

基于 JAK2/STAT3 通路探讨归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠的抑瘤作用

靳银霞¹, 梁建庆^{1,2*}, 李尚¹, 薛春霞¹, 李娟¹, 李金田^{2,3}

(1. 甘肃中医药大学基础医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学中医临床学院, 甘肃兰州 730000)

摘要: 目的 探讨归芪益元膏联合顺铂在 JAK2/STAT3 通路中对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的抑瘤作用。方法 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为空白组、模型组、顺铂组 (5 mg/kg, 每 7 d 给药 1 次) 和归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组 (7.0、3.5、1.75 g/kg 归芪益元膏+5 mg/kg 顺铂), 每组 10 只。除空白组外, 其余各组大鼠采用腋窝皮下接种小鼠 Lewis 肺癌细胞悬液的方法, 连续给药 14 d。末次给药 24 h 后处死小鼠, 计算抑瘤率, HE 染色观察小鼠肿瘤组织病理变化, TUNEL 法检测小鼠肿瘤组织细胞 DNA 损伤情况, 免疫荧光染色检测小鼠肿瘤组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达, Western blot 法检测小鼠肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 蛋白表达, RT-qPCR 法检测小鼠肿瘤组织 JAK2、STAT3、Bcl-2、Bax mRNA 表达。结果 与模型组比较, 顺铂组和归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组小鼠出现肿瘤组织细胞排列疏松且破裂坏死、片状坏死, 肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), JAK2、STAT3、Bcl-2 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), Bax mRNA 和蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 与顺铂组比较, 归芪益元膏各剂量联合顺铂组小鼠体质量、肿瘤组织内阳性细胞率增加 ($P < 0.05$), Bcl-2 平均荧光强度、p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达和 JAK2、STAT3、Bcl-2 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), Bax 平均荧光强度、mRNA 和蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 以归芪益元膏高剂量联合顺铂组最显著。结论 归芪益元膏可能通过调控 JAK2/STAT3 信号通路中关键分子表达, 从而调节下游相关蛋白 Bcl-2、Bax 表达, 进而发挥对 Lewis 肺癌小鼠的抑瘤作用, 并且增强化疗作用。

关键词: 归芪益元膏; 顺铂; 肺癌; JAK2/STAT3 通路; 调亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0573-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.035

肺癌是一种高发病率和高死亡率的原发性恶性肿瘤, 确诊后 5 年存活率仅为 10% ~ 20%^[1], 其中非小细胞肺癌占肺癌的 80% ~ 85%。由于日益严重的空气污染和大量的吸烟人口, 我国肺癌新发病例数仍呈上升趋势^[2]。化疗是肺癌治疗的主要手段之一, 顺铂作为单用或与放疗或其他抗癌药物联合使用的一线化疗药物, 它的抗肿瘤效果显著, 但在抑制肿瘤生长的同时容易引起胃肠功能下降、免疫力下降、骨髓抑制等不良反应^[3-4]。中医药辅助化疗在肿瘤治疗过程中具有独特的优势, 不仅可以降低化疗产生的不良反应, 还能增加化疗的治疗效果^[5-6]。归芪益元膏基于《医学心悟》中的黄芪汤, 融合岷县当归精制而成, 具有固本、养血、益气、滋阴的功效, 契合肺癌邪盛正虚病理

机制。前期临床研究发现, 归芪益元膏联合化疗可改善肺癌患者的临床症状, 延长患者生存期^[7-8], 然而作用机制尚不清晰。Janus 激酶 2/信号转导和转录激活子 3 (Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK2/STAT3) 信号通路作为经典通路之一, 在恶性肿瘤的发展中发挥着重要的生物学作用^[9]。因此, 本研究通过探讨归芪益元膏联合顺铂调控 JAK2/STAT3 通路发挥对肺癌的抑瘤作用, 以期为归芪益元膏的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 细胞株 Lewis 鼠源性肺腺癌细胞株 LLC 购自武汉普诺赛生命科技有限公司, 货号 CL-0140。

1.2 动物 雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 60 只, 体质量

收稿日期: 2024-03-25

基金项目: 国家自然科学基金 (82160929, 82160872); 甘肃省教育厅“双一流”科研重点项目 (GSSYLXM-05); 2021 年度甘肃省科技厅第十一批省级科技计划自然科学基金 (自筹经费) 项目 (21JR11RA143); 敦煌医学与转化教育部重点实验室开放课题 (DHYX18-08); 2022 年度中医学一级学科“岐黄英才”导师专项基金博导项目 (ZYXKBD-202202); 2022 年度中医学一级学科“岐黄英才”导师专项基金硕导项目 (ZYXKSD-202211)

作者简介: 靳银霞 (1994—), 女, 硕士生, 从事中医药防治老年病及相关肿瘤疾病的研究。Tel: 15593323727, E-mail: 184010126@qq.com

* 通信作者: 梁建庆 (1976—), 男, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 从事中医药防治肿瘤的研究。Tel: 13639332348, E-mail: 1766424015@qq.com

20 g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司[实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010]。本实验经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理号 2023-521)。

1.3 药物 归芪益元膏由黄芪 300 g、熟地 150 g、麦冬 150 g、人参 150 g、枸杞子 150 g、五味子 100 g、当归 150 g、蜂蜜 1200 g、苯甲酸钠 2 g 组成, 称取 1 剂药材, 加水回流提取 2 次, 合并提取液, 浓缩为清膏。取蜂蜜, 炼制, 将清膏与蜂蜜、苯甲酸钠混匀, 制成 1 500 mL 药物, 灌装, 每瓶 150 mL, 质量浓度为 0.767 g/mL, 由兰州和盛堂制药有限公司制备, 批号 20200901。冻干型顺铂购自齐鲁制药有限公司, 国药准字 H20023461。

1.4 试剂 青霉素-链霉素、无血清细胞冻存液(苏州新赛美生物科技有限公司, 批号 C100C5、C40100); 胎牛血清(上海华雅思创生物科技有限公司, 批号 AUS-01S-02); JAK2 抗体、STAT3 抗体、Phospho-JAK2 抗体、Phospho-STAT3 抗体、Bcl-2 抗体、Bax 抗体(美国 Affinity Biosciences 公司, 批号 AF6022、AF6294、AF3024、AF3293、AF6139、AF0120); β -actin 抗体、羊抗兔二抗、抗荧光淬灭封片剂、HE 染色试剂盒、TUNEL 试剂盒((武汉塞维尔生物科技有限公司, 批号 GB12001、GB23303、G1401、G1003、G1501))。

1.5 仪器 Power Pac 型电泳仪、VE-180 型垂直电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); ICX41 型倒置荧光显微镜[舜宇光学科技(集团)有限公司]; SpectraMax i3x 多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 恒温摇床(天津欧诺仪器股份有限公司); 高速低温离心机(上海天美科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 Lewis 肺癌小鼠模型建立 LLC 细胞生长于完全 DMEM 高糖培养基中(含 10% 胎牛血清及 0.5% 青霉素-链霉素双抗溶液), 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。取对数生长期的 LLC 细胞胰酶消化, 1 500 r/min 离心 5 min, 进行细胞计数, PBS 稀释至细胞密度为 1×10^7 /mL, 注射器取 0.1 mL 在小鼠右前肢腋窝下接种。接种第 5~7 天, 小鼠右前肢腋窝下出现直径为 0.3~0.5 cm 的肿块, 则提示 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型建立成功^[10-11]。

2.2 分组及干预 小鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、顺铂组和归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各组按“2.1”项下方法建立 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型。顺铂和归芪益元膏按照人与动物体质量进行换算^[12], 顺铂给药量为 5 mg/kg, 每 7 d 腹腔注射 1 次, 归芪益元膏给药量分别为 7.0、3.5、1.75 g/kg, 每天灌胃给予 1 次。空白组与模型组小鼠灌胃及腹腔注射等体积生理盐水, 连续 14 d。末次给药 24 h 后, 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉, 实施安乐死。

2.3 肿瘤生长抑制率 密切观察各组小鼠整体健康状况, 包括摄食行为、活动习性、皮毛光泽度、精神状态等, 同时定期测量并记录小鼠体质量。在无菌手术条件下进行肿

瘤的剥离操作, 剥离出的肿瘤用滤纸轻轻吸去其表面的多余水分, 精密称定质量, 计算抑瘤率, 公式为抑瘤率 = [(模型组平均肿瘤质量-给药组平均肿瘤质量)/模型组平均肿瘤质量] × 100%^[13]。

2.4 HE 染色观察肿瘤组织病理变化 肿瘤组织经 4% 多聚甲醛固定后, 全自动组织脱水浸蜡, 石蜡包埋, 切片; 常规脱蜡、水化、苏木素染色、返蓝、伊红染色、脱水封片; 病理切片在光学显微镜下观察并记录各组小鼠肿瘤组织的病理学变化特征。

2.5 免疫荧光染色检测肿瘤组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达 各组部分肿瘤组织经 4% 多聚甲醛固定后, 石蜡切片脱蜡至水, 置于盛满 EDTA 抗原修复缓冲液(pH 8.0)中修复, 冷却, PBS 洗涤 3 次, 血清封闭, 加入一抗 Bcl-2(1:100)、Bax(1:200)4 °C 下孵育过夜, 加入二抗(1:200)室温孵育 50 min, DAPI 复染细胞核, 抗荧光淬灭封片剂封片, 显微镜下观察并采集图像, 使用 ImageJ 软件进行分析。

2.6 TUNEL 法检测肿瘤组织凋亡水平 肿瘤组织石蜡切片脱蜡 2 次, 水化, PBS 漂洗 2 次, 滴加 TUNEL 反应液孵育 1 h, PBS 洗涤 3 次, 滴加 DAPI 避光孵育 10 min 进行核染, 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 在荧光显微镜下观察并采集图像, 通过 ImageJ 8.0 软件统计每个视野中阳性细胞数, 并计算阳性细胞率, 公式为阳性细胞率 = (阳性细胞数/镜下细胞总数) × 100%。

2.7 Western blot 法检测肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 蛋白表达 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解小鼠肿瘤组织 0.1 g, 提取蛋白, BCA 法检测蛋白含量, 取等质量蛋白进行变性, 加入蛋白上样缓冲液后冷冻保存备用。制备聚丙烯酰胺凝胶, 上样, SDS-PAGE 电泳, 湿转法转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h, 分别加入 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 抗体(1:1 000), 4 °C 孵育过夜, 次日加二抗(1:5 000)室温孵育 1 h, 显影剂暗室曝光, 以 β -actin 为内参, 通过 ImageJ 8.0 软件计算蛋白灰度值。

2.8 RT-qPCR 法检测肿瘤组织 JAK2、STAT3、Bcl-2、Bax mRNA 表达 用 TRIzol 试剂提取 0.1 g 小鼠肿瘤组织总 RNA; 采用超微量分光光度计检测总 RNA 浓度; 按照反转录试剂盒进行逆转录反应; 使用荧光定量 PCR 仪进行扩增反应, 反应条件为 95 °C 30 s, 95 °C 15 s, 60 °C 30 s, 共 40 个循环, 以 GAPDH 为内参, 使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行相对定量处理。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成, 序列见表 1。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时采用 LSD 法检验, 方差不齐时采用 Tamhane' T2 法检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠一般情况及体质量的影响 空白组小鼠反应机敏, 皮毛浓密有光泽, 饮

表1 引物序列

基因	引物序列
GAPDH	正向 5'-CCTCGTCCCCGTAGACAAAATG-3' 反向 5'-TGAGGTCAATGAAGGGCTCGT-3'
JAK2	正向 5'-ACCTGAATCCTTGACGGAGAC-3' 反向 5'-AATCTCATCTGGCATCCTCT-3'
STAT3	正向 5'-CAAAACTGATGAACATGGAGGAC-3' 反向 5'-CAACTGGCAAGGAGTGGGTC-3'
Bcl-2	正向 5'-GTTTGATTTCTCTGGCTGTCTC-3' 反向 5'-ACTTGCCGCCAGGTATGCA-3'
Bax	正向 5'-TTGCTACAGGGTTCATCCAGG-3' 反向 5'-GCAAAGTAGAAGAGGGCAACCA-3'

食、饮水正常，活动自如，二便正常；与空白组比较，模型组小鼠精神状态萎靡不振，毛发粗糙无光泽，反应迟钝，行动缓慢，活动量下降并出现抱团扎堆现象，呼吸频率升高，粪便质地干燥，右前肢腋下肿瘤体积变大，体质量减少 ($P<0.05$)；与模型组比较，顺铂组小鼠肿瘤体积减小，精神状态不佳，毛发粗糙有轻微脱落，反应较迟钝，行动缓慢但活动量稍增加，呼吸频率快且声粗，饮食减少，饮水增多，粪便质地干燥；与顺铂组比较，归芪益元膏各剂量联合顺铂组小鼠精神状态好转，毛发有光泽，反应较快，活动度渐趋于正常，呼吸未见明显异常，饮食、饮水渐趋于正常，粪便质地变软，归芪益元膏高、中剂量联合顺铂组小鼠体质量增加 ($P<0.05$)，以归芪益元膏高剂量联合顺铂组更显著，见表2。

3.2 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤质量、抑瘤率的影响 与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤质量减少 ($P<0.05$)；与顺铂组比较，归芪益元膏高、中剂量联合顺

铂组小鼠肿瘤质量减少 ($P<0.05$)，抑瘤率升高，且呈剂量依赖性，见表3。

表2 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	干预前体质量/g	干预后体质量/g
空白组	21.08±0.51	22.10±0.70
模型组	21.04±0.49	20.47±0.75 ^A
顺铂组	20.94±0.67	18.45±1.09 [*]
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	21.15±0.96	20.61±1.01 [#]
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	21.10±0.72	19.55±0.98 ^{*#}
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	21.05±0.79	18.88±0.90 [*]

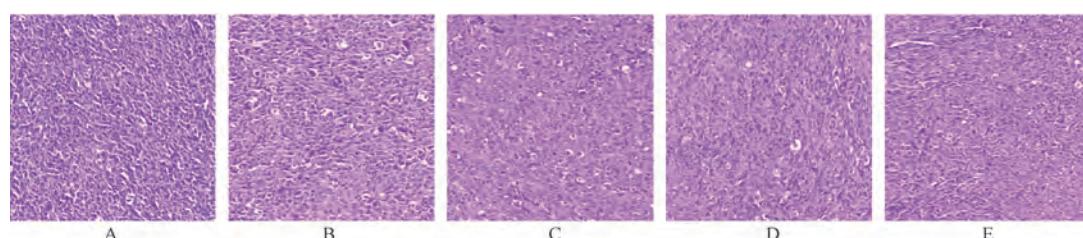
注：与空白组比较，^A $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与顺铂组比较，[#] $P<0.05$ 。

表3 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤质量、抑瘤率的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	肿瘤质量/g	抑瘤率/%
模型组	1.37±0.28	—
顺铂组	0.83±0.09 [*]	39.36
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	0.57±0.06 ^{*#}	58.81
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	0.67±0.06 ^{*#}	50.93
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	0.80±0.07 [*]	41.95

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与顺铂组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.3 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织病理学的影响 模型组小鼠肿瘤组织细胞排列呈现紧密状态，细胞轮廓清晰，细胞核则保持良好的完整性，并且染色程度较深，未见明显的出血坏死；与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤组织细胞排列疏松且破裂坏死、片状坏死，见图1。



注：A为模型组，B为顺铂组，C~E分别为归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组。

图1 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织病理学的影响 (HE, $\times 400$)

3.4 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响 与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤组织 Bcl-2 平均荧光强度降低 ($P<0.05$)，Bax 平均荧光强度升高 ($P<0.05$)；与顺铂组比较，归芪益元膏高、中剂量联合顺铂组小鼠肿瘤组织 Bcl-2 平均荧光强度降低 ($P<0.05$)，Bax 平均荧光强度升高 ($P<0.05$)，以归芪益元膏高剂量联合顺铂组更显著，见图 2~3、表 4。

3.5 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺凋亡癌小鼠肿瘤组织凋亡阳性表达率的影响 与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤组织凋亡阳性细胞率增加 ($P<0.05$)；与顺铂组比较，归芪益元膏高、中剂量联合顺铂组小鼠肿瘤组织凋亡阳性细胞率增加 ($P<0.05$)，以归芪益元膏高剂量联合顺铂组

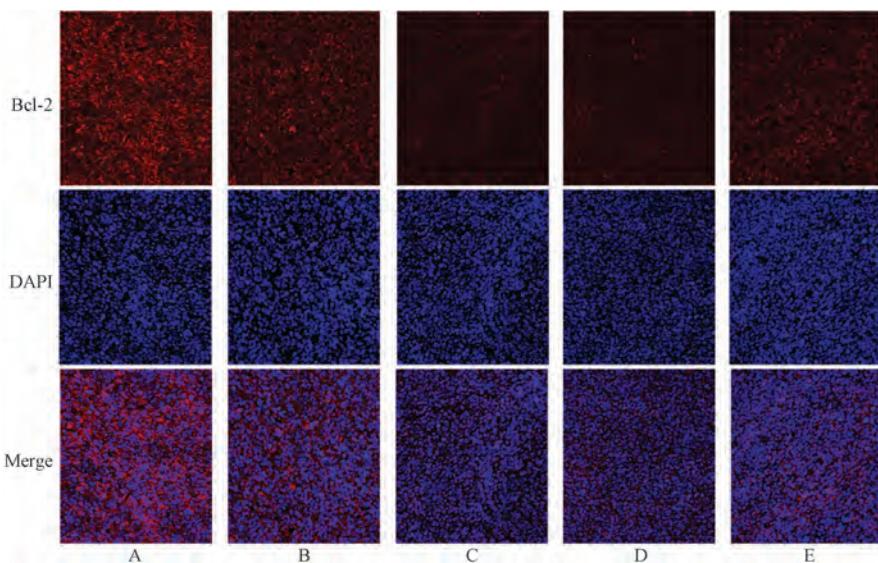
更显著，见图 4、表 5。

表4 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	Bcl-2	Bax
模型组	122.15±15.25	61.44±12.18
顺铂组	78.81±8.96 [*]	87.24±15.20 [*]
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	49.34±7.98 ^{*#}	125.08±14.82 ^{*#}
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	52.77±6.46 ^{*#}	112.99±14.36 ^{*#}
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	75.93±13.33 [*]	91.95±13.54 [*]

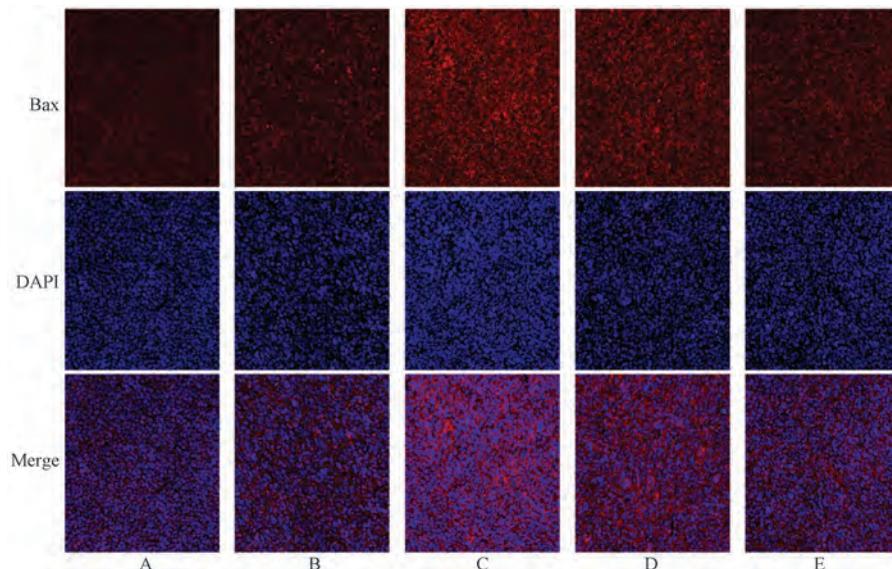
注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与顺铂组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.6 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响 与模型组比较，各给药组小鼠肿瘤组织中-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白



注：A为模型组，B为顺铂组，C~E分别为归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组。

图2 归芪益元膏联合顺铂对Lewis肺癌小鼠肿瘤组织Bcl-2蛋白表达的影响(免疫荧光, $\times 400$)



注：A为模型组，B为顺铂组，C~E分别为归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组。

图3 归芪益元膏联合顺铂对Lewis肺癌小鼠肿瘤组织Bax蛋白表达的影响(免疫荧光, $\times 400$)

表5 归芪益元膏联合顺铂对Lewis肺癌小鼠肿瘤组织凋亡阳性表达率的影响($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	阳性细胞率/%
模型组	0.91 ± 0.26
顺铂组	$4.02 \pm 0.78^*$
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	$8.23 \pm 1.48^{*\#}$
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	$7.76 \pm 1.05^{*\#}$
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	$4.70 \pm 0.60^*$

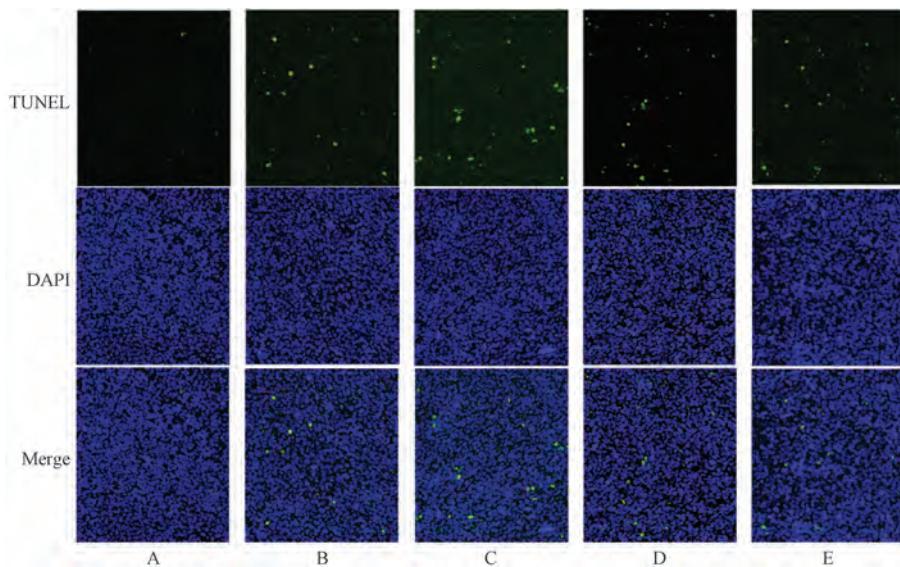
注：与模型组比较, * $P < 0.05$; 与顺铂组比较, # $P < 0.05$ 。

表达降低($P < 0.05$), Bax蛋白表达升高($P < 0.05$)；与顺铂组比较, 归芪益元膏高、中剂量联合顺铂组 p-JAK2、p-STAT3、Bel-2蛋白表达降低($P < 0.05$), Bax蛋白表达升高($P < 0.05$), 以归芪益元膏高剂量联合顺铂组更显著, 见图5、表6。

3.7 归芪益元膏联合顺铂对Lewis肺癌小鼠肿瘤组织JAK2、STAT3、Bcl-2、Bax mRNA表达的影响 与模型组比较, 各给药组小鼠肿瘤组织JAK2、STAT3、Bcl-2 mRNA表达降低($P < 0.05$), Bax mRNA表达升高($P < 0.05$)；与顺铂组比较, 归芪益元膏高、中剂量联合顺铂组JAK2、STAT3、Bcl-2 mRNA表达降低($P < 0.05$), Bax mRNA表达升高($P < 0.05$), 以归芪益元膏高剂量联合顺铂组更显著, 见表7。

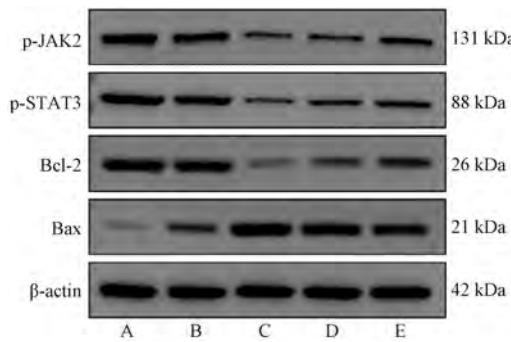
4 讨论

中医古籍中并无“肺癌”病名的记载, 根据其临床表现将其归属于“肺积”“肺岩”“息贲”“咯血”“虚劳”等范畴^[14]。中医认为肺癌发病的基础是正气内虚, 脏腑阴阳失调。正气不足, 气血阴阳失衡, 进而脏腑功能失调,



注: A 为模型组, B 为顺铂组, C~E 分别为归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组。绿色表示细胞阳性表达。

图 4 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织凋亡阳性表达的影响 (TUNEL, $\times 400$)



注: A 为模型组, B 为顺铂组, C~E 分别为归芪益元膏高、中、低剂量联合顺铂组。

图 5 各组小鼠肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 蛋白电泳图

表 6 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

组别	p-JAK2	p-STAT3	Bcl-2	Bax
模型组	0.95±0.07	0.93±0.11	0.99±0.11	0.21±0.06
顺铂组	0.77±0.07 *	0.78±0.08 *	0.85±0.09 *	0.63±0.11 *
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	0.30±0.09 *#	0.34±0.03 *#	0.27±0.03 *#	1.18±0.06 *#
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	0.43±0.05 *#	0.48±0.09 *#	0.51±0.06 *#	1.04±0.06 *#
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	0.64±0.07 *#	0.61±0.09 *#	0.77±0.08 *	0.89±0.12 *#

注: 与模型组比较, *P<0.05; 与顺铂组比较, #P<0.05。

表 7 归芪益元膏联合顺铂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织 JAK2、STAT3、Bcl-2、Bax mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	JAK2	STAT3	Bcl-2	Bax
模型组	1.00±0.03	1.00±0.05	1.01±0.13	1.00±0.10
顺铂组	0.63±0.09 *	0.67±0.08 *	0.64±0.06 *	1.29±0.17 *
归芪益元膏高剂量联合顺铂组	0.42±0.07 *#	0.34±0.04 *#	0.39±0.07 *#	1.72±0.23 *#
归芪益元膏中剂量联合顺铂组	0.51±0.06 *#	0.40±0.07 *#	0.44±0.11 *#	1.60±0.18 *#
归芪益元膏低剂量联合顺铂组	0.59±0.05 *	0.61±0.11 *	0.55±0.06 *	1.36±0.15 *

注: 与模型组比较, *P<0.05; 与顺铂组比较, #P<0.05。

良反应, 提高生活质量, 所以中医药被越来越广泛地应用于肺癌的辅助治疗^[17]。

细胞凋亡是细胞的生理过程之一, 细胞凋亡和增殖之

使机体抗邪能力下降, 邪气乘机而入, 留于胸中, 肺气肃郁, 宣降失调, 气机失司, 气滞血瘀, 阻塞脉络, 久积成块^[15-16]。归芪益元膏由黄芪、人参、当归、熟地、枸杞子、麦冬、五味子组成, 发挥固本培元、养血活血、益气滋阴的功效。方中黄芪味甘性微温, 归脾、肺经, 人参味甘微苦性微温, 归脾、肺经, 两者大补元气, 共为君药; 当归味辛甘性温, 归肝、心、脾经, 补血活血, 熟地味甘性微温, 归肝、肾经, 益真阴, 滋肾水, 两者共为臣药; 枸杞子味甘性平, 归肝、肾、肺经, 滋补肝肾, 为佐药; 麦冬味甘微苦性微寒, 归心、肺、胃经, 润肺养阴, 五味子味酸性温, 归肺、肾、心经, 上敛肺气、下滋肾阴, 二药同伍, 以达“金水相生”的效果, 共为使药。中医药不仅能改善肺癌患者的临床症状, 而且能减轻患者放化疗后的不

良反应, 提高生活质量, 所以中医药被越来越广泛地应用与肺癌的辅助治疗^[17]。细胞凋亡不仅对于维持正常细胞稳态至关重要^[18]。细胞凋亡不仅可以清除有害或者不需要的细胞, 而且在肿瘤的预防与治疗中也有很大贡献^[19]。然而, 细胞凋亡的失调是肿瘤的

主要特征之一，其可直接导致肿瘤增殖和随后的恶性行为。因此，许多药物通过促进细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[20]。在先前的研究中，JAK2/STAT3信号通路已被证明在肺癌细胞存活、增殖凋亡、血管生成、肿瘤的免疫应答中起关键作用。在炎症因子等的刺激下，JAK2通过受体的酪氨酸磷酸化而被激活，进一步磷酸化STAT3，然后，磷酸化的STAT3形成二聚体并进入细胞核以调节各种靶基因^[9,21]。其中凋亡相关蛋白Bcl-2和Bax在调节细胞存活中起重要作用^[22-23]，并且是STAT3的关键转录靶标^[24]。所以，通过阻断JAK2/STAT3信号通路，抑制JAK2、STAT3磷酸化，可促进肿瘤细胞的凋亡。

本实验构建了Lewis肺癌小鼠荷瘤模型，采用归芪益元膏与顺铂的联合应用靶向干预JAK2/STAT3信号通路，从而影响肺癌小鼠肿瘤组织JAK2、STAT3及其磷酸化产物(p-JAK2、p-STAT3)、Bcl-2、Bax表达。实验结果显示，相较于模型组和顺铂组，归芪益元膏联合顺铂组可有效抑制肿瘤体积的增长，扩大肿瘤坏死区域、提升凋亡细胞的阳性比例，并降低肿瘤组织JAK2、STAT3、p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 mRNA和蛋白表达，同时升高Bax mRNA和蛋白表达，其中归芪益元膏高剂量联合顺铂组效果最为显著。

综上所述，归芪益元膏联合顺铂能有效抑制Lewis肺癌荷瘤小鼠的肿瘤生长，其作用机制可能与抑制JAK2/STAT3信号通路的激活，调节Bcl-2、Bax mRNA和蛋白表达有关。本实验为归芪益元膏用于辅助肺癌治疗提供实验依据。

参考文献：

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, 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): 209-249.
- [2] Chen P X, Liu Y H, Wen Y K, et al. Non-small cell lung cancer in China [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(10): 937-970.
- [3] Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 88: 102925.
- [4] Qi L Y, Luo Q, Zhang Y Y, et al. Advances in toxicological research of the anticancer drug cisplatin [J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(8): 1469-1486.
- [5] 任素娟, 周瑞, 唐志书, 等. 中医药辅助放疗与化疗减毒增效研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(12): 7233-7239.
- [6] Su X L, Wang J W, Che H, et al. Clinical application and mechanism of traditional Chinese medicine in treatment of lung cancer [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(24): 2987-2997.
- [7] 杜双桂, 李金田, 梁建庆, 等. 归芪益元膏联合吉非替尼及放疗治疗晚期肺腺癌气阴两虚证 60 例临床观察 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2021, 38(3): 51-55.
- [8] 马天星, 李金田, 梁建庆, 等. 归芪益元膏联合化疗治疗小细胞肺癌局限期气阴两虚证 30 例临床观察 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2022, 39(1): 42-46.
- [9] Mengie Ayele T, Tilahun Muche Z, Behaile Teklemariam A, et al. Role of JAK2/STAT3 signaling pathway in the tumorigenesis, chemotherapy resistance, and treatment of solid tumors: a systemic review [J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 1349-1364.
- [10] 张云亭, 刘羽茜, 蒋宗鉴, 等. 参苓白术散通过IkBα/NF-κB通路调控Lewis肺癌小鼠肿瘤自噬的研究 [J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2022, 24(4): 1487-1494.
- [11] Wei D M, Wang L, Chen Y H, et al. Yangxin Fuzheng Decoction enhances anti-tumor efficacy of cisplatin on lung cancer [J]. *J Cancer*, 2018, 9(9): 1568-1574.
- [12] 施新猷. 现代医学实验动物学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2000: 335.
- [13] Sancéau J, Poupon M F, Delattre O, et al. Strong inhibition of Ewing tumor xenograft growth by combination of human interferon-alpha or interferon-beta with ifosfamide [J]. *Oncogene*, 2002, 21(50): 7700-7709.
- [14] 骆文斌, 吴承玉. 肺癌中医病名规范研究 [J]. 中医药学刊, 2006, 25(3): 480-481.
- [15] 苏婉, 徐振晔. 历代中医医籍中肺癌相关文献概述 [J]. 中医文献杂志, 2010, 28(1): 53-55.
- [16] 陶李蕙萍, 赖岳阳, 李柳, 等. 基于癌毒病机理论辨治肺癌探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(1): 214-217.
- [17] 邓正亭, 赵凡, 赵彤, 等. 基于数据挖掘技术探析中医药治疗中晚期非小细胞肺癌的用药规律 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(3): 171-179.
- [18] Ketelut-Carneiro N, Fitzgerald K A. Apoptosis, pyroptosis, and necroptosis—oh my! The many ways a cell can die [J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(4): 167378.
- [19] Hänggi K, Ruffell B. Cell death, therapeutics, and the immune response in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(5): 381-396.
- [20] Carneiro B A, El-Deiry W S. Targeting apoptosis in cancer therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7): 395-417.
- [21] Tolomeo M, Cascio A. The multifaced role of STAT3 in cancer and its implication for anticancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 603.
- [22] Davids M S. Targeting BCL-2 in B-cell lymphomas [J]. *Blood*, 2017, 130(9): 1081-1088.
- [23] Willis S, Day C L, Hinds M G, et al. The Bcl-2-regulated apoptotic pathway [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 20): 4053-4056.
- [24] Huang B, Lang X L, Li X H. The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1023177.