

文章编号:1000-5404(2014)14-1467-05

论著

GPR30介导雌激素对三阴性乳腺癌MDA-MB-468细胞系增殖的影响

余腾骅¹, 罗浩军², 严玉钊¹, 吴诚义¹, 柳满然³, 涂刚¹ (400016 重庆, 重庆医科大学: 附属第一医院内分泌乳腺外科¹, 临床检验诊断学教育部重点实验室³; 400010 重庆, 重庆医科大学附属第二医院乳腺甲状腺外科²)

[摘要] 目的 探讨雌激素受体 GPR30(或称 G 蛋白偶联雌激素受体 G protein-coupled estrogen receptor, GPER)介导雌激素对三阴性乳腺癌细胞系 MDA-MB-468 增殖的影响。方法 免疫荧光法及 Western blot 法检测 MDA-MB-468 细胞中受体 GPR30 的定位及表达量, 流式细胞术及 CCK-8 法检测药物处理后的细胞周期和细胞生长变化, Western blot 法检测磷酸化细胞外信号调节激酶(phospho-extracellular regulate kinase, p-ERK)以及周期蛋白 CyclinD1 的蛋白表达。结果 雌激素受体 GPR30 在 MDA-MB-468 细胞中高表达, 且主要表达于细胞质。17- β 雌二醇(E_2)、GPR30 特异性激动剂(G1)与他莫昔芬(TAM)处理细胞后, 均显著促进细胞周期进展和细胞增殖。其中处于 DNA 合成期(S 期)的 DNA 量分别为空白对照组的(2.81 \pm 0.11)、(2.82 \pm 0.21)、(2.70 \pm 0.20)倍, 相对细胞数分别为空白对照组的(1.83 \pm 0.18)、(1.94 \pm 0.12)、(1.92 \pm 0.16)倍, 其促生长效应被 GPR30 特异性拮抗剂(G15)显著抑制($P < 0.05$)。E₂、G1 及 TAM 处理组中 p-ERK 及 CyclinD1 的蛋白相对表达量分别是空白对照组的(2.59 \pm 0.21)、(2.43 \pm 0.25)、(2.26 \pm 0.34)倍以及(1.67 \pm 0.06)、(1.51 \pm 0.08)、(1.90 \pm 0.07)倍, G15 可抑制 E₂、G1 及 TAM 所引发的相应变化($P < 0.05$)。结论 雌激素活化 GPR30 刺激下游 ERK 信号通路上调 p-ERK 及周期蛋白 CyclinD1 的表达, 促进细胞周期的进展, 导致三阴性乳腺癌细胞系 MDA-MB-468 异常增殖。

[关键词] GPR30; 雌激素; 三阴性乳腺癌; 细胞增殖

[中图分类号] R730.23; R737.9; R977.12

[文献标志码] A

Effects of estrogen on GPR30-mediated proliferation in triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-468

Yu Tenghua¹, Luo Haojun², Yan Yuzhao¹, Wu Chengyi¹, Liu Manran³, Tu Gang¹ (¹Department of Endocrine and Breast Surgery, First Affiliated Hospital, ³College of Laboratory Medical Diagnosis, Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnosis of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; ²Department of Breast and Thyroid Surgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of estrogen on the proliferation of triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-468 mediated by G protein-coupled estrogen receptor GPR30. **Methods** Fluorescence immunoassay and Western blotting were performed to examine the localization and expression of GPR30 in MDA-MB-468 cells. Cell cycle and cell proliferation were tested by flow cytometry and CCK-8 assay. The expression of phospho-extracellular regulate kinase (p-ERK) and Cyclin D1 was detected by Western blotting. **Results** GPR30 was detected with high expression level in the MDA-MB-468 cells and located mostly in the cytoplasm. After treatment with 17- β -estradiol (E_2), GPR30 specific agonist (G1) and tamoxifen (TAM), the progression of cell cycle and cell proliferation was increased remarkably. The DNA contents in DNA synthesis (S) phase were 2.81 \pm 0.11, 2.82 \pm 0.21, and 2.70 \pm 0.20 times higher and the relative cell numbers were 1.83 \pm 0.18, 1.94 \pm 0.12, and 1.92 \pm 0.16 times higher than those of the control group, respectively. The above effects induced by E_2 , G1 and TAM could be blocked by GPR30 specific antagonist G15 ($P < 0.05$). The relative protein level of p-ERK in the E_2 , G1 and TAM treatment groups was 2.59 \pm 0.21, 2.43 \pm 0.25, and 2.26 \pm 0.34 times higher and that of cyclin D1 was 1.67 \pm 0.06, 1.51 \pm 0.08, 1.90 \pm 0.07 times higher than those of the control group, respectively ($P < 0.05$). Interestingly, the changes induced by E_2 , G1 and TAM were inhibited by G15 ($P < 0.05$). **Conclusion** Estrogen triggers downstream ERK signaling by

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81372398)

[通信作者] 涂刚, 电话: (023)89011122, E-mail: tugang68@126.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1051.013.html>(2014-01-26)

activating GPR30 to up-regulate the expression of p-ERK and cyclin D1, which accelerates MDA-MB-468 cell cycle progression, leading to abnormal cell proliferation.

[Key words] GPR30; estrogen; triple-negative breast cancer; cell proliferation

Supported by the General Program of National Nature Science Foundation of China (81372398). Corresponding author: Tu Gang, Tel: 86-23-89011122, Email: tugang68@126.com

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其中三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)占总数的15%~20%^[1],这种特殊类型的乳腺癌缺乏内分泌治疗及Her-2靶向治疗的指征,复发及转移率高,预后差,病死率约是雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性患者的2倍^[2]。目前国内外研究主要集中于化疗辅助各种靶向治疗,如抗血管内皮生长因子受体(VEGFR)^[3]、抗表皮生长因子受体(EGFR)^[4]、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)抑制剂^[5]等,在内分泌受体方面则少有研究。新型雌激素受体GPR30与传统的核雌激素受体(nuclear estrogen receptors, nERs)作用方式不同,它能介导由多种激动剂(包括雌二醇、雌激素受体拮抗剂他莫昔芬以及他莫昔芬的代谢物4-OHT等)引起的快速非基因组信号(non-genomic signaling)以及基因组信号(genomic signaling),在多种激素相关性肿瘤中已得到证实^[6-9]。然而,这种特殊的雌激素受体在三阴性乳腺癌中的作用仍然不明确。本研究利用17- β 雌二醇(E₂)、GPR30特异性激动剂(G1)^[10]及特异性拮抗剂G15^[11]等小分子化合物探讨ER(-)/PR(-)/Her-2(-)而GPR30(+)的三阴性乳腺癌MDA-MB-468细胞系中GPR30对细胞增殖作用的影响及分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

MDA-MB-468、MDA-MB-231、MCF-7细胞系均购自中国科学院上海细胞库,无酚红高糖DMEM培养基(HyClone公司),南美胎牛血清(Gibco公司),GPR30特异性激动剂G1及特异性拮抗剂G15、17- β 雌二醇(E₂)、他莫昔芬TAM(Sigma公司),FITC标记山羊抗兔IgG抗体(上海奇康科技有限公司),CCK-8试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天公司),GPR30抗体(Abcam公司),p-ERK抗体及ERK抗体、山羊抗兔IgG抗体、山羊抗鼠IgG抗体(Bioworld Technology, Inc.),CyclinD1抗体(CST公司), β -actin抗体(中杉金桥公司)。二氧化碳培养箱(Thermo scientific),多功能酶标仪(Sunrise),倒置荧光显微镜(Nikon)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 MDA-MB-468、MDA-MB-231、MCF-7细胞均培养于10%胎牛血清的无酚红高糖DMEM培养基中,37℃、5%CO₂培养箱内生长,隔日换液,待细胞生长至80%~90%时用0.25%胰酶消化离心后传代。

1.2.2 细胞免疫荧光 取对数期生长的MDA-MB-468细胞胰酶消化离心重悬后以 2×10^5 /mL接种于底部放有小玻片的

24孔板中,置于细胞孵箱中培养,待细胞生长50%~60%后,取出24孔板用PBS洗3次,加入4%多聚甲醛200 μ L固定20min,PBS洗3次,10%山羊血清37℃封闭30min,加入GPR30抗体(1:100稀释)30~40 μ L,4℃孵育过夜,PBS洗3次,暗室中加入荧光二抗(1:200),37℃60min,PBS洗3次,加入DAPI(1:10)染核5min,PBS洗3次,每次5min,封片后,倒置荧光显微镜下拍照。

1.2.3 流式细胞术 取对数生长期MDA-MB-468细胞胰酶消化离心重悬后,以 2×10^5 /mL接种于6孔板中,用10%胎牛血清的无酚红高糖DMEM培养基培养至细胞密度达到60%~70%,移去培养基,PBS洗2次,每孔加入2mL无血清无酚红DMEM培养基,饥饿24h,使6孔板内细胞周期同步于G₀/G₁期。各孔中加入相应药物,使E₂、G1、TAM及G15的终浓度达到100、100、100nmol/L和1 μ mol/L。各处理组将DMSO调整至一样剂量(各药物均用DMSO稀释),24h后收获细胞,70%乙醇固定,置于4℃冰箱过夜,PI染色避光室温孵育30min,流式细胞仪检测各组细胞中DNA含量。实验重复3次。

1.2.4 CCK-8法 取对数生长期MDA-MB-468细胞胰酶消化离心重悬后以每100 μ L含10%胎牛血清的DMEM培养基中2000个细胞浓度接种于96孔板中,每孔加入100 μ L细胞悬液。待细胞贴壁后,加入相应药物处理,其中G15处理组提前加入G15预处理60min,最后每孔中E₂、G1、TAM、G15的药物终浓度分别为100、100、100nmol/L和1 μ mol/L。背景组不种细胞只加入相应体积的培养基,每组设置4个复孔,各组调整DMSO的量至同一剂量,连续培养3d,每孔加入10 μ L CCK-8试剂,细胞孵箱中孵育2h,波长选择450nm,酶标仪测定各孔的光密度值[D(450)],绘制细胞生长曲线以及第3天的相对细胞数。实验重复3次。

1.2.5 Western blot检测 MCF-7及MDA-MB-231细胞不做处理,直接提取细胞总蛋白。MDA-MB-468细胞组中,待培养瓶中细胞生长至70%~80%后,更换无血清无酚红DMEM培养基饥饿24h后,加入相应药物处理,药物浓度及加药方式同前,其中测p-ERK中药物处理时间为5min,CyclinD1中药物处理时间为12h,各组调整DMSO至一致,处理相应时间后立即终止药物处理,PBS洗3次,最后将细胞移入EP管中,加入适量裂解液(以1:100加入PMSF以及氟化钠抑制磷酸化蛋白分解),冰上静置30min,离心后取上清蛋白溶液,用BCA试剂盒以及酶标仪测定蛋白浓度,经SDS-PAGE分离,半干法转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭液中室温封闭4h,加入一抗p-ERK(1:1000)、t-ERK(1:1000)、GPR30(1:250)、CyclinD1(1:1000)、 β -actin(1:1000)4℃过夜,TBST洗膜3次,每次10min,二抗(山羊抗鼠或山羊抗兔)(1:1000)置于37℃孵育1h,TBST洗膜3次,化学发光成像,Quantity one软件进行灰度值测定。实验重复3次。

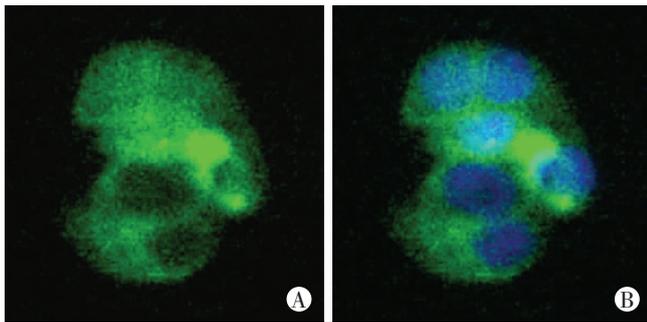
1.3 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件,进行重复测量方差分析和独立样本 *t* 检验。

2 结果

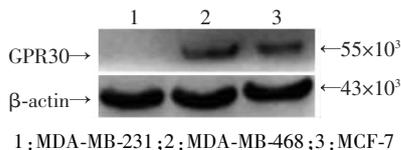
2.1 三阴性乳腺癌细胞系 MDA-MB-468 中雌激素受体 GPR30 的定位和表达

细胞免疫荧光分析表明,MDA-MB-468 细胞中雌激素受体 GPR30 主要表达于细胞胞质部位,细胞核有少量表达(图1)。Western blot 结果显示,另一种三阴性乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 中几乎不表达 GPR30,而在 MDA-MB-468 以及 ER 强阳性的 MCF-7 乳腺癌细胞系中均有较高水平的 GPR30 蛋白表达(图2)。



A: 细胞质表达; B: 目的荧光 GPR30 与细胞核融合图像

图1 细胞免疫荧光检测三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-468 中 GPR30 的表达及细胞内定位情况 (荧光显微镜 ×400)



1: MDA-MB-231; 2: MDA-MB-468; 3: MCF-7

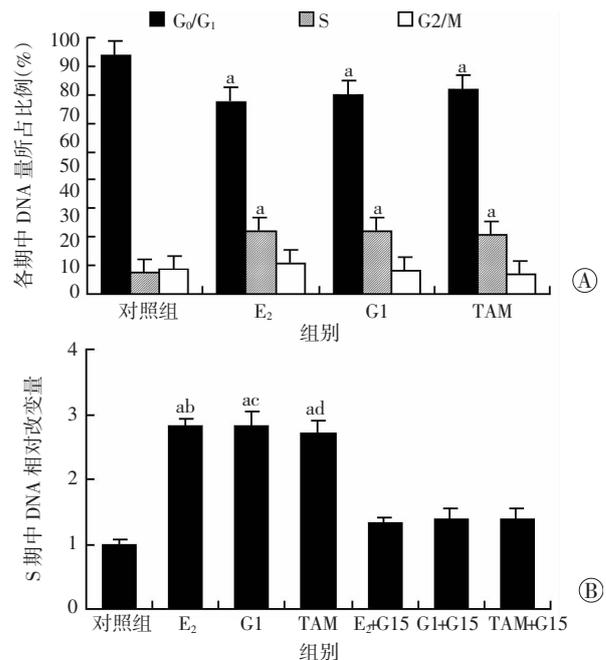
图2 Western blot 检测乳腺癌细胞 MDA-MB-231、MDA-MB-468、MCF-7 中 GPR30 的表达

2.2 E₂、G1 及 TAM 激活 GPR30 促进 MDA-MB-468 细胞周期的进展

细胞周期结果显示,分别用 E₂、G1 和 TAM 处理细胞后,3 种药物均可降低细胞周期中静止期(G₀期与 G₁期)细胞的比例,促进细胞周期向增殖期进展(图3A)。E₂、G1 及 TAM 处理组中处于 DNA 合成期(S 期)的 DNA 相对改变量分别是空白对照组的(2.81 ± 0.11)、(2.82 ± 0.21)、(2.70 ± 0.20)倍,其促细胞周期进展的效应被 GPR30 的特异性拮抗剂 G15 所阻断(*P* < 0.05,图3B)。

2.3 E₂、G1 及 TAM 活化 GPR30 促进 MDA-MB-468 细胞增殖

CCK-8 法结果显示,E₂、G1 及 TAM 处理细胞 3 d 后,能显著促进 MDA-MB-468 细胞生长,并且其促生长效应被 G15 拮抗。根据相对细胞数结果得出 E₂、G1 及 TAM 处理组分别是空白对照组的(1.83 ± 0.18)、(1.94 ± 0.12)倍及(1.92 ± 0.16)倍(*P* < 0.05),是相应加入 G15 组的(1.98 ± 0.12)、(1.68 ± 0.10)倍及(1.81 ± 0.15)倍(*P* < 0.05)。

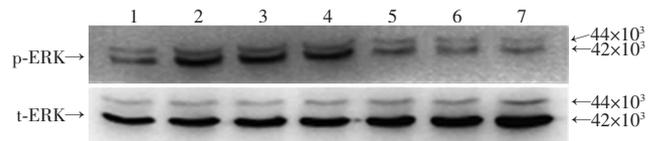


A: E₂、G1 及 TAM 促进三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-468 细胞周期进展 a: *P* < 0.05,与对照组比较; B: 药物处理细胞后,各组细胞周期中处于 S 期的 DNA 相对改变量 a: *P* < 0.05,与对照组比较; b: *P* < 0.05,与 E₂ + G15 组比较; c: *P* < 0.05,与 G1 + G15 组比较; d: *P* < 0.05,与 TAM + G15 组比较

图3 流式细胞术检测 E₂、G1 及 TAM 对 MDA-MB-468 细胞周期的影响

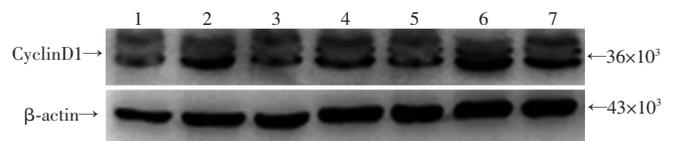
2.4 E₂、G1 及 TAM 通过 GPR30 上调下游通路中磷酸化 ERK 及 CyclinD1 的表达

Western blot 结果显示,E₂、G1 及 TAM 处理组中细胞外信号调节磷酸化激酶 p-ERK 与周期蛋白 CyclinD1 的蛋白表达量显著上调(*P* < 0.05,图4、5),半定量分析结果显示其相对表达量分别是空白对照组的(2.59 ± 0.21)、(2.43 ± 0.25)、(2.26 ± 0.34)倍以及(1.67 ± 0.06)、(1.51 ± 0.08)、(1.90 ± 0.07)倍,而相应 G15 处理组与加入激动剂处理组相比,其蛋白的表达量显著下降(*P* < 0.05,图4、5),与 CCK-8 法测定的结果相符。



1: 对照组; 2: E₂; 3: E₂ + G15; 4: G1; 5: G1 + G15; 6: TAM; 7: Tom + G15

图4 E₂、G1 及 TAM 对 MDA-MB-468 细胞中磷酸化 ERK 蛋白表达的影响



1: 对照组; 2: E₂; 3: E₂ + G15; 4: G1; 5: G1 + G15; 6: TAM; 7: Tom + G15

图5 E₂、G1 及 TAM 对 MDA-MB-468 细胞中 CyclinD1 蛋白表达的影响

3 讨论

内分泌治疗是乳腺癌综合治疗中的重要组成部分,它能显著提高 ER(+)乳腺癌患者的生存率,而 ER(-)/PR(-)的乳腺癌尤其是三阴性乳腺癌患者则没有内分泌治疗指征。我们在前期研究中发现,GPR30与ER、PR的表达水平呈负相关,提示它可能是乳腺癌患者的一个独立的预后因素^[12],并且在423例乳腺癌患者的统计中发现GPR30的总体表达率为63.8%,其中ER(-)的乳腺癌患者中GPR30的表达率高达62.5%^[13]。同时,其他研究者发现GPR30的表达与子宫内膜癌^[14]及卵巢癌^[15]的不良预后相关。以上均提示这种独立作用的雌激素受体很有可能在GPR30(+)的三阴性乳腺癌患者的不良预后中扮演重要角色。

本研究发现,三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-468中GPR30呈现高表达,为本次实验提供了良好的细胞模型;GPR30的3种激动剂E₂、G1及TAM均可促进MDA-MB-468细胞周期进展以及细胞增殖,其促生长效应可被GPR30的特异性拮抗剂G15所阻断;E₂、G1及TAM刺激细胞产生快速的非基因组信号p-ERK以及基因组转录CyclinD1,这些效应同样被G15抑制。由此说明,在高表达GPR30的三阴性乳腺癌细胞系中,GPR30可以介导雌激素对细胞的促生长效应并且与下游ERK信号通路的激活有关。

以往认为,雌激素促进乳腺癌发挥生长作用的机制主要由传统的核雌激素受体(ER)所介导,但是越来越多的研究证明雌激素受体GPR30也参与其中,并且发挥着重要作用^[6-9,16]。本研究也得到类似结果:雌激素处理组细胞周期中位于S期的DNA量明显高于对照组,增殖能力也较对照组有显著提高,并且其促生长效应被GPR30特异性拮抗剂G15阻断,说明雌激素可以通过活化GPR30促进三阴性乳腺癌MDA-MB-468细胞系增殖。虽然也有文献报道在ER(+)/GPR30(+)的MCF-7乳腺癌细胞系中,GPR30起到抑制肿瘤细胞生长的作用^[17],可能的原因是GPR30在不同受体亚型的乳腺癌细胞系中作用机制不同。

大量研究^[6-8,16]表明雌激素和抗雌激素药物(如TAM、4-OHT等)可以通过活化GPR30信号发挥效应,而以上的信号可能与激活EGFR/ERK转导通路有关。本研究与前期报道结果一致:用E₂、G1及TAM分别处理细胞5 min后,用Western blot方法检测到细胞中的磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK)表达量显著增加,提示细胞中的ERK信号通路得到活化,但是用GPR30特异性拮抗剂G15预处理1 h的处理组中,p-ERK的表达量被显著抑制,提示雌激素通过活化GPR30激活了下游的ERK信号从而发挥非基因组效

应。当周期蛋白CyclinD1过表达时,它能缩短G₁期促使细胞提前进入S期,引起细胞生长失控。研究发现50%的乳腺癌有CyclinD1过表达的现象存在,提示CyclinD1的过表达在乳腺癌的发生、发展中具有重要作用。同时,有学者提出EGFR/ERK信号通路下游可以定位于CyclinD1启动子区域促进其转录及翻译从而产生增殖效应^[18]。我们用E₂、G1及TAM分别处理细胞12 h后,Western blot方法检测到CyclinD1蛋白表达量明显增加,预处理G15的处理组中,CyclinD1的表达被抑制,说明雌激素可以通过活化GPR30上调ERK信号通路下游的靶点CyclinD1产生过度表达,发挥基因组效应,但是具体的信号转导机制还有待进一步研究。

综上,雌激素可以激活ER(-)/PR(-)/Her-2(-)的三阴性乳腺癌MDA-MB-468细胞系中的雌激素受体GPR30从而活化下游ERK信号通路及促进下游靶点CyclinD1的表达,导致细胞周期的进展及异常的细胞增殖,这也使得GPR30有望成为GPR30(+)的三阴性乳腺癌患者内分泌治疗靶点,为目前的治疗窘境拓宽思路,但是这还需要动物体内实验及临床试验的进一步验证和支持。

参考文献:

- [1] Carey L A, Perou C M, Livasy C A, *et al.* Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study [J]. *JAMA*, 2006, 295(21): 2492-2502.
- [2] Nofech-Mozes S, Trudeau M, Kahn H K, *et al.* Patterns of recurrence in the basal and non-basal subtypes of triple-negative breast cancers [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 118(1): 131-137.
- [3] Mayer E L, Scheulen M E, Beckman J, *et al.* A Phase I dose-escalation study of the VEGFR inhibitor tivozanib hydrochloride with weekly paclitaxel in metastatic breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 140(2): 331-339.
- [4] Ueno N T, Zhang D. Targeting EGFR in triple negative breast cancer [J]. *J Cancer*, 2011, 2: 324-328.
- [5] Anders C K, Winer E P, Ford J M, *et al.* Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibition: "Targeted" therapy for triple-negative breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(19): 4702-4710.
- [6] Pupo M, Pisano A, Lappano R, *et al.* Bisphenol A induces gene expression changes and proliferative effects through GPER in breast cancer cells and cancer-associated fibroblasts [J]. *Environ Health Perspect*, 2012, 120(8): 1177-1182.
- [7] 李维东, 罗浩军, 李振华, 等. 雌激素激活GPER-EGFR-ERK通路促进人乳腺癌SKBR-3细胞系增殖 [J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(22): 2283-2287.
- [8] Lin B C, Suzawa M, Blind R D, *et al.* Stimulating the GPR30 estrogen receptor with a novel tamoxifen analogue activates SF-1 and promotes endometrial cell proliferation [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(13): 5415-5423.
- [9] Albanito L, Madeo A, Lappano R, *et al.* G protein-coupled receptor 30 (GPR30) mediates gene expression changes and growth response to 17beta-estradiol and selective GPR30 ligand G-1 in ovarian cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1859-1866.
- [10] Bologna C G, Revankar C M, Young S M, *et al.* Virtual and biomolec-

ular screening converge on a selective agonist for GPR30 [J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2(4): 207-212.

[11] Dennis M K, Burai R, Ramesh C, *et al.* *In vivo* effects of a GPR30 antagonist[J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5(6): 421-427.

[12] Tu G, Hu D, Yang G, *et al.* The correlation between GPR30 and clinicopathologic variables in breast carcinomas[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2009, 8(3): 231-234.

[13] Luo H J, Luo P, Yang G L, *et al.* G-protein Coupled Estrogen Receptor 1 Expression in Primary Breast Cancers and Its Correlation with Clinicopathological Variables[J]. *J Breast Cancer*, 2011, 14(3): 185-190.

[14] Smith H O, Leslie K K, Singh M, *et al.* GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 196(4): 386. e1-386. e11.

[15] Fujiwara S, Terai Y, Kawaguchi H, *et al.* GPR30 regulates the EGFR-Akt cascade and predicts lower survival in patients with ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2012, 5(1): 35.

[16] Ohshiro K, Schwartz A M, Levine P H, *et al.* Alternate estrogen receptors promote invasion of inflammatory breast cancer cells *via* non-genomic signaling[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30725.

[17] Ariazi E A, Brailoiu E, Yerrum S, *et al.* The G protein-coupled receptor GPR30 inhibits proliferation of estrogen receptor-positive breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3): 1184-1194.

[18] Lo H W, Hsu S C, Hung M C. EGFR signaling pathway in breast cancers: from traditional signal transduction to direct nuclear translocation[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 95(3): 211-218.

(收稿:2013-11-20;修回:2013-12-31)

(编辑 龙亮)

(上接 1459 页)

2 结果

研究组治疗总有效率为 82.8%，对照组治疗总有效率为 56.2%，2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)。治疗前 2 组 SCr、BUN 和 24 h 尿蛋白定量以及尿微量蛋白排泄率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后 2 组 SCr、BUN 和 24 h 尿蛋白定量以及尿微量蛋白排泄率较治疗前有明显的改善 ($P < 0.05$, 表 2)。2 组分别出现 2 例轻微的干咳,并在治疗 1 周后自行缓解。2 组均未见严重的肝肾功能损害和皮疹等并发症发生。

表 1 2 组患者治疗效果对比观察 [n = 128, 例(%)]

组别	完全缓解	基本缓解	部分缓解	无效
研究组	56(43.8) ^a	30(23.4)	20(15.6)	22(17.2) ^a
对照组	21(16.4)	34(26.6)	17(13.2)	56(43.8)

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

表 2 2 组患者治疗前后 SCr、BUN 和 24 h 尿蛋白定量以及尿微量蛋白排泄率变化 (n = 128, $\bar{x} \pm s$)

组别	观察时间	BUN (mmol/L)	SCr ($\mu\text{mol/L}$)	24 h 尿蛋白定量 (g/24 h)	尿微量蛋白排泄率 ($\mu\text{g}/\text{min}$)
研究组	治疗前	7.8 \pm 2.6	124.5 \pm 44.7	1.9 \pm 0.8	134.2 \pm 7.7
	治疗后	5.0 \pm 1.7 ^a	88.5 \pm 24.5 ^a	1.0 \pm 0.3 ^a	113.7 \pm 4.8 ^a
对照组	治疗前	8.0 \pm 2.4	124.9 \pm 45.1	1.8 \pm 0.9	133.8 \pm 7.9
	治疗后	6.6 \pm 2.0 ^{ab}	116.2 \pm 37.2 ^{ab}	1.4 \pm 0.9 ^{ab}	123.5 \pm 4.6 ^{ab}

a: $P < 0.05$, 与治疗前比较; b: $P < 0.05$, 与研究组比较

3 讨论

临床中对慢性肾炎主要采取西药进行治疗,效果并不是很理想。在中医中,该病属于“水肿”和“尿血”等疾病的范畴,湿热和热毒以及血瘀为该病的主要发病原因,由于其病情的反复性,且难以愈合,从而导致其病程较长^[5-6]。依那普利属于血管紧张素转换酶的抑制剂,对血管紧张素转化酶具有较强的抑制作用,从而降低血管紧张素 II 含量,达到扩张血管的作用,能够减少醛固酮的生成和水钠滞留,达到降低血压的效果^[7],以及降低肾小球内的三高,达到缓解其肾损伤。进一步地改善患者肾小球的滤过率,并且阻止尿蛋白的滤过^[8]。肾炎康复片属于一种中药制药,现代药理研究显示,该药具有益气养阴和补肾健胃以及活血化痰与清热解毒的功效,能够减少蛋白尿和血尿含量^[9],增加其肾血流量,进一步地清除有害氧自由基,改善

其肾脏循环,避免血栓的形成。另外,该药物还能够抑制肾小管的上皮细胞过度的产生炎性介质和胶原蛋白的过度表达^[10]。本研究显示,临床中对于慢性肾炎患者实施肾炎康复片与依那普利联合治疗效果明显,能够有效地提高临床治疗有效率。主要是由于联合治疗能够提高药物药效,且达到中西医结合治疗的效果,联合治疗属于标本兼治,直达病灶。联合治疗对改善 SCr、BUN 和 24 h 尿蛋白定量以及尿微量蛋白排泄率方面也具有明显的优势,主要是由于联合治疗能够有效地改善患者的肾小球滤过情况,进而改善患者的肾功能。联合治疗的不良反应也比较少,治疗安全性高。

综上所述,慢性肾炎患者实施肾炎康复片与依那普利联合治疗效果显著,能够有效地改善患者肾功能,不良反应较少,治疗安全性高,值得在临床中应用推广。

参考文献:

[1] 王冰,李莹,王俊,等. 肾炎康复片与贝那普利联合应用治疗慢性肾小球肾炎 152 例临床疗效观察[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(30): 5865-5867.

[2] Obi Y, Kimura T, Nagasawa Y, *et al.* Impact of age and overt proteinuria on outcomes of stage 3 to 5 chronic kidney disease in a referred cohort[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(9): 1558-1565.

[3] 郭梁洁,杨毓林. 螺内酯联合依那普利治疗早期糖尿病肾病的疗效观察[J]. *中国医药导报*, 2011, 8(19): 80-81.

[4] 郑筱萸. *中药新药临床研究指导原则(试行)* [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 164-168.

[5] Lauer M S, Hodes R. Epidemiology, comparative effectiveness research, and the National Institutes of Health: forces for health[J]. *Epidemiology*, 2011, 22(5): 625-628.

[6] 隋剑颖. 来氟米特联合雷公藤多苷治疗 IgA 肾病的临床研究[J]. *中国医药导报*, 2011, 8(11): 67-68.

[7] Winter A. Abandoned in Brussels, delivered in Paris: long-distance transports of unwanted children in the eighteenth century[J]. *J Fam Hist*, 2010, 35(3): 232-248.

[8] 王钧,行延霞,刘珊珊. 肾炎康复片治疗慢性肾小球肾炎的疗效观察[J]. *实用医技杂志*, 2009, 16(4): 259-260.

[9] 王波,苏海浩,陈凤媚,等. 肾炎康复片佐治儿童急性肾小球肾炎的疗效评价[J]. *广东医学*, 2008, 29(6): 1048-1049.

[10] Cuthbert D, Spark C, Murphy K. "That was then, but this is now": historical perspectives on intercountry adoption and domestic child adoption in Australian public policy[J]. *J Hist Sociol*, 2010, 23(3): 427-452.

(收稿:2014-03-05;修回:2014-05-05)

(编辑 龙亮)