

槐耳联合化疗对荷乳腺癌裸鼠疗效观察

郝莎¹, 孙浩², 李宏峰³, 韩凤娴⁴, 宋林³, 孙雯雯⁵

1. 天津市中医药研究院附属医院外科, 天津 300120; 2. 天津市中医药研究院附属医院药学部, 天津 300120; 3. 天津市中医药研究院附属医院检验科; 4. 天津市中医药研究院附属医院皮肤科; 5. 天津市中医药研究院, 天津 300120

摘要: **目的** 研究槐耳颗粒联合盐酸吡柔比星(THP)对荷 MDA-MB-231 和 MCF-7 乳腺癌干细胞瘤裸鼠的治疗效果, 为临床治疗提供科学的依据。 **方法** 将 64 只 SPF 级雌性 Balb/c 裸鼠随机分为 2 组, 每组 32 只, 分别建立荷 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞肿瘤干细胞瘤裸鼠模型。 每组再随机分为 4 组, 各组均为 8 只。 其中, 对照组尾静脉注射生理盐水, 0.2 ml/次, 每周 2 次, 共 3 周; THP 组尾静脉注射剂量为 5 mg/kg 的化疗药物 THP, 0.2 ml/次, 每周 1 次, 共 3 周; 槐耳颗粒组, 用 600 ml 纯净水将 20 g 槐耳颗粒溶解, 相当于每 60 kg 体质量给药 20 g, 0.2 ml/次灌胃, 每日 1 次, 共 3 周; 联合治疗组按槐耳颗粒组用药方式给药, 同时尾静脉注射 5 mg/kg 的 THP, 0.2 ml/次, 每周 1 次, 共 3 周。 比较各组裸鼠治疗后的体质量, 采用光学显微镜进行肿瘤组织病理学检查, 采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)法检测 *c-Myc* 表达水平, 采用 TUNEL 法检测细胞凋亡情况, 采用免疫组化法检测 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达。 用 SPSS 20.0 统计学软件包进行单因素方差分析。 **结果** 治疗 3 周后, 与其他 3 组比较, 对照组体质量最轻, 瘤体积最大, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 槐耳颗粒组和 THP 组体质量和瘤体积相当, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 联合治疗组体质量最大, 瘤体积最小, 与其他 3 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 移植瘤组织切片为典型乳腺中分化腺癌。 槐耳颗粒组和 THP 组均可见小的肿瘤组织坏死灶, 联合治疗组肿瘤组织出现明显变性坏死。 与对照组比较, 其他 3 组裸鼠瘤体中 *c-Myc* 表达水平下调, 凋亡指数上升, Bcl-2 蛋白表达下调, Bax 蛋白表达均上调, 联合治疗组较槐耳颗粒组和 THP 组变化更加明显, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 **结论** 槐耳颗粒能明显抑制肿瘤增长, 其中以联合治疗组效果最佳, 为临床治疗乳腺癌提供了新思路。

关键词: 乳腺癌; *c-Myc* 基因; Bcl-2 蛋白; Bax 蛋白; 槐耳颗粒

中图分类号: R349.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1004-6194(2021)12-0946-04

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 发病率呈逐年上升的趋势^[1-2]。 提高转移性复发性乳腺癌患者生存率一直是待解决的难题。 传统的放化疗方法只能杀伤肿瘤细胞, 而具有自我分化、更新特点的肿瘤干细胞不能被彻底清除^[3]。 槐耳颗粒是药用真菌槐耳的提取物, 性平, 味苦、辛, 具有扶正固本、活血消症、抗癌等作用, 适用于瘀血阻滞, 正气虚弱。 槐耳含有多种有机成分和矿物质元素, 其主要活性成分为蛋白多糖^[4]。 研究显示, 槐耳可以杀伤肝癌、急性淋巴细胞白血病、胃癌和乳腺癌等多种肿瘤细胞, 使其凋亡, 并抑制血管再生, 同时能够提高机体免疫力, 改善患者生活质量^[5-8]。 研究表明, 肿瘤干细胞的发生、发展、增殖和分化与多种信号通路有关, 其中 Akt 信号通路被激活后其关键的原癌基因 *c-Myc* 参与乳腺癌细胞的增殖、分化和凋亡等过程^[9-10]。 本文通过观察槐耳颗粒联合化疗药盐酸吡柔比星(THP)对 MDA-MB-231 和 MCF-7 乳腺癌干细胞荷瘤裸鼠的治疗效果, 为临床治疗乳腺癌提供参考。

DOI: 10.16386/j.ejpcd.issn.1004-6194.2021.12.016

作者简介: 郝莎, 本科, 主管护师, 主要从事肿瘤分子生物学研究, E-mail: 632781860@qq.com; 孙浩, 本科, 副主任药师, 主要从事临床中药学及中药鉴定学研究, E-mail: sunhao_852@126.com; 郝莎和孙浩为并列第一作者

通信作者: 孙雯雯, E-mail: 942548542@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级 3~4 周龄雌性 Balb/c 裸鼠 64 只, 体质量 16~18 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物中心许可证号 SCXK(京)2014-0013, 动物合格证号 11400500018047。

1.1.2 仪器及试剂 IX71 型荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 371 型生物安全柜和细胞培养箱(美国 Thermo 公司), FA 型肿瘤干细胞 alibur 流式细胞仪(美国 BD 公司), 130-091-632 型磁珠分选仪(德国 Miltenyi 公司), IC 1000 型全自动细胞计数分析仪(韩国 Count star 公司)。 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株和 MCF-7 细胞株为天津市肿瘤医院肿瘤研究所牛瑞芳教授惠赠。 RPMI1640 培养基和青链霉素(美国 Gibco 公司), 人淋巴细胞分离液(天津美德太平洋科技有限公司), CD44、CD24 磁珠抗体(德国 Miltenyi 公司), 鼠抗人 Bcl-2 及 Bax 单克隆抗体和 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒均购自北京中杉金桥有限公司。 槐耳颗粒(国药准字 Z20000109) 购自启东盖天力药业有限公司。 THP 购自海正辉瑞制药有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞培养在含有 1% 青链霉素和 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中, 37 °C、5%CO₂ 培养箱培养。

1.2.2 MDA-MB-231 和 MCF-7 肿瘤干细胞分选 分别收集 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞, 各加入 10 μl CD24-磁珠抗体, 孵育, 收集 CD24-阴性的细胞, 300×g 离心 10 min, 在前述收集的细胞中加入 20 μl CD44 磁珠孵育。用 500 μl PBS 重悬细胞备用。收集 CD44⁺CD24⁻细胞^[8-9]。

1.2.3 裸鼠乳腺癌干细胞模型的建立 收集上述 CD44⁺CD24⁻细胞(乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和 MCF-7 细胞干细胞), 用无血清培养基调整细胞浓度至 5×10⁵/ml, 按 1:1 的比例与 matrigel 混匀, 在 Balb/c 裸鼠右侧腋下接种 0.2 ml 细胞, 接种部位出现结节认定为移植瘤。

1.2.4 荷 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞肿瘤干细胞裸鼠的治疗 将 64 只裸鼠随机分为 2 组, 分别建立荷 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞肿瘤干细胞裸鼠模型。每组再采用抽签法随机分 4 组, 各组均为 8 只。对照组尾静脉注射生理盐水, 0.2 ml/次, 2 次/周, 共 3 周; THP 组尾静脉注射剂量为 5 mg/kg 的化疗药物 THP, 0.2 ml/次, 每周 1 次, 共 3 周; 槐耳颗粒组, 用 600 ml 纯净水将 20 g 槐耳颗粒溶解, 相当于每 60 kg 体质量给药 20 g, 每日 0.2 ml 灌胃 1 次, 共 3 周^[10]; 联合治疗组按槐耳颗粒组用药方式给药, 同时尾静脉注射 5 mg/kg 的 THP, 0.2 ml/次, 每周 1 次, 共 3 周。肿瘤干细胞接种成瘤后, 各组开始第 1 次治疗。治疗期间每隔 2 d 测量瘤体大小 1 次。瘤长为移植瘤的最大直径, 瘤宽为最小直径, 瘤体积(mm³)=长×宽×宽×0.52。

1.2.5 移植瘤 HE 染色 各组治疗后, 处死裸鼠, 取出移植瘤组织, 进行 HE 染色, 光学显微镜进行病理学检查。

1.2.6 c-Myc 基因表达的检测 取出储存于 -80 °C 液氮中的瘤组织, 称取 20 mg, 然后加入液氮研磨粉碎后, 至 RNA EP 管中, 按照 Qiagen RNeasy mini kit 试剂盒说明书提取上述瘤组织的总 RNA。再用 TAKARA PrimeScript RT-PCR Kit 试剂盒, 以上述提取的瘤组织总 RNA 为模板、引物, 和无酶无菌水(RNase-free Water)混匀, 于 65 °C 孵育 5 min。加入反转录反应体系: 1.0 μl RNA、1.0 μl Oligo(dT)、2.0 μl 10 mmol/L dNTPs、0.5 μl 10×TS II RT Buffer、0.5 μl Ribonuclease Inhibitor、0.5 μl TransScript II RT 和 13.0 μl RNase-free Water, 轻轻混匀, 50 °C 孵育 30 min。然后 85 °C 加热 5 s, 使 TransScript II RT 失活。反转录合成 cDNA。利用 Oligo 6 软件设计 RT-PCR 引物, 从与 NCBI 查出的 c-Myc 基因序列进行 BLAST 验证。c-Myc 基因引物为, 上游: 5'-CCAA-

CAGGAGCTATGACCTC-3', 下游: 5'-TTGTACCTGCA-GGATCTGAG-3'。GAPDH 引物为, 上游: 5'-GGTGG-TCTCCTCTGACTTCAACA-3', 下游: 5'-GTTGCTGTAG-CCAAATTCGTTGT-3'。用 Western blot 法检测蛋白表达: 根据蛋白确定目的条带, 并应用图像分析软件 Multi Gauge Ver 3.0 进行蛋白表达强度测定。结果以灰度值表示, GAPDH 作为内参。按下式计算目的蛋白表达相对值: 目的蛋白表达相对值=目的条带强度/GAPDH 强度。

1.2.7 TUNEL 法检测细胞凋亡 按试剂盒说明书操作, 将石蜡包埋的切片进行常规脱蜡脱水, 用 20 mg/L 蛋白酶 K 工作液室温孵育 15~30 min, 再用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次; 加入 50 μl 的 TUNEL 反应混合溶液, 37 °C 孵育 60 min, PBS 洗 3 次, 在荧光显微镜下观察; 加入 50 μl 石蜡包埋切片转化剂 POD, 37 °C 孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次, 加入 50 μl DAB 底物溶液, 孵育 10 min, PBS 冲洗 3 次; 复染、封片, 在光学显微镜下观察。在 200 倍光学显微镜下计数每个视野内的凋亡细胞数, 随机计数 5 个视野, 计算平均每个视野内凋亡细胞的凋亡指数(apoptotic index, AI)。AI=凋亡细胞数/每个视野内观察细胞总数。以凋亡指数计, <0.1 为阴性(-), 0.1~0.2 为弱阳性(+), 0.2~0.3 为阳性(++), ≥0.3 为强阳性(+++)。

1.2.8 瘤组织中 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达的检测 将组织切片, 用环保透明剂脱蜡, 在环保透明剂缸中浸泡 20 min, 用无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇对切片进行梯度脱水。自来水和 PBS 液冲洗后切片, 每次 3 min, 进行热修复和胰酶修复。PBS 液冲洗切片 3 min。将切片浸泡在 H₂O₂ 中, 抑制内源性过氧化物酶 10 min。然后用 PBS 液冲洗切片 3 min。将指定抗体孵育切片放置于 37 °C 恒温箱内 1 h, PBS 液冲洗切片 5 min。用一抗封闭剂, 孵育切片 30 min。PBS 液冲洗切片 3 min。二抗孵育切片 30 min。PBS 液冲洗切片 3 min。用 DAB 工作液显色 5 min。自来水冲洗, 用苏木素复染后, 酸性乙醇分化, 再用氨水反蓝。自来水冲洗切片、切片脱水、透明、封片, 用光学显微镜进行观察。然后选择同等细胞厚度, 在同等密度细胞下选择 5 个视野, 每个视野选择 100 个细胞, 用免疫组化组分测定软件测定其吸光度。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计学软件包进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步组间两两比较采用 LSD 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞形态及 CD44⁺CD24⁻细胞所占比例 荧光倒置显微镜下, 对照组 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞贴壁生长, 呈多边形, 成片生长, 具有折光性, 胞体大, 核仁清楚, 胞质透明, 见封 3 图 1。

流式细胞仪分选获得上述 2 种乳腺癌细胞 CD44⁺CD24⁻细胞,MDA-MB-231 细胞和 MCF-7 细胞中 CD44⁺CD24⁻细胞所占比例分别为 26.7%和 23.84%。

2.2 荷瘤裸鼠生存状态及体质量变化 对照组精神不振,活动减弱,于第 3 周开始活动障碍,处于濒死状态;槐耳颗粒组、THP 组和联合治疗组的荷瘤裸鼠情绪稳定,活动自如,能正常进食和饮水,在治疗的 3 周内生命体征变化不明显。治疗 3 周后,与其他 3 组比较,对照组体质量最轻,瘤体积最大,差异有统计学意义($P<0.05$);槐耳颗粒组和 THP 组体质量和瘤体积相当,差异无统计学意义($P>0.05$);联合治疗组体质量最大,瘤体积最小,与其他 3 组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 治疗后各组裸鼠体质量和瘤体积比较($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	MDA-MB-231 细胞		MCF-7 细胞	
	体质量(g)	瘤体积(mm ³)	体质量(g)	瘤体积(mm ³)
对照组	20.55±0.30	274.84±82.10	20.60±0.27	307.69±56.20
槐耳颗粒组	22.41±0.28 ^a	201.76±42.62 ^a	21.32±0.30 ^a	219.87±51.91 ^a
THP 组	22.63±0.25 ^a	195.69±49.48 ^a	21.52±0.34 ^a	198.50±55.43 ^a
联合治疗组	23.59±0.28 ^{abc}	114.16±16.25 ^{abc}	23.46±0.26 ^{abc}	111.33±18.29 ^{abc}
F 值	167.173	12.254	138.130	22.469
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与槐耳颗粒组比较,^b $P<0.05$;与 THP 组比较,^c $P<0.05$;THP.盐酸吡柔比星。

2.3 模型移植瘤的 HE 染色 接种 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞肿瘤干细胞后的第 3—4 天,裸鼠右侧腋下的接种部位出现黄色包膜的结节,即为移植瘤,见封 3 图 2。光学显微镜下,2 种乳腺癌细胞中的 CD44⁺CD24⁻移植瘤组织切片均为典型乳腺中分化腺癌。瘤细胞呈腺管状,腺体不规则,部分腺体呈角状。病理学结果显示,对照组均未见瘤组织有变性坏死,光学显微镜下肿瘤细胞彼此镶嵌,呈巢状生长;槐耳颗粒组和 THP 组均可见小灶性坏死,中心坏死区可见核碎屑;联合治疗组出现多灶性坏死,细胞核膜破裂,核破裂,胞膜不明显,嗜酸性变肿瘤组织明显变性坏死,见封 3 图 3、4。

2.4 各组 c-Myc 的表达水平比较 治疗后,与对照组相比,槐耳颗粒组、THP 组和联合治疗组的 c-Myc mRNA 表达均有所下调,其中联合治疗组较槐耳颗粒组和 THP 组下调更低,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.5 各组细胞凋亡情况 显微镜下观察凋亡细胞的数量和分布,阳性细胞(凋亡细胞)的胞核染色为棕黄色或棕褐色,均匀或颗粒状。与对照组相比,槐耳颗粒组、THP 组和联合治疗组的 2 种肿瘤细胞凋亡率更高,其中联合治疗组 2 种肿瘤细胞凋亡率高于槐耳颗粒组和 THP 组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 2 治疗后各组 c-Myc mRNA 表达水平比较($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	MDA-MB-231 细胞	MCF-7 细胞
对照组	101.70±14.13	94.01±16.20
槐耳颗粒组	57.00± 6.32 ^a	59.89± 4.77 ^a
THP 组	61.42±10.49 ^a	60.19± 8.56 ^a
联合治疗组	25.99± 1.83 ^{abc}	25.20± 1.81 ^{abc}
F 值	87.550	69.814
P 值	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与槐耳颗粒组比较,^b $P<0.05$;与 THP 组比较,^c $P<0.05$;THP.盐酸吡柔比星。

表 3 治疗后各组细胞凋亡结果比较($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	MDA-MB-231 细胞	MCF-7 细胞
对照组	0.038±0.002	0.043±0.002
槐耳颗粒组	0.209±0.011 ^a	0.198±0.010 ^a
THP 组	0.189±0.010 ^a	0.182±0.010 ^a
联合治疗组	0.290±0.023 ^{abc}	0.284±0.020 ^{abc}
F 值	469.347	527.519
P 值	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与槐耳颗粒组比较,^b $P<0.05$;与 THP 组比较,^c $P<0.05$;THP.盐酸吡柔比星。

2.6 各组 Bcl-2 与 Bax 表达水平比较 治疗结束后,与对照组比较,槐耳颗粒组、THP 组和联合治疗组 Bcl-2 蛋白表达均下调、Bax 蛋白表达均上调;与槐耳颗粒组和 THP 组比较,联合治疗组 Bcl-2 蛋白表达均进一步下调、Bax 蛋白表达均进一步上调,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 治疗后各组 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达比较($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	MDA-MB-231 细胞		MCF-7 细胞	
	Bcl-2	Bax	Bcl-2	Bax
对照组	55.50±3.26	8.05±2.63	54.74±3.46	6.78±2.37
槐耳颗粒组	47.77±2.92 ^a	14.89±1.64 ^a	46.28±4.30 ^a	13.41±2.20 ^a
THP 组	47.30±2.54 ^a	14.54±2.97 ^a	46.54±3.45 ^a	16.24±3.22 ^{ab}
联合治疗组	35.23±3.37 ^{abc}	21.76±3.89 ^{abc}	34.69±1.90 ^{abc}	21.90±2.38 ^{abc}
F 值	60.676	29.903	47.310	47.735
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与槐耳颗粒组比较,^b $P<0.05$;与 THP 组比较,^c $P<0.05$;THP.盐酸吡柔比星。

3 讨论

中医学认为,人体正气不足,外邪入侵等致病因素共同作用会导致人体阴阳失衡,经络阻滞,脏腑失和,气血失调,积而成瘤^[10-11]。研究发现中药对肿瘤的治疗具有不易产生耐药性、安全性高、扶正祛邪、化痰解毒等优点^[12]。随着对中药抗肿瘤研究的深入,研究发现中药具有提高患者机体免疫力,抑制肿瘤细胞的生长,杀伤肿瘤细胞和肿瘤干细胞,促进肿瘤细胞凋亡,防止肿瘤细胞转移等功效^[13-15]。

槐耳颗粒作为国家一类新药,具有扶正固本,活血消症的功效。适用于正气虚弱,瘀血阻滞者,临床上除用于肿瘤治疗外,还可以改善神疲乏力、少气懒言等症状。其有效药用成分是组织分离槐耳真菌——槐栓菌,发酵槐栓菌可获取 18 种氨基酸和 6 种单糖组成的蛋白多糖^[4],具有抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡的功能^[5-8],从而起到抗癌效果。另外,槐耳颗粒可促进荷肝癌 Heps 小鼠的迟发型超敏反应,提高其血清 T 淋巴细胞酯酶染色率,从而提高机体的免疫力^[16-17]。屈淑贤等^[17]研究发现,槐耳颗粒联合环磷酰胺和多西他赛治疗老年乳腺癌,术后患者 CD4⁺细胞百分率、CD4⁺/CD8⁺ 比值和 NK 细胞百分率在术后 3 个月和 1 年均明显高于对照组,生活质量也有明显提高。本研究结果表明,中药槐耳颗粒可改善荷瘤裸鼠的生存状态,有一定的抑制肿瘤的效果,联合化疗药 THP 进行治疗则效果更为显著。

研究显示,信号通路活动异常会造成肿瘤细胞的增殖和分化,如 PI3K/Akt、Wnt/ β -catenin、HOX、Notch 等信号通路^[11,18]。在许多肿瘤发生、发展中常出现 PI3K/Akt 信号通路活化异常,其中原癌基因 *c-Myc* 的主要作用为抑制凋亡,保持细胞的高增殖性,其在正常组织中不表达或仅有极少的基础表达量,而通常在结肠癌、乳腺癌、前列腺癌等中表达异常^[11-12]。因此,通过调节活化异常的信号通路,可达到抑制肿瘤细胞的发生、增殖、分化等作用,从而达到杀伤肿瘤细胞的目的。王伟^[9]研究发现,槐耳能够调控多个细胞内的分子通路,参与 DNA 修复,抑制乳腺癌细胞活性,在乳腺癌发生发展中具有重要作用。魏灿^[19]研究发现,在经过槐耳溶液处理后的 786-O 和 A498 细胞中,PI3K、AKT 和 mTOR 的总量未有明显变化,但它们的磷酸化水平(p-PI3K、p-AKT、p-mTOR)均有下降;Wnt/13-catenin 信号通路中的 DVL2 和 Cyclin D1 等蛋白表达量也均有所下降,以上变化均呈浓度依赖性。本研究发现与对照组相比,槐耳颗粒、THP 和联合治疗组的关键基因 *c-Myc* 表达均呈下调趋势,联合治疗组下降趋势更为显著,这一结果与本研究荷瘤裸鼠生存状态及体质量变化结果相吻合。

Bcl-2 家族是一类分布在线粒体上的蛋白质,在细胞凋亡信号途径中发挥重要作用,参与线粒体凋亡通路^[20]。其中,Bcl-2 是抑制凋亡蛋白质,而 Bax 是促进凋亡蛋白质。本研究通过免疫组化法观察到 Bcl-2、Bax 蛋白阳性细胞均表现为胞浆着色及核膜着色,这与它们在细胞内的定位有关。细胞凋亡在肿瘤发生和发展中有重要意义,肿瘤的治疗主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡来实现的。本研究结果表明,联合治疗组、槐耳颗粒组和 THP 组均可通过下调 Ki-67 和 Bcl-2 蛋白表达和上调 Bax 蛋白表达,来抑制乳腺癌细胞增殖

和诱导细胞凋亡,最终达到抑制肿瘤的作用。其结果不仅说明槐耳颗粒有良好的治疗效果,同时也表明槐耳颗粒联合 THP 治疗具有深入研究的必要性和潜在的应用前景,为临床治疗提供了科学的依据。

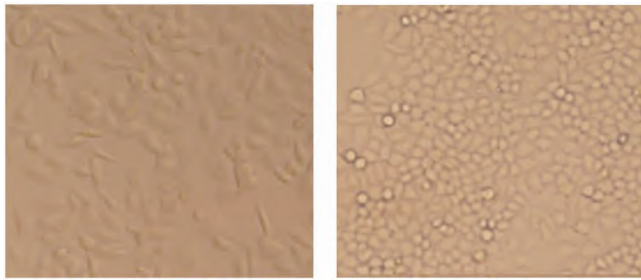
参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [3] Alamgeer M, Peacock CD, Matsui W, et al. Cancer stem cells in lung cancer: evidence and controversies [J]. Respirology, 2013, 18(5): 757-764.
- [4] 张蕴玉, 陆艳, 沈叶帆. 槐耳冲剂主要成份的含量测定 [J]. 江苏药学与临床研究, 1999, 7(2): 39-40.
- [5] Bai J, Geng W, Mei Y, et al. Effect of Huaier on the proliferation of mesangial cells in anti-Thy-1 nephritis, cellular physiology and biochemistry [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(6): 2441-2452.
- [6] 王伟. 槐耳调控乳腺癌分子网络的构建及关键分子 linc00339 的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [7] 瞿萍, 周芬, 谈玲芳, 等. 槐耳清膏联合常用化疗药物对人急性淋巴细胞白血病细胞 Nalm-6 和 Sup-B15 的影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(5): 1451-1458.
- [8] Chen Q, Cui XX, Liang PF, et al. Immunotherapy with dendritic cells and cytokine-induced killer cells for MDA-MB-231 breast cancer stem cells in nude mice [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(7): 2947-2955.
- [9] 庞春森, 吕艳, 孙雯雯, 等. 负载干细胞抗原的 DC 联合 CIK 细胞对乳腺癌荷瘤鼠肿瘤杀伤研究 [J]. 天津医药, 2014, 42(6): 554-557.
- [10] Wang Y, Lv H, Xu ZY, et al. Huaier n-butanol extract suppresses proliferation and metastasis of gastric cancer via C-Myc-Bmi1 axis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 447. DOI: 10.1038/s41598-018-36940-w.
- [11] Dey N, De P, Leyland-Jones B. PI3K-AKT-mTOR inhibitors in breast cancers: from tumor cell signaling to clinical trials [J]. Pharmacol Ther, 2017, 175: 91-106. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.037.
- [12] 卢训西, 国琳玮, 李小光, 等. PI3K/AKT/mTOR 通路及其抑制剂在乳腺癌中的应用现状 [J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(2): 154-160.
- [13] 吕赤. 槐耳清膏对结肠癌 SW480 细胞生长抑制作用及其机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2010.
- [14] 刘聪, 郭非非, 肖军平, 等. 杜仲不同部位化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 497-512.
- [15] 阚月一, 王娅杰, 李军, 等. 木鳖子淫羊藿合用配伍筛选及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 374-382.
- [16] Chen L, Wang J, Fan X, et al. LASP2 inhibits trophoblast cell migration and invasion in preeclampsia through inactivation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2021, 41(1): 67-73.
- [17] 屈淑贤, 韩涛, 刘永明, 等. 槐耳颗粒对老年乳腺癌 TC 方案辅助化疗安全性及免疫功能的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2020, 18(3): 73-76.
- [18] 姚远, 陈建建, 周学良, 等. TACE 联合中药治疗不可切除肝细胞癌的研究进展 [J]. 中华介入放射学电子杂志, 2019, 7(2): 130-134.
- [19] 魏灿. 槐耳对肾癌细胞的抑制作用及其机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [20] Sahi H, Koljonen V, Kavola H, et al. Bcl-2 expression indicates better prognosis of Merkel cell carcinoma regardless of the presence of Merkel cell polyomavirus [J]. Virchows Arch, 2012, 461(5): 553-559.

收稿日期: 2021-06-07 修回日期: 2021-07-14 本文编辑: 高申

郝莎,等. 槐耳联合化疗对荷乳腺癌裸鼠疗效观察

(正文见第946页)



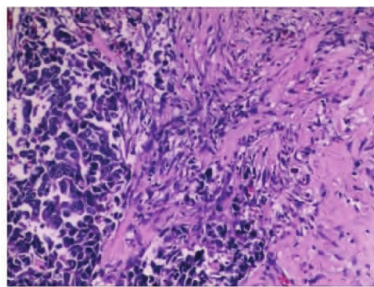
A MDA-MB-231 细胞 B MCF-7 细胞

图 1 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞的形态(200×)

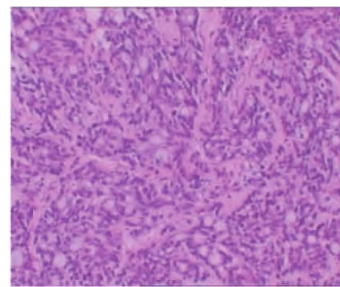


A 接种 MDA-MB-231 肿瘤干细胞 B 接种 MCF-7 肿瘤干细胞
裸鼠成瘤情况 裸鼠成瘤情况

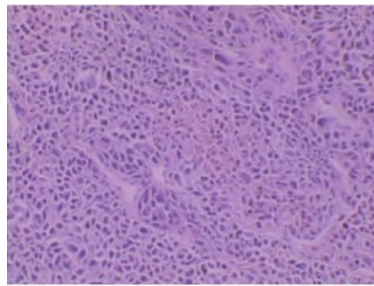
图 2 接种 CD44⁺CD24⁻细胞 Balb/c 裸鼠成瘤情况



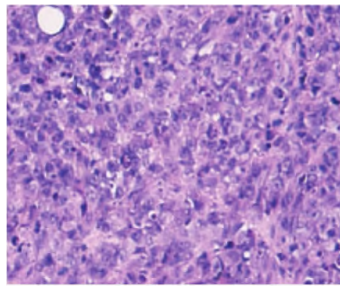
A 对照组



B 槐耳颗粒组

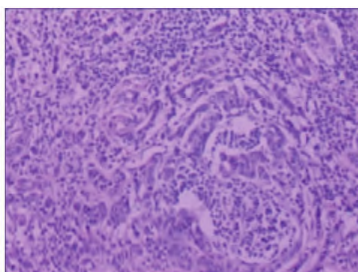


C 盐酸吡柔比星组

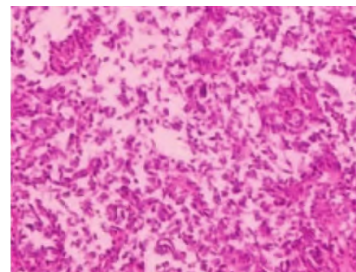


D 联合治疗组

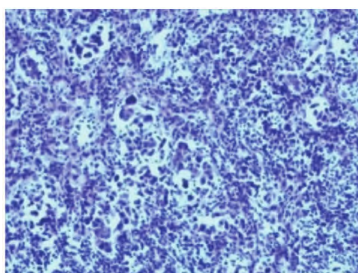
图 3 荷瘤 MDA-MB-231 细胞中 CD44⁺CD24⁻细胞裸鼠移植瘤组织切片(HE 染色,200×)



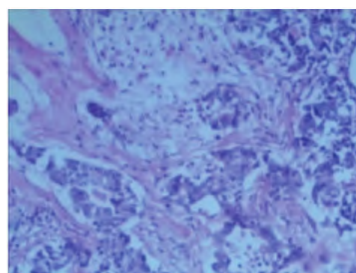
A 对照组



B 槐耳颗粒组



C 盐酸吡柔比星组



D 联合治疗组

图 4 荷瘤 MCF-7 细胞中 CD44⁺CD24⁻细胞裸鼠移植瘤组织切片(HE 染色,200×)