

[文章编号] 1007-385X(2005)01-

华蟾素抗肿瘤作用及其机制的研究进展

韩鸿彬 综述, 陈嘉勇 审阅 (昆明医学院第二附属医院普外科, 昆明 650031)

[摘 要] 华蟾素作为一种传统中药,在抗炎、抗病毒、消肿止痛方面具有重要的应用价值。近年来许多研究证明华蟾素在抗肿瘤方面有重要的作用,能有效抑制肿瘤细胞的增殖,同时诱导和促进肿瘤细胞的分化和凋亡,增强机体免疫力等作用,本文就华蟾素在华蟾素抗肿瘤作用及其机制方面的最新研究进展作一综述。

[关键词] 华蟾素;肿瘤;作用机制

[中图分类号] R730.53 [文献标识码] A

华蟾素是我国传统生物药材中华大蟾蜍皮经科学方法提取加工制成的水溶性制剂。其重要成分为吡啶生物碱、还原糖、氨基酸以及蟾蜍毒素、蟾蜍色胺等。近年来随着对华蟾素的药理作用和临床应用的深入研究,已证实华蟾素具有抗肿瘤、抗病毒、强心、麻醉、止痛、促进骨髓增生、增强机体免疫力的作用。而我们认为华蟾素在抗肿瘤方面具有更广阔的应用前景,现将华蟾素抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞分化和促进细胞凋亡等方面的进展综述如下:

1 抑制肿瘤细胞 DNA 和 RNA 的生物合成

DNA 是构成染色质的主要物质,是决定细胞生长、分化、分裂和各种性状的重要因素。正常细胞核的 DNA 含量相对稳定,而恶性肿瘤细胞却具有 DNA 含量的异常,所以肿瘤细胞的 DNA 含量可以直接反映肿瘤的增殖能力。华蟾素抑制肿瘤细胞核酸代谢,干扰 DNA 和 RNA 的合成,阻碍细胞有丝分裂,直接参与杀伤癌细胞的作用。刘莉等^[1]应用自动化图像分析技术对裸鼠人肝癌细胞经局部注射华蟾素治疗的肝癌细胞核 DNA 含量进行定量分析,结果经局部治疗的肝癌细胞核 DNA 含量下降,明显低于对照组,抑瘤生长率为 57.9%。另有学者研究发现华蟾素对体外培养的 H22 腹水型小鼠肝癌细胞无直接杀伤作用,但能明显抑制其 DNA 和 RNA 的合成,并通过对小鼠血浆环核苷酸水平的测定发现:华蟾素能显著提高荷瘤小鼠血浆 cAMP 及 cGMP 的比值,并使之恢复到正常水平,从而抑制肿瘤细胞的增殖,促进其分化,并提高机体免疫水平^[2]。

2 抑制肿瘤细胞的增殖

正常细胞转变成肿瘤细胞与细胞周期密切相关,肿瘤细胞始终处于增殖状态不能进入静止期。华蟾素能有效地抑制胃癌和肝癌细胞株的增殖,MTT 试验显示,华蟾素对胃癌细胞 BGC-823 的抑制作用有时间依赖性,随着时间延长和药物浓度的增加,BGC-823 细胞存活率降低,细胞 DNA 合成亦相应降低。病理学研究发现华蟾素处理 BGC-823 细胞后,细胞数量减少,形态呈多形性细胞核变小,核仁缩小。采用流

式细胞仪分析华蟾素对胃癌 BGC-823 细胞的影响,结果显示:华蟾素作用 48 h 后,癌细胞被阻断在 S 期,使部分肿瘤细胞不能进入 G/M 期,从而影响细胞的增殖。另研究华蟾素对体外培养的人肝癌细胞 SMMC-7721 及 MGC-803 细胞的生长影响,通过集落形成实验结果证明华蟾素对这两株细胞有显著的抑制作用,降低这两株细胞的生物活性及增殖能力,并将其细胞周期阻断于 S 期^[3]。以上结果显示华蟾素可抑制胃癌和肝癌细胞的增殖,并具有直接杀伤作用。

3 诱导肿瘤细胞凋亡

肿瘤细胞在不同程度上缺乏成熟的形态和完整的功能,丧失某些终末分化细胞的性状,并常对正常的分化调节机制缺乏反应。近年来,通过对生物细胞凋亡通路的深入研究,已经证明,细胞凋亡是某些因素诱导的基因介导的细胞自杀行为,组织中的凋亡细胞最终解离为膜完整的凋亡小体,被组织的专职细胞吞噬,因而没有炎症反应,诱导细胞凋亡是肿瘤治疗的新思路。华蟾素能诱导多种肿瘤细胞的凋亡。Masuda^[4]应用华蟾素 1 $\mu\text{mol/L}$ 处理 HL60 细胞 15 h,检测到细胞生存率下降和 DNA 梯形条带,提示华蟾素处理后,细胞凋亡的信号立即启动。用 100 $\mu\text{mol/L}$ 华蟾素预处理 HL60 细胞 6 h,增强了顺铂和全反式维甲酸诱导凋亡作用。华蟾素诱导细胞凋亡的机制日益受到重视,Jing 等^[5]认为华蟾素对细胞周期的影响类似于拓扑异构酶抑制剂的作用,并进一步研究发现,华蟾素处理细胞后,拓扑异构酶 II 的活性受到抑制,拓扑异构酶 I 的活性不受影响,说明华蟾素通过细胞内的信使传导系统最终使拓扑异构酶 II 减少,从而诱导细胞凋亡。而 Watabe^[6]研究认为华蟾素诱导的细胞凋亡可被核酸内切酶抑制剂所抑制,而不受蛋白质合成抑制剂抑制,说明华蟾素诱导的细胞凋亡过程不需要新的蛋白质的合成,经 Northern blot 分析显示 c-myc 和 bcl-2 基因表达随作用时间的延长而下降,证实了华蟾素诱导细胞凋亡是通过改变凋亡相关基因的表达实现的。田普训^[7]应用蟾酥脂质体体外对膀胱移行细胞癌 BIU87 细胞株作用的研究发现,蟾酥脂质体抑制癌细胞 DNA 合成,使癌细胞的高异倍体向低异倍体转

化,从而影响癌细胞的生物学行为,减少肿瘤细胞的恶性度。

4 影响癌基因的表达

在肿瘤形成和演化的多步骤过程中,癌基因、抑癌基因与细胞凋亡过程有相当重要的联系,细胞凋亡受到多种基因的调控,许多人体基因如 p53, c-myc, bcl-2, bax, fas, fasL 等都参与了凋亡的调控。其中 p53, bcl-2 和 c-myc 被认为具有重要的调节作用。p53 为抑癌基因,参与 DNA 损伤引起的细胞周期阻滞和凋亡过程,野生型 P53 在多种情况下是阻碍细胞从 G1 期进入 S 期,因而可作为直接的凋亡基因而导致细胞凋亡。突变型 p53 失去对细胞增殖的负调控作用,可导致细胞增殖失控发生肿瘤^[8]。c-myc 是一种控制细胞增殖和分化的原癌基因,它具有诱导细胞增殖和凋亡的双重作用,选择何种作用受其它调控因素的影响^[9]。bcl-2 是编码一个相对分子量为 25 000 蛋白质的重要原癌基因,对细胞凋亡具有明显的抑制作用,在许多肿瘤的发生过程中,Bcl-2 蛋白表达率呈逐渐增加的趋势,提示 Bcl-2 蛋白表达增加是肿瘤细胞凋亡受抑制的重要机制之一^[10]。Watabe 等^[11]报道蟾蜍灵能使人淋巴瘤 U937 细胞 Bcl-2 的表达下降,诱导细胞凋亡。韩仲明等^[12]通过 SP 免疫组化技术对喉癌 Hep-2 细胞检测 p53、c-myc 及 bcl-2 基因蛋白的表达,研究发现,华蟾素能使抑癌基因 P53 蛋白表达增加,C-myc 和 Bcl-2 表达明显下降。左小东等^[3]对华蟾素对胃腺癌 MGC-803 及人肝癌 SMMC-7721 研究发现,华蟾素对 Bcl-2 抗凋亡基因的表达有一定的抑制作用。以上说明华蟾素对肿瘤癌基因蛋白的表达有较强的抑制作用,并具有一定的特异性。对凋亡基因蛋白表达的研究为临床应用华蟾素治疗肿瘤提供了实验和理论依据。

5 抑制肿瘤血管形成

肿瘤血管生成是肿瘤生长和转移的基础,抑制肿瘤血管生成是肿瘤治疗的新策^[13]。华蟾素能破坏或抑制血管生成,从而抑制肿瘤的生长和转移。Lee 等^[14]用原代培养的牛主动脉内皮细胞在溶胶原蛋白三维培养基中生成的毛细血管样网络结构为模型,观察蟾蜍灵对血管生成的影响,经图象分析仪定量检测,小剂量蟾蜍灵即可显著抑制毛细血管生成,FCM 分析可见血管内皮细胞阻滞与 G2/M 期,细胞增殖受到抑制。

6 增强机体的免疫功能

免疫功能的降低削弱了宿主对肿瘤细胞的生长监视、杀伤和清除能力,使病灶易于生长和转移,华蟾素对机体的免疫调节作用是华蟾素抗肿瘤的主要作用机理之一。华蟾素具有提高机体免疫力作用。林培英等^[15]报道华蟾素能显著增加环磷酸腺苷 (CTx) 所致免疫抑制状态下的小鼠及 SRBC 致小鼠血清 IgG 含量,显著增加 CTx 所致白细胞减少症的小鼠外周血白细胞数,且能提高小鼠腹腔巨噬细胞指数,表明其对细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫均有促进作用。另有研究证实,华蟾素注射液不仅可诱导 PBMC 产生 IL-2,还

可增加 LAK 细胞的杀伤活性^[16]。IL-2 主要是由 T 辅助细胞产生的细胞因子,具有很强的免疫增强作用,对巨噬细胞、NK 细胞、T 细胞、B 细胞等多种免疫效应细胞都能促其活化和增强对病原微生物的杀伤能力^[17]。LAK 细胞则是一种由淋巴因子活化的杀瘤谱最广、效应最强的杀伤细胞,它只杀伤肿瘤、不杀伤正常细胞。近年已有较多应用 LAK 细胞和 IL-2 治疗恶性肿瘤的报道^[18]。由此可见,该药可能是通过增强机体对肿瘤的免疫功能而实现其抗癌作用的。

7 展望

华蟾素是临床常用的抗癌中药制剂,具有抑制肿瘤细胞生长和刺激免疫系统的双重作用,在肿瘤临床上已广泛应用。对晚期癌症患者,特别是失去手术、放疗条件及不能接受化疗的病人来说,是一种有希望的抗癌药物,并且在肿瘤的放、化疗过程中能减少其毒副作用,增加患者对放、化疗的耐受性,提高肿瘤细胞对放、化疗产生的凋亡诱导作用的敏感性,从而提高疗效或在相同疗效下减轻放、化疗的剂量。通过对其生物活性的研究,如果能进一步确定其主要药理活性和作用机制及其对凋亡相关基因的影响,同时针对华蟾素抗肿瘤特点加强联合用药的研究,更能充分发挥传统中药在抗肿瘤方面的独特效用,将为华蟾素为临床治疗肿瘤理论依据新的思路,使其成为新一代高效、低毒的抗癌药物。

【参考文献】

- [1] 刘莉, 蒋亚生, 张士华. 抗癌中药制剂局部注射对裸鼠人肝癌细胞核 DNA 含量的影响[J]. 中国肿瘤临床, 1993, 20(2): 140-142.
- [2] 关钧, 赵学海, 蒋秉坤, 等. 华蟾素抗肿瘤机理的初步探讨[J]. 蚌埠医学院学报, 1993, 18(2): 78-81.
- [3] 左小东, 崔永安, 秦叔奎, 等. 华蟾素对肿瘤细胞周期及 bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(6): 567-568.
- [4] Masuda Y, Kawazoe N, Nakajo S, et al. Bufalin induces apoptosis and influences the expression of apoptosis-related genes in human leukemia cells[J]. Leuk Res, 1995, 19(8): 549-556.
- [5] Jing Y, Ohizumi H, Kawazoe N, et al. Selective inhibitory effect of bufalin on growth of human tumor cells *in vitro*: Association with the induction of apoptosis in leukemia HL-60 cells[J]. Jpn J Cance Res, 1994, 85(6): 645-651.
- [6] 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]. J Biol Chem, 1996, 271(24): 14067-14072.
- [7] 田普训, 南勋义, 李旭, 等. 蟾毒素脂质体对人膀胱移行细胞癌 BIU-87 作用的体外实验研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 1994, 15(6): 432-436.
- [8] Brown JM, Wouters BG. Apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents[J]. Cancer Res, 1999, 59: 1391-1399.
- [9] Packham G, Cleveland, JI. C-myc and apoptosis Biochem Biophys Acta, 1995, 1242: 11-14.
- [10] Burlacu A. Regulation of apoptosis by Bcl-2 family proteins[J]. J Cell Mol Med, 2003, 7(3): 249-257.
- [11] Watabe M, Kawazoe N, Masuda Y, et al. Bcl-2 protein inhibits bufalin-induced apoptosis through inhibition of mitogen-activated protein kinase activation in human leukemia U937 cells[J]. Cancer Res, 1997, 57(15): 3097-3100.
- [12] 韩仲明, 苏红星, 黄晋生, 等. 华蟾素对喉癌细胞的基础研究

- [J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 2000, 8(3): 111-114.
- [13] Bolontrade MF, Stern MC, Binder RL, *et al.* Angiogenesis is an early event in the development of chemically induced skintumors [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19(12): 2107-2013.
- [14] Lee DY, Yasuda M, Yamamoto T, *et al.* Bufalin inhibits endothelial cell proliferation and angiogenesis *in vitro* [J]. *Life Sci*, 1997, 60(2): 127-134.
- [15] 林培英, 潘竞锵, 冯昭明, 等. 华蟾素对小鼠免疫功能的影响 [J]. *中成药研究*, 1987, 12: 20-21.
- [16] 赵兴梅, 陈 明, 杨祖贻, 等. 华蟾素对人 IL-2 水平及 LAK 活性影响 [J]. *中药药理与临床*, 1999, 15(6): 333.
- [17] 王在国, 张爱玲, 丁福全, 等. 经埋植式给药装置肝动脉门静脉输注自体 LAK 细胞及化疗药治疗中晚期肝癌 [J]. *新消化病杂志*, 1996, 4(8): 448.
- [18] 文立民. 白细胞介素 2 治疗癌症的评价 [J]. *国外医学肿瘤学分册*, 1993, 20(5): 302.
- [收稿日期] 2004 - 10 - 10 [修回日期] 2004 - 12 - 16
- [本文编辑] 韩 丹, 王 莹