

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.29.003  
文章编号: 1005-8982 (2018) 29-0013-06

## Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠 *Per2* 基因 及 *SIRT1* 因子表达的影响

赵雪峰<sup>1</sup>, 范娟<sup>1</sup>, 杨玲麟<sup>1</sup>, 傅少志<sup>1</sup>, 陈琼英<sup>2</sup>

(1. 西南医科大学附属医院 肿瘤科, 四川 泸州 646099; 2. 四川省自贡市  
第三人民医院 放射科, 四川 自贡 643020)

**摘要: 目的** 探讨白蛋白结合型紫杉醇 (Abraxne) 对 Lewis 肺癌模型小鼠生物钟基因 *Per2*、沉默信息调节因子 1 (*SIRT1*) 表达的影响。**方法** 将 60 只 SPF 级 C57BL/6 雌性小鼠随机分为正常对照组、模型组、紫素组 [紫素 30 mg/(kg·d)]、Abraxne 组 [Abraxne 30 mg/(kg·d)], 每组 15 只。除正常对照组外, 其他各组小鼠于右腋部背侧皮下接种 Lewis 肺癌细胞 (LLC) 复制 Lewis 肺癌小鼠模型。于接种后第 5 天开始尾静脉注射给药, 连续用药 10 d, 观察各组小鼠体重、肿瘤体积及生物学行为变化。采用实时荧光定量聚合酶链反应和 Western blot 检测肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白的表达。**结果** 4 组小鼠接种 LLC 细胞前、接种后第 5 天、给药后第 5 和 10 天的体重变化比较, 结果显示: ①不同时间点的体重有差别 ( $F=17.703$ ,  $P=0.000$ ); ② 4 组小鼠体重有差别 ( $F=7.976$ ,  $P=0.000$ ); ③ 4 组小鼠体重变化趋势有差别 ( $F=21.641$ ,  $P=0.000$ )。模型组、紫素组、Abraxne 组小鼠给予 Abraxne 治疗后第 0、2、4、6、8 和 10 天的肿瘤体积比较, 结果显示: ①不同时间点的肿瘤体积有差别 ( $F=35.128$ ,  $P=0.000$ ); ② 3 组小鼠肿瘤体积有差别 ( $F=8.376$ ,  $P=0.000$ ); ③ 3 组小鼠肿瘤体积变化趋势有差别 ( $F=43.624$ ,  $P=0.000$ )。与模型组比较, 紫素组和 Abraxne 组小鼠肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白表达水平升高 ( $P<0.05$ ), 且 Abraxne 组小鼠肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白表达水平高于紫素组 ( $P<0.05$ )。**结论** Abraxne 较紫素更能抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长, 其机制可能与生物钟基因 *Per2*、*SIRT1* 的表达被强化有关。

**关键词:** 白蛋白结合; 紫杉醇; Lewis 肺癌; *Per2*; *SIRT1*

**中图分类号:** R734.2

**文献标识码:** A

## Influence of Abraxne on *Per2* and *SIRT1* gene expressions in mice with Lewis lung cancer

Xue-feng Zhao<sup>1</sup>, Juan Fan<sup>1</sup>, Ling-lin Yang<sup>1</sup>, Shao-zhi Fu<sup>1</sup>, Qiong-ying Chen<sup>2</sup>

(1. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646099, China; 2. Department of Radiology, the Third People's Hospital of Zigong, Zigong, Sichuan 643020, China)

**Abstract: Objective** To explore the influence of albumin-bound paclitaxel (Abraxne) on the expressions of circadian clock genes *Per2* and *SIRT1* in Lewis lung cancer model mice. **Methods** Sixty C57BL/6 female mice of SPF grade were randomly divided into a normal control group, a model group, a paclitaxel group [30 mg/(kg·d)] and an Abraxne group [30 mg/(kg·d)], with 15 rats in each group. Lewis lung cancer mouse model was established by subcutaneous injection of Lewis lung cancer cells (LLC) into the right axillary dorsal skin of all mice except the

收稿日期: 2018-07-25

[通信作者] 范娟, E-mail: 1457677634@qq.com

normal control group. From the 5th d after inoculation, intravenous drug injection was started through the tail vein for 10 days continuously. The changes of body weight, tumor volume and biological behavior of the mice in each group were observed. The expressions of *Per2* and *SIRT1* mRNAs and proteins in the tumor tissues were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** The changes of body weight were compared among the 4 groups before LLC inoculation, on the 5th d after inoculation, and 5 and 10 d after drug administration, the results showed that the body weight was different at different time points ( $F = 17.703, P = 0.000$ ), the body weight was different among the 4 groups ( $F = 7.976, P = 0.000$ ), the change trends of body weight were different among the 4 groups ( $F = 21.641, P = 0.000$ ). The tumor volume was compared among the model group, the paclitaxel group and the Abraxne group on the 0, 2nd, 4th, 6th, 8th and 10th d after Abraxne administration, the results showed that the tumor volume was different at different time points ( $F = 35.128, P = 0.000$ ), the tumor volume of the 3 groups was different ( $F = 8.376, P = 0.000$ ), the change trends of the tumor size were different among the 3 groups ( $F = 43.624, P = 0.000$ ). Compared with the model group, *Per2* and *SIRT1* mRNA and protein expressions in the paclitaxel group and the Abraxne group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), in which the *Per2* and *SIRT1* mRNA and protein expressions in the Abraxne group were significantly higher than those of the paclitaxel group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Abraxne can inhibit the growth of Lewis lung cancer in mice more significantly than paclitaxel. Its mechanism may be related to the enhanced expressions of circadian clock genes *Per2* and *SIRT1*.

**Keywords:** albumin-binding; paclitaxel; Lewis lung cancer; *Per2*; *SIRT1*

肺癌是发病率和死亡率均居首位的恶性肿瘤,大部分患者确诊时已为中、晚期,放化疗联合靶向药物治疗成为主要治疗手段<sup>[1-3]</sup>。*Periods* 基因是近日节律调节系统的核心基因,沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, *SIRT1*) 是联系昼夜节律和能量代谢的能量传感器<sup>[4-5]</sup>。白蛋白结合型紫杉醇 (albumin-bound paclitaxel, Abraxne) 能加快紫杉醇进入肿瘤细胞,避免合成溶剂可能造成的毒副作用<sup>[6]</sup>。本研究探究 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠生物钟基因 *Per2*、*SIRT1* 表达的影响,以期为临床治疗肺癌提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与试剂

**1.1.1 实验动物** 6 ~ 8 周龄清洁级 C57BL/6 雌性小鼠 60 只,体重 18 ~ 20 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

**1.1.2 主要试剂及材料** 小鼠 Lewis 肺癌细胞 (Lewis lung cancer cells, LLC) 由本实验室保存。Abraxne 注射用混悬液,规格:5 ml:100 mg/瓶,购自美国 Celgene 公司,紫素 (溶剂型紫杉醇注射液) 规格:5 ml:30 mg。购自北京协和药厂。Trizol RAN 提取试剂 (美国 Invitrogen 公司),RNA 逆转录试剂盒、SYBR Green 荧光定量检测试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,组织蛋白提取试剂 (南京凯基生物科技发展公司),兔抗鼠 *Per2* 一抗、兔抗鼠 *SIRT1* 一抗、碱性磷酸酶

标记山羊抗兔 IgG 溶液购自美国 Sigma 公司。

### 1.2 动物模型的复制

取本实验室冻存的 LLC 细胞进行复苏,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,在 37℃、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 孵箱中常规培养、传代,传代期间采用 MTT 法检测细胞活力,确认细胞活力正常且传代 3 次后即可使用。取对数生长期细胞用 0.25% 胰酶消化,制成单细胞悬液,1 000 r/min 离心 5 min,倒掉培养基,用生理盐水将细胞浓度稀释至  $5 \times 10^6$  个/L。在 C57BL/6 小鼠右腋下背侧皮下接种 0.2 ml LLC 细胞悬液 (约  $1 \times 10^6$  个细胞),接种后观察小鼠腋下变化,第 2 ~ 5 天皮下可触摸到肿瘤结节。若腋下肿瘤长势良好,在接种 5 d 后体积可  $>100 \text{ mm}^3$ ,则提示 Lewis 肺癌小鼠模型复制成功。

### 1.3 实验分组

将接种后的 45 只 Lewis 肺癌小鼠随机分为模型组、紫素组和 Abraxne 组,用剪耳法标记,各 15 只,其余 15 只小鼠不做任何处理作为正常对照组。接种后第 5 天开始给药,连续治疗 10 d。将瓶装 Abraxne 和紫素用生理盐水稀释为 3 g/L,配好的溶液应在 8 h 内使用。Abraxne 组从尾静脉缓慢注入 Abraxne 30 mg/(kg·d);紫素组从尾静脉缓慢注入紫素 30 mg/(kg·d);模型组尾静脉注入等量生理盐水。

### 1.4 小鼠生存状态观察

接种后第 5 天起,各组小鼠每天同一时间称重,观察小鼠活动、饮食状态和死亡情况,并做好记录。

### 1.5 肿瘤体积动态变化

接种后第 5 天起, 每天同一时间用游标卡尺(精确到 0.1 mm)测定肿瘤最长径(a)和最短径(b), 计算肿瘤体积(V):  $V=ab^2/2$ 。统计各组小鼠肿瘤平均体积, 绘制肿瘤生长曲线。

### 1.6 实时荧光定量聚合酶链反应

接种后第 15 天将小鼠断头处死, 完整剥离肿瘤结节组织于液氮中冻存。采用 Trizol 法提取各组小鼠肿瘤组织的总 RNA, 并通过逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA, 采用 SYBR 荧光定量检测试剂盒对肿瘤组织中的 Per2 和 SIRT1 mRNA 进行相对定量分析。引物序列由上海生工生物工程有限公司合成, 采用美国 ABI 公司的 7500 系统进行实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)。反应条件: 95℃预变性 10 min, 95℃变性 15 s, 72℃退火 15 s, 共 40 个循环。最终以  $\beta$ -actin 作为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5' -3')	长度 /bp
Per2	正向: CACCCTGAAAAGAAAGTGGC	188
	反向: CAACGCCAAGGAGCTCAAGT	
SIRT1	正向: GAACCTTTGCCTCATCTACATTTTG	213
	反向: CAAGTAAATAGTCTCAACGGTGGTT	
$\beta$ -actin	正向: CTACAATGAGCTG CGCGTGCC	176
	反向: CCTAGAAGCATTGCGGTGCAGGAT	

### 1.7 Western blot 检测

取每组小鼠肿瘤组织充分研磨, 用组织蛋白提取试剂常规提取蛋白。每组取 4  $\mu$ l 蛋白样品, 用 BCA 法进行蛋白定量, 调节好蛋白浓度。将蛋白样品与

等体积 2  $\times$  SDS 缓冲液混合后加热变性, 通过 SDS-PAGE 电泳分离上清液, 把分离的蛋白质转印到硝酸纤维素膜上。将膜洗涤后在 5% 牛血清蛋白溶液中室温封闭 1 h, 洗涤后将膜置于一抗稀释液(兔抗鼠 Per2 或 SIRT1 一抗溶液 1 : 100)中, 4℃孵育过夜。次日早晨将膜快速清洗后, 转移到二抗稀释液(碱磷酶标记山羊抗兔 IgG 溶液 1 : 1 000)中, 室温孵育 2 h, 清洗后用新配制的显色液进行显色, 待出现清晰的条带后终止反应, 最后使用 GIS-2020 数码图像分析系统扫描并分析蛋白杂交条带。

### 1.8 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 两两比较用 LSD-t 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠一般情况

模型组接种后第 10 天 1 只小鼠死亡。紫素组给药后第 6 天 1 只小鼠死亡, 给药后第 9 天 2 只小鼠死亡。Abraxne 组小鼠给药后无小鼠死亡。模型组、紫素组小鼠整体生长情况较差, 活动、进食状态不佳, 紫素组小鼠较模型组、Abraxne 组明显消瘦; Abraxne 组小鼠生长情况强于模型组、紫素组, 状态最佳。

### 2.2 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠体重的影响

正常对照组、模型组、紫素组、Abraxne 组小鼠在接种 LLC 细胞前、接种后第 5 天、给药后第 5 和 10 天的体重变化比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点体重有差别( $F=17.703, P=0.000$ ); ②4 组大鼠体重有差别( $F=7.976, P=0.000$ ); ③4 组大鼠体重变化趋势有差别( $F=21.641, P=0.000$ )。见表 2。

表 2 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠体重的影响 (g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	接种前	接种后第 5 d	给药后第 5 d	给药后第 10 d
正常对照组 ( $n=15$ )	18.62 $\pm$ 1.25	18.94 $\pm$ 1.38	19.10 $\pm$ 1.45	19.13 $\pm$ 1.27
模型组 ( $n=14$ )	18.53 $\pm$ 1.34	18.25 $\pm$ 1.42	18.02 $\pm$ 1.28 <sup>1)</sup>	17.75 $\pm$ 1.03 <sup>1)</sup>
紫素组 ( $n=12$ )	18.64 $\pm$ 1.29	18.31 $\pm$ 1.08	17.74 $\pm$ 0.96 <sup>1)</sup>	17.08 $\pm$ 0.68 <sup>1)2)</sup>
Abraxne 组 ( $n=15$ )	18.57 $\pm$ 1.17	18.28 $\pm$ 1.02	18.23 $\pm$ 0.98	18.19 $\pm$ 0.95 <sup>1)3)</sup>
F 值	0.021	1.043	3.389	9.688
P 值	0.996	0.382	0.025	0.000

注: 1) 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 3) 与紫素组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.3 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤体积的影响

模型组、紫素组、Abraxne 组 Lewis 肺癌小鼠给予 Abraxne 治疗后第 0、2、4、6、8 和 10 天的肿瘤体积比较,采用重复测量设计的方差分析,结

果:①不同时间点的肿瘤体积有差别 ( $F=35.128, P=0.000$ );②3组小鼠肿瘤体积有差别 ( $F=8.376, P=0.000$ );③3组小鼠肿瘤体积变化趋势有差别 ( $F=43.624, P=0.000$ )。见表 3 和图 1。

表 3 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤体积的影响 ( $\text{mm}^3, \bar{x} \pm s$ )

组别	第 0 d	第 2 d	第 4 d	第 6 d	第 8 d	第 10 d
模型组 ( $n=14$ )	103.12 ± 8.13	108.15 ± 9.12	120.26 ± 9.25	133.25 ± 10.15	143.76 ± 10.36	149.23 ± 11.39
紫素组 ( $n=12$ )	102.33 ± 8.22	106.26 ± 8.02	114.33 ± 9.27 <sup>1)</sup>	123.12 ± 9.25 <sup>1)</sup>	127.29 ± 9.17 <sup>1)</sup>	131.15 ± 9.38 <sup>1)</sup>
Abraxne 组 ( $n=15$ )	103.25 ± 7.12	105.43 ± 8.16	107.56 ± 8.29 <sup>1)2)</sup>	112.35 ± 9.05 <sup>1)2)</sup>	115.65 ± 8.92 <sup>1)2)</sup>	117.12 ± 9.35 <sup>1)2)</sup>

注:1)与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与紫素组比较,  $P < 0.05$ 。

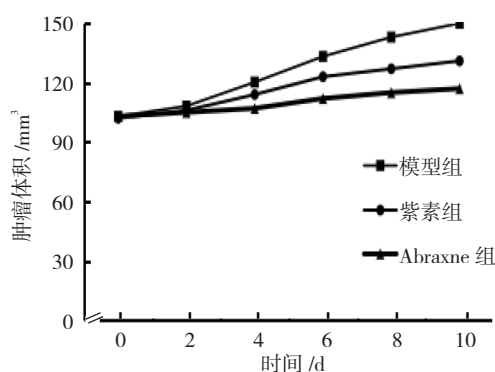
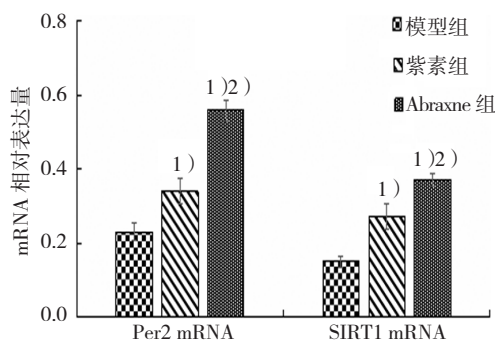


图 1 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤体积的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 2.4 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 mRNA 表达的影响

模型组、紫素组、Abraxne 组小鼠给药后肿瘤组织中 Per2 mRNA 相对表达量分别为 ( $0.20 \pm 0.02$ )、( $0.31 \pm 0.04$ ) 和 ( $0.42 \pm 0.16$ ),经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=17.475, P=0.000$ )。模型组、紫素组、Abraxne 组 SIRT1 mRNA 相对表达量分别为 ( $0.14 \pm 0.04$ )、( $0.23 \pm 0.05$ ) 和 ( $0.30 \pm 0.08$ ),经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $F=25.603, P=0.000$ )。见图 2。



1)与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与紫素组比较,  $P < 0.05$ 。

图 2 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 2.5 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 蛋白表达的影响

模型组、紫素组、Abraxne 组小鼠给药后肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 蛋白表达水平比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验,与模型组比较,紫素组、Abraxne 组小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ )。见表 4 和图 3。

表 4 Abraxne 对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Per2 蛋白	SIRT1 蛋白
模型组	0.126 ± 0.012	0.134 ± 0.015
紫素组	0.182 ± 0.017 <sup>1)</sup>	0.193 ± 0.018 <sup>1)</sup>
Abraxne 组	0.257 ± 0.024 <sup>1)2)</sup>	0.232 ± 0.021 <sup>1)2)</sup>
$F$ 值	181.732	105.299
$P$ 值	0.000	0.000

注:1)与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2)与紫素组比较,  $P < 0.05$ 。

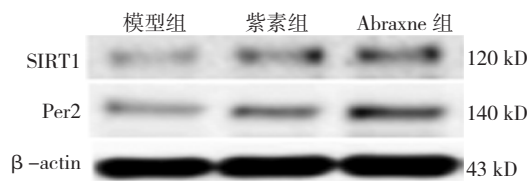


图 3 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 Per2 和 SIRT1 蛋白的表达

## 3 讨论

随着人口老龄化步伐加快和环境污染不断加剧,中国肺癌的发病率、死亡率高居不下。尽管肺癌的治疗手段不断进步,但是中、晚期肺癌的术后 5 年生存率仅为 20%。肺癌的发生是一个多基因调控的复杂过程,致癌基因激活、抑癌基因失活或缺失与肿瘤的形成

成关系密切<sup>[7-9]</sup>。因此, 深入挖掘肿瘤发生机制为肺癌患者的根治性治疗带来了希望。

紫杉醇是一种从红豆杉树皮中获得的广谱抗癌药物, 其作用机制为抑制微管解聚, 但其难溶于水, 其制药溶媒为聚氧乙烯蓖麻油和无水乙醇混合物, 然而该溶媒在体内降解生成的组胺可引起严重过敏反应, 限制了溶剂型紫杉醇, 如紫素, 在临床上的应用<sup>[10-11]</sup>。Abraxne 是把人血白蛋白和紫杉醇通过高压振动技术制成纳米微粒粉剂, 使用时加入生理盐水溶解成 120 ~ 150 nm 大小的纳米粒 Abraxne 混悬液, 即可静脉滴注。Abraxne 不含助溶剂, 可有效提高紫杉醇剂量, 且临床用药时不必预防过敏反应<sup>[12]</sup>。白蛋白是人体内自然存在的疏水性载体, 可与一些物质, 如脂肪酸、脂溶性维生素、性激素等, 通过可逆性共价方式结合<sup>[13-14]</sup>。白蛋白与内皮细胞膜受体 gp60 结合后, 可激活小窝蛋白-1。小窝蛋白-1 为膜表面糖基蛋白, 直接协助药物跨膜运输。白蛋白药物复合体依次经过血管内皮细胞、组织、组织间隙, 最终蓄积在肿瘤细胞内。此外, 肿瘤组织分泌的富含半胱氨酸酸性分泌蛋白, 其作用类似于白蛋白受体, 可特异吸附白蛋白, 因此白蛋白药物复合体可在肿瘤细胞周围聚集, 提高局部药物浓度, 增强抑瘤能力<sup>[15-17]</sup>。本研究通过 Lewis 肺癌模型小鼠实验发现, 紫素干预后小鼠整体生长情况较差, 活动、进食状态不佳, 较模型组、Abraxne 组明显消瘦, 肿瘤生长速度较模型组减缓, 但仍快于 Abraxne 组。同时通过对小鼠体重进行分析显示, 各组小鼠在接种 LLC 细胞前、接种后第 5 天、给药后第 5 和 10 天均随着时间变化而变化。给予 Abraxne 治疗后第 0、2、4、6、8 和 10 天各组小鼠肿瘤体积大小也随着时间变化而变化。说明紫素能够抑制肿瘤生长, 但易产生毒副作用。Abraxne 组小鼠给药后无死亡, 生长状况明显强于模型组和紫素组, Abraxne 干预后肿瘤生长明显受到抑制, 肿瘤生长速度明显小于模型组和紫素组, 说明 Abraxne 较紫素更能抑制肿瘤生长, 且不会产生毒副作用, 临床使用更加安全。

生物钟是机体自我产生、不受外界因素控制的时间节律性, 与衰老、代谢紊乱、肿瘤形成等现象息息相关。生物节律是生物钟的外在体现, 包括亚日节律、近日节律、超日节律等。生物体通过近日节律调控肿瘤相关基因表达, 生物钟基因异常表达可能会造成近日节律失调, 导致肿瘤形成的风险上升。生物钟基因主要包括 *Periods* (*Per1-3*)、*Crystals* (*Cry1-2*)、

*Bmal1*、*Clock*、*Ck1* 和 *Timeless*<sup>[18-19]</sup>。*Per2* 基因是近日节律系统的重要成员, 参与多个信号通路, 调节细胞周期及新陈代谢。研究发现, 乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌及肺癌组织中 *Per2* 蛋白普遍异常或缺失, *Per2* 基因在癌旁组织中的表达水平明显强于肿瘤组织<sup>[20-22]</sup>。淋巴瘤和白血病组织中 *Per2* 蛋白表达水平明显低于正常组织, 诱导 *Per2* 高度表达后, 肿瘤细胞呈现出细胞周期停滞、增殖能力降低、凋亡速度加快等情况, 这些结果暗示 *Per2* 在抑制肿瘤生长方面扮演重要角色。哺乳动物 *SIRT1* 基因是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性组蛋白 3 脱乙酰酶, 与酵母染色质沉默因子 2 最为同源, 具有调节生物体新陈代谢、控制寿命长短等功能。*SIRT1* 能通过去乙酰化与 *Per2* 发生作用, *SIRT1* 被激活后, 可使 *Per2* 去乙酰化, 去乙酰化的 *Per2* 可被磷酸化后降解, 如此周而复始<sup>[23-25]</sup>。研究发现, *SIRT1* 在肿瘤形成过程中兼具致癌和抑癌基因的功能, 其作用关键在于维持致癌和抑癌基因的平衡关系<sup>[26-27]</sup>。本研究中 qRT-PCR 和 Western blot 检测结果显示, 紫素组、Abraxne 组 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白表达水平较模型组升高; Abraxne 组 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白表达水平较紫素组更高, 推测紫杉醇抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长的作用机制可能与生物钟基因 *Per2*、*SIRT1* 表达被激活有关, 且 Abraxne 较紫素更能促进肿瘤组织中 *Per2* 和 *SIRT1* 蛋白的表达, Abraxne 在临床上治疗肺癌的效果可能会更好。本研究的不足之处在于未阐明 *Per2* 基因的具体抑癌机制, 在后续的研究中将对此进一步深入探究。

综上所述, 本研究通过右腋部背侧皮下接种 LLC 复制 Lewis 肺癌小鼠模型, Abraxne 干预后小鼠生长状况明显优于紫素组, 肿瘤生长明显受到抑制, 肿瘤组织中 *Per2*、*SIRT1* mRNA 和蛋白表达水平较模型组、紫素组升高, 说明 Abraxne 治疗肺癌的效果更好、更安全, 其作用机制可能与生物钟基因 *Per2*、*SIRT1* 表达被强化有关。然而, 肺癌发生、发展的相关因素很多, 相关机制复杂, 临床治疗肺癌的相关作用机制还需继续深入探究。

#### 参 考 文 献:

- [1] 何圆, 尤长宣. 非小细胞肺癌免疫治疗进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2016, 36(18): 277-281.

- [2] 刘志强, 何斐, 蔡琳. 吸烟、被动吸烟与肺癌发病风险的病例对照研究 [J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 19(2): 145-149.
- [3] TRAVIS W D, TRAVIS L B, DEVESA S S. Lung cancer[J]. *Cancer*, 2015, 75(S1): 191-202.
- [4] WANG R H, ZHAO T, CUI K, et al. Negative reciprocal regulation between Sirt1 and Per2 modulates the circadian clock and aging[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28633-28633.
- [5] PAZIENZA V, PIEPOLI A, PANZA A, et al. SIRT1 and the clock gene machinery in colorectal cancer[J]. *Cancer Investigation*, 2012, 30(2): 98-105.
- [6] 尹晓东, 姚婧, 李维廉. 白蛋白结合型紫杉醇的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(7): 1449-1452.
- [7] 宋勇, 杨雯. 2014 年晚期非小细胞肺癌内科治疗进展 [J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(1): 10-15.
- [8] 张欢, 周英, 李红梅, 等. 肺癌患者不同治疗阶段心理弹性与生存质量相关性分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(17): 1337-1340.
- [9] OU S I, AHN J S, DE P L, et al. Alectinib in crizotinib-refractory ALK-rearranged non-small-cell lung cancer: a phase II global study[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, 34(7): 661-668.
- [10] 张丹华, 周恩相. 紫杉醇注射液、紫杉醇脂质体以及多西他赛治疗乳腺癌的疗效及安全性 [J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(12): 1014-1016.
- [11] SOCINSKI M A, BONDARENKO I, KARASEVA N A, et al. Weekly nab-paclitaxel in combination with carboplatin versus solvent-based paclitaxel plus carboplatin as first-line therapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer: final results of a phase III trial[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2012, 30(17): 2055-2062.
- [12] 夏莹子, 凌扬. 白蛋白紫杉醇复治 IV 期非小细胞肺癌的临床疗效 [J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(22): 3559-3563.
- [13] 周如君, 刘保良. 人血白蛋白临床应用进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(2): 168-170.
- [14] SHIGEMATSU H, KADOYA T, MASUMOTO N, et al. The efficacy and safety of preoperative chemotherapy with triweekly Abraxane and cyclophosphamide followed by 5-Fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide therapy for resectable breast cancer: a multicenter clinical trial[J]. *Clinical Breast Cancer*, 2015, 15(2): 110-116.
- [15] AI D, GUAN Y, LIU X J, et al. Clinical comparative investigation of efficacy and toxicity of cisplatin plus gemcitabine or plus abraxane as first-line chemotherapy for stage III/IV non-small-cell lung cancer[J]. *Oncotargets Therapy*, 2016, 9: 5693-5698.
- [16] 邓昆, 陈永东, 蔡晔芬, 等. 白蛋白结合型紫杉醇治疗晚期乳腺癌的临床观察 [J]. 泰山医学院学报, 2016, 37(10): 65-66.
- [17] 赵珊珊, 张云鹤, 李静. 白蛋白结合型紫杉醇与溶剂型紫杉醇对乳腺癌疗效与安全性的 meta 分析 [J]. 临床药物治疗杂志, 2017, 15(6): 51-56.
- [18] ALLMAN M J, TEKI S, GRIFFITHS T D, et al. Properties of the internal clock: first- and second-order principles of subjective time[J]. *Annual Review of Psychology*, 2014, 65(65): 743-771.
- [19] 孙秀杰, 陈亚琼, 刘焜. 进食行为调控外周生物钟节律的研究进展 [J]. 生命科学, 2015, 27(11): 1386-1391.
- [20] ZHAO H, ZENG Z L, YANG J, et al. Prognostic relevance of period 1 (Per 1) and period 2 (Per 2) expression in human gastric cancer[J]. *International Journal of Clinical Experimental Pathology*, 2014, 7(2): 619-630.
- [21] 叶华, 杨凯, 谭雪梅, 等. 钟基因 Per2 和肿瘤相关钟控基因在金黄色鼠口腔颊黏膜癌变不同阶段的昼夜节律改变 [J]. 华西口腔医学杂志, 2015, 33(5): 513-518.
- [22] WANG Z, LI L I, YANG W. Effects of Per2 overexpression on growth inhibition and metastasis, and on MTA1, nm23-H1 and the autophagy-associated PI3K/PKB signaling pathway in nude mice xenograft models of ovarian cancer[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(6): 4561-4568.
- [23] 杨小姣, 覃慧林, 邹坤, 等. SIRT1 与 PI3K/Akt 通路在肿瘤发生发展中的串联作用 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 127-130.
- [24] 郑小妹, 林叶飞, 卢斋, 等. 卵巢浆液性癌组织中 P53、cyclinB1 及 SIRT1 的表达及与临床病理特征的关系 [J]. 肿瘤药理学, 2017, 7(1): 69-73.
- [25] JUNG-HYNES B, SCHMIT T L, REAGAN-SHAW S R, et al. Melatonin, a novel Sirt1 inhibitor, imparts antiproliferative effects against prostate cancer in vitro in culture and in vivo in TRAMP model[J]. *Journal of Pineal Research*, 2015, 50(2): 140-149.
- [26] 张敏, 杨晓, 徐笑红, 等. SIRT1 诱导慢性炎症致肺癌发生发展的研究进展 [J]. 中国肿瘤, 2016, 41(2): 41-51.
- [27] HERRANZ D, MUÑOZMARTIN M, CAÑAMERO M, et al. Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer[J]. *Nature Communications*, 2010, 1(1): 3.

(童颖丹 编辑)