

实验研究

理冲生髓饮对卵巢癌 SKOV3 细胞周期和凋亡影响

付 杨¹ 杨莉莉¹ 韩凤娟²

(1 黑龙江中医药大学, 哈尔滨, 150040; 2 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨, 150040)

摘要 目的:探讨理冲生髓饮对卵巢癌 SKOV3 细胞周期和凋亡影响。方法:以卵巢癌 SKOV3 细胞为研究对象,采用 CCK-8 法检测不同浓度顺铂对 SKOV3 细胞抑制作用,Annexin V-FITC 法检测 SKOV3 细胞凋亡情况,细胞周期与细胞凋亡检测试剂测定 SKOV3 细胞周期变化,流式细胞术检测 SKOV3 细胞中 CD44⁺ CD117⁺ 细胞比例。结果:与空白组比较,24 h 和 48 h 顺铂组 SKOV3 细胞凋亡率明显增加,G₀/G₁ 期细胞比例降低,S 期细胞比例升高,CD44⁺ CD117⁺ 细胞比例明显增加,与顺铂组比较,24 h 和 48 h 理冲生髓饮联合顺铂组 SKOV3 细胞凋亡率明显增加,G₁ 期细胞比例降低,S 期细胞比例升高,CD44⁺ CD117⁺ 细胞比例明显降低,其中理冲生髓饮中剂量组联合顺铂组作用效果最强。结论:理冲生髓饮具有抗肿瘤作用,其机制可能是增加顺铂对卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡,调控细胞周期阻滞,降低卵巢癌 SKOV3 细胞中干细胞数量。

关键词 理冲生髓饮;卵巢癌 SKOV3 细胞;卵巢癌干细胞;细胞周期;细胞凋亡

Effects of Lichong Shengsui Decoction on Cycle and Apoptosis of Ovarian Cancer SKOV3 Cells

Fu Yang¹, Yang Lili¹, Han Fengjuan²

(1 Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2 First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract Objective: To explore the effects of Lichong Shengsui decoction on cycle and apoptosis of ovarian cancer SKOV3 cells. **Methods:** Taking ovarian cancer SKOV3 cells as the research objects, the inhibitory effect of different concentrations of cisplatin on SKOV3 cells was detected by CCK-8 method. The apoptosis of SKOV3 cells was detected by Annexin V-FITC method. The cycle changes of SKOV3 cells was detected with the cell cycle and apoptosis detection reagents, and the ratio of CD44⁺ CD117⁺ cells in SKOV3 cells was detected by flow cytometry. **Results:** Compared with the blank group, the apoptosis rate of SKOV3 cells in the cisplatin group was significantly increased in the 24 h and 48 h. The proportion of cells in G₀/G₁ phase was decreased, the proportion of cells in S phase cells was increased, and the proportion of CD44⁺ CD117⁺ cells was significantly increased. Compared with the cisplatin group, the apoptosis rate of SKOV3 cells in Lichong Shengsui Decoction combined with cisplatin was significantly increased in the 24 h and 48 h. The proportion of cells in G₁ phase was decreased, the proportion of cells in S phase was increased, and the proportion of CD44⁺ CD117⁺ cells was significantly decreased. Among them, the middle dose of Lichong Shengsui Decoction combined with cisplatin group had the strongest effects. **Conclusion:** Lichong Shengsui Decoction has anti-tumor effect, and its mechanism maybe increase the apoptosis of ovarian cancer SKOV3 cells by cisplatin, regulate cell cycle arrest and decrease the number of stem cells in ovarian cancer SKOV3 cells.

Key Words Lichong Shengsui Decoction; Ovarian cancer SKOV3 cells; Ovarian cancer stem cells; Cell cycle; Cell apoptosis
中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.06.008

卵巢癌死亡率居女性生殖系统恶性肿瘤第一位,病因和发病机制尚不明确。据统计全世界范围内每年有将近 20 万例患者被诊断为卵巢癌,12.5 万例患者死亡^[1]。理想的肿瘤细胞减灭术辅以系统的铂类药物为基础的化疗是卵巢癌的规范性治疗方案,尽管患者对肿瘤细胞减灭术和化疗最初治疗反应良好,而多数患者会因复发最终导致死亡,对铂类制剂的敏感程度决定卵巢癌患者最终疾病进展,化疗耐药是卵巢癌复发和治疗失败的最主要原因之

一^[2-3]。自 20 世纪 70 年代肿瘤干细胞学说提出以来,肿瘤干细胞被认为是肿瘤治疗失败的根本原因,干细胞特殊的生物学特性存在决定了肿瘤干细胞成为肿瘤治疗过程中的巨大障碍。有研究者提出,消灭肿瘤干细胞的多能性和自我更新能力可阻止上皮性卵巢癌疾病的进展和消除化疗耐药及其引起的复发^[4,5]。因此,靶向消灭卵巢癌干细胞成为科研工作者的一个研究方向。课题组基于“温煦肾阳,搜剔胞络瘀滞”提出理冲生髓饮组方,该组方临床研究发

基金项目:国家自然科学基金项目(81473717)

作者简介:付杨(1989.04—),女,博士研究生在读,研究方向:中医妇科,E-mail:hlj_fy890229@163.com

通信作者:韩凤娟(1971.06—),女,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中西医结合治疗妇科肿瘤,E-mail:hanfengjuan2004@163.com

可减轻卵巢癌化疗患者化疗反应、提高机体免疫力,进而达到抗肿瘤作用,然而作用机制并不明确。基于此本研究探讨理冲生髓饮对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、凋亡以及亚细胞表型影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 大鼠,雌性,体质量 180 ~ 220 g,购于黑龙江中医药大学动物实验中心,饲养于黑龙江中医药大学妇科药理实验室,温度(25 ± 2)℃,湿度 45% ~ 50%。

1.1.2 药物 理冲生髓饮有效药物组成:莪术、三棱、人参、黄芪、水蛭、浙贝母、鹿茸、淫羊藿,中药购于黑龙江中医药大学附属第一医院中药局。

1.1.3 试剂与仪器 青霉素和链霉素溶液(美国 hyclone 公司,批号:J170012)、胰蛋白酶(美国 hyclone 公司,批号:J180025)、1640 培养液(美国 hyclone 公司,批号:AD17321268);胎牛血清(美国 gibco 公司,批号:1989478);CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司,批号:LQ727);FITC Mouse Anti-Human CD44(美国 BD 公司,批号:5275777),PE Mouse Anti-Human CD117(美国 BD 公司,批号:5153811);APC Mouse Anti-Human CD133(美国 BD 公司,批号:5160823188);Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(天津三箭生物技术有限公司,批号:AGZ20)和细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术研究,批号:0101419190308);光学显微镜(日本 Olympus 公司,型号:IX51);酶标仪(瑞士 TECAN 公司,型号:Infinite M200 Pro);人卵巢癌 SKOV3 细胞株(上海中桥新舟生物技术有限公司,货号:ZQ0074)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

1.2.1.1 卵巢癌细胞培养和实验分组 卵巢癌细胞 SKOV3 用含 10% FBS 的 1640 培养基置于 37℃,5% CO₂ 培养箱中进行培养,3 ~ 4 d 进行传代处理,取对数生长期细胞进行相关实验研究,实验分为:空白组:正常培养基培养、顺铂组:10 μg/mL 顺铂、理冲生髓饮低剂量 + 顺铂组:10% 含药血清 + 10 μg/mL 顺铂,理冲生髓饮中剂量 + 顺铂组:10% 含药血清 + 10 μg/mL 顺铂,理冲生髓饮高剂量 + 顺铂组:10% 含药血清 + 10 μg/mL 顺铂,共 5 组。

1.2.1.2 理冲生髓饮含药血清制备 SD 大鼠适应性喂养 1 周,随机分为空白组、理冲生髓饮低、中、高剂量组,每组 8 只,理冲生髓饮低剂量组予有效组分 2.66 g/kg(相当于中药饮片 8.55 g/kg),中剂量组

给予有效组分 5.32 g/kg(相当于中药饮片 17.1 g/kg),高剂量组予有效组分 10.64 g/kg(相当于中药饮片 34.2 g/kg),蒸馏水稀释有效组分;空白组予同体积蒸馏水,连续灌胃 7 d。于末次给药结束 2 h 眼眶取血,室温下静置 30 min,离心机 3 500 r/min 4℃ 离心 10 min,抽取血清 0.22 μm 无菌条件下过滤 2 次,56℃ 恒温水浴锅灭活 30 min,置 -80℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 给药方式 取对数生长期卵巢癌 skov3 细胞以 10⁴ 接种于 24 孔培养板中培养 12 h,再分别加入不同浓度含药血清及顺铂干预 24 h 或者 48 h,收集细胞用于后期实验。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 CCK-8 检测顺铂对卵巢癌细胞增殖抑制作用 取对数生长期人卵巢癌 SKOV3 细胞,调整细胞密度为 10⁴/mL 加入 96 孔培养板,每孔加入 100 μL 置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中孵育待细胞铺满瓶底后加入顺铂浓度梯度为 0 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、25 μg/mL、30 μg/mL,每孔加入含顺铂的培养液 100 μL,每个浓度重复 5 个复孔,继续培养 24 h,干预结束后每孔加入 10 μL 的 CCK-8 继续孵育 4 h,酶标仪检测 450 nm 处的吸光度值。根据吸光度值计算顺铂对 SKOV3 细胞抑制率,求算 IC₅₀ 值。

1.2.3.2 Annexin V-FITC 法检测理冲生髓饮联合顺铂对 SKOV3 细胞的凋亡情况影响 取对数生长期人卵巢癌 SKOV3 细胞,调整细胞密度为 10⁴/mL 加入 6 孔培养板,每孔加入 2 000 μL 置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中孵育 24 h,实验分为空白组、顺铂组、顺铂 + 低剂量组、顺铂 + 中剂量组和顺铂 + 高剂量组,每孔加入 2 000 μL 含有相应药物的培养基,继续培养 24 h 和 48 h,胰酶进行消化收集细胞,进行细胞计数,PBS 洗涤 2 次,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入 195 μL Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬细胞,加入 5 μL Annexin V-FITC,轻轻混匀,加入 10 μL 碘化丙啶染色液,混匀,室温避光孵育 20 min,孵育完成进行流式细胞仪检测。

1.2.3.3 流式细胞术检测理冲生髓饮联合顺铂对 SKOV3 细胞周期调控影响 取对数生长期人卵巢癌 SKOV3 细胞,调整细胞密度为 10⁴/mL 加入 6 孔培养板,每孔加入 2 000 μL 置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中孵育 24 h,实验分为空白组、顺铂组、顺铂 + 低剂量组、顺铂 + 中剂量组和顺铂 + 高剂量组,每孔加入 2 000 μL 含有相应药物的培养基,继续培养 24 h

和 48 h, 胰酶进行消化收集细胞, 进行细胞计数, 加入 1 mL 冰浴预冷 70% 乙醇, 轻轻吹打混匀, 4 °C 固定 2 h。1 000 r/min 离心 3 ~ 5 min, 沉淀细胞, 加入 1 mL 冰浴预冷的 PBS, 重悬细胞, 1 000 r/min 左右离心 3 ~ 5 min 离心弃上清, 每管细胞样品中加入染色缓冲液 0.5 mL, PI 染色液 25 μL, RNase A 10 μL, 重悬细胞, 37 °C 避光温浴 30 min, 用流式细胞仪在激发波长 488 nm 波长处检测红色荧光, 同时检测光散射情况。采用 MODFIT 分析软件进行细胞 DNA 含量分析和光散射分析。

1.2.3.4 理冲生髓饮联合顺铂对 SKOV3 细胞中 CD44⁺CD117⁺ 的比例 取对数生长期人卵巢癌 SKOV3 细胞, 调整细胞密度为 10⁴/mL 加入 6 孔培养板, 每孔加入 2 000 μL 置于 5% CO₂, 37 °C 培养箱中孵育 24 h, 实验分为空白组、顺铂组、顺铂 + 低剂量组、顺铂 + 中剂量组和顺铂 + 高剂量组, 每孔加入 2 000 μL 含有相应药物的培养基, 继续培养 24 h, 胰酶进行消化收集细胞, 进行细胞计数, PBS 洗涤 2 次, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加入 100 μL PBS 重悬细胞, 加入 20 μL FITC 小鼠抗人 CD44、5 μL PE 小鼠抗人 CD117、10 μL APC 小鼠抗人 CD133, 混匀, 避光孵育 20 min, 孵育结束后, 加入 2 mL PBS 洗涤细胞, 1 000 r/min 离心 5 min 弃上清, 加入 500 μL PBS 重悬细胞, 上机进行检测。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析, 所得计量数据资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组间比较采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 顺铂对 SKOV3 细胞增殖抑制作用影响 显微镜下观察不同浓度的顺铂对 SKOV3 细胞增殖及形态影响, 随着顺铂浓度的升高贴壁细胞数量逐渐减少, 凋亡细胞呈悬浮状态并且伴有细胞形态的改变。见图 1。不同浓度顺铂对 SKOV3 细胞抑制作用影响, 从图中可以看出 SKOV3 细胞存活率随着顺铂浓度的增加而降低, 与顺铂浓度呈负相关, 根据曲线进行拟合算出顺铂的 IC₅₀ 值为 23.19 μg/mL。见图 2。

2.2 理冲生髓饮联合顺铂对 SKOV3 细胞凋亡影响 与空白组比较, 药物处理 24 h 和 48 h 的顺铂组 SKOV3 细胞凋亡率明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 顺铂联合低剂量组、顺铂联合中剂量组和顺铂联合高剂量组 SKOV3 细胞凋亡率增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与顺铂组比较, 药物处理 24 h 的顺铂联合低剂量组、顺铂联合中剂量组 SK-

OV3 细胞凋亡率明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 顺铂联合高剂量组 SKOV3 细胞凋亡没有明显变化; 药物处理 48 h 的顺铂联合中剂量组、顺铂联合高剂量组 SKOV3 细胞凋亡率明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 顺铂联合低剂量组 SKOV3 细胞凋亡没有明显变化。见表 1、图 3。

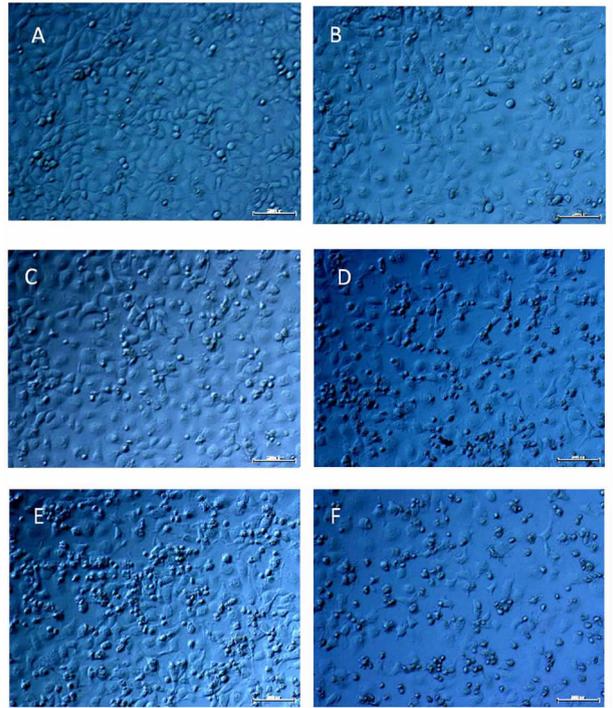


图 1 不同浓度顺铂对 SKOV3 细胞增殖和形态学影响

注: A-F 图顺铂浓度依次为 0 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、25 μg/mL、30 μg/mL

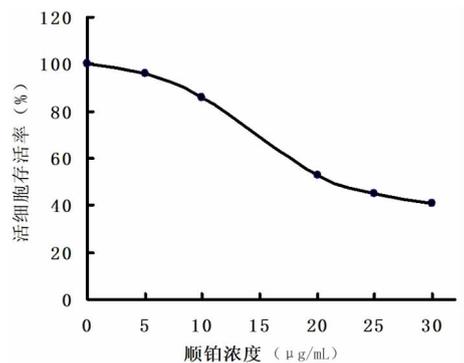


图 2 顺铂对 SKOV3 细胞抑制水平影响

表 1 理冲生髓饮联合顺铂对 SKOV3 细胞凋亡情况影响 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	24 h 凋亡率	48 h 凋亡率
空白组	28.61 ± 0.25	14.33 ± 1.24
顺铂组	54.31 ± 1.65 *	84.81 ± 1.56 *
低剂量 + 顺铂组	67.40 ± 1.63 * [△]	86.05 ± 0.89 *
中剂量 + 顺铂组	51.19 ± 0.86 * [△]	96.03 ± 0.95 * [△]
高剂量 + 顺铂组	52.56 ± 3.33 *	93.45 ± 0.96 * [△]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与顺铂组比较, [△] $P < 0.05$

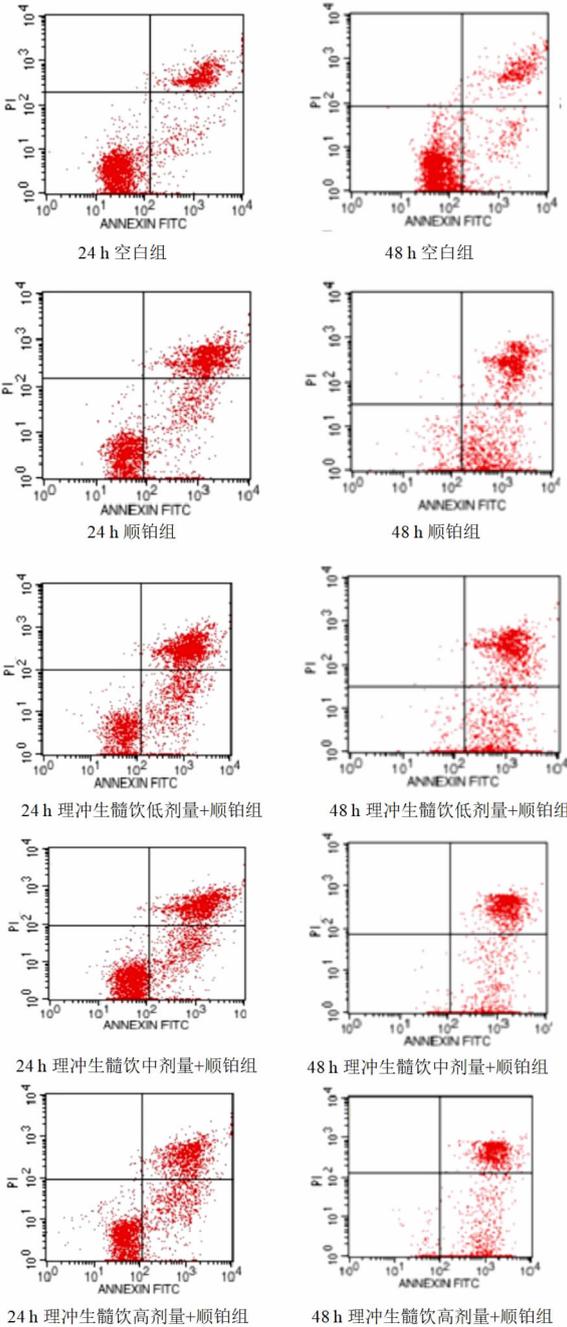


图3 SKOV3细胞凋亡情况

2.3 理冲生髓饮联合顺铂对SKOV3细胞周期影响

药物干预24 h的流式细胞术结果显示第1个高峰为G₀/G₁期、凹谷为S期,第2峰为G₂/M期,其显示区域的峰面积的比例就是各周期的比例。与空白组比较,顺铂组中G₀/G₁期细胞数量有所降低($P < 0.05$),G₂/M期细胞数量有所增加($P > 0.05$),S期细胞数量明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与顺铂组比较,理冲生髓饮中、低剂量联合顺铂组中G₀/G₁期细胞数量明显升高($P < 0.05$),理冲生髓饮低剂量联合顺铂中G₂/M期细胞数量明显降低($P < 0.05$),理冲生髓饮中剂量联合顺铂组中G₂/M期细

胞数量略有增加($P > 0.05$),S期细胞数量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。理冲生髓饮高剂量联合顺铂组中G₀/G₁期细胞数量明显降低($P < 0.05$),S期细胞数量明显升高($P < 0.05$),G₂/M期细胞数量略有增加($P > 0.05$)。见表2、图4。

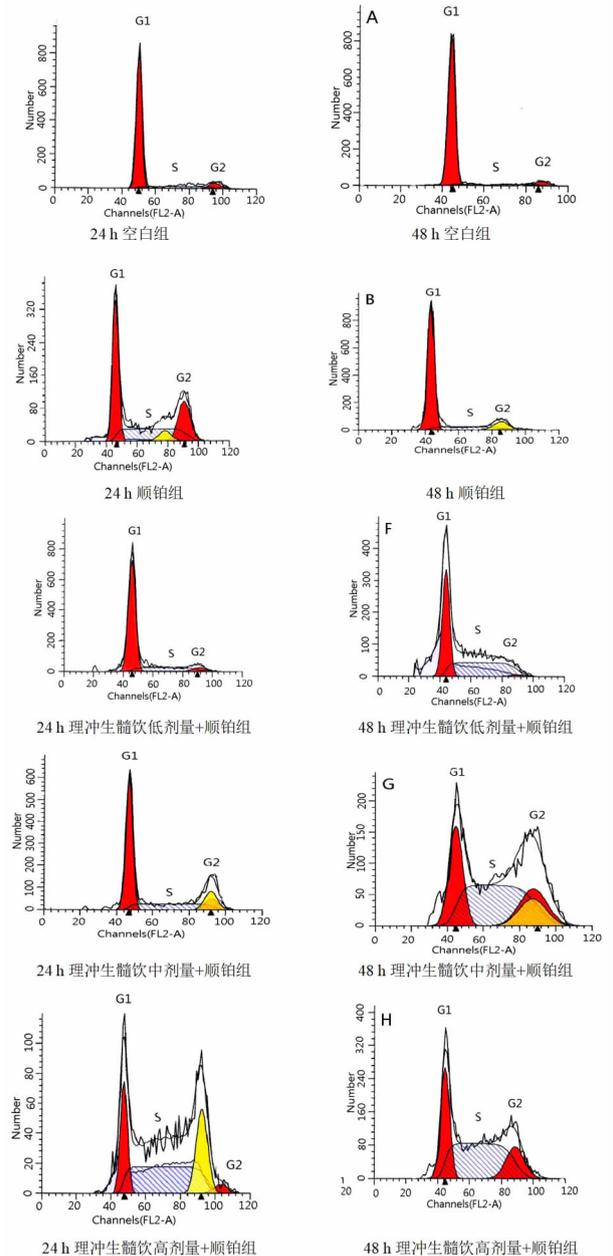


图4 SKOV3细胞周期变化

表2 各组药物干预24 h对SKOV3细胞周期变化($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	G ₁ 期	S期	G ₂ 期
空白组	77.95 ± 1.71 *	16.3 ± 2.49 *	6.44 ± 0.40
DDP组	43.24 ± 6.97 [△]	48.93 ± 6.69 [△]	7.83 ± 0.30
低剂量 + DDP组	75.72 ± 0.94 *	20.17 ± 0.99 *	4.77 ± 0.90
中剂量 + DDP组	62.65 ± 2.57 * [△]	29.35 ± 2.57 *	8.00 ± 0.00
高剂量 + DDP组	25.35 ± 3.26 * [△]	68.02 ± 4.18 * [△]	8.00 ± 0.00

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与顺铂组比较,[△] $P < 0.05$

表3 各组药物干预48 h对SKOV3细胞周期变化($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	G ₁ 期	S期	G ₂ 期
空白组	77.56 ± 2.98	14.88 ± 2.83	7.57 ± 0.15
DDP组	78.34 ± 0.78	13.66 ± 0.78	8.00 ± 0.00
低剂量 + DDP组	49.56 ± 0.53 ^{**△△}	49.81 ± 0.85 ^{**}	1.12 ± 0.88 ^{*△}
中剂量 + DDP组	32.83 ± 1.97 ^{**△△}	62.35 ± 2.52 ^{**}	1.66 ± 0.40 ^{*△}
高剂量 + DDP组	27.52 ± 1.07 ^{**△△}	56.30 ± 3.09 ^{**}	16.17 ± 3.12 ^{*△}

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与顺铂组比较, $\Delta P < 0.05$, 与顺铂组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

表4 各干预措施下CD44⁺CD117⁺细胞的比例($\bar{x} \pm s$)

组别	CD44 ⁺ CD117 ⁺ (%)	CD44(%)	CD117(%)
空白组	1.60 ± 0.27 [△]	2.39 ± 0.05 ^{△△}	17.40 ± 2.86 [△]
DDP组	2.05 ± 0.12 [*]	4.42 ± 0.11 ^{**}	9.73 ± 0.96 [*]
低剂量 + DDP组	0.83 ± 0.07 ^{**△△}	3.99 ± 0.47 ^{**}	9.27 ± 0.89 [*]
中剂量 + DDP组	0.32 ± 0.03 ^{**△△}	1.41 ± 0.11 ^{*△△}	8.77 ± 0.27 [*]
高剂量 + DDP组	0.88 ± 0.16 ^{**△△}	4.68 ± 0.88 ^{**△}	10.27 ± 0.80 [*]

注:与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与顺铂组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

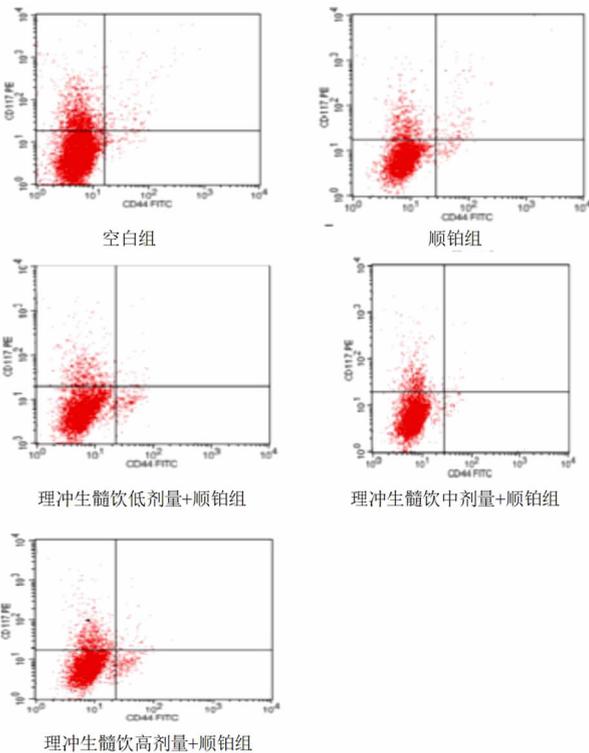


图5 CD44⁺CD117⁺细胞的比例

药物干预48 h的流式细胞术结果显示与空白组比较,顺铂组中G₀/G₁期、G₂/M期和S期细胞数量差异无统计学意义($P > 0.05$)。与顺铂组比较,理冲生髓饮高、中、低剂量联合顺铂组中G₀/G₁期细胞数量明显降低($P < 0.05$),S期细胞数量明显升高($P < 0.05$),理冲生髓饮低、中剂量联合顺铂组中G₂/M期细胞数量明显降低($P > 0.05$),理冲生髓饮高剂量联合顺铂组中G₂/M期细胞数量明显升高($P > 0.05$)。见表3、图4。

2.4 理冲生髓饮联合顺铂对SKOV3细胞中CD44⁺CD117⁺细胞比例 CD44⁺CD117⁺细胞分布于右上象限,荧光信号越多表明细胞比例越大。与空白组比较,顺铂组中CD44⁺CD117⁺细胞数量明显升高($P < 0.05$),与顺铂组比较,理冲生髓饮低、中、高剂量联合顺铂组中CD44⁺CD117⁺细胞数量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中理冲生髓饮中剂量联合顺铂组中CD44⁺CD117⁺细胞数量降低最为明显。见表4、图5。

3 讨论

王秀霞教授针对卵巢癌“肾阳虚衰,血瘀于胞”病机以及“久病入于络”,确立“温煦肾阳,搜剔胞络瘀滞”的治疗原则,反复推敲确立理冲生髓饮组方。理冲生髓饮组方由人参、鹿茸、黄芪、淫羊藿、水蛭、莪术、三棱、浙贝母组成,其中三棱、莪术为君药。从药物作用来说,张寿甫老先生认为“三棱、莪术性近和平,而以治女子瘀血,虽坚如铁石亦能徐徐消除,而猛烈开破之品转不能建此奇功,此三棱、莪术独具之良能也”,“……若与参、术、耆诸药并用大能开胃进食,调血和血”^[6]。三棱、莪术不仅能消癥,且配合人参、黄芪可改善卵巢癌患者食欲不振情况,提高机体免疫力^[7];水蛭破瘀血而不伤新血,《本经》曰:“水蛭最善食人之血,而性又迟缓善入。迟缓则生血不伤,善入则坚积易破,借其力以消既久之滞,自有利而无害也”,可搜剔胞络之瘀滞;浙贝母软坚散结;人参、鹿角霜、黄芪、淫羊藿益气温阳补肾,提高机体免疫力^[8-9]。卵巢癌发病属正虚邪实,过用攻伐恐犯虚虚之戒,缓攻缓消,攻补兼施,寓补于攻,寓攻

于补,方能奏效,基于此理冲生髓饮全方药性温或平,味多甘辛苦,共奏温煦肾阳、流行脉络、搜剔胞络瘀滞之功效。

细胞周期是细胞生命活动的基本过程,它控制着细胞从静止期向生长增殖期转化。哺乳动物的细胞生长和分裂周期分为4个阶段,即G₁期、S期、G₂期、M期,在细胞周期过程中通过细胞周期检测点来保证细胞周期事件忠实性及按序完成^[10],肿瘤是在环境因素和遗传因素共同作用下引起的细胞周期紊乱、细胞失控性生长的一类疾病,失控性生长是各种肿瘤共同的生物学特征,其主要分子机制是细胞周期紊乱导致细胞增殖过多和凋亡过少^[11-12],其中S期的DNA合成和G₂/M期的细胞有丝分裂对维持肿瘤细胞的恶性增殖尤为重要。本实验结果发现理冲生髓饮有效组分联合顺铂可显著提高SKOV3细胞的凋亡率,在顺铂作用下,SKOV3细胞细胞周期主要分布于G₁期,理冲生髓饮有效组分中剂量联合顺铂干预48h时G₁期细胞减少、S期细胞增多,总凋亡率可达96.03%,而顺铂组总凋亡率仅为84.81%,作用最为显著。理冲生髓饮联合顺铂可以通过提高S期细胞比例,增加细胞凋亡,促进顺铂的抗肿瘤作用,该研究结果与刘念的研究结果相似^[13]。

CD44⁺CD117⁺细胞是由CD44和CD177共同结合来标记卵巢癌干细胞^[14]。CD44是透明质酸受体,与细胞迁移有关,是乳腺癌、前列腺癌、结直肠癌、胰腺癌等恶性肿瘤的干细胞标记物^[15];CD117也被称为c-kit,是酪氨酸激酶III型受体,被认为是干细胞因子受体,且具有抗凋亡作用。CD44⁺CD117⁺细胞对顺铂具有耐药性,且100个CD44⁺CD117⁺细胞就可在体内形成肿瘤^[16]。研究表明,降低CD44⁺CD117⁺细胞的比例可减轻肿瘤进展、增强顺铂敏感性^[17-18]。本研究应用理冲生髓饮干预卵巢癌SKOV3细胞,24h后发现顺铂对CD44⁺CD117⁺细胞具有富集作用,顺铂作用下CD44⁺CD117⁺细胞比例明显高于空白组,理冲生髓饮中剂量联合顺铂降低CD44⁺CD117⁺细胞比例作用最为明显。该结果表明理冲生髓饮能够降低顺铂对卵巢癌干细胞的富集作用,靶向降低卵巢癌干细胞CD44⁺CD117⁺比例,通过对卵巢癌干细胞的靶向作用达到治疗卵巢癌的目的。综上所述,理冲生髓饮联合顺铂能够增加卵巢癌SKOV3细胞凋亡,影响调

控细胞周期,降低CD44⁺CD117⁺细胞数量,进而增加抗肿瘤作用及逆转多药耐药。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Eisenhauer EA, Vermorken JB, van Glabbeke M. Predictors of response to subsequent chemotherapy in platinum pretreated ovarian cancer: a multivariate analysis of 704 patients [J]. Ann Oncol, 1997, 8(10): 963-968.
- [3] Meinhold-Heerlein I, Hauptmann S. The heterogeneity of ovarian cancer [J]. Arch Gynecol Obstet, 2014, 289(2): 237-239.
- [4] 于凤胜, 李艺, 崔恒. 卵巢癌干细胞及卵巢癌治疗 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2014, 30(1): 14-17.
- [5] 王文静, 吴韶飞, 郭飘婷, 等. 熊果酸对卵巢癌干细胞荷瘤裸鼠耐药的逆转作用 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(5): 70-76.
- [6] 张锡纯. 医学衷中参西录·下册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 120.
- [7] 程堃. 理冲生髓饮对卵巢癌术后化疗患者减毒增效作用的临床研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [8] 辛宇, 邱智东, 董金香, 等. 中药治疗卵巢癌研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(21): 21-22.
- [9] 郝悦, 张新. 中医药治疗卵巢癌研究进展 [J]. 实用中医内科杂志, 2011, 25(7): 35-36.
- [10] Funk JO, Kind P. Cell cycle control, genetic instability and cancer [J]. Hautarzt, 1997, 48(3): 157-165.
- [11] Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(2): 93-115.
- [12] 曹亚. 细胞周期与肿瘤 [J]. 国外医学: 生理、病理科学与临床分册, 2002, 22(2): 103-105.
- [13] 刘念, 江彩霞, 刘力, 等. 黄连素对人卵巢癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(4): 911-914.
- [14] Zhang S, Balch C, Chan MW, et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors [J]. Cancer Res, 2008, 68(11): 4311-4320.
- [15] Burgos-Ojeda D, Rueda BR, Buckanovich RJ. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications [J]. Cancer Lett, 2012, 322(1): 1-7.
- [16] Ffrench B, Gasch C, O'Leary JJ, et al. Developing ovarian cancer stem cell models: laying the pipeline from discovery to clinical intervention [J]. Mol Cancer, 2014, 13: 262.
- [17] Amy PN Skubitz, Elizabeth P Taras, Kristin LM Boylan, et al. Targeting CD133 in an in vivo ovarian cancer model reduces ovarian cancer progression [J]. Gynecol Oncol, 2013, 130(3): 579-587.
- [18] Zhang R, Zhang P, Wang H, et al. Inhibitory effects of metformin at low concentration on epithelial-mesenchymal transition of CD44⁺CD117⁺ ovarian cancer stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6: 262.