

中药诱导肝癌细胞凋亡的研究进展

郑炜望, 华海清

郑炜望, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210000

华海清, 中国人民解放军第八一医院全军肿瘤中心 江苏省南京市 210002

全军十一五中医重大临床攻关基金资助项目, No. 2006051005

作者贡献分布: 本文综述由郑炜望完成; 华海清审校。

通讯作者: 华海清, 教授, 主任医师, 210002, 江苏省南京市, 中国人民解放军第八一医院全军肿瘤中心. huahaiqing@cscsco.org.cn
电话: 025-80864055

收稿日期: 2009-07-29 修回日期: 2009-09-10

接受日期: 2009-09-21 在线出版日期: 2009-10-08

Advances in research on Chinese medicines that can induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells

Wei-Wang Zheng, Hai-Qing Hua

Wei-Wang Zheng, the First Medicine College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Hai-Qing Hua, Cancer Center, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: the PLA Key Clinical Research Program of TCM during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2006051005

Correspondence to: Professor Hai-Qing Hua, Cancer Center, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. huahaiqing@cscsco.org.cn

Received: 2009-07-29 Revised: 2009-09-10

Accepted: 2009-09-21 Published online: 2009-10-08

Abstract

Induction of apoptosis to prevent unlimited growth of tumor cells has become a hot spot in the field of tumor research in recent years. Previous studies have shown that some Chinese medicines and their extracts can induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells, which has aroused widespread concern. In this article, we will provide an overview of recent advances in research on Chinese medicines that can induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells.

Key Words: Chinese medicine; Hepatocellular carcinoma cell; Apoptosis; Progression

Zheng WW, Hua HQ. Advances in research on Chinese medicines that can induce apoptosis of hepatocellular

carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(28): 2915-2918

摘要

如何诱导肿瘤细胞凋亡, 以阻止肿瘤的无限生长一直是近年来肿瘤研究领域里的热点。研究表明, 中药及其提取物对诱导肝癌细胞凋亡具有确切的作用, 已引起学术界的普遍关注。本文将通过对近年来有关文献的回顾与复习, 就中药及其提取物诱导肝癌细胞凋亡的相关研究进展作一综述。

关键词: 中药; 肝癌细胞; 凋亡; 进展

郑炜望, 华海清. 中药诱导肝癌细胞凋亡的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(28): 2915-2918

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2915.asp>

0 引言

细胞凋亡的概念自1972年Kerr和Wyllie提出后, 已成为当前生命科学的研究热点。近年的研究证实, 凋亡与肿瘤的发生、发展、消退等存在着紧密的联系。肝癌的发病机制与细胞增殖和凋亡的失衡密切相关。肝癌的迅速生长是癌细胞增殖旺盛与凋亡减少的结果。国内外已将细胞凋亡作为评估抗肿瘤药物疗效的一个重要指标。中药与传统的手术、放疗及化疗相比, 具有多成分、多环节、多靶点效应的特点, 因此成为近年研究的热点。本文就近年来研究较多的单味中药及其提取物对诱导肝癌细胞凋亡的研究进展作一综述。

1 清热解毒类中药

1.1 苦参碱 苦参碱为豆科植物苦参中提取的有效成分, 为一种生物碱, 其基本结构为苦参碱-15酮, 具有抗炎、抗氧化、免疫抑制及抗肿瘤等作用。研究^[1]发现, 苦参碱能诱导人肝癌 SMMC-7721细胞凋亡。在苦参碱浓度为1.0 g/L时, 作用48 h的凋亡率为29.6%-32.8%, 机制与下调stat3、stat5的基因表达, 抑制JAK-STAT细胞信号转导通路有关。程向东 *et al*^[2]以HepG2细胞

■背景资料

肝癌是临床常见恶性肿瘤, 起病隐匿, 发病迅速, 预后极差, 死亡率高, 在全球发病率呈上升趋势。运用药物诱导肝癌细胞凋亡是重要的治疗手段。中药在这方面作用有其特点, 对其进行探讨有助于为肝癌的治疗提供新的思路和理论基础。

■同行评议者

王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

■研发前沿

自从发现中药具有明显的抗癌活性后,各种中药及相关单体对肿瘤细胞的作用效果、分子机制就一直是研究的热点,但仍未有统一的认识,需要进一步研究。

为研究对象,发现苦参碱0.5 g/L作用48 h后,凋亡率约为22%。而苦参碱1.0 g/L作用Bel-7402细胞48 h后,凋亡率仅为18.01%^[3]。进一步的研究表明,其作用可能是通过调节细胞内Bax和Bcl-2蛋白的表达,经线粒体信号转导途径实现的^[2],机制可能与苦参碱能将肝癌细胞周期阻滞在G₀/G₁期有关^[3]。

1.2 白花蛇舌草 白花蛇舌草为茜草科植物白花蛇舌草的全草,味甘淡,性凉,内含多种类型的化学成分,主要为蒽醌、萜类、多糖、微量元素和甾醇及其苷类化合物,具有清热利湿、解毒抗癌之功效。研究表明,100 mg/L白花蛇舌草乙醇提取物对SMMC-7721的增殖抑制率达到39.40%,有效靶基因达20条,考虑是其多途径抗肿瘤所致^[4]。白花蛇舌草提取物也可抑制人肝癌细胞Bel-7402的生长,诱导细胞凋亡,且呈剂量依赖性,其机制可能与激活抑癌基因P53、抑制原癌基因Bcl-xL表达、直接影响肿瘤细胞能量代谢有关^[5]。亦有研究显示,在小鼠体内,白花蛇舌草在50 mg/kg时对H22的抑瘤率可达48.6%^[6]。

1.3 半枝莲 半枝莲又名狭叶韩信草,为唇形科黄芩属植物的干燥全草,性辛、苦、寒,具有清热解毒、活血化痰、消肿止痛等功效。半枝莲提取物对肝癌细胞的凋亡率为24.03%-36.3%。研究表明,其诱导H22细胞凋亡的机制可能与降低肿瘤细胞线粒体膜电位有关^[7]。而对于诱导肝癌SMMC-7721细胞凋亡,研究显示其能够上调caspase-3蛋白表达以及下调Bcl-2和Survivin蛋白的表达^[8]。另外,半枝莲提取物还可诱导HepG2及QGY-7701等细胞发生凋亡^[9]。

1.4 鸦胆子油乳 鸦胆子系苦木科植物鸦胆子属植物的成熟果实,其醇提取物即为鸦胆子油乳。油乳主要成分为油酸和亚油酸,具有抗肿瘤及增强机体免疫功能的作用。鸦胆子油乳对肝癌细胞的抑制率约为20%-30%,可将细胞阻滞于G₀-G₁期,其诱导凋亡的作用与抑制P53和Bcl-2的表达密切相关,其中P53途径起主导作用^[10]。

1.5 青蒿素 是青蒿叶中分离的抗癌有效成分,具有过氧基团的倍半萜内酯。近年研究发现,青蒿素及其衍生物包括青蒿琥酯等均对肿瘤细胞有明显的杀伤作用。青蒿琥酯100 mg/L对肝癌细胞的抑制率约为16%,凋亡率不超过12%。其分子机制是P53非依赖性的,与凋亡调节基因Bcl-2下调有关^[11]。

2 扶正祛邪类中药

2.1 人参皂苷 人参是五加科人参属的植物,具

有大补元气,补气益肺,安神益智的作用,主要活性成分是人参皂苷。人参皂苷中有多种有效成分,研究最多的是Rh2和Rg3两种单体。体外实验显示Rh2在浓度为100 mg/L、作用48 h,对Bel-7404细胞的凋亡率为39.6%,虽与浓度、时间呈正相关,但到达一定浓度后不再随浓度增加而增加。其作用与上调Bax和下调突变型P53表达有关^[12]。另外,Rh2对SMMC-7721细胞亦有一定的诱导凋亡作用。Rg3是参一胶囊的主要成分,文献[13]报道其对肝癌细胞株抑瘤率不超过67.76%,凋亡率不超过43.39%。机制可能与其能直接诱导细胞凋亡,并能抗肿瘤血管生成有关。最近一项研究显示人参皂苷Rg3还可抑制Pim-3(丝/苏氨酸蛋白激酶Pim家族)表达而阻止细胞生长^[14]。

2.2 黄芪 黄芪为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根,为补气的代表药物之一。黄芪含有多种多糖、黄酮、氨基酸、微量元素等物质,具有抗肿瘤、调节免疫、抗辐射等作用,研究^[15]表明,黄芪多糖对各种肝癌细胞凋亡率为11.97%-54.76%,可以将细胞周期阻滞于G₁期,上调与凋亡密切相关的wtP53(野生型P53)和Bax基因的表达。

3 活血化瘀类中药

3.1 姜黄素 姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚性色素,是姜黄的主要成分。姜黄素诱导肿瘤细胞凋亡的效应随作用时间延长而衰减,而脂质体-姜黄素则不会衰减,优于一般的姜黄素水溶制剂^[16]。孙立群 *et al*^[17]研究表明,姜黄素对肝癌细胞株HepG2细胞有明显的生长抑制作用。浓度在15 mg/L时对HepG2的抑制率为34.52%,而凋亡率只有5.4%。其机制与抑制HepG2细胞端粒酶hTERT mRNA的转录可能相关。而10 mg/L脂质体-姜黄素抑制率为38.67%,凋亡率可达68.9%。其机制与Bax、Bcl-2的表达无明显相关性,可能与其通过转录后机制和蛋白酶体途径抑制细胞中HIF-1 α 蛋白表达有关^[18]。

3.2 莪术 莪术是姜科植物郁金的根茎,性温、味辛苦,有活血破瘀、消积止痛等多种功效。莪术挥发油中含有多种抗癌有效成分,如榄香烯、莪术醇、莪术酮等。有研究探讨了莪术油对肝癌细胞生长的抑制作用。结果显示:细胞凋亡率可达37.8%。机制是莪术油通过抑制COX-2和VEGF的表达,导致HepG2细胞凋亡^[19]。体内实验观察莪术油对小鼠HepA细胞抑制率超过

50%, 且抑制率随浓度增加而增加, 其强度同5-FU相同, 其机制则与下调Bcl-2表达^[20]及上调P16、P21表达^[21]有关。

3.3 丹参酮 丹参酮是从丹参中提取的脂溶性有效成分。丹参具有破癥除瘀的作用, 丹参酮II A是其主要有效成分。丹参酮II A对肿瘤细胞具有天然的杀伤、诱导分化和凋亡等作用。其对SMMC-7721的凋亡率在6.59%-24.17%之间, 可能与细胞内TGF- β 1、COX-2 mRNA及VEGF的表达水平下调、p38MAPK的表达上调有关^[22]。另一方面, 丹参酮II A对HepG2细胞凋亡率却可达60%^[23]。丹参酮的另一有效成分-丹参酮I对HepG2亦有较明显的抑制作用^[24]。

4 利水消肿类中药

4.1 紫杉醇 紫杉醇是从红豆杉属植物紫杉的树皮和树干中提取并开发利用的天然抗癌新药, 是目前抗肿瘤的代表药物之一。紫杉醇在诱导肝癌细胞凋亡方面呈现浓度、时间依赖效应。药物作用24 h, 凋亡率达13.8%-32.62%。机制是其破坏了微管系统的聚合解聚平衡, 扰乱了有丝分裂, 使细胞周期阻滞于G₂/M期, 并诱导Bax/Bcl-2比率增高。王海霞^[25]研究发现, 紫杉醇的衍生物-多西紫杉醇在诱导肝癌细胞凋亡的过程中存在氧化应激以及氧化-抗氧化失衡, 细胞内活性氧可能参与了细胞凋亡的过程, caspase-3是此过程中的关键分子^[26]。

4.2 薏苡仁 薏苡仁具有健脾渗湿、除痹止泻、清热排毒的作用, 对多种肿瘤有显著的抗癌活性, 包括肝癌、胃癌、肺癌、鼻咽癌、宫颈癌等^[27]。薏苡仁不仅可以与放疗、化疗起到协同增敏效果, 其单药也有很好的疗效, 并能提高患者免疫功能, 减轻放化疗带来的不良反应, 改善晚期肿瘤患者的生活质量^[28]。

薏苡仁抗癌谱广, 近年对抑制肝癌细胞增殖的报道不多。韦长元 *et al*^[29]发现薏苡仁提取物对肝癌细胞抑制作用可达30%以上。其作用机制主要与上调P53基因表达有关。

5 以毒攻毒类中药

5.1 三氧化二砷(As₂O₃) As₂O₃是中药砒霜的主要成分, 以毒攻毒的代表药物, 长期以来被认为是一种致癌剂, 能抑制细胞DNA和RNA的合成, 干扰细胞代谢, 致染色体畸变。首次应用砷制剂是治疗急性早幼粒细胞白血病, 取得了显著疗效。进一步的研究证实, As₂O₃应用于肝癌

的疗效亦令人满意。As₂O₃可诱导人肝癌细胞株HepG- II、Bel-7402与SMMC-7721发生凋亡, 凋亡率随着浓度变化波动在9.74%-77.41%之间, 而抑制率则稳定40%-80%之间^[30-31]。其引起凋亡的机制复杂, 主要是启动凋亡基因Bcl家族、激活caspase酶、抑制端粒酶活性等^[32]。亦有研究^[33]认为与上调P27^{Kip1}蛋白及下调Skp2、CDK2有关。

5.2 华蟾素 华蟾素提取自干蟾皮中的脂溶性成分, 运用蟾毒治疗恶性肿瘤已取得很好的疗效。顾伟 *et al*^[34]通过小鼠实验发现, 给予蟾毒后小鼠的肝癌细胞凋亡显著增加, 1.5 mg/kg蟾毒作用24 h后对癌细胞的抑制率为79.3%, 其机制可能与上调Bax表达有关。

5.3 斑蝥酸钠 斑蝥酸钠为斑蝥素的衍生物, 是从斑蝥中运用现代药理技术提取的抗癌药物。其对肝癌细胞有明显的凋亡作用, 凋亡率可达40.02%, 机制可能是通过下调Survivin表达和激活caspase-3来实现的^[35]。

6 其他

除上述药物外, 近年来对守宫、白藜芦醇、吴茱萸碱、雷公藤、甘草黄酮等诱导肝癌细胞亦有少量报道^[36-40], 凋亡率多不超过35%。

7 结论

由于中药种类繁多, 成分复杂, 涉及面广, 目前的研究还多集中在单体或主要成分上, 对复方研究较少; 实验手段和实验条件的差异, 亦影响了实验结果的可重复性, 甚至出现相反的结论, 因此今后如何更系统、科学、客观地深入研究中药诱导肝癌凋亡的机制还有待于我们做深入的探索。

8 参考文献

- 1 赵军艳, 郑艳敏, 赵红艳, 姚树坤. 苦参碱和氧化苦参碱对肝癌细胞增殖凋亡及JAK-STAT信号通路的影响. 中药药理与临床 2008; 24: 18-20
- 2 程向东, 杜义安, 黄灵, 郑智国, 姜志明. 苦参碱在调节Bax和Bcl-2蛋白表达诱导HepG2细胞凋亡中的作用. 中国肿瘤临床 2008; 35: 711-713
- 3 金艳书, 吴学敏, 姜金丽. 苦参碱对人肝癌细胞增殖、细胞周期及细胞凋亡的影响. 中国临床康复 2006; 10: 107-109
- 4 张硕, 宋衍芹, 周三, 倪同尚, 岳旺. 白花蛇舌草总黄酮抑制人肝癌细胞的靶基因调控. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1060-1066
- 5 孟庆宇, 吕秀芳, 任凤云. 白花蛇舌草多糖对Bel7402细胞基因表达的影响. 中国老年学杂志 2008; 28: 1271-1272
- 6 张硕, 宋衍芹, 周三, 杨志宏, 刘占涛, 倪同尚, 岳旺. 白花蛇舌草总黄酮对肝癌的体内外抑制作用及对小鼠移植性肝癌H22细胞增殖周期、凋亡、免疫环境的影响.

■同行评价

本文选题一般, 但内容较新, 具有一定的可读性。

- 响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1347-1352
- 7 代志军, 王西京, 薛茜, 纪宗正, 刘小旭, 康华峰, 管海涛, 马小斌, 任宏涛. 半枝莲含药血清对肝癌H22细胞凋亡及线粒体膜电位的影响. 中西医结合学报 2008; 6: 821-826
- 8 韦鹏涯, 浦洪琴, 韦星, 宾晓芸, 李朝敢. 半枝莲提取物诱导人肝癌SMMC-7721细胞凋亡及其对凋亡相关蛋白表达的影响. 时珍国医国药 2007; 18: 3020-3022
- 9 林敬明, 刘煜, 罗荣城. 半枝莲抑制人肝癌QGY-7701细胞增殖研究. 南方医科大学学报 2006; 26: 591-593
- 10 马力, 张月宁. 鸦胆子油乳诱导肝癌细胞凋亡及对相关基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 559-562
- 11 杨小平, 张星. 青蒿酯钠诱导人肿瘤细胞凋亡及其分子机制的探讨. 中草药 2002; 33: 819
- 12 姜浩, 樊光华. 人参皂甙Rh₂对人肝癌Bel-7404细胞增殖和凋亡的影响. 中国肿瘤临床与康复 2004; 11: 289-292
- 13 何芳, 曾文铤, 沈浩贤. 人参皂甙Rg3联合三氧化二砷对人肝癌细胞增殖性的影响. 疑难杂病杂志 2007; 6: 724-726
- 14 简捷, 刘利珍, 李小燕, 胡志方, 王稻, 黄缘. 人参皂苷Rg3对人肝癌细胞Pim-3及Bad凋亡蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2229-2233
- 15 杨雁, 陈敏珠. 黄芪总苷对肝癌细胞凋亡及wtp53基因表达的影响. 中国药理学通报 2001; 17: 447-451
- 16 李瀚旻, 晏雪生, 明安萍, 彭亚琴, 桂文甲. 脂质体-姜黄素水溶剂抗肝癌效应的稳定性研究. 中草药 2006; 37: 561-565
- 17 孙立群, 陈鸥, 赵明, 韩岚. 姜黄素诱导Hep-2细胞凋亡及其对细胞周期各时相的影响. 中国实验诊断学 2006; 10: 45-46
- 18 孙军, 李岩. 姜黄素对人肝癌细胞BEL-7402中HIF-1 α 表达的影响. 中国药理学通报 2006; 22: 1379-1383
- 19 唐渊, 李晓辉. 莪术提取物对肝癌细胞系HepG2的抗癌作用及机制研究. 中国药理学通报 2007; 23: 790-794
- 20 张维彬, 谭敏, 肖刚, 胡少为. 莪术油诱导小鼠HepA肝癌细胞凋亡及其对bcl-2蛋白表达的影响. 现代中西医结合杂志 2009; 18: 370-371
- 21 梁朝晖, 张维彬, 胡少为. 莪术油对小鼠原位移植HepA肝癌细胞影响的研究. 陕西中医 2009; 30: 107-109
- 22 李琦, 王炎, 范忠泽, 冯年平, 高虹, 南芝蕾, 倪雷, 鲍文磊, 隋华. 丹参酮II A及其纳米粒诱导肝癌细胞凋亡及对p38 MAPK、TGF β ₁信号蛋白表达的影响. 肿瘤 2008; 28: 8-12
- 23 钟志宏, 陈文贵, 柳永和, 李启星, 邱月. 丹参酮II A抑制HepG2细胞生长及诱导其凋亡的实验研究. 中南大学学报(医学版) 2007; 32: 99-103
- 24 郑国灿, 李智英. 丹参酮I抗肿瘤作用及作用机制的实验研究. 实用肿瘤杂志 2005; 20: 33-35
- 25 王海霞. 多西紫杉醇诱导SMMC-7721肝癌细胞凋亡中的氧化-抗氧化失衡研究. 肿瘤学杂志 2008; 14: 432-434
- 26 张浩, 刘小方, 李昱骥, 周建平, 孔凡民, 董明. 多西紫杉醇诱导人肝癌细胞凋亡及其机制的研究. 中华肝胆外科杂志 2008; 14: 901-903
- 27 杨红亚, 王兴红, 彭谦. 薏苡仁抗肿瘤活性研究进展. 中草药 2007; 38: 附7-附9
- 28 褚娟红, 叶骞. 薏苡仁的药理及临床研究概况. 辽宁中医药大学学报 2008; 10: 159-160
- 29 韦长元, 李挺, 唐宗平, 埃高莫·比佐, 刘剑仑, 杨南武. 薏苡仁提取物对人肝癌细胞增殖、凋亡及p53表达的影响. 广西医科大学学报 2001; 18: 397
- 30 王晓娟, 刘小敏, 曾春亚, 张杨, 梁晓秋. 三氧化二砷诱导人肝癌HepG2细胞凋亡及细胞周期阻滞的研究. 北京中医药大学学报 2008; 31: 404-407
- 31 李航宇, 钟鑫平, 隋春阳, 孔凡民, 董明, 张浩, 刘金钢. JNK/SAPK信号转导系统在三氧化二砷诱导肝癌细胞凋亡中的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 688-693
- 32 聂林, 余卫, 何冬梅, 任玮玮, 张涓, 李弘. 三氧化二砷对肝癌细胞survivin基因和端粒酶活性的影响. 肿瘤 2006; 26: 1064-1068
- 33 秦军, 钱海鑫, 王西, 沈爱国, 陈莉, 陆牡丹, 樊勇, 邱晓霞. 三氧化二砷对人肝癌细胞株SMMC-7721中p27kip1及其相关分子Skp2表达的影响. 苏州大学学报(医学版) 2008; 28: 191-193
- 34 顾伟, 韩克起, 苏永华, 黄雪强, 凌昌全. 蟾毒灵对裸鼠人肝癌移植瘤的抑制作用及对Bcl-2和Bax蛋白表达的影响. 中西医结合学报 2007; 5: 155-159
- 35 桂尤胜, 曹献英, 陈筠. 斑蝥酸钠体外诱导肝癌细胞凋亡的实验研究. 武汉大学学报(医学版) 2004; 25: 493-496
- 36 侯新楠, 赛迪, 蔡昂, 王春梅. 壁虎鲜品和炮制品抗肿瘤活性比较研究. 中药材 2008; 31: 957-959
- 37 李覃, 王伟, 李彤. 白藜芦醇抗肝癌Bel-7402及调节荷瘤鼠IL-8分泌机制的研究. 中药材 2008; 31: 697-702
- 38 朱丽红, 刘小东, 谭宇蕙, 李杰芬, 杜标炎, 吴映雅. 吴茱萸碱对人肝癌细胞HepG2的生长抑制及诱导凋亡作用. 中国药理学通报 2009; 25: 68-71
- 39 李瀚旻, 罗春华, 晏雪生, 明安萍, 彭亚琴. 雷公藤甲素对人肝癌Bel-7402细胞增殖及凋亡的影响. 中华中医药学刊 2009; 27: 8-10
- 40 张世巍, 周翌婧, 刘艳, 蔡云清. 甘草黄酮诱导肝癌SMMC-7721细胞凋亡及其对相关蛋白survivin表达的影响. 南京医科大学学报(自然科学版) 2008; 28: 330-334

编辑 李军亮 电编 何基才