

· 综 述 ·

单味中药诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究现状及展望

李 蒙 于建勋^{*}

肿瘤细胞诱导凋亡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凋亡。凋亡不仅直接影响着机体组织的正常发育、分化和死亡,它在肿瘤治疗中的作用也受到极大的重视。肿瘤的最大特征即在于细胞生存期长,不易凋亡。1992 年 Dive 提出,将诱导肿瘤细胞的凋亡作为以后肿瘤治疗研究中的主要目标与手段。肿瘤诱导凋亡治疗已成为了国际肿瘤研究的一个热点。我国学者在近几年来,即已开始进行了中药诱导肿瘤细胞凋亡的研究,至目前为止,已发现了许多种中药提取物,在体外实验中显示有诱导肿瘤细胞凋亡的作用。现按中药的功能主治分类报告如下。

1 清热解毒药

小蓼科植物八角莲的根茎提取物鬼臼乙叉甙(又名足叶乙甙),在体外对多种瘤细胞株有明显的细胞毒作用。张萍等报道,在鬼臼乙叉甙的诱导下,人早幼粒白血病 HL-60 细胞早期表现是 DNA 降解,而并非细胞整体发生实质性的改变,亦未发生膜破损及通透性改变,DNA 琼脂凝胶电泳表现为与 180~200bp 呈倍数关系的梯状 DNA 电泳图,电镜形态学观察可见细胞皱缩、胞浆致密、染色质聚集并形成凋亡小体等细胞凋亡表现,bcl-2 基因表达的下调在足叶乙甙诱导的 HL-60 细胞凋亡中起一定作用^[1]。葫芦科植物土贝母块茎提取物土贝母甙甲为一种新型大环三萜皂甙类化合物,李笑弓等研究发现土贝母制剂对体外培养的人肾颗粒细胞癌细胞系 GRC-1 和裸鼠移植性人肾透明细胞癌 RLC-310 的生长具有明显的抑制作用,并可诱导癌细胞凋亡^[2]。百合科植物大蒜中医临床可用于治疗各种恶性肿瘤。大蒜含挥发油约 0.2%,具辛味和特臭味,内含蒜素或大蒜辣素以及多种烯丙基、丙基和甲基组成的硫醚化合物。李晓光等研究发现大蒜油可诱导 HL-60 细胞凋亡^[3];从细胞和基因水平研究证实大蒜油通过促进 p53、p21 等的表达,诱导人胃癌 BGC-823 细胞的分化和凋亡^[4]。俞超芹等总结出大蒜素诱导人急性白血病 T 淋巴细胞株(6T-CEM 细胞)凋亡的规律:大蒜素在 0.1 μg/ml 剂量时即明显诱导 6T-

CEM 细胞凋亡,50 μg/ml 达到高峰,凋亡率为 36.4%,15 μg/ml 大蒜素作用 6T-CEM 细胞 2h 即出现明显凋亡,24h 达到高峰,凋亡率为 56.9%^[5]。阿藿烯(Z-A-joe ne)是从大蒜中分离得到的含硫的简单有机化合物,张四清等在体外以不同浓度的阿藿烯处理 HL-60、MGC-830 和 Molt-4 3 种不同的肿瘤细胞,发现阿藿烯对 3 种肿瘤细胞均有明显的致凋亡作用,其机制可能是通过抑制原癌基因 bcl-2 的表达而实现的^[6]。葫芦科植物栝楼的块根天花粉含皂甙、天花粉蛋白质,广泛用于治疗各种肿瘤。毕黎琦等用流式细胞仪测定提纯的天花粉蛋白有效组分对小鼠黑色素瘤细胞体外培养过程中 DNA 合成、细胞周期及细胞凋亡的影响,结果显示天花粉蛋白纯化组分可引起瘤细胞 G₀/G₁ 期细胞增加,S 期细胞减少,呈现 G₀/G₁ 期阻滞现象,并有诱导瘤细胞凋亡作用,G₀/G₁ 期阻滞与细胞凋亡高度相关($r = 0.8705$)^[7]。王福安等发现天花粉毒蛋白(TCS)与胃癌单抗(MG52)的交联物可致临床人胃癌实体瘤细胞凋亡,此作用与靶细胞 ras 基因活化表达状态有关联,如果 ras 高表达则药物不起此作用^[8]。唇形科植物黄芩的根含多种黄酮成分,如黄芩甙元、黄芩甙等。实验证实黄芩甙元在 100~200 μg/ml 范围内作用肝癌细胞 48h 后引起典型的细胞凋亡^[9]。

2 活血化瘀药

唇形科植物丹参含结晶体呋喃萘醌类色素:丹参酮 I、IIA、IIB 等。黄韧敏等在以往对丹参酮 IIA 诱导分化和抗癌作用研究的基础上,进一步研究证明丹参酮 IIA 诱导 HL-60 细胞凋亡,bcl-2 基因的表达显著降低,而 p53 基因的表达增强^[10]。从姜科姜黄属植物姜黄的根状茎中提取的酚性色素姜黄素具有多方面的药理作用,如抗炎、抗氧化、抗凝、降血脂及抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等,众多细胞实验和动物实验证明姜黄素具有确切的抗肿瘤活性,其抗癌谱较广,毒副作用小,是一种具有良好发展前景的抗癌新药。姜黄素的抗癌机理是多方面的,其中诱导肿瘤细胞凋亡的研究日益受到重视。研究发现,姜黄素能诱导 HL-60、erbB-2 癌基因转导的永生小鼠胚胎成纤维细胞 NIH3T3、小鼠肉瘤 S180、人大肠癌细胞 HT-29、人肾癌细胞 293、人肝癌细胞 Hep G2、人结肠癌 Lovo 细胞、人白血病 K562 细胞的凋亡^[11]。姜科

植物莪术的根状茎中提取的有效成分榄香烯对肿瘤有确切疗效。杨骅等研究表明:榄香烯明显抑制 HL-60 和 K562 细胞的生长,能阻滞肿瘤细胞 S 期进入 G₂/M,诱发其凋亡,榄香烯诱导 K562 细胞凋亡与癌基因 bcl-2 蛋白表达的下降有关⁽¹²⁾。秦叔逵等观察了榄香烯在体外对人体肺癌细胞株 LAX、Anipr-937、SpC-A1、A549、H128、SPC 和在体内对小鼠 Lewis 肺癌、大鼠 Walker-256 肉瘤的抗癌作用,结果表明榄香烯对上述瘤细胞均有明显的抑制作用,药物作用后的肿瘤细胞 DNA、RNA 含量明显下降,脂滴增多,糖原颗粒减少,并出现细胞凋亡现象⁽¹³⁾。五加科植物三七的块茎含槲皮素,是一种天然的黄酮类化合物。银杏、款冬花、高良姜、侧柏叶、桑寄生、田基黄等许多中药中均含有此成分。实验发现:槲皮素可诱导体外培养的白血病细胞株 K562、HL-60、卵巢癌细胞株 MCAS 凋亡,对正常细胞不起作用⁽¹⁴⁾。

3 以毒攻毒药

珙桐科旱莲属乔木喜树的果实或根含多种生物碱,其中具有抗癌活性者有喜树碱、羟基喜树碱。国外大量研究表明,喜树碱能够诱导白血病、前列腺癌、膀胱癌、结肠癌等多种肿瘤细胞的凋亡。羟基喜树碱比喜树碱更具有抗癌活性。张浩波等应用从无菌情况下取得的 36 例手术切除的新鲜人大肠肿瘤标本获得的人大肠肿瘤细胞株,研究发现羟基喜树碱能诱导大肠肿瘤细胞发生凋亡⁽¹⁵⁾。王杰军等以不同浓度的羟基喜树碱处理在体外培养的人胰腺癌 SW-1990 细胞,0.05 mg/ml 浓度羟基喜树碱作用于体外培养的胰腺癌细胞 20h 后,肿瘤细胞的凋亡率为 13.2%~15.3%,主要以早、中期的表现为主,在 0.1 mg/ml 浓度下作用 20h 后,凋亡率为 26.1%~30.4%,凋亡形态学表现主要以晚期为主⁽¹⁶⁾。江湖石等研究表明,羟基喜树碱对胃癌细胞具有较强的细胞毒作用,可诱导三株不同分化程度的胃癌细胞 SGC-7901(中分化)、MKN-45(低分化)、MKN-28(高分化)凋亡,其诱导胃癌细胞的凋亡率与胃癌的分化程度有关⁽¹⁷⁾。氧化砷为中药雄黄的主要成分。多项研究结果表明氧化砷能有效地诱导人白血病细胞株 NB₄、HL-60、K652 细胞凋亡,诱导 NB₄ 细胞凋亡的机理是下调 bcl-2 基因的表达,氧化砷还能诱导胃癌细胞株 MKN-45、SGC-7901 和体外培养的人肝癌细胞凋亡⁽¹⁸⁾。

4 化痰祛湿药

百合科植物石刁柏的块茎芦笋有一定的抗肿瘤作用,从中分离提纯的三萜类化合物熊果酸具有抗突变、抗促癌及抗肿瘤增殖的作用,实验证明熊果酸能抑制 HL-60 细胞增殖,诱导其发生凋亡⁽¹⁹⁾。骆驼蓬总碱是

从蓼科植物骆驼蓬的种子中提取出的一种混合生物碱,研究发现其抗癌谱广,抗癌活性较高。谢燕等从细胞凋亡的角度研究骆驼蓬总碱抗肿瘤机制,发现其可诱导体外培养的人宫颈癌 HeLa 细胞、人鼻咽癌 CEN-2 细胞凋亡⁽²⁰⁾。防己科多年生落叶缠绕藤本植物粉防己的干燥块根含多种生物碱,主要有粉防己碱、防己诺林碱等。何琪杨等用粉防己碱(Tet)研究抗三尖杉酯碱(har)的 HL-60 细胞凋亡的机制时发现:Tet 可诱导敏感的而不是抗 Har 的 HL-60 细胞发生程序性死亡,Tet 可诱导 HL-60 细胞 c-myc 表达增高⁽²¹⁾。来自鼠李科滇刺枣树皮中的五环三萜化合物桦木酸能使来自患者胸膜液的转移性黑色素瘤 MEL-2 细胞凋亡,从而抑制黑色素瘤的生长⁽²²⁾。

5 扶正培本药

从多孔菌科植物灵芝的子实体和菌丝体中提取的多糖成分有抗肿瘤活性。胡映辉等用体外培养体系,分析了灵芝菌丝粗总多糖(MGLP1)、总多糖(MGLP2)对 HL-60 细胞凋亡的直接作用和通过脾细胞 HL-60 细胞的间接作用,研究发现 MGLP1 体外即使在很高的浓度并不能抑制 HL-60 细胞的增殖,而 MGLP2 亦仅在较高的浓度才对 HL-60 细胞的增殖有较弱的抑制作用,MGLP1、MGLP2 与脾淋巴细胞共同培养后,其培养上清液能够诱导 HL-60 细胞的凋亡,推测 MGLP1、MGLP2 通过促进淋巴细胞的功能,分泌细胞因子,诱导 HL-60 细胞的凋亡⁽²³⁾。小檗科植物淫羊藿茎叶中提取的主要单体成分淫羊藿甙对 HL-60 细胞有诱导分化和凋亡作用⁽²⁴⁾。

6 其他药物

茶多酚是山茶科植物茶叶中最具抗肿瘤活性的酚性化合物,赵燕等实验发现茶多酚诱导人胃癌细胞 MGC-803 凋亡⁽²⁵⁾。紫杉醇是从红豆杉科植物东北红豆杉的茎皮中提取的抗癌新药,研究发现紫杉醇可诱导人乳腺癌细胞 Bcap37、食管癌 Ecal09、白血病 HL-60 细胞凋亡,细胞凋亡时 bcl-2 基因蛋白表达呈明显持续减低趋势,Bax 蛋白呈明显增加,提示激活了 bax 基因,启动了细胞凋亡过程⁽²⁶⁾。三尖杉科植物三尖杉的枝叶或树皮含三尖杉酯碱、高三尖杉酯碱等多种生物碱。研究发现三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱可诱导 HL-60 细胞凋亡,需要 Ca²⁺ 离子参与⁽²⁷⁾。

综上所述,可见这些中药有效成分确有启动肿瘤细胞凋亡的作用。中药诱导肿瘤细胞凋亡作为治疗肿瘤的一个新策略,有其可行性基础:(1)某些中药通过细胞毒作用,即损伤肿瘤细胞 DNA(脱氧核糖核酸)而发挥效力的,但其毒副作用小,对机体内起重要防御作

用的淋巴细胞及骨髓造血细胞的破坏作用不明显,其作用与直接杀伤细胞引起坏死不同;(2)某些中药通过诱导 IL-2(白细胞介素-2)、INF(干扰素)等细胞因子,诱导 LAKC(淋巴因子激活的杀伤细胞)产生及 NKC(自然杀伤细胞)增殖,从而介导肿瘤细胞发生凋亡,或诱导 TNF(肿瘤坏死因子)、提高 TNF 活性,诱导肿瘤细胞凋亡,这些中药是通过提高机体免疫力达到间接杀伤的目的,正所谓“扶正固本”达到“祛邪”的目的;(3)某些中药可使机体内激素水平提高,激素可引起某些肿瘤细胞发生凋亡,如肾上腺糖皮质激素水平升高可诱导淋巴细胞、白血病和恶性淋巴瘤的细胞凋亡发生。

目前,中药诱导肿瘤细胞凋亡分子水平上的研究还不是很多,主要仅限于几个重要的基因 p53、C-MYC、BCL-2 家族,其他像 FAS(APO-1)、ICE 家族、E1A、BCR/ABL、MDM-2、BHRF1、E1B 的研究有待进一步深入。不同的肿瘤细胞有不同的凋亡阈,关键是如何调控凋亡相关基因或其相应产物,提高肿瘤细胞对药物的敏感性,并诱导细胞进入凋亡,这是肿瘤治疗取得成功的关键。但能否单纯通过诱导肿瘤细胞凋亡而获得肿瘤缓解,尚需经过大量的实验与实践才能下结论。以上研究所发现的中药有效成分,无疑为今后肿瘤细胞凋亡诱导剂的寻找、研制及凋亡诱导机制的研究,提供了有益的思路及借鉴。

参 考 文 献

1. 张萍,郝红樱,王中五,等.足叶乙甙诱导 HL-60 细胞凋亡及其 bcl-2 基因表达.北京医科大学学报 1997;29(5):403—405.
2. 李笑弓,南勋义,党建功,等.中药土贝母对人肾细胞癌影响的实验研究.中国中西医结合外科杂志 1998;4(2):100—103.
3. 李晓光,谢锦玉,方敏,等.大蒜油诱导细胞凋亡的实验研究.中国中医基础医学杂志 1997;3(2):23—25.
4. 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研究.中华肿瘤杂志 1998;20(5):325—327.
5. 俞超芹,凌昌全,潘瑞萍,等.大蒜素诱导人 T 淋巴细胞白血病细胞株凋亡的实验研究.中医杂志 1999;40(5):307—308.
6. 张四清,赵松,闵吉梅,等.阿藿烯(Z-Ajoene)诱导肿瘤细胞凋亡.科学通报 1998;43(9):961—965.
7. 毕黎琦,立洪军,张玉华.中药天花粉蛋白对黑色素瘤细胞凋亡及细胞周期的影响.中国中西医结合杂志 1998;18(1):35—37.
8. 王福安,张学庸,黎松.天花粉毒蛋白免疫毒素对靶细胞凋亡的作用.中华微生物学和免疫学杂志 1995;15(2):

- 131—134.
9. [日]松崎佑子.小柴胡汤及其成分对细胞凋亡的诱导作用.国外医学中医中药分册 1996;18(6):6—37.
10. 黄韧敏,袁淑兰,宋毅,等.丹参酮 II A 诱导 HL-60 细胞凋亡.癌症 1998;17(3):164—166.
11. 马晓华,沃兴德,梁海曼.姜黄素抗肿瘤作用与诱导肿瘤细胞凋亡的研究概况.国外医学肿瘤学分册 1999;26(1):21—23.
12. 杨骅,王仙平,郁琳琳,等.榄香烯抗癌作用与诱发肿瘤细胞凋亡.中华肿瘤杂志 1996;18(3):169—172.
13. 秦叔逵,钱军,杨爱珍,等.榄香烯乳抗肺癌细胞的实验研究.肿瘤防治研究 1996;23(4):251—255.
14. 袁静.斛皮素抗肿瘤作用研究进展.国外医学中医中药分册 1996;18(5):3.
15. 张浩波,郁宝铭,王灏,等.TdT 法分析羟基喜树碱对人大肠癌细胞凋亡的影响.大肠肛门病外科杂志 1998;4(3):1—3.
16. 王杰军,许青,郭静,等.羟基喜树碱诱导人胰腺癌细胞 SW-1990 的凋亡.肿瘤防治研究 1998;25(5):329—331.
17. 江湖石,涂水平,谭继宏,等.羟基喜树碱诱导胃癌细胞凋亡的实验研究.中华消化杂志 1999;19(1):19—21.
18. Chen GQ, Zhu J, Shi XG, et al. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB cell apoptosis with down regulation of bcl-2 expression and modulation of PML-RARα/PML proteins. Blood 1996;88:1052—1061.
19. 黄镜,孙燕,陆士新,等.芦笋有效成分熊果酸诱导 HL-60 细胞凋亡的实验研究.中国中西医结合杂志 1999;19(5):296—298.
20. 谢燕,罗天锡.骆驼蓬总碱诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的研究.肿瘤 1998;18(3):131—133.
21. 何琪杨,张鸿卿,庞大本.抗三尖杉酯碱的 HL-60 抗粉防己碱诱导的细胞凋亡.中国药理学 1996;17(6):545—549.
22. 马仲才.桦木酸通过诱导细胞凋亡选择性抑制人黑色素瘤的生长.国外医学肿瘤学分册 1996;23(3):190—191.
23. 胡映辉,林志彬.灵芝菌丝体多糖对 HL-60 细胞凋亡的影响.药学学报 1999;34(4):264—268.
24. 李贵新,张玲,王芸,等.淫羊藿甙诱导肿瘤细胞凋亡及其机制的研究.中国肿瘤生物治疗杂志 1997;4(3):235—236.
25. 赵燕,曹进,祝和成.茶多酚诱导人胃癌细胞凋亡.湖南医科大学学报 1997;22(5):384—386.
26. 陈丽荣,郑树,MC Willingham,等.紫杉醇诱发人乳癌细胞凋亡的机制研究.中华肿瘤杂志 1997;19(2):103—106.
27. 李林,夏丽娟,蒋超,等.三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱诱导人早幼粒白血病细胞的程序性死亡.药学学报 1994;29(9):667—672.