

网络出版时间: 2018-9-25 14:31 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180921.1451.013.html>

中药消水方对 Lewis 肺癌小鼠恶性胸腔积液生成及水通道蛋白 1 表达的影响

王 兵¹ 颜琳琳² 关江锋¹ 胡作为¹ 王 珊¹ 侯 炜³

摘要 目的 探讨中药消水方对肺癌小鼠恶性胸腔积液及水通道蛋白 1(AQP1) 表达的影响。方法 将 45 只 C57BL/6 小鼠随机分为中药组、模型组、空白组。除空白组小鼠胸腔内注射 PBS 缓冲液外,其余两组小鼠均采用带荧光标记的 Lewis 肺癌细胞胸腔注射建立动物模型。连续给药 10 d,并在第 3、8、13 天时进行活体成像观察,第 14 天处死取材,抽取胸腔积液测量体积,采用 Real-Time PCR、Western blot 法检测各组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达水平。结果

中药组小鼠胸腔荧光强度明显低于模型组($P < 0.05$),胸腔积液体积也明显小于模型组($P < 0.01$);模型组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达相比于空白组均显著升高($P < 0.01$);而中药组相比于模型组能显著降低壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论 肺癌恶性胸腔积液小鼠胸膜存在 AQP1 表达的上调,中药消水方可能通过下调壁层胸膜间皮细胞 AQP1 mRNA 及蛋白表达,从而促进

恶性胸腔积液的转运,减少恶性胸腔积液的生成。

关键词 肺癌;恶性胸腔积液;消水方;水通道蛋白 1;活体成像

中图分类号 R 259; R 561.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)11-1715-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.11.013

恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)是肺癌常见的并发症之一^[1]。可导致患者胸闷、气促、咳嗽、胸痛、呼吸困难,影响心肺功能,加快肿瘤扩散,严重时危及生命。据统计肺腺癌 MPE 患者的中位总生存期仅为 14.3~21.4 个月^[2]。临床上恶性肿瘤一旦合并胸腔积液,就意味着病变已局部或全身扩散,预后极差,是手术不能治愈的晚期疾病标志,此时治疗的主要目的是有效地控制胸腔积液,缓解临床症状,提高生活质量,延长生存期。中医药以其独特的优势,在 MPE 的治疗中逐渐发挥了重要作用。近年来许多学者进行了大量中医药治疗 MPE 的临床研究^[3-4],表明中医药在治疗 MPE 方面确实具有一定优势,但是有关作用机制研究却较少开展。

中药消水方是中国中医科学院广安门医院肿瘤科沿用多年的经验方,前期临床研究显示中药消水方口服联合顺铂胸腔灌注治疗 MPE 65 例,有效率

2018-06-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81241119)

作者单位:¹华中科技大学同济医学院附属中西医结合医院(武汉市第一医院)肿瘤科,武汉 430022

² 武汉科技大学附属汉阳医院肿瘤科,武汉 430050

³ 中国中医科学院广安门医院肿瘤科,北京 100053

作者简介:王 兵,男,硕士,医师;

侯 炜,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: houwei1964@sohu.com

gastric cancer drug-resistant cells. RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of GST and Bax in drug-resistant gastric cancer cells. The chemotherapeutic drug sensitivity was detected in gastric cancer cells by MTT susceptibility test. Western blot was used to detect the changes of P38, P38 phosphorylation, AKT and AKT phosphorylation level after ANXA2-siRNA transfection in SGC-7901/DDP gastric cancer drug-resistant cells. **Results** After transfection of SGC7901/DDP cells with ANXA2-siRNA, the expression level of GST was significantly decreased at both RNA level and protein level, while the expression level of Bax was upregulated. Compared with blank control group and blank-siRNA group, ANXA2-siRNA transfected SGC7901/DDP cells significantly decreased the IC_{50} value of chemotherapeutic drugs DDP and 5-FU, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with blank control group and blank-siRNA group, ANXA2-siRNA transfected SGC7901/DDP cells did not change significantly in MAPK signaling pathway, but P38 phosphorylation level decreased significantly. **Conclusion** ANXA2-siRNA transfected gastric cancer drug-resistant cells can down regulate the expression of drug resistance related genes, and reduce the drug resistance of gastric cancer cells. It may be achieved by influencing the phosphorylation of P38 and AKT in MAPK and PI3K/Akt signaling pathways.

Key words ANXA2; transfection; gastric cancer; drug-resistant cells; drug sensitivity; signal pathway

达 72.3% ,并能明显缓解临床症状 ,提高免疫功能 ,延长生存时间^[5-6]。水通道蛋白(aquaporin ,AQP)是近年来发现的在机体体液代谢中起着重要作用的跨膜转运蛋白^[7] ,到目前为止共发现 13 个亚型 ,AQP 0 ~ 12 存在于人体的多个组织器官^[8] ,研究^[9-10]显示 AQP1 在小鼠胸膜间皮细胞上广泛表达 ,且在 MPE 的产生中也发挥了重要作用。因此推测消水方可能通过影响 AQP1 表达从而发挥抑制 MPE 的作用 ,该研究通过建立小鼠肺癌 MPE 模型 ,采用消水方干预后检测胸膜 AQP1 表达 ,深入探讨中药抑制 MPE 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞株 SPF 级 6 ~ 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 , (20 ± 2) g ,由中国医学科学院医学实验动物研究所提供 ,许可证号: SCXK(京) 2004-0001。饲养于中国中医科学院广安门医院清洁级动物中心 ,许可证号: SYXK(京) 2005-0001。所有动物在进行实验前均环境适应性饲养 1 周以上。带有荧光标记的小鼠 Lewis 肺癌细胞株(C57BL/6 来源) 由美国国立癌症研究所惠赠。

1.2 药物 中药消水方组成: 葶苈子 30 g ,生黄芪 15 g ,刺五加 15 g ,醋莪术 10 g ,炒白术 15 g ,黄芩 10 g ,大枣 15 g ,全瓜蒌 15 g ,徐长卿 15 g ,半枝莲 30 g ,车前子 30 g ,茯苓 15 g 等。各药物均由中国中医科学院广安门医院中药房提供 ,并经该院药剂科王丽霞主任药师鉴定为正品。分别 5、2.5 倍水量煎煮 2 次 ,混合过滤 ,蒸发浓缩制成 1 g 生药/ml 药液于 4 ℃ 冰箱保存备用。

1.3 试剂 荧光素酶底物 D-Luciferin 购自冷泉港生物科技股份有限公司; 异氟烷购自河北九派制药有限公司; TRIzol Reagent、UltraPure Agarose、High Capacity RNA-to-cDNA Kit、TaqMan Gene Expression Master Mix、TaqMan Gene Expression Assays 均购自美国 Life Technologies 公司; 兔抗鼠 AQP1 抗体、 β -actin 内参抗体均购自美国 Abcam 公司; 山羊抗兔 IgG-HRP、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、PVDF 膜、BeyoECL Plus 均购自江苏碧云天生物技术有限公司。

1.4 主要仪器 IVIS Lumina II 小动物活体成像系统购自美国 Caliper 公司; NanoDrop 2000 超微量分光光度计购自美国 Thermo Scientific 公司; Progene PCR 扩增仪购自英国 Techne 公司; Applied Biosystems 7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI

公司; 水平电泳槽、垂直电泳槽、电转移槽、电泳仪、Bio-Rad ChemiDoc XRS 凝胶成像系统购自美国 Bio-Rad 公司; DYY-12 型电脑三恒多用电泳仪购自北京六一仪器厂; Synergy HT 型酶标仪购自美国 Biotek 公司; 3-30K 型高速冷冻离心机购自美国 Sigma 公司; TS100 型光学倒置显微镜购自日本 Nikon 公司; MCO-48AIC CO₂ 细胞培养箱购自日本 Sanyo 公司。

1.5 方法

1.5.1 小鼠肺癌胸腔积液模型建立及实验分组

小鼠肺癌胸腔积液模型参照文献^[11-12] 方法并加以改良: Lewis 肺癌细胞复苏后加入培养液置于 CO₂ 培养箱培养 ,收集处于对数生长期生长状态良好的细胞 ,加入 PBS 缓冲液调整细胞终浓度为 2.5×10^6 /ml。接种前用 75% 酒精消毒小鼠胸部右侧皮肤 ,用 1 ml 注射器吸取细胞悬液 ,轻轻摇动使细胞混匀 ,从小鼠右侧胸部靠近腋中线 ,约平第 6 肋间隙 ,针头向上与胸壁成 30° 夹角 ,注射入胸腔 ,接种量为 2.5×10^6 /ml 的细胞悬液 0.2 ml/鼠。空白组小鼠于同一位置胸腔内注射相同体积的 PBS 缓冲液。活体成像可见小鼠胸腔荧光随着时间推移逐渐增强 ,并且解剖发现小鼠右侧胸腔存在血性胸水及鱼肉色肿瘤结节即为造模成功。取 45 只 C57BL/6 小鼠 ,随机分为中药组、模型组、空白组 ,按照上述方法造模 ,建模第 3 天后按如下给药: 中药组: 以 33.5 g/(kg · d) 生药药液 ,调整至 0.2 ml 予小鼠灌胃 ,1 次/d; 模型组: 给予 0.2 ml 的生理盐水灌胃 ,1 次/d; 空白组: 给予 0.2 ml 的生理盐水灌胃 ,1 次/d。建模当天为第 1 天 ,3 d 后即第 4 天起开始给药 ,总共用药 10 d ,第 14 天处死取材。

1.5.2 活体成像动态观察胸腔荧光变化 三组各随机选取 5 只小鼠 ,分别于第 3、8、13 天时进行小鼠活体成像观察。实验时将荧光素酶底物置于室温融化 ,小鼠称重后 ,以 10 μ l 底物/1g 鼠浓度计算每只小鼠所需底物体积 ,然后将相应体积荧光素酶底物注入小鼠腹腔内 ,35 min 后置于小动物活体成像仪器内测量胸腔积液及胸壁荧光值。以肿瘤接种天数为横坐标 ,单位面积荧光值为纵坐标 ,绘制胸腔积液及移植瘤体内生长曲线。

1.5.3 取材并测定胸腔积液体积 给药观察期结束后 ,过量麻醉处死小鼠 ,仰卧位进行解剖 ,沿腹中线暴露腹腔 ,剥离肝脏 ,暴露横膈膜 ,观察有无胸水形成 ,沿胸骨中线剪开胸壁 ,以 1 ml 注射器抽取双侧胸腔积液并准确记录其体积。将整个胸壁剪下 ,固定于解剖板上 ,手术尖刀切割壁层胸膜 ,置于

-80 ℃ 冰箱保存用于后续检测。

1.5.4 RT-PCR 检测壁层胸膜 AQP1 mRNA 表达

取 100 mg 壁层胸膜组织, 采用 TRIzol 法, 通过匀浆、裂解、分离相、沉淀、洗涤、溶解等步骤提取胸膜中总 RNA, 使用超微量分光光度计测定 RNA 的浓度与纯度, 并进行琼脂糖凝胶电泳验证其完整性。配制逆转录反应体系, 按照实时荧光定量 PCR 仪操作手册进行转录成 cDNA, 然后进行实时荧光定量 PCR 扩增。检测基因采用 TapMan Gene Expression Assays 的预混基因, 包括待测基因 AQP1 (ID: Mm01326466_m1), 内参基因 GAPDH (ID: Mm99999915_g1)。将 cDNA、待测基因与 TapMan Gene Expression Master Mix 混匀, 转移至光学反应板上, 覆盖光学反应膜, 运行 PCR 反应程序, 导出相对定量数据。以相对表达量 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) 值表示目的基因 mRNA 表达。

1.5.5 Western blot 检测壁层胸膜 AQP1 蛋白表达

取壁层胸膜组织 100 mg, 加入 RIPA 裂解液, 提取总蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度并调整蛋白浓度一致, 取等量蛋白上样, 进行 SDS-PAGE 电泳, 湿转至 PVDF 膜上, 脱脂奶粉封闭 2 h, 加 AQP1 (β -actin 作为内参) 一抗 4 ℃ 孵育过夜, 洗涤, 二抗室温孵育 1 h, 洗涤, ECL 超敏化学发光法显色, 置于凝胶成像系统拍照, Quantity One 软件导出图片, 并对各组条带光密度值进行分析。相对光密度值 = 处理组目标蛋白光密度值 / 处理组内参蛋白光密度值。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行数据处理, 计量资料使用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 多组间两两比较采用 LSD (L) 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠不同时间胸腔荧光水平 空白组小鼠胸腔全程未见荧光出现, 中药组和模型组小鼠在第 3 天时行活体成像观察可见两组荧光强度基本一致, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 第 8 天成像时两组荧光强度开始表现出一定差异, 但也无统计学意义 ($P > 0.05$); 第 13 天成像时中药组荧光强度明显低于模型组荧光强度, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1、2。

2.2 各组小鼠胸腔积液量 各组小鼠在给药观察期内均未见死亡, 解剖发现空白组小鼠胸腔内壁光滑, 未发现胸腔积液及胸壁移植瘤, 如图 3A、3B 所示。而模型组和中药组小鼠胸腔均可见油腻性的血性胸腔积液, 胸壁上多发肿瘤结节, 小者呈颗粒样聚集, 大者呈团块状生长, 如图 3C、3D、3E、3F 所示。测量小鼠胸腔积液体积, 结果显示中药组明显小于模型组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 空白组无胸腔积液生成。见图 4。

2.3 各组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 表达水平

中药组和模型组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 表达水

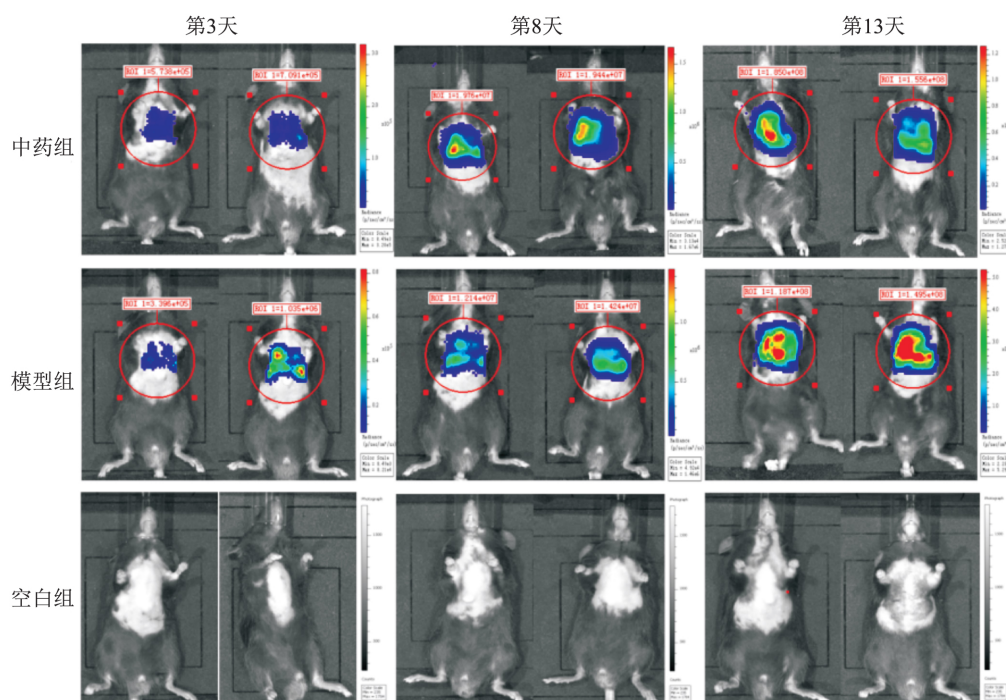


图 1 各组小鼠活体成像时胸腔荧光图

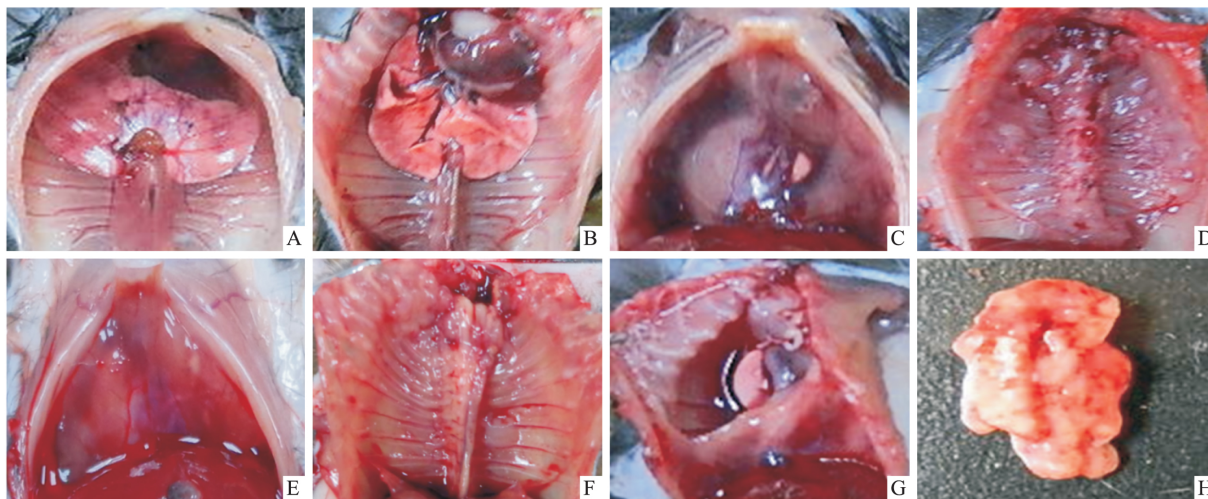


图3 各组小鼠胸腔解剖图

A、B: 空白组; C、D: 模型组; E、F: 中药组; G: 胸腔油腻性血性积液; H: 团块状肿瘤组织

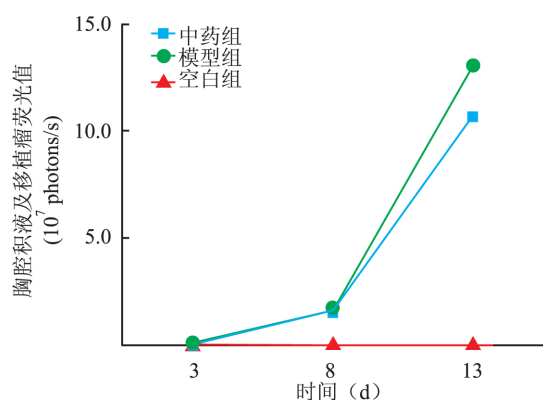


图2 各组小鼠胸腔荧光值变化折线图

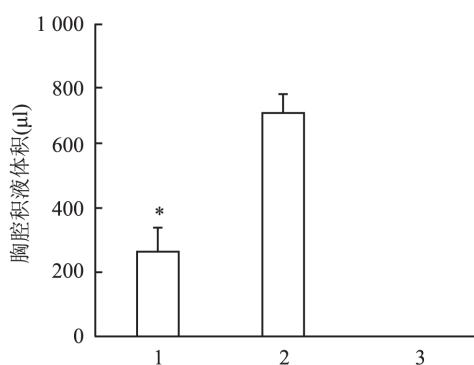


图4 各组小鼠胸腔积液体积

1: 中药组; 2: 模型组; 3: 空白组; 与模型组比较: * $P < 0.01$

平较空白组均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);而中药组相比于模型组小鼠能明显降低 AQP1 mRNA 表达水平,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图5。

2.4 各组小鼠壁层胸膜 AQP1 蛋白表达水平 模型组小鼠壁层胸膜 AQP1 蛋白表达水平显著高于空

白组小鼠,差异具有统计学意义($P < 0.01$);中药组与模型组相比,能显著下调壁层胸膜 AQP1 蛋白表达,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图6。

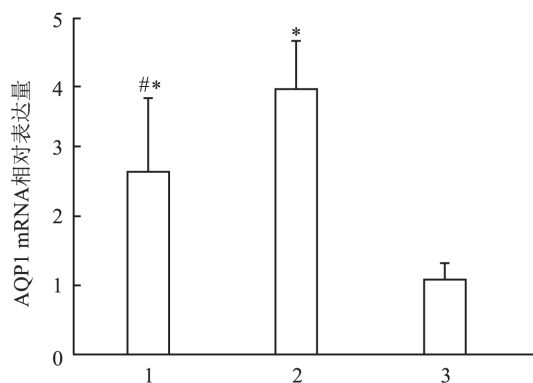


图5 各组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 表达情况

1: 中药组; 2: 模型组; 3: 空白组; 与空白组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$

3 讨论

传统观点认为 MPE 形成的主要机制为肿瘤转移至胸膜,刺激胸膜引起炎症反应,使脏壁层毛细血管通透性增高,大量液体渗出,或肿瘤组织阻塞淋巴管,而致淋巴液流体静压升高,影响淋巴液的回流^[13]。但随着现代分子生物学以及免疫学的迅猛发展,研究者发现胸膜自身以及胸膜腔局部肿瘤细胞、免疫细胞、微血管等相互作用形成的微环境在 MPE 的发生、发展中扮演了重要角色,主要机制包括 Ang1/2 (血管生成素 1/2)^[14]、IL-6/Stat3 通路^[15]、CXCR4/CXCL12 趋化轴^[16]、AQP_s^[10]、血管内

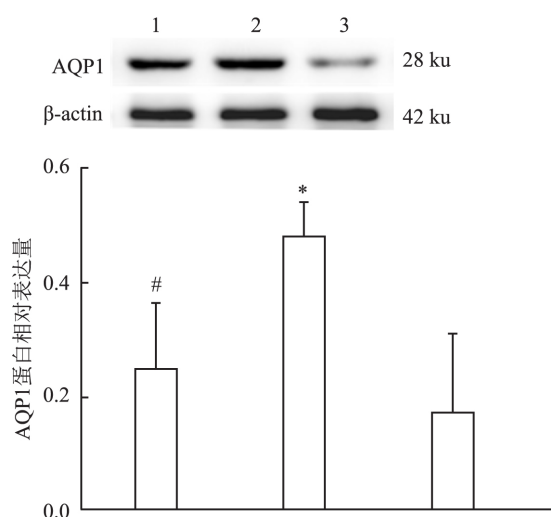


图6 各组小鼠壁层胸膜 AQP1 蛋白表达情况

1: 中药组; 2: 模型组; 3: 空白组; 与空白组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$

皮生长因子(VEGF)^[17]、Th17/Treg^[18-19] 细胞平衡等。

其中 AQP 家族中的 AQP1 是一类分子质量相对较低的膜内嵌蛋白,其所介导的自由水快速被动的跨生物膜转运是水进出细胞的主要途径。AQP1 表达在壁层和脏层胸膜表面,基本功能是维持胸腔中的液体流入与流出平衡,肿瘤微环境可能导致 AQP1 表达异常,影响毛细血管和间质的液体交换,引起胸腔渗透压改变,形成 MPE,并且 AQP1 表达量与肿瘤恶性程度呈正相关性。因此本研究通过建立肺癌胸腔积液小鼠模型,发现模型组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达相比于空白组小鼠均显著升高,这与文献^[9-10] 研究结果相符,证实肺癌 MPE 小鼠胸膜存在 AQP1 表达的失常。

MPE 的中医治疗手段比较丰富,主要有中药复方口服、中药注射剂静滴或胸腔灌注及中药外敷等,而中药口服最能体现中医特色,具有多层次、多靶标的特点,在治疗 MPE 中发挥着整体调节作用。如王珏等^[20] 发现泻肺逐饮汤可以降低 MPE 大鼠胸水和胸膜组织中转化生长因子-β1(TGF-β1)、AQP1、细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)、VEGF 等的含量,同时提高穿孔素(PFP)的表达,从而抑制 MPE 生成。吴君等^[21] 发现解氏肺癌二号方一方面可能通过降低小鼠血清 VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)含量,阻断肿瘤血管生成,并降低血管通透性,减少积液渗出;另一方面还可上调白介素-2(IL-2)和 γ 干扰素(IFN-γ)表达,提高其免疫活性,增强免疫功能,达到防治 MPE 作用。

中药消水方是一张临床治疗 MPE 的有效经验方,本方主要由生黄芪、白术、茯苓、葶苈子、大枣、车前子、刺五加、醋莪术、全瓜蒌、徐长卿、半枝莲、黄芩等组成,以扶正培本为主,同时兼顾治气、治水、治血、抗癌四个层面,具有益气健脾、泻肺利水、祛瘀抗癌功用,适用于正虚邪盛,水湿瘀结为患之 MPE。采用该方对肺癌小鼠 MPE 进行干预,结果显示消水方具有良好的抑制 MPE 生成的作用,相比于模型组(715 ± 61) μl,中药组 MPE 体积仅为(268 ± 79) μl,且中药组胸腔活体成像荧光强度明显低于模型组荧光强度,表明消水方不仅能够减少 MPE,同时还可能对 Lewis 肺癌细胞本身具有一定抑制作用。

研究^[22] 显示本方的主要利水组分葶苈大枣泻肺汤可显著降低肺癌 MPE 模型小鼠壁层胸膜间皮细胞 AQP1 及其 mRNA 表达水平,从而减少 MPE 形成。该研究在此基础上进一步探讨了消水方抑制 MPE 的分子机制,采用 RT-PCR 及 Western blot 检测了各组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 以及蛋白表达情况,结果显示中药组相比于模型组小鼠能明显降低壁层胸膜 AQP1 mRNA 表达,同时下调 AQP1 蛋白表达。表明中药消水方可能通过下调壁层胸膜间皮细胞 AQP1 表达,促进胸腔 MPE 的转运,抑制 MPE 的形成。

参考文献

- [1] Anderson C B, Philpott G W, Ferguson T B. The treatment of malignant pleural effusions[J]. Cancer, 2015, 33(4): 916-22.
- [2] Wu S G, Yu C J, Tsai M F, et al. Survival of lung adenocarcinoma patients with malignant pleural effusion[J]. Eur Respir J, 2013, 41(6): 1409-18.
- [3] 金志超,施展,花宝金. 中医药防治恶性胸腔积液的研究评述[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3339-41.
- [4] 李俊娇,葛信国. 中医药治疗肺癌恶性胸腔积液的研究进展[J]. 国际中医中药杂志, 2017, 39(9): 855-8.
- [5] 施展,路晓光,刘睿,等. 消水方联合顺铂治疗恶性胸腔积液的临床观察[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 1164-6.
- [6] Shi Z, He Q, Hua B. Clinical observation on the efficacy of Xi-aoshui decoction (消水方) combined with intrapleural perfusion of cisplatin in treating malignant pleural effusion[J]. Chin J Integr Med, 2008, 14(4): 257-61.
- [7] Agre P, Brown D, Nielsen S. Aquaporin water channels: unanswered questions and unresolved controversies[J]. Curr Opin Cell Biol, 1995, 7(4): 472-83.
- [8] Verkman A S, Mitra A K. Structure and function of aquaporin water channels[J]. Am J Physiol-Renal, 2000, 278(1): F13-28.
- [9] 廖槐,谢灿茂. 水通道蛋白 1 与胸腔积液发生机制的体内研究[J]. 中国呼吸与危重症监护杂志, 2009, 8(2): 151-5.

- [10] Zhang J X , Xie C M , Zhu Z W , et al. Potential role of AQP1 and VEGF in the development of malignant pleural effusion in mice [J]. *Med Oncol* , 2012 , 29(2) : 656 – 62.
- [11] Stathopoulos G T , Kalomenidis I. Animal models of malignant pleural effusion [J]. *Curr Opin Pulm Med* , 2009 , 15(4) : 343 – 52.
- [12] Agalioti T , Giannou A D , Krontira A C , et al. Mutant KRAS promotes malignant pleural effusion formation [J]. *Nat Commun* , 2017 , 8: 15205.
- [13] 张巍, 刘代顺. 恶性胸腔积液分子机制的研究进展 [J]. 现代医药卫生 2016 32(7): 1009 – 11.
- [14] Fang S C , Zhang H T , Hu H D , et al. Effect of endostar combined with angiopoietin-2 inhibitor on malignant pleural effusion in mice [J]. *Med Oncol* , 2015 , 1(32) : 1 – 7.
- [15] Yeh H H , Lai W W , Chen H H W , et al. Autocrine IL-6-induced Stat3 activation contributes to the pathogenesis of lung adenocarcinoma and malignant pleural effusion [J]. *Oncogene* , 2006 , 25 (31) : 4300 – 9.
- [16] Tsai M F , Chang T H , Wu S G , et al. EGFR-L858R mutant enhances lung adenocarcinoma cell invasive ability and promotes malignant pleural effusion formation through activation of the CX-CL12-CXCR4 pathway [J]. *Sci Rep-UK* , 2015 , 5: 13574.
- [17] Thickett D R , Armstrong L , Millar A B. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory and malignant pleural effusions [J]. *Thorax* , 1999 , 54(8) : 707 – 10.
- [18] 王兵. 中药消水方治疗恶性胸腔积液的临床观察及 Th17 细胞相关免疫机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院 2014.
- [19] 钱晓君, 赵磊, 陆友金, 等. CD4 + CD25 + CD127^{low} 调节性 T 细胞在结核性及恶性胸腔积液患者中的表达及意义 [J]. 安徽医科大学学报 2013 48(3): 279 – 83.
- [20] 王珏. 泻肺逐饮汤对恶性胸腔积液大鼠 TGF- β 1, AQP1, CTLA-4 和 PFP 的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2012.
- [21] 吴君. 解氏肺癌二号方对小鼠 Lewis 肺癌伴胸水作用的研究 [D]. 大连: 大连医科大学 2010.
- [22] 张靖轩, 张伟, 周华荣, 等. 葶苈大枣泻肺汤对肺癌小鼠水道蛋白 1 及恶性胸水的影响 [J]. 广州中医药大学学报 2013 , 30(4) : 525 – 8.

Effect of Xiaoshui formula on the formation of malignant pleural effusion and the expression of aquaporin 1 in lung cancer mice

Wang Bing¹ , Yan Linlin² , Guan Jiangfeng¹ , et al

[¹Dept of Oncology , Integrative Medicine Hospital Affiliated of Tongji Medical College Huazhong University of Science and Technology(Wuhan No. 1 Hospital) , Wuhan 430022; ²Dept of Oncology , Hanyang Hospital Affiliated of Wuhan University of Science and Technology , Wuhan 430050]

Abstract Objective To investigate the effect of Xiaoshui formula on the formation of malignant pleural effusion (MPE) and the expression of aquaporin 1(AQP1) in lung cancer mice. **Methods** 45 C57BL/6 mice were randomly divided into Chinese medicine group , model group and blank group. The blank group mice were injected intrathoracically with PBS buffer. The other two groups of mice were injected intrathoracically with fluorescent labeled Lewis lung carcinoma cells. During ten days of continuous administration , mice *in vivo* imaging were observed in third , eighth , thirteenth days. The pleural effusion was extracted and volume was measured when executed on the fourteenth day. Real-Time PCR and Western blot were used to detect the level of AQP1 mRNA and protein expression in the parietal pleura of mice. **Results** The fluorescence intensity of the thoracic cavity of the Chinese medicine group was significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$) , and the volume of pleural effusion was also significantly smaller than that of the model group ($P < 0.01$) . The expression of AQP1 mRNA and protein in model mice parietal pleura were significantly increased compared to the blank group (both $P < 0.01$) . Compared with the model group , the Chinese medicine group can significantly reduce the parietal pleural AQP1 mRNA and protein expression levels(both $P < 0.01$) . **Conclusion** There is an up-regulation of AQP1 expression in the pleura of lung cancer MPE mice , and the traditional Chinese medicine Xiaoshui formula may promote MPE transport and reduce MPE production by down-regulating the expression of AQP1 mRNA and protein in pleural mesothelial cells.

Key words lung cancer; malignant pleural effusion; Xiaoshui formula; aquaporin 1; vivo imaging