

三棱、莪术提取物联合热疗对结肠癌 SW620 细胞凋亡及迁移、侵袭能力的影响^Δ

王振兴^{1*}, 李水芹^{2#}, 赵梓亦², 王飞¹(1. 成都中医药大学临床医学院, 成都 610075; 2. 成都中医药大学附属医院脾胃病科, 成都 610073)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)24-3386-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.24.17

摘要 目的: 研究三棱、莪术提取物联合热疗对结肠癌 SW620 细胞凋亡及迁移、侵袭能力的影响。方法: 采用 MTT 法检测不同质量浓度的三棱提取物(1.25、2.5、5、7.5、10 μg/mL)、莪术提取物(5、10、15、20、25 μg/mL)对 SW620 细胞的毒性, 计算其 30% 细胞生长抑制浓度(IC₃₀)和 50% 细胞生长抑制浓度(IC₅₀)。采用 CFSE/PI 双荧光染色法、Annexin V/PI 双染色法+流式细胞术考察 IC₅₀ 三棱提取物、IC₅₀ 莪术提取物分别单用或联合热疗(42 °C 条件下处理 90 min)对 SW620 细胞死亡情况和凋亡率的影响; 采用划痕实验和 Transwell 侵袭实验考察 IC₃₀ 三棱提取物、IC₃₀ 莪术提取物分别单用或联合热疗对 SW620 细胞迁移和侵袭能力的影响。结果: 三棱提取物 IC₃₀ 为 3.24 μg/mL, IC₅₀ 为 4.69 μg/mL; 莪术提取物 IC₃₀ 为 11.27 μg/mL, IC₅₀ 为 16.81 μg/mL。与 IC₅₀ 三棱提取物组或 IC₅₀ 莪术提取物组比较, IC₅₀ 三棱提取物+热疗组或 IC₅₀ 莪术提取物+热疗组的死亡细胞显著增多, 细胞凋亡率显著升高(P<0.05)。与 0 h 时比较, IC₃₀ 三棱提取物组、IC₃₀ 莪术提取物组、IC₃₀ 三棱提取物+热疗组、IC₃₀ 莪术提取物+热疗组细胞划痕实验的愈合间距均未见明显变窄。与 IC₃₀ 三棱提取物组或 IC₃₀ 莪术提取物组比较, IC₃₀ 三棱提取物+热疗组或 IC₃₀ 莪术提取物+热疗组侵袭实验的跨膜细胞数均显著减少(P<0.05)。结论: 联用热疗能显著增强三棱或莪术提取物对 SW620 细胞的杀伤作用, 并能显著提高两种提取物对 SW620 细胞迁移和侵袭能力的抑制作用。

关键词 三棱; 莪术; 热疗; 结肠癌; SW620 细胞; 凋亡; 迁移; 侵袭

Effects of *Sparganium stolon* Extract or *Curcuma zedoaria* Extract Combined with Hyperthermia Treatment on Apoptosis, Migration and Invasion Ability of Colon Cancer SW620 Cell

WANG Zhenxing¹, LI Shuiqin², ZHAO Ziyi², WANG Fei¹(1. School of Clinical Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 2. Dept. of Spleen and Stomach Disease, the Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610073, China)

- 2007, 4(4): 253-259.
- [8] IWATA Y, WADA T, FURUICHI K, et al. p38 Mitogen-activated protein kinase contributes to autoimmune renal injury in MRL-Fas lpr mice[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(1): 57-67.
- [9] OHASHI R, NAKAGAWA T, WATANABE S, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase augments progression of remnant kidney model by activating the ERK pathway[J]. *Am J Pathol*, 2004, 164(2): 477-485.
- [10] QUARTUCCIO L, SACCO S, FRANZOLINI N, et al. Efficacy of cyclosporin-A in the long-term management of thrombocytopenia associated with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2006, 15(2): 76-79.
- [11] 陶云霞, 蔡磊, 沈辉, 等. 降植烷诱导小鼠类风湿关节炎的模型[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(11): 1498-1500.
- [12] REEVES WH, LEE PY, WEINSTEIN JS, et al. Induction of autoimmunity by pristane and other naturally occurring hydrocarbons[J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(9): 455-464.
- [13] 李金枝, 丁隽, MERIM BOUKHEROUBA, 等. Pristane 诱导小鼠系统性红斑狼疮动物模型的研究[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(2): 119-122.
- [14] NAKAYAMA M, ISHIDOH K, KAYAGAKI N, et al. Multiple pathways of TWEAK-induced cell death[J]. *J Immunol*, 2002, 168(2): 734-743.
- [15] CHICHEPORTICHE Y, BOURDON PR, XU H, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(51): 32401-32410.
- [16] ZHAO Z, BURKLY LC, CAMPBELL S, et al. TWEAK/Fn14 interactions are instrumental in the pathogenesis of nephritis in the chronic graft-versus-host model of systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2007, 179(11): 7949-7958.

Δ 基金项目: 四川省教育厅自然科学基金项目(No.16ZA0115); 成都中医药大学科技发展基金项目(No.ZRQN1524)

* 医师, 博士研究生。研究方向: 中医药防治呼吸系统疾病和老年疾病。电话: 028-61800220。E-mail: vinpoet@163.com

通信作者: 副主任医师, 博士。研究方向: 围手术期的中医特色治疗、中医药防治呼吸系统疾病和老年疾病。电话: 028-87765294。E-mail: smallwater1985@126.com

(收稿日期: 2018-04-24 修回日期: 2018-10-19)

(编辑: 段思怡)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of *Sparganium stolon* extract or *Curcuma zedoaria* extract combined with hyperthermia treatment on apoptosis, migration and invasion ability of colon cancer SW620 cells. METHODS: MTT assay was performed to detect the toxicity of *S. stolon* extract (1.25, 2.5, 5, 7.5, 10 $\mu\text{g/mL}$) and *C. zedoaria* extract (5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{g/mL}$) to SW620 cells. The corresponding IC_{30} and IC_{50} were calculated. CFSE/PI double-staining method and Annexin V/PI double-staining+flow cytometry were used to investigate the effects of IC_{50} *S. stolon* extract or IC_{50} *C. zedoaria* extract combined with hyperthermia treatment on the death and apoptotic rate of SW620 cells. Scratch test and Transwell invasion test were used to investigate the effects of IC_{30} *S. stolon* extract or IC_{30} *C. zedoaria* extract combined with hyperthermia treatment on the migration and invasion ability of SW620 cells. RESULTS: IC_{30} and IC_{50} of *S. stolon* extract were 3.24 $\mu\text{g/mL}$ and 4.69 $\mu\text{g/mL}$; those of *C. zedoaria* extract were 11.27 $\mu\text{g/mL}$ and 16.81 $\mu\text{g/mL}$. Compared with IC_{50} *S. stolon* extract group or IC_{50} *C. zedoaria* extract group, death cells and apoptotic rate were increased significantly in IC_{50} *S. stolon* extract+hyperthermia treatment group or IC_{50} *C. zedoaria* extract+hyperthermia treatment group ($P<0.05$). Compared with 0 h, healing distance of scratch test was not significantly narrowed in IC_{30} *S. stolon* extract group, IC_{30} *C. zedoaria* extract group, IC_{30} *S. stolon* extract+hyperthermia treatment group or IC_{30} *C. zedoaria* extract+hyperthermia treatment group. Compared with IC_{30} *S. stolon* extract group or IC_{30} *C. zedoaria* extract group, the number of transmembrane cells decreased significantly in the invasive experiment in IC_{30} *S. stolon* extract+hyperthermia treatment group or IC_{30} *C. zedoaria* extract+hyperthermia treatment group ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Hyperthermia combination can significantly enhance the killing effect of *S. stolon* extract or *C. zedoaria* extract on SW620 cells, and significantly improve their inhibitory effects on SW620 cell migration and invasion.

KEYWORDS *Sparganium stolon*; *Curcuma zedoaria*; Hyperthermia treatment; Colon cancer; SW620 cells; Apoptosis; Migration; Invasion

腹膜转移癌(Peritoneal carcinomatosis, PC)是恶性肿瘤细胞经血管、淋巴管转移至腹腔后最常见的继发性腹膜肿瘤,也是恶性肿瘤晚期最常见的并发症^[1]。其临床治疗难度大,患者中位生存期短、预后差^[2-3]。目前临床上采用全身化疗、腹腔化疗和姑息性手术治疗PC的疗效不佳,而细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗(IHPC)是提高PC治疗效果的主要措施^[4]。IHPC是一种通过将恒温(42~45 $^{\circ}\text{C}$)的化疗药液灌注入腹腔的治疗方式,其在预防和治疗腹膜种植转移癌方面的作用已得到了国内外学者的广泛重视^[5]。但是由于化疗药物价格昂贵且存在骨髓抑制等毒副作用,使其与IHPC的联合应用受到了很大限制^[6]。

三棱、莪术是中药配伍中常用的破血化瘀药对^[7],《医学衷中参西录》载:“三棱气味俱淡,微有辛意;莪术味微苦,气微香,亦微有辛意;性皆微温,为化瘀血之要药。”本课题组在前期理论构建中将PC纳入中医学“癌毒”的范畴,并指出癌毒阻络、气滞血瘀是其主要病机^[8-9];在前期的临床观察中发现三棱、莪术组分配伍联合IHPC治疗恶性肿瘤晚期癌性腹水具有显著的疗效,且比单纯化疗药物治疗对患者的毒副作用更小。据此,本课题组认为将三棱、莪术组分配伍联合IHPC用于PC可能具有较好的临床效果和较小的副作用。本课题组通过预实验考察了三棱、莪术提取物联合热疗对结肠癌细胞作用不同时间(0、6、12、24、48 h)的效果,发现其对肿瘤细胞的杀伤作用以作用24 h时为最强。因此,本研究选择易发生腹膜转移的结肠癌SW620细胞为对象,考察三棱、莪术提取物联合热疗作用24 h时对肿瘤细胞凋亡及迁移、侵袭能力的影响,为该疗法临床用于治疗PC提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

3100型 CO_2 培养箱(美国Fisher Scientific公司);3-18K型冷冻离心机(美国Sigma公司);X71型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);II型多功能酶联免疫检测仪(美国BioTek公司);Navios流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司);2C型精密电子天平(常州市幸运电子设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

三棱免煎颗粒、莪术免煎颗粒[四川新绿色药业科技发展股份有限公司;两种免煎颗粒分别为采用三棱(批号:4301730)、莪术(批号:1362172)药材提取物制备所得的同批次制剂];Matrigel基质胶、Annexin V-FITC/PI试剂盒(美国BD公司);DMEM培养基、0.25%胰蛋白酶(美国Hyclone公司);羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺脂(CFSE)、碘化丙啶(PI)、MTT试剂、二甲基亚砜(DMSO)(美国Sigma公司);胎牛血清、pH 7.4磷酸盐缓冲液(PBS)(美国Gibco公司);其他试剂均为分析纯,水为去离子水。

1.3 细胞

结肠癌SW620细胞株购自American Type Culture Collection公司(编号:CLL-227),冻存于成都中医药大学附属医院中心实验室。细胞以37 $^{\circ}\text{C}$ 温水复苏后,用含有10%胎牛血清、1%青-链霉素的DMEM培养基在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中长期培养。

2 方法

2.1 三棱、莪术提取物的细胞毒性考察

采用MTT法测定药物的细胞毒性。取对数生长期的SW620细胞,用DMEM培养基(以下简称“培养基”)调整细胞浓度至 5×10^6 个/mL,以每孔100 μL 接种于96孔板,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养24 h。取三棱免煎颗粒,用PBS溶解制成相应质量浓度的药液,按1.25、2.5、

5、7.5、10 $\mu\text{g/mL}$ 加入各细胞孔;取莪术免煎颗粒,用PBS溶解制成相应质量浓度的药液,按5、10、15、20、25 $\mu\text{g/mL}$ 加入各细胞孔;同时设置未经过药物处理的空白组。各组细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养24 h后,于显微镜下观察细胞状态;弃去培养基,每孔加入PBS 100 μL 、5 mg/mL MTT溶液20 μL ,继续在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养4 h;弃去培养基,每孔加入DMSO 150 μL ,充分震荡至结晶物完全溶解。采用酶联免疫检测仪在570 nm波长处测定吸光度(A),计算药物对SW620细胞的抑制率[抑制率=(1- $A_{\text{加药组}}/A_{\text{空白组}}$) \times 100%];同时,绘制细胞增殖抑制曲线,求算30%细胞生长抑制浓度(IC_{30})、50%细胞生长抑制浓度(IC_{50})。

2.2 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞死亡情况的影响考察

采用CFSE/PI双荧光染色法考察细胞死亡情况。取对数生长期、融合度为50%~80%的SW620细胞,分为空白对照组(不作热疗处理,不加药)、 IC_{50} 三棱提取物组、 IC_{50} 三棱提取物+热疗组、 IC_{50} 莪术提取物组、 IC_{50} 莪术提取物+热疗组。其中 IC_{50} 三棱提取物+热疗组、 IC_{50} 莪术提取物+热疗组细胞先在42 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置90 min进行热疗处理。将经过热疗处理或未经热疗处理的各组细胞接种于12孔板(5×10^5 个/孔),在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养24 h使细胞贴壁。然后加入5 $\mu\text{mol/L}$ CFSE染色液,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养30 min;弃去培养基,按不同分组加入新鲜培养基或含有相应药物(三棱提取物为4.69 $\mu\text{g/mL}$,莪术提取物为16.81 $\mu\text{g/mL}$)的新鲜培养基,继续培养24~48 h;弃去培养基,加入10 $\mu\text{g/mL}$ PI-PBS染色液2 mL,于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养10 min;PBS冲洗细胞5 min \times 3次。每组设置3个复孔。采用荧光倒置显微镜观察细胞死亡情况(绿色荧光阳性/红色荧阴性者为活细胞,绿色荧光阳性/红色荧光阳性者为死细胞)。

2.3 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞凋亡率的影响考察

为进一步确认三棱、莪术提取物联合热疗对细胞凋亡的影响,采用FITC标记的Annexin V试剂和PI试剂对SW620细胞进行双染色,并通过流式细胞术分析细胞凋亡情况。按“2.2”项下方法分组并进行热疗处理和给药,每组设置3个复孔。然后用0.25%胰蛋白酶消化处理后的细胞,制备单细胞悬液,以PBS调整细胞终浓度至 1×10^6 个/mL。然后加入Annexin V-FITC试剂20 μL 和PI试剂5 μL 进行双染色,轻柔混匀,室温下避光反应15 min,再加入PBS 300 μL ,立即采用流式细胞仪进行检测。

2.4 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞迁移能力的影响考察

采用划痕实验考察细胞迁移能力。用记号笔在6孔板的背面均匀划横线,各3条。取对数生长期SW620细胞接种于孔内(1×10^6 个/孔),在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养过夜,至次日细胞铺满板底。将细胞分为空白对照组(不作热疗处理,不加药)、 IC_{30} 三棱提取物组、 IC_{30} 三棱提

取物+热疗组、 IC_{30} 莪术提取物组、 IC_{30} 莪术提取物+热疗组,按“2.2”项下方法进行热疗处理和给药(三棱提取物为3.24 $\mu\text{g/mL}$,莪术提取物为11.27 $\mu\text{g/mL}$),每组设置3个复孔。用微量移液枪头进行划痕,划痕尽量与记号笔横线垂直,不能倾斜;用PBS冲洗细胞3次,去除划痕后漂浮的细胞;然后在每孔中加入含1%胎牛血清的培养基2 mL,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养24 h。在倒置显微镜下随机选择5个独立视野观察划痕愈合情况。

2.5 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞侵袭能力的影响考察

采用Transwell侵袭实验考察细胞侵袭能力。取-80 $^{\circ}\text{C}$ 下保存的Matrigel基质胶于4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜解冻。取培养基与Matrigel基质胶按5:1体积比混匀后,分别取100 μL 加入各个Transwell小室,于37 $^{\circ}\text{C}$ 下放置至凝固。取对数生长期SW620细胞,用0.25%胰蛋白酶消化液悬浮,用PBS调整细胞浓度至 1×10^6 个/mL,然后取100 μL 轻柔加入Transwell小室上层;在下室中加入含10%胎牛血清的培养基500 μL 。按“2.4”项下方法分组并进行热疗处理和给药,每组设置3个复孔。各组细胞在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养24 h后,以PBS清洗Transwell小室3次,以5%戊二醛溶液固定,4 $^{\circ}\text{C}$ 下放置10 min。加入0.1%结晶紫溶液,室温下染色30 min,以PBS冲洗Transwell小室,并用棉球擦去表面细胞。在倒置显微镜下观察,并随机选择5个独立视野计算阳性染色细胞数。

2.6 统计学方法

数据采用SPSS 23.0统计软件进行处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用配对 t 检验;计数资料使用 χ^2 检验进行组间比较,用Fisher确切概率法进行双向检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 三棱、莪术提取物的细胞毒性

结果显示,随着三棱、莪术提取物质量浓度的增加,其对SW620细胞的抑制率也相应升高。不同质量浓度三棱、莪术提取物作用后的细胞增殖抑制曲线见图1。根据该曲线求算得三棱提取物 IC_{30} 为3.24 $\mu\text{g/mL}$, IC_{50} 为4.69 $\mu\text{g/mL}$;莪术提取物 IC_{30} 为11.27 $\mu\text{g/mL}$, IC_{50} 为16.81 $\mu\text{g/mL}$ 。

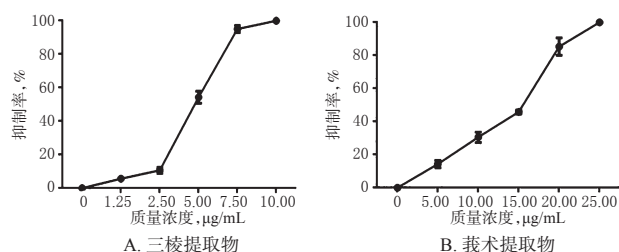


图1 不同质量浓度三棱、莪术提取物作用后的细胞增殖抑制曲线

Fig 1 Cell proliferation inhibition curve after treated with different concentrations of *S. stolonii* extract or *C. zedoaria* extract

3.2 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞死亡情况的影响

结果显示,与IC₅₀三棱提取物组或IC₅₀莪术提取物组比较,IC₅₀三棱提取物+热疗组或IC₅₀莪术提取物+热

疗组的死亡细胞显著增多,且在明场条件下可见其细胞皱缩更明显,表明细胞存活状态更差。各组细胞CFSE/PI双荧光染色显微图见图2。

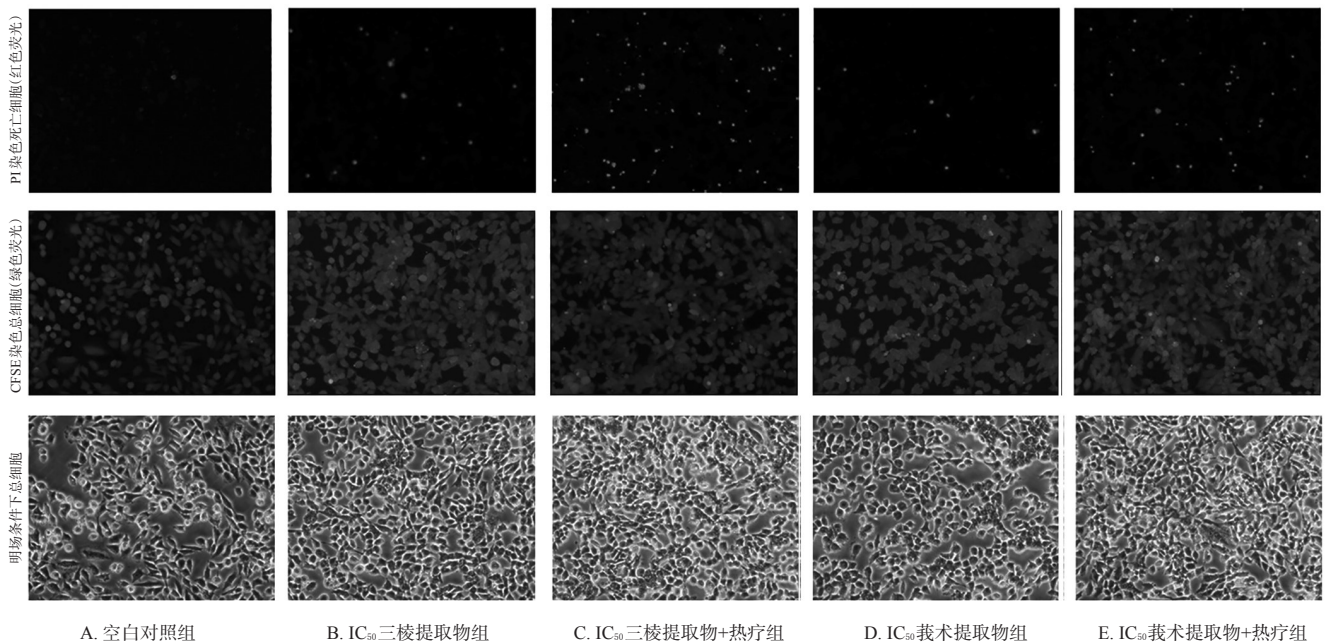


图2 各组细胞CFSE/PI双荧光染色显微图(×40)

Fig 2 CFSE/PI double fluorescent staining microgram of cells in each group (×40)

3.3 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞凋亡率的影响

结果显示,IC₅₀三棱提取物组细胞的凋亡早期率为0.3%、凋亡中晚期率为1.4%、坏死率为5.2%,IC₅₀三棱提取物+热疗组细胞的凋亡早期率为0.9%、凋亡中晚期率为3.8%、坏死率为12.6%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); IC₅₀莪术提取物组细胞的凋亡早期率为7.8%、凋亡中晚期率为4.4%、坏死率为2.0%, IC₅₀莪术提取物+热疗组细胞的凋亡早期率为1.3%、凋亡中晚期率为4.4%、坏死率为16.2%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。这表明三棱、莪术提取物联合热疗可明显提高SW620细胞的凋亡率。各组细胞Annexin V/PI双染色流式细胞图见图3。

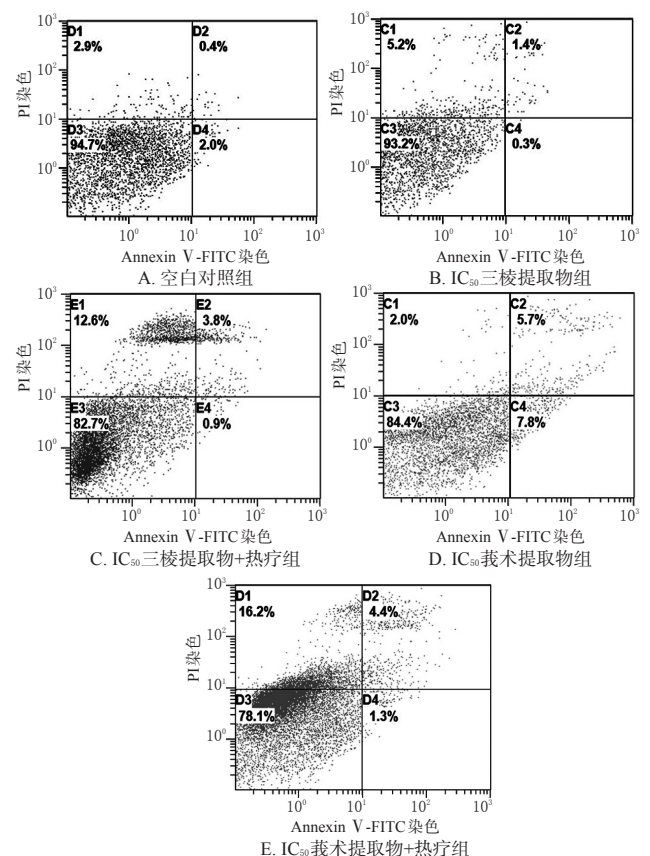


图3 各组细胞Annexin V/PI双染色流式细胞图

Fig 3 Annexin V/PI double staining flow cytometry of cells in each group

3.4 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞迁移能力的影响

结果显示,与0 h比较,空白对照组细胞在24 h时的划痕愈合间距明显变窄,而IC₃₀三棱提取物组、IC₃₀三棱提取物+热疗组、IC₃₀莪术提取物组、IC₃₀莪术提取物+热疗组细胞在24 h时的划痕愈合间距未见明显变窄。各组细胞划痕实验显微图见图4。

3.5 三棱、莪术提取物联合热疗对细胞侵袭能力的影响

结果显示,与空白对照组比较,IC₃₀三棱提取物组、IC₃₀三棱提取物+热疗组、IC₃₀莪术提取物组、IC₃₀莪术提取物+热疗组在24 h时跨膜细胞数均显著减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与IC₃₀三棱提取物组或IC₃₀莪术提取物组比较,IC₃₀三棱提取物+热疗组或IC₃₀莪术提取物+热疗组在24 h时跨膜细胞数均显著减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$),表明热疗加强了药

少,差异均有统计学意义($P < 0.05$),表明热疗加强了药

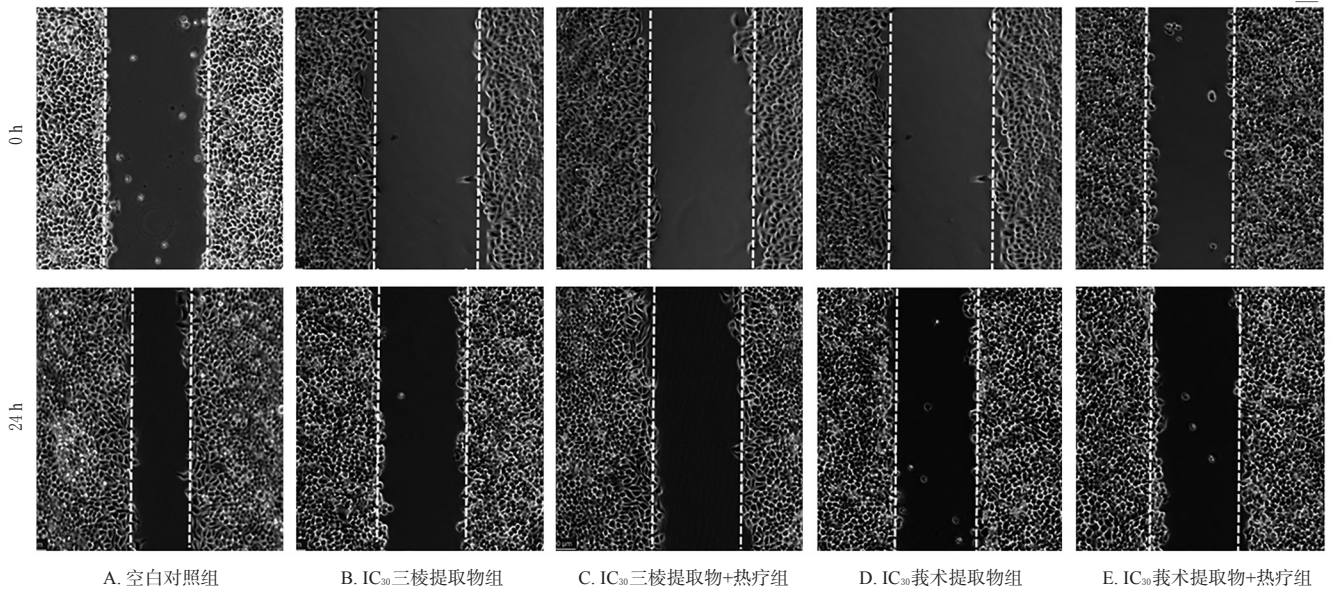


图4 各组细胞划痕实验显微图($\times 40$)

Fig 4 Microgram of cell scratch test in each group($\times 40$)

物对SW620细胞侵袭能力的抑制作用。其中,IC₃₀三棱提取物+热疗组跨膜细胞数从IC₃₀三棱提取物组的(152 \pm 23)个/视野减少至(31 \pm 6)个/视野,IC₃₀莪术提取物+热疗组跨膜细胞数从IC₃₀莪术提取物组的(189 \pm 41)个/视野减少至(67 \pm 15)个/视野。各组细胞Transwell侵袭实验显微图见图5,跨膜细胞数柱形图见图6。

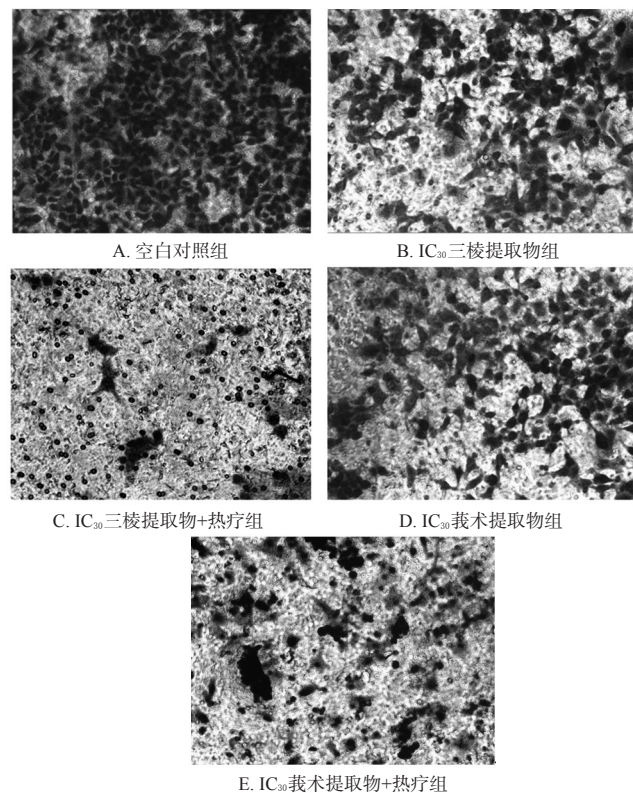
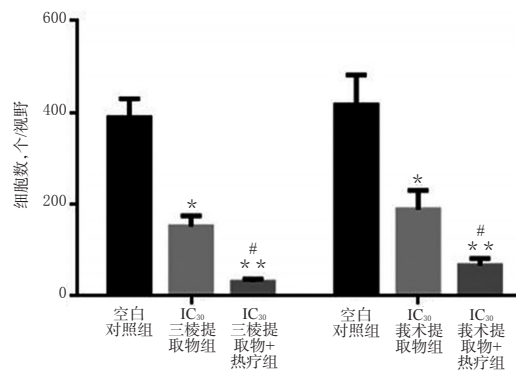


图5 各组细胞Transwell侵袭实验显微图(结晶紫染色, $\times 100$)

Fig 5 Microgram of Transwell invasion test in each group(crystal violet staining, $\times 100$)



注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与IC₃₀三棱提取物组或IC₃₀莪术提取物组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. IC₃₀ *S. stolonii* extract group or IC₃₀ *C. zedoaria* extract group, * $P < 0.05$

图6 各组跨膜细胞数柱形图

Fig 6 Columnar graph of the number of transmembrane cells in each group

4 讨论

IHPC是近年兴起的一种腹腔恶性肿瘤治疗手段,对各种腹腔恶性肿瘤的腹膜转移均具有可靠的临床疗效^[10]。IHPC通过持续高温作用(42~43 $^{\circ}\text{C}$ 条件下作用90 min),能在不影响正常组织的情况下诱导肿瘤细胞凋亡;同时高温(>41 $^{\circ}\text{C}$)可提高化疗药物进入肿瘤细胞的效率来达到更佳的肿瘤抑制效果^[11]。

三棱、莪术是具有破血祛瘀、行气止痛功效的常用药对^[7],具有悠久的中医临床应用历史,是历代医家治疗症瘕积聚的常用药物^[12]。著名医家王好古在《汤液本草》中曾言:“三棱,破血中之气,肝经血分药也。三棱、莪术治积块疮硬者,乃坚者削之也。”除了传统中医应用,三棱、莪术近年来在临床抗肿瘤治疗方面的应用也日趋广泛,包括用于宫颈癌^[13]、肺癌^[14]、胃癌^[15]、白血病^[16]

等的治疗。三棱、莪术配伍后具有抗血栓、改善血液流变学、抗肿瘤、抗纤维化、增强免疫力等药理作用^[17-20]。

本研究主要考察三棱、莪术提取物分别联合热疗对结肠癌SW620细胞凋亡及迁移、侵袭能力的影响,结果发现相对于三棱提取物组或莪术提取物组,三棱提取物+热疗组或莪术提取物+热疗组的细胞死亡数量增加、凋亡率显著升高,细胞的迁移和侵袭能力显著减弱。由此可见,联用热疗能够明显增强三棱或莪术提取物对SW620细胞的杀伤作用以及对其迁移和侵袭能力的抑制作用。本课题组下一步考虑将三棱、莪术的有效成分进行配伍并与热疗联用于SW620细胞,并选用更高热疗温度以增强对肿瘤细胞的杀伤作用,同时进一步探索该疗法联合中药用于治疗PC等肿瘤的分子生物学机制。

参考文献

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] DI GIORGIO A, NATICCHIONI E, BIACCHI D, et al. Cytoreductive surgery (peritonectomy procedures) combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in the treatment of diffuse peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer[J]. *Cancer*, 2008, 113: 315-325.
- [3] LOW RN, BARONE RM. Combined diffusion-weighted and gadolinium-enhanced MRI can accurately predict the peritoneal cancer index preoperatively in patients being considered for cytoreductive surgical procedures[J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19: 1394-1401.
- [4] SAKURAMOTO S, SASAKO M, YAMAGUCHI T, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(18): 1810-1820.
- [5] AMMOURI L, PROMMER EE. Palliative treatment of malignant ascites: profile of catumaxomab[J]. *Biologics*, 2010, 4: 103-110.
- [6] YANG XJ, LI Y, YONEMURA Y. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy to treat gastric cancer with ascites and/or peritoneal carcinomatosis: results from a Chinese center[J]. *J Surg Oncol*, 2010, 101(6): 457-464.
- [7] 刘家骅. 药对[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 117-119.
- [8] 王振兴. 中医学“毒”的理论诠释和益气解毒法治疗普通感冒(气虚邪犯证)的临床疗效观察及对细胞因子H β D-2的影响[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016: 85-90.
- [9] 王振兴, 王飞. 环境毒邪对肺系疾病的影响初探[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(2): 206-208.
- [10] YANG XJ, HUANG CQ, SUO T, et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival of patients with peritoneal carcinomatosis from gastric cancer: final results of a phase III randomized clinical trial[J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(6): 1575-1581.
- [11] TOKUMITSU Y, YOSHINO S, IIDA M, et al. Intraoperative dissemination during gastrectomy for gastric cancer associated with serosal invasion[J]. *Surg Today*, 2015, 45(6): 746-751.
- [12] 邓家刚, 韦松基. 广西道地药材[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 367-368.
- [13] 高艳娥, 郭金珠, 惠慧, 等. 莪术醇对人宫颈癌CASKI细胞增殖抑制及促凋亡作用的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2009, 17(10): 1836-1839.
- [14] 倪娅, 邱幸凡. 人参瓜蒌莪术汤对小鼠Lewis肺癌组织微血管密度的影响[J]. *中国实用医药*, 2009, 4(26): 42-43.
- [15] 徐立春, 边可君, 刘志敏, 等. 天然药物莪术醇抑制肿瘤细胞生长及RNA合成影响的初步研究[J]. *肿瘤*, 2005, 25(6): 570-572.
- [16] 林海, 李晓辉. 莪术醇诱导白血病L1210细胞凋亡作用研究[J]. *中国药房*, 2008, 19(30): 2328-2329.
- [17] 赵华, 汤为学. 莪术油对人子宫内膜癌细胞系RL-95-2抑制作用的体外研究[J]. *实用妇产科杂志*, 2006, 22(3): 158-160.
- [18] 石灵春, 汪波, 吴万垠, 等. 莪术油对小鼠肝癌细胞抑制作用的分子机制[J]. *中药药理与临床*, 2002, 18(1): 6-7.
- [19] 冯刚, 黄涛, 卢宏达, 等. 莪术油注射液对小鼠抑制性S180肉瘤血管形成的抑制作用[J]. *肿瘤研究与临床*, 2005, 17(4): 233-235.
- [20] 叶兰, 徐晓玉, 李荣亨, 等. 三棱、莪术含药血清对培养的人脐静脉血管内皮细胞生长和VEGF表达的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29(2): 121-124.

(收稿日期: 2018-06-13 修回日期: 2018-11-07)

(编辑: 段思怡)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅