

# 中药诱导肿瘤细胞分化研究的现状及展望

罗良浩 孙忠义 管 维

肿瘤细胞诱导分化治疗是肿瘤治疗研究的新途径。其基本特点在于不是杀伤肿瘤细胞而是诱导肿瘤细胞分化为正常或接近正常细胞。80 年代以来,国际分化治疗会议已举行了 5 届,肿瘤诱导分化治疗已成为了国际肿瘤研究的一个热点。我国学者在近 10 多年来,即已开始进行了中药诱导肿瘤细胞分化的研究,至目前为止,已发现了几十种中药提取物,在实验中显示有诱导肿瘤细胞分化作用。这在按传统分类的补益类、理血类、清热类、泻下类等类中药中均有。现按其提取物中的有效化学成分分类报告如下。

1 甙类 人参皂甙是人参的主要活性成分。易永林等报道:人参茎叶总皂甙(GSL)对 58 例急性非淋巴细胞性白血病细胞的作用研究表明:对所研究该病各型细胞均有不同程度的诱导分化作用,其中尤以对急粒单及单核粒白血病细胞的诱导分化作用较强。除 8 例外,余 50 例诱导后均表现出不同程度的细胞形态学、功能及细胞化学方面的改变<sup>(1)</sup>。他们还报道了 GSL 对单核样白血病细胞系 U-937 进行了诱导分化作用的研究,结果表明对诱导后的 U-937 细胞,在形态及功能上均表现出向单核-巨噬细胞方向分化。同时还伴有对细胞 DNA 合成抑制而导致的细胞增殖的明显抑制作用。对其作用机制,他们认为诱导后细胞内 cAMP 增加及蛋白激酶 A 的进一步效应,以及干扰素诱生等因素综合作用的结果<sup>(2)</sup>。三七皂甙 R<sub>1</sub> 是中药三七的有效成分之一,徐罗玲等研究发现:其具有较强的诱导 HL-60 细胞(人早幼粒白血病细胞株,因其具有明显的分化潜力,目前已广泛用于肿瘤细胞分化诱导剂的寻找及分化机制的探讨)向粒细胞系分化的能力。在诱导该细胞分化过程中,对其增殖有明显的抑制作用,同位素实验提示同位素标记前体物质的掺入减少,为三七皂甙 R<sub>1</sub> 抑制细胞 DNA 及 RNA 合成所致,且抑制 DNA 合成的作用时间较 RNA 合成的作用时间早,这种抑制可能导致细胞增殖减慢并干扰了细胞基因的表达,促进其分化<sup>(3)</sup>。淫羊藿甙(ICA)是淫羊藿中提取的单体成分,赵勇等利用 NBT 还原试验,检验出 ICA 有促进 HL-60 细胞向粒细胞系分化作用(还原能力上升约 70%),其机制可能为提高 HL-60 细胞内 cAMP 及 cAMP/cGMP 值有关,而后者可促进

细胞分化。以上变化伴随 HL-60 细胞膜表面发生明显变化:出现较多的皱褶和球状突起,胞浆内出现较多的特殊颗粒和嗜天青颗粒,即类似成熟粒细胞表现<sup>(4)</sup>。臭茉莉含高山黄芩甙(属黄酮甙类)及一种醛酸甙和其他成分,我国台湾学者萧国益曾报道其提取物能诱导 HL-60 细胞分化<sup>(5)</sup>。大豆甙元(S86019)为黄酮甙中一种甙元,其系葛根有效成分之一,韩锐等在实验中发现其可使 HL-60 细胞沿粒细胞系统定向分化,其对 HL-60 细胞周期移行的影响是使细胞 G<sub>1</sub> 期百分比增高,S 期百分比下降。而这种影响与诱导分化过程具有明显相关性,随着用药浓度的增加,S 期百分比逐渐下降而 G<sub>1</sub> 期则不断增加,分化细胞百分比亦相应增加,被阻滞于 G<sub>1</sub> 期的细胞可能是分化或将分化的细胞群体<sup>(6)</sup>。S86019 还对小鼠 B<sub>16</sub> 黑色素瘤细胞的分化有诱导作用,其在抑制 B-16 细胞生长的同时增加黑色素生成,明显改变 B-16 细胞形态,显示其诱导小鼠黑色素瘤细胞的分化作用<sup>(7)</sup>。

2 多糖类 茯苓素(F<sub>101</sub>)系由茯苓中提取之茯苓多糖粗提物中所提取的一组小分子化合物。具有抑制肿瘤细胞增殖和激活小鼠腹腔巨噬细胞的作用。许多实验发现有效的诱导白血病细胞分化与抑制其增殖之间存在一定的联系。范勇等将 HL-60 细胞经 F<sub>101</sub> 处理后,可诱导其向单核-巨噬细胞样细胞分化。HL-60 细胞与不同浓度 F<sub>101</sub> 孵育 4 和 6 天,50%~90% 的细胞获得还原 NBT 的能力。其阳性率与还原能力强度随药物浓度增大而增高<sup>(8)</sup>。黑菇多糖(PPS)是平菇属的黑菇子实体分离到的多糖成分,其具有诱导 U-937 细胞向终末成熟方向分化的作用,且对 U-937 细胞体外增殖有明显抑制作用,并认为以上改变与该细胞系细胞膜上特殊受体活性改变有关<sup>(9)</sup>。

3 胆酸盐类 任蕴芳等报道猪胆酸钠(SBA-Na)在体外实验中,对 HL-60 细胞具有抑制增殖和诱导分化作用,他们在探其作用机制时的结果提示,可能与它参与细胞内蛋白激酶 C(PKC)活性的调节及其引起细胞内 c-myc 基因表达降低有关<sup>(10)</sup>。李秀森等报道熊胆(含胆酸盐,胆甾醇及胆色素)能诱导 HL-60 细胞向单核-巨噬细胞方向分化,与 TPA(佛波酯,一种分化诱导剂)等相比,其分化诱导作用出现较晚,且所需浓度较高(可能与该实验所用的熊胆为一种粗制品有关),但其诱导分化的 HL-60 细胞近 100% 地具有还原

NBT 的能力,且也有较强的吞噬乳酸颗粒能力,这对吞噬细胞来说有重大意义<sup>(11)</sup>。

4 有机酸类 韩锐等发现乳酸树中的一种有效成分乳香酸(BC4)可促进 HL-60 细胞分化,其达 10 $\mu$ g/ml 时,80% 的 HL-60 细胞 NBT 还原试验阳性,90% 的细胞具备吞噬功能,酸性磷酸酶活力增强 2—3 倍,形态上核/浆比例缩小,核仁明显减少<sup>(12)</sup>。桂皮酸类中药含桂皮酸及其衍生物,据黄炜等研究中选用桂皮酸处理克隆化高转移人肺巨细胞癌(PGCL<sub>3</sub>)细胞,发现肿瘤细胞在形态、增殖速度、分裂指数、软琼脂集落形成能力和凝集反应等方面均出现向正常细胞表型转变,同时还使肿瘤细胞的侵袭转移能力明显减弱。作者还对上述作用机制作了理论上的探讨<sup>(13)</sup>。

5 甾醇类 谭锐等应用 HL-60 细胞分化模型,从不同海藻类提取物中筛选发现:大团扇藻的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取物具有明显的分化诱导活性,其中之 7a-羟基岩藻甾醇在浓度为 1 $\mu$ g/ml 时,其 NBT 还原率为 85%,还分离到其他甾醇。该文结果显示此类甾醇有可能成为一种新型的人 HL-60 细胞的分化诱导剂<sup>(14)</sup>。在本文前已述及之熊胆亦含甾醇(胆甾醇),推测可能也为其诱导分化因子之一。徐建国等在对 302 种中草药作诱导分化实验中,发现有 22 种中药水提物对 HL-60 细胞有不同程度的诱导分化作用。其中以巴豆、苦参作用明显,芫花、当归等 20 种中药水提物可诱导 60%~90% 的 HL-60 细胞向单核-巨噬细胞方向分化<sup>(15)</sup>。而芫花、当归均含甾醇(谷甾醇),此亦可能为二者诱导分化因子之一。杨佩演等研究发现鹿茸精对 HL-60 细胞有诱导分化作用,且在用药第 2 天即开始出现,至第 6 天后,中幼粒细胞以下的分化细胞比例由用药前的 5% 升到 76%~80%,其中杆状核和分叶核细胞达 18%~21%,NBT 阳性细胞亦高达 52%~61%。基因检测表明加药后第 2 天后,c-myc 蛋白表达开始下降,至第 6 天时,c-myc 阳性细胞由 95%~96% 降至 83%~85% ( $P<0.05$ ),而 c-myc 蛋白表达量则由 181~184 降至 119~128 ( $P<0.01$ )。随着时间的延长,c-myc 蛋白阳性细胞转阴比例增加。鹿茸精含固醇类(动物甾醇),还包括有多糖、多种氨基酸及微量元素<sup>(16)</sup>。推测其中诱导分化因子可能为固醇类,也可能有多糖或其他因子参予。

6 含维甲类 维甲类化合物中有许多具有诱导肿瘤细胞分化作用已有多篇文献报道。我国台湾学者陈健民等曾报道五灵脂亦具有诱导 HL-60 细胞分化作用<sup>(6)</sup>。而五灵脂及前已述及之当归均含维甲类化学成分,推测其可能为五灵脂之诱导分化因子,也可能为

当归诱导分化因子之一。

7 其他 徐建国等报道:苦参及巴豆水煎剂可明显诱导 HL-60 细胞向单核-巨噬细胞方向分化,当巴豆浓度在 4mg/ml 时,NBT 阳性细胞可达 75% 以上。苦参浓度在 8mg/ml 时,NBT 阳性细胞达 80% 以上,并伴随 HL-60 细胞形态学及功能明显改变,包括胞体变大及胞核/胞浆比值变小,吞噬功能增强,这种作用于用药后第 2 天开始出现,第 3 天后逐渐显著<sup>(17,18)</sup>。丹参酮(Tan)为中药丹参的有效成分之一,黄光琦,黄韧敏等报道应用体外细胞培养及流式细胞仪等技术研究结果表明:经 0.5 $\mu$ g/ml 的丹参酮作用后,HL-60 细胞趋向粒细胞系统分化,有部分细胞发生凋亡(11.8%)。丹参酮通过阻止 HL-60 细胞进入 S 期而抑制其 DNA 合成,其作用的分子机制与 c-fos 基因表达增高,c-myc 基因及 bcl-2 基因的表达降低有关。人宫颈癌 ME180 细胞经丹参酮 1mg/L 作用后,形态趋向良性分化,生长受到明显抑制,集落形成率和<sup>3</sup>HITdR 掺入率明显降低,染色体数目有向正常细胞转化的趋向,银染核仁形成区(AgNOR)数目接近正常,并由散在型变为正常的聚合型。加药后的细胞在裸鼠体内成瘤能力降低,瘤细胞趋向良性分化。细胞 RNA 斑点杂交发现 c-myc、c-Ha-ras 癌基因表达受到明显抑制<sup>(19,20)</sup>。 $\beta$ -榄香烯乳系中药郁金一种有效成分的乳化剂,钱军等以其 30 $\mu$ g/ml 作用于体外培养的人肺癌细胞后,发现肺癌细胞生长受到抑制,H-TdR、HuR 掺入率明显下降。流式细胞分析发现该药作用 72h 后,肺癌 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例上升,S 期比例下降。光镜及电镜观察可见药物作用后癌细胞增殖减慢,缩小变圆,微绒毛减少,核浆比例下降,异染色质增多,提示该药可在细胞生物学及形态学水平上逆转人肺癌细胞表型,诱导这些细胞趋于分化<sup>(21)</sup>。大蒜油是大蒜的主要有效成分。李晓光等利用 50mg/L 大蒜油处理胃癌 BGC-823 细胞 48h 后,发现其已显著抑制 BGC-823 细胞的生长。在光学显微镜下观察可见细胞变得较平坦,呈多角形,核浆比例降低,近似正常细胞。将此细胞进行裸鼠致瘤性分析,结果该细胞的致瘤性全部消失,经基因检测技术分析提示:大蒜油系通过促进抑癌基因 P53 和 P21 的表达,抑制细胞恶性增殖,诱导凋亡,促进分化<sup>(22)</sup>。

中药复方对肿瘤分化诱导作用的实验研究仅个别报道,本文从略。以上研究所发现的中药及其有关的有效成分,无疑为今后肿瘤细胞分化诱导剂的寻找、研制及分化诱导机制的研究,提供了有益的思路及借鉴。

而且这方面研究对中医药治疗癌瘤也提供了新的



思路,方法及疗效评价标准,中医药调节机体功能失调,过去仅只是指调节脏腑功能的失调;而中医药诱导分化治疗是在细胞水平及基因水平上,调节其增殖与分化控制的失调。癌细胞不再看成是“癌毒”而是分化不完全的未成熟细胞。中药诱导分化剂使其进一步分化完全,发育成为成熟细胞并丧失恶性特征,这从细胞水平来看,也是一种“扶正”治疗。其疗效标准是分化指标的出现,肿瘤恶性特征的消失,生存期的延长,而不是或不仅仅是肿块大小的变化。当然,分化指标的出现是最主要的。

肿瘤分化诱导治疗的发展有赖于高效低毒的分化诱导剂的不断发现。在这方面,中草药有着很大优势,这是因为中药资源丰富,至今已达 1 万余种。而且中医药学历史悠久,几千年来积累了大量宝贵经验,为发掘、研制高效低毒的这方面中药提供了极为有利的条件。在研究中除可参考上述中药化学结构、成分等因素外,还有一些其他思路可供考虑:如干扰素尤为  $\gamma$ -干扰素可诱导癌细胞分化,而中药中能在体内诱生  $\gamma$ -干扰素的药物就有很多<sup>[23]</sup>。另外我国生物学家张颖清以组织发生学判断,许多动植物中药可能存在诱导分化因子(他称之为“全息胚分化促进剂”),并列举了 10 余种中药加以说明<sup>[24]</sup>。总之,肿瘤诱导分化治疗日益受到国内外学者的重视及积极研究,中医药在这领域的研究及应用的前景广阔。

(本文蒙中国中医研究院广安门医院余桂清、顾丽贞教授指正,特此致谢)

### 参 考 文 献

1. 易永林,李 薇,郝秀智.人参茎叶总皂甙对 58 例急性非淋巴细胞白血病细胞的诱导分化作用.中国中西医结合杂志 1993;13(12):722—724.
2. 李 薇,易永林,李兆华.人参茎叶总皂甙对单核样白血病细胞系 U-937 的诱导分化作用.白求恩医科大学学报 1994;20(4):384—385.
3. 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—127.
4. 赵 勇,崔玉言,张 玲,等.淫羊藿甙对人急性早幼粒白血病细胞 HL-60 分化的影响.中华肿瘤杂志 1997;19(1):53—54.
5. 杜 建,林端宜主编.台湾中医药纵览.北京:中国中医药科技出版社,1993:185.
6. 焦 鹭,刘红岩,韩 锐.葛根有效成分 S86019 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—85.
7. 景永奎,韩 锐.大豆甙元对小鼠 B-16 黑色素瘤细胞的分化诱导作用.中国药理学与毒理学杂志 1992;6(4):273.
8. 范 勇,杜德林,李秀森.茯苓素对人早幼粒白血病细胞(HL-60)的诱导分化作用.军事医学科学院院刊 1988;12(2):132.
9. 季明春.黑菇多糖对人白血病细胞系 U-937 的增殖及分化的实验研究.上海免疫学杂志 1994;14(2):71.
10. 任蕴芳,于秉治,廖世栋,等.猪胆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.
11. 李秀森,王蕴芳,卢涌泉,等.熊胆对 HL-60 细胞系的分化诱导作用.军事医学科学院院刊 1988;12(5):355.
12. 王振义,孙关林,陈 竺.诱导分化疗法应用的现状.中华血液学杂志 1994;15(2):107.
13. 黄 炜,黄济群.桂皮酸诱导高转移人肺癌细胞恶性表型逆转和抑制侵袭作用的研究.中国肿瘤临床 1997;24(6):456—460.
14. 谭 锐,刘红岩,韩 锐,等.团扇藻中一种新型的分化诱导剂 7a-羟基岩藻甙醇.中国海洋药物 1992;3:4.
15. 徐建国,马俊英,杨贵生,等.302 种传统治癌中草药水提液对 HL-60 细胞的诱导分化及细胞毒作用.山西医药杂志 1991;20(2):282—283.
16. 杨佩演,敖 翔,于丽敏.鹿茸精对 HL-60 细胞诱导分化作用的初步研究.中国药理学通报 1994;10(1):68.
17. 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研究.中国中药杂志 1990;15(10):49.
18. 徐建国,马俊英,杨贵生,等.巴豆煎液对人早幼粒细胞白血病细胞的诱导分化研究.中华血液学杂志 1990;11(10):538—539.
19. 黄初敏,袁淑兰,宋 毅,等.丹参酮诱导 HL-60 细胞分化及凋亡的流式细胞术分析.中国肿瘤临床 1997;24(7):500.
20. 黄光琦,袁淑兰,周宏远,等.丹参酮诱导人宫颈癌 ME180 细胞的分化.中国药理学与毒理学杂志 1996;10(4):285.
21. 钱 军,秦叔遒,杨爱珍,等.榄香烯乳逆转人肺癌细胞的实验研究.肿瘤防治研究 1996;23(5):299—301.
22. 李晓光,谢锦玉,李文梅,等.大蒜油诱导人胃癌细胞分化和凋亡的机制研究.中华肿瘤杂志 1998;20(5):325—327.
23. 李家琦,夏 英.中药诱生干扰素作用的探索.上海中医药杂志 1993;(1):34.
24. 张颖清.生物全息诊疗法.济南:山东大学出版社,1987:175,181—185.

(收稿:1998-03-20 修回:1999-03-15)