

单味中药及其复方制剂抗肿瘤血清药理学研究进展^A

林 慧^{1,2*},梅全喜^{1,2}(1.中山市中医院中药药理实验室,广东中山 528400;2.中山市中医药研究所,广东中山 528400)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0550-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.37

摘要 目的:应用中药血清药理学实验方法探讨抗肿瘤单味中药及其复方制剂的作用机制,为临床中药抗肿瘤治疗提供理论依据。方法:以“中药”“抗肿瘤”“血清药理学”“Chinese herbal medicine”“Anti-tumor”“Sero-pharmacological”为关键词,组合查阅2001—2014年在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中有关血清药理学在抗肿瘤中药研究的药理实验相关文献,同时参考外文书籍《分子细胞生物学》(*Molecular Cell Biology*)第7章相关内容进行分析。结果与结论:共查阅到相关文献356篇,其中有效文献27篇。多种单味中药及其复方制剂具有抑制肿瘤细胞增殖及杀伤、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭与转移等多途径、多靶点作用机制。随着中药血清药理学方法在抗肿瘤中药研究领域中的不断深入,在抗肿瘤药的研发中将会得到更广泛的应用。

关键词 中药;抗肿瘤;血清药理学

恶性肿瘤已成为严重威胁着人类健康的常见性疾病,积极寻找有效的抗肿瘤药及防治方法是当今医学界关注的课题及面临的难题,而中医药抗肿瘤的研究近年来获得了较大的进展。越来越多的临床及实验研究表明,单味中药及其复方制剂在抑制肿瘤细胞增殖、稳定瘤体生长、改善患者症状体征、减毒增效、预防复发、提高生存质量、延长生存期等方面具有独特的优势。但由于中药有效成分复杂,直接进行体外试验有许多干扰因素,科学性较差。

血清药理学克服了中药直接进行体外试验的不利因素,使反应体系更接近于体内环境,客观地模拟了药物与机体的相互作用过程,体现实验时药物与机体相互作用的真实过程,可更深入地揭示药物作用机制,使结果具有真实性和科学性,故血清药理学广泛应用于肿瘤、心血管、消化、免疫等方面的中药药效学研究中,特别是近年来在中药抗肿瘤药效评价中的广泛应用,取得了很大的进展。笔者以“中药”“抗肿瘤”“血清药理学”“Chinese herbal medicine”“Anti-tumor”“Sero-pharmacological”为关键词,组合查阅2001—2014年在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中有关血清药理学在抗肿瘤中药研究的药理实验相关文献,同时参考外文书籍《分子细胞生物学》(*Molecular Cell Biology*)第7章相关内容进行分析。结果,共查阅到相关文献356篇,其中有效文献27篇。现就近年来应用血清药理学方法,对单味中药及其复方制剂抗肿瘤作用机制的研究成果进行综述,以期临床中药抗肿瘤治疗提供理论依据。

1 抑制肿瘤细胞增殖及直接杀伤作用

1.1 抑制肿瘤细胞增殖

抑制细胞的增殖是中药含药血清发挥抗肿瘤作用的重要途径之一。欧冰凝等^[1]观察发现,八角莲提取物含药血清体外有较强的抑制人肝癌SMMC-7721细胞增殖作用。丁丽等^[2]研究发现,三叶青水提物含药血清呈剂量依赖性抑制人宫颈癌Hela229细胞和人恶性黑色素瘤A375细胞的体外增殖,并发现其水提物在体内对小鼠S180肉瘤的生长亦具有抑制作用,表明三叶青水提物在体内外均具有抗肿瘤作用。刘杰民等^[3]通过实验发现,自拟通降解毒方(由旋覆花、代赭石、火麻

仁、蜈蚣、守宫、半枝莲等组方而成)血清能抑制体外胃癌MKN-45细胞的增殖,从体外细胞实验证实该方能抑制肿瘤的生长而具有抗肿瘤的作用。杨军等^[4]观察发现,复方斑蝥胶囊含药血清对人肝癌SMMC-7721细胞增殖具有一定的抑制作用,并呈剂量依赖性。

1.2 对肿瘤细胞的直接杀伤作用

抗肿瘤中药含药血清可作用于癌细胞生长的不同阶段,或作用于能量代谢的某一环节,或破坏癌细胞膜稳定性而引起细胞自溶死亡。 Mg^{2+} -ATP酶参与质膜上离子的主动转运,保持细胞膜内外渗透压平衡及参与保持细胞内外的化学梯度和跨膜电位,维持细胞内高钾低钠状态,从而保证细胞的活性^[5]。此外,葡萄糖-6-磷酸(G-6-P)酶在糖代谢、免疫球蛋白合成及其他蛋白质合成、浓缩、加工等方面发挥着重要作用,是细胞内糖原原生作用中重要酶之一。刘海兴等^[6]观察补中益气汤含药血清对人胃腺癌SGC-7901细胞株的酶活性的改变。结果表明,补中益气汤含药血清抗肿瘤作用亦可能与其降低肿瘤细胞质膜标志酶 Mg^{2+} -ATP酶和内质网标志酶G-6-P酶的活性相关。李东涛等^[7]研究表明,自拟益气活血软坚解毒方(由生黄芪、炒白术、田三七、白花舌蛇草、半枝莲等组方而成)含药血清有抑制人肝癌细胞系Bel-7402细胞生长并有诱导细胞凋亡的作用,其作用机制可能与其促进细胞内 Ca^{2+} 内流与降低线粒体膜电位的作用相关。

2 诱导肿瘤细胞凋亡

2.1 影响凋亡相关基因的调控

肿瘤细胞的凋亡是一个多基因参与的复杂调控过程,可通过调节癌基因和抑癌基因而诱导肿瘤细胞凋亡。张保静等^[8]观察发现,自拟清热化湿方(由藿香、川厚朴、姜半夏、赤茯苓、杏仁、生薏苡仁、白豆蔻等组方而成)含药血清可通过下调人胃腺癌SGC-7901细胞相关癌基因CD14,干预肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)蛋白及mRNA基因表达,干预细胞S期,诱导肿瘤细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用。宋延平等^[9]研究表明,陕西产重楼提取物可引起肝癌SMMC-7721细胞的抑制细胞凋亡基因Bcl-2蛋白表达水平降低,促进细胞凋亡基因Bax蛋白的表达上调、Bcl-2/Bax比值降低,从而诱导肿瘤细胞的凋亡。何峰等^[10]研究表明,皂角刺含药血清能抑制人直肠癌SW-480细胞生长和诱导其凋亡,Bcl-2 mRNA基因表达减少与Bax mRNA基因表达增多可能是皂角刺诱导肠癌细

^A 基金项目:中山市第二批科技计划项目(No.20132A171)

* 副主任中药师,硕士。研究方向:广东地产药材。电话:0760-88815106。E-mail:linhui312778@163.com

胞凋亡的作用机制之一。刘杰民等^[11]通过进一步的实验研究表明,通降解毒方含药血清抗肿瘤作用机制之一可能是能增加胃癌MKN-45细胞P16基因mRNA表达,逆转抑癌基因P16基因甲基化。

2.2 影响肿瘤细胞信号转导通路

Wnt/ β -catenin 信号通路在调控细胞的生长、运动、分化以及在胚胎发育和肿瘤发生及侵袭转移过程中起重要作用^[12-13]。研究表明,肝癌的转移侵袭与Wnt/ β -catenin 信号通路有密切的关系^[14]。贺松其等^[15]运用血清药理学方法,探讨鳖甲煎丸含药血清对肝癌细胞的影响,实验结果表明其抗肝癌细胞转移侵袭的作用机制与其降低肝癌细胞中 β -catenin 蛋白表达、下调DKK-1 基因的表达,从而阻断Wnt/ β -catenin 信号通路相关。

3 抑制肿瘤细胞侵袭与转移

生长增殖速度快、转移和侵袭能力强是恶性肿瘤的基本特征,也是影响患者生命和治疗效果的重要原因。临床治疗中,治疗失败往往是由于肿瘤的转移复发。程咏等^[16]采用MTT 比色法、细胞黏附试验和Transwell 侵袭试验探讨了鳖甲煎丸含药血清的抗肿瘤作用。结果表明,鳖甲煎丸含药血清具有抑制肝癌HepG2 细胞生长、黏附和侵袭的作用。刘碧清等^[17]采用血清药理学的方法探讨肠复康含药血清对体外培养的人结肠癌HT-29 细胞的抑制作用,其作用机制是通过抑制Ki-67 的表达及影响基质金属蛋白酶2(MMP-2)及其组织抑制物(TIMP-2)的相互平衡来影响结肠癌细胞的增殖及浸润转移。

4 抗肿瘤血管生成作用

抑制肿瘤血管生成以切断肿瘤组织获得营养途径,已经成为新的肿瘤治疗靶点^[18]。经典方法的鸡胚尿囊膜(CAM)模型,被广泛地应用到血管生成实验的各领域。为深入探讨益气养阴方的抗肿瘤作用机制,李彦博等^[19]进一步研究发现,自拟益气养阴方(由黄芪、白花蛇舌草、小蓟、太子参、半枝莲、蒲公英等组方而成)含药血清抑制肿瘤细胞诱导CAM 血管形成的机制之一,可能是与其降低血管内皮生长因子(VEGF)和MMP-2 的表达相关。孙莉^[20]研究发现,六神丸含药血清对人乳腺癌MCF-7 细胞VEGF 及MMP-9 荧光表达有明显抑制作用,且随含药血清浓度升高其抑制作用增强,提示其抗肿瘤作用是通过抗肿瘤新生血管生成途径实现的。

5 其他作用

5.1 调节机体免疫功能

大量的实验研究表明,中医药抗肿瘤作用机制是通过激发或调动机体的免疫系统,增强机体抗肿瘤免疫功能,从而控制和杀伤肿瘤细胞^[21]。罗春丽等^[22]运用中药血清药理学方法,研究发现余甘子含药血清具有促进小鼠脾淋巴细胞增殖、促进小鼠腹腔巨噬细胞活化,以及降低小鼠S180 腹水瘤细胞存活率的作用。高晓雯等^[23]研究发现,芫花根总黄酮含药血清是通过促进正常小鼠脾淋巴细胞增殖、增强自然杀伤细胞(NK 细胞)和淋巴因子活化的杀伤细胞(LAK 细胞)杀伤活性、增强腹腔巨噬细胞的吞噬能力来提高机体免疫功能的,为民间应用芫花根治疗多种癌症提供了实验依据。

5.2 增强化疗药物的抗肿瘤活性

中医药抗肿瘤是一种多途径、多靶点的整体治疗,在肿瘤综合治疗中有其独特的优势,在肿瘤临床治疗中经常配合辅助化疗药以发挥其减毒增效作用。刘利萍等^[24]制备清热解毒、活血化瘀、扶正固本、化痰祛湿、益气养血、软坚散结6 种方剂的含药血清,探讨6 种含药血清对人乳腺癌MCF-7 细胞生长的影响以及其联合5-氟尿嘧啶(5-FU)的化疗作用。结果表明,6

种方剂含药血清均显示出对5-FU 化疗不同的增效作用,其中以软坚散结方和化痰祛湿方效果较好,且软坚散结方体内实验亦表现出增效作用。蔡伟等^[25]采用血清药理学方法研究发现,虫草素含药血清对人结肠癌SW1116 细胞株有显著的抑增殖、抗迁移和促凋亡作用,联合顺铂(DDP)可显著提高这一疗效,提示虫草素有一定的化疗辅助作用。

5.3 逆转肿瘤细胞的多药耐药性

肿瘤的多药耐药性(MDR)是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药产生耐药后,对其他结构和作用机制不同的抗肿瘤药也产生了耐药性^[26]。MDR 是肿瘤细胞耐药的常见方式,也是肿瘤化疗失败的主要原因。实验研究表明,中药可通过不同途径抗MDR 的产生而起到抗肿瘤的作用。马武开等^[27]观察发现,解毒化痰方(由青黛、山慈菇、蚤休、虎杖、莪术、川芎、丹参、补骨脂等组方而成)含药血清可通过降低人白血病耐药细胞株K562/A02 细胞核因子(NF)- κ B/p65、NF- κ B/p50、NF- κ B 抑制蛋白表达水平,降低多药耐药基因的表达,从而进一步逆转耐药。孙玺媛等^[28]应用血清药理学方法,探讨益气养阴方(由黄芪、白术、北沙参、天冬等组方而成)逆转耐药人肺腺癌A₅₄₉DDP 细胞株多药耐药机制。结果表明,益气养阴方含药血清可协同增效提高DDP 对A₅₄₉DDP 细胞的增殖抑制作用,且二者协同使细胞周期阻滞于G₀期和G₁期,逆转A₅₄₉DDP 细胞对DDP 的凋亡抵抗,可能是益气养阴方逆转肿瘤多药耐药的机制之一。

6 结语

中药含药血清药理学方法作为研究中药离体抗肿瘤实验的重要方法之一,在一定程度上揭示了抗肿瘤中药活性成分的体内转化过程,条件可控性强,可在细胞、分子水平上进行生化、受体、基因表达等多方面实验,为中药药理研究提供了崭新的思路,提高了体外实验的可信性与可靠性,并为肿瘤患者在临床应用中药的抗肿瘤治疗提供了科学的理论依据。

中药含药血清抗肿瘤作用的分子机制研究近年来有较大进展,但目前动物选择、给药方法、采血时间、采血部位、血清处置等方面仍存有一定的争议,还需进行深入的研究与探索,从而使中药含药血清抗肿瘤药理研究方法渐趋规范。

参考文献

- [1] 欧冰凝,王金妮,梁钢,等.八角莲含药血清对人肝癌细胞SMMC-7721 的抑制作用研究[J].广西医科大学学报,2012,29(6):844.
- [2] 丁丽,纪其雄,吕雯婷,等.三叶青水提物体内、体外抗肿瘤作用的研究[J].中成药,2013,35(5):1 076.
- [3] 刘杰民,蔺晓源,王敏,等.通降解毒方药物血清干预胃癌细胞增殖的实验研究[J].中国中医急症,2012,21(8):1 254.
- [4] 杨军,丁敏,张太君,等.血清药理学方法观察复方斑蝥胶囊对人肝癌细胞SMMC-7721 增殖的影响[J].中国药房,2005,16(4):262.
- [5] 蔡玉文,荣明,明彩荣,等.人外周血淋巴细胞酶超微结构定位与活性研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,1999,8(3):311.
- [6] 刘海兴,杨畅,崔勇,等.补中益气汤对SGC-7901 人胃癌细胞株酶活性影响的研究[J].解剖科学进展,2012,18(2):142.
- [7] 李东涛,裴迎霞,祁鑫,等.益气活血软坚解毒方含药血清诱导BEL-7402 细胞内Ca²⁺、线粒体膜电位的变化[J].第

- 二军医大学学报,2005,26(6):667.
- [8] 张保静,陈远能,张涛.基于CD14,IL-1 β 表达及SGC-7901细胞凋亡变化探讨清热化湿方防治胃癌的机制[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):246.
- [9] 宋延平,杨洁,王伟,等.陕重楼提取物对人肝癌SMMC-7721细胞bcl-2和Bax基因表达的影响[J].陕西中医,2013,34(4):502.
- [10] 何峰,何光志,张利新,等.皂角刺含药血清诱导直肠癌细胞SW-480凋亡及其对Bcl-2/Bax mRNA表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(19):217.
- [11] 刘杰民,蔺晓源,王敏,等.通降解毒方药物血清对胃癌细胞P16基因甲基化的影响[J].中医药信息,2012,29(5):30.
- [12] Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis [J]. *Int J Dev Biol*, 2004, 48(5/6):477.
- [13] Doucas H, Garcea G, Neal CP, *et al*. Changes in the Wnt signalling pathway in gastrointestinal cancers and their prognostic significance[J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(3):365.
- [14] Roberts LR, Gores GJ. Hepatocellular carcinoma: molecular pathways and new therapeutic targets[J]. *Semin Liver Dis*, 2005, 25(2):212.
- [15] 贺松其,程旸,朱云,等.鳖甲煎丸对肝细胞癌中Wnt/ β -catenin信号通路及抑制基因DKK-1、FrpHe表达的影响[J].南方医科大学学报,2013,33(1):30.
- [16] 程旸,贺松其,朱云,等.鳖甲煎丸抑制肝癌细胞增殖、黏附及侵袭作用的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2013,33(5):664.
- [17] 刘碧清,钱海兵,王毅,等.肠复康对人结肠癌细胞HT-29增殖及浸润转移的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2004,12(6):341.
- [18] Prashanth KVH, Tharanathan RN. Depolymerized products of chitosan as potent inhibitors of tumor-induced angiogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1722(1):22.
- [19] 李彦博,孙静,李洁.益气养阴方抗血管生成作用及对肿瘤细胞VEGF及MMP2表达的影响[J].安徽中医学院学报,2010,29(2):45.
- [20] 孙莉.六神丸抗肿瘤血管生成的实验研究[J].中国现代药物应用,2010,4(15):141.
- [21] 蒋树龙,史冬梅,徐霞,等.中医药抗肿瘤免疫机制研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(10):79.
- [22] 罗春丽,张永萍,邱德文,等.民族药余甘子冻干粉免疫调节作用的血清药理学研究[J].时珍国医国药,2006,17(2):188.
- [23] 高晓雯,郑维发,彭焯城.芫花根总黄酮含药血清对小鼠细胞免疫功能的影响[J].中草药,2006,37(5):721.
- [24] 刘利萍,姚婧,赵秀梅,等.不同治则方剂对5-氟尿嘧啶化疗增效作用的实验观察[J].时珍国医国药,2011,22(4):937.
- [25] 蔡伟,叶青,唐亮,等.虫草素对结肠癌细胞体外增殖、迁移能力的影响及其诱导细胞凋亡的作用[J].中华临床医师杂志:电子版,2011,5(14):4048.
- [26] Lodish H. *Molecular cell biology*[M]. New York: W.H. Freeman and Company, 2004:245.
- [27] 马武开,李玉莹,姚血明,等.白血病K562/A02细胞MDR1、NF- κ B的表达及解毒化痰中药的调控作用研究[J].中国药理学通报,2011,27(7):1031.
- [28] 孙玺媛,孙建立.益气养阴方逆转人肺腺癌A₅₄₉DDP多药耐药机理[J].实用肿瘤学杂志,2009,23(1):26.

(收稿日期:2015-06-12 修回日期:2015-12-04)

(编辑:余庆华)

美国FDA加强非甾体类抗炎药物心血管安全性警告

本刊讯 2015年7月9日,美国食品药品监督管理局(FDA)发布信息称,正在加强对除阿司匹林以外所有非甾体类抗炎药(NSAIDs)说明书中关于心脏病发作和脑卒中的安全性警告。

使用NSAIDs可引发心脏病发作或脑卒中风险,这两种风险均可导致死亡,相关内容于2005年在处方药说明书的黑框警告以及“警告和注意事项”部分首次进行了说明。自此以后,FDA对NSAIDs处方药和非处方药的多种新的安全信息进行了审查,包括观察研究、临床试验的大型合并分析以及其他科学文献。2014年2月10-11日关节炎咨询委员会和药物安全与风险管理咨询委员会举行的联合会议,对这些研究也进行了讨论。

FDA对新的安全信息进行了全面审查,并根据审查结果要求更新所有NSAIDs处方药的说明书内容。与NSAID处方药的现行说明书一样,阿司匹林以外的非处方NSAIDs的药品说明书已经含有心脏病发作和脑卒中风险的信息。此外,FDA还将要求更新除阿司匹林以外的NSAIDs非处方药的说明书和标签。

FDA建议:NSAIDs的整个用药过程中,患者和医护人员应对心脏相关副作用保持警惕。患者一旦出现胸痛、呼吸短促或呼吸困难、一个部位或身体一侧无力或口齿不清的任

何一种症状,应立即就医。

NSAIDs处方药说明书的更新内容包括以下方面:

(1)在使用NSAIDs药品的最初数周内,就存在心脏病发作或脑卒中的风险。使用时间越长,风险越大;剂量越高,风险也越大。

(2)以往认为所有NSAIDs均具有相似风险。然而,最新信息不能表明所有NSAIDs均具有相似的心脏病发作或脑卒中风险;但也不足以证明某种NSAIDs的风险肯定高于或低于其他NSAIDs。

(3)NSAIDs可加大患者的心脏病发作或脑卒中风险,无论患者是否已患心脏病或存在心脏病风险因素。大量研究支持这一结果,但学者对风险加大幅度的估计值则存在差异,具体取决于所研究药物和所使用剂量。

(4)一般而言,对于心脏病患者或存在心脏病风险因素的患者而言,使用NSAIDs后发生心脏病或脑卒中的几率将高于无风险因素的患者,因为前者的基线风险相对较高。

(5)首次心脏病发作之后接受NSAIDs治疗的患者与首次心脏病发作后未接受NSAIDs治疗患者相比,前者更有可能于心脏病发作后1年内死亡。

(6)使用NSAIDs还可导致心力衰竭风险加大。