

· 综述 ·

中药对肿瘤发生过程中信号转导异常的调整作用

李 勇 凌昌全

恶性肿瘤本质上是一种基因病,导致基因癌变发生是细胞受多种癌变信号作用的结果。随着肿瘤分子生物学的深入,肿瘤的发生、发展、转移的机理及规律已逐渐被人们认识。细胞信号转导系统的研究又为疾病新疗法和新一代药物的设计提供了新的思路和作用靶点,以纠正信号转导异常为目的的药物设计已成为近年来的研究热点。中医药治疗肿瘤已经取得了较好的疗效,从分子生物学中信号转导角度研究中医药抗肿瘤的机制已经积累了大量的资料,现总结报道如下。

中药对肿瘤细胞增殖分化信号的调节作用

1 中药对肿瘤细胞周期控制信号的调节 细胞周期素依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)的时相性激活,是细胞周期调控机制的核心,它主要依赖于细胞周期素的特异性和时相性的表达、积累和分解,以及其负调节因子如 p53、p21、p27 和 p16 等参与调节作用。肿瘤细胞中存在细胞周期调控机制的异常,许多抗肿瘤中药对肿瘤细胞的细胞周期具有干预调节作用。Ahmad^[1]报道茶叶的主要有效成分茶多酚中表没食子儿茶精 3 盐(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)能明显促进野生型 p53(WAF1)/p21、驱动相关蛋白(Kinesin-related protein 1, KIP1)/p27、p16 和 p18 的表达,并下调 cyclinD1、CDK4 和 CDK6 表达,且具有明显的时效与量效关系,由此抑制与 cyclinE, cyclin D1, CDK2 和 CDK4 相关的激酶活性,导致细胞周期阻滞。Liberto 等^[2]报道也有类似结果。刘军等^[3,4]研究发现复方中药白龙片能使人胃癌细胞 BCG-823 表达 p16INK4a、pRb、p21 显著增加,并证实该作用是由 CAMP-PKA 通路介导的。p16-CyclinD1-Cdk4-Rb 通路是调节 G₁ 期至 S 期过渡期的中心, p16INK4a 转录表达增加可抑制 cyclinD-CDK4 的活性, p21 是几乎能和所有周期 CDKs-Cyclins 结合并抑制激酶活性, p16INK4a、p21 表达增加可使胃癌细胞周期发生阻滞,从而抑制 BCG-823 细胞的增殖。Jing 等^[5]研究发现,低浓度的蟾毒配基之一 Bufalin 能使成髓细胞白血

病 ML1 细胞阻滞于 G₂/M 期, Bufalin 对细胞周期的影响类似于拓扑异构酶(Topo)抑制剂的作用。

2 中药对肿瘤细胞周期蛋白 p53 的调节作用 p53 基因异常或突变,则不能使 DNA 受损的细胞分裂中止在 G₁/S 期而继续异常增殖。p53 可启动 p21 的转录,抑制 CDK 的激活,同时也参与 G₂/M 期阻滞,从而抑制肿瘤细胞增殖并诱发细胞凋亡。陆红等^[6]用养胃抗癌颗粒作用小鼠肉瘤 S180 细胞后,细胞增殖受到抑制,药物处理后的 p53 阳性细胞数和 p53 蛋白表达明显增加。魏小龙等^[7]利用定量 PCR 的方法检测地黄多糖对 p53 基因表达的影响,地黄多糖能使 Lewis 肺癌组织内 p53 基因表达明显增加;Zhang 等^[8]研究苦参碱作用后的 K562 细胞内 p53 mRNA 表达也明显增加,提示苦参碱对 K562 细胞有一定的诱导分化作用。

3 对肿瘤细胞跨膜受体异常信号的调节 已知大多数的激素、生长因子、细胞因子等肽类物质要靠细胞膜上的受体进行跨膜信号转导,以引起细胞代谢、功能或形态学的改变。细胞跨膜受体主要包括酪氨酸蛋白激酶(tyrosine protein kinase, TPK)受体家族、G 蛋白偶联受体、细胞因子受体和 TNF 受体超家族等。

3.1 对受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)的调节 RTK 包括多种生长因子受体和癌基因产物,以与细胞膜结合的形式存在,包括胞外段、跨膜区段和胞内段 3 部分。其中胞内段具有 TPK 酶活性,该酶可催化自身和底物的酪氨酸磷酸化, TRK 信号转导途径(RTK-Ras-MAPK-CDKs)的紊乱在肿瘤的发生发展中具有重要地位。孙关林等^[9]对 As₂O₃ 诱导 K562 细胞凋亡的机制研究表明, As₂O₃ 能降低细胞内某些蛋白尤其 BCR/ABL 蛋白的 TPK 活性,减少蛋白酪氨酸磷酸化以及下调酪氨酸蛋白激酶(Janus protein tyrosine kinase 2, JAK2)的表达,从而阻断 BCR/ABL 抗凋亡信号的传导。杨江苏等^[10]在对猪苓多糖和茯苓多糖抗肿瘤作用的研究发现,两种多糖对 HL60 细胞胞浆和膜两部分的酪氨酸蛋白激酶活力均有不同程度的抑制作用,而对磷酸酪氨酸蛋白磷酸酶活力有激活作用,提示两种多糖抗肿瘤作用机制可能与使酪氨酸蛋白磷酸化水平下降有关。

3.2 对 G 蛋白介导的传递信号的调节 G 蛋白即鸟嘌呤核苷酸结合蛋白,通过胞内第二信使释放激活胞内 Ser/Thr 蛋白激酶的家族。根据所依赖的信使不同可分为 cAMP 依赖性的蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 家族、cGMP 依赖的蛋白激酶 G (PKG) 家族、依赖钙和脂质的 PKC 家族、钙/钙调素依赖的 CaM-PK 和 DNA 依赖的 DNA-PK 家族。G 蛋白与鸟苷三磷酸 (GTP) 结合后作用在效应器的酶(如腺苷酸环化酶、磷脂酶 C)及特殊的离子通道(如 Ca^{2+} 、K)引起一系列的细胞效应。G 蛋白连接受体 (GPR) 信号传导途径是细胞受到刺激产生跨膜信号的重要途径之一。肌醇磷脂在磷脂酶 C 的作用下分解为 DAG, 激活 PKC 和 Ca^{2+} 并导致 DNA 合成增加, 细胞增殖; 而 cAMP-PKA 对肿瘤细胞增殖起负调作用, 促进其分化。信息系统中的这种正负调控与中医的阴阳制约说相符合。李勇等^[11]研究发现大蒜素可使胃癌 BGC-823 细胞 PKC 含量明显降低, cAMP 水平显著升高, 引起凋亡启动基因 fas 及凋亡促进基因 bax 表达增加, 凋亡抑制基因 bcl-2 表达减少, 抑制细胞增殖并促进凋亡。王四旺等^[12]对蟾蜍的药物成分华蟾素的抗癌机理研究中也发现有相同现象。谷善亲^[13]发现复方白龙片(白英、黄芪、当归和龙葵等)可使人胃癌 MGC-803 细胞内 cAMP 水平与 PKA 活性升高, 而 DAG 含量与 PKC 活性下降。上述现象反映出信号系统的信息传递与调节可能是中医药治疗肿瘤的重要途径。

3.3 对跨膜信号通路中的信号酶的影响 丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 家族的信号转导通路包括细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) c-Jun N 端激酶 (JNK) P38MAPK 等多条途径, 几种途径既有分工又有联系, 都通过保守的三级酶促级联反应, 激活转录因子, 调节特定的基因表达, 发挥促细胞增殖分化、诱导细胞凋亡等作用。Watabe^[14]认为蟾毒配基之一 Bufalin 诱导细胞凋亡与 MAPK 的活化密切相关, 信号转导的途径可能是 $\text{Ras} \rightarrow \text{Raf-1} \rightarrow \text{MAPKK} \rightarrow \text{MAPK}$, 同时伴有细胞内 cAMP 浓度显著下降, 提示 Raf-1 也因 PKA 磷酸化程度下降而激活。其随后 Watabe^[15]的研究也表明 Bufalin 能激活 JNK, 更进一步支持上述理论。紫杉醇是新型抗肿瘤药物, Wang 等^[16-18]紫杉醇可通过对 Bcl-2、Bax、p53/p21、c-Mos 等基因表达的调节而诱导凋亡, 这些基因的上游调节信号包括 c-Raf-1、Ras、PKA 的激活, 这些是细胞有丝分裂信号自胞膜传向核内的重要传导通路。

3.4 对核内信号分子的调节 核转录因子 κB

(NF- κB) 是一个多效的核转录因子, 与多种基因的转录有关, 肿瘤细胞中多有 NF- κB 的高表达。董巨莹等^[19]研究发现蓖麻籽中提取物蓖麻油可以诱导肝癌 7721 细胞凋亡, 其机制与促进细胞内有氧过氧化物 (ROS) 的生成, 激活胞内 NF- κB 有关。王继峰等^[20]在研究大豆中的提取物金雀黄素时, 通过免疫组化、Western Blot 及电泳迁移率变动分析, 发现金雀黄素能降低人肝癌细胞株 Bel-7402 中 p65 表达水平, 而 I $\kappa\text{B}\alpha$ 表达增高, 显著抑制肿瘤生长。表明金雀黄素的抗肿瘤作用机理与其抑制 Idk 降解从而抑制 NF- κB 功能有关。

中药对肿瘤细胞凋亡信号的调节作用

在细胞凋亡的信号转导中^[21], 从凋亡配体-受体-(连接分子)-caspases 构成了细胞外凋亡信号到达效应分子的中轴线, 通过此轴线将凋亡信号传递给凋亡的执行器 (caspases), 细胞凋亡的中心环节是激发了以蛋白酶组成的级联反应。此外, 在凋亡调控网络中, 还有许多调节分子参与了凋亡过程的调控, 其中最重要的是 Bcl-2 家族。包括具有促进凋亡的 bax、bcl-x(s), bak、bad 等和抑制凋亡的 bcl-2、bcl-x_L、bfl-1、Mbc1-x、Bhrfl、Lmn5-h1 等。细胞凋亡的异常与肿瘤的发生密切相关, 相应地干预细胞凋亡的手段是肿瘤治疗的新策略。

已证实肿瘤坏死因子 (TNF) 能诱导肿瘤细胞凋亡。TNF 可与其受体 (TNFR1/TNFR2) 结合, 包括与其受体家族的死亡受体如 Fas、DR3~5 结合, 接受死亡信号, 激活诱导凋亡和(或)激活 NF- κB 及 c-jun JNK 的转导通路, 产生相应的生物效应。一些中药或其有效成分有诱生 TNF, 如云芝多糖、香菇多糖、虫草多糖等均能诱生 TNF^[22]; 十全大补汤、小柴胡汤以及柴胡、当归、川芎、桂枝等也有良好的诱生 TNF, 提高 TNF 活性的能力。

在凋亡信号的调控研究中, 李勇等^[11]人发现大蒜素能明显增强胃腺癌 BGC-823 细胞 fas、bax 基因的表达, 抑制凋亡和基因 bcl-2 的表达, 抑制 BGC-823 增殖并诱导凋亡。淫羊藿甙是从朝鲜淫羊藿中提取的中药单体, 李贵新等^[23]从形态学、DNA 电泳、流式细胞仪及凋亡调控基因 bcl-2 和 C-myc 基因表达等多方面系统研究表明, 淫羊藿甙可下调相关基因 bcl-2、C-myc 基因 mRNA 和蛋白表达水平, 在体外诱导 HL60 细胞凋亡呈典型的细胞凋亡形态和生化特征。近年来, 国内外学者应用三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病和某些实体瘤(如肝癌、结肠癌等)疗效显著。体内外研究^[24-25]发现其主要细胞学和分子学机理涉及到下调

Bcl-2 的表达,下调线粒体跨膜电位 $\Delta\Psi_m$,上调 bax 的表达、活化 Caspases 等作用,能诱导细胞凋亡和促进部分分化。杨勤健等^[26]研究表明中药香龙散含药血清(炒白术、半夏、天龙、九香虫等)可使人胃癌细胞 CHS-746T 中 bcl-2 基因表达减弱,bax、p16 基因表达增强,诱导细胞凋亡。我们也发现人参皂甙可通过抑制 bcl-2 基因表达,降低 bcl-2/bax 比率,从而诱导人 T 淋巴细胞白血病细胞(6T-CEM)凋亡^[27]。当前已发现许多中药或其单体可通过抑制肿瘤细胞 bcl-2 表达诱导细胞的凋亡,此处不再赘述。

肿瘤细胞中端粒酶活性增高也是肿瘤细胞不死的重要原因,因此通过药物降低肿瘤细胞中的端粒酶活性也是抑瘤方法之一。谢渭芬等^[28]研究认为,TNF 可显著抑制肝癌细胞端粒酶活性;有人探讨了苦参碱对 K562 细胞端粒酶活性的影响作用,体外用药 2~5 天后,利用 TRAP-ELISA 方法检测 K562 细胞端粒酶活性显著降低,同时伴有细胞的明显分化^[8]。孟志强等^[29]采用端粒重复序列扩增结合非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳银汞法,利用健脾理气方中药灌服新西兰兔后制备含药血清,观察含药血清对体外培养的人肝癌细胞株 SMMC-7721 端粒酶活性的影响,结果表明,健脾理气中药抑制肿瘤细胞端粒酶活性,并诱导肿瘤细胞凋亡。

中药对肿瘤转移信号的调节

肿瘤转移是恶性肿瘤导致患者死亡的主要原因,转移过程包括肿瘤细胞的脱落、迁移、粘附、生长等,每一个阶段都受不同因素的影响以及相关基因的调控。CD44 分子是粘附分子家族中的一员,它所编码的是细胞表面的一组跨膜糖蛋白,目前已发现了十余种 CD44 分子,其中 CD44V6、CD44V9、CD44V3 的表达被认为与肿瘤的侵袭和转移有关。林洪生等^[30,31]报道中药三参冲剂可抑制肿瘤细胞 CD44、CD49 粘附分子的表达,从而抑制肿瘤细胞与内皮细胞的粘附。同时对肿瘤细胞侵袭转移 Tiam-1(浸润转移促进基因)基因具有调控作用,可以减轻肿瘤的转移。张培彤等^[32]研究显示,川芎嗪、丹参酮、水蛭素可影响人肺巨细胞癌 PGCL 粘附分子的表达,进而影响侵袭与转移。

此外,肿瘤细胞易发生多药耐受(MDR)也是其逃避杀伤,容易发生转移的原因。多药耐药基因编码的 P-糖蛋白(Pgp)是一种能量依赖性药泵,可以将胞内的药物泵出胞外,使胞内药物浓度下降,由此产生耐药。以往的经验证实中药联合化疗药,可以增加肿瘤细胞对化疗药的敏感性,具有减毒增效的效果。现代研究认为^[33,34]许多活血化瘀中药如川芎、当归、赤芍、桃仁、

红花等具有钙通道拮抗的作用;粉防己碱、川芎嗪、莲心碱、丹皮酚等能够干扰 MDR 细胞膜的功能,直接与 P-gp 结合,阻断 MDR 细胞药物外排则逆转 MDR。

总之,肿瘤是细胞增殖、分化、凋亡异常的表现,也是多种异常传导信号长期综合作用的结果。中医药对肿瘤的治疗是多靶点的,中药在治疗肿瘤方面有着良好地发展前景,如何利用现代医学研究手段探讨中药的抗肿瘤机制是当前中医界面临的重要课题。

参 考 文 献

- Ahmad N, Cheng P, Mukhtar H, et al. Cell cycle dysregulation by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275(2):328—334.
- Liberto M, Cobrinik D. Growth factor-dependent induction of p21 (CIP1) by the green tea polyphenol, epigallocatechin gallate. *Cancer Lett* 2000; 154(2):151—161.
- 刘军,柳惠图,梁云燕,等.复方中药白龙对 G₁ 期人胃癌细胞中抑癌基因的影响及与 PKA 信号通路的相关性. *中国中西医结合杂志* 1999; 19(10):613—615.
- 李宝元,梁云燕,王代树.中药白龙片与 HMBA 对人胃癌不同周期细胞癌基因与抑癌基因表达调控的共性研究. *中国中西医结合杂志* 2001; 21(4):286—288.
- Jing L, Nakaya K, Yoshida T, et al. Induction by bufalin of differentiation of human leukemia cells HL60, U937, and ML1 toward macrophage/monocyte-like cells and its potent synergistic effect on the differentiation of human leukemia cells in combination with other inducers. *Cancer Res* 1992; 52(17):1193—1198.
- 陆红,张岳岳,蔡宇,等.养胃抗癌颗粒对 S180 肉瘤小鼠抑瘤作用及其对 p53 和 PCNA 表达的影响. *中国肿瘤* 2001; 10(10):611—613.
- 魏小龙,茹祥斌.低分子量地黄多糖对 p53 基因表达的影响. *中国药理学报* 1997; 18(5):471—474.
- Zhang LP, Jiang JK, Tam JW, et al. Effects of matrine on proliferation and differentiation in K-562 cell. *Leuk Res* 2001; 25(9):793—800.
- 孙关林,韩锐.白血病分化疗法研究进展. *中国肿瘤* 1999; 8(2):81—82.
- 杨江苏,秦旭平,张娜,等.两种真菌多糖对 HL-60 细胞酪氨酸蛋白磷酸化作用的影响. *中国药学杂志* 2000; 35(5):303—305.
- 李勇,刘冀红,赵群,等.大蒜素对人胃癌 BGC-823 细胞影响的研究. *中国中西医结合外科杂志* 2001; 7(5):307—310.
- 王四旺,朱玲玲,林洪生,等.安替可胶囊对人癌细胞的抑制作用. *第四军医大学学报* 1996; 17(4):283—286.
- 谷善亲,梁云燕,范立人,等.复方白龙片对人胃癌细胞两条

- 信号通路的调控. 中国中西医结合杂志 1997 ;17(7):404—407.
- 14 Watabe M, Masuda Y, Nakajo S, et al. The cooperative interaction of two different signaling pathways in response to bufalin induces apoptosis in human leukemia U937 Cells. J Biol Chem 1996 ;271(24):14067—14071.
 - 15 Watabe M, Ito K, Masuda Y, et al. Activation of AP-1 is required for bufalin-induced apoptosis in human leukemia U937 cells. Oncogene 1998 ;16(6):779—789.
 - 16 Wang TH. Microtubule-interfering agents activate c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase through both Ras and apoptosis signal-regulating kinase pathways. J Biol Chem 1998 ;273:4928—4936.
 - 17 Srivastava RK, Srivastava AR, Korsmeyer SJ, et al. Involvement of microtubules in the regulation of bcl-2 phosphorylation and apoptosis through cyclic AMP-dependent protein kinase. Mol Cell Biol 1998 ;18(6):3509—3517.
 - 18 Blagosklonny MV, Schulte TW, Nguyen P, et al. Taxol induction of p21 WAF1 and p53 requires c-raf-1. Cancer Res 1995 ;55(55):4623—4626.
 - 19 董巨莹, 药立波, 彭宣宪. 蓖麻毒素对肝癌细胞核转录因子 NF- κ B 的激活作用. 癌症 2000 ;19(12):1109—1112.
 - 20 王继峰, 戴书静, 牛建昭, 等. 金雀黄素抑制人肝癌细胞 Bcl-7402 中 NK- κ B 表达的实验研究. 北京中医药大学学报 2001 ;24(5):16—20.
 - 21 Nancy A. Thornberry and Lazebnik Y. Caspases: Enemies within. Science 1998 ;281:1312—1316.
 - 22 吴雄志, 陈丹, 艾青, 等. 多糖抗肿瘤机理研究. 中国中医基础医学杂志 2001 ;7(12):67—69.
 - 23 李贵新, 张玲, 王云, 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 1999 ;6(2):131—135.
 - 24 Akao Y, Mizoguchi H, Kojima S, et al. Arsenic induces apoptosis in B-cell leukemic cell lines in vitro: activation of caspases and down-regulation of Bcl-2 protein. Br J Haematol 1998 ;102(4):1055—1060.
 - 25 刘琳, 王锦鸿, 秦叔逵. 砷类中药治疗恶性肿瘤的研究概况. 南京中医药大学学报 2002 ;18(1):60—62.
 - 26 扬勤健, 雷良蔚, 李波, 等. 香龙散诱导人胃癌细胞凋亡的机理探讨. 中医杂志 2000 ;41(7):428.
 - 27 凌昌全. 人参皂甙对人 T 淋巴细胞白血病细胞株凋亡基因的影响. 中医杂志 2000 ;41(3):176.
 - 28 谢渭芬, 林勇, 张兴荣, 等. 重组人肿瘤坏死因子调节端粒酶活性的体外研究. 中华消化杂志 2001 ;21(3):156—158.
 - 29 孟志强, 郭伟剑, 于尔辛, 等. 健脾理气方药物血清对肝癌细胞端粒酶活性及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2000 ;8(8):879—882.
 - 30 林洪生, 李树奇, 朴炳奎, 等. 三参冲剂对肺癌转移中内皮细胞及粘附因子的影响. 中国肿瘤 1999 ;8(12):574—576.
 - 31 林洪生, 李树奇, 裴银霞, 等. 川芎嗪、苦参碱对癌细胞与内皮细胞粘附及粘附因子表达的影响. 中国新药杂志 1999 ;8(6):384—386.
 - 32 张培彤, 裴迎霞. 活血药对人肺癌细胞粘附和侵袭的影响. 中国中西医结合杂志 1999 ;19(2):103—105.
 - 33 胡凯文, 左焕明. 中药逆转肿瘤多药耐药研究述评. 北京中医药大学学报 2000 ;23(3):33—36.
 - 34 潘起超, 田晖. 多种中药单体逆转肿瘤多药耐药性. 科学通报 1995 ;40(20):1901—1903.

(收稿 2002-11-27 修回 2003-03-20)

理洩王牌血塞通软胶囊临床应用学术研讨会征文通知

“理洩王牌血塞通软胶囊”是云南昆明圣火制药有限公司独家生产的中药制剂,多年来已在全国城乡医疗单位广泛应用,并获得好评。为了系统地总结临床医生的应用经验及体会,促进学术交流,鼓励临床医生进一步研究应用,云南昆明圣火制药有限公司与中国中西医结合杂志社将于 2004 年春联合举办“理洩王牌血塞通软胶囊临床应用学术研讨会”。现将征文事宜通知如下:

(1) 征文内容:理洩王牌血塞通软胶囊在临床各科的应用经验、体会总结及有关机理研究。(2) 征文要求:每篇论文字数不超过 4 000 字,并附 500 字左右的摘要(包括目的、方法、结果和讨论 4 部分)及单位介绍信,请写清单位详细名称、地址、作者姓名、科室及邮编,论文要求用 A4 纸隔行打印,或誊写清楚。来稿请邮寄至北京西苑操场 1 号中国中西医结合杂志社 王卫霞收(邮编 100091),并在信封左下角注明“理洩王征文”。(3) 征文截稿日期:2003 年 12 月 30 日(以邮戳为准)。(4) 来稿经专家评审,入选文稿将汇编成论文集,作者将被邀参会。对优秀论文将颁发证书,其中部分将在《中国中西医结合杂志》陆续发表。凡参会者将由中国中西医结合学会授予继续教育学分。(5) 详细情况请访问昆明圣火制药有限公司网站: <http://www.ynshenghuo.net>。(6) 研讨会具体日期、地点另行通知。联系人:王卫霞(中国中西医结合杂志社, Tel 010-62886827, Fax 010-62877592), 李勇(云南昆明圣火制药有限公司, Tel 0871-3619670, Fax 0871-3628446)。