

· 综述 ·

抗白血病中药及天然药物的研究现状

陈婷梅 祝彼得

迄今用于白血病临床的化疗药物包括烷化基、抗代谢药、抗生素及激素和杂类等, 这些药物副作用较强, 且对起重要防御作用的淋巴细胞、骨髓造血细胞的破坏较大, 使机体对癌、感染失去抵抗力, 临床上白血病患者死于肺炎、败血症、尿毒症等化疗副作用的病例并不少见。80 年代以来, 国内外有些研究者以中医理论为基础, 结合现代科学技术, 从中药中提取研制了较多的抗白血病制剂, 并对中药及天然药物的抗白血病作用进行了实验研究, 发现中药及天然药物不仅副作用小, 还具有注重整体、攻补兼施的优点, 这是一些化疗药物所不能比拟的。因此, 从中药及天然药物中提取有效制剂, 已经成为抗白血病的重要途径。

1 细胞毒型药物

1.1 损伤 DNA, 抑制 DNA、RNA、蛋白质合成 4-[4''-(2'', 2'', -6'', -6''-四甲基哌啶氮氧自由基)氨基]-4'-去甲基表鬼臼毒(GP-7), 是鬼臼毒素类的新衍生物, 该药对 L₇₇₁₂ 白血病小鼠白血病细胞增殖有显著抑制作用, 其细胞毒作用是通过 DNA topoisomerase II (DNA 拓扑异构酶 II) 介导引起 DNA 链断裂和抑制 DNA 合成而发生的。王庆瑞等发现冬凌草甲素、乙素对 P₃₈₈、L₁₂₁₀、L₆₁₅ 白血病有抑制作用, 其抗癌机理是阻断脱氧核苷酸底物聚合形成 DNA^①。此外, 东北贯众素可导致 DNA 单链断裂, 绿舒筋、大黄、茯苓、人参、大豆皂甙、三七皂甙的抗白血病作用均与抑制 DNA、RNA、蛋白质合成有关, 而红根草对 P₃₈₈、L₁₂₁₀ 白血病细胞株的细胞毒作用是通过抑制 DNA、RNA 合成而发挥作用的, 对蛋白质合成无影响。

1.2 抑制白血病细胞分裂增殖 冬凌草、绿舒筋、茯苓、藤黄等中药均可作用于有丝分裂不同时期的白血病细胞而抑制细胞分裂增殖, 冬凌草可引起 G₂+M 期细胞堆积, 绿舒筋阻止癌细胞由 G₁ 期向 S 期过渡, 茯苓可使肿瘤细胞 G₀/G₁ 期增多, S 和 G₂+M 期细胞减少^②, 而藤黄对 L₁₂₁₀ 细胞的作用发生在 G₁、S 期, 它抑制细胞 G₁→S 期的进行, 破坏 S 期细胞^③。

1.3 干扰白血病细胞的能量代谢 槲皮素对 P₃₈₈、L₁₂₁₀、L₇₇₁₂ 有较强作用, 其抗癌机理在于它对线粒体琥珀酸氧化酶有较强抑制作用, 另一方面, 它还是较强的钙调素抑制剂, 能直接与钙离子-钙调素复合物反应, 拮抗钙调素作用。薛惟建等人发现东北贯众(其有效成分贯众 B)使 P₃₈₈ 细胞线粒体肿胀、外膜溶解消失、嵴变性崩解、明显抑制肿瘤细胞耗氧, 干扰肿瘤细胞能量代谢^④。另有报道大黄蒽醌衍生物对肿瘤细胞呼吸有抑制作用。

此外, 细胞毒型药物的药理作用还包括改变癌细胞环核苷酸含量, 干扰膜信息传递及影响膜内外电荷等诸多方面, 国内外也有文献报道, 美登木属、云南红豆杉、茜草、苏木、小红参、雷公藤、墓头回等中药对白血病瘤株、细胞株有一定抑制作用, 其机理有待进一步探讨。日本 Tashio 发现绞股蓝人参二醇和原人参二醇、绞股蓝皂甙 XV、XXI、XXII、XXXIII、XXXIV 等均有抗白血病作用。

2 提高机体免疫力的免疫型药物 这类药物的抗白血病作用不是表现在直接细胞毒作用, 而是通过提高机体免疫力而达到杀灭肿瘤细胞的作用, 这就是所谓的“固本、扶正”作用, 这类药物又可分为促进机体特异性免疫药物和促非特异性免疫药物两类。

云芝多糖、香菇多糖、虫草多糖对肿瘤细胞的杀伤作用是通过促进机体免疫功能而实现的, 它们能增加淋巴细胞激活因子(LAF)的产生, LAF 可使多种未成熟的前 T 细胞成熟, 促进淋巴因子(如白细胞介素-2 即 IL-2)的产生; 它们也是有效的 T_H 激活剂。香菇多糖诱导的白细胞介素-1 可使效应细胞对白细胞介素-2 的敏感性增高, 被激活的效应 T 细胞能破坏肿瘤细胞。另一方面, 这三种多糖成分能升高血浆蛋白质水平, 促进抗体生成, 增强体液免疫, 还可提高 NK 和 Mφ 细胞对各种淋巴因子的敏感性, 破坏杀伤靶细胞, 诱生肿瘤坏死因子(TNF)和干扰素破坏肿瘤细胞。

有人发现补骨脂素注射液对白血病患者原代细胞的杀伤作用主要与其促进网状内皮系统功能、促进淋巴细胞转化有关。人参可刺激单核-巨噬细胞系统的吞噬功能, 增加补体、抗体含量, 在细胞免疫、体液

免疫上增强机体免疫功能, 达到抗癌目的; 绿舒筋、茯苓、大豆皂甙除具有细胞毒作用外, 前两者均可增强机体巨噬细胞活性, 是重要的免疫调节剂。大豆皂甙可增加机体细胞免疫功能, 芦荟可增强机体 NK 细胞活性。

刺五加皂甙、多糖成分均有诱生干扰素的作用, 有人发现中国商陆皂甙能诱生 γ -IFN、IL-2 及淋巴毒素(LT), 这种混合淋巴因子(MLF)对人 Mol T 4(人 T 淋巴细胞白血病细胞株)有细胞毒性作用, 对人正常细胞株(MISH 株)无毒性作用⁽⁵⁾。

此外, 黄芪可全部逆转因环磷酰胺造成的免疫抑制现象。最近, 有人从云芝菌丝体中分离到一种云芝糖肽(polysototaribe-piptide, PSP), 对 SLY(人单核细胞白血病株)等 4 种瘤株具有抑制作用, 与一般多糖类免疫型药物相比, 具有抗癌和免疫调节双重作用⁽⁶⁾。

细胞毒型药物是以杀伤癌细胞为基础的, 它的最大缺陷是对正常细胞的破坏作用, 如何克服细胞毒型药物这一致命弱点? 一方面, 可将细胞毒型药物与免疫型药物进行配伍, 于是有了扶正培本方药, 这类中药可提升血象, 增强机体免疫功能, 如十全大补汤可活化网状内皮系统、激活补体 C₃、诱生 INF, 增强丝裂霉素 C 对白血病细胞的毒性作用和减轻免疫抑制反应; 益气养阴方、补气养血方均有保护骨髓杀灭癌细胞作用, 陈泽涛则利用荧光偏振技术, 从分子水平证明了两方药对 L₇₂₁₂ 白血病细胞膜流动性的改变, 从而达到抗白血病目的。复方生脉液、脾肾方能激活和保护机体免疫功能, 抑制肿瘤生长, 增强药效, 有明显抗转移作用。成都曾继宏研制的复方三生针的抑瘤作用也是基于增强机体防御功能, 调动机体防御抗病能力而实现的。马俊英等⁽⁸⁾发现益元康对 HL-60、K₅₆₂ 的杀伤作用可能与调整 cAMP/cGMP, 提高免疫功能有关。另一方面, 为克服细胞毒型药物的弱点, 还可用化学抗白血病药物与扶正中药相结合的中西医结合疗法, 这种治疗方法效果显著, 有利于提高存活率, 减低复发率。如临床上用活血化瘀药加抗癌药治疗急性白血病, 总有效率达 87.50%, 比单用西药高出近 30%, 且毒副作用更小, 在实验研究中, 有人发现冬凌草、茯苓与抗癌药合用对白血病瘤株均有协同增效作用, 人参与环磷酰胺合用也有类似协同作用, 国外还有将人参皂甙、三尖杉酯碱等联合研制成新型抗肿瘤制剂⁽⁷⁾。由此可见, 中西医结合疗法治疗白血病有着广泛的发展前景, 但对其机理有待进一步深入。

另外, 我国中医学者从中医辨证论治入手, 应用清热解毒、活血化瘀、扶正培本等中医治则进行白血病的治疗, 取得了较好的临床效果。日本、美国从分子和细胞水平研究了这些治则的机理, 证实了中医辨证论治的可靠性和科学性, 如活血化瘀方药斑蝥制剂、莪术制剂、天仙丸、活血化瘀方等, 经研究这类方药对实验性动物肿瘤有一定抑制作用, 如天仙丸可抑制多种瘤株, 对 6 种白血病细胞株 P₃₈₈、P₃₈₈/ADR、CCRF、CEM、K₅₆₂、Mol T 4、HL-60 均有杀灭作用。有学者认为活血化瘀方药抗白血病机理在于能改善肿瘤周围形成的纤维蛋白网络, 使抗癌药和免疫活性细胞能进入瘤内发挥治疗和攻击作用, 有人从分子和细胞水平推测, 活血化瘀中药能提高癌细胞内 cAMP 水平, 改变细胞膜结构和功能, 使抗癌药更易进入肿瘤细胞将其杀死; 有研究表明清热解毒方药中的梅花点舌丹、清热解毒方、犀黄丸等, 其抗癌机理主要在于提高肿瘤细胞 cAMP/cGMP 及 cAMP 水平, 对肿瘤细胞 DNA、RNA 合成的抑制作用及增强免疫力、保护骨髓造血。

3 诱导分化类药物 目前体外诱导分化实验常用的细胞株有 HL-60(人早幼粒白血病细胞株)和 Friend 红白血病细胞株, 在分化诱导剂作用下, Friend 红白血病细胞株由形态学上的原红细胞(Proerythroblast)分化成中幼红细胞(normoblast), 其成熟主要标志是 Hb 的合成, 表现为联苯胺阳性反应⁽⁹⁾。HL-60 在分化诱导剂作用下, 可向粒系、单核-巨噬细胞系、嗜酸性粒细胞分化⁽¹⁰⁾, 其主要生化标志是硝基蓝四氮唑还原反应(NBT 还原反应)⁽¹¹⁾。K₅₆₂ 人类红白血病细胞株是 1975 年由 Lozzio 从一个发生原始细胞危象的慢粒患者外周血过滤而建立的, 它在诱导分化剂作用下可向红系、巨核系分化⁽¹²⁾, K₅₆₂ 现已是体外诱导分化试验常用的模型。

国内外已有许多文献报道 HL-60 和 K₅₆₂ 的分化诱导剂, 但用中药成分作为白血病细胞株的分化诱导剂尚属起步, 三尖杉酯碱、人参皂甙、苦参、熊胆、巴豆均可诱导 HL-60 向单核-巨噬细胞系分化^(13~16), 而葛根有效成分(S₈₆₀₁₉)、三七皂甙则可使 HL-60 向成熟中性粒细胞分化^(17, 18), 猪胆汁酸钠既可诱导 HL-60 向单核-巨噬细胞系分化, 又可向中性粒细胞分化⁽¹⁹⁾。人参皂甙除了可诱导 HL-60 细胞株外, 还可诱导 K₅₆₂ 生成 Hb⁽²⁰⁾, 使 U₉₃₇(人单核白血病细胞株)向成熟单核-巨噬系分化⁽¹³⁾。

常用分化诱导剂如维甲酸(RA)、TPA

(12-0-teradecanoyl-13-phorbolacetate)、丁酸钠、维生素 D₃、DMSO(二甲亚砜)的诱导分化机理首先是这些诱导剂与细胞膜或胞质内的特异受体相结合⁽²¹⁾, 如 RA 与细胞胞浆 RA 结合蛋白(CRABP)结合, 佛波醇酯类(如 TPA)与蛋白激酶 C(PKC)相结合, 同时改变细胞膜脂质和蛋白质组成⁽²²⁾, 如 DMSO、RA 在诱导 HL-60 分化时, 磷脂酰胆碱合成受到了抑制, 胆固醇与磷脂的比值升高, 细胞膜微粘度增加, 膜蛋白组成改变, 产生了 7 种新的蛋白及转铁蛋白受体缺失。这些细胞膜上微小的生化改变与细胞分化息息相关, 它们可以调节信息传递系统将细胞分化所需的外界信息传递到细胞内, 如信息传递功能因子肌醇酯(PI)、蛋白激酶 C、蛋白激酶 A(PKA)、膜信息传递信使 cAMP 以及酪氨酸蛋白激酶(PTK)在细胞分化前后量和活性都有变化, 它们被认为是药物作用的靶点, 这更证实了信息传递系统在细胞分化中的重要作用。以上这些细胞内分子生化水平的改变最终将导致细胞内癌基因表达的改变, 而使细胞诱导分化得以发生。研究发现, 在癌细胞的分化诱导过程中, 大部分化合物可引起癌基因表达的变化, 一般认为在白血病细胞中的 c-myc 癌基因调节在增殖分化中起重要作用, c-myc 在分化作用早期明显降低, 然后消失。

中药及天然药物抗白血病的机制和药理作用是多方面的, 由于它们本身成分复杂, 各种成分都可能有不同的药理作用及抗白血病的机制和途径, 所以一种药物作用于白血病的各种机制也是相互渗透、相互联系的。

目前, 抗白血病的中药及天然药物的研究多仅限于实验阶段, 与临床应用还有一段距离。由于种属的差异, 体内作用与体外作用的差异, 使得某些药物临床验证周期过长, 因此有人主张用人肿瘤细胞系, 认为它比动物模型更接近人体内药物与癌细胞作用情况; 某些药物有效成分或单体毒性太大, 需进行结构改造才能应用于临床; 对于抗白血病的复方药的疗效判断不明确, 特别是单用瘤块体积增减来衡量药效, 这很不恰当, 因此有人提出了“中药抗肿瘤研究的免疫指标”, 这为今后研究扶正中药提供了依据⁽²³⁾; 目前, 中药对白血病增殖抑制作用的研究指标还不够客观, 应寻找更为客观、准确、简便的指标, 如可借鉴体外抗癌药敏试验的四唑蓝显色法(MTT 法)、人癌干细胞克隆生成技术(HTCA 法)用于抗白血病药物筛选, 将使筛选工作更为可靠。另外, 还应积极将生化领域、分子生物学、免疫学中的新技术、新方法引

入抗白血病药物筛选, 结构改造、药理研究等方面, 迅速取得研究成果, 缩短实验周期。总之, 国内外对化学药物抗白血病的研究已有几十年的历史, 而中药对白血病的治疗及其机理研究还刚刚起步, 这就要求我们必须从广度和深度入手, 即拓展筛选范围, 进一步加强机理探讨, 才能取得中药及天然药物抗白血病的突破。

参 考 文 献

1. 王庆瑞, 王绵英, 华海婴, 等. 鲁山冬凌草甲素的抗肿瘤作用研究. 河南医科大学学报 1987; (4): 372.
2. 范 勇, 杜德林, 李秀森, 等. 茯苓素对人白血病细胞系 HL-60 增殖的影响. 军事医学科学院院刊 1989; 13(6): 423.
3. 曲宝玺, 纪运中, 章 萍, 等. 藤黄 II 号对白血病 L₁₂₁₀ 细胞杀伤动力学研究 I——显微分光光度计观察. 中国肿瘤临床 1991; (1): 53.
4. 薛惟建, 王士贤, 李德华. 贯众抗肿瘤有效成分对 P₃₈₈ 细胞超微结构及细胞呼吸的影响. 中国药理学通报 1987; 3(5): 291.
5. 徐志工, 郑玲莉, 杨嗣坤, 等. 中国商陆皂甙诱生淋巴因子的能力及其抗肿瘤细胞效应的研究. 第二军医大学学报 1990; 11(5): 409.
6. 储大同, 孙 燕, 林娟如, 等. 黄芪提取成份对癌症患者淋巴细胞免疫功能恢复及对小鼠免疫抑制逆转的作用. 中西医结合杂志 1989; 9(6): 351.
7. 陈泽涛, 顾振东. 中药对淋巴细胞型白血病小鼠细胞膜流动性的影响. 中西医结合杂志 1991; 11(1): 39.
8. 马俊英, 徐建国, 任连生, 等. 中药益元康冲剂的实验研究. 山西中医 1990; 6(1): 31.
9. Rowley PT. K₅₆₂ human erythroleukemia cells demonstrate commitment. Blood 1985; 65(4): 862.
10. Steven JC. The HL-60 promyelocytic leukemia cell line: proliferation, differentiation and cellular oncogene expression. Blood 1987; 70(5): 1233.
11. Matsui T, Yoshinobu N, Nobuhisa K, et al. Effect of calmodulin antagonists and cytochalasins on proliferation and differentiation of human promyelocytic leukemia cell line HL-60. Cancer Res 1985; 45(1): 311.
12. Tsiftoglou AS, Wong W, Tsamadou AI, et al. Cooperative effects of hemin and anthracyclines in promoting terminal erythroid cells. Exp-Hematol 1991; 19(9): 928.
13. Boyd AW, Sullivan JR. Leukemia cell differentiation in vivo and in vitro: arrest of proliferation parallels the differentiation induced by the antileukemic drug harringtonine. Blood 1984; 63(2): 384.
14. 李 薇, 易永林. 人参茎叶总皂甙对人白血病细胞株的诱导分化作用. 山西白血病 1992; 1(1): 34.

15. 徐建国, 马俊英, 杨贵生, 等. 苦参煎液对人早幼粒白血病细胞的诱导分化作用. 中国中药杂志 1990; 15(10): 49.
16. 李秀森, 任蕴芳, 卢涌泉, 等. 熊胆对 HL-60 细胞系分化诱导作用. 军事医学科学院院刊 1988; (5): 335.
17. 焦 鹭, 刘红岩, 韩 锐. 葛根有效成分 S_{85015} 对 HL-60 细胞的分化诱导及细胞周期移行作用的研究. 中华血液学杂志 1990; 11(2): 83.
18. 徐罗玲, 王伯瑶, 高 军. 三七皂甙 R_1 对 HL-60 细胞系体外诱导分化作用的初步研究. 华西医科大学学报 1991; 22(2): 124.
19. 任蕴芳, 于秉治, 廖世栋, 等. 猪胆汁酸钠对人早幼粒白血病细胞系(HL-60)作用机理的初步探讨. 中国药理学与毒理学杂志 1992; 6(2): 121.

20. 姜绪荣, 林慧娟, 李荆华. 人参皂甙对 K_{562} 红白血病细胞系的诱导分化作用. 大连医学院学报 1991; 13(4): 22.
21. Chandler VL, Maler BA, Yamamoto KR. DNA sequences bound specifically by glucocorticoid receptor in vitro render a heterologous promoter hormone responsive in vivo. Cell 1983; 33(2): 489.
22. Cooper RA, Seephen HC, Peter AC, et al. Inhibition of sterol and phospholipid synthesis in HL-60 promyelocytic leukemia cells by inducers of myeloid differentiation. Cancer Res 1981; 41(5): 1847.
23. 窦 骏, 吴敏毓. 中药抗肿瘤研究的免疫指标探讨. 中国中西医结合杂志 1992; 12(4): 239.

(收稿: 1994—06—30 修回: 1994—10—30)

银杏叶抗血栓及改善微循环作用的实验研究

章剑今 王 敏 余逸波 郝 放 胡建成

本实验观察了银杏叶的体外抗血栓作用及改善微循环功能, 并与水蛭组进行对比, 现将实验结果报告如下。

材料与方法

1 材料 2~2.5 kg 的新西兰兔 20 只, 雌雄兼用; 20±1 g NIH 系小鼠 40 只, 雌雄兼用, 均由浙江省医科大学动物房提供。50% 的银杏叶及 50% 的水蛭醇提取液由本室按正规流程制备。

2 实验方法

2.1 将 20 只实验兔随机分为银杏叶(观察)及水蛭(对照)2 组, 每组 10 只。2 组分别灌胃上述银杏叶液与水蛭液, 每次 5 ml, 每 2 h 1 次, 共 4 次。设体外血栓长度(cm), 干、湿重(mg)与凝血时间(s)为

观察指标。分别于灌药前及 4 次灌药结束后各测定次。用 t 检验作各组自身前后对比与两组间对比。

2.2 40 只实验小鼠随机分为观察组与对照组, 每组 20 只, 观察组腹腔内注射 1% 的 $O_{111}B_4$ 大肠杆菌内毒素 0.1 ml/10 g 后即腹腔内注射银杏叶注射液 0.4 ml/只。对照组注射内毒素后即注射注射用水 0.4 ml/只。分别观察注射后即刻、30 min、1 h、6 h 及 24 h 的微循环改变。统计用药前后及用药 1 h 时的细动脉(A)管径及细静脉(V)内的流速。流速分级及积分参照田牛的方法(田牛, 微循环, 第一版, 北京: 科学出版社, 1980: 30)。

结 果 银杏叶对家兔体外血栓及凝血时间的影响, 见附表。各项组间比较无显著性差异(P 均 >0.05)。

附表 银杏叶对家兔体外血栓及凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数		血 栓			凝血时间 (s)
			长度(cm)	湿重(mg)	干重(mg)	
观察	10	用药前	2.01±0.81	96.46±12.29	61.11±4.94	1.98±1.13
	10	用药后	1.24±0.57 *	86.85±14.75 **	55.18±3.94 **	4.15±1.94 **
对照	10	用药前	2.21±0.44	106.21± 8.26	68.38±11.88	2.94±1.41
	10	用药后	1.57±0.28 *	95.44±11.34 **	63.99±10.30 **	4.32±1.68 *

注: 与用药前比较, * $P<0.05$; ** $P<0.01$

微循环观察: 两组小鼠用药后, 对照组细动脉缩小, 细静脉内血流速度积分增高, 表明血流变慢($P<0.05$); 观察组用药后细动脉管径扩张, 细静脉内血流速度稍减慢($P>0.05$)。细动脉管径改变, 对照组缩小, 观察组扩张; 细静脉内血流速度, 对照组减慢明显, 观察组减慢不明显, 但组间两项指标比较

有显著性差异(P 均 <0.01)。

讨 论 本结果显示银杏叶与水蛭均有抗栓、抗凝作用。但水蛭不能拮抗内毒素所致的细动脉痉挛及血流速度的减慢, 而银杏叶因其同时具有清热解毒及扩血管抗凝作用, 可能有中和内毒素而纠正微循环障碍作用。故笔者认为两者合用可起到更好的治疗作用。

(收稿: 1994—03—30 修回: 1995—02—05)