

新型抗癌复方蟾山护金方干扰肺腺癌细胞增殖并诱导其凋亡的研究

高 强 唐源苑 钟丽娅 卢芳国 宁 毅 周小青

(湖南中医药大学,长沙,410208)

摘要 目的:观察新型抗癌复方蟾山护金方含药血清对肺腺癌 A549 细胞增殖的影响,并探讨其能否诱导 A549 细胞凋亡。方法:将 30 只 SD 大鼠随机分成 3 组,分别为含药血清组、消癌平组、阴性血清组,每组 10 只,各组依次灌胃蟾山护金方煎剂、消癌平片水溶剂和生理盐水,制备含药血清,利用含药血清做 A549 细胞增殖抑制实验(MTT 实验)、细胞凋亡实验和检测“死亡蛋白酶”caspase-3 的表达变化。结果:通过 MTT 实验,发现蟾山护金方含药血清能够抑制 A549 细胞的增殖,且呈剂量相关性,与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);与消癌平组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。通过流式细胞仪检测细胞凋亡,发现蟾山护金方含药血清中浓度组和高浓度组诱导 A549 细胞早期凋亡,与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$)。通过 Western-Blot 实验发现 A549 细胞 caspase-3 激活上调。结论:新型抗癌复方蟾山护金方含药血清能抑制 A549 细胞的增殖并诱导其凋亡,且呈剂量正相关性。

关键词 蟾山护金方;增殖;抑制;细胞凋亡;抗癌;肺腺癌细胞;大鼠

Study on the Proliferation and Apoptosis of Lung Adenocarcinoma Cells Induced by New Anticancer Prescription of Chanshan Hujin

Gao Qiang, Tang Yuanyuan, Zhong Liya, Lu Fangguo, Ning Yi, Zhou Xiaoping

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Abstract Objective: To observe the effects of new anticancer prescription of Chanshan Hujin on the proliferation of lung adenocarcinoma A549 cells, and to investigate that whether it could induce the apoptosis of A549. **Methods:** A total of 30 SD rats were randomly divided into three groups of a serum containing drug group, a Xiao-Ai-Ping group and a normal saline group, with 10 rats in each group. Each group was intragastric administrated successively with the Decoction of Chan-Shan-Hu-Jin Prescription, Xiao-Ai-Ping water solvent and normal saline, to prepare the serum containing drug. A549 cell proliferation inhibition test (MTT test), apoptosis assay and detection the expression of “death protease” Caspase-3 was carried out with serum containing drug. **Results:** Through the cell proliferation inhibition test (MTT test), it was found that the group of Chan-Shan-Hu-Jin Prescription could inhibit the proliferation of A549 cells, and had positive correlation with dose. Compared with the negative group, the difference was significant ($P < 0.05$). The difference was significant when compared with the Xiao-Ai-Ping group ($P < 0.05$). The apoptotic detection was carried out by flow cytometry. It was found that the early apoptosis rate after the medium concentration treatment group and high concentration treatment group, and it had significant difference when compared with the negative group ($P < 0.05$, $P < 0.05$). Western-Blot test showed that the activation of “death protease” caspase-3 was up-regulated. **Conclusion:** The serum containing drug of Chan-Shan-Hu-Jin Prescription can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of A549 cell, and has positive correlation with dose.

Key Words Prescription of Chan-Shan-Hu-Jin; Proliferation; Inhibition; Cell apoptosis; Anti-cancer; Lung adenocarcinoma; Rats

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.06.009

肺癌特别是肺腺癌是当今世界最常见的恶性肿瘤,美国癌症研究中心 2012 年统计数据显示,在全球各种新发肿瘤中,肺癌的发生率在 14% 左右,位居第 1 位^[1]。在我国的各种恶性肿瘤中,肺癌的发病率近年来已上升到各种肿瘤的首位,并且恶性程度高,就诊时大多数已到中晚期。目前肺癌的治疗

主要采取手术治疗、放疗和化疗,但肺癌患者的 5 年生存率仍然很低^[2],近年来,出现了癌症分子疗法、细胞免疫疗法等新治疗手段^[3],但技术远没有成熟,风险较高,也较少应用于临床,因此亟需探讨一种在肺癌早期抑制其生长的药物,减缓甚至抑制其生长,以期对肺癌的综合治疗赢得宝贵时间。

基金项目:湖南省中医药管理局课题(2015112);湖南省教育厅课题(15C1035);湖南省卫生计生委课题(C2017027);湖南中医药大学课题(9982-1001-011);湖南中医药大学校级重点学科《基础医学》资助

作者简介:高强(1973.02—),男,医学博士,副教授,研究方向:肿瘤的中西医结合防治,E-mail:gaoqiang021@126.com

通信作者:周小青(1957.09—),男,医学博士,教授,研究方向:肿瘤的中西医结合防治,E-mail:894410100@qq.com

中医药是祖国的一大宝库,历史记载了大量的抗癌中草药^[4]。现代中医师或研究人员也配制了一些抗癌复方,大多已应用于临床,有些还做了体外和体内小鼠实验,取得了一定量的研究成果。比如冯青^[5]等研究发现“复方苦参注射液”配合化疗提高了老年晚期患者 NSCLC 的抗肿瘤效果,可有效地减轻化疗过程中的不良反应,提高肿瘤患者的生命质量。贾彦焘^[6]等探讨“肺一丸”对 LA-795 肺癌细胞增殖的影响,发现“肺一丸”能够有效抑制 LA-795 肺癌细胞增殖,不良反应小,且可以增加小鼠体质量,改善生活状态。此外还有应用于临床的抗癌散类复方药,例如参七抗癌散、张氏抗癌散、姜氏抗癌散、扶正抗癌散、青龙抗癌散、化痰解毒抗癌散等^[7-10],对于肺癌治疗都取得了一定的临床效果,但补益药占据抗肺癌复方的主流,并且多用于肺癌的中晚期治疗。

本文拟用一临床疗效肯定,应用于肺癌早期的中药复方蟾山护金方(以下简称蟾方),有别于上述补益类抗癌复方,在肺癌早期尚未转移,体质尚未虚衰之时,用于抑制肺癌细胞生长并诱导其凋亡,防治肺癌毒结蔓延为根本宗旨,进行体外细胞水平的实验,验证其体外抗肺腺癌作用效果,为该复方的临床应用积累实验室数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量 180 ~ 220 g,鼠龄 8 ~ 10 周,30 只,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物购买许可证号 SCXK(湘)2013-0004,动物使用许可证号 SYXK(湘)2013-0005,饲养于湖南中医药大学 SPF 级动物房中,饲以颗粒饲料,自由饮水,动物房温度稳定在(25 ± 1)℃,相对湿度 40% ~ 70%,昼夜交替进行光照,肺腺癌 A549 细胞系购自于中国科学院上海细胞库。

1.1.2 药物 蟾方组方:蟾蜍皮 15 g、山慈菇 15 g、半枝莲 10 g、蚤休 10 g、鳖甲 10 g、莪术 10 g、浙贝母 10 g、百合 10 g,中药饮片购自于湖南中医药大学附属第一医院药房,取蟾方 1 剂,加 1 L 双蒸水,浸泡 30 min,鳖甲先煎 30 min,然后沸水煎药 30 min,倒出煎液,再加双蒸水 1 L,再沸水煎药 30 min,合并 2 次的汤药,旋转蒸发仪浓缩至含生药 1 g/mL,放 4℃ 冰箱备用。消癌平片(四川国康药业有限公司,国药准字 Z20053686)中成药购自湖南中医药大学附属第一医院药房。

1.1.3 试剂与仪器 DMEM 培养基(货号

940123)、胎牛血清(货号 930236)、胰酶(货号 940341)购自于美国 Gibco 公司,噻唑蓝(MTT,货号 760279)购自于鼎国生物技术有限公司,兔抗大鼠 caspase-3 抗体(一抗,货号 760297)购自于 Santa Cruz 公司,HRP 标记的羊抗兔 IgG(二抗,货号 760292)、兔抗大鼠 β -actin 抗体(货号 640199)购自于华美生物工程公司,美国 BD 公司流式细胞仪(型号:FACSCalibur),上海隆拓设备有限公司旋转蒸发器(型号:RE-85A),日本三洋公司 CO₂ 培养箱(型号:MCO-5AC)、日本 OLYMPUS 公司倒置显微镜等(型号:OLYMPUS CX23)。

1.2 方法

1.2.1 分组与含药血清的制备 实验动物随机分 3 组,分别为含药血清组,消癌平组,生理盐水组,每组 10 只。SPF 级房间饲养,自由饮水、摄食,自然光照,适应性饲养 3 d 后,药物组灌胃蟾方煎液,消癌平组灌胃消癌平水溶剂,生理盐水组灌胃等量生理盐水。按人与大鼠用药剂量换算公式[大鼠剂量(g/kg) = 6.25 × 成人剂量(g)/成人体质量(60 kg)]计算出一般给药量。蟾方组每只 200 g 大鼠每天灌胃蟾方煎液 1.662 5 g(8.312 5 g/(kg · d)),消癌平组每只 200 g 大鼠每天灌胃消癌平 0.187 5 g(0.937 5 g/(kg · d)),生理盐水组每只大鼠每天灌胃 1 mL 生理盐水,灌胃 1 次/d,连续 7 d,最后 1 d 给药前 12 h 断食不断水,末次给药后 1 h 10% 水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,离心取上清即为含药血清,同组大鼠血清混合,经 0.45 μ m 过滤器过滤除菌, -20℃ 保存备用。

1.2.2 给药方法 人肺腺癌细胞系 A549 细胞,用 DMEM 高糖培养基,37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中常规培养,每 2 ~ 3 d 换液 1 次,生长至对数生长期时正常传代,选取第 3 ~ 4 代的细胞用于实验。体外细胞试验时,分为 5 组:高剂量蟾方药物组(20% 含药血清,80% DMEM)、中剂量蟾方药物组(10% 含药血清,90% DMEM)、低剂量蟾方药物组(5% 含药血清,95% DMEM,补加 5% 胎牛血清)、消癌平对照组(10% 含药血清,90% DMEM)、生理盐水组(阴性对照组)。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 噻唑蓝(MTT)法检测细胞抑制率 取对数生长期的 A549 细胞,调整细胞计数为 1×10^5 细胞/mL,接种于 96 孔板,试验分蟾方高、中、低剂量组,消癌平组、生理盐水组,每组做 6 个平行,保证每孔细胞数为 5 000 个左右,待细胞贴壁后进行试验,每孔加 100 μ L 试验药液(同 1.5 用药剂量),分别培

养 24、48、72 h,在终止实验前 4 h,每孔加入 MTT 20 μL,放 37 ℃、5% CO₂ 恒温培养箱中孵育 4 h,取出培养板,吸去上清液,每孔加入二甲基亚砷(DMSO)200 μL,于酶标仪 570 nm 处测定吸光度(A)值,重复试验 3 次,制作吸光度图表。

1.2.3.2 流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期的 A549 细胞,调整细胞计数为 1 × 10⁶ 细胞/mL,接种于六块 6 孔板,每孔接种 1 mL 细胞液,实验分蟾方高、中、低剂量组、消癌平组、生理盐水组,每组做 3 个平行,待细胞贴壁后进行试验,吸去细胞培养液,每孔加 400 μL 试验药液(同 1.5 用药剂量),24 h 和 48 h 后分别上流式细胞仪检测细胞凋亡率,重复试验 3 次。

1.2.3.3 Western Blot 实验 采用 Western-Blot 方法检测细胞凋亡相关分子 caspase-3 表达变化,取对数生长期 A549 细胞以 1 × 10⁶ 细胞/孔接种于 6 孔板内,试验分蟾方高、中、低剂量组、消癌平组、生理盐水组。待细胞贴壁后,吸去细胞培养液,每孔加 400 μL 试验药液(同 1.5 用药剂量),培养 48 h,胰酶消化后 3 000 r/min 离心收集细胞于 EP 管中,细胞裂解液提取细胞总蛋白,紫外分光光度计测定总蛋白浓度,-80 ℃冻存储备用。各组分别提取 50 μg

蛋白,加热变性,SDS-PAGE 胶电泳,将蛋白转移到 PVDF 膜上,脱脂奶粉室温封闭 1 h,0.1% TBST 液洗膜 3 次,一抗(1:100 稀释)室温孵育 2 h,TBST 液洗膜 3 次,加入二抗稀释液,避光孵育 2 h,TBST 液洗膜 3 次,中途 4 ℃过夜。采用增强化学发光法显影,凝胶图像分析系统分析,同时以兔抗大鼠 β-actin 抗体做对照,试验重复 3 次。采用 Motiic 6.0 数码医学图像分析系统,分析 caspase-3 表达阳性积分光密度值,分析相对表达量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A549 细胞增殖抑制结果 应用噻唑蓝(MTT)法检测细胞抑制率。蟾方含药血清质量浓度为 5%~20% 时对肺腺癌细胞 A549 的增殖有抑制作用,与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且呈剂量正相关性,并随着作用时间的延长抑制作用增强,并且 20% 蟾方含药血清组与消癌平组比较对肺腺癌细胞 A549 的增殖抑制差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 蟾山护金方含药血清对人肺腺癌 A549 细胞增殖的抑制作用 (n=5,OD 值)

组别	药物浓度(g/mL)	OD 值		
		24 h	48 h	72 h
阴性血清组	—	1.736 ± 0.070	1.996 ± 0.086	2.206 ± 0.044
消癌平组	10%	1.143 ± 0.043	1.459 ± 0.198	1.675 ± 0.142
含药低浓度组	5%	1.218 ± 0.124 *	1.363 ± 0.066 *	1.781 ± 0.121 *
含药中浓度组	10%	1.149 ± 0.137 *	1.219 ± 0.075 *	1.370 ± 0.124 *
含药高浓度组	20%	0.875 ± 0.169 *△	0.768 ± 0.192 *△	0.527 ± 0.072 *△

注:与阴性血清组比较,* $P < 0.05$;与消癌平组比较,△ $P < 0.05$

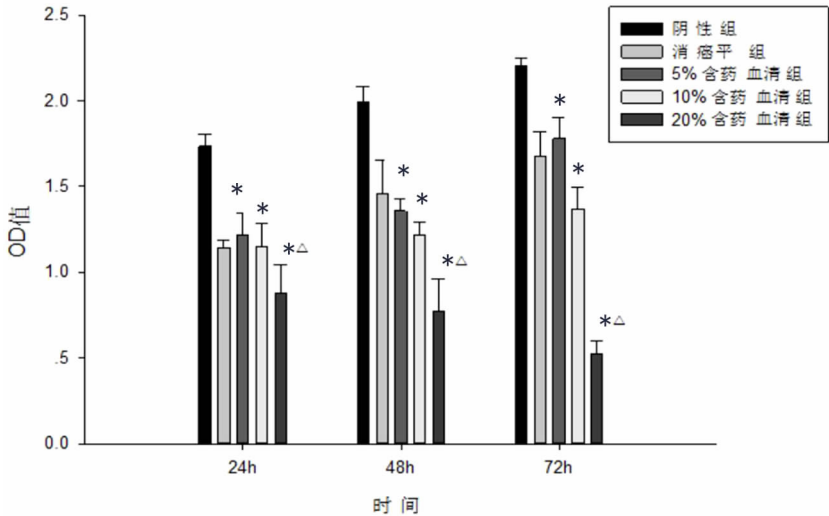


图 1 A549 细胞增殖的抑制图

表 2 蟾山护金方含药血清对人肺腺癌 A549 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, \%, n = 3$)

组别	药物浓度(g/mL)	24 h 凋亡率	48 h 凋亡率
阴性血清组	—	0.62 ± 0.11	0.78 ± 0.08
消癌平组	10%	2.08 ± 0.17	2.56 ± 0.27
含药低浓度组	5%	2.36 ± 0.55 *	3.48 ± 0.63 *
含药中浓度组	10%	4.91 ± 0.73 *△	7.12 ± 1.39 *△
含药高浓度组	20%	7.34 ± 1.63 *△	10.91 ± 2.46 *△

注:与阴性血清组比较,* $P < 0.05$;与消癌平组比较,△ $P < 0.05$

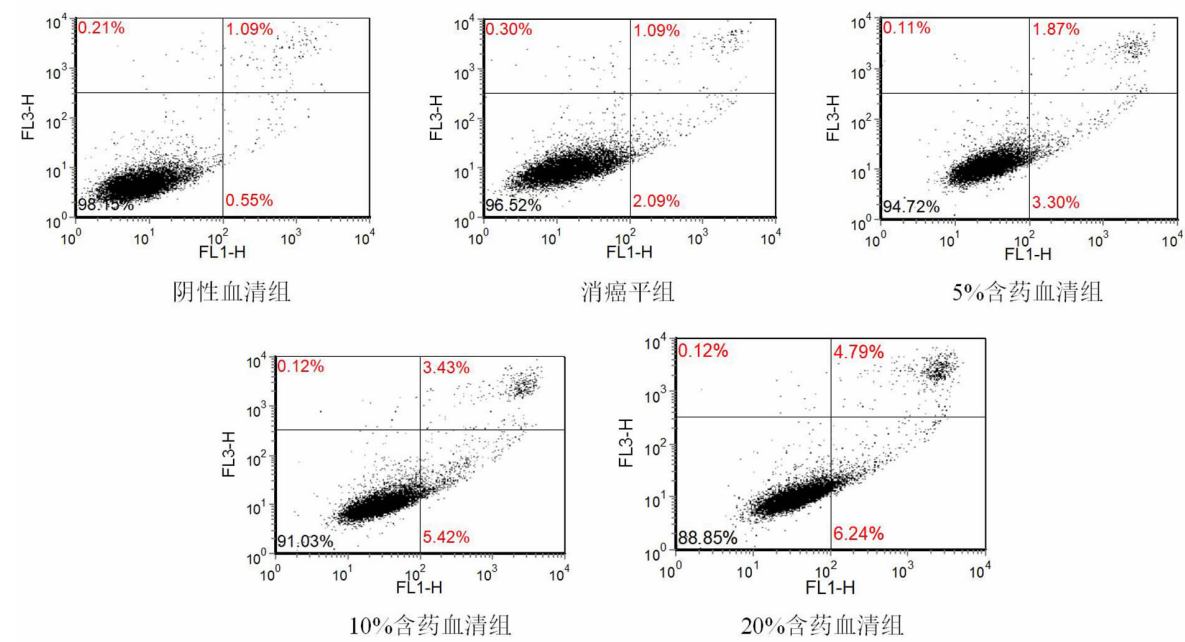


图 2 48 h 后人肺腺癌 A549 细胞凋亡率

2.2 细胞凋亡的检测结果 加药 24 h 与 48 h 后经过流式细胞仪测定,分析得出阴性对照组 A549 细胞基本没有发生凋亡,消癌平组与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$);而蟾方低浓度组 A549 细胞早期凋亡率与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$);与消癌平组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$; $P > 0.05$);蟾方中浓度组 A549 细胞早期凋亡率与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$),与消癌平组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$);蟾方高浓度组 A549 细胞早期凋亡率与阴性血清组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$),与消癌平组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$)。如表 2、图 2。

2.3 caspase-3 蛋白表达的检测 加药 48 h 后,对 caspase-3 蛋白表达进行检测,实验平行做 3 次,根据光密度值测定结果,发现与阴性对照组比较,低浓度组差异无统计学意义($P > 0.05$),中浓度组和高浓度组差异有统计学意义($P < 0.05$; $P < 0.05$),并且与浓度成正相关性。和消癌平组比较,低浓度组

与中浓度组差异无统计学意义($P > 0.05$; $P > 0.05$),但高浓度组差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明 caspase-3 随蟾方含药血清浓度递增被激活,表达增强,细胞凋亡发生。见表 3。

表 3 caspase-3 蛋白表达光密度值测定结果 ($\bar{x} \pm s, \%, n = 3$)

组别	药物浓度(g/mL)	48 h 光密度值
阴性血清组	—	70.23 ± 17.27
消癌平组	10%	91.12 ± 21.23
含药低浓度组	5%	74.78 ± 19.28 *
含药中浓度组	10%	96.37 ± 20.36 *△
含药高浓度组	20%	107.12 ± 26.11 *△

注:与阴性血清组比较,* $P < 0.05$;与消癌平组比较,△ $P < 0.05$

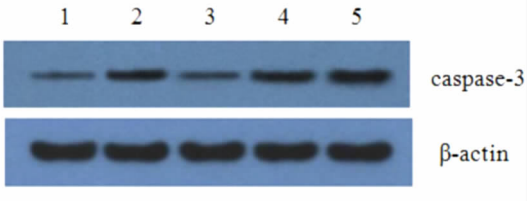


图 3 caspase-3 蛋白表达变化

注:1:阴性血清对照;2:消癌平组;3:5% 含药血清组;4:10% 含药血清组;5:20% 含药血清组

3 讨论

肺癌属中医学“咳嗽”(从症状上)、“息贲”(从病机上)、“肺积”(从病理上)的范畴。中医学认为,肺癌的形成是因为正气内虚,卫外失司,感受外邪,邪毒凝聚日久,痰瘀毒互结久滞而成,或长期忧郁悲伤,过度劳累,导致气机阻滞,气血津液运行障碍,痰瘀聚结成积而致。正虚邪实是本病的病理特点,本文认为肺癌在治疗上早期宜用清热解毒、配合理气活血化痰之药,后期多配以扶正之中药调理气机,化痰消瘀。蟾方正是遵循这一原则,法从破毒清热、散结消肿,临床疗效肯定;方用蟾蜍皮、山慈菇、半枝莲、蚤休、鳖甲、莪术、浙贝母、百合;蟾蜍、半枝莲、蚤休破毒清热为君,山慈菇、莪术、浙贝从瘀、疾、毒3方面软坚散结为臣;百合润肺以散结为佐;鳖甲入血分以助软坚为使;诸药组合,以清热破毒、散结消肿之疗效。临床应用于肺腺癌早中期,尚未转移之时,体质尚未虚衰,当以解毒结为主,防止毒结之蔓延。

研究表明,蟾蜍有较明显的抗肿瘤效果,蟾皮,通常为蟾蜍科动物中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargarizans* Cantor)的干燥表皮,其水溶性成分制剂华蟾素注射液临床用于肺癌的治疗具有较明显的效果^[11-12]。半枝莲主要在抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、增强机体免疫力等方面发挥抗肿瘤作用,具有良好的抗肺肿瘤活性。蚤休(七叶一枝花)益气养阴,扶正培本,调整阴阳,平衡气血,兼以清热解毒散结。蚤休联合顺铂能有效抑制小鼠肺腺癌细胞生长,降低血清 VEGF、MMP-2 水平及肿瘤组织中 HIF-1 α 、VASH、b-FGF 的表达^[13]。莪术性温味辛苦,有活血破瘀、消积止痛、抗肿瘤的功^[14]。研究发现莪术油有效成分具有抗肿瘤的效果,可能是通过阻滞细胞周期及诱导凋亡来实现的^[15]。浙贝母常与苏子、半夏合用,取其“十八反”之相反之性,以毒攻毒,温经通络止痛,燥湿化痰,消结软坚,以抗癌消瘤之品治疗肺癌^[16]。百合润肺清心、益气安神,临床常与地黄或贝母合用有润肺养阴且化痰止咳之效^[17]。鳖甲入肝经至阴之分,养阴而入络搜邪^[18]。中医认为肺癌是因虚而得病,因虚而致实,是一种全身属虚,局部属实的疾病。大量的临床实践已证明应用中药复方或中西医结合治疗肺癌,在减毒增效、提高生命质量及延长生存期等方面显示了明显优势^[19-20]。我们从抗癌中草药宝库中精选恰当的药物,在中医辨证论治的基本思想指导下,通过临床辨证,严格按照中药复方配伍法则组方蟾方,以期达到单味药远不能达到的临床效果。

通过体外细胞实验验证蟾方含药血清抗肺癌的作用效果,是用实验数据验证该方抗癌作用的第一步。从 MTT 试验可以看出,该方含药血清有抑制肺腺癌 A549 细胞增殖的作用,且与药物浓度的递增呈正相关性。在凋亡试验中得出,蟾方有诱导肺腺癌 A549 细胞凋亡的作用;caspase-3 被称为“死亡蛋白酶”,caspase-3 激活上调则会导致细胞凋亡,通过实验可以看出 caspase-3 的表达随药物浓度的递增上调,从分子角度验证了蟾方有诱导肺腺癌 A549 细胞凋亡的作用,并且与药物浓度的递增呈正相关性。综合上述因素,我们通过实验数据验证了该方的作用效果,这也从体外细胞实验角度证明了蟾方可能是一早期治疗肺癌的有效方剂。下一步,我们将通过体内裸鼠实验进一步验证该方的体内抗癌效果,并通过毒理实验验证该方的毒理作用,以及进一步通过信号通路等途径寻找该方作用靶点并探索其基本作用机制,为临床应用提供实验室数据参考。

参考文献

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics for Hispanics/Latinos, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(5): 283-298.
- [2] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [3] 蔡亮, 张凌华, 杨子杰, 等. 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)免疫疗法: 绝处逢生的利剑[J]. 自然杂志, 2016, 38(3): 228-231.
- [4] 张莹, 张培彤. 近 20 年来治疗肺癌中草药研究概况[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(6): 330-333.
- [5] 冯青, 郑红英. 复方苦参注射液联合 GP 方案治疗不同分期 NSCLC 患者的临床评价[J]. 世界中医药, 2018, 13(5): 1164-1167, 1171.
- [6] 贾彦焱, 于建春, 张丽丽, 等. 肺一丸对 LA-795 肺腺癌细胞增殖的影响[J]. 河北中医, 2009, 31(3): 444-446.
- [7] 施璐, 艾中柱, 张德忠, 等. 参七抗癌散抗肿瘤及其镇痛作用[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2016, 37(3): 411-413, 484.
- [8] 周建军. 扶正抗癌散在肺癌化疗中的增效与减毒的临床观察[J]. 中医临床研究, 2017, 9(11): 35-36.
- [9] 滕树财. 青龙抗癌散治疗恶性肿瘤 87 例临床报告[J]. 蛇志, 2009, 21(3): 222-222, 255.
- [10] 戚敏, 刘红, 胡香杰, 等. 化痰解毒抗癌散抗肿瘤作用的实验研究[J]. 河南肿瘤学杂志, 2002, 15(4): 266-268.
- [11] 邓鹏. 华蟾素注射液联合 PC 化疗方案对非小细胞肺癌患者血清 CA125、CEA 水平变化的影响[J]. 北方药学, 2018, 15(5): 108-109.
- [12] 徐聪, 吴其标. 华蟾素治疗非小细胞肺癌的临床研究进展[J]. 中医药导报, 2017, 23(17): 100-103.
- [13] 邓日强, 杨印楼, 张宏华, 等. 蚤休薯蓣皂苷联合顺铂治疗肺腺癌小鼠的疗效及其作用机制研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 24(7): 56-60.

(下接第 1396 页)

陈蒿汤联合布地奈德治疗能够减少哮喘大鼠肺组织中多种炎性反应细胞因子的表达,由此更进一步证实加减茵陈蒿汤联合布地奈德治疗能够抑制哮喘的炎性反应。

综上所述,加减茵陈蒿汤联合布地奈德治疗哮喘大鼠能够降低气道反应性、抑制肺组织中的炎性反应,今后可进一步在临床中使用加减茵陈蒿汤来治疗哮喘并进一步验证加减茵陈蒿汤在哮喘治疗中的积极价值。

参考文献

- [1] Voorham J, Roche N, Benhaddi H, et al. Real-world effectiveness evaluation of budesonide/formoterol Spiromax for the management of asthma and chronic obstructive pulmonary disease in the UK[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(10): e022051.
- [2] Tamási L, Szilasi M, Gálffy G. Clinical Effectiveness of Budesonide/Formoterol Fumarate Easyhaler® for Patients with Poorly Controlled Obstructive Airway Disease: a Real-World Study of Patient-Reported Outcomes[J]. *Adv Ther*, 2018, 35(8): 1140-1152.
- [3] 熊艳娟, 何金凌. 哮喘的中医病机及呼吸内科危重症哮喘患者 30 例临床疗效分析[J]. *中医临床研究*, 2018, 10(15): 17-19.
- [4] 刘温丽, 史艳平, 张金虎. 支气管哮喘的中医研究进展[J]. *陕西中医*, 2018, 39(6): 812-814.
- [5] 李宣霖, 马锦地, 李建生, 等. 现代名老中医诊治支气管哮喘的病因病机分析[J]. *中医研究*, 2016, 29(11): 62-67.
- [6] 李荣才. 哮喘“宿痰伏肺”中医病机与西医气道炎症反应学说的关系[J]. *按摩与康复医学*, 2015, 6(1): 9-10.
- [7] 景菲, 王英, 张伟. 从小儿五脏“二有余三不足”论治小儿哮喘[J]. *长春中医药大学学报*, 2018, 34(1): 75-78.
- [8] 黄建山, 黄文钦. 肺脾肾三脏同调治疗小儿哮喘缓解期的临床研究[J]. *中医药通报*, 2018, 17(4): 57-60.
- [9] Miller SD, Nyberg J, Siddiqui S, et al. Randomized dose-ranging study of a budesonide metered-dose inhaler by using co-suspension delivery technology in asthma[J]. *Allergy Asthma Proc*, 2018, 39(5): 350-358.
- [10] Nakwan N, Perkleang T, Tamsawai T, et al. A 12-week, Random-

ized, Parallel-group, Phase III Study Comparing the Efficacy of Once-daily Budesonide/formoterol Turbuhaler (160/4.5 µg/d) with Twice-daily Budesonide(400 µg/d) During the Step-down Period in Well-controlled Asthma[J]. *Turk Thorac J*, 2018, 19(2): 66-72.

- [11] 赵恒洁, 徐红日. 宣肺化痰活血法对慢性支气管哮喘患者肺功能的影响[J]. *河南中医*, 2018, 38(6): 930-933.
- [12] 成青, 张云凤, 周奇兴. 中西医结合治疗对支气管哮喘患者疗效、免疫功能及肺功能水平的影响[J]. *吉林中医药*, 2018, 38(7): 782-785.
- [13] 史晓凤, 陈卫强, 万滢, 等. 嗜酸粒细胞性支气管炎现状及病理生理研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(20): 1592-1596.
- [14] 张星慧, 常晓悦. 中性粒细胞性哮喘与其相关细胞因子[J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(23): 1815-1818.
- [15] Hondowicz BD, An D, Schenkel JM, et al. Interleukin-2-Dependent Allergen-Specific Tissue-Resident Memory Cells Drive Asthma[J]. *Immunity*, 2016, 44(1): 155-166.
- [16] Pyle CJ, Uwadiae FI, Swieboda DP, et al. Early IL-6 signalling promotes IL-27 dependent maturation of regulatory T cells in the lungs and resolution of viral immunopathology[J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(9): e1006640.
- [17] Nguyen TH, Maltby S, Tay HL, et al. Identification of IFN-γ and IL-27 as Critical Regulators of Respiratory Syncytial Virus-Induced Exacerbation of Allergic Airways Disease in a Mouse Model[J]. *J Immunol*, 2018, 200(1): 237-247.
- [18] Shi T, He Y, Sun W, et al. Respiratory Syncytial virus infection compromises asthma tolerance by recruiting interleukin-17A-producing cells via CCR6-CCL20 signaling[J]. *Mol Immunol*, 2017, 88: 45-57.
- [19] Liu J, Wei Y, Luo Q, et al. Baicalin attenuates inflammation in mice with OVA-induced asthma by inhibiting NF-κB and suppressing CCR7/CCL19/CCL21[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(5): 1541-1548.
- [20] Teixeira AL, Gama CS, Rocha NP, et al. Revisiting the Role of Eotaxin-1/CCL11 in Psychiatric Disorders[J]. *Front Psychiatry*, 2018, 14(9): 241.

(2019-01-23 收稿 责任编辑:王明)

(上接第 1392 页)

- [14] Jung EB, Trinh TA, Lee TK, et al. Curcuzedoalide contributes to the cytotoxicity of Curcuma zedoaria rhizomes against human gastric cancer AGS cells through induction of apoptosis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 213: 48-55.
- [15] 杨长福, 李亚东, 牛建昭, 等. 莪术油对肺癌 A549 细胞周期及组织蛋白酶 K 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(8): 113-116.
- [16] 范丽娜, 张鹏鹏. 运用联合方组治疗肺癌体会[J]. *山西职工医学院学报*, 2017, 27(6): 55-56.
- [17] 熊婵, 何成诗, 王俭, 等. 百合固金汤治疗肺癌临床特色[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(17): 59-60.

[18] 王红兵, 蒲志忠, 邓彬, 等. 青蒿鳖甲汤对肺癌骨转移患者细胞因子的影响[J]. *世界中医药*, 2018, 13(3): 665-668.

- [19] Liu J, Lin HS, Hou W, et al. Comprehensive treatment with Chinese medicine in patients with advanced non-small cell lung cancer: A multicenter, prospective, cohort study[J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(10): 733-739.
- [20] Tseng CY, Lin CH, Wu LY, et al. Potential Combinational Anti-Cancer Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer with Traditional Chinese Medicine Sun-Bai-Pi Extract and Cisplatin[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155469.

(2018-11-12 收稿 责任编辑:王明)