

· 学术探讨 ·

中医药诱导肿瘤细胞凋亡的可行性探讨

李 达 刘瑞萍 杨淑莲 梁 冰

细胞凋亡作为概念早在 70 年代就被提出,但直到最近几年才受到广泛重视;对于细胞凋亡的认识,不仅丰富了细胞生物学的内容,尤为重要的在于进一步阐明肿瘤的发病机理,诱导细胞凋亡将为肿瘤的治疗提供新的策略。

1 现代医学对肿瘤细胞凋亡的认识 细胞凋亡(apoptosis, APO)又称细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)是 1972 年首先由英国学者 Kerr 等提出,用以描述一种在形态学上有别于细胞坏死(necrosis)的细胞死亡过程。是在某些生理或病理条件下,细胞接受到某种信号的触发后主动参与并遵循一定程序的较慢的死亡过程,它不仅在细胞的发育、分化、成熟、死亡等过程中起着重要作用,而且在肿瘤的发生、生长、细胞损伤反应、信息传递、抗肿瘤药物治疗以及白血病治疗中生长因子的应用等方面具有重要意义,通过 APO,机体能及时地清除过多的,受损的或“危险的”细胞,介导肿瘤细胞发生“自杀”死亡^[1,2]。

APO 是一种由基因控制的为维持内环境稳定的一种细胞自主性死亡过程,凋亡的发生受基因的调控,癌基因 c-myc、抑癌基因 P₅₃ 等可促使 APO 发生,而癌基因 bcl-2 及其相关基因可阻抑 APO 发生,细胞受这两方面的基因调控^[3];调控基因的失常增加了肿瘤的发生机率、活存能力及耐药性,通过调控 APO 调控基因而达到肿瘤治疗的目的,此方面仍有待进一步的研究;此外,还受着激素、神经体液及免疫因素的调控,并涉及复杂的分子机制。

许多药物通过干扰肿瘤细胞生长、代谢、增殖等过程,最终触发肿瘤细胞发生凋亡;包括:(1)致 DNA 损伤剂:通过直接损伤 DNA,引起 DNA 降解,导致 APO,如阿霉素、顺铂、卡氮芥等,顺铂等主要诱导增殖细胞的 APO,卡氮芥等对不同周期均有作用;(2)拓扑酶抑制剂:机制不甚清楚,多认为是促进拓扑异构酶与 DNA 形成稳定的切割复合物,该复合物与 DNA 复制叉“碰撞”导致 APO 发生,如喜树碱、鬼臼乙叉甙;(3)抗代谢药物:由于 DNA

合成期超螺旋的解开和复制使 DNA 更易受损,如氮甲嘌呤、阿糖胞苷;上述两类药物均倾向于使 S 期的细胞发生 APO。(4)激素类:糖皮质激素如地塞米松可特异性、高亲和力地与受体结合,进入细胞核,作用于 DNA,诱导激素依赖性肿瘤发生 APO,雌激素拮抗剂他莫西芬可诱导雌激素受体阳性的乳腺癌细胞株等 APO;(5)诱导分化剂:主要诱导 HL-60 细胞发生 APO,如维甲酸、二甲基亚砷等^[1,3,4]。

近年来,发现免疫系统中的许多细胞因子、抗原及受体和细胞成分均与 APO 的诱导有关,具有生物活性的肿瘤坏死因子(TNF)通过激活 Zn⁺⁺敏感的核酸内切酶,裂解肿瘤细胞 DNA 介导 APO 发生,白细胞介素 2(IL-2)可诱导抗原刺激后的 CD₄⁺、CD₈⁺ T 细胞发生凋亡,γ-干扰素(IFN)可增强 TNF 诱导 APO 的作用^[5,6]。

综上所述,肿瘤与 APO 密切相关,利用 APO 机制清除肿瘤细胞将引发出治疗的新观念与新手段,如何选择理想的方法诱导肿瘤细胞大量凋亡,达到肿瘤消退或逆转的目的,是今后分子肿瘤学值得研究的课题之一。

2 中药诱导肿瘤发生细胞凋亡的可行性基础

2.1 中药有诱生 TNF 作用 TNF 在体外可引起肿瘤细胞株的 APO,有学者认为,体内肿瘤所产生的自发生 APO 乃因浸润在肿瘤组织内部的巨噬细胞释放的 TNF 所致。中药云芝多糖、香菇多糖、虫草多糖均能诱生 TNF^[7],十全大补汤,小柴胡汤及其中部分中药如柴胡、当归、川芎、桂枝、茯苓等均具有良好的诱生 TNF、提高 TNF 活性的能力^[8],从而可诱导肿瘤 APO 的发生,此乃上述药物抗肿瘤的作用机制之一;中药黄芪、当归、枸杞、党参、五味子、芍药、黄芩、生地、甘草、茯苓多糖、猪苓多糖等皆可诱生 IL-2、IFN 的产生^[9,10],上述中药通过诱生 IL-2、IFN 从而可介导肿瘤细胞发生 APO 或增加 TNF 诱导 APO 发生的能力。

上述中药单药或复方抗肿瘤的作用不是表现在直接杀伤方面,而是通过提高机体免疫力达到间接杀伤之目的,即所谓通过“扶正固本”达到“祛邪”的目的,从 APO 角度可进一步阐明上述药物的作用机理。通过

对上述中药进行有效成分的分析,加以提纯,可加强诱导 TNF、IL-2 等能力,有利于诱导肿瘤 APO 的发生,提高疗效,此提供了中药诱发 APO 的免疫学基础。

2.2 中药的细胞毒作用 实验研究证实,某些抗肿瘤的中药作用机理之一是通过细胞毒作用,即损伤 DNA 而发挥效力的,如冬凌草甲素乙素、大黄、茯苓、人参、三七皂甙、藤黄、绿舒筋等均具有良好的损伤 DNA 而发挥抗白血病的作用⁽⁷⁾;上述中药或其提取成分因在抗白血病中毒副作用小,对机体内起重要防御作用的淋巴细胞及骨髓造血的破坏作用不明显,从 APO 角度分析,推测其作用与直接杀伤细胞引起坏死不同,而是使白血病细胞遵循一定程序的较慢的类似于“自杀”死亡的 PCD。

2.3 中药的诱导分化作用 促使肿瘤细胞分化的药物,其最终结果也是引起肿瘤细胞的凋亡,HL-60 细胞经维甲酸处理 6~8 天可使具有成熟中性粒细胞形态的细胞比例增加,紧接着是具有凋亡特征的细胞比例增加⁽¹¹⁾。许多中药及其有效成分同样具有良好的诱导分化作用,人参皂甙、苦参、熊胆、巴豆与葛根有效成分 S 86019、三七皂甙、猪胆汁酸钠等⁽⁷⁾,从 APO 角度分析上述中药,认为其通过诱导 APO 发生而发挥抗肿瘤作用。

2.4 某些中药可使机体内激素水平提高 激素可引起某些肿瘤发生 APO,如糖皮质激素水平升高可引起淋巴细胞白血病和恶性淋巴瘤的 APO 发生⁽¹¹⁾。中药人参、刺五加、党参可刺激机体分泌肾上腺皮质激素,甘草及甘草甜素、甘草次酸成分具有糖皮质激素样作用⁽¹²⁾,上述中药由于能使机体内激素水平升高,推测其有诱导 APO 发生的作用,对治疗激素依赖性肿瘤提供了可应用的中药。

中药的上述诸多作用为诱导肿瘤 APO 奠定了基础,也有利于进一步阐明上述中药的抗肿瘤机制。已有实验证实,中药确有诱导 APO 发生的作用,在体外以白血病和实体瘤细胞系为靶细胞,在 $1\mu\text{g/ml}$ 的美洲商陆(PWM)存在下,人淋巴因子激活的杀伤细胞(LAKC)在 24 h 内就可诱导这些肿瘤细胞出现以 DNA 断裂成不连续的片断为特征的 APO 现象,荧光染色流式细胞仪分析显示,在 PWM 存在下,LAKC 诱导靶细胞凋亡的程度明显高于 LAKC 单独使用时⁽¹³⁾。这为研究中药诱导 APO 发生打下了基础,有了良好的开端。

3 中西医结合开展细胞凋亡的研究 现代医学对 APO 的研究方法有:(1)细胞形态学观察:表现为细胞浓缩、体积变小、胞膜突起、细胞浆中细胞器

密集及 DNA 断裂形成凋亡小体;(2)核酸电泳法观察:由于细胞内核酶内切酶的激活,切割染色质核小体之间的 DNA,使得染色质 DNA 降解成大小不等的 DNA 片段,通过核酸电泳后呈梯状分布,简称 DNA 梯子;(3)DNA 缺口末端标记测定法:有的 APO 时 DNA 的双链并未断裂,呈单链断裂,可利用外源性末端脱氧核酸转移酶标记法进行测定;(4)流式细胞仪测定法:发生 APO 时, DNA 断裂,在流式细胞仪光度计上呈现亚二倍体核型峰的特征,此法尤适用于研究抗癌药诱导 APO 发生机制^(14, 15)。

通过上述分析,中药确有诱导肿瘤细胞发生 APO 的可行性基础,在体外以肿瘤细胞株为靶细胞,经过上述中药煎液或其有效成分的提取物培养处理,而后采用流式细胞仪等方法进行测定,以判断并证实其诱导 APO 发生的作用,旨在筛选出有良好诱导 APO 发生的中药单药或复方,进行有效成分分析、提纯,获得高效诱导效应的中药成分,为进行临床研究奠定基础;临床研究时,设立治疗组与对照组,治疗组在辨证施治基础上,选用或侧重应用上述证实有诱导 APO 发生作用的中药进行治疗观察,定期检测 APO 发生情况,以探讨临床应用效果;上述研究一则深入研究抗肿瘤中药的作用机理,二则在传统扶正祛邪治疗基础上,赋予新的含义,提出新的治则,旨在提高疗效。

4 展望 由于 APO 与肿瘤的发生、发展及治疗关系密切,这方面的研究将是今后几年肿瘤学领域的热门课题;中医药抗肿瘤确有其效,其作用机制是多方面的,对其机理研究才刚刚起步,经上述文献分析,中药确有诱导肿瘤细胞发生 APO 的可行性,为我们从 APO 角度研究中药抗肿瘤机制奠定了基础;中医药抗肿瘤有其广阔前景,但目前多数研究仅限于实验阶段,与临床应用进行治疗还有距离,深入广泛地应用现代科学技术进行研究,旨在加快步伐,缩短距离,为研究出临床应用有良好效果的、毒副作用低的抗肿瘤中药再谱新篇。

参 考 文 献

1. 栗 俭, 药物诱导的肿瘤细胞凋亡研究进展. 国外医学·肿瘤学分册 1995; 22(1): 7-9.
2. 裴雪涛. 细胞程序性死亡与白血病的治疗. 中华血液学杂志 1995; 16(2): 102-103.
3. 王 嵘. 细胞的凋亡. 国外医学·输血及血液学分册 1995; 18(4): 193-195.
4. 楼丽广, 胥 彬. 抗肿瘤药物与细胞程序性死亡. 中国肿瘤临床 1995; 22(2): 136-138.

5. 董海东. 细胞凋亡的免疫学诱导及其调控机制. 国外医学·免疫学分册 1995; 18(2): 61—64.
6. 董善庆. 细胞凋亡及其意义. 国外医学·内科学分册 1995; 22(7): 293—295.
7. 陈婷婷, 祝彼得. 抗白血病中药及天然药物的研究现状. 中国中西医结合杂志 1995; 15(5): 317—319.
8. 陈瑞东. 对癌症有效的中药方剂. 第 1 版. 北京: 中国医药科技出版社, 1992: 29—32.
9. 黄海茵, 于尔辛. 中药对 NK、LAK 细胞及 IL-2 活性的影响. 中国中西医结合杂志 1993; 13(4): 253—255.
10. 李家琦, 夏英. 中药诱导干扰素作用的探索. 上海中医药杂志 1994; (1): 34.
11. 戴育成, 毛亨贞, 陈功星. 细胞凋亡在肿瘤发生和治疗上的意义. 肿瘤 1995; 15(3): 279—282.
12. 王筠默. 中药药理学. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 102.
13. 董海东, 邢峰, 郭连英, 等. 凝集素依赖的 LAK 细胞介导的肿瘤细胞凋亡. 中华肿瘤杂志 1995; 17(4): 245—247.
14. 李先根. 调控白血病细胞程序性死亡的相关基因研究现状. 国外医学·输血及血液学分册 1995; 18(3): 151—153.
15. 张亚历, 姜泊, 周殿元. 编程性死亡及研究方法. 细胞生物学杂志 1995; 17(3): 127—128.

(收稿: 1995—11—07 修回: 1996—03—01)

小承气汤加减恢复术后肠功能的疗效观察

薛开远¹ 黎廷进¹ 张志忠¹ 薛辉²

我们自 1987 年 8 月~1994 年 10 月共给 104 例不同术后患者服用小承气汤加减的方药, 对肛门排气、排便时间进行了观察, 现报告如下。

临床资料 选择我院腹部术后患者 204 例随机分为治疗组及对照组, 治疗组 104 例, 其中男 68 例, 女 36 例, 年龄 1~69 岁, 平均 45.5 岁。全组病例中阑尾切除术后 36 例、胃次全切除术后 18 例、胆囊切除术后 22 例、小肠部分切除术后 14 例、胃、十二指肠溃疡穿孔修补术后 6 例、左半结肠切除术后 2 例、婴儿肠扭转复位术后 1 例、右半结肠切除术后 1 例、直肠癌直肠乙状结肠经腹切除、腹膜外吻合术后 1 例、脾切除术后 2 例、盆腔内胚瘤摘除术后 1 例。对照组 100 例中男 59 例, 女 41 例, 年龄 2.5~70 岁, 平均 47.2 岁。其中阑尾切除术后 33 例, 胃次全切除术后 12 例, 胆囊切除术后 20 例, 小肠部分切除术后 16 例、右半结肠切除术后 3 例、直肠癌直肠肛管经腹会阴联合切除术后 2 例、脾切除术后 3 例、阔韧带囊肿切除术后 2 例, 肝左外叶切除术后 1 例、斜疝修补术后 8 例。

治疗方法 治疗组给予中药口服, 组成: 党参 10g 白术 12g 茯苓 12g 厚朴 15g 枳壳 12g 木香 15g 大黄 9g(后下), 各药物剂量应根据患者年龄大小和体质强弱酌情增减, 水煎服, 每日 1 剂, 分 2 次服, 一般于术后 10h 开始服药。对照组患者术后不给任何刺激肠蠕动的药物, 观察肛门自然排气及肠鸣音恢复情况。

结果 治疗组术后肛门排气时间分别为: <24h 者 87 例占 83.7%, 24~48h 者 13 例占

12.5%, >48h 排气者 4 例占 3.8%。对照组依次分别为 4 例占 4%、19 例占 19%、49 例占 49%。>72h 排气者 28 例占 28%。两组资料经统计学处理后, 治疗组与对照组术后肛门平均排气时间(h, $\bar{x} \pm S$, 下同)分别为: 23.98 ± 5.48 和 49.60 ± 18.25 , 治疗组明显早于对照组, 有非常显著差异($P < 0.01$)。且治疗组均为服 1 剂后即有肠鸣音恢复并有排气或排便, 无 1 例腹泻及其他副作用。

讨论 由于腹部手术对胃肠的刺激, 使术后的胃肠道处于一种保护性的抑制状态, 致使肠蠕动减弱或停止。一般腹部手术患者肛门自然排气时间多在术后 48~72h, 少有 24h 内通气者。而服用本药后则可促其胃肠蠕动, 并能较快地使肛门排气或排便, 恢复其正常功能。本方剂为小承气汤加减而成, 其功效以补中益气, 健脾和中, 宽中行气, 消积导滞为特点。方中加用党参、白术、茯苓以补中健脾, 和中化饮, 加木香以行气止痛, 厚朴、枳壳可宽中理气, 散满除中, 大黄攻积导滞。有些药理研究证明, 木香对胃肠有轻度刺激, 并能促进蠕动及分泌, 枳壳能增强胃肠节律性蠕动, 大黄则可刺激大肠增加推进性蠕动, 促其排便。同时大黄、木香、厚朴对葡萄球菌、链球菌、大肠杆菌等分别具有程度不同的抗菌和抑菌作用。由于术后患者体质多较虚弱, 故将小承气汤中破气较强的枳实用性缓的枳壳代之, 另外大黄虽属攻下药, 而厚朴和枳壳又均有破气、降逆之功效, 但方中辅以党参、白术以补血益气, 且枳壳、厚朴二者配伍亦可用于虚中夹实之症, 所以该方剂补而不峻, 攻而不猛, 既能扶正, 又可祛邪, 且无毒副作用, 孕妇应慎用。

(收稿: 1996—01—15 修回: 1996—03—11)