

● 实验研究 ●

引用:赵晔,胡广生,蒋益兰,龚辉,李显晶,程晓燕.基于 PD-1/PD-L1 及 miR-200c/ZEB 通路研究健脾消癌方治疗结肠癌肝转移的作用机制[J].湖南中医杂志,2023,39(7):142-148.

基于 PD-1/PD-L1 及 miR-200c/ZEB 通路 研究健脾消癌方治疗结肠癌肝转移的作用机制

赵 晔¹,胡广生²,蒋益兰¹,龚 辉¹,李显晶³,程晓燕¹

(1. 湖南省中医药研究院附属医院,湖南 长沙,410006;

2. 嘉禾县中医医院,湖南 嘉禾,424500;

3. 湖南中医药大学,湖南 长沙,410208)

[摘要] 目的:观察健脾消癌方对结肠癌肝转移荷瘤裸鼠肝组织中程序性死亡受体-1(PD-1)/程序性死亡配体-1(PD-L1)及微小 RNA200c(miRNA-200c)/转录因子 E 盒结合锌指蛋白 1(ZEB1)表达的影响。方法:在 50 只裸鼠中随机抽取 10 只作为假移植组,另取 40 只建立结肠癌肝转移模型。造模成功后再将其分为 4 组:模型组,健脾消癌方低、中、高剂量组(简称为低、中、高剂量组),每组各 10 只。假移植组和模型组灌胃等量 0.9%氯化钠注射液,低、中、高剂量组灌胃健脾消癌方(5.4、10.8、21.6 g/kg),每天 1 次,连续 3 周。观察各组裸鼠肝转移瘤的情况,检测 PD-1、PD-L1、miRNA-200c、ZEB1 mRNA 的表达及 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白的表达情况。结果:除假移植组外,其余各组均可在裸鼠的肝脏表面发现肝转移结节。各组肝转移结节数量、质量高剂量组与低、中剂量组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肝脏组织病理学结果显示,与模型组比较,低、中、高剂量组癌细胞增长速度较慢。与假移植组比较,模型组 miRNA-200c 表达降低,PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达及 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组比较,高剂量组 miRNA-200c 表达升高、PD-1 蛋白表达降低($P<0.01$),各剂量组 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达及 PD-L1 蛋白表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),中、高剂量组 ZEB1 蛋白表达降低($P<0.01$)。结论:健脾消癌方可有效抑制结肠癌肝转移,其扶正消癌的作用机制可能与升高 miRNA-200c 表达、降低 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达相关。

[关键词] 结肠癌;肝转移;健脾消癌方;PD-1/PD-L1;miR-200c/ZEB;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.07.036

Mechanism of action of Jianpi Xiaoi prescription in treatment of colorectal cancer liver metastasis based on the programmed death-1/programmed death-ligand 1 and microRNA-200c/zinc finger E-box-binding homeobox 1 pathways

ZHAO Ye¹, HU Guangsheng², JIANG Yilan¹, GONG Hui¹, LI Xianjing³, CHENG Xiaoyan¹

(1. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China;

2. Jiahe Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiahe 424500, Hunan, China;

3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Jianpi Xiaoi prescription on the expression of programmed

基金项目:湖南省自然科学基金青年项目(2020JJ5329)

第一作者:赵晔,女,主治医师,研究方向:中西医防治肿瘤

通信作者:程晓燕,女,副主任医师,研究方向:中西医防治肿瘤, E-mail: cxy-8201@163.com

death-1 (PD-1)/programmed death-ligand 1 (PD-L1) and microRNA-200c (miRNA-200c)/zinc finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB1) in liver tissue of nude mice bearing colon cancer liver metastasis. Methods: A total of 50 nude mice were selected, among which 10 were randomly selected as sham transplantation group and the other 40 were used to establish a model of colon cancer liver metastasis, and after successful modeling, the 40 mice were divided into model group and low-, middle-, and high-dose Jianpi Xiaoi prescription groups (hereinafter referred to as low-, middle-, and high-dose groups), with 10 mice in each group. The mice in the sham transplantation group and the model group were given an equal volume of 0.9% sodium chloride injection by gavage, and those in the low-, middle-, and high-dose groups were given Jianpi Xiaoi prescription by gavage at a dose of 5.4, 10.8, and 21.6 g/kg, respectively, once a day for three consecutive weeks. Liver metastasis was observed for each group, and the mRNA expression of PD-1, PD-L1, miRNA-200c, and ZEB1 and the protein expression of PD-1, PD-L1, and ZEB1 were measured. Results: Liver metastasis nodules were observed on the surface of the liver in all groups except the sham transplantation group. There were significant differences in the number and weight of liver metastasis nodules between the high-dose group and the low-/middle-dose groups ($P < 0.05$). Liver histopathological examination showed that compared with the model group, the low-, middle-, and high-dose groups had a lower growth rate of cancer cells. Compared with the sham transplantation group, the model group had a significant reduction in the expression of miRNA-200c and significant increases in the mRNA expression of PD-1, PD-L1, and ZEB1 and the protein expression of PD-1, PD-L1, and ZEB1 ($P < 0.01$). Compared with the model group, the high-dose group had a significant increase in the expression of miRNA-200c and a significant reduction in the protein expression of PD-L1 ($P < 0.01$); all three dose groups had significant reductions in the mRNA expression of PD-1, PD-L1, and ZEB1 and the protein expression of PD-L1 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the middle- and high-dose groups had a significant reduction in the protein expression of ZEB1 ($P < 0.01$). Conclusion: Jianpi Xiaoi prescription can effectively inhibit the liver metastasis of colon cancer and exerts an effect of strengthening vital Qi and eliminating cancer possibly by increasing the expression of miRNA-200c and reducing the protein expression of PD-1, PD-L1, and ZEB1.

[**Keywords**] colon cancer; liver metastasis; Jianpi Xiaoi prescription; programmed death-1/programmed death-ligand 1; microRNA-200c/zinc finger E-box-binding homeobox 1; experimental study

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率呈逐年上升的趋势。据统计,每年新发结直肠癌病例近200万,并超过90万人因结直肠癌死亡^[1-2]。肿瘤远处转移是癌症患者死亡的主要原因,其中肝脏是结直肠癌最常见的转移部位^[3]。其治疗首选手术,但再次复发转移率高,后续治疗常因毒副作用及经济压力等原因受到限制,中医药治疗本病具有一定优势,弥补了现代医学治疗方法的不足。扶正祛邪是中医治疗本病的重要治则。随着免疫治疗的迅速发展,阻断程序性死亡因子-1(PD-1)/程序性死亡因子配体-1(PD-L1)信号通路是结直肠癌肝转移治疗的有效措施。微小核糖核酸(miRNA)是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码RNA,miR-200家族可抑制E盒结合锌指蛋白(ZEB)表达,上调钙黏蛋白E(E-cadherin)水平,抑

制肿瘤细胞的增殖、运动和迁移,与结直肠癌密切相关,并与中医学“扶正”“消积”密切相关。健脾消癌方是湖南省名中医蒋益兰教授的经验方,具有扶正消积的功效。本课题组前期研究发现,健脾消癌方可有效抑制裸鼠结肠癌肝转移^[4]。本研究在前期研究的基础上通过建立结肠癌肝转移裸鼠模型,检测肝组织PD-1/PD-L1及miRNA-200c/ZEB1表达的影响,进一步探讨健脾消癌方通过扶正抑瘤作用抑制结肠癌肝转移的可能作用机制。

1 实验材料

1.1 动物和细胞株 SPF级雌性BALB/C裸鼠60只,6周龄,体质量(20 ± 2)g,由上海灵畅生物科技有限公司提供,合格证编号:20180003021320。人结肠癌细胞株HCT116购于中国科学院上海细胞中心(目录编号:TCHu99),收到后传至第3代备用。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

1.2 药物 健脾消癌方(由人参 10 g、薏苡仁 30 g、半枝莲 30 g、郁金 15 g、重楼 10 g、藤梨根 20 g 等组成)购于湖南省中医药研究院附属医院中药房。先将药材冷水浸泡 1 h,用武火煮沸后转文火久煎 30 min,熬煮 2 次,将 2 次所得药液混匀、过滤,浓缩成 2.1 g/ml 生药,灭菌后,4℃ 冰箱保存备用。

1.3 主要试剂与仪器 RPMI1640 培养基(Gibco,货号:C1187500BT,批号:8122046);胎牛血清(Aus-bian,货号:WS5000T,批号:6031511);PurelinkRNA 试剂盒(Thermo Fisher Scientific,货号:12183020,批号:43682357);cDNA 逆转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司,货号:R333-01,批号:7E591D1);实时荧光定量聚合酶链式反应试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司,货号:Q712-02,批号:027E2220GA);人 PD-1(Affinity Biosciences,货号:DF2934,批号:459052);PD-L1(Affinity Biosciences,货号:BF8035,批号:31f0906);ZEB1 蛋白抗体(Affinity Biosciences,货号:DF7414,批号:AF4645)。稳压电器(上海天能科技有限公司,EPS-300);SDS-Acry/Bis 蛋白电泳仪(上海天能科技有限公司,VE-180);蛋白转膜仪器(上海天能科技有限公司,VE-186);5417R 台式冷冻高速离心机(Eppendorf 公司,5417R);化学发光成像系统(美国全能 GE 医疗集团,AI600)。

2 实验方法

2.1 模型制备 利用人结肠癌 HCT116 细胞,经脾移植(保脾法)建立裸鼠结肠癌肝转移模型。于无菌条件下将裸鼠置于保温床上,用 2.5% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉裸鼠。从腹部左侧 2.0 cm 左右切口进腹,暴露脾脏。用 1 ml 注射器从脾脏下极贴近脾包膜向上进针,深度 1.0 cm 以上,每只裸鼠注入经上述方法制备好的人结肠癌 HCT116 细胞 0.3 ml,见注射部位变红、肿胀后拔针,出针后即用以 75% 乙醇稍浸湿的棉球轻压止血,并杀死可能外渗的细胞,依次间断缝合腹壁。假移植组用上述方法手术,但仅注射等量的磷酸缓冲盐(PBS)溶液^[5]。在饲养过程中裸鼠进食量及饮水量均有所减少,消瘦,活动迟缓,体表光泽度下降,皮肤出现皱褶,腹部出现明显隆起,安乐死裸鼠后,解剖肝脏观察,可见大小、数量不等的灰白色结节,甚至有些裸鼠整个肝叶均为弥漫性结节灶,说

明造模成功^[6]。造模成功 40 只。

2.2 动物分组 裸鼠饲养 3 d 后,随机抽取其中 10 只作为假移植组,另取 40 只造模。造模成功后再将其按照随机数字表法分为 4 组:模型组,健脾消癌方低、中、高剂量组(简称为低、中、高剂量组),每组各 10 只。

2.3 干预方法 造模后第 15 天开始,假移植组和模型组灌胃等量 0.9% 氯化钠注射液,每天 1 次,健脾消癌方低、中、高剂量组灌胃健脾消癌方,剂量分别为 5.4、10.8、21.6 g/kg,每天 1 次。均连续给药 3 周,末次给药 2 h 后处死裸鼠。

2.4 观察指标

2.4.1 形态和组织病理学情况 1)肝转移瘤体情况。各组裸鼠处死后剖腹,肉眼观察裸鼠成瘤情况;取各组肝转移瘤组织,剥离,称重,记录各组肝转移瘤数量、质量^[7]。2)肝脏组织病理学情况。每组取裸鼠部分肝脏标本(有转移癌结节者以结节为中心取材),以 10% 甲醛固定 24 h 后以苏木精-伊红(HE)染色制作病理切片,置于显微镜下观察肝脏病理学情况。

2.4.2 miRNA-200c 及 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 的表达 采用实时荧光定量 PCR 法检测 miRNA-200c 及 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 的表达。提取细胞总核糖核酸(RNA),Nanodrop 测定 RNA 浓度并评估纯度。根据逆转录试剂盒说明书,将 RNA 反转录成 cDNA,进行聚合酶链式反应(PCR)扩增,扩增条件为:1)95℃ 预变 60 s,1 个循环;2)95℃ 变性 10 s,60℃ 退火 30 s,45 个循环;3)95℃ 延伸 15 s,55℃ 降温 60 s,95℃ 终延伸 15 s,1 个循环;4)50℃ 保存。实验重复 3 次。相对表达量用 2- $\Delta\Delta C_t$ 法计算。miRNA-200c 定量实验的内参基因设置为 U6,PD-1、PD-L1、ZEB1 定量实验的内参基因设置为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)。引物由上海 Sangon 有限公司提供。miRNA-200c 上游引物:5'-GGGTAATACTGCCGGTAAT-3';下游引物:5'-CAGTGCCTGTCGTGGA-3'。U6 上游引物:5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3';下游引物:5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCTAT-3'。PD-1 上游引物:5'-CCAGGATGGTTCTTAGACTCCC-3';下游引物:5'-TTTAGCACGAAGCTCTCCGAT-3'。PD-L1 上游引物:5'-TGGCATTTGCTGAACGCATTT-3';下游引物:5'-TGCAGCCAGGTCTAATTGTTTT-

3′. ZEB1 上游引物:5′-GATGATGAATGCGACT-CAGATGC-3′;下游引物:5′-ACAGCAGTGTCTTGT-TGTTGT-3′. GAPDH 上游引物:5′-CATGTTCGT-CATGGGTGTGAACCA-3′;下游引物:5′-AGTGATG-GCATGGACTGTGTCAT-3′.

2.4.3 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白的表达 采用蛋白免疫印迹 (Western blot) 法检测 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白的表达。采用蛋白裂解液提取总蛋白,二辛可酸法 (BCA 法) 测定所提取的蛋白质浓度。按每孔 35 μg 上样量进行 15% 十二烷基苯磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,将蛋白质转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜上,摇床封闭 1h,分别加入相应抗体 PD-1 (1:1000)、PD-L1 (1:1000)、ZEB1 (1:1000)、GAPDH (1:5000),水平摇床 4℃,孵育 2 h;TBST 洗涤 15 min,3 次,分别加入相应二抗 (1:5000),适温孵育 1 h,然后用 1×TBST 洗膜 3 次,每次 15 min,加入化学发光底物,仪器内显影,并用 Image J 对实验图像进行灰度值分析。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析,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,对于符合正态分布的计量资料,组间比较采用独立样本 *t* 检验,组内比较采用配对样本 *t* 检验;对于不符合正态分布的计量资料则采用非参数检验;等级资料采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组肝转移瘤体情况 接种成功的裸鼠腹部可见明显肿块生长,除假移植组外,其余各组均可在裸鼠的肝脏表面发现一处或多处灰白色肝转移结节,直径 2~8mm;而低、中、高剂量组肝脏表面的灰白色结节数量变少、体积变小。(见图 1)

3.2 各组肝转移瘤数量、质量比较 与模型组比较,低、中、高剂量组的肝转移瘤数量、质量均下降 ($P<0.05$);与低、中剂量组比较,高剂量组均下降 ($P<0.05$)。(见表 1)

3.3 各组肝脏组织病理学情况 假移植组肝细胞生长正常,肝小叶结构完整。其余各组均可见呈浸润性生长的癌细胞团,癌细胞生长活跃,呈明显异形性,胞核圆形、居中、核大、深染,核分裂相增多,聚集成团,胞质少,伴有癌结节形成。与模型组比较,低、中、高剂量组癌细胞增长速度较慢,且呈现剂量依赖效应。(见图 2)



图 1-1 假移植组



图 1-2 模型组

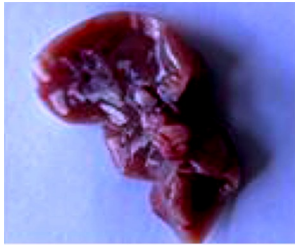


图 1-3 低剂量组

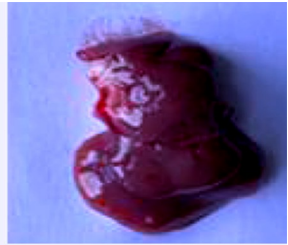


图 1-4 中剂量组



图 1-5 高剂量组

图 1 各组肝转移瘤体情况

表 1 各组肝转移瘤数量、质量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	数量/个	质量/g
假移植组	10	0	0
模型组	10	8.02±1.86	2.37±0.28
低剂量组	10	6.22±1.37 ^a	1.78±0.24 ^a
中剂量组	10	4.34±1.59 ^a	1.46±0.21 ^a
高剂量组	10	2.87±1.24 ^{abc}	1.02±0.25 ^{abc}

注:与模型组比较,^a $P<0.05$;与低剂量组比较,^b $P<0.05$;与中剂量组比较,^c $P<0.05$ 。

3.4 各组肝组织 miRNA-200c 及 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达比较 与假移植组比较,模型组 miRNA-200c 表达显著降低,PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,高剂量组 miRNA-200c 表达显著升高 ($P<0.01$),各剂量组 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达显著降低 ($P<0.01$)。(见图 3)

3.5 各组肝组织 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达比较 与假移植组比较,模型组 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,高剂量组 PD-1 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$),各剂量组 PD-L1 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),中、高剂量组 ZEB1 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$)。(见图 4、5)

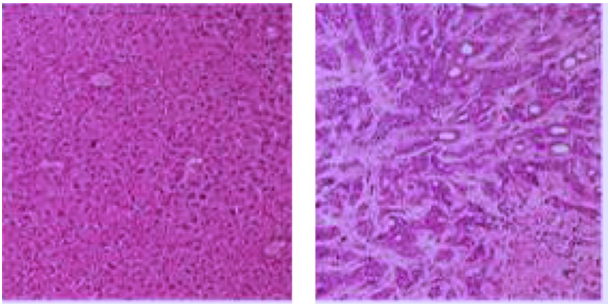


图 2-1 假移植组

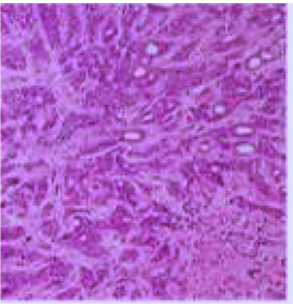


图 2-2 模型组



图 2-3 低剂量组

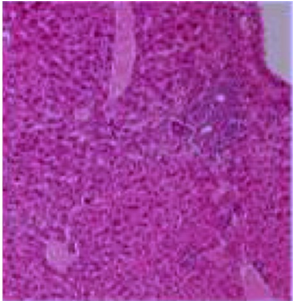


图 2-4 中剂量组

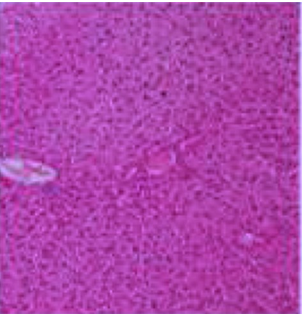


图 2-5 高剂量组

图 2 各组肝脏组织病理学情况(×200)

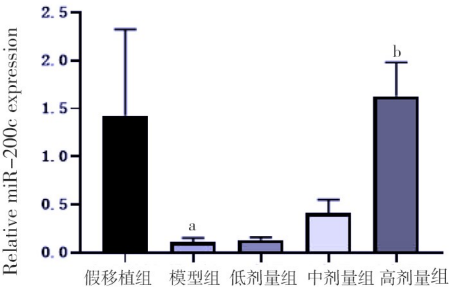


图 3-1 miR-200c mRNA

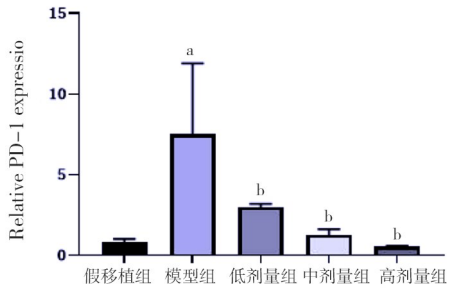


图 3-2 PD-1 mRNA

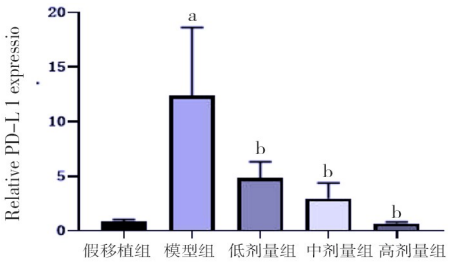


图 3-3 PD-L1 mRNA

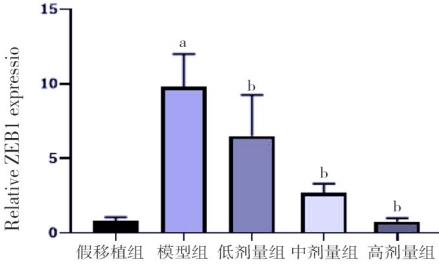


图 3-4 ZEB1 mRNA

注:与假移植组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$ 。
图 3 各组肝组织 miRNA-200c 及 PD-1、PD-L1、ZEB1 mRNA 表达比较

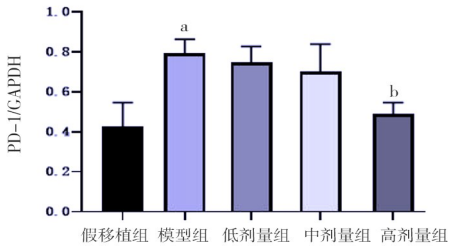


图 4-1 PD-1 蛋白

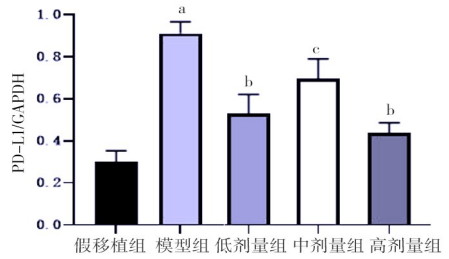


图 4-2 PD-L1 蛋白

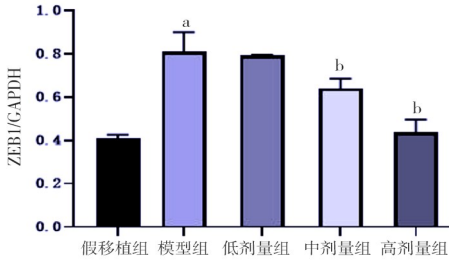


图 4-3 ZEB1 蛋白

注:与假移植组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。
图 4 各组肝组织 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达比较

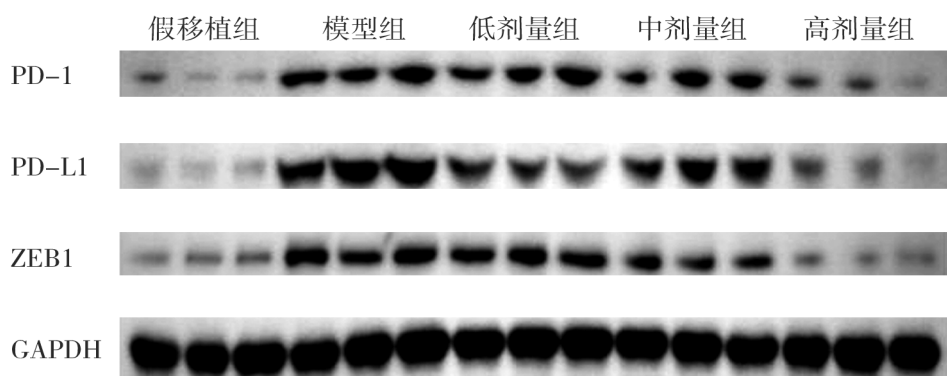


图 5 各组肝组织 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达电泳图

4 讨 论

随着人们饮食结构、生活环境的改变及我国人口逐渐进入老龄化、环境污染等问题的出现,近年来,我国结肠癌的发生率和病死率均逐年升高,且发病人群有年轻化趋势,大多数患者确诊时已出现周围组织或远处器官的播散,从而失去了手术根治的机会。肝脏是其最常见的远处转移器官之一。临床研究发现中医药治疗中晚期结肠癌在改善患者生活质量、延长生存时间、提高机体免疫功能等方面具有一定优势。

中医学认为结肠癌的发病主要是由于机体正气不足,六淫邪毒侵犯机体,邪气入里蕴于结肠,久则聚而成积。其病位主要在脾胃,脾胃亏虚,水谷运化失司,水湿停聚,化为痰湿,滞留肠道,蕴久化热,气机阻滞,血行不畅,瘀血内停,日久则发为癌毒^[8]。正气亏虚主要体现在 3 个方面:其一,发病机制。肿瘤的发生发展主要由于正气亏虚,抗病能力下降,病邪入侵,气机升降失调,肝脾不和,内环境失衡,痰瘀毒结,久之则发为癌,即“邪之所凑,其气必虚”。其二,治疗损伤。患者多采用了西医手术、放化疗、靶向等多阶段治疗,虽然杀灭了肿瘤细胞,但同时也损伤了患者的正气,使脾胃更加虚弱。其三,邪毒耗损。结肠癌晚期,尤其是中老年患者,邪毒强盛,耗血伤精,进一步损伤元气。因此,正虚邪聚是结肠癌发生发展的基本特点,伴随整个发病过程,患者发病的轻重、恶化的程度、是否出现复发转移都是机体正邪交争的结果,因而扶正祛邪是肿瘤治疗的基本大法。

结肠癌患者的免疫功能处于紊乱状态,大部分表现为免疫抑制,这种免疫功能低下的“免疫抑制”

微环境与中医学“正气虚损”为主的内环境理论不谋而合,采用扶正为主兼以祛邪的中医药疗法并配合现代医学治疗,对于防治结肠癌患者的复发转移以及调节机体免疫力等具有重要的临床意义。健脾消癌方是湖南省名中医蒋益兰教授临证治疗结直肠癌的效验方。方中人参大补元气,扶正固本;薏苡仁淡渗利湿;半枝莲、郁金、重楼、藤梨根清热解毒、活血散结。全方立意“扶正消积”。前期研究显示本方能有效降低结肠癌术后肝转移发生率,提高 5 年生存率^[9]。实验研究显示健脾消癌方可能通过抑制人结肠癌细胞(SW620 细胞)转化生长因子- β (TGF- β)诱导的被转化生长因子激活的长链非编码(RNA lncRNA-ATB)表达,增加 miR-200a 表达,降低 ZEB1 表达来抑制结肠癌的转移^[10]。现代药理研究学表明,黄芪、白术、党参可抑制癌细胞增殖分化,对癌细胞凋亡具有促进作用,同时对免疫应答功能的 T 细胞亚群起到改善作用,达到调节人体免疫功能的目的,进而降低药物毒副作用^[11]。

PD-1/PD-L1 信号通路是重要的免疫检查点,PD-1 与 PD-L1 结合后 T 细胞抗原受体激活信号磷酸-Tyr 111 和人 ZAP 相关蛋白 70 脱磷酸化,引起下游人磷脂酰肌醇三羟基激酶/蛋白激酶 B 信号抑制,从而下调细胞存活基因抗凋亡蛋白的表达,促进 T 淋巴细胞凋亡,并抑制 T 淋巴细胞分泌细胞因子^[12-14]。miR-200 家族成员作为重要的抑制因子在肿瘤组织中表达下调,ZEB2 在结肠癌组织中表达率高于正常,两者均参与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及转移的调控^[15-19]。miR-200c 与 ZEB-1/2 之间又构成了一个双向负反馈回路^[20-21],这种双向回路出现在多种肿瘤细胞中^[22],在细胞的分化、去分化以

及肿瘤的增殖、转移过程中具有重大意义。Park SM 等^[23]发现,在 TGF-β 诱导的哺乳动物上皮介质转化(EMT)肿瘤模型中,miR-200 家族成员的表达水平显著下调,而 miR-200 家族成员重新表达后其可以通过靶向抑制 ZEB1 和 ZEB2 表达,上调 E-cadherin 的表达水平,从而抑制肿瘤细胞的运动和迁移能力。

本研究结果发现结肠癌肝转移裸鼠模型中,健脾消癌方能上调 miRNA-200c 表达,降低 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达,并且随着健脾消癌方剂量的增加,相关效果更加明显。本研究提示健脾消癌方具有明确的抑制结肠癌肝转移的作用,其机制可能与上调抑癌基因 miRNA-200c 表达,抑制 PD-1、PD-L1、ZEB1 蛋白表达有关。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: Cancer J Clin, 2021, 71(3): 240-249.

[2] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA: Cancer J Clin, 2021, 71(1): 27-33.

[3] 朱德祥, 任黎, 许剑民. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(V2020)[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2021, 10(1): 23-25.

[4] 杨晓, 蒋益兰, 李勇敏, 等. 健脾消癌方对大肠癌肝转移裸鼠模型肝组织 MMP-9、TIMP-1 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(10): 1323-1325.

[5] KOZLOWSKI KA, WEZEMAN FH, SCHULTZ RM. Tumor cell proteinase visualization and quantification using a fluorescent transitionstate analog probe[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81(4): 1135-1139.

[6] 文字, 张子建, 颜世超, 等. 理想小鼠结直肠癌肝转移模型的建立及研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(4): 484-490.

[7] 王容容, 谭小宁, 李勇敏, 等. 健脾消癌方对大肠癌肝转移裸鼠模型肝组织 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 177-181.

[8] 花宝金, 朴炳奎. 肿瘤虚证及扶正培本治疗的现代免疫机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6(3): 63-66.

[9] 蒋益兰, 潘敏求, 蔡美. 健脾消癌饮配合化疗拮抗大肠癌术后复发转移 62 例总结[J]. 湖南中医杂志, 2007, 23(1): 1-3.

[10] 罗吉, 罗燕, 李勇敏, 等. 健脾消癌方对结肠癌 TGF-β/In-cRNA-ATB/miR-200a 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 161-166.

[11] SIEGEL R, DESANTIS C, JEMAL A. Colorectal cancer statis-

tics, 2014[J]. CA: Cancer J Clin, 2014, 64(2): 104-117.

[12] ZAK KM, KITEL R, PRZETOCKA S, et al. Structure of the complex of human programmed death 1, PD-1, and its ligand PD-L1[J]. Structure, 2015, 23(12): 2341-2348.

[13] HOFMEYER KA, JEON H, ZANG X. The PD-1/PD-L1 (B7-H1) pathway in chronic infection-induced cytotoxic T lymphocyte exhaustion[J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 20(11): 691-694.

[14] GAUEN LKT, ZHU Y, LETOURNEUR F, et al. Interactions of p59fyn and ZAP-70 with T-cell receptor activation motifs: Defining the nature of a signalling motif[J]. Molecular & Cellular Biology, 1994, 14(6): 3729-3741.

[15] UHLMANN S, ZHANG JD, SCHWAGER A, et al. miR-200bc/429 cluster targets PLC gam-mal and differentially regulates proliferation and EGF-driven invasion than mi R-200a/141 in breast cancer[J]. Oncogene, 2010, 29(30): 397-406.

[16] KORPAL M, KANG Y. The emerging role of miR 200 family of micro RNAs in epithelialmesenchymal transition and cancer metastasis[J]. Rna Biology, 2008, 5(3): 115-119.

[17] SHIMONO Y, ZABALA M, CHO RW, et al. Down regulation of mi RNA200c links breast cancer stem cells with normal stem cells[J]. Cell, 2009, 138(3): 592-603.

[18] MATEESCU B, BATISTA L, CARDON M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response[J]. Nature Medicine, 2011, 17(12): 1627-1635.

[19] XIA H, NG SS, JIANG S, et al. miR-200a-mediated down regulation of ZEB2 and CTN-NB1 differentially inhibits nasopharyngeal carcinoma cell growth, migration and invasion[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 391(1): 535-541.

[20] HURTEAU GJ, CARLSON JA, SPIVACK SD, et al. Over expression of the micro RNA hsa-miR-200c leads to reduced expression of transcription factor 8 and increased expression of E-cadherin[J]. Cancer Res, 2007, 67(17): 7972-7976.

[21] BURK U, SCHUBERT J, WELLNER U, et al. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells[J]. EMBO Rep, 2008, 9(6): 582-589.

[22] BRABLETZ S, BRABLETZ T. The ZEB/miR-200 feedback loop a motor of cellular plasticity in development and cancer[J]. EMBO Rep, 2010, 11(9): 670-677.

[23] PARK SM, GAUR AB, LENGUEL E, et al. The miR200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2[J]. Genes & Development, 2008, 22(7): 894-907.

(收稿日期: 2023-05-22)

[编辑: 刘珍]