

## 复方开口箭合剂对乳腺癌生长转移的影响\*

王秀萍<sup>1</sup>, 叶太生<sup>1</sup>, 艾望<sup>2</sup>, 周珍<sup>2</sup>, 张莹雯<sup>1</sup>

1. 武汉大学中南医院 湖北 武汉 430071; 2. 武汉大学 湖北 武汉 430000

**摘要:** 目的: 研究复方开口箭合剂对乳腺癌生长转移的作用及其机制。方法: 60只 BALB/C 小鼠随机分为空白对照组、模型组、依维莫司组(2 mg·kg<sup>-1</sup>)及复方开口箭合剂高(60 g·kg<sup>-1</sup>)、中(30 g·kg<sup>-1</sup>)、低(15 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组, 每组10只。除空白对照组外, 其余组小鼠乳垫下接种50 μL 密度为1×10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup>的4T1细胞悬液建立乳腺癌模型, 空白对照组小鼠乳垫下注射等量生理盐水。造模成功后, 复方开口箭合剂各给药组分别以10 mL·kg<sup>-1</sup>的体积灌胃给予相应药物, 空白对照组及模型组灌胃给予等体积生理盐水, 每日1次; 依维莫司组腹腔注射依维莫司溶液, 每周2次, 连续给药14 d。分别在给药第7天和第14天时, 检测各组小鼠的瘤质量, 计算抑瘤率; 显微镜下观察肺转移结节情况, 计数结节数目, 计算肺转移抑制率; 采用 RT-PCR 测定乳腺原位瘤组织 *mTOR* mRNA 的表达水平。结果: 与给药7 d后比较, 给药14 d后, 模型组瘤质量、肺组织中转移性结节数显著增加; 复方开口箭合剂低剂量组瘤质量及肺组织中转移性结节数显著增加, *mTOR* mRNA 的表达水平显著降低; 复方开口箭合剂中剂量组瘤质量显著降低, 肺组织中转移性结节数显著增加; 复方开口箭合剂高剂量组瘤质量及 *mTOR* mRNA 的表达水平显著降低, 肺组织中转移性结节数显著减少。与空白对照组比较, 模型组 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著升高。与模型组比较, 各给药组小鼠的瘤质量及 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著降低, 肺组织中转移性结节数显著减少, 抑瘤率及肺转移抑制率有所提高, 差异均具有统计学意义。结论: 复方开口箭合剂可有效抑制乳腺癌的生长及肺转移, 其作用可能与抑制 *mTOR* 表达相关。

**关键词:** 乳腺癌; 复方开口箭合剂; *mTOR*; 小鼠

**DOI:** 10.16368/j.issn.1674-8999.2022.08.307

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-8999(2022)08-1696-06

### Effects of Compound Kaikoujian Mixture on Growth, Metastasis and *mTOR* Expression of Breast Cancer

WANG Xiuping<sup>1</sup>, YE Taisheng<sup>1</sup>, AI Wang<sup>2</sup>, ZHOU Zhen<sup>2</sup>, ZHANG Yingwen<sup>1</sup>

1. Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan Hubei China 430071; 2. Wuhan University, Wuhan Hubei China 430000

**Abstract:** Objective: To investigate the effect of Compound Kaikoujian mixture on the growth and metastasis of breast cancer and its mechanism. Methods: 60 BALB/C mice were randomly divided into blank control group, model group, everolimus group (2 mg·kg<sup>-1</sup>) and Compound Kaikoujian mixture high (60 g·kg<sup>-1</sup>), medium (30 g·kg<sup>-1</sup>), low (15 g·kg<sup>-1</sup>) dose group, 10 in each group. Except for the blank control group, mice in other groups were inoculated with 50 μL of 4T1 cell suspension with a density of 1×10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup> under the breast pad to establish a breast cancer model, while the mice in the blank control group were injected with the same volume of normal saline under the breast pad. After successful modeling, each administration group of Compound Kaikoujian mixture was given corresponding drugs by intragastric administration at a volume of 10 mL·kg<sup>-1</sup>, and the blank control group and model group were intragastrically administered with an equal volume of normal saline, once a day. The everolimus group was intraperitoneally injected with everolimus solution twice a week for 14 consecutive days. On the 7th and 14th days of the administration, the tumor mass of mice in each group was detected, and the tumor inhibition rate was calculated. The lung metastases were observed, the number of nodules was counted, and the lung metastasis inhibition rate was calculated under a microscope. And RT-PCR was used to determine the expression level of *mTOR* mRNA in situ tumor tissue of the breast. Results: Compared with

\* 基金项目: 湖北省 2016~2017 年度卫计委中西医结合科研重点项目; 湖北省自然科学基金青年项目(2015CFB640)

7 days after administration ,after 14 days of the administration ,the tumor mass and the number of metastatic nodules in the lung tissue in the model group increased significantly. In the low-dose Compound Kaikoujian mixture group ,tumor mass and *mTOR* mRNA expression level were significantly decreased ,and the number of metastatic nodules in lung tissue was significantly increased. In the middle-dose Compound Kaikoujian mixture group ,the tumor mass was significantly decreased ,and the number of metastatic nodules in the lung tissue was significantly increased. In the high-dose Compound Kaikoujian mixture group ,tumor mass and *mTOR* mRNA expression level were significantly reduced ,and the number of metastatic nodules in lung tissue was significantly decreased. Compared with the blank control group ,the expression level of *mTOR* mRNA in the model group was significantly increased. Compared with the model group ,the tumor mass and *mTOR* mRNA expression level of the mice in each administration group were significantly reduced ,the number of metastatic nodules in the lung tissue was significantly reduced ,and the tumor inhibition rate and lung metastasis inhibition rate were improved ,and the differences were all statistically significant. Conclusion: Compound Kaikoujian mixture can effectively inhibit the growth and lung metastasis of breast cancer ,and its effect may be related to the inhibition of *mTOR* expression.

**Key words:** breast cancer; Compound Kaikoujian mixture; *mTOR*; mice

乳腺癌是威胁女性健康最常见的恶性疾病之一,近几年在我国的发病率快速上升,每年新发患者数居全球第一<sup>[1]</sup>。据世界卫生组织(world health organization,WHO)统计,全球每年约有140万名新发乳腺癌患者<sup>[2]</sup>。中医认为,恶性肿瘤的发生与正气不足、癌毒邪气趁虚入侵密切相关。导师张莹雯教授长期从事恶性肿瘤的临床基础研究,依据其多年的临床经验,总结出治疗乳腺癌的经验方复方开口箭合剂,临床使用效果良好。雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,*mTOR*)是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,在乳腺癌的发生、发展、转移及耐药等多方面均发挥重要的调控作用。本研究拟考察复方开口箭合剂体内抑制乳腺癌增殖、转移作用及其对*mTOR*表达的影响,进一步探讨其抑制乳腺癌增殖转移的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物及细胞株** 6周龄SPF级雌性BALB/C小鼠,体质量(20±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2016-0006。小鼠饲养于武汉大学中南医院SPF级动物实验中心,环境温度20~26℃,湿度60%~70%,光照12h。4T1高转移小鼠乳腺癌细胞株(简称:4T1细胞株),由武汉大学肿瘤病理实验中心赠送。

**1.2 药物与试剂** 开口箭、茯苓、黄芪、伸筋草、丝瓜络、昆布、浙贝母、白花蛇舌草、三棱、水蛭、郁金、夏枯草、莪术、红藤、蒲公英、皂角刺(武汉大学中南医院药房);依维莫司(美国MCE公司,货号:HY-10218)。Trizol试剂(美国ambion公司,货号:15596026);SYBR Green PCR试剂盒(美国KAPA Biosystems公司,货号:KM4101);逆转录试剂盒(大连TAKARA公司,货号:639505);DNase I(加拿大

Fermentas公司,货号:EN0521);DEPC处理水(武汉华联科生物技术有限公司,货号:PAB180005);氯仿、异丙醇、无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,货号:10006818、80109218、10009218)。引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

**1.3 仪器** SW-CJ-2D型超净工作台(苏州净化设备有限公司);MLS-3781L-PC型高压灭菌锅(日本Panasonic公司);微量移液枪(各种型号,美国Rainin PiPet-Lite公司);G80F20CN1L-DG(W0)型微波炉(广东格兰仕集团有限公司);Centrifuge 5424 R型离心机(德国Eppendorf公司);T100-Thermal Cycler型PCR仪、CFX-96型荧光定量PCR仪、DYC-31D型水平电泳设备、Universal Hood II型凝胶成像系统(美国BIO-RAD公司);DHG-924385-III型恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司);HH-W600型数显恒温水浴锅(常州市国旺仪器制造有限公司);XW-80A型微型涡旋混合仪(上海青浦沪西仪器厂);ULU-PURE型优普特实验室超纯水仪(法国MilliPORE公司);DHP-9052型37℃恒温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 药物制备** 按量称取复方开口箭合剂各药材,生药浸水1h,煮沸40min,过滤后的药渣再次加水煮沸,合并2次煎煮液,水浴浓缩为最终浓度分别是1.5g·mL<sup>-1</sup>、3g·mL<sup>-1</sup>、6g·mL<sup>-1</sup>的复方开口箭合剂溶液,置4℃冰箱备用。

**2.2 模型制备、分组与给药** 60只BALB/C小鼠随机分为空白对照组、模型组、依维莫司组及复方开口箭合剂高、中、低剂量组,每组10只。取对数生长期的4T1细胞制备成细胞密度为1×10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup>的细

胞悬液,除空白对照组外,其余组小鼠均乳垫下接种50  $\mu\text{L}$  细胞悬液,建立乳腺癌模型<sup>[3-4]</sup>,空白对照组乳垫下注射等量生理盐水。以注射部位出现肉眼可见或可触及不规则结节为造模成功。造模成功次日开始给药,复方开口箭合剂高、中、低剂量组分别以10  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  的体积灌胃给予浓度为6  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、3  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、1.5  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的复方开口箭合剂溶液,空白对照组及模型组灌胃给予等体积生理盐水,每日1次;依维莫司组腹腔注射2  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的依维莫司,每周2次<sup>[5]</sup>。

**2.3 瘤质量及抑瘤率检测** 给药7 d后,各组随机选取5只小鼠处死,取原位瘤(空白对照组小鼠取乳腺组织,排除原发性肿瘤对数据造成的影响)称其质量。其余小鼠给药14 d后处死,取原位瘤,称其质量。各组小鼠的瘤质量取平均值,计算抑瘤率。

抑瘤率(%) = (模型组瘤质量 - 实验组瘤质量) / 模型组瘤质量  $\times 100\%$ <sup>[6]</sup>

**2.4 肺转移结节数及肺转移抑制率检测** 各组小鼠分两批分别于给药7 d和给药14 d后处死,取肺组织,经体积分数4%多聚甲醛固定48 h后连续切片,显微镜下观察肺转移结节情况,计数结节数目,取各组平均值计算肺转移抑制率。

肺转移抑制率(%) = (模型组结节数 - 治疗组结节数) / 模型组结节数  $\times 100\%$ <sup>[7]</sup>

**2.5 瘤组织 *mTOR* mRNA 测定** 采用RT-PCR测定乳腺原位瘤组织 *mTOR* mRNA 的表达水平。取瘤组织100 mg于研磨器内,研磨后倒入含1 mL Trizol 的匀浆管中,匀浆20 s,待其充分混匀后放于冰上静置5 min,12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心10 min。取上清,加入氯仿200  $\mu\text{L}$ ,混匀后于4  $^{\circ}\text{C}$  静置2 min,12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心10 min;取上清,加入约0.5 mL 异丙醇,混匀后于4  $^{\circ}\text{C}$  静置15 min,12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心15 min,弃上清;沉淀物中加入预冷的75%乙醇1 mL进行洗涤,7 500  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心5 min,弃上清,重复洗涤一次,室温干燥约10 min,即为提取出的RNA;在管中加入DEPC水40  $\mu\text{L}$ ,使RNA充分溶解。根据逆转录试剂盒说明书将RNA逆转录成cDNA。PCR扩增体系:SYBR Green Mix 预混液10  $\mu\text{L}$ ,上下游引物各0.5  $\mu\text{L}$ ,cDNA模板1  $\mu\text{L}$ ,加ddH<sub>2</sub>O补至20  $\mu\text{L}$ 。扩增条件:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性3 min;95  $^{\circ}\text{C}$  变性5 s;56  $^{\circ}\text{C}$  退火10 s;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸25 s,进行39个循环。以GAPDH为内参,计算目的基因的表达水平。引物序列见表1。

**2.6 统计学方法** 实验数据采用SPSS 20.0软件进行统计学分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )

表示,所有数据均经方差齐性检验,多组间比较采用单因素方差分析,同组间治疗前后比较采用配对 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表1 PCR引物序列

基因	序列
<i>mTOR</i>	F: 5'-AGAAGTCACTGAGGATT-3'
	R: 5'-AGGAGATAGAACGGAAGAA-3'
<i>GAPDH</i>	F: 5'-CCTTCCGTGTTCTACT-3'
	R: 5'-GACAACCTGGTCTCA-3'

### 3 结果

#### 3.1 复方开口箭合剂对乳腺原位癌生长的影响

瘤质量检测结果表明:空白对照组小鼠均未发现原发性肿瘤。与给药7 d后比较,给药14 d后,模型组及复方开口箭低剂量组小鼠的瘤质量显著增加( $P < 0.05$ );依维莫司组及复方开口箭合剂中、高剂量组小鼠的瘤质量显著降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,各给药组小鼠的瘤质量均显著降低( $P < 0.05$ )。与依维莫司组比较,给药7 d后,复方开口箭合剂低、中剂量组小鼠的瘤质量均显著升高( $P < 0.05$ );给药14 d后,复方开口箭合剂高剂量组小鼠的瘤质量显著降低( $P < 0.05$ ),而复方开口箭合剂低、中剂量组小鼠的瘤质量均显著升高( $P < 0.05$ )。与复方开口箭合剂高剂量组比较,复方开口箭合剂中、低剂量组小鼠瘤质量均显著增加( $P < 0.05$ )。与复方开口箭合剂中剂量组比较,复方开口箭合剂低剂量组小鼠瘤质量均显著增加( $P < 0.05$ )。抑瘤率检测结果表明:给药7 d后,各组的抑瘤率范围为6.67%~18.67%;给药14 d后,各组的抑瘤率均有所提高,范围为14.44%~47.78%。见表2。

#### 3.2 复方开口箭合剂对乳腺癌肺转移的影响

肺转移结节数检测表明:空白对照组小鼠乳腺癌未发现肺转移。与给药7 d后比较,给药14 d后,模型组及复方开口箭合剂中、低剂量组小鼠肺组织中转移性结节数显著增加( $P < 0.05$ ),复方开口箭合剂高剂量组小鼠肺组织中转移性结节数显著减少( $P < 0.05$ )。与模型组比较,给药7 d和14 d后,依维莫司组与复方开口箭合剂高、中剂量组小鼠肺组织中转移性结节数显著减少( $P < 0.05$ );给药14 d后,复方开口箭合剂低剂量组小鼠肺组织中转移性结节数显著减少( $P < 0.05$ )。与依维莫司组比较,复方开口箭合剂高剂量组小鼠肺组织中转移性结节数显著减少( $P < 0.05$ ),而复方开口箭合剂中、低剂量组小鼠肺组织中转移性结节数增加( $P < 0.05$ );与复方开口箭合剂高剂量组比较,复方开口箭合剂中、低

剂量组小鼠肺组织中转移性结节数增加 ( $P < 0.05$ )。肺转移抑制率检测结果表明: 给药 7 d 后, 各组小鼠的肺转移抑制率范围为 1.61% ~

14.52%; 给药 14 d 后, 各组的肺转移抑制率均有所提高, 范围为 6.82% ~ 38.64%。见表 3。

表 2 各组小鼠乳腺原位瘤质量及抑瘤率比较

组别	n	瘤质量 (m/g)		抑瘤率/%	
		7 d	14 d	7 d	14 d
空白对照组	10	-	-	-	-
模型组	10	0.75 ± 0.05	0.90 ± 0.06 <sup>1</sup>	-	-
依维莫司组	10	0.61 ± 0.07 <sup>&amp;</sup>	0.55 ± 0.05 <sup>&amp;1</sup>	18.67	38.89
复方开口箭合剂高剂量组	10	0.61 ± 0.01 <sup>&amp;</sup>	0.47 ± 0.03 <sup>&amp;#1</sup>	18.67	47.78
复方开口箭合剂中剂量组	10	0.66 ± 0.03 <sup>&amp;#a</sup>	0.62 ± 0.07 <sup>&amp;#a1</sup>	12.00	31.11
复方开口箭合剂低剂量组	10	0.70 ± 0.04 <sup>#ab</sup>	0.77 ± 0.04 <sup>&amp;#ab1</sup>	6.67	14.44

注: 与模型组比较 <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与依维莫司组比较 <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与复方开口箭合剂高剂量组比较 <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与复方开口箭合剂中剂量组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与同组给药 7 d 后相比, <sup>1</sup> $P < 0.05$

表 3 各组小鼠乳腺癌肺转移结节数及肺转移抑制率

组别	n	肺转移结节数/个		肺转移抑制率/%	
		7 d	14 d	7 d	14 d
空白对照组	10	-	-	-	-
模型组	10	6.20 ± 0.83	8.80 ± 1.14 <sup>1</sup>	-	-
依维莫司组	10	5.30 ± 0.36 <sup>&amp;</sup>	5.40 ± 1.26 <sup>&amp;</sup>	14.52	38.64
复方开口箭合剂高剂量组	10	4.90 ± 0.72 <sup>&amp;#</sup>	4.10 ± 1.20 <sup>&amp;#1</sup>	20.97	53.41
复方开口箭合剂中剂量组	10	5.70 ± 0.93 <sup>&amp;#a</sup>	6.90 ± 1.10 <sup>&amp;#a1</sup>	8.06	21.59
复方开口箭合剂低剂量组	10	6.10 ± 0.85 <sup>#a</sup>	8.20 ± 1.81 <sup>&amp;#a1</sup>	1.61	6.82

注: 与模型组比较 <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与依维莫司组比较 <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与复方开口箭合剂高剂量组比较 <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与复方开口箭合剂中剂量组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与同组给药 7 d 后相比, <sup>1</sup> $P < 0.05$

**3.3 复方开口箭合剂对乳腺原位瘤组织 *mTOR* mRNA 表达的影响** 与给药 7 d 后比较, 给药 14 d 后, 依维莫司组及复方开口箭合剂高、低剂量组小鼠乳腺原位瘤组织内 *mTOR* mRNA 的表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与空白对照组比较, 模型组及各给药组小鼠乳腺原位瘤组织内 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 各给药组小鼠乳腺原位瘤组织内 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ )。与依维莫司组比较, 给药 7 d 后, 复方开口箭合剂各剂量组小鼠乳腺原位瘤组织内 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 给药 14 d 后, 复方开口箭合剂中、低剂量组小鼠乳腺原位瘤组织内 *mTOR* mRNA 的表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 小鼠原位瘤组织内 *mTOR* mRNA

组别	n	相对表达情况	
		第 7 天	第 14 天
空白对照组	10	1.03 ± 0.05	1.01 ± 0.02
模型组	10	5.44 ± 0.15 <sup>*</sup>	6.27 ± 0.52 <sup>*</sup>
依维莫司组	10	2.08 ± 0.09 <sup>* &amp;</sup>	1.73 ± 0.10 <sup>* &amp;1</sup>
复方开口箭合剂高剂量组	10	3.05 ± 0.06 <sup>* &amp;#</sup>	1.74 ± 0.05 <sup>* &amp;1</sup>
复方开口箭合剂中剂量组	10	3.76 ± 0.18 <sup>* &amp;#</sup>	3.02 ± 0.37 <sup>* &amp;#</sup>
复方开口箭合剂低剂量组	10	4.64 ± 0.08 <sup>* &amp;#</sup>	4.10 ± 0.22 <sup>* &amp;#1</sup>

注: 与空白对照组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>&</sup> $P < 0.05$ ; 与依维莫司组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与同组给药 7 d 后相比, <sup>1</sup> $P < 0.05$

## 4 讨论

乳腺癌属于中医学“乳疽”“乳岩”“乳核”等范畴。公元 350 年, 东晋·葛洪在《石髓》上记载“乳中隐核、不痛不痒、底结肿坚如石……”, 隋代《诸病源候论·乳石痛候》中记述“石痛之状, 微强不甚大, 不赤微痛痒……但结核如石”, 均概述了本病的特征。中医认为, 乳腺癌的病因病机主要为正气虚弱、癌毒邪气趁虚入侵<sup>[8-9]</sup>。《医宗必读》记载“积之成也, 正气不足, 而后邪气踞之。”指出正气不足, 既不能抵抗外邪入侵又不能祛邪外出, 邪气聚集滞而成瘤, 认为“正虚”是肿瘤发生的根本原因。《诸病源候论》云“有下于乳者, 其经虚, 为风寒气客之, 则血涩结……无大热, 但结核如石。”指出外邪乘虚入内聚于乳络, 寒凝血涩, 气血运行不畅, 瘀血内停, 积久成岩。癌毒是导致乳腺癌发生发展的关键, 既可直接外客, 亦可因脏腑机能失调而内生<sup>[10-11]</sup>。癌毒阻滞, 病变乖戾, 耗伤人体气血津液以自养, 并可诱生湿、热、痰、瘀等多种病理因素。

针对乳腺癌的病因病机及病理特点, 导师张莹雯教授依据多年的从医经验, 采用复方开口箭合剂用于乳腺癌的临床治疗, 可有效控制病情, 减少并发症, 延长患者生存期。复方开口箭合剂由开口箭、茯苓、黄芪等 16 味中药组成。方中开口箭, 味苦辛, 性

寒,清热解毒,为君药,前期研究中证实其对甲状腺髓样癌细胞具有抑制作用<sup>[12-13]</sup>;浙贝母苦寒,昆布咸寒,夏枯草辛苦寒,白花蛇舌草苦甘,性寒,四药助开口箭清热解毒、软坚散结,为臣药;黄芪甘温,合茯苓益气托毒、利水渗湿;三棱、莪术、水蛭、郁金行气破血、消积;伸筋草、丝瓜络祛风通络;红藤、蒲公英、皂荚刺托毒消肿,共为佐药。为进一步明确其抗乳腺癌作用及机制,本实验采用接种4T1乳腺癌细胞株的方法建立乳腺癌模型,以高、中、低剂量复方开口箭合剂进行干预,发现复方开口箭合剂可有效抑制乳腺癌的生长、转移,其作用呈时间、剂量依赖性。在给药7 d后,高剂量复方开口箭合剂对乳腺原位癌生长的抑制作用并无明显优势,但可更好地抑制肺转移;在给药14 d后,高剂量复方开口箭合剂的抑瘤率可达47.78%,肺转移抑制率为53.41%,在抑制乳腺原位癌生长、肺转移上效果均优于用于中晚期乳腺癌治疗药物依维莫司(选择性mTOR抑制剂)<sup>[14-16]</sup>。依据中草药抗肿瘤有效性标准及《现代肿瘤治疗药物学》相关标准:抑瘤率>30%被认为有效<sup>[17-18]</sup>。本实验结果证实,给药14 d后,高、中剂量复方开口箭合剂对4T1乳腺原位癌生长具有有效的抑制作用,其中高剂量复方开口箭合剂还可有效抑制乳腺癌的肺转移。

mTOR是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可调节细胞凋亡与自噬,参与肿瘤细胞的生长、代谢、侵袭、转移等重要环节。已有研究发现,mTOR信号通路在包括乳腺癌、肝癌、非小细胞肺癌等多种恶性肿瘤中过度激活,促进肿瘤细胞生长,增加细胞侵袭力,与恶性肿瘤的发生发展、转移、不良预后密切相关<sup>[19-24]</sup>。研究认为,针对mTOR的治疗可能是乳腺癌尤其是中晚期乳腺癌的一个有效应对策略<sup>[25-27]</sup>。本研究发现,依维莫司在给药7 d后可较好的抑制mTOR mRNA的表达,且随着作用时间的延长,在给药14 d后抑制作用增强,但其抑制乳腺癌肺转移作用并未同步增强。复方开口箭合剂亦可有效下调mTOR mRNA的表达,其作用与用药时间、剂量呈正相关,虽然给药7 d后复方开口箭合剂下调mTOR mRNA表达的作用明显弱于依维莫司组,但在给药14 d后,复方开口箭合剂高剂量组较之依维莫司组mTOR mRNA表达无明显差异,并可更好的抑制乳腺原位癌的生长及肺转移。

综上所述,复方开口箭合剂可能部分通过下调mTOR的表达抑制乳腺癌的生长及肺部转移。依维莫司作为mTOR靶向抑制剂,虽可较好的抑制mTOR的表达,但单独使用依维莫司对乳腺癌生长

转移的抑制作用低于高剂量复方开口箭合剂,提示乳腺癌的发生发展是多因素综合作用的结果,应从多方面着手综合治疗,复方开口箭合剂可能还通过其他途径发挥抗乳腺癌作用,其具体机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 2020版乳腺癌诊疗指南发布[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 27(7): 884.  
2020 version of breast cancer diagnosis and treatment guidelines released[J]. Chin J Clin Oncol Rehabilitation, 2020, 27(7): 884.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [3] 王斌, 许诗雨, 刘嘉欣, 等. 黄连总生物碱联合运动通过阻滞细胞周期G1/S转换抑制原位移植4T1乳腺癌小鼠荷瘤生长的研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1635-1641.  
WANG B, XU S Y, LIU J X, et al. Total alkaloids of Coptidis Rhizoma combined with exercise inhibits tumor growth of orthotopically transplanted 4T1 breast cancer mice by blocking cell cycle G1/S transformation[J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(8): 1635-1641.
- [4] 王硕. 小鼠乳腺癌细胞4T1对不同类型小鼠乳腺癌模型的影响[J]. 天津医科大学学报, 2018, 24(4): 281-283.  
WANG S. Effects of mouse breast cancer cell line 4T1 on breast cancer animal model in different types of mice[J]. J Tianjin Med Univ, 2018, 24(4): 281-283.
- [5] GORDON M A, D'AMATO N C, GU H H, et al. Synergy between androgen receptor antagonism and inhibition of mTOR and HER2 in breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(7): 1389-1400.
- [6] 脱淑梅, 张彦骅, 党云, 等. 槲皮素对子宫颈癌荷瘤小鼠移植瘤生长的影响及其机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(2): 150-152, 156.  
TUO S M, ZHANG Y H, DANG Y, et al. Effects of quercetin on the growth of transplanted tumor in mice with cervical cancer and its mechanism[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2021, 37(2): 150-152, 156.
- [7] 司海龙, 陈玉, 苟涛, 等. 培元抗癌汤通过PI3K-AKT-mTOR信号通路调节Lewis肺癌自噬抑制肿瘤生长和转移的实验研究[J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(8): 722-728.  
SI H L, CHEN Y, GOU T, et al. Effect of Peiyuan Kang ai Decoction in regulating autophagy of Lewis lung cancer through PI3K-AKT-mTOR pathway to inhibit tumor growth and metastasis[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2021, 44(8): 722-728.
- [8] 王兰英, 孙吉利, 苏家茹. 鸡血藤总黄酮对人乳腺癌细胞株MCF-7增殖凋亡的影响及对Wnt/ $\beta$ -catenin通路的调控作用[J]. 中医学报, 2021, 36(7): 1512-1518.  
WANG L Y, SUN J L, SU J R. Effect of total flavonoids from caulis spatholepis on human breast cancer cell line MCF-7 and its regulation of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. Acta Chin Med, 2021, 36(7): 1512-1518.
- [9] 朱明玥, 吕志刚. 近代名老中医治疗乳腺癌经验浅析[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(7): 3162-3166.  
ZHU M Y, LYU Z G. Analysis on the clinical profiling of current prominent TCM doctors on treatment of breast cancer[J]. China J

- Tradit Chin Med Pharm 2019 34(7):3162-3166.
- [10]孟冰心,程旭锋,姜明强,等.王万林“通法”治疗乳腺癌经验[J].中华中医药杂志 2021 36(7):4032-4036.  
MENG B X, CHENG X F, JIANG M Q, et al. Wang Wanlin's experience in treating breast cancer by "Tong methods" [J]. China J Tradit Chin Med Pharm 2021 36(7):4032-4036.
- [11]陆清昀,刘延庆,戴小军,等.刘延庆辨治乳腺癌学术特色[J].中医学报 2020 35(7):1460-1462.  
LU Q Y, LIU Y Q, DAI X J, et al. Liu Yanqing's academic characteristics of differentiation and treatment of breast cancer [J]. Acta Chin Med 2020 35(7):1460-1462.
- [12]夏玉坤,艾望,张莹雯.开口箭皂苷对人甲状腺髓样癌 TT 细胞中 SUMO 特异性蛋白酶 2 表达影响[J].辽宁中医药大学学报, 2018 20(7):46-49.  
XIA Y K, AI W, ZHANG Y W. Effect of total saponins of *Tupistra chinensis* on expression of SENP2 in MTC-TT cells and tumor bearing mice [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med 2018 20(7):46-49.
- [13]沈鑫,夏玉坤,张莹雯,等.开口箭皂苷对人甲状腺髓样癌 TT 细胞的抑制作用及对 Notch1 的影响[J].天津中医药大学学报, 2018 37(3):225-229.  
SHEN X, XIA Y K, ZHANG Y W, et al. Inhibitory effects of total saponins of *tupistra chinensis* in human medullary thyroid carcinoma TT cells and its effect on expression of Notch1 [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med 2018 37(3):225-229.
- [14]BECK J T, HORTOBAGYI G N, CAMPONE M, et al. Everolimus plus exemestane as first-line therapy in HR<sup>+</sup>, HER2<sup>-</sup> advanced breast cancer in BOLERO-2 [J]. Breast Cancer Res Treat 2014, 143(3):459-467.
- [15]YARDLEY D A, NOGUCHI S, PRITCHARD K I, et al. Everolimus plus exemestane in postmenopausal patients with HR(+) breast cancer: BOLERO-2 final progression-free survival analysis [J]. Adv Ther 2013 30(10):870-884.
- [16]简海,林永平.依维莫司联合依西美坦治疗激素受体阳性晚期转移性乳腺癌患者的临床效果及安全性[J].中国妇幼保健, 2021 36(6):1260-1262.  
JIAN H, LIN Y P. Clinical efficacy and safety of everolimus combined with exemestane in treatment of patients with hormone receptor-positive advanced metastatic breast cancer [J]. Matern Child Heal Care China 2021 36(6):1260-1262.
- [17]仲丽丽,于颖,张维嘉,等.蝙蝠葛碱对胰腺癌细胞 BxPC-3 裸鼠移植瘤抑制及超微结构影响[J].辽宁中医药大学学报, 2018 20(9):30-32.  
ZHONG L L, YU Y, ZHANG W J, et al. Effect of dau on the inhibition and ultrastructure of human pancreatic cancer cell BxPC-3 in nude mice [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med 2018 20(9):30-32.
- [18]窦锡彬,覃兴乐,苏霞辉.壮药白莲 I 号方对荷瘤 S180 小鼠抑瘤率及血浆白细胞介素-18 的影响[J].时珍国医国药, 2008, 19(2):449-450.  
DOU X B, QIN X L, SU X H. Effect of Zhuang Yao bai Lian prescription No. 1 on IL-18 in sarcoma S180 mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res 2008 19(2):449-450.
- [19]REDDY D, GHOSH P, KUMAVATH R. Strophanthidin attenuates MAPK, PI3K/AKT/mTOR, and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways in human cancers [J]. Front Oncol 2020 9:1469.
- [20]DOBASHI Y, WATANABE Y, MIWA C, et al. Mammalian target of rapamycin: a central node of complex signaling cascades [J]. Int J Clin Exp Pathol 2011 4(5):476-495.
- [21]CONCIATORI F, CIUFFREDA L, BAZZICHETTO C, et al. mTOR cross-talk in cancer and potential for combination therapy [J]. Cancers 2018 10(1):23.
- [22]FUMAROLA C, BONELLI M A, PETRONINI P G, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung cancer [J]. Biochem Pharmacol 2014 90(3):197-207.
- [23]UENG S H, CHEN S C, CHANG Y S, et al. Phosphorylated mTOR expression correlates with poor outcome in early-stage triple negative breast carcinomas [J]. Int J Clin Exp Pathol 2012 5(8):806-813.
- [24]MORRISON JOLY M, WILLIAMS M M, HICKS D J, et al. Two distinct mTORC2-dependent pathways converge on Rac1 to drive breast cancer metastasis [J]. Breast Cancer Res 2017 19(1):74.
- [25]DAVIS N M, SOKOLOSKY M, STADELMAN K, et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention [J]. Oncotarget 2014 5(13):4603-4650.
- [26]PASCUAL T, APELLÁNIZ-RUIZ M, PERNAUT C, et al. Polymorphisms associated with everolimus pharmacokinetics, toxicity and survival in metastatic breast cancer [J]. PLoS One 2017 12(7):e0180192.
- [27]SHARMA V, SHARMA A K, PUNJ V, et al. Recent nanotechnological interventions targeting PI3K/Akt/mTOR pathway: a focus on breast cancer [J]. Semin Cancer Biol 2019 59:133-146.

收稿日期:2022-05-15

作者简介:王秀萍(1990-),女,湖北黄冈人,医学硕士,主治医师,研究方向:中西医结合治疗肿瘤。

通信作者:张莹雯(1963-),女,湖北黄冈人,医学博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中西医结合治疗肿瘤。E-mail:hhao3838@sina.com

编辑:孙亚萍