

# 清燥救肺汤对肺癌 JAK2/STAT3 信号通路及其下游 凋亡相关蛋白表达的影响

李佳萍, 余功, 谢斌\*  
(江西中医药大学, 南昌 330004)

**[摘要]** **目的:** 观察清燥救肺汤对肺癌细胞凋亡和 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2 (JAK2)/信号转导和转录活化因子 3 (STAT3) 信号通路及其下游凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白 (Bax), 细胞周期蛋白 D<sub>1</sub> (Cyclin D<sub>1</sub>) 表达的影响。**方法:** 雄性 C57BL/6J 小鼠 50 只, 随机分为环磷酰胺 (CTX) 组, 模型组, 清燥救肺汤高、中、低剂量组, 共 5 组, 每组 10 只。在小鼠右腋下注射 Lewis 肺癌细胞建立肺癌荷瘤模型, 清燥救肺汤高、中、低剂量组分别以清燥救肺汤 11, 5.5, 2.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 造模前 2 周开始灌胃给药, CTX 组以 CTX 50 mg·kg<sup>-1</sup>·(2 d)<sup>-1</sup> 腹腔注射给药, 模型组以等体积的生理盐水灌胃给药, 接种后继续给药, 2 周后处死各组小鼠并取瘤组织; 免疫组化法 (IHC) 检测肺癌组织 JAK2 蛋白磷酸化水平; 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 STAT3, Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 的表达; 透射电镜 (TEM) 观察肺癌细胞的凋亡情况。**结果:** 与模型组比较, 清燥救肺汤高、中剂量组, CTX 组肺癌细胞 JAK2, STAT3 蛋白磷酸化水平明显降低, Bax 蛋白表达明显升高, Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。透射电镜结果显示, 与模型组比较, 清燥救肺汤高、中、低剂量组和 CTX 组均出现显著的凋亡现象。**结论:** 清燥救肺汤能明显促进肺癌细胞凋亡, 其机制可能与抑制 JAK2/STAT3 信号通路, 上调其下游 Bax 蛋白表达, 下调其下游 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达有关。

**[关键词]** 清燥救肺汤; 肺癌; Janus 蛋白酪氨酸激酶 2 (JAK2) /信号转导和转录活化因子 3 (STAT3); 凋亡  
**[中图分类号]** R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0048-06  
**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191721  
**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190515.1721.009.html>  
**[网络出版时间]** 2019-05-16 14:49

## Effect of Qingzao Jiufei Tang on JAK2/STAT3 Signaling Pathway and Expression of Downstream Apoptosis-related Proteins in Lung Cancer

LI Jia-ping, YU Gong, XIE Bin\*  
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Qingzao Jiufei Tang on apoptosis of lung cancer, Janus protein tyrosine kinase 2/signal transducers and transcriptional activator protein 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway, as well as the expressions of downstream apoptosis-related proteins Bcl-2-associated X (Bax) and Cyclin D<sub>1</sub>. **Method:** Totally 50 male C57BL/6J mice were randomly divided into five groups: chemotherapy group (CTX), model group, high-dose Qingzao Jiufei Tang group, middle-dose Qingzao Jiufei Tang group and low-dose Qingzao Jiufei Tang group, with 10 mice in each group. The model of lung cancer was established by injecting Lewis lung cancer cells into the right axillary of mice. High-dose, middle-dose and low-dose Qingzao Jiufei Tang groups were orally given drugs (11, 5.5, 2.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) two weeks before the modeling. Chemotherapy group was administered intraperitoneally at a dose of 50 mg·kg<sup>-1</sup>·(2 d)<sup>-1</sup>, while model group was administered

**[收稿日期]** 20181130(022)  
**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81660729);江西省卫计委中医药课题项目(2017A232)  
**[第一作者]** 李佳萍,在读硕士,从事中医药抗肿瘤研究,E-mail:582939152@qq.com  
**[通信作者]** \*谢斌,博士,教授,从事中医药抗肿瘤研究,E-mail:331080826@qq.com

intra-gastrically with the equal volume of normal saline. After inoculation, the mice in each group were continued to be administered. Two weeks later, the mice in each group were killed, and the tumors were collected. Then the JAK2 protein phosphorylation level was detected by immunohistochemistry (IHC). STAT3, Bax and Cyclin D<sub>1</sub> protein expression levels were detected by Western blot, and apoptosis of lung cancer cells was observed by transmission electron microscopy. **Result:** Compared with model group, the phosphorylation levels of JAK2 and STAT3 protein in lung cancer cells were significantly decreased, the expression of Bax protein was significantly increased, and the expression of Cyclin D<sub>1</sub> protein was significantly decreased in high-dose Qingzao Jiufei Tang group, middle-dose Qingzao Jiufei Tang group and chemotherapy group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The results of transmission electron microscopy showed significant apoptotic phenomena in high-dose Qingzao Jiufei Tang group, middle-dose Qingzao Jiufei Tang group, low-dose Qingzao Jiufei Tang group and chemotherapy group compared with the model group. **Conclusion:** Qingzao Jiufei Tang had an obvious effect in promoting the apoptosis of lung cancer cells. Its mechanism may be related to the inhibition of the phosphorylation of JAK2 and STAT3 protein, the promotion of its downstream Bax protein expression and the inhibition of its downstream Cyclin D<sub>1</sub> protein expression.

**[Key words]** Qingzao Jiufei Tang; lung cancer; Janus protein tyrosine kinase 2 (JAK2) /signal transducers and transcriptional activator protein 3 (STAT3); apoptosis

肺癌是临床常见的恶性肿瘤之一,其发病及死亡率逐年上升<sup>[1-2]</sup>。肺癌在古代中医文献中没有确切的名称,肺癌可归属为中医肺积、息贲、肺岩等范畴<sup>[3]</sup>。清燥救肺汤源自于喻嘉言《医门法律》,此方有清燥润肺,益气养阴之功,主治温燥伤肺,气阴两伤。本方配伍巧妙,“宣、清、润、降”并用,补泻兼施,临床疗效明显,故广泛应用于临床<sup>[4]</sup>。随着中医界对肺癌研究的不断深入,中药治疗肺癌的临床疗效显著,但还存在很大的探索空间<sup>[5]</sup>。

肿瘤的发生是多种因素综合作用的结果,恶性肿瘤形成是因为肿瘤细胞异常增殖,且凋亡严重减退<sup>[6]</sup>。因此,抑制肿瘤细胞增殖,促使肿瘤细胞凋亡是当前需要探索的问题。Janus 蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导和转录活化因子 3 (JAK2/STAT3) 作为 JAK/STAT 通路中的一个重要信号通路,该通路的过度活化与肺癌的发生发展密切相关,能调控多种癌细胞的增殖与凋亡<sup>[7]</sup>。JAK2 的活化不仅与肿瘤的发生发展密切相关,且可参与调控下游 STAT3 蛋白,二者共同参与细胞增殖和凋亡等过程<sup>[8]</sup>。STAT3 引起癌变的机制主要通过激活细胞周期蛋白 D<sub>1</sub> (Cyclin D<sub>1</sub>), B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 等靶基因的一些产物表达而实现<sup>[9]</sup>。STAT3 的过度激活可导致细胞异常增殖和恶性转移,通过多种途径促进肺癌细胞增殖和抑制细胞凋亡<sup>[10]</sup>。而 JAK2 位于 STAT3 的上游, JAK2 激酶抑制剂 AG490, 能特定地抑制 JAK2, 同时也能抑制 STAT3 的激活, 实验研究证明, JAK2 激酶抑制剂 AG490 能有效抑制 JAK2/

STAT3 信号通路,从而使细胞增殖受到抑制<sup>[11]</sup>。STAT3 下游的靶基因,如 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 和 Cyclin D<sub>1</sub> 均与细胞增殖和凋亡过程紧密相关<sup>[12]</sup>。活化的 STAT3 能促进 Bax 蛋白的表达,同时对 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白的表达起负调控的作用。最新的研究结果表明,癌细胞的增殖和凋亡与 JAK2/STAT3 信号通路的激活有关<sup>[13]</sup>。

因此,本论文在前期证实清燥救肺汤能显著抑制肺癌细胞增殖的研究基础上<sup>[14]</sup>,拟建立荷 Lewis 肺癌小鼠模型,通过观察 JAK2/STAT3 信号通路及其下游凋亡相关蛋白 Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 表达的变化,探讨清燥救肺汤的抗肺癌机制。

## 1 材料

**1.1 药物制备** 清燥救肺汤:枇杷叶 9 g, 党参片 12 g, 生石膏 12 g, 霜桑叶 9 g, 阿胶 9 g, 苦杏仁 9 g, 麦冬 10 g, 炙甘草 3 g, 购于江西省中医院中药房,由江西中医药大学国家工程中心冯育林教授鉴定均为正品,均符合 2015 年版《中国药典》项下标准。清燥救肺汤详细制备方法参考相关研究<sup>[14]</sup>。前期的实验结果证实,22, 11, 5.5, 2.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 清燥救肺汤分别作用于小鼠,清燥救肺汤 22 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 剂量组没有抑制肿瘤细胞的作用,反而会促进肿瘤细胞增殖,清燥救肺汤 11, 5.5, 2.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 剂量组有较明显的抑制肿瘤细胞增殖的作用,清燥救肺汤 11 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 剂量组为人临床剂量换算成小鼠的剂量,故本实验以 11 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 为高剂量, 5.5, 2.75 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 分别为清燥救肺汤中、低剂量。

环磷酰胺 (CTX,  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 组腹腔注射, 隔日 1 次。

**1.2 动物和瘤株** SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 50 只, 体质量 ( $20 \pm 2$ ) g, 购于苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司, 合格证号 SCXK(苏)2016-0003; 小鼠 Lewis 肺癌细胞引自 ATCC 细胞库<sup>[14]</sup>, 编号 36470TM。本实验经江西中医药大学实验动物伦理委员会审查批准, 批号 JZLLSC:2017-0030。

**1.3 试剂** CTX(江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号 16092525,  $0.2 \text{ g}/\text{瓶}$ ); 乙醇、戊二醛(北京化工厂, 批号分别为 2018227, 20180412); 钼酸(上海劲马生物科技有限公司, 批号 C311498); 环氧丙烷(上海桑戈生物科技有限公司, 批号 E117349); 3% 乙酸双氧铀染色液(北京生东科技有限公司, 批号 130452); 枸橼酸铅溶液(南京森贝伽生物科技有限公司, 批号 A93278); 磷酸化(p)-JAK2, p-STAT3, Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 一抗(美国 Affinity 公司, 批号分别为 AF3293, AF3023, AF0120, DF6386);  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)一抗, 辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔二抗(美国 Proteintech 公司, 批号分别为 20536-1-AP, SA00001-1)。

**1.4 仪器** RM2016 型切片机(上海徠卡仪器有限公司); TGL-16 型高速冷冻离心机(湖南湘仪公司); TECNAI SPIRIT 型透射电子显微镜(上海赛默飞仪器有限公司); DMI3000B 型倒置显微镜(德国 Leica 公司); Power Pac TW 型电泳仪及转膜仪(美国 Bio-Rad 公司); WD-9405A 型脱色摇床(北京六一仪器厂); XSP-C204 型普通光学显微镜(重庆光电仪器有限公司); Fluor Chem M 型凝胶成像系统(美国 PS 公司)。

## 2 方法

**2.1 造模** 将小鼠 Lewis 肺癌细胞置于室温, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养, 用 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基贴壁培养。肺癌细胞取最佳的生长状态, 用无菌生理盐水调整密度为  $5 \times 10^6$  个/mL。在小鼠右腋下以每只 0.2 mL 的接种量行皮下无菌接种<sup>[14]</sup>。

**2.2 小鼠分组和给药方法** 50 只小鼠, 每组 10 只, 随机分为 CTX 组, 模型组, 清燥救肺汤高、中、低剂量组。清燥救肺汤高、中、低剂量组造模前 2 周以规定剂量灌胃给药, 每日 2 次, 造模后继续给药 2 周; 模型组, 接种 24 h, 每日用生理盐水 0.2 mL 灌胃 2 次; CTX 组接种 24 h, 以规定剂量腹腔注射, 隔日 1 次。接种 7 d 后, 造模小鼠右腋下可触及瘤块, 造模过程中无小

鼠死亡, 即 Lewis 小鼠动物模型建立成功<sup>[15]</sup>。造模结束后, 处死各组小鼠, 取肿瘤组织。

**2.3 免疫组化法检测肺癌组织 p-JAK2 蛋白表达** 取肿瘤组织, 经多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 不同浓度梯度乙醇逐级脱水, 抗原修复, 5% 牛血清白蛋白封闭后加一抗(1:100), 于 4 °C 冰箱孵育过夜, 二抗孵育后进行 DAB 和苏木素染色, 脱水、透化、中性树胶封片, 以 LEICA 型倒置显微镜观察并拍照, 每张切片在 400 倍显微镜下, 按顺序选取 5 个视野, 用 Image-Pro Plus6.0 分析, 用积分吸光度 IA 表示蛋白阳性表达相对含量。

**2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 p-STAT3, Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达** 取适量肿瘤组织, 加入蛋白裂解液, 冰上匀浆; 4 °C,  $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取上清, 即得总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。蛋白上样, 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白, 停止电泳后立即将蛋白电转移至 PVDF 膜上, 转膜结束后取出膜,  $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  脱脂奶粉封闭, 加入一抗(1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 洗膜后加入二抗(1:8 000), 室温下孵育 1 h, 洗膜后进行化学发光, 显影, 定影。采用 Alpha view SA 图像分析软件分析蛋白条带灰度值, 以  $\beta$ -actin 作为内参分析灰度值。

**2.5 透射电镜观察肺癌细胞凋亡** 取适量肿瘤组织, 用 1.5% ~ 3% 戊二醛固定 1 ~ 2 h, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次后用 1% 钼酸固定 1 ~ 2 h, 梯度乙醇脱水; 用 100% 乙醇-环氧丙烷按 1:1 在室温下浸泡 10 min; Epon812-环氧丙烷按 1:1 浸透后放置在真空干燥仪( $0.2 \sim 0.4 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) 2 h, 用切片机超薄切片; 铀、铅染色, 各 15, 10 min; 放置在透射电镜下观察。

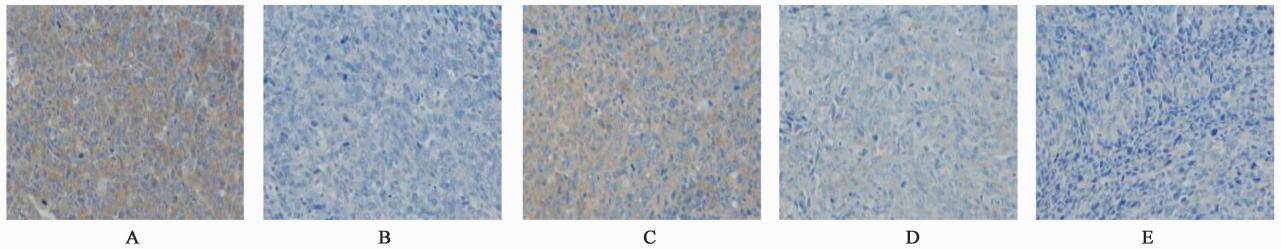
**2.6 统计学分析** 实验采取完全随机设计, 以 SPSS 20.0 软件进行分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对荷 Lewis 小鼠肺癌组织 p-JAK2, p-STAT3 蛋白表达的影响** 与模型组比较, CTX 组及清燥救肺汤高、中剂量组肺癌细胞 p-JAK2 蛋白表达水平明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 与 CTX 组比较, 清燥救肺汤低剂量组 p-JAK2 蛋白表达水平明显升高( $P < 0.05$ ); 与清燥救肺汤高剂量组比较, 清燥救肺汤低剂量组 p-JAK2 蛋白表达水平升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较, CTX 组及清燥救肺汤高、中剂量组 p-STAT3 蛋白表达水平明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 与 CTX 组比较, 清燥救肺汤中、低剂量组

p-STAT3 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与清燥救肺汤高剂量组比较, 清燥救肺汤中、低剂量组 p-STAT3 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.01$ ); 与清燥救肺汤中剂量组比较, 清燥救肺汤低剂量组 p-STAT3 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。见表 1, 图 1, 2。

**3.2 对荷 Lewis 小鼠肺癌组织 Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达的影响** 与模型组比较, 清燥救肺汤高、中剂量组能显著升高肺癌细胞 Bax 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 与 CTX 组比较, 清燥救肺汤高剂量组 Bax 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ); 与清燥救肺汤高剂量组比较, 清燥救肺汤低剂量组 Bax 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与中剂量组比较, 清燥救肺汤低剂量组 Bax 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, CTX 组及清燥救肺汤高、中剂量组能显著降低肺癌细胞



A. 模型组; B. CTX 组; C ~ E. 清燥救肺汤低、中、高剂量组 (图 2 ~ 4 同)

图 1 清燥救肺汤对荷 Lewis 小鼠肺癌组织 p-JAK2 蛋白表达的影响 (免疫组化,  $\times 400$ )

Fig. 1 Effect of Qingzao Jiufei Tang on p-JAK2 protein expression in lung cancer tissues of mice (IHC,  $\times 400$ )

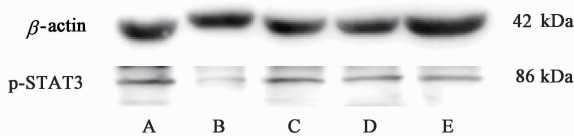


图 2 荷 Lewis 小鼠肺癌组织 p-STAT3 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of p-STAT3 proteins

Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 与 CTX 组比较, 清燥救肺汤低剂量组 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ )。见表 2, 图 3。

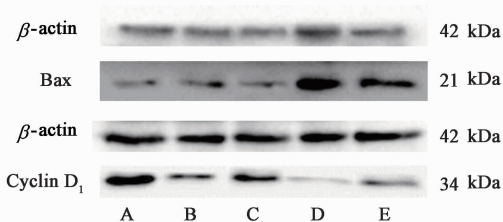


图 3 荷 Lewis 小鼠肺癌组织 Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of Bax, Cyclin D<sub>1</sub> proteins

**3.3 对肺癌细胞凋亡的影响** 模型组细胞核或肿胀或皱缩, 部分线粒体肿胀, 嵴缩短, 胞浆内可见少

表 1 清燥救肺汤对荷瘤小鼠 Lewis 肺癌细胞 p-JAK2, p-STAT3 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 Effect of Qingzao Jiufei Tang on phosphorylation of p-JAK2, p-STAT3 in Lewis lung cancer-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	p-JAK2 /β-actin	p-STAT3 /β-actin
模型	-	0.208 ± 0.027	0.884 ± 0.049
CTX	0.05	0.166 ± 0.047 <sup>2)</sup>	0.395 ± 0.060 <sup>2)</sup>
清燥救肺汤	11	0.163 ± 0.032 <sup>2)</sup>	0.401 ± 0.100 <sup>1)</sup>
	5.5	0.176 ± 0.031 <sup>1)</sup>	0.670 ± 0.142 <sup>1,4,6)</sup>
	2.75	0.200 ± 0.032 <sup>3,5)</sup>	0.936 ± 0.082 <sup>4,6,8)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与 CTX 组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ; 与清燥救肺汤高剂量组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>6)</sup>  $P < 0.01$ ; 与清燥救肺汤中剂量组比较<sup>7)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>8)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 同)。

表 2 清燥救肺汤对荷瘤小鼠 Lewis 肺癌细胞 Bax, Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 2 Effect of Qingzao Jiufei Tang on Bax, Cyclin D<sub>1</sub> protein levels in Lewis lung cancer-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Bax /β-actin	Cyclin D <sub>1</sub> /β-actin
模型	-	0.756 ± 0.133	0.969 ± 0.108
CTX	0.05	0.937 ± 0.234	0.793 ± 0.031 <sup>1)</sup>
清燥救肺汤	11	1.279 ± 0.174 <sup>2,3)</sup>	0.739 ± 0.036 <sup>2)</sup>
	5.5	1.118 ± 0.038 <sup>1)</sup>	0.768 ± 0.055 <sup>1)</sup>
	2.75	0.821 ± 0.075 <sup>6,7)</sup>	0.943 ± 0.126 <sup>3)</sup>

量空泡; CTX 组细胞核或肿胀或皱缩, 线粒体肿胀, 嵴缩短、减少甚至消失, 可见大面积凋亡; 清燥救肺汤低剂量组细胞结构较紊乱, 细胞核或肿胀或皱缩, 细胞器消失, 胞浆内少量空泡; 清燥救肺汤中剂量组细胞核或肿胀或皱缩, 胞浆内空泡, 整体凋亡明显, 细胞器消失; 清燥救肺汤高剂量组细胞结构紊乱, 细胞核或肿胀或皱缩, 线粒体肿胀, 嵴缩短、减少甚至消失, 大量细胞凋亡。见图 4。

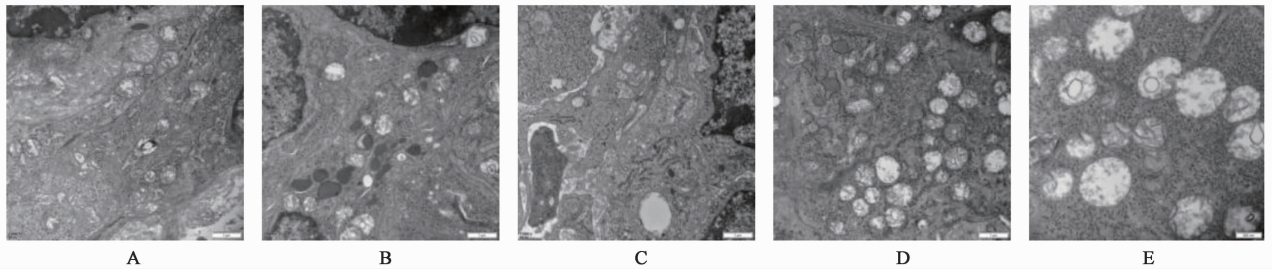


图 4 清燥救肺汤对肺癌细胞凋亡的影响(透射电镜, ×11 500)

Fig. 4 Effect of Qingzao Jiufei Tang on apoptosis in lung cancer cells by transmission electron microscopy(TEM, ×11 500)

#### 4 讨论

肺癌是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一,尽管西医采取多种手段治疗<sup>[16]</sup>,其死亡率仍高居不下,如何提高肺癌的临床疗效是当前亟需解决的重要难题。诸多医家认为燥热伤肺是肺癌的重要病机<sup>[17]</sup>,清燥救肺汤重用霜桑叶清透肺金燥热,为君药;臣以生石膏辛甘而寒,清泄肺热,麦冬养阴润肺。君臣相伍,宣中有清,清中有润。人参片益气生津,合炙甘草以培土生金;苦杏仁、枇杷叶苦降肺气而止咳;阿胶助麦冬养阴润肺,肺得滋润,则治节有权,共为佐药。炙甘草调和诸药,为使。该方主治温燥伤肺,气阴两伤之证,有清燥热、养气阴的功效,对缓解肺癌的燥热症状具有很好的疗效。

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的死亡过程<sup>[18]</sup>,肿瘤的发生是细胞的增加或细胞凋亡的减少,平衡状态被破坏,且大量研究表明,细胞凋亡与肿瘤的发生发展关系密切<sup>[19]</sup>,参与了肿瘤的起始过程,并且可以阻碍肿瘤细胞迅速增长,从而达到一个抑癌的效果<sup>[20]</sup>。

JAK2/STAT3 通路与肿瘤的发生发展密切相关,尤其是 STAT3 的异常磷酸化在肿瘤的形成中起到了关键作用,活化的 STAT3 能在胞核中稳定存在,从而使其所调控的下游靶基因表达紊乱,导致细胞的异常增殖<sup>[21]</sup>。实验研究证明,在多种肿瘤组织中 STAT3 呈异常表达,过度活化的 STAT3 对细胞侵袭和增殖等过程起着重要作用,抑制该蛋白可阻断该通路上、下游的致癌因子和致癌基因<sup>[22]</sup>。

JAK 家族共包括 4 个成员 JAK1, JAK2, JAK3, 人酪氨酸激酶 2(TYK2),其中,JAK2, STAT3 的关系最为密切<sup>[23]</sup>。STAT 家族是 JAKs 下游的一类靶蛋白,JAK2 的活化不仅与肿瘤的发生发展密切相关,且可参与调控下游 STAT3 蛋白,JAK2 磷酸化可激活 STAT3 蛋白使其磷酸化,二者共同参与细胞增殖和凋亡等过程<sup>[8]</sup>。Bax 属于促凋亡蛋白,其促凋亡

功能与其结构有关,在细胞凋亡的调控中起重要作用,若 Bax 的比例增高,则促进细胞凋亡<sup>[24]</sup>; Cyclin D<sub>1</sub> 为细胞周期蛋白,当 Cyclin D<sub>1</sub> 的基因结构或功能表达异常时可使细胞周期紊乱,导致细胞无限增殖从而引发肿瘤<sup>[25]</sup>。

STAT3 通过影响肿瘤细胞中 C-myc 基因(C-myc), Cyclin D<sub>1</sub> 等基因的表达,促使肿瘤细胞持续增殖,干预肿瘤进程<sup>[26]</sup>。临床研究发现,患者 STAT3 蛋白高表达或持续被激活,常伴随着 C-myc, Cyclin D<sub>1</sub> 基因表达升高<sup>[27]</sup>。抑制 STAT3 的活化,可阻断凋亡发生。在大鼠急性肺损伤过程中,其抗凋亡作用可通过 STAT3 信号通路调控 Bax 的表达实现<sup>[28]</sup>。STAT3 可通过上调 Bax 蛋白促进肺癌细胞的凋亡,同时对 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白的表达起到负调控的作用。

本研究结果显示,清燥救肺汤可显著降低肺癌细胞 JAK2, STAT3 蛋白磷酸化水平,并能促进肺癌细胞 Bax 蛋白表达及显著抑制 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达。由此可知,清燥救肺汤能显著促进肺癌细胞凋亡,其机制可能与抑制 JAK2/STAT3 信号通路,上调其下游 Bax 蛋白表达,下调其下游 Cyclin D<sub>1</sub> 蛋白表达有关<sup>[29]</sup>。

#### [参考文献]

- [1] Horeweg N, de Koning H. The importance of screening for lung cancer [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2014, 8(5):597-614.
- [2] Kurt H, Ozbayer C, Bayramoglu A, et al. Determination of the relationship between rs4986790 and rs4986791 variants of TLR4 gene and lung cancer [J]. *Inflammation*, 2016, 39(1):166-171.
- [3] 李娟,唐东昕,杨柱,等. 肺癌的中医药治疗与研究现状[J]. *贵阳中医学院学报*, 2017, 39(3):98-101.
- [4] 曾庆明,景光光,江龙凤,等. 清燥救肺汤的临床应用概况[J]. *江西中医学院学报*, 2013, 25(2):89-92.

- [5] 王保芹,王心恒,李泽庚. 中医药治疗肺癌研究进展[J]. 中医学报,2018,33(3):371-374.
- [6] 陆乾人,周庆华,顾翔华,等. 中医药调控肿瘤细胞凋亡的治法与方药探析[J]. 陕西中医,2011,32(11):1561-1563.
- [7] 徐艳珺,应杰儿. JAK2 抑制剂在肿瘤治疗中的应用价值[J]. 现代肿瘤医学,2013,21(10):2389-2392.
- [8] 谷蕾,张丽军,刘立芳,等. JAK/STAT 信号通路抑制剂与肺癌[J]. 现代肿瘤医学,2018,26(2):314-317.
- [9] LI W, Saud S M, Young M R, et al. Cryptotanshinone, a STAT3 inhibitor, suppresses colorectal cancer proliferation and growth *in vitro*[J]. Mol Cell Biochem, 2015,406(1/2):63-73.
- [10] 贺珊,廖长秀. 中药治疗肝癌机制的研究进展[J]. 中成药,2017,39(1):155-160.
- [11] 许蓓,陈翔,谭佳,等. Janus 激酶抑制剂 AG490 对人视网膜母细胞瘤 HXO-RB<sub>44</sub> 细胞 JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. 中南大学学报:医学版,2018,43(10):1061-1067.
- [12] 王鸿程,许学亮,曹乃清,等. STAT3、Bcl-xL、Bax 和 CyclinD1 在非小细胞肺癌中的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2007,23(4):341-342.
- [13] ZUO E, LU Y, YAN M, et al. Increased expression of hepcidin and associated upregulation of JAK/STAT3 signaling in human gastric cancer[J]. Oncol Lett,2018,15(2):2236-2244.
- [14] 陈江涛,徐彬智,余功,等. 清燥救肺汤对荷 Lewis 小鼠肺癌细胞增殖相关糖酵解乳酸生成的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(15):120-124.
- [15] 赵雪峰,范娟,杨玲麟,等. Abraxane 对 Lewis 肺癌小鼠 Per2 基因及 SIRT1 因子表达的影响[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(29):13-18.
- [16] 陈红莲,刘辉,马永超. 肺癌的早期诊断及西医治疗效果研究[J]. 当代医学,2017,23(7):117-119.
- [17] 徐彬智,余功,谢斌. 肺癌的病机分析及方剂应用探索[J]. 辽宁中医杂志,2018,45(2):270-272.
- [18] 张文俊,李兆申,许国铭,等. 细胞凋亡调控蛋白 Bcl-2 和 Bax 在溃疡性结肠炎表达的研究[J]. 中华消化内镜杂志,2003,20(4):262-264.
- [19] 齐连君,陈克林. 细胞凋亡与肿瘤[J]. 医学信息,2000,13(4):207-208.
- [20] 祁俊生. 细胞凋亡与肿瘤治疗[J]. 西南民族学院学报:自然科学版,2002,28(4):514-518,551.
- [21] 解芸菲. JAK2/STAT3 信号通路在癌细胞中作用的研究进展[J]. 石家庄职业技术学院学报,2018,30(2):22-25.
- [22] Loncle C, Bonjoch L, Folch-Puy E, et al. IL17 functions through the novel REG3 $\beta$ -JAK2-STAT3 inflammatory pathway to promote the transition from chronic pancreatitis to pancreatic cancer[J]. Cancer Res,2015,75(22):4852-4862.
- [23] 蒋树龙,花宝金. JAK2/STAT3/SOCS3 信号通路与肿瘤转移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2014,21(6):698-702.
- [24] Kvensakul M, Hinds M G. Structural biology of the Bcl-2 family and its mimicry by viral proteins[J]. Cell Death Dis,2013,4(11):909-912.
- [25] 马顺峨,梁建芳,郑绘霞,等. 周期蛋白 D<sub>1</sub> 在肺癌中的表达及生物学行为相关性研究[J]. 山西医药杂志,2017,46(21):2560-2562.
- [26] 李巍,李晶晶,李国利. STAT3、VEGF 及 C-myc 在精原细胞瘤中的表达及其意义[J]. 中华男科学杂志,2009,15(1):26-30.
- [27] Basu A, Meyer K, LAI K K, et al. Microarray analyses and molecular profiling of Stat3 signaling pathway induced by hepatitis C virus core protein in human hepatocytes[J]. Virology,2006,349(2):347-358.
- [28] 弓清梅,李建强,刘卓拉. 大鼠急性肺损伤过程中 STAT3 的活化对 Bcl-2, Bax 表达及细胞凋亡的影响[J]. 中国药物与临床,2007,7(1):35-37,81.
- [29] 谢斌,谢雄,饶斌,等. 一贯煎对肝癌 JAK1/STAT1 信号通路及其下游凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(18):100-104.

[责任编辑 张丰丰]