

氧化/抗氧化体系,可将 ROS 维持在一个稳定的范围内。当 ROS 过度产生,超过了机体抗氧化防御的能力,就会促使细胞发生转化、导致恶性肿瘤的发生^[10-12]。近年来的研究发现,多种临床应用的抗癌药物如三氧化二砷、烷化剂、多柔比星、紫杉醇和喜树碱等,能通过诱导 ROS 的大量增加来诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖,从而达到抗癌的目的^[10,13-14]。Groninger 等^[15]用长春新碱(vincristine, VCR)作用于初发急性淋巴细胞性白血病(ALL)患儿的骨髓白血病细胞和 ALL 细胞株 Jurkat 细胞。在 VCR 作用的早期即可在 Jurkat 细胞检测到 ROS 的存在,应用 ROS 清除剂作用后,ROS 的产生被抑制,并且 Caspase 酶系活性降低,进而抑制 Jurkat 细胞凋亡。但是,蛇床子素能够通过诱导 ROS 的增加来诱导宫颈癌细胞凋亡,目前尚无研究报道。本研究结果显示,蛇床子素诱导宫颈癌 Hela 细胞凋亡与其诱导氧化应激、升高 ROS 水平有关。

越来越多的研究显示,Bcl-2 蛋白家族成员在细胞凋亡的线粒体途径中起重要调控作用。Bcl-2 家族包括两类功能相反的蛋白质:抑制凋亡的蛋白(Bcl-2、bcl-xL)和诱导凋亡的蛋白(Bax、Bak、Bid 和 Bim)^[11]。Bcl-2 和 Bax 分别是 Bcl-2 家族中最有代表性的抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白。在凋亡发生过程中,Bax 在某些凋亡相关因素的激活下,可从胞浆迁移至线粒体膜上,Bax 形成线粒体膜通道,导致线粒体膜电位无法维系,膜的完整性遭到破坏,从而导致细胞色素 C 释放,经过 Caspase 活化级联反应,最终导致凋亡发生。本研究发现,当蛇床子素作用于宫颈癌 Hela 细胞后,Bax mRNA 的表达显著升高,而 Bcl-2 mRNA 的表达明显降低,提示蛇床子素通过诱导 Bcl-2/Bax 失衡,进而促发凋亡。

综上所述,蛇床子素通过影响宫颈癌细胞 ROS 水平,打破氧化还原平衡,从而改变线粒体膜通透性,促进激活促凋亡因子 Bax,抑制抗凋亡因子 Bcl-2,经过级联反应,诱导细胞凋亡。

参考文献

- [1] 董晓华,孟宪勇,张力,等.蛇床子素对 AD 大鼠神经元凋亡及细胞周期的影响[J].神经药理学报,2012,2(3):7-14.
- [2] 徐燕,廖建华,吴龙火.蛇床子素的生物学活性与作用机制研究进展[J].湖北农业科学,2013,52(18):4313-4318.
- [3] 李慧.蛇床子素及其衍生物抗肿瘤作用机制研究进展[J].中药药理与临床,2015,31(3):208-214.
- [4] 徐小嫚,张毅,曲丹,等.蛇床子素对人肺鳞癌 NCI-H520 细胞系增殖、凋亡的影响[J].中国医刊,2013,48(3):35-37.
- [5] 苏立平,薛明明,陈立,等.蛇床子素对大鼠肝癌动物模型肝细胞生物行为学特性及血管特征的影响[J].中国生化药物杂志,2014,34(6):35-37.
- [6] 杨大朋,王海啸,彭延延,等.蛇床子素对人乳腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡的影响[J].南京师大学报(自然科学版),2010,33(2):76-80.
- [7] 张毅,佟笑竹,徐小嫚,等.蛇床子素体外对人前列腺癌 DU145 细胞增殖的抑制作用及机制[J].实用药物与临床,2013,16(2):96-98.
- [8] 吕金敏.蛇床子素诱导人肺腺癌细胞进入 G₂/M 阻滞并引起凋亡性死亡研究[J].浙江中西医结合杂志,2015,25(2):115-117.
- [9] Jarzab A, Grabarska A, Kielbus M, et al. Osthole induces apoptosis, suppresses cell-cycle progression and proliferation of cancer cells[J]. Anticancer Res, 2014, 34(11): 6473-6480.
- [10] Shen K, Xie J, Wang H, et al. Cambogin induces Caspase-Independent apoptosis through the ROS/JNK pathway and epigenetic regulation in breast cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2015, 14(7):1738-1749.
- [11] Bonora M, Pinton P. The mitochondrial permeability transition pore and cancer: molecular mechanisms involved in cell death[J]. Front Oncol, 2014(4):302.
- [12] Kello M, Drutovic D, Chripkova M, et al. ROS-dependent antiproliferative effect of brassinin derivative homobrassinin in human colorectal cancer CaCO₂ cells[J]. Molecules, 2014, 19(8):10877-10897.
- [13] Wang Y, Xu K, Zhang H, et al. Retinal ganglion cell death is triggered by paraptosis via reactive Oxygen species production: a brief literature review presenting a novel hypothesis in glaucoma pathology[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(3):1179-1183.
- [14] Palit S, Kar S, Sharma G, et al. Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway[J]. J Cell Physiol, 2014, 230(8):1729-1739.
- [15] Groninger E, Meeuwssen-De Boer T, Koopmans P, et al. Vincristine pharmacokinetics and response to vincristine monotherapy in an up-front window study of the Dutch Childhood Leukaemia Study Group (DCLSG)[J]. Eur J Cancer, 2005, 41(1):98-103.

(收稿日期:2016-08-16 修回日期:2016-11-30)

《重庆医学》对临床研究论文医学伦理学要求

凡投本刊的涉及人的生物医学研究论文,作者应说明所在用的试验程序是否经过伦理审查委员会(单位性的、地区性的或国家性的)评估,注明批准号。涉及患者(受试者)的应签订知情同意书。

《重庆医学》编辑部

This is trial version
www.adultpdf.com

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.07.007

金口宝对兔口腔溃疡模型的影响*

肖瑛琦^{1,2}, 陈琪¹, 苏松³, 付文广³, 谢鑫⁴, 郑思琳^{1△}

(西南医科大学:1. 附属医院护理部;2. 护理学院;3. 附属医院肝胆外科;4. 附属医院血液内科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨金口宝对兔口腔溃疡的治疗效果及其作用机制。**方法** 在 60 只实验用 SPF 级新西兰大白兔中随机抓取 6 只作为溃疡模型的鉴定,其余随机等分为 3 组:对照组(NC 组)、生理盐水药膜组(NS 组)、金口宝药膜组(JK 组)。用 40% 的冰醋酸溶液烧灼兔口腔颊膜复制口腔溃疡模型。观察在造模当天及给药的第 3、5、7 天兔口腔溃疡的变化情况,利用逆转录 PCR 检测兔口腔颊部黏膜组织中表皮生长因子(EGF)水平,使用 HE 染色观察兔口腔溃疡局部病理组织学变化。**结果** 与 NS 组比较,在给药的第 3、5、7 天 JK 组可以显著减小溃疡面积($P < 0.01$)。与 NC 组比较,NS 组、JK 组兔口腔颊部黏膜组织中 EGF 水平明显升高($P < 0.01$),但 JK 组 EGF 水平较 NS 组升高快,两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。在给药的第 3、5、7 天,兔口腔溃疡 HE 染色切片显示,JK 组较 NS 组炎症细胞明显减少,成纤维细胞明显增生,上皮增生情况良好。**结论** 金口宝可以明显改善兔口腔溃疡症状并促进溃疡愈合,金口宝可能是通过调节口腔溃疡时 EGF 水平而增强口腔溃疡的修复能力。

[关键词] 金口宝;口腔溃疡;表皮生长因子;动物实验**[中图分类号]** R285.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)07-0886-03

Effect of Jinkoubao on rabbit oral ulcer model*

Xiao Yingqi^{1,2}, Chen Qi¹, Su Song³, Fu Wenguang³, Xie Xin⁴, Zheng Silin^{1△}

(1. Department of Nursing, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Nursing College, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Department of Hepatobiliary

Surgery, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China;

4. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the therapeutic effect of Jinkoubao on oral ulcer in rabbits and its action mechanism. **Methods** Among 60 SPF New Zealand rabbits, 6 cases were randomly selected for the ulcer model identification, and the rest was randomly and equally divided into 3 groups: the control group (NC group), normal saline drug film group (NS group) and Jinkoubao film group (JK group). The rabbit model of oral ulcer was constructed by applying 40% glacial acetic acid to burn rabbit oral mucosa for duplicating the oral ulcer model, of the change situation of oral ulcer was observed on the same day for constructing model, on 3, 5, 7 d after medication. The EGF level in oral mucosal tissue was detected by using RT-PCR and the local histopathological changes in oral ulcer was observed by using HE staining method. **Results** Compared with the NS group, the ulcer area on 3, 5, 7 d after medication in the JK group was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the NS group, the EGF level in oral buccal mucosal tissue in the NS group and JK group was markedly increased ($P < 0.01$). But the EGF level increase in the JK group was faster than that in the NS group, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The HE staining section of rabbit oral ulcer on 3, 5, 7 d after medication showed that the inflammatory cells decrease in the JK group was more obvious than that in the NS group, fibroblasts proliferation was obvious and epithelial hyperplasia was good. **Conclusion** Jinkoubao could greatly improve the symptoms of oral ulcer in rabbits and promotes its healing, which is possible to strengthen the repair capacity of oral ulcer by regulating the EGF level.

[Key words] Jinkoubao; oral ulcer; epidermal growth factor; animal experimentation

口腔溃疡,又称“口疮”,是发生在口腔黏膜上的表浅性溃疡,大小可以从米粒至黄豆大小,成圆形或卵圆形,溃疡周围充血^[1],局部疼痛,主要发生在唇、颊、舌缘等部位,往往反复发作、久治不愈,给患者带来痛苦,影响患者的工作与生活。目前,治疗口腔溃疡以药物治疗为主,但效果仍不够理想^[2]。金口宝是一类由中药(金银花、栀子、白芷、白茅根、桔梗、玉竹、甘草等)精制而成的含片,目前主要用于治疗口腔溃疡、牙周炎等口腔疾患,然而,治疗口腔溃疡的机制尚未明确。因此,本研究通过实验性口腔溃疡兔在应用金口宝药膜后,观察其症状及口腔颊部黏膜组织中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的变化,来探讨金口宝治疗口腔溃疡的机制,为金口宝临床应用治疗口腔溃疡提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选 SPF 级新西兰兔 60 只,雌雄各半,体重 3 000~3 500 g,购于泸州医学院实验动物中心[许可证号:SYXK(川)2013-065],颗粒饲料饲养,保证充足饮水,室温(20±2)℃,平均相对湿度(40~60)%。

1.1.2 实验药品及试剂 羟丙基甲基纤维素购自浙江湖州展望天明有限公司,金口宝含片购自寿世保元食品有限公司,吐温-80 购自百世化工有限公司,甘油购自永大化学试剂有限公司,冰乙酸购自金山化学试剂有限公司,First Strand cDNA Synthesis Kit 购自博奥森生物技术有限公司,逆转录试剂盒购

自博奥森生物技术有限公司, RNA 抽提试剂盒购自美国 InvitroGen 公司, 2×TaqPCR MasterMix 购自中国天根生化科技有限公司, DNA Master 购自日本 TaKaRa 公司, 99%精盐购自 SiGma-Aldrich 西格玛奥德里奇有限公司。

1.1.3 实验仪器 组织匀浆器购自美国 Cole-Parmer 公司, 自动染色机购自德国 Leica 公司, 病理切片机购自德国 Leica 公司, 光学显微镜购自日本 Olympus 公司, 超低温冰箱购自德国 Eppendorf 公司, Mini-H3 垂直电泳仪购自美国 Biorad 公司, 紫外凝胶成像分析系统 LAS-3000 购自日本富士公司, 紫外分光光度计 ND-1000 购自美国 NanoDrop 公司, 高速多功能冷冻离心机购自 THERMO 公司, 超低温冰箱(-80℃)购自美国 Biorad 公司, Maxi-MixII 试管震荡器购自美国 BarNS-Gtead/Thermolyne 公司, HMIAS-2000 高清晰彩色医学图文分析系统购自武汉千屏影像技术有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 药物制备 金口宝药膜的制备: 取金口宝含片 600 g, 吐温-80 5.0 mL, 甘油 20.0 mL, 加饱和羟丙甲基纤维素液至 1 000 mL, 玻棒搅拌至充分溶解成凝胶状, 静置 24 h 后均匀铺盘, 待干后将其切成直径 1 cm 的药膜贴, 紫外线照射消毒, 聚乙烯薄膜密封备用。生理盐水药膜的制备: 取精盐 9 g, 加饱和羟丙甲基纤维素液至 1 000 mL, 其余方法同金口宝药膜。

1.2.2 动物分组 60 只实验用 SPF 级新西南大白兔, 将所有兔按照体质量大小进行编号, 采用随机数字表的方法在样本兔中随机抽取 6 只作为溃疡模型的鉴定(模型组), 其余按照相同的方法随机等分为 3 组: 对照组(NC 组), 不建立溃疡模型, 也不做任何处理; 生理盐水药膜组(NS 组), 建立溃疡模型, 并给予生理盐水药膜治疗; 金口宝药膜组(JK 组), 建立溃疡模型, 并给予金口宝药膜治疗。每组 18 只(雌雄各半)。

1.2.3 模型制备 用 3%的戊巴比妥钠(注射剂量为 30 mg/kg^[3])将需要建膜的兔麻醉, 将直径为 8 mm 的玻棒(玻棒长度为 10 cm)蘸取浓度为 40%的冰醋酸置于兔左右两侧距口角 2 mm 颊膜处烧灼 60 s, 生理盐水冲洗 1 min, 使局部成灰白色, 直径 8 mm 的白色损害, 24 h 后肉眼可见兔口腔颊部充血、红肿, 黄或白色假膜覆盖, 溃疡模型形成。

1.2.4 给药 模型建立后各组开始给药。NC 组、模型组不作处理; NS 组用生理盐水药膜贴敷兔口腔溃疡面; JK 组用金口宝药膜贴敷兔口腔溃疡面。每天 2 次(分别在 9:00 与 17:00), 两侧 1 次均 1 片药膜, 每次 5 min, 然后以温生理盐水清洗用药局部, 连续 7 d。

1.2.5 指标观测 (1)兔症状体征变化: 兔症状体征请本课题另一名未参与造模和分组成员 B(定人)肉眼观察为主。观察指标为兔活动情况、体质量、大小便、毛色、进食等情况的变化。(2)兔溃疡形态变化及面积测定: 在建模成功当天(0 d)处死用于溃疡模型鉴定的兔; NC 组、NS 组、JK 组中以随机数字表方法在用药后的第 3、5、7 天随机处死 6 只兔。课题组成员 B 观察兔口腔溃疡的形态, 如充血情况, 口腔黏膜色泽, 有无假膜覆盖等。将处死的各组兔, 嘴巴剪开, 充分暴露整个口腔, 选取口腔黏膜(以溃疡和正常黏膜交界处的组织为宜)^[3], 用游标卡尺测量溃疡大小, 用 Imageconverter 软件计算溃疡面积(定人 B、定位置、定焦聚照相)。(3)兔口腔颊部黏膜组织中 EGF 水平的测定: 将切取的溃疡病区病理标本, 右侧置于 10%甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 左侧立即液氮速冻, 以防 mRNA 降解, 然后送实验室-80℃冰箱冻存备用。用 RT-PCR 方法检测 EGF mRNA 的表达量, Quantity One 软件计算比较 RT-PCR 产物条带与 β-actin 条带的光密度的相对比值。(4)兔溃疡局部病理组

织学变化: 将石蜡包埋的标本切片进行 HE 染色, 观察各组兔口腔溃疡组织形态(NC 组取口腔溃疡相应位置的局部组织)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对单因素两水平的比较进行 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 采用 duncan 方法进行多重比较, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔症状体征变化比较 造模前及 NC 组兔口唇干燥, 活动正常, 反应灵活, 食欲良好, 毛色光泽顺滑, 小便淡黄, 大便正常; 造模后口唇边潮湿、偶有流口水, 活动减少, 精神较差, 摄食量饮水量减少, 体质量减轻, 毛色较之前黯淡粗糙, 小便黄且量少, 大便减少。JK 组经金口宝治疗后逐渐恢复, 饮食、饮水增加, 体质量逐渐回升, 口唇较之前干燥, 毛色逐渐光滑, 活动逐渐增加, 大小便逐渐趋于正常。NS 组恢复速度较 JK 组慢。

2.2 NS、JK 组兔溃疡形态及面积变化比较 NC 组口腔黏膜光整, 色淡红, 有光泽。冰醋酸烧灼 24 h 后, 兔口腔颊部形成圆形或椭圆形的溃疡, 直径约 8 mm, 边缘整齐, 周边红肿充血, 表面有黄色或灰白色假膜覆盖。随着时间推移, 口腔黏膜充血水肿逐渐减轻, 逐渐恢复光泽, JK 组恢复情况较 NS 组好。在建模成功第 1 天 JK 组溃疡面积与 NS 组比较差异无统计学意义(*P* > 0.05); 在用药的第 3、5、7 天, JK 组溃疡面积明显小于 NS 组(*P* < 0.05), 见表 1。

表 1 NS、JK 组兔不同时间溃疡面积比较($\bar{x} \pm s, \text{mm}^2$)

时间	NS 组	JK 组
第 1 天	49.33 ± 0.67	53.10 ± 6.01
第 3 天	48.63 ± 2.03	40.17 ± 2.93 ^a
第 5 天	36.30 ± 1.13	27.03 ± 0.95 ^a
第 7 天	27.33 ± 3.06	16.23 ± 1.37 ^a

^a: *P* < 0.05, 与 NS 组比较。

2.3 各组兔口腔颊部黏膜组织中 EGF 水平比较 EGF mRNA 在 NC 组中少量表达, 与 NS、JK 组比较, 差异有统计学意义(*P* < 0.05), NS 组与 JK 组比较, 差异无统计学意义(*P* > 0.05)。在用药后第 3、5、7 天, NS 组、JK 组中 EGF 的表达水平逐渐升高, 各组比较差异有统计学意义(*P* < 0.01), 见表 2、图 1。

表 2 各组兔口腔黏膜 EGF mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

时间	NC 组	NS 组	JK 组
第 1 天	0.23 ± 0.03	0.44 ± 0.03 ^a	0.44 ± 0.03 ^a
第 3 天	0.27 ± 0.03	0.78 ± 0.06 ^a	0.90 ± 0.08 ^{ab}
第 5 天	0.19 ± 0.08	0.87 ± 0.05 ^a	1.48 ± 0.15 ^{ab}
第 7 天	0.23 ± 0.03	1.30 ± 0.10 ^a	1.72 ± 0.13 ^{ab}

^a: *P* < 0.05, 与 NC 组比较; ^b: *P* < 0.05, 与 NS 组比较。

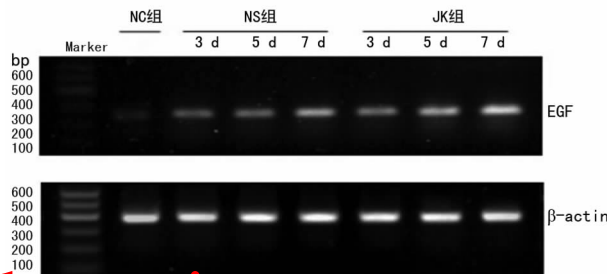
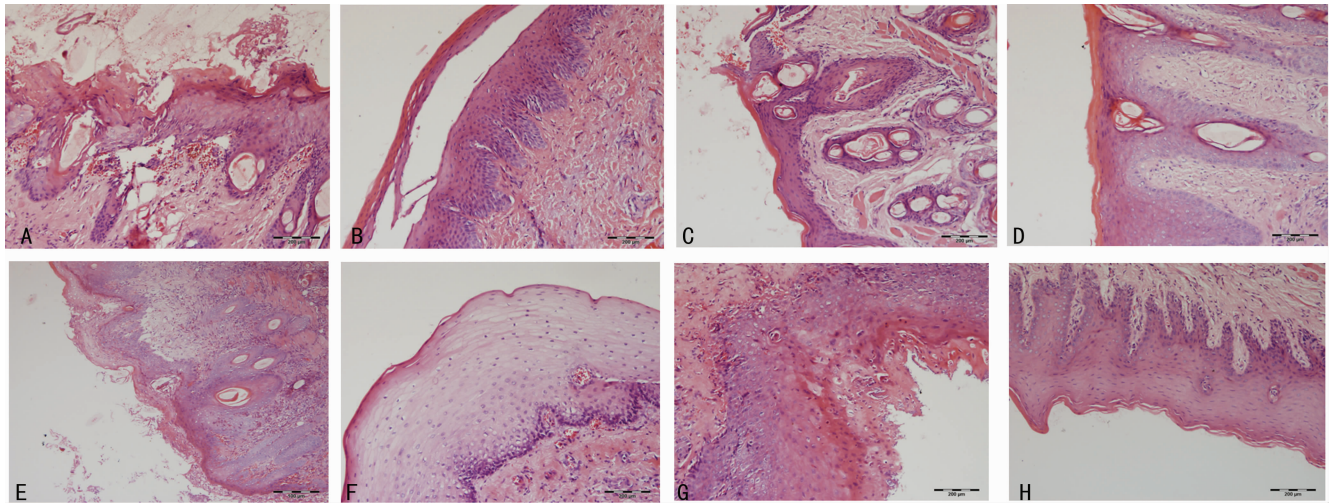


图 1 兔口腔黏膜 EGF mRNA 表达

2.4 光镜观察兔颊黏膜病理组织学变化 细胞核呈蓝色, 细胞质呈淡红色。NC 组兔口腔黏膜上皮完整覆盖, 下方是由致

密结缔组织组成的固有层,未见明显炎性细胞浸润。NS、JK 组兔用药 3 d 后,黏膜上皮细胞坏死脱落,NS 组炎症细胞数目较多,几乎看不到新生的成纤维细胞;JK 组炎症细胞数目明显减少,有少量新生的成纤维细胞。用药 5 d 后,NS 组炎症细胞

数目开始减少;JK 组炎症细胞数目不断减少,可以看到许多新生的成纤维细胞。用药 7 d 后,NS 组炎症细胞数目明显减轻,且有许多新生的成纤维细胞;JK 组表面几乎被黏膜上皮覆盖,溃疡在趋于愈合,见图 2。



A:模型组 0 d;B:NC 组 1 d;C:NS 组用药 3 d;D:JK 组用药 3 d;E:NS 组用药 5 d;F:JK 组用药 5 d;G:NS 组用药 7 d;H:JK 组用药 7 d。

图 2 各组兔颊黏膜 HE 染色 ($\times 200$)

3 讨 论

近年来,口腔溃疡的发病率呈现逐年升高的趋势,可发生于任何年龄,但以青壮年为多^[1],溃疡发生时,口腔黏膜上皮结构消失,被大量炎性细胞浸润,表皮细胞发生上皮破坏脱落,局部疼痛,当遇到酸、咸、热、辣等刺激时疼痛加重,给患者带来困扰。目前,用于治疗口腔溃疡的药品种类繁多,多是对症治疗或者采用增强免疫的药物^[4]。随着中医的发展,中药临床治疗一些疾病的疗效得到了较为广泛的认可。中医认为口腔溃疡的发生与“火”相关,据“火”之虚实,可首分为虚实,实证常见脾胃伏火、心火上炎、心脾积热、脾虚湿困;虚证常见阴虚火旺、脾肾虚弱^[4]。

金口宝是一类由中药(金银花、栀子、白芷、白茅根、桔梗、玉竹、甘草等)精制而成的含片。金银花味甘微苦,性寒,善清利上焦和肌表之毒邪;此外,金银花因其含绿原酸类、黄酮类化合物及挥发油等成分,具有抗炎、抑制多种病原菌、抗病毒、发挥免疫调节等作用^[5]。栀子,味苦性寒,归心、肝、肺、胃、三焦经,有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒的功效^[6]。白芷味辛微苦,性温,气芳香,有祛风湿,活血排脓,生肌止痛的功效^[7]。白茅根凉血止血,消肿利尿,清热解毒^[8]。桔梗能宣肺泄邪以利咽开音;性散上行,能利肺气以排壅肺之脓痰,镇咳、解热,还有镇静、镇痛,降血糖,降胆固醇,增强抗炎和免疫的作用^[9]。玉竹味甘,性微寒,入肺、胃经,具有养阴、润燥、除烦、止渴的功效^[10]。甘草味甘,性平,归十二经,补脾益气,滋咳润肺,缓急解毒,能调和百药^[11]。综观金口宝配方,既有泻火清热的治本之功,又有止痛、滋阴、除烦的治标之效。

本研究显示金口宝可以有效改善实验性口腔溃疡兔的体征,缓解局部组织的炎症反应,减少渗出,促进溃疡面的快速恢复,缩短溃疡时间。EGF 具有诱导细胞生长和增殖的作用^[12]。有研究表明,在口腔黏膜的保护屏障中 EGF 起着重要的作用,为口腔黏膜上皮细胞的生长、分化和增殖提供基础^[13],尤其与黏膜基底细胞增殖的关系更为密切^[14]。口腔溃疡的患者常会出现 EGF 的短缺,这造成了口腔溃疡的迁延不愈^[15]。本研究显示,造模成功当天,EGF mRNA 在 NC 组中少量表达

(0.23 ± 0.03),较 NS、JK 组(0.44 ± 0.03)少,差异有统计学意义($P < 0.05$),NS 组与 JK 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示 EGF mRNA 的表达在溃疡出现时随即增加。在用药的第 3、5、7 天,NS 组与 JK 组 EGF mRNA 的表达差异均有统计学意义($P < 0.05$),说明金口宝能够增强口腔黏膜 EGF mRNA 基因的表达,促进 EGF 的分泌;且随着时间的推移,EGF mRNA 的表达量逐渐增多,提示 EGF 参与了口腔溃疡愈合的过程。有研究表明,在溃疡患者口腔黏膜中 EGF 分泌减少,使口腔溃疡的恢复受到阻碍^[16]。因此,可以认为金口宝通过促进口腔黏膜中 EGF 的分泌,提高了口腔溃疡自我修复的能力,促进溃疡面愈合。

本研究通过观察实验性口腔溃疡兔的症状体征、溃疡形态面积、病理变化、EGF 的分泌情况,对 3 组兔口腔溃疡恢复情况进行观察比较,表明金口宝能够提高口腔黏膜细胞的自我修复能力,缩短溃疡时间,加速溃疡面愈合,其作用机制可能与促进 EGF 的分泌有关,为金口宝的临床用药提供了实验依据与基础数据。

参考文献

- [1] 刘丹丹,白明,闫欣,等.细辛醋糊外用对豚鼠口腔溃疡模型的影响[J].中华中医药杂志,2012,27(2):334-337.
- [2] Aoun N, Ehajj G, El TS. Oral ulcer; an uncommon site in primary tuberculosis[J]. Aust Dent J, 2015, 60(1): 119-122.
- [3] 李常伟.骨骼肌生物电阻抗与组织生物活性相关性的初步研究[D].河北:河北医科大学,2012.
- [4] 龙惠珍,殷洁,夏永良.补中益气汤对脾虚型复发性口腔溃疡小鼠 IL-2 IFN- γ 表达的影响[J].中华中医药学刊, 2010, 28(3): 523-525.
- [5] 王芳,蒋跃平,王晓良,等.金银花的化学成分研究[J].中国中药杂志,2013,38(9):1378-1385.
- [6] 孟祥华,李红伟,李颖,等.栀子化学成分及其药理作用研究进展[J].中国新药杂志,2011,20(11):959-967.
- [7] 朱文臣,李宝莉,马宏胜,等.白芷的有效(下转第 891 页)

血糖降血脂、抗氧化抗病毒等功能^[8]。另有研究表明楸木皂苷具有一定的抗肿瘤作用,本课题前期结果也证实楸木皂苷能够诱导 HeLa 细胞凋亡发生^[7]。因此,研究楸木皂苷对宫颈癌的抑制作用具有一定的理论基础。另外研究、开发楸木皂苷的抗宫颈癌作用,将会为宫颈癌的生物学治疗提供更多理论基础和分子靶点。

近年来研究发现,自噬作为程序性死亡的一种,在肿瘤细胞存活的命运中发挥着重要的作用,诸多抗肿瘤药物的作用机制均与自噬的发生相关^[3]。当肿瘤细胞自噬过度发生后,能够促进肿瘤细胞的死亡^[9]。本研究发现,楸木皂苷处理后能够显著促进自噬水平的升高。这种自噬水平的增高可能与楸木皂苷抑制 HeLa 细胞的增殖和迁移相关。之前的研究表明,调控自噬发生的机制中,主要以 mTOR 信号通路为主。NF- κ B 信号通路与肿瘤的增殖和迁移关系密切^[10-14]。RANKL 是 NF- κ B 信号通路的激动剂。在前期的研究结果中也发现,楸木皂苷能够抑制 Akt/NF- κ B 信号通路的活性。NF- κ B 信号通路与自噬水平的增强存在一定的关联性。本研究运用 NF- κ B 信号通路的激动剂后,观察 HeLa 细胞自噬相关蛋白的改变,结果发现,当 NF- κ B 信号通路被抑制后,自噬相关蛋白 Beclin 1、LC3B 水平降低。以上结果提示,NF- κ B 信号通路参与了楸木皂苷诱导的 HeLa 细胞自噬性死亡。

综上所述,楸木皂苷对 HeLa 细胞的抑制作用可能与促进其自噬的发生有关,并且自噬的发生受到了 NF- κ B 信号通路的调控。楸木皂苷很可能会成为一种临床上治疗宫颈癌的有效药物。

参考文献

- [1] Basu S, Mahajan A. Psoas muscle metastasis from cervical carcinoma: Correlation and comparison of diagnostic features on FDG-PET/CT and diffusion-weighted MRI[J]. *World J Radiol*, 2014, 6(4): 125-129.
- [2] Chen J, Giridhary KV, Zhang LY, et al. A protein kinase C/protein kinase D pathway protects LNCaP prostate cancer cells from phorbol ester-induced apoptosis by promoting ERK1/2 and NF-kappa B activities[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(8): 1198-1206.
- [3] Liu J, Fan L, Wang H, et al. Autophagy, a double-edged sword in anti-angiogenesis therapy[J]. *Med Oncol*, 2016,

33(1): 721-729.

- [4] Zhang JB, Cao R, Cai TJ, et al. The role of autophagy dysregulation in Manganese-Induced dopaminergic neurodegeneration[J]. *Neurotox Res*, 2013, 24(4): 478-490.
- [5] Gilmore TD. The Rel/NF-kappa B/I kappa B signal transduction pathway and cancer[J]. *Cancer Treat Res*, 2003, 115(115): 241-265.
- [6] Tapia MA, González-Navarrete I, Dalmasas A, et al. Inhibition of the canonical IKK/NF kappa B pathway sensitizes human cancer cells to doxorubicin[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(18): 2284-2292.
- [7] Lee EB, Kim OJ, Kang SS, et al. Araloside a, an antiulcer constituent from the root bark of *aralia elata* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(3): 523-526.
- [8] Kaur S, Sharma N, Krishn SR, et al. MUC4-mediated regulation of acute phase protein lipocalin 2 through HER2/AKT/NF- κ B signaling in pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(3): 688-700.
- [9] Shao LN, Zhu BS, Xing CG, et al. Effects of autophagy regulation of tumor-associated macrophages on radiosensitivity of colorectal cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016(13): 2661-2670.
- [10] Guo L, Yu H, Gu W, et al. Autophagy negatively regulates transmissible gastroenteritis virus replication[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(23864): 1-14.
- [11] Dong X, Levine B. Autophagy and viruses: adversaries or allies? [J]. *Innate Immun*, 2013, 5(5): 480-493.
- [12] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27-42.
- [13] Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation[J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 323-335.
- [14] Zhang Y, Li Z, Ge X, et al. Autophagy promotes the replication of encephalomyocarditis virus in host cells[J]. *Autophagy*, 2011, 7(6): 613-628.

(收稿日期: 2016-08-20 修回日期: 2016-11-03)

(上接第 888 页)

- 成分提取、药理作用及临床应用研究进展[J]. *中国医药导报*, 2014, 11(31): 159-166.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2000 年版[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 70.
 - [9] 李婷, 徐文珊, 李西文, 等. 中药桔梗的现代药理研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(2): 205-208.
 - [10] 王强, 李盛钰, 杨帆, 等. 玉竹中性多糖的分离纯化及单糖组成分析[J]. *食品科学*, 2010, 31(15): 100-102.
 - [11] 刘洋洋, 刘春生, 曾斌芳, 等. 甘草种质资源研究进展[J]. *中草药*, 2013, 44(24): 3593-3598.
 - [12] Damevska K, Gocev G, Nikolovska S. Eosinophilic ulcer of the oral mucosa: report of a case with multiple synchronous lesions[J]. *Am J Dermatopathol*, 2014, 36(7): 594-596.
 - [13] Song H, Lim H, Das SK, et al. Dysregulation of EGF

family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-Deficient mice[J]. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(8): 1147-1161.

- [14] 王汉明, 朱晓密, 赵雅君. 口疮 1 号方治疗大鼠口腔溃疡的实验研究[J]. *口腔医学研究*, 2014, 30(7): 627-629.
- [15] Arkhipov A, Shan Y, Das R, et al. Architecture and membrane interactions of the EGF receptor[J]. *Cell*, 2013, 152(3): 557-569.
- [16] Tomas A, Futter CE, Eden ER. EGF receptor trafficking: consequences for signaling and cancer[J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(1): 26-34.

(收稿日期: 2016-08-22 修回日期: 2016-11-05)