

白芍总苷联合顺铂对胃癌模型大鼠的肿瘤抑制及肾损伤的改善作用^Δ

胡 波^{1*}, 徐 颖^{2#}, 朱琰琰³(1.河南省人民医院医务部, 郑州 450000; 2.中国人民解放军联勤保障部队第九八八医院药剂科, 郑州 450000; 3.河南省人民医院肿瘤内科, 郑州 450000)

中图分类号 R735.2;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)13-1595-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.13.10

摘 要 目的:研究白芍总苷联合顺铂对胃癌模型大鼠的肿瘤抑制及对顺铂致肾损伤的改善作用。方法:将75只大鼠分为对照组(生理盐水,灌胃)、模型组(生理盐水,灌胃)、顺铂组(25 mg/kg,腹腔注射)、白芍总苷组(200 mg/kg,灌胃)、白芍总苷+顺铂组(灌胃200 mg/kg白芍总苷+腹腔注射25 mg/kg顺铂),每组15只。除对照组外,其余各组大鼠皮下接种胃癌BGC823细胞悬液复制胃癌模型。造模完成后,大鼠腹腔注射/灌胃给予相应药物,连续给药28 d。测定大鼠瘤质量并计算肿瘤抑制率;采用流式细胞术检测大鼠肿瘤组织细胞凋亡率;采用Western blotting法检测大鼠肿瘤组织中B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关的X蛋白(Bax)水平;采用酶联免疫吸附法或生化分析仪测定大鼠尿液中白细胞介素18(IL-18)和肾损伤分子1(KIM-1)水平,血清中尿素氮(BUN)和血肌酐(Scr)水平,以及肾组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)水平;采用苏木精-伊红染色法检测大鼠肾组织的病理学变化。结果:与对照组比较,模型组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平以及肾组织中SOD、MDA、GSH水平差异均无统计学意义($P>0.05$);肾组织未见明显病理变化。与模型组比较,顺铂组大鼠瘤质量显著降低,细胞凋亡率显著升高,瘤组织中Bax蛋白表达水平显著升高、Bcl-2蛋白表达水平显著降低($P<0.05$);尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平以及肾组织中MDA水平均显著升高($P<0.05$);肾组织中SOD、GSH水平显著降低($P<0.05$);肾组织出现肾小管扩张,并形成基底层上皮细胞空泡及肾小管内铸。与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠瘤质量显著降低,细胞凋亡率显著升高,瘤组织中Bax水平显著升高、Bcl-2水平显著降低($P<0.05$);尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平以及肾组织中MDA水平均显著降低($P<0.05$);肾组织中SOD、GSH水平显著升高;肾组织无肾小管扩张,偶见基底层上皮细胞空泡形成,少见肾小管内铸形成。与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠瘤质量显著降低,肿瘤抑制率显著升高,细胞凋亡率显著升高,瘤组织中Bax水平显著升高、Bcl-2水平显著降低($P<0.05$);尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平以及肾组织中SOD、MDA、GSH水平差异均无统计学意义($P>0.05$);肾组织偶见少量炎症细胞浸润。结论:白芍总苷联合顺铂能抑制胃癌大鼠肿瘤增长,促进肿瘤细胞凋亡,并可改善顺铂引起的肾功能损伤。

关键词 白芍总苷;顺铂;胃癌;肿瘤抑制;肾损伤;大鼠

Effects of Total Glucosides of *Paeonia lactiflora* Combined with Cisplatin on Tumor Inhibition and Renal Injury Improvement in Model Rats with Gastric Cancer

HU Bo¹, XU Ying², ZHU Yanyan³(1. Medical Department, Henan People's Hospital, Zhengzhou 450000, China; 2. Dept. of Pharmacy, No. 988 Hospital of the Joint Service Support Force of the People's Liberation Army, Zhengzhou 450000, China; 3. Dept. of Oncology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effects of total glucosides of *Paeonia lactiflora* (TGPL) combined with cisplatin on tumor inhibition and renal injury in gastric cancer model rats. METHODS: Totally 75 rats were divided into control group (normal saline, i.g.), model group (normal saline, i.g.), cisplatin group (25 mg/kg, i.p.), TGPL group (200 mg/kg, i.g.), TGPL+cisplatin group (200 mg/kg TGPL, i.g.+25 mg/kg cisplatin, i.p.), with 15 rats in each group. Except for control group, gastric cancer rat models were established in other groups by subcutaneous inoculation of gastric cancer BGC823 cell suspension. After modeling, they were given relevant medicine intraperitoneally/intragastrically, for consecutive 28 d. The tumor weight and tumor inhibition rate were measured. The apoptosis rate in tumor tissue was detected by flow cytometry; Western blotting assay was used to detect the levels of Bcl-2 and Bax in tumor tissue; ELISA or biochemical analyzer were used to determine the levels of

Δ 基金项目:河南省科学技术厅重点项目(No.HNKXJS-2018-015);河南省医学科技攻关计划项目(No.201702161)

* 主治医师,硕士。研究方向:临床医疗、医务管理。电话:0371-65896961。E-mail:taolitianxia999@163.com

通信作者:主管药师。研究方向:临床药学。电话:0371-65896961。E-mail:172315852@qq.com

IL-18 and KIM-1 in urine, BUN and Scr in serum, as well as SOD, MDA and GSH in renal tissue; histopathological changes of renal tissue in rats were detected by HE staining. RESULTS: Compared with control group, there was no statistical significance in the levels of IL-18 and KIM-1 in urine, serum levels of BUN and Scr, the levels of SOD,

MDA and GSH in renal tissue of model group ($P>0.05$); no obvious histopathological change was found in renal tissue. Compared with model group, tumor weight in cisplatin group was decreased significantly, while cell apoptosis was increased significantly, while expression level of Bax in tumor tissue was increased significantly, the expression level of Bcl-2 was decreased significantly ($P<0.05$); the levels of IL-18 and KIM-1 in urine, BUN and Scr in serum and MDA in kidney were increased significantly ($P<0.05$); the levels of SOD and GSH in renal tissue were decreased significantly ($P<0.05$); renal tubules were dilated, vacuoles of epithelial cells in basal layer and cast in renal tubules formed. Compared with cisplatin, tumor weight in TGPL+cisplatin group was decreased significantly, while apoptotic rate was increased significantly, while the level of Bax was increased significantly, expression level of Bcl-2 was decreased significantly ($P<0.05$); the levels of IL-18 and KIM-1 in urine, BUN and Scr in serum and MDA in renal tissue were significantly reduced ($P<0.05$); the levels of SOD and GSH in renal tissue were increased significantly ($P<0.05$); there was no tubule dilation, but vacuoles were occasionally found in basal epithelial cells, and the cast formation in renal tubules was rare. Compared with TGPL group, tumor weight in TGPL+cisplatin group was significantly reduced, the tumor inhibition rate was significantly increased, the apoptosis rate was significantly increased, while the expression level of Bax in tumor tissue was increased significantly, expression level of Bcl-2 was decreased significantly ($P<0.05$); there was no statistical significance in the levels of IL-18 and KIM-1 in urine, the levels of BUN and Scr in serum, the levels of SOD, MDA and GSH in renal tissue ($P>0.05$); a small amount of inflammatory cells infiltrated occasionally in renal tissue. CONCLUSIONS: TGPL combined with cisplatin can inhibit tumor growth, promote tumor cell apoptosis and improve renal injury induced by cisplatin.

KEYWORDS Total glucosides of *Paeonia lactiflora*; Cisplatin; Gastric cancer; Tumor inhibition; Renal injury; Rat

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,具有恶性程度高、低分化、进展快、预后差等特点,目前其常用治疗手段为化疗^[1]。顺铂是常用化疗药物,但在临床使用过程中表现出明显的肾损伤副作用^[1-2]。白芍总苷来源于传统中药材白芍的干燥根,具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤等多种药理作用,相关研究表明,白芍总苷能够显著抑制胃癌 BGC-823 细胞增殖并诱导其凋亡^[3];同时,白芍总苷对庆大霉素、阿霉素等药物引起的肾损伤均有明显的改善作用^[4-5]。但目前对于白芍总苷是否可改善顺铂所导致的肾损伤尚无文献报道。基于此,笔者先建立大鼠胃癌模型,然后研究白芍总苷联合顺铂对模型大鼠的肿瘤抑制作用,并分析白芍总苷对顺铂所导致的大鼠肾损伤的改善作用,以期胃癌的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 仪器

ECLIPSETS100-F 型倒置显微镜(日本 Nikon 公司);MRZ14M010 型高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司);SpectraMax190 型多功能酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司);ChemiDoc XRS 型凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司);BX50/BX-FLA/DP70 型光学/荧光显微镜(日本 Olympus 公司);Attune NxT 型流式细胞仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];DYY-7C 型转印电泳仪(北京六一生物科技有限公司);Herocell 180 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Leica TP1020 型自动组织脱水机(成都天威医疗设备有限公司)。

1.2 药品与试剂

顺铂注射液(杭州民生药业集团有限公司,批号:20190523,规格:6 mL:30 mg);阿糖胞苷注射液(辉瑞制药有限公司,批号:20190611,规格:10 mL:0.5 g);白芍

总苷(宁波立华制药有限公司,批号:20190528);大鼠尿素氮(BUN)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司,批号:JK-bio-15074);大鼠肌酐(Scr)ELISA 检测试剂盒(上海谷研实业有限公司,批号:GOY-E6418);Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒、碘化丙啶(PI)试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为:1062L、ST512);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)ELISA 检测试剂盒(上海联迈生物工程有限公司,批号分别为:20190508、20190822、20180327);肾损伤分子 1(KIM-1)、白细胞介素 18(IL-18)检测试剂盒(武汉优尔生科技股份有限公司,批号分别为:20180628、20180819);兔源 B 淋巴细胞瘤 2 基因(Bcl-2)多克隆抗体(批号:60178-1-Ig)、兔源 Bcl-2 相关的 X 蛋白(Bax)单克隆抗体(批号:60267-1-Ig)、兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体(批号:60004-1-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗(批号:A0239)、TUNEL 凋亡检测试剂盒(批号:C1098)、RIPA 蛋白裂解液(批号:P0013B)均购自上海碧云天生物技术有限公司;ECL 显色液[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,批号:2019111903];其他试剂均为实验室常用试剂,水为纯净水。

1.3 动物

清洁级成年雄性 SD 大鼠,6 周龄,体质量(180±20)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,生产许可证号:SCXK(辽)2015-0001。动物在温度(22±2)℃、湿度(50±10)%的条件下适应性喂养 1 周后进行实验。

1.4 细胞

胃癌细胞 BGC823 购自中国科学院上海生命科学研究

究院细胞资源中心。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

参照文献方法^[6-7],将胃癌BGC823细胞加入含10%胎牛血清的RPMI1640培养基(以下简称“培养基”),置于37℃、5%CO₂恒温培养箱培养,定期更换新鲜培养基,待细胞处于对数生长期时,收集细胞,调整成密度为 5×10^6 个/mL的细胞悬液,备用。

取75只大鼠分为对照组、模型组、顺铂组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组,每组15只。除对照组大鼠于腹部皮下注射生理盐水外,其余各组大鼠于腹部皮下注射阿糖胞苷(200 mg/kg),48 h后对大鼠进行⁶⁰Co全身照射(剂量为10 Gy/只),照射后第2天于大鼠内侧近腹股沟处皮下接种上述BGC823细胞悬液(0.8 mL/只),建立大鼠胃癌模型^[6-7]。每天观察记录大鼠的生理和精神情况,若皮下出现米粒大小质硬结节则视为模型建立成功。造模成功后,顺铂组大鼠腹腔注射顺铂(25 mg/kg,剂量参考相关文献^[8]设置),每7 d给药1次,共给药5次;白芍总苷组大鼠灌胃白芍总苷(200 mg/kg,剂量参考相关文献^[9]设置,临用时用水溶解),每天给药1次,连续给药28 d;白芍总苷+顺铂组大鼠腹腔注射顺铂并灌胃白芍总苷,给药剂量和时间同单药组;对照组及模型组大鼠灌胃等量生理盐水,连续给药28 d。

2.2 取材

末次给药后,收集各组大鼠24 h尿液;尿液采集结束后,对大鼠腹腔注射10%水合氯醛进行麻醉,腹主动脉取血至离心管中,于4℃静置4 h后,在4℃条件下以3 500 r/min离心10 min,取上层血清;血清采集结束后,将大鼠颈椎脱臼处死,在无菌条件下迅速分离肿瘤组织(对照组大鼠未发现肿瘤)和肾组织。

2.3 各组大鼠瘤质量及肿瘤抑制率测定

取“2.2”项下分离的各组大鼠肿瘤组织适量,用4℃预冷的生理盐水洗去肿瘤组织表面血液,再用滤纸吸干表面水分,称质量,并计算肿瘤抑制率[肿瘤抑制率(%)=(模型组大鼠瘤质量-给药组大鼠瘤质量)/模型组大鼠瘤质量 $\times 100\%$]。

2.4 各组大鼠肿瘤组织的细胞凋亡率检测

采用流式细胞术检测。取“2.2”项下分离的大鼠肿瘤组织(每组分别取5份)适量,在无菌条件下用D-Hank's液冲洗3次后,制成约1 mm³的小块,用吸管吸取数小块肿瘤组织,均匀排列在培养皿上,置于37℃、5%CO₂培养箱中培养7 h,使其贴壁;取出培养皿后,加入培养基4 mL,再按上述条件继续培养;每隔24 h更换1次培养基,待细胞长出后,弃去组织块,继续培养至细胞融合度达90%;用胰蛋白酶消化细胞,进行3次传代培养^[10]。取传代培养后的细胞,用胰蛋白酶消化,以1 000 r/min离心5 min,弃上清,加入适量培养基重悬细胞后,以2 000 r/min离心5 min,弃上清液,然后加入Annexin V-FITC结合液200 μL混匀,室温避光孵育15 min,再加入PI染

液10 μL,混匀,室温避光孵育10~20 min,然后采用流式细胞仪检测肿瘤细胞凋亡率。

2.5 各组大鼠肿瘤组织中Bax、Bcl-2水平检测

采用Western blotting法检测。取“2.2”项下分离的大鼠肿瘤组织(每组分别取5份)适量,放入玻璃匀浆器,加入RIPA蛋白裂解液裂解,于4℃条件下以12 000 r/min离心10 min后,采用BCA法测定上清液中的蛋白浓度,并进行变性处理。取变性后的蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳(SDS-PAGE)分离,转膜;加入封闭液室温封闭1 h后,加入Bax、Bcl-2、GAPDH抗体(稀释度均为1:1 000),4℃孵育过夜;以PBST清洗3次,加入二抗(稀释度为1:2 000),室温孵育1 h,以PBST清洗3次,加入ECL显色液显影,利用凝胶成像仪成像、Image J 1.4.8软件进行灰度分析,以目的蛋白与内参蛋白条带的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.6 各组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平检测

取“2.2”项下收集的大鼠尿液(每组分别取5份)适量,采用IL-18、KIM-1检测试剂盒,按照说明书方法检测尿液中IL-18、KIM-1水平。

2.7 各组大鼠血清中BUN、Scr水平检测

取“2.2”项下分离的大鼠血清(每组分别取5份)适量,利用全自动生化分析仪检测血清中BUN、Scr水平。

2.8 各组大鼠肾组织中SOD、MDA、GSH水平检测

取“2.2”项下分离的大鼠肾组织(每组分别取5份)适量,用4℃预冷的生理盐水洗去表面血液,滤纸吸干表面水分,按照ELISA试剂盒说明书检测肾组织中SOD、MDA、GSH水平。

2.9 各组大鼠肾组织病理学观察

取“2.2”项下分离的大鼠肾组织(每组分别取5份)适量,在10%中性甲醛中固定24 h后,转移至75%乙醇中,经自动组织脱水机脱水、透明处理,在石蜡包埋机中浸蜡、包埋、切片(5 μm)、水浴展开、捞片、沥干,于恒温箱中烘干2 h后,进行常规苏木精-伊红(HE)染色,并于显微镜下进行肾组织病理学观察。

2.10 统计学方法

采用SPSS 19.0统计学软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠的瘤质量及肿瘤抑制率测定结果

与模型组比较,顺铂组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠瘤质量均显著降低($P < 0.05$);与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠瘤质量均显著降低,肿瘤抑制率显著升高($P < 0.05$);与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠瘤质量显著降低,肿瘤抑制率显著升高($P < 0.05$)。这提示白芍总苷联合顺铂能抑制胃癌模型大鼠肿瘤的增长,且抑制作用显著优于单用顺铂或白芍总苷。各组大鼠的瘤质量及肿瘤抑制率测定结果见表1。

表1 各组大鼠的瘤质量及肿瘤抑制率测定结果(n=15)
Tab 1 Tumor weight and tumor inhibition rate of rats in each group(n=15)

组别	瘤质量,g	肿瘤抑制率,%
模型组	2.61±0.16	
顺铂组	1.16±0.11*	55.48±2.38
白芍总苷组	1.43±0.13*	42.21±3.17
白芍总苷+顺铂组	0.77±0.05***	71.48±3.86 [△]

注:与模型组比较,*P<0.05;与顺铂组比较,[#]P<0.05;与白芍总苷组比较,[△]P<0.05

Note: vs. model group, *P<0.05; vs. cisplatin group, [#]P<0.05; vs. TGPL group, [△]P<0.05

3.2 各组大鼠肿瘤细胞凋亡率测定结果

与模型组比较,顺铂组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤细胞凋亡率均显著升高(P<0.05);与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤细胞凋亡率显著升高(P<0.05);与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤细胞凋亡率显著升高(P<0.05)。这提示白芍总苷联合顺铂能促进胃癌模型大鼠肿瘤细胞的凋亡,且效果显著优于单用顺铂或白芍总苷。各组大鼠肿瘤细胞凋亡的散点图见图1,细胞凋亡率测定结果见表2。

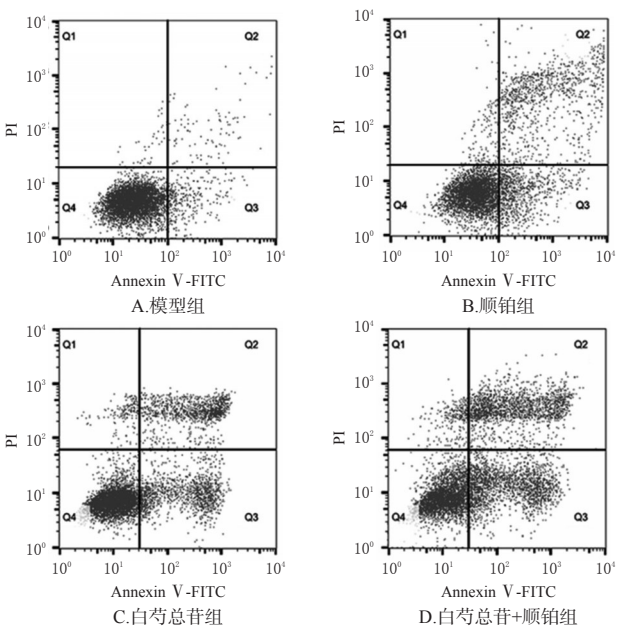


图1 各组大鼠肿瘤细胞凋亡的散点图

Fig 1 Scatter diagram of tumor cell apoptosis of rats in each group

3.3 各组大鼠肿瘤组织中Bax、Bcl-2水平测定结果

与模型组比较,顺铂组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤组织中Bax蛋白表达水平均显著升高,Bcl-2蛋白表达水平均显著降低(P<0.05);与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤组织中Bax蛋白表达水平显著升高,Bcl-2蛋白表达水平显著降低(P<0.05);与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠肿瘤组织中Bax蛋白表达水平显著升高,Bcl-2蛋白表达水平显著降低(P<0.05)。这提示白芍总苷联合顺铂能促进胃癌模型

大鼠肿瘤组织中促凋亡蛋白的表达,抑制抗凋亡蛋白的表达,且效果显著优于单用顺铂或白芍总苷。各组大鼠肿瘤组织中Bax、Bcl-2蛋白表达水平测定结果见表3。

表2 各组大鼠肿瘤细胞凋亡率测定结果(n=5)
Tab 2 Apoptosis rate of tumor cells of rats in each group(n=5)

组别	细胞凋亡率,%
模型组	3.45±0.76
顺铂组	38.03±6.78*
白芍总苷组	24.63±3.35*
白芍总苷+顺铂组	57.48±1.43***

注:与模型组比较,*P<0.05;与顺铂组比较,[#]P<0.05;与白芍总苷组比较,[△]P<0.05

Note: vs. model group, *P<0.05; vs. cisplatin group, [#]P<0.05; vs. TGPL group, [△]P<0.05

表3 各组大鼠肿瘤组织中Bax、Bcl-2蛋白表达水平测定结果(n=5)
Tab 3 Protein expression levels of Bax and Bcl-2 in tumor tissue of rats in each group(n=5)

组别	Bax	Bcl-2
模型组	0.29±0.08	0.82±0.17
顺铂组	0.73±0.11*	0.53±0.09*
白芍总苷组	0.56±0.14*	0.61±0.06*
白芍总苷+顺铂组	0.93±0.18***	0.44±0.04**

注:与模型组比较,*P<0.05;与顺铂组比较,[#]P<0.05;与白芍总苷组比较,[△]P<0.05

Note: vs. model group, *P<0.05; vs. cisplatin group, [#]P<0.05; vs. TGPL group, [△]P<0.05

3.4 各组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平测定结果

与对照组比较,模型组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平差异均无统计学意义(P>0.05),顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平均显著升高(P<0.05);与模型组比较,顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平均显著升高(P<0.05)。与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平均显著降低(P<0.05);与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平差异均无统计学意义(P>0.05)。这提示白芍总苷联合顺铂能减轻胃癌模型大鼠单用顺铂后引起的肾组织损伤。各组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平测定结果见表4。

3.5 各组大鼠血清中BUN、Scr水平测定结果

与对照组比较,模型组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠血清中BUN、Scr水平差异均无统计学意义(P>0.05),顺铂组大鼠血清中BUN、Scr水平均显著升高(P<0.05);与模型组比较,顺铂组大鼠血清中BUN、Scr水平均显著升高(P<0.05);与顺铂组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠血清中BUN、Scr水平均显著降低(P<0.05);与白芍总苷组比较,白芍总苷+顺铂组大鼠血清中BUN、Scr水平差异均无统计学意义(P>0.05)。这提示白芍总苷联合顺铂能减轻胃癌模型大鼠单用顺铂引

起的肾功能损伤。各组大鼠血清中BUN、Scr水平测定结果见表5。

表 4 各组大鼠尿液中 IL-18、KIM-1 水平测定结果 (n=5)

Tab 4 The levels of IL-18 and KIM-1 in urine of rats in each group (n=5)

组别	IL-18,pg/mL	KIM-1,pg/mL
对照组	14.11±0.55	893.11±83.67
模型组	15.02±0.43	901.78±86.68
顺铂组	31.06±0.67 [▲]	1533.86±98.36 [▲]
白芍总苷组	14.36±0.39	876.32±88.91
白芍总苷+顺铂组	16.37±0.56 [#]	918.42±86.55 [#]

注：与对照组比较，[▲]*P*<0.05；与模型组比较，^{*}*P*<0.05；与顺铂组比较，[#]*P*<0.05

Note: vs. control group, [▲]*P*<0.05; vs. model group, ^{*}*P*<0.05; vs. cisplatin group, [#]*P*<0.05

表 5 各组大鼠血清中 BUN、Scr 水平测定结果 (n=5)

Tab 5 Serum levels of BUN and Scr of rats in each group (n=5)

组别	BUN,mmol/L	Scr,mmol/L
对照组	4.94±0.21	15.78±1.17
模型组	5.14±0.33	16.52±1.04
顺铂组	7.33±0.26 [▲]	38.08±1.39 [▲]
白芍总苷组	4.72±0.23	16.44±2.73
白芍总苷+顺铂组	5.18±0.31 [#]	18.19±1.53 [#]

注：与对照组比较，[▲]*P*<0.05；与模型组比较，^{*}*P*<0.05；与顺铂组比较，[#]*P*<0.05

Note: vs. control group, [▲]*P*<0.05; vs. model group, ^{*}*P*<0.05; vs. cisplatin group, [#]*P*<0.05

3.6 各组大鼠肾组织中 SOD、MDA、GSH 水平测定结果

与对照组比较，模型组、白芍总苷组、白芍总苷+顺铂组大鼠肾组织中SOD、MDA、GSH水平差异均无统计学意义(*P*>0.05)；顺铂组大鼠肾组织中SOD、GSH水平均显著降低，MDA水平显著升高(*P*<0.05)。与顺铂组比较，白芍总苷+顺铂组大鼠肾组织中SOD、GSH水平均显著升高，MDA水平均显著降低(*P*<0.05)。与白芍总苷组比较，白芍总苷+顺铂组大鼠肾组织中SOD、GSH水平差异无统计学意义(*P*>0.05)。这提示白芍总苷联合顺铂能减轻胃癌模型大鼠单用顺铂后引起的肾组织氧化应激损伤。各组大鼠肾组织中SOD、MDA、GSH水平测定结果见表6。

3.7 各组大鼠肾组织病理学变化观察结果

对照组、模型组和白芍总苷组大鼠肾组织未见明显病理学变化。顺铂组大鼠肾组织可见肾小管扩张、基底层上皮细胞空泡形成及肾小管内铸形成。白芍总苷+顺铂组大鼠肾组织无肾小管扩张，偶见空泡形成，少见肾小管内铸形成。这提示白芍总苷联合顺铂能改善单用顺铂引起的肾小管空泡样病变及肾小管内铸形成，明显改善大鼠肾组织的病理学变化。各组大鼠肾组织病理学观察结果见图2。

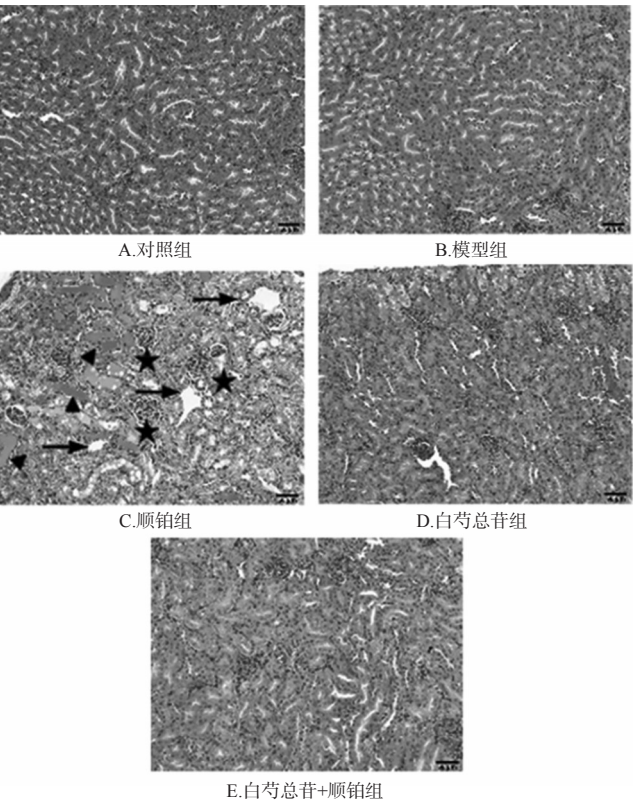
表 6 各组大鼠肾组织中 SOD、MDA、GSH 水平测定结果 (n=5)

Tab 6 The levels of SOD, MDA and GSH in renal tissue of rats in each group (n=5)

组别	SOD,U/mL	MDA,nmol/mL	GSH,μmol/mL
对照组	46.53±3.13	2.68±0.13	22.61±1.66
模型组	42.18±2.49	2.81±0.16	18.49±2.03
顺铂组	13.61±1.68 [▲]	5.12±0.24 [▲]	7.94±1.59 [▲]
白芍总苷组	45.22±3.31	2.36±0.09	21.58±1.83
白芍总苷+顺铂组	43.62±2.77 [#]	2.77±0.17 [#]	20.16±1.71 [#]

注：与对照组比较，[▲]*P*<0.05；与模型组比较，^{*}*P*<0.05；与顺铂组比较，[#]*P*<0.05

Note: vs. control group, [▲]*P*<0.05; vs. model group, ^{*}*P*<0.05; vs. cisplatin group, [#]*P*<0.05



注：星形状表示肾小管扩张；三角形表示空泡形成；箭头表示肾小管内铸形成

Note: The star represents the dilation of renal tubules; the triangle represents the formation of vacuoles; the arrow represents the formation of intratubules

图 2 各组大鼠肾组织病理学观察结果 (HE 染色, ×200)
Fig 2 Histopathological observation of kidney of rats in each group (HE staining, ×200)

4 讨论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤，在我国各种恶性肿瘤中发病率居首位，其发病机制与年龄、性别、地域饮食、幽门螺旋杆菌感染、癌前病变、遗传因素等相关^[1-2]。目前临床上胃癌的治疗主要采用化疗、靶向治疗、支持治疗等手段，但这些治疗手段均存在预后不良、复发率高、有效率低等缺点^[2]。化疗是临床上最常用的

胃癌治疗方法,而顺铂是目前治疗胃癌最常用的化疗药物之一,但其具有肝肾毒性,且易产生耐药,其中肾损伤是其常见的不良反应^[1-2]。

白芍总苷是白芍的主要活性成分,具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤、保护血管及神经修复等多种药理作用^[3-5]。鲍舒洁等^[3]研究表明,白芍总苷能剂量依赖性地诱导胃癌BGC-823细胞的凋亡,调节胃癌细胞凋亡相关基因的表达,从而发挥抗肿瘤作用。金生源等^[11]研究发现,白芍总苷对慢性肾小球肾炎具有一定的缓解作用。邹晓荣等^[12]研究发现,白芍总苷对慢性糖尿病肾病也表现出很好的治疗效果。安娜等^[13]研究发现,白芍总苷能够改善柔红霉素肾病大鼠血清肌酐、尿素氮水平,并改善大鼠肾组织病理学变化。詹可顺等^[14]研究发现,白芍总苷联合长春瑞滨、顺铂等化疗药物治疗非小细胞肺癌,可提高患者生存质量、改善患者细胞免疫功能和升高外周血象。由此推测,白芍总苷可能具有改善顺铂所致肾损伤的作用。

Bax 为促凋亡相关基因,Bcl-2 为抗凋亡基因,相关研究发现,当Bax蛋白水平升高及Bcl-2蛋白水平降低时,可激活细胞凋亡基因,并促进细胞凋亡程序的启动^[15]。尿液中IL-18、KIM-1水平是反映肾功能的间接指标,血清中BUN、Scr水平是反映肾功能的直接指标^[16],当IL-18、KIM-1、BUN及Scr水平升高时,表明肾组织细胞损伤及肾功能下降。另外,SOD、MDA、GSH水平是反映组织细胞氧化应激状态的重要指标^[17],当SOD、GSH水平下降及MDA水平升高时,可反映肾组织细胞处于氧化应激损伤状态。

本课题组研究发现,白芍总苷联合顺铂可显著降低胃癌模型大鼠瘤质量和肿瘤组织中Bcl-2蛋白表达水平,显著升高肿瘤抑制率、肿瘤细胞凋亡率及肿瘤组织中Bax蛋白表达水平,且效果优于单用顺铂或白芍总苷。与对照组比较,模型组和白芍总苷组大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平,以及肾组织中SOD、MDA、GSH水平差异均无统计学意义,表明本实验造模方法和白芍总苷均未引起大鼠肾损伤;但是使用顺铂后,大鼠尿液中IL-18、KIM-1水平,血清中BUN、Scr水平,肾组织中MDA水平均显著升高,肾组织中SOD、GSH水平均显著降低,表明单用顺铂对大鼠存在明显的肾损伤;但当联合白芍总苷使用后,上述指标均得到明显改善。病理观察结果也显示,当单用顺铂时大鼠肾组织可见肾小管扩张等损伤表现,但当联合白芍总苷使用后,大鼠肾组织无肾小管扩张,肾损伤明显改善。

综上所述,白芍总苷联合顺铂能抑制胃癌大鼠肿瘤增长,促进肿瘤细胞凋亡,并可改善顺铂引起的肾损伤。

参考文献

[1] 郭佳栋,张雪梅,刘影,等. 8种治疗胃癌常用抗肿瘤药物致不良反应病例报告分析[J]. 中国药房,2016,27(33): 4627-4630.

[2] ZHANG J,ZHANG Y,WANG J,et al. Protein kinase D3 promotes gastric cancer development through p65/6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-biphosphatase 3 activation of glycolysis[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 380(2): 188-197.

[3] 鲍舒洁,张丹,张红,等.白芍总苷脂质体诱导胃癌BGC-823细胞凋亡的实验研究[J]. 中国药理学杂志,2016,51(24):2109-2113.

[4] 朱亚利,关凤军,安娜,等.白芍总苷通过下调TLR4/NF-κB/TGF-β1信号通路改善阿霉素肾病大鼠肾纤维化[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(7):43-46.

[5] 周靖,陆春红,黄金杰,等.白芍总苷对庆大霉素所致急性肾功能衰竭保护作用的研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2019,22(3):285-291.

[6] 袁虎勤,李强.奥沙利铂联合卡培他滨对实验性胃癌大鼠胃癌组织中肿瘤相关因子表达的影响及其协同抗肿瘤作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2019,45(4):784-789、982.

[7] 王道军,王晨,伍权,等.黄芪注射液对胃癌大鼠血清炎症机制、p53、STAT3、VEGF表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2016,36(18):4405-4407.

[8] 李荣,李蓉,戴光荣.顺铂在大鼠体内富集胃癌干细胞[J]. 中国组织工程研究,2015,19(41):6611-6615.

[9] 杜欢,史晴晴.白芍总苷对脑缺血再灌注大鼠血液流变学的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(24):3614-3617.

[10] 宣柳,顾娟,王学东.川芎嗪对佐剂性关节炎大鼠滑膜细胞凋亡的诱导作用[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(17):1766-1768.

[11] 金生源,董辉,陈友谊.白芍总苷联合盐酸贝那普利治疗未婚育慢性肾小球肾炎患者临床观察[J]. 浙江中西医结合杂志,2015,25(11):1042-1043.

[12] 邹晓荣,李照辉,罗会文,等.白芍总苷联合慢性肾衰一体化治疗糖尿病肾病疗效观察[J]. 人民军医,2015,58(10):1186-1187.

[13] 安娜,关凤军,朱亚利,等.白芍总苷对大鼠柔红霉素肾病的作用及机制[J]. 江苏医药,2017,43(4):229-232.

[14] 詹可顺,余南生,朱振林,等.白芍总苷联合化疗药物治疗非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中国基层医药,2006,13(10):1645-1647.

[15] 吴雪艳,赵依纳,王小杰,等.半乳糖凝集素3表达抑制对人胃癌MGC-803细胞中Bcl-2和Bax表达的影响及其促凋亡作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2020,46(2):335-339.

[16] 谷翠芝,李清初,曾凝,等. AKI早期NGAL、KIM-1的变化及意义[J]. 山东医药,2015,55(13):16-18.

[17] 田静,李影,刘芳.匹伐他汀对2型糖尿病模型大鼠肾脏损伤的保护机制[J]. 西北药学杂志,2019,34(1):68-71.

(收稿日期:2020-02-20 修回日期:2020-04-13)

(编辑:唐晓莲)