

白术附子汤对乳腺癌骨转移裸鼠生存时间及骨转移灶中破骨细胞的影响

刘琦¹, 程旭峰², 张新峰³, 赵慧朵², 王伟² (1. 河南中医学院科研处, 河南 郑州 450008; 2. 河南中医学院第一附属医院乳腺外科, 河南 郑州 450000; 3. 河南省肿瘤医院中西医结合科, 河南 郑州 450008)

摘要: **目的** 探讨白术附子汤抑制乳腺癌骨转移裸鼠模型骨损伤的作用机理。**方法** 建立乳腺癌骨转移裸鼠模型, 用白术附子汤组、附子-白术药对进行干预, 观察裸鼠模型的生存时间, 用抗酒石酸性磷酸酶(TRACP)染色进行破骨细胞计数, RT-PCR 法检测乳腺癌骨转移组织中巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、甲状旁腺激素相关肽(PTHrP)基因的表达, Western blot 检测骨转移组织中 M-CSF、PTHrP 蛋白的表达。**结果** 与模型组比较, 附子-白术药对组、白术附子汤组生存时间显著延长 ($P < 0.01$); 附子-白术药对组、白术附子汤组裸鼠骨转移灶中 TRACP 阳性细胞数量明显减少 ($P < 0.01$); 附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量显著降低 ($P < 0.01$); 附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF、PTHrP 蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$); 白术附子汤组 M-CSF、PTHrP 蛋白相对表达量有低于附子-白术药对组的趋势。**结论** 白术附子汤抑制乳腺癌骨转移裸鼠模型骨损伤的作用与其下调乳腺癌骨转移组织中骨破坏因子 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达有关; 附子-白术药对与白术附子汤功效相近, 可能是白术附子汤的核心药物。

关键词: 乳腺癌; 骨转移; 白术附子汤; 附子-白术药对; 巨噬细胞集落刺激因子; 甲状旁腺激素相关肽

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0441-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.002

Effect of *Baizhu Fuzi* Decoction on Survival Time of Nude Mice and Osteoclast of Breast Cancer Bone Metastases

LIU Qi¹, CHENG Xufeng², ZHANG Xinfeng³, ZHAO Huiduo², WANG Wei² (1. Department of Scientific Research, Henan University of Traditional Chinese Medicine(TCM), Zhengzhou 450008 Henan, China; 2. Department of Breast Surgery, the First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000 Henan, China; 3. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Henan Provincial Tumor Hospital, Zhengzhou 450008 Henan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory mechanism of *Baizhu Fuzi* Decoction(BFD) on bone damage of nude mice model with bone metastases of breast cancer. **Methods** The nude mice model with bone metastases of breast cancer was established, and then the modeled mice were treated with BFD and drug pair of Radix Aconite Preparata(*Fuzi*) and Rhizoma Atractylodis Macrocephalae(*Baizhu*), respectively. After treatment, the survival time of nude mice was observed, the count of osteoclast was detected after tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP) staining, the gene expression of macrophage colony stimulating factor(M-CSF) and parathyroid hormone related peptide (PTHrP) in the bone metastases of breast cancer was examined by the RT-PCR and their protein expression was detected by Western blot method. **Results** Compared with the model group, the survival time was obviously prolonged ($P < 0.01$), the amount of TRACP positive cells in the bone metastases of breast cancer was reduced ($P < 0.01$), M-CSF and PTHrP mRNA relative expression levels as well as their protein relative expression levels were decreased obviously ($P < 0.01$) in BFD group and *Fuzi-Baizhu* drug pair group. And BFD group showed better effect on

收稿日期: 2013-02-15

作者简介: 刘琦, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 中医药分子生物学研究。Email: liuqi117@126.com。通讯作者: 程旭峰, 男, 博士, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 中西医结合防治乳腺病的临床与基础研究。Email: cxf9939@163.com。

基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目 (112102310108); 河南省科技厅基础与前沿项目 (102300410040); 河南省教育厅科技攻关计划 (2010B360005); 郑州市金水区科技攻关项目 (20093542)。

decreasing M-CSF and PTHrP protein expression levels than *Fuzi-Baizhu* drug pair group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** BFD shows certain effect on relieving bone damage in nude mice model with bone metastases of breast cancer, and its mechanism is probably related with the down-regulation of gene and protein expression of osteoclasia factors of M-CSF and PTHrP in the bone metastases of breast cancer. The therapeutic effect of *Fuzi-Baizhu* drug pair is similar to that of BFD, indicating that *Fuzi-Baizhu* drug pair is the core drug of BFD.

Keywords: Breast cancer; Bone metastases; *Baizhu Fuzi* Decoction; *Fuzi-Baizhu* drug pair; M-CSF; PTHrP

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 乳腺癌可发生多部位转移, 骨是其最常见的远处转移部位之一, 约 70 % 的乳腺癌患者在自然病程中发生骨转移^[1]。超过 75 % 的乳腺癌骨转移患者发生溶骨性骨损伤, 导致骨质疏松、高血钙症、脊髓压迫和病理性骨折等并发症^[2], 同时抗肿瘤治疗也常引起骨质流失, 导致肿瘤治疗相关的骨质流失 (cancer treatment induced bone loss, CTIBL)^[3], 给患者来了很大的医疗费用, 并严重影响患者生存质量。乳腺癌骨转移的防治是亟待解决的医学难题, 临床研究发现^[4], 《金匱要略》白术附子汤加味可用于乳腺癌骨转移的防治, 然而其防治乳腺癌骨转移的机理尚不清楚, 本研究从干预破骨细胞的分化、骨破坏因子巨噬细胞集落刺激因子 (Macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)、甲状旁腺激素相关肽 (Parathyroid hormone-related protein, PTHrP) 的表达研究白术附子汤抑制乳腺癌骨转移裸鼠模型骨损伤的机理。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级 BALB/c-nu-nu 裸鼠 80 只, 雌性, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 由河南省实验动物中心提供, 许可证号: SCXK (豫)2010-0011。裸鼠适应新环境 1 周后开始实验。

1.2 细胞株及培养 人乳腺癌骨转移细胞株 MDA-MB-231BO (美国德克萨斯州立大学医学系内分泌所 Toshiyuki Yoneda 博士惠赠)。以高糖型培养基 DMEM 培养, 含葡萄糖 $4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 % 胎牛血清, $3.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$, 1 % L-谷氨酰胺以及 $10^5 \text{ u} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素-链霉素双抗液, 培养条件为 37°C 、5 % CO_2 , 湿度为 95 %。

1.3 药物 白术附子汤: 炮附子 15 g, 白术 9 g, 炙甘草 5 g, 生姜 7 g, 大枣 9 枚 (18 g); 附子-白术药对: 炮附子 15 g, 白术 9 g; 上述中药均由河南中医学院第一附属医院中药房提供, 并经医院药学部陈天朝主任药师鉴定。中药煎液由医院制剂室制备。

分别将白术附子汤和附子-白术药对水煮 2 次, 合并药液, 浓缩, 得到 $270 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的白术附子汤煎液和 $120 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的附子-白术药对煎液, 放入 4°C 冰箱中保存; 唑来膦酸注射液, 江苏正大天晴药业股份有限公司, 批号: 0809122。

1.4 仪器及试剂 Forma Series11 CO_2 培养箱, 美国 Thermo 公司; 组织包埋机、切片机、冰冻恒温切片机, 德国 Leica 公司; MIQAS 医学图像定量分析系统, 上海达为科生物科技有限公司; BH2 生物显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; SBE6003 电泳仪, 上海申能博彩生物有限公司; FR-980 生物电泳图像分析系统, 上海复日科技有限公司; FTC-2000 型荧光定量基因扩增仪, 上海枫岭生物技术有限公司。TRIZOL 试剂, Invitrogen 公司; RT-PCR 试剂盒, TaKaRa 公司; Taq 酶, 华美生物工程公司; NBIP/CBP, Promega 公司; SYBR Green Supermix, Bio-Rad 公司。BCIP/NBT 显影液, Promega 公司; 人单克隆抗体 anti-M-CSF、anti-PTHrP, 美国 Santa Cruz 公司。

1.5 模型制备 应用左心室注射 MDA-MB-231BO 细胞法^[5]进行模型复制 (活细胞悬液浓度为 8×10^6 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 每只裸鼠注射 0.1 mL)。

1.6 分组及给药 取复制成功的裸鼠模型 48 只, 随机分为 2 个实验大组, 每组 24 只。每实验大组随机为模型组、唑来膦酸组、白术附子汤组、附子-白术药对组, 每组 6 只。每实验大组均另设正常对照组, 每组 6 只。

第 1 实验大组: 各组裸鼠于模型复制成功后第 4 天开始给药, 模型组、正常对照组给予等量生理盐水, 白术附子汤组、附子-白术药对组分别给予白术附子汤 $6.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、附子-白术药对煎液 $2.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃给药, 灌胃容积为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$; 唑来膦酸组皮下注射唑来膦酸, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 均每周给药 3 次, 持续 6 周^[6]。

第 2 实验大组按上述方法给药, 持续 6 周, 然后观察裸鼠至其自然死亡。

1.7 裸鼠生存时间观察 观察第 2 实验大组裸鼠生长情况,直至其全部自然死亡,记录生存时间。

1.8 组织病理学观察 第 1 实验大组给药完成后,取骨组织转移灶进行病理切片,以抗酒石酸酸性磷酸酶(Tartrate resistant acid phosphatase, TRACP)染色方法^[7]观察破骨细胞的形态和数量。

1.9 RT-PCR 检测骨转移组织中 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量 第 1 实验大组给药 6 周后取骨转移灶组织,以 TRIZOL 法提取总 RNA,按试剂盒说明进行 cDNA 合成和 PCR 扩增,采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行检测。根据不同引物的不同退火温度进行 PCR 反应,条件如下:95 ℃、5 s,60 ℃、35 s,扩增 40 个循环。Prism5.0 软件设计引物序列,由上海博彩公司合成。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法对各组骨转移灶中的 M-CSF mRNA 和 PTHrP mRNA 进行相对定量^[8],引物设计及退火温度见表 1。

表 1 引物及退火温度

Table 1 Primer sequence and annealing temperature		
引物	引物序列	退火温度 /℃
GAPDH	Sense:5'-GGTCGGAGTCAACGGATTG-3'	58.4
	Anti-sense:5'-ACATGACTTCCAAGCTGCCCCGT-3'	
M-CSF	Sense:5'-AGCAGGACTATCACCGAGGA-3'	43.8
	Anti-sense:5'-TATCTCTGAAGCGCATGGTG-3'	
PTHrP	Sense:5'-ATGCAGCGGAGACTGCTTCAG-3'	43.8
	Anti-sense:5'-TTCTAGTGCCACTGCCCATTTG-3'	

1.10 Western-blot 检测骨转移组织中 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量 第 1 实验大组给药 6 周后取骨转移灶组织,提取总蛋白,总蛋白通过 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离蛋白质从 SDS 聚丙烯酰胺凝胶转移至固相支持体,封闭硝酸纤维素滤膜的免疫球蛋白结合位点,第一抗体与靶蛋白结合,然后第二抗体与第一抗体结合。室温下,将硝酸纤维素滤膜在 PBST 缓冲液中漂洗 3 次,每次 10 min;然后放到显影液中显影 10~15 min,在 PBST 中清洗,观察显影结果,蛋白相对表达量用 M-CSF/ β -actin、PTHrP/ β -actin 灰度比值表示^[9]。

1.11 统计学处理方法 采用 SPSS 13.0 软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本的 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裸鼠生存时间比较 正常对照组裸鼠观察到 84 d,

均无死亡。而模型组、唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组生存时间均小于 63 d。与模型组比较,唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组生存时间均显著延长($P < 0.01$);唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组两两比较生存时间均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组裸鼠模型生存时间($\bar{x} \pm s$, d, $n=6$)

Table 2 The survival time of nude mice in each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	生存时间 /d
正常对照组		>84
模型组		44.2 $\pm$ 1.9
唑来膦酸组	2 $\times$ 10 ⁻⁴	59.7 $\pm$ 2.3 ^{##}
附子-白术药对组	2.4	56.7 $\pm$ 2.9 ^{##}
白术附子汤组	6.75	58.4 $\pm$ 3.0 ^{##}

注:与模型组比较, ^{##} $P < 0.01$ 。

2.2 骨转移灶 TRACP 染色病理检测结果 在 200 倍镜下随机选取 8 个视野观察,用 MIQAS 医学图像定量分析系统采集图像,并对视野中的 TRACP 阳性破骨细胞计数。与正常对照组比较,模型组 TRACP 阳性细胞数量明显增多($P < 0.01$);与模型组比较,唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组 TRACP 阳性细胞数量均明显减少($P < 0.01$);唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组两两比较,TRACP 阳性细胞数量无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 各组裸鼠骨转移灶 TRACP 阳性细胞数($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 The number of the TRACP-positive cells in mice bone metastasis tissues of each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TRACP 阳性细胞数 /个
正常对照组		4.00 $\pm$ 3.15
模型组		61.17 $\pm$ 16.61 ^{**}
唑来膦酸组	2 $\times$ 10 ⁻⁴	13.67 $\pm$ 4.92 ^{##}
附子-白术药对组	2.4	18.91 $\pm$ 4.28 ^{##}
白术附子汤组	6.75	18.17 $\pm$ 4.03 ^{##}

注:与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$;与模型组比较, ^{##} $P < 0.01$ 。

2.3 骨转移组织中 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量 与正常对照组比较,模型组 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较,唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量均显著降低($P < 0.01$);附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量的下降幅度明显小于唑来膦酸组($P <$

0.01); 附子-白术药对组和白术附子汤组组间比较, M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量变化均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 各组裸鼠 M-CSF mRNA、PTHrP mRNA 的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 The relative amount of M-CSF mRNA and PTHrP mRNA expression in mice bone metastasis tissues of each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	M-CSF mRNA	PTHrP mRNA
正常对照组		15.78 ± 1.21	22.13 ± 1.72
模型组		100.00 ± 0 ^{**}	100.00 ± 0 ^{**}
唑来膦酸组	2 × 10 ⁻⁴	34.30 ± 3.20 ^{##}	36.76 ± 4.25 ^{##}
附子-白术药对组	2.4	42.83 ± 3.62 ^{##△△}	53.16 ± 6.06 ^{##△△}
白术附子汤组	6.75	44.57 ± 4.27 ^{##△△}	55.32 ± 7.03 ^{##△△}

注: 与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与唑来膦酸组比较, ^{△△} $P < 0.01$ 。

2.4 骨转移组织中 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量

与正常对照组比较, 模型组 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量均显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 唑来膦酸组、附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量均显著降低($P < 0.01$); 与唑来膦酸组比较, 附子-白术药对组、白术附子汤组对 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量的作用比较弱($P < 0.01$); 附子-白术药对组、白术附子汤组组间比较 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量无统计学意义($P > 0.05$), 见表 5。

表 5 各组裸鼠 M-CSF、PTHrP 蛋白的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 The relative amount of M-CSF and PTHrP protein expression in mice bone metastasis tissues of each group

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	M-CSF	PTHrP
正常对照组		0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.03
模型组		1.00 ± 0.00 ^{**}	1.00 ± 0.15 ^{**}
唑来膦酸组	2 × 10 ⁻⁴	0.26 ± 0.02 ^{##}	0.28 ± 0.04 ^{##}
附子-白术药对组	2.4	0.55 ± 0.05 ^{##△△}	0.59 ± 0.03 ^{##△△}
白术附子汤组	6.75	0.58 ± 0.07 ^{##△△}	0.63 ± 0.05 ^{##△△}

注: 与正常对照组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与唑来膦酸组比较, ^{△△} $P < 0.01$ 。

3 讨论

乳腺癌骨转移属中医骨瘤、骨蚀、骨痹等范畴。在中医骨伤学理论中, 肾主骨的论述居于核心地位^[10], 《医经精义》有云“肾藏精, 精生髓, 髓生骨, 故骨者肾之所合也”, 故认为乳腺癌骨转移的发生与中医的肾关系密切。肾虚久不复, 火不生土, 脾肾为互济之脏, 必伤脾阳。《素问·五脏生成篇》亦云“肾之

合骨也, 其荣在发, 其主脾也”, 说明脾肾对骨的充养具有重要作用。故脾肾阳虚应为骨转移癌发生的重要病机。附子辛、甘、大热, 归心、肾、脾经, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛等功效; 白术苦、甘、温, 归脾、胃经, 具有补气健脾、燥湿利水等功效; 因此白术与附子合用具有温肾阳、健脾的功效, 该功效与骨转移癌脾肾阳虚的病机相合, 可用于骨转移癌的防治。前期研究发现《金匱要略》白术附子汤加味治疗乳腺癌骨转移具有可靠的疗效^[4], 而白术附子汤干预乳腺癌骨转移的作用机制未见报道。本研究从生存时间、破骨细胞的分化、骨破坏因子 M-CSF、PTHrP 的表达等指标, 研究白术附子汤对乳腺癌骨转移的抑制作用。

本研究结果显示, 附子-白术药对组、白术附子汤组能显著延长乳腺癌骨转移裸鼠模型生存时间, 而两组间比较无统计学意义, 说明附子-白术药对可能是白术附子汤延长乳腺癌骨转移裸鼠模型生存时间的主要药物。

恶性肿瘤骨转移骨质吸收需要破骨细胞的参与, 破骨细胞通过分解骨组织导致骨质吸收。TRACP 主要来源于破骨细胞, 是破骨细胞的特征性酶, 可反映破骨细胞活性和骨吸收的状态, 是破骨细胞活性和数量特异的标志物, 检测组织中的 TRACP 的活性在一定程度上反映破骨细胞的骨吸收功能^[11]。本研究结果表明, 与正常对照组比较, 模型组 TRACP 阳性细胞数量明显增多, 说明乳腺癌骨转移模型建立后破骨细胞数量增加及过度激活, 这是乳腺癌骨转移溶骨性骨质破坏的核心环节, 说明了裸鼠发生乳腺癌骨转移后出现溶骨性损伤。附子-白术药对组、白术附子汤组 TRACP 阳性细胞数量均明显减少, 而两组间 TRACP 阳性细胞数量无统计学意义, 说明附子-白术药对、白术附子汤均具有抑制破骨细胞的能力。

M-CSF、PTHrP 是调节破骨细胞和骨吸收的重要因子; M-CSF 是破骨细胞分化、成熟的始动因子, 可促进骨髓祖破骨细胞分化为前破骨细胞; 乳腺癌细胞分泌 M-CSF, 使破骨细胞分化的始动环节被加强^[12]。PTHrP 是一种肿瘤细胞因子, 是破骨细胞活性的主要介导因子, 是造成骨破坏和骨形成平衡失调的重要因素^[13]。因此, 干预 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达, 可影响破骨细胞的活性, 从而影响骨吸收。本研究结果显示, 模型组 M-CSF、PTHrP 基因

和蛋白的表达较正常对照组均明显增多, 附子-白术药对组、白术附子汤组 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达较模型组均明显减少, 而两组间 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达无统计学意义, 说明附子-白术药对、白术附子汤均可下调骨破坏因子 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达, 抑制破骨细胞的分化, 促进乳腺癌骨转移组织的修复。

综上所述, 白术附子汤和附子-白术药对均可延长乳腺癌骨转移裸鼠模型的生存时间, 抑制骨转移灶中破骨细胞的表达, 下调乳腺癌骨转移组织中骨破坏因子 M-CSF、PTHrP 基因和蛋白的表达, 从而抑制破骨细胞的分化, 促进乳腺癌骨转移组织的修复; 附子-白术药对与白术附子汤功效相近, 可能是白术附子汤的核心药物。

参考文献:

- [1] Akhtari M, Mensuri J, Newman KA, et al. Biology of breast cancer bone metastasis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(1): 3-9.
- [2] Coleman RE, Lipton A, Roodman GD, et al. Metastasis and bone loss: advancing treatment and prevention[J]. *Cancer Treat Rev*, 2010, 36: 615-620.
- [3] Amir E, Ocana A, Seruga B, et al. Medical oncology: Zoledronic acid for breast cancer therapy-induced bone loss[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7: 187-188.
- [4] 程旭峰, 张新峰, 刘琦, 等. 《金匱》白术附子汤加味治疗乳腺癌骨转移例临床观察[J]. *中医学报*, 2012, 27(3): 266-269.
- [5] 程旭峰, 刘胜, 杨顺芳, 等. 放射性核素骨显像支持下建立乳腺癌骨转移裸鼠模型[J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(9): 1588-1590.
- [6] Matsumoto S, Kimura S, Segawa H, et al. Efficacy of the third-generation bisphosphonate, zoledronic acid alone and combined with anti-cancer agents against small cell lung cancer cell lines[J]. *Lung Cancer*, 2005, 47(1): 31-39.
- [7] Hiraga T, Myoui A, Choi ME, et al. Stimulation of cyclooxygenase-2 expression by bone-derived transforming growth factor enhances bone metastases in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (4): 2067-2073.
- [8] Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin [J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(Suppl1): S1-S7.
- [9] 刘正霞, 徐阳, 徐进梅, 等. 不同引物及数据分析方法对定量 PCR 结果的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(8): 1112-1117.
- [10] 张登本. “肾主骨”理论的发生及其意义[J]. *河南中医学院学报*, 2007, 22(3): 6.
- [11] Hannon RA, Clowes JA, Eagleton AC, et al. Clinical performance of immunoreactive tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b as a marker of bone resorption[J]. *Bone*, 2004, 34(1): 187-194.
- [12] 韩艳久, 彭昊, 方洪松, 等. M-CSF 的表达与骨巨细胞瘤病理分级及生物学行为的关系[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2009, 30(2): 248-252.
- [13] Guise TA, Chirgwin JM. Transforming growth factor-beta in osteolytic breast cancer bone metastases[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2003, 415 (Suppl): S32-S38.

(编辑: 梁进权)

胃痞消对慢性萎缩性胃炎大鼠 NF- κ Bp65 mRNA 表达的影响

郭亚蕾^{1,2}, 潘华峰², 饶晶² (1. 三亚市中医院, 海南 三亚 572000; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 观察胃痞消对慢性萎缩性胃炎癌前病变大鼠 NF- κ Bp65 mRNA 表达的影响。**方法** SD 大鼠随机分为正常对照组, 模型组, 维酶素组, 胃痞消高、中、低剂量组, 用 1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍溶液 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 复制慢性萎缩性胃炎 (CAG) 模型。RT-PCR 检测 NF- κ Bp65 mRNA 表达。**结果** 模型组 NF- κ Bp65 mRNA 的表达增强, 与正常对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。胃痞消高、中、低剂量组和维酶素组 NF- κ Bp65 mRNA 的表达降低, 与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 胃痞消可以下调胃癌前病变大鼠 NF- κ Bp65 mRNA 的表达, 从而阻止 CAG 胃癌前病变的发展。

关键词: 胃痞消; 慢性萎缩性胃炎; 癌前病变; 核转录因子- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0445-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.003

收稿日期: 2012-11-05

作者简介: 郭亚蕾, 女, 博士研究生, 研究方向: 脾胃病的临床与基础研究。Email: 770217837@qq.com。通讯作者: 潘华峰, 教授, 博士, 研究方向: 脾胃病的临床与基础研究。Email: gzphf@126.com。

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (S2011010003685)。