

中药诱导白血病细胞凋亡的研究

孙 静 李 震 简隆磊

目前,许多专家学者在对白血病的研究中发现细胞凋亡受抑制与某些类型白血病的发生有一定关系,多种化疗药物都能诱导白血病细胞凋亡,化疗药物的有效性与其诱导凋亡的特性有关⁽¹⁾。现代药理研究表明许多中药具有细胞毒作用,改善体内激素水平,免疫调节作用和促诱导分化作用^(2~5)。这些都是其诱导细胞凋亡的药理学基础。现将中医中药和中西医结合治疗白血病在细胞凋亡方面取得的新进展做一综述。

1 中药调节体内激素水平 凋亡与营养性激素撤退后引起相应的激素依赖性器官的细胞凋亡已被临床所证实。如:许志祥等在给 19 例前列腺癌患者阻断雄激素作用的药物后观察到癌细胞发生凋亡,肿瘤组织发生退化、缩小⁽⁶⁾。同样,在成功地摘除相关的内分泌器官后,激素依赖性肿瘤出现大量的细胞凋亡,如:某些前列腺癌患者摘除睾丸,乳腺癌患者摘除卵巢等,肿瘤细胞因激素作用被取消而发生凋亡。相反,部分肿瘤和组织在激素水平增高后出现大量细胞凋亡,如:肾上腺皮质激素增加,胸腺细胞凋亡,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细胞凋亡与死亡现象⁽⁷⁾。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⁽³⁾。上述中药由于能使机体内激素水平升高,而糖皮质激素可诱发白血病细胞凋亡,从而推测中药应有诱导细胞凋亡发生的作用。

2 中药的细胞毒作用 许多中草药抗白血病机理之一是通过细胞毒作用,即损伤 DNA,抑制白血病细胞分裂增殖,干扰其能量代谢而起作用的。王庆瑞等通过药理实验研究显示冬凌草甲素、乙素对白血病有抑制作用,其抗癌机理为阻断脱氧核苷酸底物聚合形成 DNA⁽⁸⁾,东北贯仲可导致 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蛋白质合成有关;藤黄等中药可作用于有丝分裂不同时相的白血病细胞,从而抑制细胞分裂增殖;大黄蒽酮类衍生物抗白血病机理为干扰白血病细胞能量代谢⁽²⁾。上述中药或其提取成分在抗白血病中的毒副作用小,对机体内淋巴细胞及骨髓造血破坏作用不明显,推测其作用机制可能与细胞凋亡有关。

首先,细胞毒药物可诱发细胞凋亡,此类中药亦应有此作用;其次,其不同于化疗药物的主要点之一是其副作用小,这就提示我们中药抗白血病的机制不在于其杀伤白血病细胞引起坏死,而是使白血病细胞遵循一定的程序而缓慢的凋亡。王振义等研究抗白血病中药癌灵 1 号及其有效成分 As_2O_3 具有诱导细胞株 NB₄ 细胞凋亡,其中 As_2O_3 无论从 mRNA 还是从蛋白水平都有下调 bcl-2 基因表达的作用⁽⁹⁾。山本雅浩对小柴胡汤抗肿瘤作用诱导细胞凋亡机制的研究有以下两方面作用:首先是免疫调节作用,小柴胡汤能激活巨噬细胞,促进白细胞介素-2(IL-2)产生,增强 NK 细胞活性,产生抗肿瘤效应;其次对肝癌细胞增殖的抑制效果,并能诱导肝癌细胞形态改变,并使癌细胞停滞于细胞周期的静止期(G_0 期);而小柴胡汤全方对肝癌细胞增殖的抑制效果比各种药效成分单独使用时强⁽¹⁰⁾。槲皮素是从侧柏叶、款冬花、三七、银杏等中药中提取的一种天然黄酮类化合物,具有抗肿瘤活性和细胞毒作用,能抑制卵巢癌、乳腺癌、结肠癌等。电镜下可见凋亡小体,电泳分析有 DNA 片断。槲皮素具有抑制突变型 P^{53} 作用,在高表达突变型 P^{53} 人的乳腺细胞中加入槲皮素,能抑制 P^{53} 的表达⁽¹¹⁾,采用免疫组化技术和 RNA 点杂交研究槲皮素有诱导 HL-60 细胞凋亡的作用,其分子机制为下调 bcl-2 基因表达。

3 中药能增强免疫细胞活性、诱生细胞因子 研究表明许多中药具有免疫调节作用,其中包括增加免疫细胞活性和诱生细胞因子的作用。实践证明:IL-2 和肿瘤坏死因子(TNF)可引起靶细胞凋亡;IL-2 可诱导抗原刺激后的 CD_4^+ 、 CD_8^+ T 细胞发生凋亡;TNF 通过激活 Zn^{2+} 敏感的核酸内切酶,裂解肿瘤细胞 DNA,介导细胞凋亡发生。而许多补益类中药对 IL-2 的产生具有诱生作用,对 TNF 也具有良好的诱生和提高 TNF 活性作用,如:刺五加多糖、黄芪多糖、云芝多糖、淫羊藿多糖、人参皂甙、何首乌、冬虫夏草均可在一定条件下促进 IL-2 分泌⁽⁴⁾。黄海茵等分析了中药对 NK、IL-2 活性与 LAK 活性的影响发现:人参、党参、黄芪、枸杞子、参三七、冬虫夏草、刺五加等补益类中药的煎剂及有效成分均有良好的促进 IL-2 的产生,提高 NK、淋巴因子-激活杀伤(LAK)活性,发挥抗肿瘤(白血病)的作用⁽¹²⁾。李家琦等发现:云芝多糖、香菇多

糖、虫草多糖均能诱生 TNF;黄芪、当归、枸杞子、党参、五味子、芍药、黄芩、生地、甘草、茯苓多糖、猪苓多糖皆能诱生 IL-2、TNF 的产生⁽¹³⁾。枸杞子可促进 IL-2 产生,黄芪、茯苓、党参、女贞子、白术、银耳能显著增强小鼠脾淋巴细胞 IL-2 活性,淫羊藿多糖对小鼠胸腺和脾脏产生 IL-2 有促进作用,且随药量增高而递增;淫羊藿甙能体外诱导肿瘤细胞凋亡,有典型的细胞凋亡形态学和生化特征,且具有时间和剂量依赖关系性。李贵新等研究淫羊藿甙可使凋亡相关基因 bcl-2 和 c-myc 基因,以及 mRAN 蛋白表达水平下降⁽¹⁴⁾。牛膝多糖能促进 ConA 诱导小鼠细胞 TNF-β 的产生;白芍总甙对大鼠腹腔巨噬细胞产生 TNF 有双向调节作用,可明显增强 NK、LAK 细胞活性,而发挥抗白血病作用。补益类中药的煎剂或其有效成分均有良好的促 IL-2 产生和提高 NK、LAK 细胞活性的作用,尤其是补益中药复方的方药能保护和增强免疫功能、增强 NK 细胞活性。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、茯苓等均具有诱生 TNF 及提高 TNF 活性的作用,从而诱导肿瘤细胞凋亡⁽¹⁵⁾。中药肝康冲剂可阻滞肝癌 G₀/G₁ 期细胞进入 S 期,诱导细胞凋亡发生,形态学可见凋亡小体,DNA 荧光强度分布地形图呈距齿状,表明 DNA 有明显缺损⁽¹⁶⁾。六君子汤能提高肝癌患者的免疫功能,使淋巴细胞转化率和 NK 细胞活性增高。日本学者贩岛宏治将人参养营汤用于高龄免疫功能低下大鼠,采用脾淋巴细胞的 CD₄⁺、CD₈⁺ 及 NK 细胞比率等指标,并测定脏器重量,结果表明:人参养营汤对高龄大鼠伴 NK 细胞减少者具有明显改善作用⁽¹⁷⁾。

4 中药的促诱导分化作用 三尖杉酯碱、人参皂甙、苦参、熊胆、巴豆均可诱导 HL-60 细胞向单核巨噬细胞分化,猪胆汁酸钠既可诱导 HL-60 向单核巨噬细胞分化,又可向中性粒细胞分化⁽⁵⁾。焦鹭、徐罗玲通过实验研究发现:葛根的有效成分 S₈₆₀₁₉、三七皂甙可使 HL-60 向成熟中性粒细胞分化^(18,19)。人参皂甙还可诱导 K₅₆₂ 生成血红蛋白⁽²⁰⁾,使 U₉₃₇ 向成熟单核巨噬细胞系分化⁽⁵⁾。许多活血化瘀中药能诱导肿瘤细胞凋亡,已被中药药理研究所证明。丹参酮通过阻止 HL-60 细胞进入 S 期,抑制 DNA 合成,从而诱导细胞凋亡⁽²¹⁾。杨骅等从中药莪术中提取的抗癌有效成分榄香烯,实验药理和临床都证明了对肿瘤有确切的疗效。流式细胞技术证实能阻滞白血病 HL-60 和 K₅₆₂ 细胞从 S 期进入 G₂/M 期,并诱发其细胞凋亡;DNA 凝胶电泳及透射电镜可见其诱导肿瘤细胞凋亡导致的生化及形态学改变。有人用莪术油处理 L₆₁₅ 细胞发现

其可明显提高对瘤细胞的杀伤能力,榄香烯还诱导 K₅₆₂ 细胞凋亡,下调 bcl-2 基因的表达⁽²³⁾。中药复方青黛片也有促使 HL-60 细胞分化的作用。这些促使白血细胞分化的药物均可引起白血细胞的凋亡。

由于细胞凋亡与白血病的发生及治疗关系密切,这方面的研究将是今后几年白血病学领域的热门课题。中医药抗白血病确有其效,其作用是多方面的,对其机理的研究才刚刚起步。目前的研究还仅限于实验阶段,与临床应用治疗还有一定的距离。因此,我们要深入广泛地应用现代科学技术进行研究,筛选出具有良好诱导凋亡作用的单味单药及复方,进行有效成分的分析,为指导临床用药奠定基础,提出新的有效治疗方案。

参 考 文 献

1. 粟 俭,张礼和. 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. 陈婷梅,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—320.
3. 王筠默主编. 中药药理学. 上海:上海科学技术出版社,1985:102.
4. 曹广平,杜 平主编. 现代癌症生物治疗学. 北京:人民军医出版社,1995:112.
5. Boyd AW, Sillian JR. Leukemia differentiation in vivo and in vitro arrest of proliferation parallels the differentiation induced by the antileukemia drugharringtonine. Blood 1984;63(2):384.
6. 许志祥,胡成华. 细胞凋谢在肿瘤形成和治疗中的意义. 国外医学内科学分册 1955;22(7):289—292.
7. 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.
8. 王庆瑞,王锦英,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;22(4):372.
9. 王振义. 开展砷剂治疗白血病的临床和机制的研究. 中华血液学杂志 1996;17(2):57.
10. 山本雅浩. インチンコウ汤及びその成分肝細胞ラボトシス抑制効果. 和汉医药学杂志 1995;12(4):322.
11. 袁 静,肖 东. 槲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—6.
12. 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.
13. 李家琦,夏 英. 中药诱导干扰素作用的探索. 上海中医药杂志 1993(1):34.
14. 李贵新,张 玲,王 芸,等. 淫羊藿甙诱导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.
15. 陈瑞东主编. 对癌症有效的中药方剂. 北京:中国医药科技出版社,1992:29—32.

16. 李杰, 孙桂芝, 朴炳奎, 等. 中药肝康冲剂提取人肝癌细胞系 BEL-7402 细胞凋亡的实验研究. 中国肿瘤生物治疗杂志 1997; 4(3): 234.
17. 坂岛宏治. 加齢に伴う免疫能の低下と汉方方剂の影響. 日本东洋医学杂志 1995; 4(6): 192.
18. 焦鹭, 刘江岩, 韩锐. 葛根的有效成分 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.
19. 徐罗玲. 三七皂甙及对 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.
20. 姜绪荣. 人参皂甙对 K₅₆₂ 红白血病细胞系的诱导分化作用. 大连医学院学报 1991; 11(10): 538—539.
21. 黄韧敏, 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—503.
22. 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.
23. 袁静, 顾振纶. 榄香烯诱导 K₅₆₂ 细胞凋亡的流式细胞术分析. 实用肿瘤杂志 1998; 13(6): 343—345.

(收稿 2001-04-08 修回 2001-08-08)

清开灵注射液辅助治疗急性酒精中毒 66 例

汪德芬 郝伟 王归圣

1997 年 1 月~2000 年 1 月, 我们采用清开灵注射液辅助治疗急性酒精中毒 66 例, 并与用常规处理的 56 例作对照, 现报道如下。

临床资料 所有患者就诊前均有不同程度的酗酒史, 按抽签法将 122 例患者随机分为两组。治疗组 66 例, 男 54 例, 女 12 例; 年龄 17~42 岁, 平均 27.6 岁; 中毒程度: 轻度(兴奋期) 12 例, 中度(共济失调期) 36 例, 重度(昏睡昏迷期) 18 例; 中毒时间: >6h 21 例, <6h 45 例。对照组 56 例, 男 48 例, 女 8 例; 年龄 19~40 岁, 平均 27.4 岁; 中毒程度: 轻度 10 例, 中度 32 例, 重度 14 例; 中毒时间: >6h 18 例, <6h 38 例。两组资料比较差异无显著性, 具有可比性。

治疗方法 两组患者入院后酌情予以催吐、洗胃、补液、高渗葡萄糖、补充维生素(B₁、B₆、C 等)、利尿、保肝等常规治疗, 予以纳洛酮 0.4~0.8mg 静脉滴注, 必要时 30min 后重复, 日总量不超过 3.6mg, 同时重视保持气道通畅, 观察血压、脉搏、呼吸、神志、瞳孔。治疗组加用清开灵注射液(山西太行药业股份有限公司生产, 主要成份为胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩甙、金银花, 规格为 10ml/支) 20~40ml 静脉滴注, 重度中毒者可重复静脉滴注, 日总量不超过 80ml。

结果

1 疗效标准 显效 2h 内完全清醒, 精神恢复自如; 有效: 2~4h 内开始清醒, 症状明显减轻或消失; 无效 治疗 4h 后仍昏

睡或恶化。

2 疗效 治疗组显效 16 例(24.2%, 其中轻度 12 例, 中度 4 例), 有效 47 例(71.2%, 其中中度 32 例, 重度 15 例), 无效 3 例(4.5%, 均为重度者), 总有效率 95.5%; 对照组显效 6 例(10.7%, 其中轻度 4 例, 中度 2 例), 有效 41 例(73.2%, 其中轻度 6 例, 中度 29 例, 重度 6 例), 无效 9 例(16.1%, 其中中度 1 例, 重度 8 例), 总有效率 83.9%, 两组疗效比较, 治疗组优于对照组($\chi^2=7.24, P<0.05$)。两组平均疗程($\bar{x} \pm s$): 治疗组为 2.87 ± 0.28 , 对照组为 3.15 ± 0.24 , 两组比较差异有显著性($t=6.36, P<0.05$)。

体会 中医学认为酒性燥烈, 过饮则耗伤胃阴, 蕴蒸而致湿热内生, 酒热耗伤心阴, 心火独亢, 痰火扰心则情志失常, 进而损及肝, 肝主筋, 筋失濡养, 肝风内动则肢体口舌震颤。故其治疗应以清湿热解酒毒为主, 采用清心泻肝, 醒脑开窍, 涤痰通络之法。清开灵注射液是安宫牛黄丸的改型制剂, 具有清热解毒, 化痰通络, 镇静安神, 醒脑开窍作用。药理研究表明清开灵注射液主要作用于脑、肝、心、肺等组织, 能够改善脑循环, 保护肝脏。因此, 我们认为清开灵注射液可作为急性酒精中毒的治疗药物, 与西药纳洛酮合用, 一方面可加强其催醒疗效, 缩短治疗时间; 另一方面, 可减少纳洛酮的使用剂量, 降低了高血压、心动过速、恶心、呕吐等不良反应的发生率。但在使用过程中, 对有过敏反应的患者应禁用。

(收稿 2001-05-25 修回 2001-07-20)

陕西省西安市中医院急诊科(西安 710001)