

# 扶正散结方对肺腺癌Bax、Bcl-2表达及肿瘤生长的影响

单京瑞<sup>1,2</sup>, 刘雅静<sup>1,2</sup>, 徐曼<sup>1,2</sup>, 陶玉坚<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>扬州大学附属医院呼吸与危重症科, 江苏 扬州

<sup>2</sup>扬州大学医学院, 江苏 扬州

收稿日期: 2024年4月7日; 录用日期: 2024年5月1日; 发布日期: 2024年5月9日

## 摘要

目的: 观察扶正散结方对肺腺癌Bax、Bcl-2表达及肿瘤生长的作用效果。方法: 建立肺腺癌H1299细胞裸鼠移植瘤模型, 将20只荷瘤鼠随机分成模型对照组(后简称对照组)和扶正散结方干预组(2.275 g/mL)(后简称扶正散结方组)、扶正散结方联合阳性药物替吉奥干预组(后简称联合组)及阳性药物替吉奥对照组(后简称阳照组), 每1 d灌胃给药1次, 于每次给药前测定各组荷瘤鼠体质量, 药物干预21 d后处死小鼠, 剥离瘤体并称量瘤体质量, 采用免疫组织化学染色检测不同处理组细胞Bax、Bcl-2表达水平。同时体外培养H1299细胞, 应用细胞计数试剂盒(CCK-8)检测不同浓度扶正散结方对细胞增殖的影响。结果: 与对照组[(22.8 ± 1.0) g]比较, 联合组[(19.10 ± 1.18) g]、阳照组[(20.10 ± 0.17) g]干预21 d后小鼠体质量增长均有明显下降( $P < 0.05$ )。与对照组瘤体质量(2.02 ± 0.38) g相比, 扶正散结方组、联合组、阳照组瘤体质量分别为(0.77 ± 0.25) g、(0.64 ± 0.43) g、(0.74 ± 0.27) g, 与对照组相比均明显减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。免疫组化结果显示, 扶正散结方组、联合组和阳照组的Bax蛋白表达水平均高于对照组, Bcl-2表达水平低于对照组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。各浓度扶正散结方均可对体外培养的H1299细胞的增殖产生抑制效果, 且此抑制效果随药物浓度增加与干预时间延长而提高。结论: 扶正散结方对肺腺癌生长具有抑制作用, 其可通过上调促凋亡蛋白, 下调抗凋亡蛋白的表达达成上述目标。同时体外实验也证明, 扶正散结方对肺腺癌H1299细胞的增殖具有抑制作用。即扶正散结方可通过促进凋亡及抑制增殖两方面实现抑制肿瘤生长。

## 关键词

扶正散结方, 肺腺癌, 移植瘤, Bax, Bcl-2

## Effects of Fu Zheng San Jie Fang on Bax and Bcl-2 Expression and Tumour Growth in Lung Adenocarcinoma

\*通讯作者。

文章引用: 单京瑞, 刘雅静, 徐曼, 陶玉坚. 扶正散结方对肺腺癌 Bax、Bcl-2 表达及肿瘤生长的影响[J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 178-186. DOI: 10.12677/acm.2024.1451412

Jingrui Shan<sup>1,2</sup>, Yajing Liu<sup>1,2</sup>, Man Xu<sup>1,2</sup>, Yujian Tao<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu

<sup>2</sup>Medical College, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu

Received: Apr. 7<sup>th</sup>, 2024; accepted: May 1<sup>st</sup>, 2024; published: May 9<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

**Objective:** To observe the effects of Fu Zheng San Jie Fang on the expression of Bax and Bcl-2 and tumour growth in lung adenocarcinoma. **Methods:** A lung adenocarcinoma transplantation model was established in nude mice with H1299 cells, and 20 tumor-bearing mice were randomly divided into a model control group (later referred to as the control group), an intervention group of Fu Zheng San Jie Fang (2.275 g/mL) (later referred to as the group of Fu Zheng San Jie Fang), an intervention group of Fu Zheng San Jie Fang combined with a positive drug, Tegio (later referred to as the combined group), and a control group of a positive drug, Tegio (later referred to as the positive control group), and the drug was administered by gavage once every 1 d. The body mass of rats in each group was measured before each administration of the drug, and the mice were executed after 21 d of drug intervention, the tumours were stripped and weighed, and the expression levels of Bax and Bcl-2 in the cells of different treatment groups were detected by immunohistochemical staining. At the same time, H1299 cells were cultured *in vitro*, and a cell counting kit (CCK-8) was applied to detect the effects of different concentrations of Fu Zheng San Jie Fang on cell proliferation. **Results:** Compared with the control group [(22.8 ± 1.0) g], there was a significant decrease in the growth of body mass of mice in the combined group [(19.10 ± 1.18) g] and the Yang-photographed group [(20.10 ± 0.17) g] after 21 d of the intervention ( $P < 0.05$ ). Compared with the tumour mass of the control group (2.02 ± 0.38) g, the tumour mass of the Fu Zheng San Jie Fang group, the combined group and the Yang Zhi group were (0.77 ± 0.25) g, (0.64 ± 0.43) g and (0.74 ± 0.27) g, respectively, which were all significantly reduced compared with the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemistry results showed that the expression level of Bax protein was higher in the Fu Zheng Dispersing Jie Fang group, the combined group and the sunshine group, and the expression level of Bcl-2 was lower than that of the control group, and the differences were all statistically significant ( $P < 0.05$ ). All concentrations of Fu Zheng San Jie Fang could inhibit the proliferation of H1299 cells cultured *in vitro*, and this inhibitory effect increased with the increase of drug concentration and the prolongation of intervention time. **Conclusion:** Fu Zheng San Jie Fang can inhibit the growth of lung adenocarcinoma by up-regulating the expression of pro-apoptotic proteins and down-regulating the expression of anti-apoptotic proteins. Meanwhile, *in vitro* experiments also proved that Fu Zheng San Jie Fang can inhibit the proliferation of lung adenocarcinoma H1299 cells. In other words, Fu Zheng San Jie Fang can inhibit tumour growth by promoting apoptosis and inhibiting proliferation.

## Keywords

Fu Zheng San Jie Fang, Lung Adenocarcinoma, Transplantation Tumour, Bax, Bcl-2

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

随着社会经济的发展以及周围环境、生活方式的改变,肺癌发病率、死亡率分别位居全球癌症发病谱、死亡谱的第2位和第1位。肺腺癌作为临床上常见的肺癌类型,其发生率在世界范围内呈上升趋势,在部分国家发生率已超越鳞癌,在我国约占肺癌发生的35% [1]。目前,肺腺癌的治疗方法主要包括手术治疗、放化疗、分子靶向治疗和免疫治疗等[2]。同时,中药在协同治疗肿瘤方面的应用越发广泛,取得不俗成果[3],研究显示,泽漆汤[4]可通过STAT3/S100A9/Bcl-2/Caspase-3信号通路诱导髓源性抑制细胞凋亡,从而抑制其免疫抑制活性;石泉玉珍汤[5]可显著提高Caspase-3、8、9活性,抑制移植瘤组织微血管形成,发挥抗肿瘤作用。但因药方中药物多,成分复杂,对其机制的研究仍有待进一步探索[6]。本课题组在验证复方治疗NSCLC临床效果的同时,建立动物模型,探讨扶正散结方对肺腺癌生长的影响,初步探索其作用机制。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

带荧光标记的人肺腺癌细胞株H1299(扬州大学胃癌邪毒实验室保存);BALB/c裸鼠60只,4~5周龄,雌性,体质量18~22g,购自扬州大学动物实验中心,于无特定病原(SPF)级环境饲养;RPMI 1640培养基、胎牛血清购自美国gibico公司;兔抗人B细胞淋巴瘤/白血病-2相关X蛋白(Bax)多克隆抗体和兔抗人B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)多克隆抗体购自杭州浩克生物技术有限公司;兔免疫组织化学检测试剂盒购自于北京中杉金桥生物技术有限公司;中药材(猫爪草、夏枯草、法半夏、白芥子、党参、黄芪、南沙参、黄精、莪术、生龙骨、生牡蛎、三棱)颗粒剂购自亳州市鹿娇娇中药材有限公司;替吉奥胶囊购自扬州大学附属医院。

### 2.2. 细胞培养

带荧光标记的人肺腺癌细胞株H1299采用RPMI 1640培养基复苏,调整细胞密度为 $1 \times 10^7$ /mL。进行后续实验研究。

### 2.3. 裸鼠移植瘤模型建立

无菌条件下,于裸鼠右前肢腋窝近背部0.3~0.5 cm处接种200  $\mu$ L H1299细胞悬液(浓度为 $1 \times 10^7$ /mL),接种后关注小鼠生存状态。待小鼠皮下移植瘤长径达5 mm后,挑选瘤体大小相近的小鼠20只,展开后续试验。

### 2.4. 动物分组及用药方案

将20只荷瘤鼠随机分成对照组和扶正散结方组(2.275 g/mL)(扶正散结方配比:三棱、白芥子、法半夏、莪术均为0.312 g;生牡蛎、生龙骨、党参、夏枯草、南沙参、黄精、黄芪0.468 g;猫爪草0.936 g。共计饮片5.46 g,溶于2.4 mL纯水)、联合组(扶正散结方+替吉奥)及阳性对照组(替吉奥胶囊0.52 mg/mL,1.04 mg替吉奥胶囊内粉剂溶于2 mL纯水),每组5只。各组荷瘤鼠每日晚8时经口灌胃0.4 mL治疗药物(溶于生理盐水),持续21 d。每日于药物干预前测量1次荷瘤鼠体质量。实验期内,小鼠未出现死亡。药物干预21 d后处死小鼠,剥离瘤体并称量瘤体质量。本研究经扬州大学附属医院医学科研伦理委员会审批通过(批号:2021-YKL10-01)。

### 2.5. 免疫组织化学检测肿瘤组织中Bax、Bcl-2的表达

常规石蜡切片脱蜡水化,EDTA抗原热修复10 min,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>封闭内源性过氧化物酶15 min,正常

山羊血清封闭 30 min; 滴加一抗, 4℃过夜; 滴加二抗, 在 37℃烘箱培育 30 min; 滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素, 二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色, 苏木精复染, 脱水、封片[7]。Bax、Bcl-2 蛋白染色评分标准按 Soslow [8] 等的方法, 在高倍显微镜( $\times 400$ )下随机选取 5 个视野, 按染色范围(阳性细胞百分比)评分, 阴性为 0 分, 阳性细胞百分比为 1%~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分。按染色强度评分, 无染色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。阳性细胞百分比评分和染色强度评分之积  $< 3$  分为阴性表达,  $\geq 3$  分为阳性表达。

## 2.6. CCK-8 检测

常规培养人肺腺癌细胞株 H1299, 待细胞处于对数生长期时, 按  $2 \times 10^4/\text{mL}$  于 96 孔板中每孔接种该细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ , 分为对照组和不同浓度(0.25、0.5、1、2、4 mg/mL)扶正散结方干预组, 每组设立 4 复孔, 培养箱环境调节为: 37℃、5%  $\text{CO}_2$ , 处理细胞 24 h、48 h, 检测时每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液, 待孵育 4 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处测定细胞吸光度。

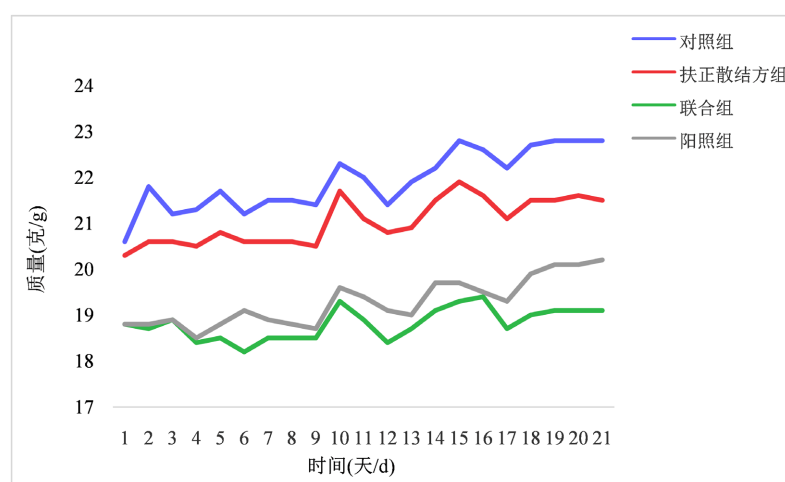
## 2.7. 统计学方法

应用 SPSS 19.0 统计软件分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。符合正态分布的组间比较采用  $t$  检验, 不符合正态分布的采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 各组药物对荷瘤鼠及皮下移植瘤生长的影响

每日于药物干预前测量 1 次荷瘤鼠体质量。各组药物干预后小鼠质量变化如图 1 所示。扶正散结方组、联合组、阳照组干预 21 d 后体质量分别为(21.50  $\pm$  2.50) g、(19.10  $\pm$  1.18) g、(20.10  $\pm$  0.17) g, 与对照组(22.8  $\pm$  1.0) g 比较, 联合组、阳照组小鼠体质量均有明显减轻(见表 1), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) ( $t = 6.821, P < 0.01$ ;  $t = 5.918, P < 0.001$ ), 联合组对小鼠体质量影响效果更为显著。剥离瘤体后称量瘤体质量, 与对照组(2.02  $\pm$  0.38) g 相比, 扶正散结方组、联合组、阳照组瘤体质量分别为(0.77  $\pm$  0.25) g、(0.64  $\pm$  0.43) g、(0.74  $\pm$  0.27) g, 与对照组相比均明显减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。



**Figure 1.** Effect of drugs in different groups on the body weight of tumor-bearing mice (Unit: g)

**图 1.** 各组药物对荷瘤鼠体质量的影响(单位: g)

**Table 1.** Effects of drugs in different groups on the body weight and subcutaneous transplanted tumor of tumor-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ) (Unit: g)

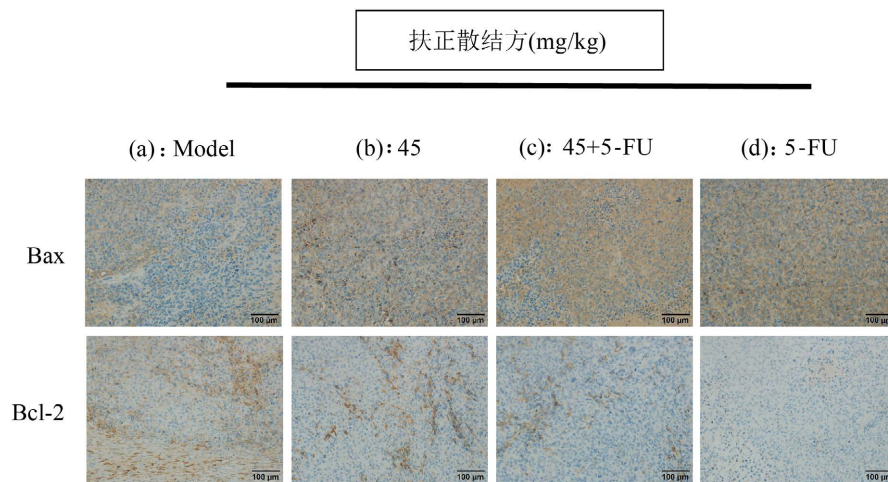
**表 1.** 各组药物对荷瘤鼠体质量及皮下移植瘤的影响( $\bar{x} \pm s$ ) (单位: g)

组别	1 d	7 d	14 d	21 d	瘤体质量
对照组	20.60 ± 1.56	21.50 ± 1.67	21.90 ± 1.48	22.80 ± 0.95	2.02 ± 0.38
扶正散结方组	20.30 ± 2.40	20.60 ± 2.19	20.90 ± 2.21	21.50 ± 2.50	0.77 ± 0.25 <sup>a</sup>
联合组	18.80 ± 0.70	18.50 ± 1.49	18.70 ± 1.00	19.10 ± 1.18 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.43 <sup>a</sup>
阳照组	18.80 ± 1.33	18.90 ± 1.50	19.00 ± 0.91	20.10 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.27 <sup>a</sup>

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 3.2. 各组药物对荷瘤鼠皮下移植瘤 Bax、Bcl-2 表达的影响

Bax、Bcl-2 蛋白阳性表达主要为细胞质中出现棕黄色颗粒(图 2), 其蛋白表达情况见表 2、表 3。免疫组化结果显示, 扶正散结方组、联合组和阳照组的 Bax 蛋白表达水平平均高于对照组, 其中联合组和阳照组蛋白表达水平显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ; 见图 3)。联合组 Bax 表达水平略高于阳照组, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ; 见图 3)。扶正散结方组 Bax 表达水平低于阳照组, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ; 见图 3)。与对照组相比, 各干预组的 Bcl-2 蛋白表达水平平均低于对照组, 其中联合组和阳照组蛋白表达水平显著降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ; 见图 4)。联合组 Bcl-2 表达水平略低于阳照组, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ; 见图 4)。扶正散结方组 Bcl-2 表达水平高于阳照组, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ; 见图 4)。



**Figure 2.** Expression of Bax and Bcl-2 proteins in transplanted tumor tissues of nude mice in different groups, immunohistochemical staining,  $\times 400$ . (a) Control group; (b) Fu Zheng San Jie Fang group; (c) Combination group; (d) Positive control group

**图 2.** 各组裸鼠移植瘤组织中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达情况, 免疫组织化学染色,  $\times 400$ 。(a) 对照组; (b) 扶正散结方组; (c) 联合组; (d) 阳照组

**Table 2.** Expression of Bax protein in transplanted tumor tissues of nude mice in different groups (Unit: individual)

**表 2.** 各组裸鼠移植瘤组织中 Bax 蛋白的表达情况(单位: 只)

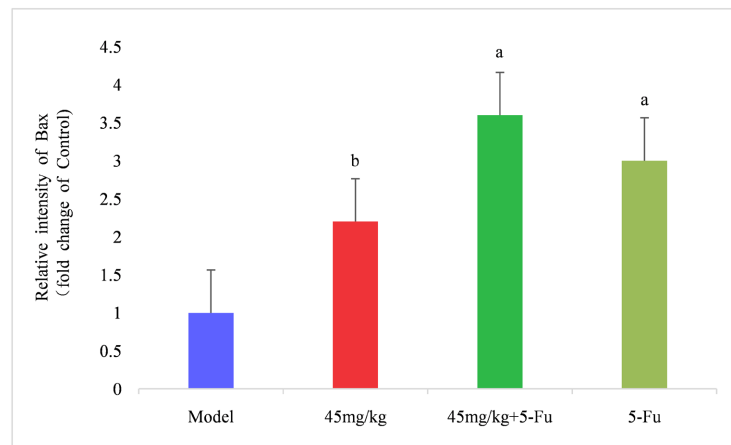
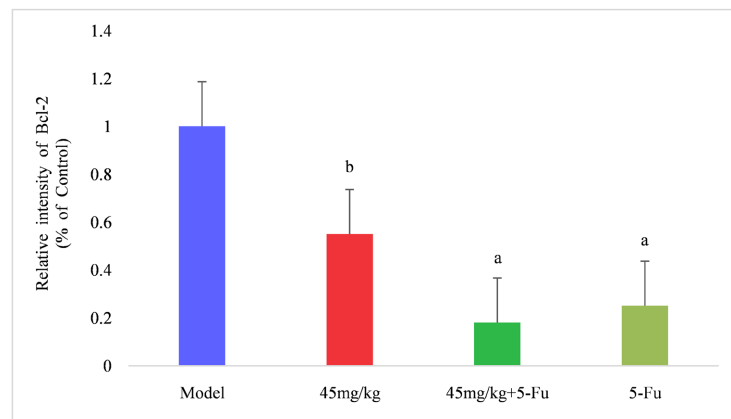
组别	鼠数(只)	染色范围	染色强度	Bax 蛋白	
				阴性表达	阳性表达
对照组	5	1 分	1 分	5	0

续表

扶正散结方组	5	3分	2分	2	3
联合组	5	4分	3分	0	5
阳照组	5	3分	2分	0	5

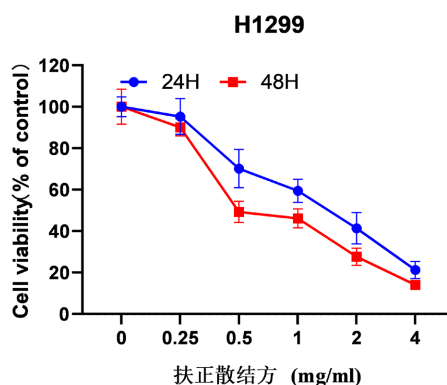
**Table 3.** Expression of Bcl-2 protein in transplanted tumor tissues of nude mice in different groups (Unit: individual)**表 3.** 各组裸鼠移植瘤组织中 Bcl-2 蛋白的表达情况(单位: 只)

组别	鼠数(只)	染色范围	染色强度	Bcl-2 蛋白	
				阴性表达	阳性表达
对照组	5	4分	3分	0	5
扶正散结方组	5	1分	1分	4	1
联合组	5	1分	1分	5	0
阳照组	5	1分	1分	5	0

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。**Figure 3.** Immunohistochemical detection of relative expression of Bax protein in transplanted tumor tissues of nude mice in different groups**图 3.** 免疫组化检测各组裸鼠移植瘤组织中 Bax 蛋白的相对表达情况注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。**Figure 4.** Immunohistochemical detection of relative expression of Bcl-2 protein in transplanted tumor tissues of nude mice in different groups**图 4.** 免疫组化检测各组裸鼠移植瘤组织中 Bcl-2 蛋白的相对表达情况

#### 4. 扶正散结方对 H1299 细胞增殖的影响

CCK-8 法检测不同干预时间(24 h, 48 h)和不同浓度(0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 4 mg/mL)扶正散结方对体外培养的 H1299 细胞增殖的影响。结果显示(图 5), 不同浓度扶正散结方处理后, H1299 细胞存活率出现不同程度下降, 且浓度越高、干预时间越长, 存活率下降越显著、迅速。扶正散结方作用 24 小时、48 小时的半抑制浓度( $IC_{50}$ )分别为( $1.37 \pm 0.08$ )、( $0.78 \pm 0.10$ ) mg/mL, 呈现量效和时效关系。



**Figure 5.** Effects of Fu Zheng San Jie Fang on the proliferation of H1299 cells at different time points and concentrations (%)

**图 5.** 不同时间、不同浓度扶正散结方对 H1299 细胞增殖的影响(%)

#### 5. 讨论

在经济发展及生活环境的影响下, 肺癌发病率、死亡率高居全球癌症发病谱、死亡谱的前列。其中, 肺腺癌发生率在世界范围内呈上升趋势, 在部分国家发生率已超越鳞癌[1]。由于其发病隐匿, 早期易被忽视, 大多数患者发现时已步入中晚期, 肿瘤细胞出现扩散、转移, 错过手术时机, 临床通常采用放疗、化疗方式抑制其发展, 但因药物刺激性比较强, 长期使用易导致头痛、恶心呕吐等不良反应[9]。目前研究发现, 中医药协同治疗肺癌方面取得一定成果[6], 能有效地控制病情进展, 提高患者的生存质量, 具有良好的应用前景。

中医发现肺癌病机为“正气不足, 肺络空虚”“痰瘀毒结, 阻于肺络”等, 机体正气不足, 肺络空虚, 邪气侵袭, 痰浊瘀血内生, 阻于肺络, 郁瘀化热, 热毒壅滞, 阻碍气血运行, 因此, 肺癌的中医治疗应以扶正祛邪、散结通络为原则[10]。扶正散结方正是根据肺癌中医药治疗理论及本课题组长期临床实践总结而来的验方, 方剂中诸药合用可达扶正祛邪之功。现代药理学研究表明, 扶正散结方中诸多药物具有抗包括肝癌[11]、胰腺癌[12]、肺腺癌[13]在内的多种肿瘤的作用。目前, 扶正散结方治疗肺腺癌的作用机制尚不明确, 本研究通过构建裸鼠移植瘤模型, 观察扶正散结方对肿瘤生长的影响, 探究其对 Bax、Bcl-2 蛋白表达的作用及机制。

肺腺癌发生进展的机制繁多, 除细胞增殖失控和分化异常, 其与细胞凋亡的失控也存在密切关联, 存在于恶性肿瘤中的自发凋亡可能是促使肿瘤消退从而实现自身治疗肿瘤的机制[14], Yu [15]等研究者对 A549 细胞中 DACH1 蛋白的研究证实了这一观点, 他们发现, 在 A549 细胞中沉默 DACH1 表达后, 细胞增殖显著增强, 细胞侵袭显著增加, 自发凋亡显著减少, 凋亡失控导致局部细胞过度增殖促进肿瘤形成。随着对细胞凋亡机制的深入研究, 有学者发现, 细胞凋亡过程受基因调控[16]。细胞凋亡主要途径

之一的线粒体途径受 Bcl-2 家族调控。Chipuk J E [17]的研究发现, Bcl-2 家族蛋白(包括抗凋亡蛋白及促凋亡蛋白)对于细胞凋亡与生存起到重要调控作用。Bcl-2 蛋白作为 Bcl-2 家族中最具有代表性的抑制凋亡基因,通过抑制 Caspase(半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶)等蛋白酶的激活拮抗细胞凋亡[18]。Caspase 是一种参与细胞凋亡的半胱氨酸蛋白酶,处于细胞凋亡传导通路的核心位置[19] [20],其中, Caspase-3 是凋亡执行因子,起核心作用[21] [22]。Bcl-2 具有抑制 Caspase-3 的激活与合成功能,抑制细胞凋亡,破坏细胞增殖与凋亡间的平衡,导致肿瘤发生,促进肿瘤进展[23]。Bax 蛋白对 Bcl-2 蛋白活性具有负向调控作用,是 Bcl-2 家族中最具代表性的促进凋亡的基因[18]。促进凋亡的内在途径可由任何引起氧化应激、线粒体紊乱和 DNA 损伤的刺激物触发,线粒体损伤可导致线粒体外膜透化,促进细胞色素 c 释放到细胞质中,释放的细胞色素 c 通过激活 procaspase-9 并形成称为“凋亡体”的复合物来触发凋亡级联反应[24], Bax 与 Bcl-2 形成同源二聚体促进凋亡因子, Bcl-2 家族以此来调控细胞凋亡。Bcl-2/Bax 比值的高低决定了细胞在接收到凋亡信号后是否执行,与肿瘤凋亡的调控直接相关[25]。Bax 表达增高, Bcl-2 表达降低, Bcl-2/Bax 比值下调, Bax 同源二聚体占优势,促凋亡作用被激活,细胞走向凋亡;反之 Bcl-2 表达增高, Bax 表达降低, Bcl-2/Bax 比值上调,则促进细胞生存。

本研究建立裸鼠皮下移植瘤模型,药物干预后观察各组药物对荷瘤小鼠及瘤体质量的影响,结果显示,对比对照组,联合组、阳照组小鼠体质量增长均有明显下降,各干预组瘤体质量相较对照组明显减少,表明以上各组药物可抑制肿瘤生长,扶正散结方与替吉奥联用对抑制裸鼠移植瘤的生长具有协同作用。运用免疫组织化学染色检测各药物对肺腺癌细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 表达的影响,结果显示,扶正散结方组、联合组及阳照组均能上调 Bax 蛋白表达,下调 Bcl-2 蛋白表达,联合组效果最显著。由此说明,扶正散结方具有促进促凋亡基因、抑制抗凋亡基因表达的作用,对阳性药物具有强化疗效、协同治疗的辅助功效,影响肿瘤凋亡,实现抑制肿瘤生长。

随后,本研究采用 CCK-8 法检测各浓度扶正散结方对肺腺癌 H1299 细胞增殖的影响,与对照组比较,同一时间不同浓度(0.25、0.5、1、2、4 mg/mL)扶正散结方均可抑制肺腺癌细胞增殖,(在研究观察浓度范围内)抑制效果随浓度增加而增加。同一浓度不同时间扶正散结方干预 H1299 细胞效果也有差异,(研究观察时间内)时间越久干预效果越显著。说明扶正散结方对肺腺癌的治疗效果一定程度来源于抑制肿瘤细胞增殖。这种对增殖的抑制呈一定的时间与浓度依赖性,证明扶正散结方可调控肿瘤细胞增殖的进程,实现抑制肿瘤生长的目标。

综上所述,扶正散结方具有抑制肺腺癌生长的作用,其抑制肿瘤生长的作用机制可能与抑制细胞增殖、促进细胞凋亡相关,细胞凋亡则与上调 Bax、下调 Bcl-2 蛋白表达关系密切,且在与替吉奥联用这种抑制肺腺癌生长的作用较单用替吉奥更为优异。

## 基金项目

江苏省中医药科技发展计划项目(MS2021105)。

## 参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics2020:Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Tada, A., Kato, H. and Hasegawa, S. (2000) Antagonistic Effect of EGF Against TGF Beta1 on Transformed Phenotype and Tropomyosin Expression of Human Lung Carcinoma A549 Cells. *Oncology Reports*, **7**, 1323-1326. <https://doi.org/10.3892/or.7.6.1323>
- [3] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会肿瘤学分会肺癌临床诊疗指南(2021 版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(6): 591-621. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112152-20210207-00118>



- [4] Xu, Z.H., Zhu, Y.Z., Su, L., *et al.* (2021) Ze-Qi-Tang Formula Induces Granulocytic Myeloid-Derived Suppressor Cell Apoptosis via STAT3/S100A9/Bcl-2/Caspase-3 Signaling to Prolong the Survival of Mice with Orthotopic Lung Cancer. *Mediators of Inflammation*, **2021**, Article ID: 8856326. <https://doi.org/10.1155/2021/8856326>
- [5] Sun, Z.D., Shen, K.P., Xie, Y.G., *et al.* (2021) Shiquan Yuzhen Decoction Inhibits Angiogenesis and Tumor Apoptosis Caused by Non-Small Cell Lung Cancer and Promotes Immune Response. *American Journal of Translational Research*, **13**, 7492-7507.
- [6] 吴剑, 滕国英. 中药诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展[J]. 国际医药卫生导报, 2007, 13(8): 114-117. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2007.08.045>
- [7] 郭平, 梁广, 杨树林. 莪术醇的医药研究进展[J]. 中国医药, 2016, 11(5): 768-772. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2016.05.036>
- [8] 王迪, 赵健, 周天, 等. 黄精多糖药理作用机制研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2023, 45(1): 122-125.
- [9] Zheng, S. (2020) Protective Effect of Polygonatum Sibiricum Polysaccharide on D-Galactose-Induced Aging Rats Model. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 2246. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59055-7>
- [10] 尹新军, 王贝贝, 李新建, 等. 黄精多糖对自身免疫性心肌炎大鼠 JAK/STAT 通路及心肌纤维化的影响[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(1):26-32. <https://doi.org/10.13431/j.cnki.immunol.j.20210004>
- [11] 丁杰英, 李嘉斌, 郑妮. 滇黄精多糖对四氯化碳所致肝损伤大鼠氧化因子、凋亡因子的影响[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(10): 1766-1771. <https://doi.org/10.16190/j.cnki.45-1211/r.2020.10.002>
- [12] 田彦璋, 高飞, 赵海潮, 等. 黄芪甲苷逆转人肝癌 HepG2/GCS 细胞多药耐药的作用及其机制[J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(8): 555-559. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2018.08.014>
- [13] 蔡秀珍, 张曼, 刘涛. 黄芪甲苷抑制胰腺癌 PANC1 细胞恶性生物学行为及其作用机制[J]. 中华胰腺病杂志, 2021, 21(2): 132-134. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn115667-20191206-00106>
- [14] 金红, 杨岚, 张黎, 等. 双氢青蒿素和吉非替尼联用对肺癌 NCI-H1975 细胞凋亡相关蛋白 Bax 与 Bcl-2 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(23): 5806-5810.
- [15] Yu, J., Jiang, P., Zhao, K., *et al.* (2021) Role of DACH1 on Proliferation, Invasion, and Apoptosis in Human Lung Adenocarcinoma Cells. *Current Molecular Medicine*, **21**, 806-811. <https://doi.org/10.2174/1566524021666210119094633>
- [16] 薛斌. 二氢青蒿素抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖机制研究[D]: [博士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2007.
- [17] Chipuk, J.E., Moldoveanu, T., Llambi, F., *et al.* (2010) The BCL-2 Family Reunion. *Molecular Cell*, **37**, 299-310. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.025>
- [18] McDonnell, T.J., Troncoso, P. and Brisbay, S.M. (1992) Expression of the Protooncogene Bcl-2 in the Prostate and Its Association with Emergence of Androgen-Independent Prostate Cancer. *Cancer Research*, **52**, 6940-6944.
- [19] Rajavel, T., Packiyaraj, P., Suryanarayanan, V., *et al.* (2018)  $\beta$ -Sitosterol Targets Trx/Trxl Reductase to Induce Apoptosis in A549 Cells via ROS Mediated Mitochondrial Dysregulation and P53 Activation. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 2071. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20311-6>
- [20] Liu, L., Huang, L., He, J., *et al.* (2019) PTEN Inhibits Non-small Cell Cancer Cell Growth by Promoting G0/G1 Arrest and Cell Apoptosis. *Oncology Letters*, **17**, 1333-1340. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9719>
- [21] 李元滨, 林丽珠, 王超, 等. 益气除痰方联合顺铂对肺癌耐药皮下移植瘤生长及 Bax、Bcl-2 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(2): 755-758.
- [22] 刘大锐, 李报春, 李怀东. 细胞凋亡核心基因 Caspase 家族的研究进展[J]. 中国医药导刊, 2020, 22(11): 800-805.
- [23] Cheng, E.H., Kirsch, D.G., Clem, R.J., *et al.* (1997) Conversion of Bcl-2 to a Bax-Like Death Effector by Caspases. *Science*, **278**, 1966-1968. <https://doi.org/10.1126/science.278.5345.1966>
- [24] Gudipaty, S.A., Conner, C.M., Rosenblatt, J. and Montell, D.J. (2018) Unconventional Ways to Live and Die: Cell Death and Survival in Development, Homeostasis, and Disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, **34**, 311-332. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060748>
- [25] Renault, T.T., Teijido, O., Antonsson, B., *et al.* (2013) Regulation of Bax Mitochondrial Localization by Bcl-2 and Bcl-X<sub>L</sub>: Keep Your Friends Close But Your Enemies Closer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **45**, 64-67. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.09.022>