

益气健脾抗癌法对结肠癌组织 PKC 及亚型 PKC δ 、PKC ϵ 蛋白表达的影响

唐广义¹, 韩涛², 殷东风³, 李秋华^{1,2}, 刘兆喆² (1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳军区总医院 肿瘤科, 辽宁 沈阳 110086; 3. 辽宁中医药大学附属医院 肿瘤科, 辽宁 沈阳 110033)

[摘要] **目的:** 探索益气健脾抗癌法对大肠癌组织蛋白激酶 C (protein kinase C; PKC) 及亚型 PKC δ 、PKC ϵ 表达的影响及其作用机制。**方法:** 建立人大肠癌细胞 HT-29 裸鼠皮下移植瘤模型后, 随机分为模型组、益气健脾组和益气健脾抗癌组。益气健脾中药由太子参、茯苓、白术、甘草、半夏、陈皮等组成, 益气健脾抗癌中药由益气健脾中药加山慈菇、土茯苓、浙贝母和白花蛇舌草等组成。给药 14 d 后, 应用 Real-time PCR 和 Western blotting 法检测肿瘤组织 PKC 及其亚型 PKC δ 、PKC ϵ 的 mRNA 及蛋白的表达。**结果:** 益气健脾抗癌法治疗后, 移植瘤组织中: (1) PKC mRNA 和 PKC 蛋白表达低于模型组和益气健脾组 [(0.412 ± 0.040) vs (0.596 ± 0.021)], (0.540 ± 0.015) 和 (0.261 ± 0.019) vs (0.665 ± 0.016)], (0.498 ± 0.018)], $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]; (2) PKC δ mRNA 和 PKC δ 蛋白表达高于模型组和益气健脾组 [(0.410 ± 0.030) vs (0.233 ± 0.025)], (0.261 ± 0.034) 和 (0.516 ± 0.029) vs (0.301 ± 0.041)], (0.361 ± 0.044)], 均 $P < 0.01$]; (3) PKC ϵ mRNA 和 PKC ϵ 蛋白表达低于模型组和益气健脾组 [(0.215 ± 0.021) vs (0.362 ± 0.021)], (0.314 ± 0.031) 和 (0.224 ± 0.029) vs (0.368 ± 0.044)], (0.359 ± 0.029)], 均 $P < 0.01$ 。**结论:** 益气健脾抗癌法对大肠癌组织 PKC、PKC ϵ 的抑制及 PKC δ 的促进作用, 可能是益气健脾抗癌法治疗大肠癌的作用机制之一。

[关键词] 结肠癌; 益气健脾; 蛋白激酶 C; 蛋白激酶 C δ ; 蛋白激酶 C ϵ

[中图分类号] R735.3⁺4; R730.52

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)03-0366-05

The effect of Yiqijianpi anticancer on expression of PKC, PKC δ and PKC ϵ in mice colon cancer tissues

TANG Guangyi¹, HAN Tao², YIN Dongfeng³, LI Qiu-hua^{1,2}, LIU Zhaozhe² (1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, Liaoning, China; 2. Department of Oncology, the General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110086, Liaoning, China; 3. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of Yiqijianpi anticancer method on the expression of PKC (protein kinase C) and its subtypes (PKC δ and PKC ϵ) in transplanted colon cancer tissues. **Methods:** After the establishment of subcutaneous xenograft model (human colon cancer cell line HT-29), the mice were randomly divided into 3 groups: model group, Yiqijianpi group, Yiqijianpi anticancer group. The Chinese herbs used in Yiqijianpi group were composed of Radix pseudostellariae, Poria, Atractylodes, Licorice root, Pinellia and dried orange peel etc. In addition to these, the herbs used in replenishing and anticancer group had additional Iphigenia, Tuckahoe, Zhejiang fritillaria, and Hedyotis diffusa willd. After 14 days of administration, the protein and mRNA expressions of PKC, PKC δ and PKC ϵ were detected by RT-PCR and Western blotting. **Results:** (1) The mRNA and protein expressions of PKC were lower in the xenograft tissues of Yiqijianpi anticancer group than those of the model group and Yiqijianpi group [$[0.412 \pm 0.040]$ vs $[0.596 \pm 0.021]$], $[0.540 \pm 0.015]$ and $[0.261 \pm 0.019]$ vs $[0.665 \pm 0.016]$], $[0.498 \pm 0.018]$], $P < 0.05$, $P < 0.01$]; (2) the mRNA

[基金项目] 辽宁省中医药临床学(专)科能力建设资助项目(No. 2013-Lnzyzk-01); 辽宁省博士科研启动基金资助项目(No. 201501022)。Project supported by the Traditional Chinese Medicine Speciality Construction of Liaoning Province (No. 2013-Lnzyzk-01) and the Doctor Scientific Research Foundation of Liaoning Province (No. 201501022)

[作者简介] 唐广义(1980-), 男, 辽宁省本溪市人, 主治医师, 博士生, 主要从事中西医结合肿瘤病理学研究, E-mail: lnzy_tgy@163.com; 韩涛(1984-), 男, 辽宁省阜新市人, 主治医师, 主要从事肿瘤信号转导研究, E-mail: than1984@aliyun.com

[通信作者] 殷东风(YIN Dongfeng, corresponding author), E-mail: lnzy_oncology@163.com

and protein expressions of PKC δ were higher than those of the model group and Yiqijianpi group ($[0.410 \pm 0.030]$ vs $[0.233 \pm 0.025]$, $[0.261 \pm 0.034]$ and $[0.516 \pm 0.029]$ vs $[0.301 \pm 0.041]$, $[0.361 \pm 0.044]$, all $P < 0.01$); (3) the mRNA and protein expressions of PKC ϵ were lower than those of the model group and Yiqijianpi group ($[0.215 \pm 0.021]$ vs $[0.362 \pm 0.021]$, $[0.314 \pm 0.031]$ and $[0.224 \pm 0.029]$ vs $[0.368 \pm 0.044]$, $[0.359 \pm 0.029]$, both $P < 0.01$). **Conclusion:** Yiqijianpi anticancer method had an inhibitory effect on PKC, PKC ϵ and a promotive effect on PKC δ in transplanted colon cancer tissues, and this may be one of the mechanisms that this anticancer method works on colon cancer.

[**Key words**] colon cancer; Yiqijianpi anticancer; protein kinase C (PKC); PKC δ ; PKC ϵ

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(3): 366-370. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.012]

蛋白激酶 C (protein kinase C; PKC) 广泛分布于多种组织、器官和细胞中, 以往研究^[1-4]表明, PKC 既是与脾虚相关的重要因素, 也在肿瘤的增殖、分化及血管生成方面具有调节作用, 尤其是其亚型 PKC δ 、PKC ϵ 与肿瘤生长密切相关^[5-11]。中医益气健脾抗癌法治疗大肠癌在临床已经应用多年, 其对肿瘤所起到的功效具体体现在抗癌与健脾两方面。笔者前期的研究^[12-14]已经证明, 益气健脾抗癌法对肝、脾、肾组织中的脾虚相关蛋白 PKC 具有干预作用, 也初步证明了其促进肿瘤细胞凋亡的作用, 但未对肿瘤组织内的 PKC 及其亚型 PKC δ 、PKC ϵ 表达情况做进一步分析。为明确益气健脾抗癌法对肿瘤组织中 PKC 及其亚型 PKC δ 、PKC ϵ 的干预作用, 特进行了本研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取人结肠癌 HT-29 细胞株, 来源于中国医科大学细胞生物实验室细胞库。选取 50 只雌裸鼠和 50 只雄裸鼠, 体质量为 (20 ± 2) g, 鼠龄在 4 ~ 5 周 [北京华阜康生物公司, SCXK(京)2014-0004]。

1.2 中药及制备

益气健脾中药: 太子参、茯苓、白术、甘草、半夏、陈皮、木香、砂仁各 50 g, 共计 400 g。益气健脾抗癌中药: 益气健脾中药 + 抗癌中药 (山慈菇、土茯苓、浙贝母、白花蛇舌草各 60 g, 共计 240 g)。中药饮片购于辽宁省中医院门诊药局。制备方法^[15]: 分别将上述中药先后用 10 倍水煎煮 2 h、8 倍水煎煮 1 h, 收集两次煎液过滤, 药渣弃去, 浓缩至 200 ml 的提取液, 为低剂量 (L) 组; 取 100 ml 提取液, 再次浓缩至 50 ml, 为高剂量 (H) 组。用 10 ml/瓶分装, 高压灭菌 $(0.1 \sim 0.15 \text{ kPa}) 15 \text{ min}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.3 结肠癌 HT-29 细胞株体外培养

在含有 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养基中按照标准方式培育结肠癌 HT-29 细胞株, 选取对数

生长期的 HT-29 细胞, 将细胞浓度调配成 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 细胞悬浮液。

1.4 结肠癌 HT-29 细胞移植瘤鼠建模

依据文献^[16]的方法建立结肠癌 HT-29 细胞移植瘤鼠建模。选取对数生长期肿瘤细胞, 将细胞浓度调整为 $1 \times 10^7/\text{ml}$, 碘消毒裸鼠腋下皮肤, 注射接种肿瘤细胞液 (0.2 ml/只), 每天观察肿瘤的生长情况。在成功接种 15 d 后, 先前接种位置形成直径为 0.8 cm 且质地比较硬的肿瘤结节则被视为成瘤。

1.5 实验动物分组、给药及取材

动物分组: 将 100 只裸鼠进行统一编号, 造模成功后选取状态好的 75 只瘤鼠, 按随机数字表法分成 5 组: 模型 (C) 组、益气健脾 (A_H 和 A_L) 组、益气健脾抗癌 (B_H 和 B_L) 组, 每组 15 只。给药方案: C 组予生理盐水; A 组给予益气健脾中药; B 组给予益气健脾抗癌中药。造模成功后开始连续灌胃, 0.5 ml/次, 1 次/d, C 组给予生理盐水; A_H 和 B_H 组、 A_L 和 B_L 组给予相应浓度药物 1 次, 共计 14 d。取材: 完成实验后的第 14 天, 通过脱颈椎方式将实验小鼠致死, 彻底剥离瘤体、称质量并计算肿瘤生长抑制率 (inhibition ratio, IR), 公式为: $IR (\%) = (1 - \text{治疗组平均瘤质量} / \text{对照组平均瘤质量}) \times 100 \%$ 。之后将其放在冰盒中, 肉眼观察瘤组织后, 将肿瘤全层组织进行剖切, 多部位采取样本以防肿瘤组织坏死。

1.6 Real-time PCR 检测移植瘤组织 PKC 及其亚型 mRNA 表达水平

采用 Real-time PCR 方法检测各组瘤鼠肿瘤组织 mRNA 表达水平。PKC 引物序列为: 上游引物 5'-TGCTATTGGACCACGAAG-3', 下游引物 5'-GGAAAGCCGGCTCTAACT-3', 扩增片段长度: 441 bp; PKC δ 引物序列为: 上游引物 5'-GTCACCATCTTCCAGAAAGAACG-3', 下游引物 5'-CTTGCCATAGTCCAGTTGTTG-3', 预计扩增片段为 351 bp; PKC ϵ 引物序列为: 上游引物 5'-AAGTTGTATGCGTTTG-

TATCTC-3', 下游引物 5'-TTCTCACCGTGTATT-AGCC-3', 扩增片段长度: 262 bp。以 β -actin 做为内参, 内参 β -actin 引物序列为: 上游引物 5'-GTGGGC-CGGTGTAGGCACCA-3', 下游引物 5'-GGTTGGCCT-TAGGGTTCAGG-3', 预计扩增片段为 246 bp。常规提取肿瘤组织中总 RNA, 经逆转录为 cDNA, 以上述引物进行扩增, 扩增后将产物进行琼脂糖凝胶电泳, 于凝胶成像分析系统中采集并测定电泳条带灰度值, 以目的基因灰度值/内参基因灰度值比值作为 mRNA 相对表达值。

1.7 Western blotting 检测移植瘤组织 PKC、PKC δ 、PKC ϵ 蛋白表达

取出肿瘤组织, 按组织净重与裂解液 1:10 的比例加入蛋白提取试剂, 并用玻璃匀浆器在冰上进行匀浆, 匀浆后静置于冰上 20 min, 12 000 $\times g$ 离心 15 min, 分离上清液即为总蛋白。采用考马斯亮蓝法对各组总蛋白进行蛋白定量, 测定蛋白浓度, 根据蛋白浓度, 调整上样量。每孔上样 20 μg 总蛋白进行电泳, 半干转印法将蛋白转至 PVDF 膜, 一抗 (1:200) 4 $^{\circ}C$ 孵育过夜、二抗 (1:2 000) 室温孵育 1 h, ECL 发光, 于凝胶成像分析系统中采集 PVDF 膜发光图像, 并测定条带灰度值, 以目的蛋白灰度/内参蛋白灰度比值作为相对蛋白表达值。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析和两样本均数比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 益气健脾抗癌法有效抑制移植瘤的生长

移植瘤治疗结果(表 1)显示, 用药组移植瘤的质量均小于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中益气健脾抗癌组移植瘤质量明显小于益气健脾组 ($P < 0.05$), 其抑瘤率高于益气健脾组 ($P < 0.01$)。

2.2 移植瘤组织中 PKC mRNA 及 PKC 蛋白低表达

Western blotting 检测结果(表 2, 图 1)显示, 益气健脾抗癌法治疗后, 瘤组织中 PKC mRNA 和 PKC 蛋白表达量均低于模型组和益气健脾组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 瘤组织中 PKC δ mRNA 及 PKC 蛋白高表达

Western blotting 检测结果(表 3, 图 2)显示, 益气健脾抗癌法治疗后, 瘤组织中 PKC δ mRNA 和 PKC δ 蛋白表达量均高于模型组和益气健脾组 (均 $P < 0.01$)。

表 1 益气健脾抗癌法治疗后移植瘤质量和抑瘤率

Tab.1 Tumor weight and tumor inhibiting rates after the treatment of Yiqijianpi anticancer method

Groups	N	Tumor mass	Inhibiting rate(%)
A _L	15	3.24 \pm 0.61 *	16
A _H	15	3.11 \pm 0.54 *	17
B _L	15	2.82 \pm 0.39 ** Δ	27 $\Delta\Delta$
B _H	15	2.73 \pm 0.52 ** Δ	29 $\Delta\Delta$
C		3.85 \pm 0.77	0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs Yiqijianpi group; A: Yiqijianpi group; B: Yiqijianpi anticancer group; C: Model group

表 2 移植瘤组织中 PKC mRNA 和蛋白表达水平

Tab.2 mRNA and protein expression of PKC in transplanted tumor tissues

Groups	N	PKC mRNA	PKC
A _L	15	0.552 \pm 0.022 *	0.511 \pm 0.030 *
A _H	15	0.540 \pm 0.015 *	0.498 \pm 0.018 *
B _L	15	0.423 \pm 0.027 ** Δ	0.270 \pm 0.017 ** $\Delta\Delta$
B _H	15	0.412 \pm 0.040 ** Δ	0.261 \pm 0.019 ** $\Delta\Delta$
C		0.596 \pm 0.021	0.665 \pm 0.016

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs Yiqijianpi group; A: Yiqijianpi group; B: Yiqijianpi anticancer group; C: Model group

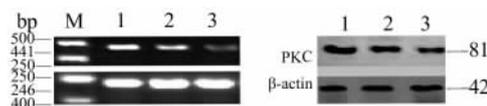


图 1 移植瘤组织中 PKC mRNA 和 PKC 蛋白的表达

Fig.1 mRNA and protein expression of PKC in transplanted tumor tissues

1: Model group; 2: Yiqijianpi group;

3: Yiqijianpi anticancer group

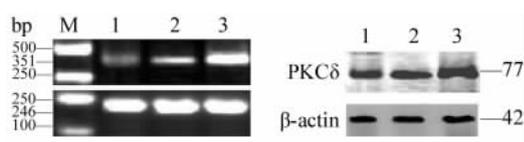
2.4 瘤组织中 PKC ϵ mRNA 及 PKC ϵ 蛋白低表达

Western blotting 检测结果(表 4, 图 3)显示, 益气健脾抗癌法治疗后, 瘤组织中 PKC ϵ mRNA 和 PKC ϵ 蛋白表达低于模型组和益气健脾组 (均 $P < 0.01$)。

表 3 移植瘤组织中 PKC δ mRNA 和蛋白表达水平Tab. 3 PKC δ mRNA and protein in transplanted tumor tissues

Group	N	PKC δ mRNA	PKC δ
A _L	15	0.235 ± 0.028	0.331 ± 0.052*
A _H	15	0.261 ± 0.034	0.361 ± 0.044*
B _L	15	0.389 ± 0.026** $\Delta\Delta$	0.501 ± 0.014** $\Delta\Delta$
B _H	15	0.410 ± 0.030** $\Delta\Delta$	0.516 ± 0.029** $\Delta\Delta$
C		0.233 ± 0.025	0.301 ± 0.041

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs Yiqijianpi group; A: Yiqijianpi group; B: Yiqijianpi anticancer group; C: Model group

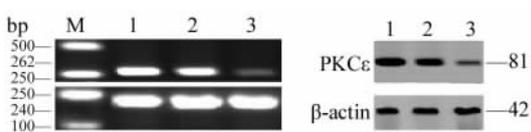
图 2 移植瘤组织中 PKC δ mRNA 和 PKC δ 蛋白的表达Fig. 2 PKC δ mRNA and protein in transplanted tumor tissues

1: Model group; 2: Yiqijianpi group;
3: Yiqijianpi anticancer group

表 4 移植瘤组织中 PKC ϵ mRNA 和蛋白表达水平Tab. 4 mRNA and protein expression of PKC ϵ in transplanted tumor tissues

Group	N	PKC ϵ	PKC ϵ mRNA
A _L	15	0.364 ± 0.033	0.331 ± 0.026**
A _H	15	0.359 ± 0.029	0.314 ± 0.031**
B _L	15	0.235 ± 0.018** $\Delta\Delta$	0.229 ± 0.023** $\Delta\Delta$
B _H	15	0.224 ± 0.029** $\Delta\Delta$	0.215 ± 0.021** $\Delta\Delta$
C		0.368 ± 0.044	0.362 ± 0.021

** $P < 0.01$ vs model group; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs Yiqijianpi group; A: Yiqijianpi group; B: Yiqijianpi anticancer group; C: Model group

图 3 移植瘤组织中 PKC ϵ mRNA 和 PKC ϵ 蛋白的表达Fig. 3 mRNA and protein expression of PKC ϵ in transplanted tumor tissues

1: Model group; 2: Yiqijianpi group;
3: Yiqijianpi anticancer group

3 讨论

蛋白激酶 C 是 1977 年由 Nishiznka 最先发现, 广泛参与细胞内信息传递、离子通道的调节和激素分泌, 与细胞的增殖、分化、癌变、凋亡及耐药等一系列生命活动息息相关。PKC 通常存储在细胞质中, 以无活性形式存在。在细胞受到外界刺激时, PKC 就会基于钙离子依赖模式转移到细胞膜中, 此转移的过程被定义为转位, 此转位代表着 PKC 激活。激活的 PKC 能够发生磷酸化, 进而对细胞的繁殖、分化和死亡发挥作用^[17]。PKC 的亚型中, 与肿瘤生长关系密切的包括 PKC δ 、PKC ϵ 两种。PKC δ 表现出抗增殖作用, Oliva 等^[18]研究发现, PKC δ 在不同的细胞周期被激活会引发不同的反应; Akar 等^[19]研究表明, PKC δ 可有效控制胰腺癌细胞增殖及细胞自噬。而 PKC ϵ 借助于 RAS/RAF/MAPK 通道的作用下诱发细胞出现恶性发展, 认为是负面的疾病结果的一个重要指标^[8,10]。

本实验从肿瘤组织中 PKC 及其亚型 PKC δ 、PKC ϵ 多个方面对益气健脾抗癌法的作用进行了深入研究。中医临床应用益气健脾抗癌法时, 由于患者状态的不同每日给药的剂量有所不同 (2 次/日或 3 次/日), 所以治疗组用药分为高、低两个剂量, 结果证明高低两个剂量均有明确的治疗作用。从抑瘤方面看, 益气健脾组及益气健脾抗癌组均对肿瘤产生了抑制作用, 但益气健脾抗癌组疗效更显著, 从而在宏观层面证明了其明显的抗肿瘤作用。进一步在 PKC mRNA 及蛋白层面看, 各组都呈现了逐渐降低的趋势, 益气健脾对肿瘤组织中 PKC 具有抑制作用, 当益气健脾与抗癌联合应用时, 这一作用得到了增强。PKC ϵ 在 mRNA 及蛋白表达上也呈现了与 PKC 相同的逐渐降低趋势。上述结果证明, 益气健脾抗癌法能通过抑制 PKC、PKC ϵ 的途径实现了对结肠癌的治疗作用。PKC δ mRNA、PKC δ 蛋白表现出与 PKC 相反的变化, 益气健脾抗癌法表现出了增强 PKC δ 的作用, 证明了对于 PKC δ 的促进作用也是益气健脾抗癌法的作用机制之一。

益气健脾抗癌法药物包括太子参、茯苓、白术、甘草、半夏、陈皮、木香、砂仁, 辅以土茯苓、白花蛇舌草、山慈菇等具有抗癌祛邪功效的药物。太子参甘润, 补益脾肺, 益气生津; 白术苦温, 燥脾补气; 茯苓甘淡, 渗湿泄热; 甘草甘平, 和中益火; 半夏、陈皮化痰行滞, 木香、砂仁温补脾胃, 山慈菇、土茯苓、浙贝母、白花蛇舌草解癌毒, 调气化痰, 化痰软坚。既往研究表明^[20-22], 脾气亏虚是肿瘤患者出现频率较高

的证候,运用益气健脾抗癌中药,能改善临床症状,并具有一定的抗肿瘤作用。实验研究^[23]表明,益气健脾抗癌法能促进人结肠癌细胞株 HT-29 凋亡,并能干预凋亡相关基因 *bcl-2*、*bax* 的表达。

PKC、*PKCε* 属于原癌基因的范围,*PKCδ* 具有抑癌基因的作用。本研究结果证明,对 *PKC* 及其亚型 *PKCδ*、*PKCε* 的调节作用,可能也是益气健脾抗癌法治疗结肠癌的起效途径,这为进一步研究益气健脾抗癌法治疗结肠癌提供了一个新的研究思路。由于本实验应用药物为中药复方制剂,经过煎煮后药物之间发生相互作用,导致单味中药的指纹图谱不能代表煎煮后复方汤剂的结果,因此未对所用复方汤剂进行中药指纹图谱分析。

[参 考 文 献]

- [1] 易杰,李德新. 脾虚证动物模型研究思路和方法探析 [J]. 上海中医药杂志, 2001, 35(5): 40-42. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-1334. 2001. 05. 017.
- [2] 关崇芬,沈华. 蛋白酪氨酸激酶与中医脾虚证研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 1996, 3(11): 14.
- [3] 刘春明,李德新. 脾阳虚大鼠肝脾蛋白激酶 C 活性的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2000, 27(1): 44-45.
- [4] 易杰,李德新. 脾阳虚与脾阳虚大鼠肝脾组织蛋白激酶 C 活性变化的研究 [J]. 中医药学刊, 2002, 20(5): 639-644. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-7717. 2002. 05. 044.
- [5] DOLLER A, WINKLER C, AZRILIAN I, et al. High-constitutive HuR phosphorylation at Ser 318 by PKC δ propagates tumor relevant functions in colon carcinoma cells [J]. Carcinogenesis, 2011, 32(5): 676-685. DOI: 10. 1093/carcin/bgr024.
- [6] LIM J H, WOO S M, MIN K J, et al. Rottlerin induces apoptosis of HT29 colon carcinoma cells through NAG-1 upregulation via an ERK and p38 MAPK-dependent and PKC independent mechanism [J]. Chem Biol Interact, 2012, 197(1): 1-7. DOI: 10. 1016/j. cbi. 2012. 02. 003.
- [7] OKUWA H, KANNO T, FUJITA Y, et al. Sphingosine suppresses mesothelioma cell proliferation by inhibiting PKC δ and inducing cell cycle arrest at the G(0)/G(1) phase [J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 30(4): 995-1004. DOI: 10. 1159/000341476.
- [8] TOTOŃ E, IGNATOWICZ E, SKRZECZKOWAKA K, et al. Protein kinase C ϵ as a cancer marker and target for anticancer therapy [J]. Pharmacol Rep, 2011, 63(1): 19-29. DOI: 10. 1016/s1734-1140(11) 70395-4.
- [9] JAIN K, BASU A. The multifunctional protein kinase C- ϵ in cancer development and progression [J]. Cancers(Basel), 2014, 6(2): 860-878. DOI: 10. 3390/cancers6020860. 10. 3390/cancers6020860.
- [10] GARG R, BLANDO J. Activation of nuclear factor κ B (NF- κ B) in prostate cancer is mediated by protein kinase C epsilon(PKC ϵ) [J]. J Biol Chem, 2012, 287(44): 37570-37582. DOI: 10. 1074/jbc. M112. 398925.
- [11] JAIN K, BASU A. Protein kinase C ϵ promotes EMT in breast cancer [J]. Breast Cancer(Auckl), 2014, 8: 61-67. DOI: 10. 4137/BCBCR. S13640.
- [12] 王宁,唐广义,殷东风. 益气健脾抗癌法对肠癌脾虚本质的影响及抗肿瘤作用实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(5): 1054-1056.
- [13] 唐广义,殷东风,王宁. 益气健脾抗癌法对肠癌裸鼠肝、肾组织中蛋白激酶 C 影响实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(7): 29-31.
- [14] 王雪姣,殷东风,唐广义. 益气健脾抗癌中药对胃癌裸鼠肝肾蛋白激酶 C 影响的实验研究 [J]. 上海中医药杂志, 2013, 47(10): 74-77.
- [15] 何燕清. 抗癌解毒增效方对实验肿瘤化疗的减毒增敏作用 [J]. 中医杂志, 2004, 45(11): 825. DOI: 10. 3321/j. issn: 1001-1668. 2004. 11. 049.
- [16] 张丽杰,赵振军,尹乃宁,等. RNA 干扰下调 Stat5 对人肝癌裸鼠移植瘤的抑制及诱导肿瘤细胞凋亡的研究 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2012, 18(3): 209-212. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-1927. 2012. 03. 010.
- [17] NEWTON A C. Regulation of protein kinase C [J]. Curr Opin Cell Biol, 1997, 9(2): 161-167. PMID: 9069266.
- [18] OLIVA J L, CAINO M C, SENDEROWICZ A M, KAZANIETZ M G. S-Phase-specific activation of PKC alpha induces senescence in non-small cell lung cancer cells [J]. J Biol Chem, 2008, (9): 5466-5476. DOI: 10. 1074/jbc. m707576200.
- [19] AKAR U, OZPOLAT B, MEHTA K. Tissue transglutaminase inhibits autophagy in pancreatic cancer cells [J]. Mol Cancer Res, 2007, (3): 241-249. DOI: 10. 1158/1541-7786. mcr-06-0229.
- [20] 尹璐,殷东风. 香砂六君子汤加减对胃癌术后患者中气重建影响的临床研究 [J]. 中国现代医生, 2009, 47(7): 93-94. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-9701. 2009. 07. 050.
- [21] 汪莉,殷东风. 中药改善大肠癌患者腹泻症状的临床分析 [J]. 中医药通报, 2008, 7(2): 54-56. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-2749. 2008. 02. 017.
- [22] 朱颖,殷东风. 运用调理脾胃中药提高晚期肿瘤患者生存质量的临床分析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(9): 685-687. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-3250. 2006. 09. 017.
- [23] 唐广义,殷东风. 肠积宁方促进大肠癌细胞株 HT-29 凋亡及干预相关基因 *bcl-2* 及 *bax* 表达的实验研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2007, 15(4): 491-493. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-4992. 2007. 04. 015.

[收稿日期] 2016-03-07

[修回日期] 2016-04-04

[本文编辑] 党瑞山