

证治疗,获得了同样的明显疗效。体现了中医的异病同治、方证相应的可行性。研究实践从滋肾填精一个侧面,揭示了“肾生髓、髓生血”理论的客观性和从肾论治治疗珠蛋白生成障碍性贫血的有效性。在临床研究基础上,依托多项国家课题资助,从整体效应、基因突变与疗效关系,红细胞结构与功能,调控珠蛋白 mRNA 表达的不同层面,初步探讨了中药治疗地中海贫血的疗效特点和作用环节。对中药治疗地中海贫血从理论基础、治则治法、作用特点和可能机制,提出了较明确的理论认识,使中医药治疗珠蛋白合成障碍性贫血整体水平达到新的高度^[14-16]

“肾藏精”脏象理论是防治多种重大疑难疾病的重要理论基础。肾藏精生髓、髓生血是中医治疗地中海贫血的理论核心,通过大量的临床实践和较系统的临床基础实验研究探讨了补肾填精,从肾论治治疗地中海贫血的有效性,研究结果从一个侧面揭示了肾生髓、髓生血理论的科学内涵。但是,对于临床上属于脾肾阳虚精血不足证的地中海贫血患者,则需要用温肾填精法辨证治疗,从温肾填精角度揭示肾藏精生髓、髓生血理论的科学内涵,我们还需要做深入工作。

参考文献

- 1 吴志奎,张新华,李敏,等.益髓生血颗粒治疗 β -地中海贫血 156 例临床观察.中国中西医结合杂志,2006,26(4):352-354
- 2 张之南.血液病诊断及疗效标准.北京:科学出版社,1991:48-59
- 3 中华人民共和国卫生部.中药新药临床研究指导原则.1995:13-19,137-140
- 4 郑筱蓓.中药新药临床研究指导原则.北京:中国医药科技出版社,2002:173-184,263-266
- 5 沈自尹,王文建.中医虚证辨证参考标准.中西医结合杂志,1986,

- 6(10):598
- 6 国家技术监督局.中华人民共和国国家标准中医临床诊疗术语证候部分.1997:2-3,33-35,37-40
- 7 王文娟,刘文军,吴志奎.中间型地中海贫血患者中医证候分布规律研究.中医杂志,2007,48(8):726-729
- 8 Cao A, Calanella R, Rosatelli MC, et al. Clinical Experience of Management of β -Thalassemia: The Sardinian Experience. Seminars in Hematology, 1996, 33(1):70-73
- 9 吴志奎,张新华,刘咏梅,等.益髓生血颗粒治疗 β -地中海贫血患者自身对照的比较研究.中国中医药信息杂志,2007,14(3):9-11
- 10 吴志奎,方素萍,刘咏梅,等.肾生髓、髓生血理论与治疗地中海贫血的临床实践.中医杂志,2008,49(2):170-172
- 11 吴志奎.地中海贫血症的中医病机与治则治法.中医杂志,2009,50(1):73-75
- 12 Wang Wenjuan, Wu Zhikui, Zhang Xinhua, et al. Observations on After-Effect Duration of Kidney-Nourishing and Marrow-Replenishing Therapy on 58 Cases of Mediterranean Anemia. JTCM, 2009, 29(4):258-262
- 13 张俊武,龙桂芳.血红蛋白与血红蛋白病.南宁:广西科学技术出版社,2003:152,218
- 14 柴立民,吴志奎,张新华,等.中药益髓生血颗粒对珠蛋白生成障碍性贫血患儿基因表达的影响.中国中西医结合杂志,2005,25(7):591-594
- 15 吴志奎,张新华,蔡辉国,等.益髓生血颗粒治疗(-地贫与调控珠蛋白 mRNA 表达分子机制研究.医学研究杂志,2006,35(9):36-37
- 16 刘咏梅,吴志奎,柴立民,等.“益髓生血灵”对不同发育阶段小鼠血红蛋白珠蛋白表达的影响.中国中医基础医学杂志,2006,12(8):589-591

(收稿:2010-05-20)

uPA 和 PAI-1 在乳腺癌血浆中的水平测定及其生物学行为的相关性研究

汪 青 鞠 放 王 宁 王雅杰

摘 要 目的 研究血浆中 uPA 和 PAI-1 的浓度水平和乳腺癌患者生物学行为相关性,并探讨浓度水平与乳腺癌常见免疫组化指标的相关性。**方法** 利用免疫组化 ELISA 法检测 88 例初治乳腺癌患者血浆中 uPA 和 PAI-1 的浓度水平,并以 39 例健康体检者血浆为对照,结合患者的临床病理学资料分析。**结果** 乳腺癌组血浆中 uPA 和 PAI-1 水平明显高于健康对照组($P < 0.001$);乳腺癌血浆中 uPA 与 PAI-1 浓度呈正相关($P < 0.001$);血浆 uPA 的浓度与乳腺癌的瘤体大小、组织学分级、临床分

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划资助项目(06DZ19505);上海市卫生局科研计划项目(2009113)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院肿瘤科

通讯作者:王雅杰,电子信箱:yajiewa0459@163.com

期、腋窝淋巴结转移分别呈正相关($P < 0.05$),而与患者年龄、病理类型无关;血浆 PAI-1 的浓度与乳腺癌的瘤体大小、临床分期、腋窝淋巴结转移分别呈正相关($P < 0.05$),而与患者年龄、组织学分型、病理类型无关;ER 表达阳性乳腺癌患者,血浆 uPA 及 PAI-1 浓度值高于 ER 表达阴性患者($P < 0.01$);Her-2 阳性的乳腺癌患者,血浆中 uPA 及 PAI-1 浓度值明显高于 Her-2 阴性患者($P < 0.01$)。结论 血浆中 uPA 及 PAI-1 高表达与乳腺癌的侵袭、转移密切相关;与 ER 的状态、Her-2 表达之间密切相关;对 uPA 与 PAI-1 联合检测可能有助于判断乳腺癌的恶性进度及预测其生物学行为。

关键词 乳腺肿瘤 尿激酶型纤溶酶原激活物 人纤溶酶原激活剂抑制物-1 侵袭 转移

Relationship between Plasm Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) and Plasminogen Activator Inhibitor (PAI-1) Level and Biological Behaviors in the Breast Cancer Patients. Wang Qing, Ju Fang, Wang Ning, Wang Yajie. Department of Oncology, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract Objective This study is to explore the correlation of the expression levels of uPA and PAI-1 in plasma and the clinic-pathological features of breast cancer. **Methods** Immunohistochemistry ELISA was used to detected uPA and PAI-1 in plasma of 88 experimental patients and 39 control populations. **Results** Plasma concentration levels of uPA and PAI-1 were significantly higher than those in the normal control group($P < 0.001$). uPA in Breast cancer patients had positive correlation with PAI-1 in the plasma concentration ($P < 0.01$). The concentration of uPA in plasma had positive correlation with the tumor size of the breast cancer, histological grade, clinical stage, axillary lymph node metastasis ($P < 0.05$), had negative correlation with the patient's age, pathological subtype. The concentration of PAI-1 in plasma had positive correlating with breast cancer tumor size, clinical stage, axillary lymph node metastasis ($P < 0.05$), and had negative correlation with age, histological type, pathological subtype. Concentrations of plasma uPA and PAI-1 expression in the breast cancer patients with ER-positive expression were higher than the ER-negative patients ($P < 0.01$). The plasma levels of uPA and PAI-1 were significantly higher in the breast cancer patients with Her-2 positive expressiol than Her-2 negative patients ($P < 0.01$). **Conclusion** High uPA and PAI-1 expression in Breast cancer patients and tumor invasion and metastasis were closely related, and the same to the ER status and Her-2 expression. Combined detection of malignant breast cancer may help to determine the progress and predict their biological behavior.

Key words Breast carcinoma; Urokinase-type plasminogen activator; Human plasminogen activator inhibitor-1; Nvasion; Metastasis

尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)及其抑制剂 PAI-1 是 uPA 系统的主要成员,它们与乳腺癌浸润及转移密切相关,而同时 uPA/PAI-1 与乳腺癌常见的免疫组化标志物之间相关性研究尚不十分明确。为此,本研究应用免疫组化 ELISA 法,检测了乳腺癌患者血浆中 uPA 及 PAI-1 的浓度,旨在研究其与乳腺癌患者生物学特征之间的关系,通过对乳腺癌患者的常见免疫组化标志物的分析,进一步验证 uPA、PAI-1 的表达水平与 ER、PR、Her-2 表达状态的相关性,期为抗乳腺癌转移治疗提供新的思路,现将结果报告如下。

对象与方法

1. 研究对象:收集笔者医院 2009 年 3~12 月期间收治的 88 例初治乳腺癌患者。所有患者均为女性,临床资料齐全,病理学诊断由笔者医院病理科医师确认。所有患者入组前均未行放疗、化疗及内分泌治疗。按 2003 年 WHO 乳腺肿瘤组织学分类,其中乳腺浸润性导管癌 48 例,浸润性小叶癌 20 例,单纯癌 7 例,不典型髓样癌 9 例,浸润性特殊类型癌 4 例。全组患者年龄 39~72 岁,中位年龄为 52 岁,其中 ≤ 50 岁 37 例, > 50 岁 51 例。肿瘤直径 ≤ 2 cm 26 例,直径 2~5cm 46 例,直径 > 5 cm 16 例。有腋窝淋巴结转移者 55 例,无腋窝淋巴结

转移者 33 例。全身其他脏器转移者 53 例,无脏器转移 35 例。此外,选择健康女性体检者 39 例作为对照组,年龄 22~78 岁,中位年龄 48 岁。所有入组患者组织学分级参照改良 Bloom 分级标准,TNM 分期参照 2002 年 AJCC 乳腺癌 TNM 分期标准。

2. 实验方法:(1)样品的制备:采集入组病例晨间空腹静脉血 2ml,放入真空抗凝管中,置于 3300r/min 离心机中离心 20min,分离血浆提取上清液至 1.5ml 离心管中,置于 -80°C 冰箱中保存,待测。(2)采用免疫组化 ELISA 法测定样品中 uPA 及 PAI-1 的浓度水平。试剂盒购于美国 DR 公司。主要仪器:芬兰 Thermo 公司生产的酶标仪及分析软件。

3. 统计学处理:采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组均数之间比较采用 ANOVA 方差分析,组间的两两比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

结 果

1. uPA 及 PAI-1 在血浆中的浓度情况:乳腺癌患者组血浆中 uPA 浓度水平($4.934 \pm 2.718\text{ng/ml}$)明显高于正常对照组($1.526 \pm 0.913\text{ng/ml}$, $P < 0.001$)。乳腺癌患者组血浆中 PAI-1 浓度水平($12.644 \pm 5.863\text{ng/ml}$)明显高于正常对照组($3.893 \pm 1.895\text{ng/ml}$, $P < 0.001$)(表 1)。

表 1 乳腺癌和健康对照组血浆中 uPA 及 PAI-1 水平比较(单位:ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	uPA	PAI-1
乳腺癌组	88	4.934 ± 2.718	12.644 ± 5.863
正常对照组	39	1.526 ± 0.913	3.893 ± 1.895

2. uPA 及 PAI-1 在乳腺癌患者血浆中的浓度情况及其临床病理学特征之间关系:肿瘤最大直径 2 ~ 5cm 和 >5cm 组血浆 uPA 水平明显高于直径 ≤2cm 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);各组织病理学分级之间 uPA 水平差异有统计学意义($G_3 > G_2 > G_1$) ($P < 0.01$);TNM 分期 III ~ IV 期组血浆 uPA 水平明显高于 I ~ II 期组,差异有统计学意义($P < 0.01$);有腋窝淋巴结转移组血浆 uPA 水平明显高于无腋窝淋巴结转移组,差异有统计学意义($P < 0.05$);血浆 uPA 水平与乳腺癌患者的年龄,病理类型无明显相关($P > 0.05$)。肿瘤最大直径 2 ~ 5cm 和 >5cm 组血浆 PAI-1 水平明显高于直径 ≤2cm 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);TNM 分期 III ~ IV 期组血浆 uPA 水

平明显高于 I ~ II 期组,差异有统计学意义($P < 0.01$);有腋窝淋巴结转移组血浆 uPA 水平明显高于无腋窝淋巴结转移组,差异有统计学意义($P < 0.01$);血浆 PAI-1 水平与乳腺癌患者的年龄,组织病理学分级,病理类型无明显相关($P > 0.05$,表 2)。

3. 乳腺癌血浆中 uPA 和 PAI-1 的浓度与激素受体及 Her-2 表达状态的关系:ER 表达阳性乳腺癌患者,血浆 uPA 及 PAI-1 浓度值高于 ER 表达阴性患者,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。PR 的表达状态,与乳腺癌血浆 uPA 及 PAI-1 浓度值均无明显相关($P > 0.05$)。Her-2 阳性的乳腺癌患者,血浆中 uPA 及 PAI-1 浓度值明显高于 Her-2 阴性患者,差异均有统计学意义($P < 0.01$)(表 3)。

4. 乳腺癌血浆中 uPA 和 PAI-1 的浓度的相关性:乳腺癌患者血浆中 uPA 的浓度值为 $4.934 \pm 2.718\text{ng/ml}$,低于 PAI-1 的浓度值 $12.644 \pm 5.863\text{ng/ml}$,差异有统计学意义($P < 0.001$),两者浓度呈正相关(Pearson 相关系数 $r = 0.664$)。

表 2 乳腺癌患者血浆 uPA 及 PAI-1 浓度与不同临床病理学特征间的关系[$\bar{x} \pm s$ (ng/ml)]

影响因素	n	uPA 浓度	P	PAI-1 浓度	P
年龄(岁)					
≤50	37	4.763 ± 2.510		11.828 ± 5.593	
>50	51	5.057 ± 2.878	>0.05	13.235 ± 6.036	>0.05
肿瘤最大直径(cm)					
≤2cm	24	3.572 ± 2.659		9.690 ± 4.427	
2~5cm	37	4.777 ± 2.379		12.662 ± 6.193	
>5cm	27	6.358 ± 2.604	<0.05	15.243 ± 5.433	<0.05
临床分期					
I 期	14	3.080 ± 1.808		9.151 ± 4.406	
II 期	10	4.218 ± 2.277		10.824 ± 3.582	
III 期	12	4.444 ± 2.953		14.254 ± 7.072	
IV 期	52	5.683 ± 2.703	<0.01	13.562 ± 5.930	<0.01
病理分级					
G ₁	32	3.167 ± 1.783		10.764 ± 5.273	
G ₂	30	5.103 ± 2.196		13.392 ± 5.816	
G ₃	26	6.911 ± 2.843	<0.01	14.094 ± 6.206	>0.05
病理类型					
浸润性导管癌	48	4.812 ± 2.640		12.863 ± 6.325	
浸润性小叶癌	20	6.077 ± 3.138		14.807 ± 5.812	
单纯癌	7	4.351 ± 2.244		10.074 ± 2.305	
不典型髓样癌	9	4.774 ± 2.051		11.221 ± 3.658	
浸润性特殊类型癌	4	2.045 ± 0.705	>0.05	6.891 ± 3.485	>0.05
腋窝淋巴结转移					
有	55	5.394 ± 2.688		13.917 ± 5.898	
无	33	4.166 ± 2.631	<0.05	10.520 ± 5.226	<0.01

表 3 乳腺癌不同 ER、PR 和 Her-2 状态与血浆 uPA 及 PAI-1 浓度的关系[$\bar{x} \pm s$ (ng/ml)]

组别	<i>n</i>	uPA 浓度	<i>P</i>	PAI-1 浓度	<i>P</i>
ER 状态					
阳性	42	6.545 ± 2.496	< 0.01	14.848 ± 5.670	< 0.01
阴性	46	3.462 ± 1.992		10.631 ± 5.337	
PR 状态					
阳性	41	5.462 ± 2.948	> 0.05	13.630 ± 6.069	> 0.05
阴性	47	4.472 ± 2.439		11.783 ± 5.599	
HER-2 状态					
阳性	40	6.908 ± 2.242	< 0.001	15.440 ± 5.330	< 0.001
阴性	48	3.287 ± 1.849		10.313 ± 5.277	

讨 论

肿瘤的侵袭和转移是一个多因素、多步骤的过程,需要细胞分泌蛋白水解酶及其抑制物的共同参与,而激活尿激酶纤溶酶原激活剂(uPA)系统则正参与了这些进程。纤溶酶原激活剂是一个复杂的系统,其成员包括:尿激酶纤溶酶原激活剂 uPA;尿激酶纤溶酶原激活剂受体 uPAR;和它的两种抑制物 PAI-1,PAI-2。uPA 系统作为纤溶酶原激活剂在调节肿瘤细胞进展,细胞外基质降解及细胞增生,细胞黏附和转移中发挥重要的作用^[1]。uPA 是一种丝氨酸组蛋白酶,可以通过蛋白水解作用降解肿瘤组织周围的许多种的上皮膜蛋白及基膜成分。它同时也能活化许多生长因子及促使上皮膜蛋白降解的基质金属蛋白酶(MMP)。在肿瘤进展过程中,uPA、uPAR、PAI-1 及 MMP 相互作用因而使得肿瘤细胞易于浸润组织^[2]。uPA 和 MMP 受到一系列的生长因子特别是表皮生长因子及其受体的调控^[3]。研究已证实,信号转导通路 p38MAPK 也参与了 uPA 系统的激活^[4]。uPA 的蛋白水解活性受到丝氨酸蛋白酶抑制物,及纤溶酶原激活物抑制物 1(PAI-1)和纤溶酶原激活物抑制物 2(PAI-2)的调控。许多研究利用 ELISA 的方法证明了 uPA 和 PAI-1 的水平在原发性乳腺癌中具有很强的预测价值^[5]。目前公认 PAI-1 是许多肿瘤最重要的预后因子之一,PAI-1 的高表达与这些肿瘤的不良预后密切相关^[6]。PAI-1 通过与 uPA 形成稳定的复合物,对纤溶酶原的形成产生负反馈抑制作用。PAI-2 的高表达与肿瘤的无复发生存期密切相关,而低表达 PAI-2 的患者却有较高的转移率^[7]。同为 uPA 系统的 PAI-1 和 PAI-2 的生物学作用不同,一个可能的解释是研究发现,PAI-1 与细胞的移行,转移及血管发生相关^[8]。进一步的研究指出,PAI-2 发挥类似于肿瘤抑制基因和转移抑

制因子的功能,因而 PAI-2 与患者的良好的预后密切相关^[9]。这种生物学行为的差异性可归因于 PAI-1 的特别的分子结构^[10]。前期的研究已证明,uPA 及 PAI-1 具有独立的预测价值,此后一项包括了 8377 名乳腺癌患者的中位随访期达 79 个月的多因素分析,结果显示 uPA 和 PAI-1 的高表达与较低的无病生存率以及总体生存期密切相关^[11]。再对其中未接受全身治疗的 3362 例淋巴结阴性的亚组分析后发现,uPA 和 PAI-1 又强有力的预后价值。所以,依照 uPA 和 PAI-1 表达水平及其临床相关性,在临床工作中它们可作为可靠的预后因素。另一方面,uPA 系统的检测对乳腺癌的治疗有一定的指导意义。Borstnar 等^[12]研究发现,uPA 及 PAI-1 的高表达患者对蒽环类抗生素敏感,患者获益更明显。因而推测 uPA 和 PAI-1 是较好的化疗疗效预测指标。另外,也有报道 uPA 和 PAI-1 与晚期乳腺癌的激素治疗耐药有关^[13]。因而,uPA 或 PAI-1 可能同样可以预测乳腺癌患者特殊治疗的疗效。

目前,关于 uPA 系统的系统成员的基因扩增,以及 MAPK 信号通路对 uPA 调控的机制研究较少。大约 25% 的浸润性乳腺癌中可以观察到 Her-2 原癌基因扩增,Her-2 基因的过表达与无瘤生存期的减少以及其他的不良预后相关。Meng 等^[14]的研究发现,Her-2 基因的扩增与 uPAR 基因扩增呈正相关,这种相关在原发性乳腺癌的组织 and 血浆中都有一致性,该研究是在肿瘤中首次观察到 uPAR 基因扩增。基因的共同扩增,可能是由于 Her-2 和 uPAR 之间信号传导的串话和协同作用来完成。我们的研究在蛋白质水平研究 uPA 系统与 Her-2 表达状态之间的关系,得到与 Meng 等人研究类似的结果。Her-2 阳性的乳腺癌患者,其血浆中 uPA 及 PAI-1 浓度水平明显高于 Her-2 阴性患者。激素受体是重要的乳

腺癌生物学标志物,尤其是雌激素受体(ER),它的状态是乳腺癌患者是否行内分泌治疗的主要依据,ER的表达与乳腺癌预后密切相关。然而,关于ER的表达状态与uPA系统的表达情况的相关性并不明确,仅有零星报道。Minisini等^[15]的研究发现,uPA表达水平较低患者,其ER表达也倾向于阴性。我们的研究得到了相同的结果。我们的研究采用免疫组化ELISA法测定血浆中uPA及PAI-1的水平,考虑uPA系统成员可能在血浆中表达浓度较低。因而选择敏感性强、特异度高的ELISA法。本组研究显示,乳腺癌血浆中uPA及PAI-1的浓度水平呈正相关趋势,两者的浓度水平均显著高于正常对照组,且血浆uPA的浓度与乳腺癌的瘤体大小、组织学分级、临床分期、腋窝淋巴结转移分别呈正相关;血浆PAI-1的浓度与乳腺癌的瘤体大小、临床分期、腋窝淋巴结转移分别呈正相关。我们的研究发现:对于瘤体大小、组织学分级、临床分期、腋窝淋巴结转移情况等乳腺癌生物学特征,uPA系统中的uPA及PAI-1的浓度水平表达趋势,都是随着肿瘤恶性程度的增加或者高危因素的增加而增加。这与Dublin等^[16]报道的结果相似,患者uPA、PAI-1的高表达,是与不良预后密切相关的。仅有PAI-1的血浆水平虽然总体之间未获得统计学差别,但是通过组间两两比较发现,组织病理分级为G₃级患者的血浆PAI-1的水平仍然显著高于G₁组水平($P < 0.05$)。表明随着组织病理分级的增加,肿瘤PAI-1也增加。G₂级与G₃级之间无显著差别的原因可能与样本量稍小有一定原因,另外,病理学诊断中,对于G₂级和G₃的区分可能有人为误差,因而也是致PAI-1依靠组织病理分级并未获得统计学差异的原因。uPA及PAI-1的表达正相关,可能正进一步验证了PAI-1对uPA活化未起到抑制作用。uPA和PAI-1在肿瘤发生、发展、转移灶形成过程中均起到促进上述过程的作用。uPA和PAI-1作为两个独立的预后因子,共同参与恶性肿瘤的进展事件,因而联合检测uPA和PAI-1可能可以作为判断乳腺癌恶性潜能的重要指标。而uPA及PAI-1的联合检测可能也有助于乳腺癌患者的药物治疗疗效预测。

目前,针对uPA系统的靶向治疗的地位日益突出,相继研发出以细胞信号转导分子为靶点的MAPK信号转导通路抑制剂如SB20358等、MMPs抑制因子P75神经生长因子受体(p75NTR)、抗uPA系统的siRNA类药物、作用位点在环氧化酶2(COX-2)的

Celecoxib等新的靶向治疗药^[17-20]。究竟uPA活化过程中信号转导是如何具体调控的,尚待进一步的研究证实。而uPA系统活化机制及其可能的抑制位点的寻找,也值得进一步深究。

参考文献

- 1 Duffy MJ, Duggan C. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer. *Clin Biochem*, 2004, 37(7): 541-548
- 2 Romer J, Nielsen BS, Ploug M. The urokinase receptor as a potential target in cancer therapy. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(19): 2359-2376
- 3 Gabison EE, Hoang-Xuan T, Mauviel A, *et al.* EMMPRIN/CD147, an MMP modulator in cancer, development and tissue repair. *Biochimie*, 2005, 87(3-4): 361-368
- 4 Zarubin T, Han J. Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Res*, 2005, 15(1): 11-18
- 5 Harbeck N, Kates RE, Schmitt M, *et al.* Urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor type 1 predict disease outcome and therapy response in primary breast cancer. *Clin Breast Cancer*, 2004, 5(5): 348-352
- 6 Harbeck N, Kates RE, Gauger K, *et al.* Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1: novel tumor-derived factors with a high prognostic and predictive impact in breast cancer. *Thromb Haemost*, 2004, 91(3): 450-456
- 7 Duffy MJ, Duggan C. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer. *Clin Biochem*, 2004, 37(7): 541-548
- 8 Bajou K, Maillard C, Jost M, *et al.* Host-derived plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentration is critical for in vivo tumoral angiogenesis and growth. *Oncogene*, 2004, 23(41): 6986-6990
- 9 Fernandez-Soria V, Lleona ME, Diaz-Fuertes M, *et al.* Adenovirus E1A orchestrates the urokinase-plasminogen activator system and upregulates PAI-2 expression, supporting a tumor suppressor effect. *Int J Oncol*, 2006, 28(1): 143-148
- 10 Croucher DR, Saunders DN, Stillfried GE, *et al.* A structural basis for differential cell signalling by PAI-1 and PAI-2 in breast cancer cells. *Biochem J*, 2007, 408(2): 203-210
- 11 Look MP, van PWL, Duffy MJ, *et al.* Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(2): 116-128
- 12 Borstnar S, Sadikov A, Mozina B, *et al.* High levels of uPA and PAI-1 predict a good response to anthracyclines. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 121(3): 615-624
- 13 Harbeck N, Kates RE, Look MP, *et al.* Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 ($n = 3424$). *Cancer Res*, 2002, 62(16): 4617-4622

- 14 Meng S, Tripathy D, Shete S, *et al.* uPAR and HER-2 gene status in individual breast cancer cells from blood and tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(46): 17361-17365
- 15 Minisini AM, Fabbro D, Di LC, *et al.* Markers of the uPA system and common prognostic factors in breast cancer. *Am J Clin Pathol*, 2007, 128(1): 112-117
- 16 Dublin E, Hanby A, Patel NK, *et al.* Immunohistochemical expression of uPA, uPAR, and PAI-1 in breast carcinoma. Fibroblastic expression has strong associations with tumor pathology. *Am J Pathol*, 2000, 157(4): 1219-1227
- 17 Kim MH, Cho HS, Jung M, *et al.* Extracellular signal-regulated kinase and AP-1 pathways are involved in reactive oxygen species-induced urokinase plasminogen activator receptor expression in human

- gastric cancer cells. *Int J Oncol*, 2005, 26(6): 1669-1674
- 18 Nalbandian A, Djakiew D. The p75(NTR) metastasis suppressor inhibits urokinase plasminogen activator, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in PC-3 prostate cancer cells. *Clin Exp Metastasis*, 2006, 23(2): 107-116
- 19 Gondi CS, Rao JS. Concepts in in vivo siRNA delivery for cancer therapy. *J Cell Physiol*, 2009, 220(2): 285-291
- 20 Kwak YE, Jeon NK, Kim J, *et al.* The cyclooxygenase-2 selective inhibitor celecoxib suppresses proliferation and invasiveness in the human oral squamous carcinoma. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1095: 99-112

(收稿:2010-04-07)

AB-8 大孔吸附树脂纯化柴胡总皂苷工艺条件研究

梁卫青 浦锦宝 郑军献 胡轶娟 魏克民

摘 要 **目的** 考察 AB-8 大孔吸附树脂对柴胡总皂苷的分离纯化方法。**方法** 根据柴胡总皂苷的结构特点,考察 AB-8 树脂的吸附性能,对 AB-8 吸附树脂纯化柴胡总皂苷的工艺条件进行了筛选,并采用紫外-可见分光光度法对柴胡总皂苷含量进行定量分析。**结果** AB-8 大孔吸附树脂对柴胡总皂苷具有较好的吸附选择性。吸附纯化的最佳工艺条件为吸附流速 1BV/h,以 70% 乙醇作为洗脱剂,洗脱流速为 2BV/h。采用上述工艺条件,产品纯度大于 60%。**结论** AB-8 树脂用于柴胡总皂苷的分离纯化简单有效,易于工业化推广。

关键词 柴胡 总皂苷 大孔吸附树脂

Separation and Purification of the Total Glucosides in *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. with AB-8 Macroporous Adsorption Resin. Liang Weiqing, Pu Jinbao, Zheng Junxian, Hu Yijuan, Wei Kemin. *Zhejiang Traditional Chinese Medicine Academy, Zhejiang, 310007, China*

Abstract Objective To study the method for separating and purifying the total glucosides in *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. with AB-8 macroporous adsorption resin. **Methods** According to the structural characteristic of total glucosides, the resin AB-8 was systematically studied for its adsorption capability. The technological conditions of the adsorption resin AB-8 for separation was selected. UV-VIS was used to measure the content of total Glucosides. **Results** The macroporous adsorption resin AB-8 can be used to produce the total glucosides with high quality. The optimal technological conditions were: the flow velocity of adsorption, 1BV/h; the eluting reagent, 70% ethanol; eluting velocity, 2BV/h. The purity of the total glucosides was over 60% with the technological conditions respectively. **Conclusion** It is a simple and efficient method to separate the total glucosides from *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. by using AB-8 resin, and can be applied to manufacture.

Key words *Bupleurum scorzonrifolium* Willd.; Total glucosides; Macroporous adsorption resin

柴胡来源于伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. 的干燥根。微寒,味苦,具有和解表里、疏肝、升阳举陷的功效,主要用于感冒发热,寒热往来,胸胁胀痛,月经

不调等症^[1]。其主要有效成分为柴胡皂苷(saikkosaponins a,b,c,d)、挥发油柴胡醇(bupleuromd)、甾醇、 α -菠菜甾醇(α -spinasterd)、多糖、黄酮等^[2,3]。本文参考有关文献^[4-9],通过对 AB-8 型大孔吸附树脂富集纯化柴胡总皂苷工艺条件参数的研究,进一步探索其合理的工艺流程。

材料与方法

1. 实验材料:柴胡饮片,本院中药房提供,经鉴定为伞形

基金项目:浙江省科技厅科研院所研究开发项目(2006F13025)

作者单位:310007 杭州,浙江省中医药研究院