

•基础研究•

•论著•

血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠放疗增敏作用及HDAC7/c-Myc通路调节作用研究

徐思嘉¹, 王娜², 李聪颖², 石钰²

(1.上海交通大学医学院附属瑞金医院皮肤科 上海 200025; 2.上海市皮肤病医院医学美容科 上海 200050)

[摘要]目的: 研究血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠放疗增敏作用及HDAC7/c-Myc通路的调节作用。方法: 采用腋下注射B16-F10细胞法建立黑素瘤小鼠模型, 并随机分为黑素瘤模型组、血府逐瘀汤低、中、高剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组, 10只/组。血府逐瘀汤低、中、高剂量组分别按照12.5、25、50 g/kg灌胃血府逐瘀汤, 1次/天, 放疗组按照3 Gy每只放射治疗2次后, 按照4 Gy每只放射治疗, 血府逐瘀汤联合放疗组同时进行放射治疗和血府逐瘀汤治疗, 连续干预6周, 采用酶联免疫吸附试剂盒测定小鼠血清血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)、IL-17、IL-6水平, 测定肿瘤体积、肿瘤抑制率、肿瘤微血管密度、肿瘤细胞凋亡率、肿瘤组织的HDAC7、c-myc mRNA和蛋白水平。结果: 与黑素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平、肿瘤体积、肿瘤微血管数、肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA及蛋白水平显著降低($P < 0.05$), 肿瘤抑制率、肿瘤细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 各项指标变化更显著; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平、肿瘤体积、肿瘤微血管数、肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA及蛋白水平显著降低($P < 0.05$), 肿瘤抑制率、肿瘤细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$)。结论: 血府逐瘀汤能够显著抑制黑素瘤小鼠肿瘤生长, 促进小鼠黑素瘤组织细胞凋亡, 抑制肿瘤微血管的生成, 调节黑素瘤小鼠炎症反应, 进而抑制小鼠黑素瘤病情进展, 同时, 血府逐瘀汤能够显著增强黑素瘤小鼠放疗效果, 提高黑素瘤放疗敏感性, 其机制可能与调节HDAC7/c-Myc通路有关。

[关键词] 血府逐瘀汤; 黑素瘤; HDAC7/c-Myc通路; 放疗; 肿瘤抑制

[中图分类号] R282 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455 (2025) 03-0001-06

Effect of Xuefu Zhuyu Decoction on Radiotherapy Sensitization and Regulation of HDAC7/c-Myc Pathway in Melanoma Mice

XU Sijia¹, WANG Na², LI Congying², SHI Yu²

(1. Department of Dermatology, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Medical Beauty, Shanghai Dermatology Hospital, Shanghai 200050, China)

Abstract: **Objective** To study the radiosensitization effect of Xuefu Zhuyu Decoction on melanoma mice and the regulation of HDAC7/c-Myc pathway. **Methods** The melanoma mouse model was established by armpit injection of B16-F10 cells, and divided into melanoma model group, Xuefu Zhuyu decoction low-dose, medium-dose and high-dose groups, radiotherapy group and Xuefu Zhuyu decoction combined radiotherapy group, 10 mice per group. The low, medium and high dose groups of Xuefu Chuyu Decoction were respectively given the dose of 12.5 g/kg, 25 g/kg and 50 g/kg by intragastric administration, once a day; the radiotherapy group was received radiotherapy at the dose of 3Gy for 2 times, and then was given radiotherapy at 4Gy. Xuefu Zhuyu Decoction combined radiotherapy group was treated with both radiotherapy and Xuefu Zhuyu Decoction, intervention for 6w. The serum levels of VEGF, IL-17 and IL-6 of the mice were measured by enzyme-linked immunosorbent kit, The tumor volume, tumor inhibition rate, tumor microvascular density, tumor cell apoptosis rate, HDAC7, c-myc mRNA and protein levels were measured. **Results** Compared with melanoma model group, serum VEGF, IL-17, IL-6 levels, tumor volume, tumor microvascular number, HDAC7, c-myc mRNA and protein levels of mice in Xuefu Zhuyu Decoction dose group, radiotherapy group and Xuefu Zhuyu Decoction combined radiotherapy group were significantly decreased ($P < 0.05$). Tumor inhibition rate and tumor cell apoptosis rate were significantly increased ($P < 0.05$), and with the increase of the dose

基金项目: 上海市卫生健康委科研项目(编号: 20214Y0337)

通信作者: 石钰, 副主任医师; 研究方向为皮肤性病学。E-mail: sy8811@163.com

第一作者: 徐思嘉, 主治医师; 研究方向为皮肤病与性病学。E-mail: xusijia1101@163.com

of Xuefu Zhuyu Decoction, the changes of all indexes were more significant. Compared with Xuefu Zhuyu decoction high-dose group and radiotherapy group, serum VEGF, IL-17, IL-6 levels, tumor volume, tumor microvascular number, HDAC7, c-myc mRNA and protein levels of tumor tissue in Xuefu Zhuyu Decoction combined radiotherapy group were significantly decreased ($P<0.05$). Tumor inhibition rate and tumor cell apoptosis rate were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** Xuefuzhuyu Decoction can significantly inhibit the tumor growth of melanoma mice, promote the apoptosis of melanoma tissue cells in mice, inhibit the formation of tumor microvessels, regulate the inflammatory response of melanoma mice, and then inhibit the progression of melanoma disease in mice. Meanwhile, Xuefuzhuyu Decoction can significantly enhance the radiotherapy effect of melanoma mice and improve the radiotherapy sensitivity of melanoma mice, and the mechanism may be related to the regulation of the HDAC7/c-Myc pathway.

Key words: Xuefu Zhuyu decoction; melanoma; HDAC7/c-Myc channel; radiotherapy; tumor inhibition

黑素瘤是临床中常见的皮肤恶性肿瘤,但由于前期临床特征并不明显,所以常常容易被忽略,随着疾病进展,瘤体可能表现为反复破溃,甚至出现骨转移、肝、肺等脏器转移,影响患者生存质量^[1-2],给患者及其家属带来巨大的经济负担和精神压力。近年来黑素瘤的发生率及死亡率在临床中表现出逐年升高趋势,放疗是黑素瘤临床常用的治疗方法,然而其存在有效率低、不良反应等缺点,且在临床治疗中常表现出敏感性降低,严重影响了患者的生存质量^[3],因此黑素瘤治疗药物的研发仍是当前的主要任务之一。HDAC7/c-myc通路是与细胞增殖、分化密切相关的信号通路,近年来研究发现HDAC7/c-myc通路在黑素瘤的发生发展密切相关^[4]。血府逐瘀汤是以中医理论为基础,由中药饮片制成的中药制剂,近年来研究发现其在肿瘤治疗,特别是黑素瘤的治疗中有较大潜力,然而,血府逐瘀汤对黑素瘤的作用及机制目前尚不清楚,所以本实验通过研究血府逐瘀汤对黑素瘤的药理作用及机制,为血府逐瘀汤的药理研究及黑素瘤的治疗药物研发奠定基础。

1 材料和方法

1.1 药品及试剂:血府逐瘀汤由桃仁(批号200908) 12 g,赤芍(批号201011)、枳壳(批号201210)、甘草(批号200926)各6 g,红花(批号190716)、当归(批号191019)、生地黄(批号210818)、牛膝(批号190523)各9 g,川芎(批号200913)、桔梗(批号210515)各4.5 g,柴胡(批号191017) 3 g组成,中药饮片购自北京同仁堂药业公司,药材饮片置于1 500 ml蒸馏水中浸泡1 h后煎煮40 min,过滤,将药材残渣再次置于1 000 ml蒸馏水中煎煮30 min,过滤,合并2次滤液,蒸发浓缩,制成生药含量为10 g/ml的制剂备用。蛋白测定试剂盒、化学发光液、TUNEL染色液购自北京索莱宝科技有限公司;PCR试剂盒购自沈阳万类生物科技有限公司;CD31兔抗体、DAPI染色液、山羊抗兔二抗、HDAC7、c-Myc、GAPDH兔抗体购自艾博抗贸易有限公司;免疫染色封闭液、磷酸盐缓冲液、抗荧光淬灭剂、VEGF、IL-17、IL-6 ELISA试剂盒购自碧云天生物科技有限公司;PCR引物设计及合成由赛默飞世尔科技公司完成。

1.2 设备与仪器:IX83荧光倒置显微镜购自日本奥林巴斯

公司;BioTek SynergyH1酶标仪购自安捷伦细胞分析事业部;150i细胞培养箱购自赛默飞世尔科技公司;Gel Doc EZ凝胶成像仪购自美国BIO-RAD公司;TC1000-G PCR扩增仪购自大龙兴创实验仪器股份公司。

1.3 实验动物及细胞:60只雄性C57BL/6小鼠6~8周龄,体重18~20 g,购自上海交通大学,实验动物许可证号SCXK(沪)2018-0007,动物房温度20℃~25℃,相对湿度40%~70%,明暗交替12 h。小鼠B16-F10黑素瘤细胞购自中科院上海细胞库。

1.4 方法

1.4.1 造模:B16-F10细胞解冻后置于37℃,5%CO₂培养箱中培养至对数增长期,调整细胞密度为 1×10^7 个/毫升,按照0.2毫升/只接种于小鼠右侧腋窝皮下,待小鼠荷瘤小鼠体积 $\geq 100\text{ mm}^3$ 视为造模成功^[5]。

1.4.2 给药:造模完成后,小鼠随机分为黑素瘤模型组、血府逐瘀汤低、中、高剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组,10只/组。血府逐瘀汤低、中、高剂量组分别按照12.5、25、50 g/kg^[6](以生药含量计)的剂量给予小鼠血府逐瘀汤灌胃,1次/天,放疗组按照3 Gy每只的剂量进行局部放射治疗,3天/次,放疗2次后,第3次按照4 Gy每只进行放射治疗^[7],血府逐瘀汤联合放疗组对小鼠进行局部放射治疗的同时,按照50 g/kg(以生药含量计)的剂量灌胃给予小鼠血府逐瘀汤,1次/天,连续干预6周,黑素瘤模型组灌胃给予生理盐水。末次给药24 h后进行后续实验。

1.5 观察指标

1.5.1 小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平的测定:断头法处死小鼠,取血至离心管,4℃静置30 min,4℃,6 000 r/min离心10 min,取上清液,使用试剂盒测定VEGF、IL-17、IL-6水平。

1.5.2 小鼠肿瘤体积及肿瘤抑制率的测定:小鼠断头法处死后分离肿瘤组织,测量肿瘤组织长度,记为L,宽度记为W,计算肿瘤体积及肿瘤抑制率。肿瘤体积= $L\times W^2\times 0.5$ 。

1.5.3 小鼠肿瘤微血管密度的测定:小鼠断头法处死后取肿瘤组织,石蜡包埋后制成4 μm切片,经脱蜡及抗原修复后,使用免疫染色封闭液封闭,使用CD31兔抗体4℃孵育过夜,使用磷酸缓冲液清洗3次后,使用山羊抗兔二抗室温避光孵育40 min,磷酸缓冲液再次清洗3次后,滴加DAPI室温

避光孵育5 min, 滴加抗荧光淬灭剂, 置于荧光显微镜下观察拍照, 进行微血管计数。

1.5.4 小鼠肿瘤细胞凋亡率的测定: 小鼠断头法处死后取肿瘤组织, 石蜡包埋后制成4 μ m切片, 使用TUNEL试剂盒染色后使用DAPI复染, 置于显微镜下观察拍照, 计算肿瘤组织细胞凋亡率。细胞凋亡率=TUNEL阳性细胞数/总细胞数 \times 100%。

1.5.5 小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA水平的测定: 小鼠断头法处死后取肿瘤组织, 使用试剂盒提取总RNA, 逆转录后, 使用PCR试剂盒测定HDAC7、c-myc mRNA水平, 引物序列见表1。反应体系为: 模版DNA 1 μ l, 正反向引物各0.8 μ l, PCR Master Mix 10 μ l, 使用蒸馏水补充至20 μ l; 反应程序为: 94 $^{\circ}$ C起始变性3 min, 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 55 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 共计30个循环, 72 $^{\circ}$ C最终延伸10 min, 结果以GAPDH为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法测定HDAC7、c-myc mRNA相对水平。

表1 引物序列

基因	正向引物 (5' -3')	反向引物 (5' -3')
HDAC7	GGCTCTTCCAGAACAGATTAG	GCTGAGGCCACATTAAGAA
c-myc	GGCTCCTGGCAAAAGGTCA	CTGCGTAGTTGTGCTGATGT
GAPDH	GATGTCCCCTGCAATTACCA	TCTGTGCAAGTGATTGAGG

1.5.6 小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白水平的测定: 小鼠断头法处死后取肿瘤组织, 组织裂解液充分裂解后, 8 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C离心10 min, 取上清, 使用蛋白含量测定试剂盒测定蛋白总含量, 取相当于40 μ g蛋白的上清液, 依次经电泳分离、转膜后, 使用脱脂牛奶室温封闭1 h, 分别使用GAPDH、HDAC7、c-myc兔抗体 (1:1 000稀释) 4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 使用含吐温的磷酸盐缓冲液清洗3次, 使用辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗 (1:2 000稀释) 室温孵育1 h, 再次清洗3次, 使用化学发光液在凝胶成像仪中拍照, 并以GAPDH为内参, 计算HDAC7、c-myc相对水平。

1.6 统计学分析: 所有数据使用SPSS 26.0软件处理分析, 计数资料采用卡方检验, 计量资料以平均值 \pm 标准差的形式表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6的影响: 结果表明, 与黑素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平显著降低 ($P<0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平逐渐降低; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平显著降低 ($P<0.05$)。见表2。

2.2 血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠肿瘤体积及肿瘤抑制率的

表2 各组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	VEGF/ (ng/L)	IL-17/ (ng/L)	IL-6/ (μ g/L)
黑素瘤模型组	210.97 \pm 4.85	197.19 \pm 3.95	14.72 \pm 1.51
血府逐瘀汤低剂量组	113.21 \pm 3.22*	103.46 \pm 2.91*	11.05 \pm 0.49*
血府逐瘀汤中剂量组	84.52 \pm 3.36**	71.05 \pm 3.11**	8.74 \pm 1.02**
血府逐瘀汤高剂量组	46.71 \pm 2.40***	53.92 \pm 1.53***	5.32 \pm 0.95***
放疗组	41.09 \pm 3.43*	59.03 \pm 2.64*	5.92 \pm 0.74*
血府逐瘀汤联合放疗组	23.45 \pm 2.62*** Δ	26.84 \pm 2.29*** Δ	1.04 \pm 0.24*** Δ
F值	1 842.316	2 040.977	90.281
P值	0.011	0.015	0.026

注: *表示与黑素瘤模型组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤低剂量组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤中剂量组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤高剂量组比较, $P<0.05$; Δ 表示与放疗组比较, $P<0.05$ 。

影响: 结果表明, 与黑素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组肿瘤体积显著降低 ($P<0.05$), 肿瘤抑制率显著升高 ($P<0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 肿瘤体积逐渐降低, 肿瘤抑制率逐渐升高; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组肿瘤体积显著降低 ($P<0.05$), 肿瘤抑制率显著升高 ($P<0.05$)。见表3。

表3 各组小鼠肿瘤体积及肿瘤抑制率比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	肿瘤体积/ mm^3	肿瘤抑制率/%
黑素瘤模型组	1067.19 \pm 33.76	0.00 \pm 0.00
血府逐瘀汤低剂量组	846.15 \pm 22.38*	22.34 \pm 2.61*
血府逐瘀汤中剂量组	635.82 \pm 14.29**	41.95 \pm 3.40**
血府逐瘀汤高剂量组	527.76 \pm 22.92***	53.84 \pm 2.72***
放疗组	443.31 \pm 8.18*	62.17 \pm 3.27*
血府逐瘀汤联合放疗组	272.37 \pm 7.70*** Δ	70.15 \pm 3.09*** Δ
F值	2 713.191	6 83.156
P值	0.014	0.022

注: *表示与黑素瘤模型组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤低剂量组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤中剂量组比较, $P<0.05$; *表示与血府逐瘀汤高剂量组比较, $P<0.05$; Δ 表示与放疗组比较, $P<0.05$ 。

2.3 血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠肿瘤微血管的影响: 结果表明, 与黑素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组微血管数显著降低 ($P<0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 微血管数逐渐降低; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组微血管数显著降低 ($P<0.05$)。见图1。

2.4 血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠肿瘤细胞凋亡率的影响: 结果表明, 与黑素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤细胞凋亡率显著升高 ($P<0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 小鼠肿瘤细胞凋亡率逐渐升高; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤细胞凋亡率显著升高 ($P<0.05$)。见图2。

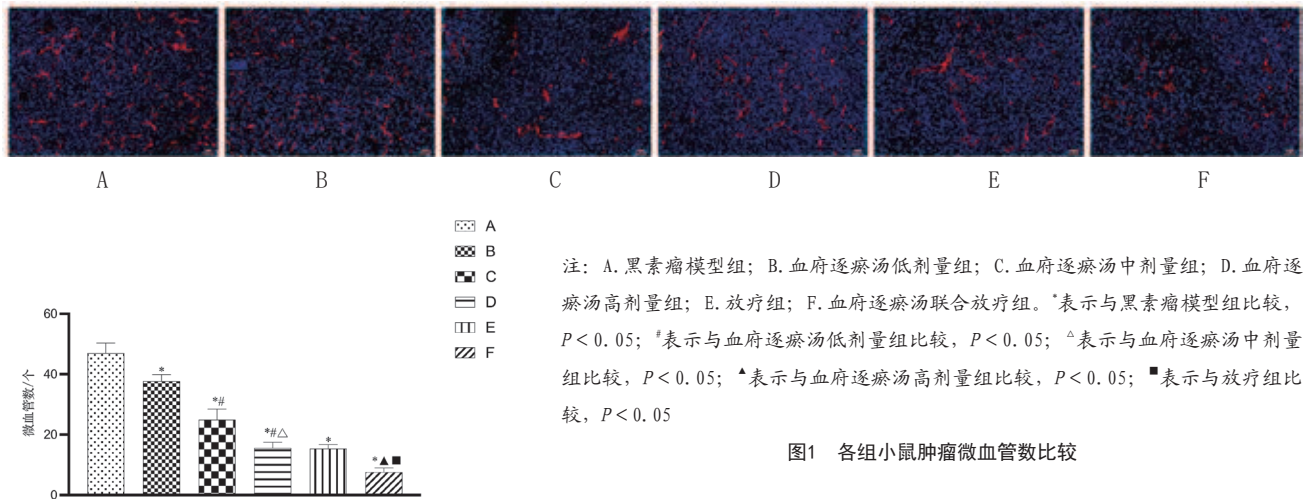


图1 各组小鼠肿瘤微血管数比较

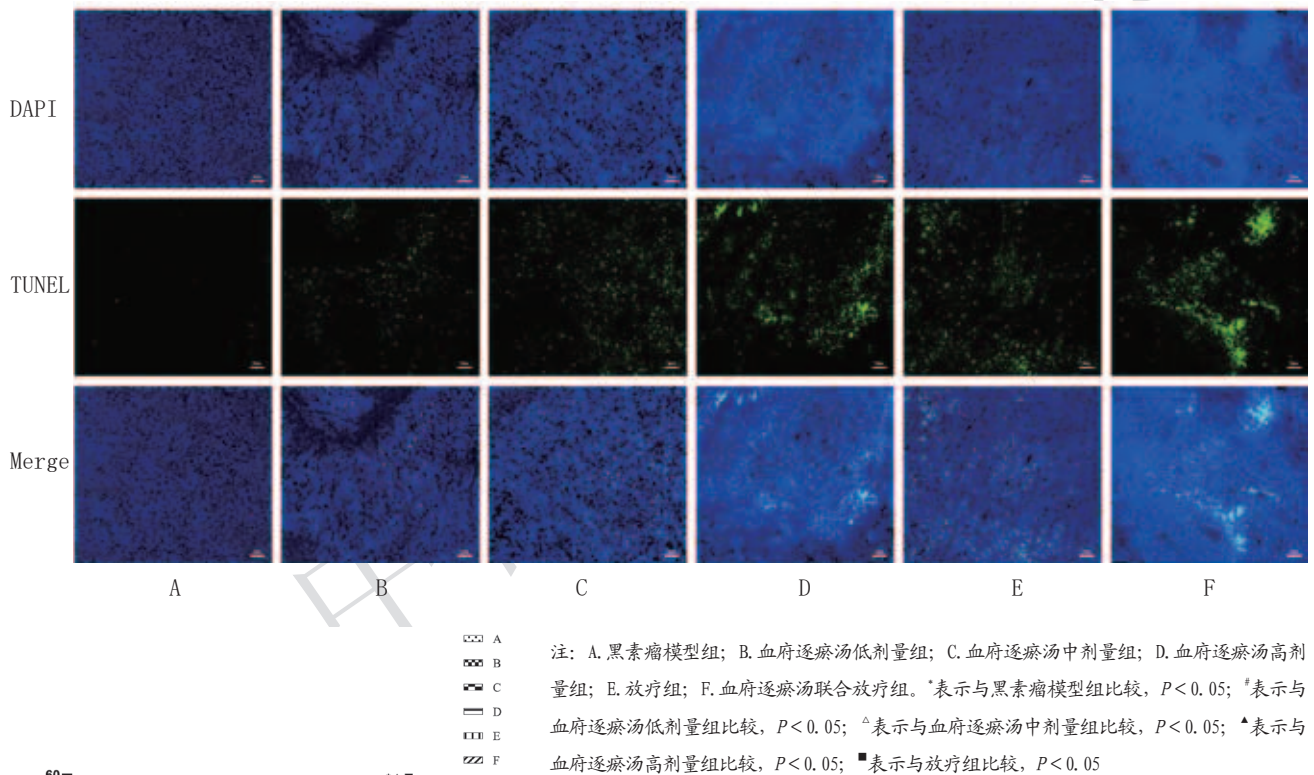


图2 各组小鼠肿瘤组织细胞凋亡率比较

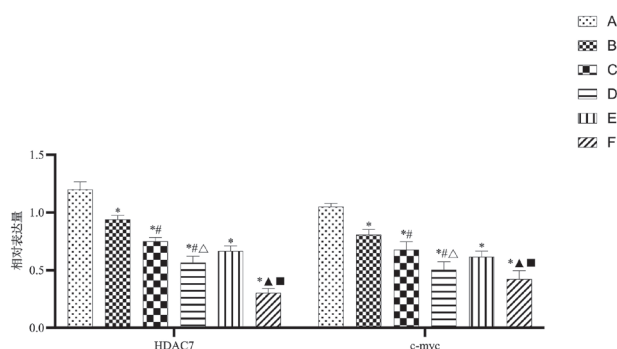
2.5 血府逐瘀汤对黑色素瘤小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA的影响: 结果表明, 与黑色素瘤模型组比较, 血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA水平显著降低 ($P < 0.05$), 且随着血府逐瘀汤剂量的增加, 小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA水平逐渐降低; 与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较, 血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA水平显著降低 ($P < 0.05$)。见表4。

表4 各组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	HDAC7	c-myc mRNA
黑色素瘤模型组	7.43 ± 0.37	5.26 ± 0.14
血府逐瘀汤低剂量组	5.22 ± 0.25*	3.16 ± 0.28*
血府逐瘀汤中剂量组	3.62 ± 0.17**	2.03 ± 0.19**
血府逐瘀汤高剂量组	1.72 ± 0.14***	0.75 ± 0.09***
放疗组	2.06 ± 0.23*	1.54 ± 0.07*
血府逐瘀汤联合放疗组	0.67 ± 0.11***^	0.17 ± 0.05***^
F值	103.143	117.192
P值	0.151	0.013

注: *表示与黑色素瘤模型组比较, $P < 0.05$; #表示与血府逐瘀汤低剂量组比较, $P < 0.05$; ^表示与血府逐瘀汤中剂量组比较, $P < 0.05$; ^表示与血府逐瘀汤高剂量组比较, $P < 0.05$; ^表示与放疗组比较, $P < 0.05$ 。

2.6 血府逐瘀汤对黑素瘤小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白的影响：结果表明，与黑素瘤模型组比较，血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白水平显著降低（ $P < 0.05$ ），且随着血府逐瘀汤剂量的增加，小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白水平逐渐降低；与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较，血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白水平显著降低（ $P < 0.05$ ）。见图3。



注：A. 黑素瘤模型组；B. 血府逐瘀汤低剂量组；C. 血府逐瘀汤中剂量组；D. 血府逐瘀汤高剂量组；E. 放疗组；F. 血府逐瘀汤联合放疗组。

*表示与黑素瘤模型组比较， $P < 0.05$ ；#表示与血府逐瘀汤低剂量组比较， $P < 0.05$ ；△表示与血府逐瘀汤中剂量组比较， $P < 0.05$ ；▲表示与血府逐瘀汤高剂量组比较， $P < 0.05$ ；■表示与放疗组比较， $P < 0.05$

图3 各组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc蛋白水平比较

3 讨论

黑素瘤作为临床常见的皮肤恶性肿瘤，其发病早期无明显临床特征，但以表面不规则扇形皮损为临床表现，同时随着病情进展，黑素瘤中期可表现为菜花状瘤体，甚至破溃出血，并向周围扩散，晚期黑素瘤患者则表现为瘤体反复破溃，迁延不愈，并伴随骨、肺、脑等多器官转移，严重影响患者生命质量，甚至危及患者生命^[8]。目前，黑素瘤的治疗主要采用外科手术、药物治疗及放射治疗等多种手段，然而，上述治疗手段均存在有效率低、患者预后差、不良反应多等缺点，所以黑素瘤治疗药物的研发仍是目前临床的主要工作重点。放射治疗是目前用于治疗黑素瘤的主要手段之一，但由于在治疗过程中肿瘤细胞敏感性降低，极易出现放疗抵抗，尤佳等^[9]研究表明，黑素瘤细胞内自噬相关蛋白及多种通路蛋白表达异常均会导致黑素瘤放疗抵抗的发生；霍雪松等^[10]临床研究证实，单纯放疗联合手术切除并不能降低头颈部黏膜恶性黑素瘤患者死亡风险及远处转移风险，所以在黑素瘤治疗过程中，加快放疗增敏药物的研发可能是提高黑素瘤治疗有效率的途径和方法。

血府逐瘀汤是以中医理论为基础，由桃仁、红花等中药材制成的制剂，具有活血化瘀、行血止痛之功效，用于治疗血瘀气滞之症。方中，桃仁味苦性平，起活血化瘀、消肿止痛之功，红花味辛性温，起散瘀止痛、活血消肿之功，两

者共为君药，赤芍消肿止痛、清热凉血，川芎活血行气、祛风止痛，牛膝利尿消肿、逐瘀通经，共为臣药，当归活血止痛，生地黄养阴生津、清热凉血，桔梗开宣肺气、枳壳理气宽中、柴胡疏散退热，疏肝解郁，共为佐药，桔梗并能载药上行，甘草调和诸药，两者共为使药，全方共奏活血化瘀、行气止痛之功效。现代研究表明^[11-12]，血府逐瘀汤对于宫颈癌、肺癌、肝癌均有显著的治疗作用，此外，血府逐瘀汤在肿瘤的常规治疗中起到提高疗效及降低不良反应发生率的作用，刘春秋等^[13]研究证实血府逐瘀汤能够有效降低肺癌患者放疗后不良反应的发生率，降低肺纤维化的发生风险；赵悦欣等^[14]临床研究证实血府逐瘀汤能够显著降低鼻咽癌患者放疗后口腔黏膜炎的发生风险；彭婷婷^[15]研究发现，血府逐瘀汤能够显著提高非小细胞肺癌患者常规化疗有效率并降低不良反应的发生。由此可见，血府逐瘀汤在肿瘤的常规放疗中起到减毒增效的作用。因此，本实验通过研究血府逐瘀汤对黑素瘤的治疗作用及机制，为黑素瘤临床治疗方案的开发及血府逐瘀汤的药理作用研究提供新的参考和依据。

VEGF、IL-17、IL-6在黑素瘤的发生及发展中起到重要作用，段文超等^[16]研究表明，血清VEGF、IL-17水平与黑素瘤患者肿瘤组织微血管密度密切相关，血清VEGF、IL-17水平升高会加重黑素瘤患者病情进展；张濛等^[17]研究证实，血清VEGF水平是影响黑素瘤患者疾病进展的重要危险因素，血清VEGF水平升高严重影响患者疾病预后及生存状态；房东亮等^[18]研究表明，血清IL-6水平升高会诱导黑素瘤小鼠的肿瘤生长；吴越等^[19]研究表明，血清IL-6水平影响黑素瘤小鼠体内免疫炎症反应，IL-6水平升高与肿瘤生长及肿瘤组织血管生成密切相关。由此可见，调节VEGF、IL-17、IL-6水平可能是抑制黑素瘤发生发展的有效途径和方法。本实验结果表明，与黑素瘤模型组比较，血府逐瘀汤各剂量组小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平显著降低，提示血府逐瘀汤能够呈剂量依赖性显著抑制黑素瘤小鼠血清VEGF、IL-17、IL-6水平，同时，与血府逐瘀汤高剂量组及放疗组比较，血府逐瘀汤联合放疗组VEGF、IL-17、IL-6水平显著降低，提示血府逐瘀汤能够显著调节小鼠体内免疫炎症反应状态，进而抑制黑素瘤的生长，诱导肿瘤细胞凋亡。

肿瘤微血管数是影响黑素瘤病情进展的重要影响因素，肿瘤微血管数的升高严重影响黑素瘤患者疾病进展及预后^[20]。王凤华等^[21]研究表明，肿瘤微血管数与黑素瘤患者肿瘤体积、肿瘤分期、黑素瘤转移侵袭强度密切相关；王悦中等^[22]临床研究证实，抑制黑素瘤患者肿瘤组织微血管密度能够显著提高化疗效果，改善黑素瘤患者生活质量，降低化疗过程不良反应率的发生。本实验结果表明，与黑素瘤模型组比较，血府逐瘀汤各剂量组小鼠肿瘤微血管数显著降低，且与血府逐瘀汤高剂量组及单独放疗组比较，血府逐瘀汤联合放疗组肿瘤微血管数显著降低，提示血府逐瘀汤联合放疗较单独放疗组，能够呈剂量依赖性显著抑制黑素瘤小鼠肿瘤微血管的生长，抑制肿瘤生长，进而提

高黑色素瘤组织细胞凋亡率,抑制黑色素瘤小鼠疾病进展。

HDAC7/c-myc通路是与细胞增殖、分化等生理活动密切相关的信号通路,近年来研究表明,HDAC7/c-myc通路与黑色素瘤的发生发展密切相关。张益萌等^[23]研究表明,HDAC7、c-myc水平的升高与黑色素瘤C918细胞增殖活力及周期调节密切相关,而抑制HDAC7、c-myc蛋白水平能够显著抑制C918细胞增殖;Xu J等^[24]研究表明c-myc水平与黑色素瘤的增殖、迁移和侵袭密切相关;Mou K等^[25]研究表明,抑制c-myc水平能够显著抑制黑色素瘤细胞增殖和迁移。由此可见,调节HDAC7/c-myc通路相关蛋白水平可能是治疗黑色素瘤的有效途径和方法。本研究结果表明,与黑色素瘤模型组比较,血府逐瘀汤各剂量组、放疗组及血府逐瘀汤联合放疗组小鼠肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA及蛋白水平显著降低,且与单独放疗组比较,血府逐瘀汤联合放疗组肿瘤组织HDAC7、c-myc mRNA及蛋白水平降低更明显,提示血府逐瘀汤能够呈剂量依赖性的显著抑制黑色素瘤小鼠HDAC7/c-myc通路,同时,血府逐瘀汤能够显著增强放疗对HDAC7/c-myc通路的抑制作用,进而显著诱导黑色素瘤细胞凋亡,抑制黑色素瘤的进一步增长。由此可见,血府逐瘀汤能够呈剂量依赖性的显著抑制黑色素瘤的进展,促进黑色素瘤细胞凋亡,抑制黑色素瘤细胞的凋亡、侵袭和转移能力,进而能够发挥对黑色素瘤的治疗作用。同时,与单纯放疗相比,血府逐瘀汤能够显著增强放疗的临床效果,进而显著抑制黑色素瘤的疾病进展,由此可见,血府逐瘀汤在抑制黑色素瘤细胞增殖及侵袭的同时,能够显著增强放疗效果,增强放疗敏感性。

综上所述,血府逐瘀汤能够显著抑制黑色素瘤小鼠肿瘤生长,促进小鼠黑色素瘤组织细胞凋亡,抑制肿瘤微血管的生成,调节黑色素瘤小鼠炎症反应,进而抑制小鼠黑色素瘤病情进展,其机制可能与调节HDAC7/c-Myc通路有关。

[参考文献]

- [1]地里夏提·库尔班,陈召. Notch1调控PI3K/AKT信号通路促进黑色素瘤细胞发展的研究[J].中国美容医学,2019,28(1):93-96.
- [2]罗燕群. 慢Mohs显微描记手术在皮肤恶性肿瘤中的应用进展[J].中国美容医学,2019,28(8):169-173.
- [3]秦琴,宁花兰,陈小燕,等.miR-let-7b通过调控相关细胞周期蛋白影响皮肤黑色素瘤的增殖和凋亡[J].中国美容医学,2018,27(7):79-82.
- [4]Zhang Y, Ding P, Wang Y, et al. HDAC7/c-Myc signaling pathway promotes the proliferation and metastasis of choroidal melanoma cells[J]. Cell Death Dis, 2023,14(1):38.
- [5]祝保艳,李婧婧,李丹丹,等.卡博替尼联合PD-L1单抗对黑色素瘤小鼠移植瘤的抑制作用机制[J].中山大学学报(医学科学版),2019,40(2):172-178.
- [6]王理槐,张红,孙银辉,等.血府逐瘀汤基于Wnt信号通路对非小细胞肺癌细胞生长的抑制作用[J].中医临床研究,2022,14(1):58-60.
- [7]于芷晗,徐志强,赵雪峰. 咪喹莫特抑制小鼠体表黑色素瘤生长和促使肿瘤特异性放疗增敏的实验研究[J].大连医科大学学报,2015,37(2):119-123.
- [8]Tímár J, Ladányi A. Molecular pathology of skin melanoma: epidemiology, differential diagnostics, prognosis and therapy prediction[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(10):5384.
- [9]尤佳,孟冰瑶,梁泉婷,等.黑色素瘤中SIRT7和自噬相关蛋白的表达相关性及其对放疗抵抗的影响[J].临床与实验病理学杂志,2022,38(12):1462-1468.
- [10]翟雪松,温树信,赵晓娟,等.手术加辅助放疗与单纯手术两种治疗策略对头颈部黏膜恶性黑色素瘤预后影响的Meta分析[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2020,26(5):547-553.
- [11]杨成林,冯伟峰,朱诗平,等.血府逐瘀汤加味联合依托泊苷和顺铂化疗方案治疗晚期肺癌的临床疗效及对血流指标的影响[J].癌症进展,2020,18(17):1786-1789.
- [12]左春兰,刘娜婷,蔡晓婷,等.基于网络药理学探讨血府逐瘀汤中川芎-赤芍药对调节血管新生的分子机制[J].中国现代医生,2022,60(6):33-37,42.
- [13]刘春秋,李国欢,王志武,等.血府逐瘀汤加减预防放射性肺纤维化的临床研究[J].现代中西医结合杂志,2016,25(21):2349-2350.
- [14]赵悦欣,鹿红,刘婕,等.血府逐瘀汤防治鼻咽癌患者急性放射性口腔黏膜炎的临床疗效观察[J].中医药信息,2023,40(2):70-74.
- [15]彭婷婷.血府逐瘀汤加减联合同步放化疗治疗局部晚期非小细胞肺癌的临床研究[J].养生保健指南,2020,19(42):246.
- [16]段文超,马禹昕,王亚玲,等.皮肤恶性黑色素瘤血清IL-17、VEGF表达及与MVD的相关性研究[J].国际医药卫生导报,2021,27(4):494-496.
- [17]张濛,李莎,常艳丽,等.血管内皮生长因子在黑色素瘤疗效监测和预后判断中的价值[J].检验医学,2022,37(9):821-825.
- [18]房东亮,马跃美,赵秀兰,等.慢性炎症对小鼠黑色素瘤血管生成的影响[J].天津医药,2013,41(3):230-233.
- [19]吴越,方越,韩淳致,等.hVEGF-GnRH3疫苗降低C57BL/6小鼠B16F10黑色素瘤血管生成及增强炎症免疫调节作用[J].药物生物技术,2022,29(2):132-140.
- [20]Brouwer N J, Gezin G, Wierenga A P A, et al. Tumour angiogenesis in uveal melanoma is related to genetic evolution[J]. Cancers (Basel), 2019,11(7):979.
- [21]王凤华,李彬,李辽青,等.脉络膜黑色素瘤微血管密度与其临床组织病理学预后指标关系的探讨[J].眼科研究,2004,22(1):17-20.
- [22]王悦申,张明影.贝伐珠单抗辅助治疗晚期黑色素瘤的疗效分析[J].中国卫生标准管理,2021,12(15):101-104.
- [23]张益萌,杨瀚毅,宁佳怡,等.HDAC抑制剂对脉络膜黑色素瘤细胞系C918细胞增殖的影响及相关机制[J].国际眼科杂志,2023,23(2):193-197.
- [24]Xu J, Shi P, Xia F, et al. RAI14 promotes melanoma progression by regulating the FBXO32/c-MYC pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(19):12036.
- [25]Mou K, Zhang J, Mu X, et al. Zwint facilitates melanoma progression by promoting c-Myc expression[J]. Exp Ther Med, 2021,22(2):818.

[收稿日期]2023-09-01

本文引用格式:徐思嘉,王娜,李聪颖,等.血府逐瘀汤对黑色素瘤小鼠放疗增敏作用及HDAC7/c-Myc通路调节作用研究[J].中国美容医学,2025,34(3):1-6.