疗转移性前列腺癌的临床试验中进行了测试,但未能增加患者的存活率,可能是由于这些抑制剂缺乏特异性和选择性^[27]。因此,本研究检测了 p63、CXCR4、MMP9 蛋白表达,以期明确六味地黄汤合三圣散对前列腺癌增殖和骨转移的影响。

本研究结果显示,六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸能够显著降低前列腺癌骨转移小鼠血清中 ALP 活性及血钙、血磷等水平。ALP 作为前列腺癌监测的骨标志物之一,与骨的代谢密切相关,反映成骨活性,在判断骨肿瘤的良恶性及前列腺癌骨转移中具有十分重要的临床意义。另有一项研究证实了 ALP 是前列腺癌骨转移的独立相关因素,能有效预测骨转移的发生^[28],提示 ALP 与前列腺骨转移的关系密切。六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸能够显著上调股骨组织中 p63 表达,抑制 CXCR4 和 MMP9 的表达,表明六味地黄汤合三圣散可能通过调控 p63、CXCR4 和 MMP9 的表达,从而延缓前列腺癌骨转移。各实验组中,以六味地黄汤合三圣散联合唑来膦酸作用最为显著,提示六味地黄汤三圣散联合唑来膦酸延缓前列腺癌骨转移效果最佳。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王悠清. 2020 年全球癌症统计报告 [J]. 中华预防医学杂志, 2021, 55(3): 398.
- [2] Qiu H B, Cao S M, Xu R H. Cancer incidence, mortality, and burden in China: A time-trend analysis and comparison with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020 [J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(10): 1037-1048.
- [3] Shi Z X, Lin J L, Wu Y F, et al. Burden of cancer and changing cancer spectrum among older adults in China: Trends and projections to 2030 [J]. *Cancer Epidemiol*, 2022, 76: 102068.
- [4] Chen W Q. Cancer statistics: Updated cancer burden in China [J]. *Chin J Cancer Res*, 2015, 27(1): 1.
- [5] 李宁. 前列腺癌骨转移治疗的研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(8): 641-646.
- [6] Fizazi K, Tran N, Fein L, et al. Abiraterone acetate plus prednisone in patients with newly diagnosed high-risk metastatic castration-sensitive prostate cancer (LATITUDE): Final overall survival analysis of a randomised, double-blind, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(5): 686-700.
- [7] 周燕峰, 吴登龙, 刘定益, 等. 华蟾素胶囊联合唑来膦酸缓解前列腺癌骨转移疼痛的研究 [J]. 世界临床药物, 2017, 38(11): 781-784.
- [8] 林军明, 刘家明, 周扬, 等. 前列腺癌骨转移的特点及其相关危险因素分析 [J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(8): 707-711.
- [9] Hijab A, Curcean S, Tunariu N, et al. Fracture risk in men with metastatic prostate cancer treated with Radium-223

- [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2021, 19(5): e299-e305.
- [10] Armstrong A J, Shore N D, Szmulewitz R Z, *et al.* Efficacy of enzalutamide plus androgen deprivation therapy in metastatic hormone-sensitive prostate cancer by pattern of metastatic spread: ARCHES post hoc analyses [J]. *J Urol*, 2021, 205(5): 1361-1371.
- [11] 王晓群, 肖贤, 赵林林, 等. 贾英杰教授治疗恶性肿瘤学术思想概述 [J]. 天津中医药, 2021, 38(10): 1255-1258.
- [12] 杨义明, 杜钢军, 林海红, 等. 六味地黄汤及其拆方对阿霉素治疗小鼠试验性肝癌的影响 [J]. 河南大学学报: 医学版, 2009, 28(2): 129-132.
- [13] 王玲. 六味地黄加减方联合多西他赛与卡培他滨及曲妥珠单抗治疗晚期乳腺癌患者的效果 [J]. 饮食保健, 2019, 6(38): 62-63.
- [14] 龚雪, 牟方政, 郑邦本. 中医药治疗肿瘤放化疗后骨髓抑制研究进展 [J]. 河南中医, 2020, 40(7): 1126-1129.
- [15] 余绍龙, 陈智锋, 林峰, 等. 六味地黄汤联合内分泌治疗晚期前列腺癌的临床观察 [J]. 中国当代医药, 2010, 17(24): 93.
- [16] 陈高峰, 吴建奇, 付啸峰, 等. 六味地黄丸加味联合乌苯美司治疗晚期前列腺癌临床观察 [J]. 新中医, 2013, 45(7): 113-114.
- [17] 李昀黛, 王潇, 孙彬栩, 等. 刍议贾英杰教授辨治癌性发热 [J]. 天津中医药, 2018, 35(9): 647-648.
- [18] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 229-237.
- [19] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1566-1623.
- [20] 张佳佳. 生脉散合六味地黄汤治疗糖尿病的临床效果 [J]. 实用中西医结合临床, 2021, 21(7): 15-16.
- [21] 何泽云, 徐元美. 六味地黄汤治疗肾阴虚型慢性肾小球肾炎的临床研究 [J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(1): 35-37.
- [22] 邹超. 健脾补肾法降低 II、III 期结直肠癌术后复发转移的机理研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2016.
- [23] 周牡娜, 刘检, 石雕, 等. 六味地黄提取物及其联合顺铂对人肝癌 BEL-7402 细胞迁移和血管新生因子基因表达的影响 [J]. 中南药学, 2021, 19(8): 1595-1599.
- [24] Lee D K, Liu Y H, Liao L, *et al.* Neuroendocrine prostate carcinoma cells originate from the p63-expressing basal cells but not the pre-existing adenocarcinoma cells in mice [J]. *Cell Res*, 2019, 29(5): 420-422.
- [25] Zhao H L, Guo L Y, Zhao H, *et al.* CXCR4 over-expression and survival in cancer: A system review and meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 5022-5040.
- [26] Singareddy R, Semaan L, Conley-Lacomb M K, *et al.* Transcriptional regulation of CXCR4 in prostate cancer: Significance of TMPRSS2-ERG fusions [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(11): 1349-1361.
- [27] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment [J]. *Cell*, 2010, 141(1): 52-67.
- [28] 汪鑫, 蔡凯, 王梁, 等. 前列腺癌骨转移的预测因素分析 [J]. 中国医科大学学报, 2018, 47(11): 1025-1028.

[责任编辑 李亚楠]