

肝癌化疗耐药机制及中药干预研究进展

胡泽玉¹, 杨清瑞¹, 周铨², 杨林³, 肖海娟^{1,4*}, 方瑜¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450046;
3. 咸阳市中心医院, 陕西 咸阳 712000; 4. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

[摘要] 多药耐药(MDR)是恶性肿瘤患者化疗失败的重要原因,也是提高患者生存质量,延长生存期等方面的瓶颈。肝癌细胞作为一种先天性耐药的肿瘤细胞,普遍对放疗不敏感,且肝癌患者早期症状缺乏典型性,多数患者确诊已为晚期,生存期短,复发率高,随之而来的对化疗药物敏感性降低,继之MDR成为原发性肝癌(PHC)治疗失败的重要原因之一。因此,寻找安全、不良反应小、疗效佳的化疗增敏剂已成为肝癌耐药研究中需迫切解决的问题。随着中药在肿瘤疾病治疗的广泛应用,中药复方、中药注射液、中药单体在逆转肝癌化疗耐药方面机制研究也日益增加。基于中药研究现状,通过查阅相关文献数据库,其机制可概括为增加细胞内药物浓度、影响酶类物质活性变化、诱导细胞凋亡,逆转细胞信号通路异常、调控肿瘤微环境等。传统中医药从多靶点、多途径的角度减轻了肝癌细胞化疗耐药,增加了肝癌细胞的化疗敏感性以及化疗药物对肝癌细胞的毒性作用,因此,从中医药角度探讨肝癌MDR作用机制,对于逆转肝癌MDR具有重要意义,同时也为临床治疗肝癌提供参考价值。然而目前研究存在实验类型较单一,不良反应等不足,因而在未来需要从实验室到临床进行多机制,多靶点的实验研究及临床验证。

[关键词] 中医药; 原发性肝癌; 化疗耐药; 逆转机制; 多药耐药

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R735.7;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)14-0254-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220923

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220321.0942.003.html>

[网络出版日期] 2022-03-22 13:35

Mechanism of Chemotherapy Resistance of Hepatocellular Carcinoma and Intervention with Chinese Medicine: A Review

HU Zeyu¹, YANG Qingrui¹, ZHOU Cheng², YANG Lin³, XIAO Haijuan^{1,4*}, FANG Yu¹

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2. The First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine,

Zhengzhou 450046, China; 3. Xianyang Central Hospital, Xianyang 712000, China;

4. The Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

[Abstract] Multidrug resistance (MDR) has been a main culprit behind the failure of chemotherapy in patients with malignant tumors and a major obstacle to improving the life quality and prolonging the survival of patients. Hepatocellular carcinoma cells, the innate drug-resistant cells, are generally insensitive to radiotherapy and chemotherapy. Moreover, as the early symptoms of hepatocellular carcinoma are atypical, most patients are diagnosed at the advanced stage, with short survival period and high recurrence rate. Thus, the sensitivity to chemotherapy drugs is decreased. This explains how MDR becomes one of the important reasons for the failure of primary hepatocellular carcinoma (PHC) treatment. Therefore, it is an urgent task to search for safe and effective chemosensitizers with little adverse effect in the research on the drug resistance of hepatocellular

[收稿日期] 2021-12-09

[基金项目] 陕西省自然科学基金青年项目(2018JQ8014);陕西中医药大学创新团队项目(2019-YL06)

[第一作者] 胡泽玉,在读硕士,从事肿瘤内科疾病的基础与临床研究,E-mail:549643140@qq.com

[通信作者] *肖海娟,副主任医师,博士后,硕士生导师,从事肿瘤内科疾病的基础与临床研究,E-mail:daisytcn@hotmail.com

carcinoma. As Chinese medicine has been widely applied in the treatment of tumors, the mechanisms of compound Chinese medicine prescriptions, Chinese medicine injections, and single Chinese medicinal in reversing chemotherapy resistance in liver cancer have attracted the interest of scholars. According to previous reports, the mechanisms can be summarized as increasing intracellular drug concentration, influencing changes in enzyme activity, inducing apoptosis, reversing abnormalities in cellular signaling pathways, and regulating the tumor microenvironment. Traditional Chinese medicine reduces the chemotherapy resistance of hepatocellular carcinoma cells through multiple targets and multiple pathways, thereby improving the chemotherapy sensitivity of the cancer cells and enhancing the toxicity of chemotherapeutic drugs to hepatocellular carcinoma cells. Therefore, exploring the mechanism of MDR of hepatocellular carcinoma from the perspective of traditional Chinese medicine is important for reversing the MDR and is of great reference value for clinical treatment of hepatocellular carcinoma. However, there are few experimental types and adverse effects available. Thus, the multi-mechanism and multi-target experiments and clinical research should be carried out in the future.

[Keywords] Chinese medicine; primary hepatocellular carcinoma; chemotherapy resistance; reversal mechanism; multidrug resistance

原发性肝癌(PHC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,据2020年世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)数据统计,全球的原发性肝癌新发病率居第五,死亡率位居第三^[1]。同时,肝癌是我国第四位常见恶性肿瘤及第2位肿瘤致死病因^[2]。甲胎蛋白(AFP)作为早期肝癌监测指标,然而仅有34%的患者在确诊前一年AFP升高,在缺乏特异性筛选方法且早期症状缺乏典型性的情况下,大多数患者在确诊时往往已处于晚期,晚期肝细胞性肝癌(HCC)患者5年生存率低至2%^[3-4]。近年来在不断地探索及认知中,局部消融术和经肝动脉化疗栓塞术(TACE)等非根治性治疗的广泛应用,靶向治疗及免疫治疗的兴起,使得肝癌在治疗方面取得了可观进展。尽管化疗药物,例如5-氟尿嘧啶(5-Fu)、阿霉素(ADM)、铂类药物,在肝癌的治疗中起着重要的作用,但伴随着疗程和时间的延长,药物敏感性逐渐降低,究其原因,可能与肿瘤相关靶点的耐药相关^[5]。目前,诸多研究将方向指向了中医药治疗肝癌,中医药通过不同机制参与抑制肿瘤生长与转移、改善肿瘤微环境、调控细胞焦亡与自噬等方面^[6-8]。对于不能耐受手术但已出现耐药者,中医药作为一种辅助治疗方法,可以逆转肝癌细胞耐药,减轻肿瘤负荷,延长患者“带瘤生存”时间。因此,为探究中医药逆转原发性肝癌多药耐药机制,遂检索中英文数据库,整理分析近10年相关文献,对中医药逆转肝癌化疗耐药机制进行研究总结,以期对肝癌的治疗提供新的思路。

1 原发性肝癌耐药机制

多药耐药(MDR)是当肿瘤细胞接触到一种化

疗药物并产生耐药,同时对其他作用机制和分子结构不同的抗肿瘤药物产生交叉耐药的情况^[9]。作为一种先天性耐药的肿瘤细胞——肝癌细胞,对化疗缺乏敏感性,其耐药机制复杂多样。众多研究结果表明肝癌出现化疗耐药主要与以下4个方面相关。

1.1 跨膜转运蛋白表达异常 化疗药物通过跨膜转运蛋白出入肿瘤细胞,当蛋白表达异常时可出现药物流出增加和流入减少,从而导致细胞内药物浓度降低而引发耐药。细胞膜上的三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运体(ABC)直接利用ATP分解的能量进行各种底物的跨膜转运,属于一种膜转运蛋白,ABC转运蛋白家族增加化疗药物外排,降低细胞内药物浓度,参与肝癌细胞MDR^[10]。其中,目前研究较多的是P-糖蛋白(P-gp),最早在秋水仙碱耐药的中国仓鼠卵巢中发现,MDR1是其编码的基因之一,可引起肿瘤MDR^[11]。姚敏等^[12]发现当化疗药物作用时,活化的核转录因子- κ B(NF- κ B)可激活下游靶基因MDR1启动子转录,使P-gp过表达而引起肝癌MDR。其他多药耐药相关蛋白(MRP)机制与P-gp类似。肺耐药相关蛋白(LRP)与乳腺癌耐药蛋白(BCRP/ABCG2)在肝癌耐药方面的研究较少。赵鑫等^[13]通过体外研究发现相较于SMMC-7721细胞,SMMC-7721/ADM细胞中ABCG2蛋白表达水平显著增高,提示高表达的ABCG2参与了肝癌化疗耐药的形成。美洲大蠊提取物脱脂膏及C II -3可下调MDR1、BCRP蛋白表达,逆转HepG2/ADM细胞的MDR^[14]。这些研究均提示跨膜转运蛋白与肿瘤MDR耐药密切相关。

1.2 酶类物质活性变化 谷胱甘肽巯基转移酶

(GST)、DNA 拓扑异构酶(Topo)及蛋白激酶 C (PKC)是参与肝癌细胞 MDR 的主要酶类。GST 是一类具有解毒作用的功能性代谢酶,通过结合谷胱甘肽(GSH)降低对化疗药物的敏感性,使肿瘤细胞出现耐药。有研究报道 HCC 的化疗耐药机制与 GST 衍生的抗凋亡活性相关,GST 可通过激活肝癌细胞自噬,清除化疗药物产生过氧化物,从而抑制细胞凋亡,导致耐药^[15]。Topo 是参与 DNA 复制、转录的一类酶,Topo II 作为其中一分型,参与肿瘤化疗耐药。PKC 属于多功能丝-苏氨酸蛋白激酶,参与细胞信号传递,与肝癌的发生密切相关,可以磷酸化 P-gp 表达,增加药物外排,导致 MDR。此外,去乙酰化酶、去泛素化酶(USP)在肝癌耐药机制亦有相关研究。SUN 等^[16]研究证实 USP22 作为肿瘤干细胞的标志物,通过去除无泛素化的去乙酰化蛋白酶 1(SIRT1),进而激活蛋白激酶 B(Akt)通路,增加 MRP1 的表达,诱导肝癌细胞产生 MDR。

1.3 细胞凋亡途径的异常 细胞凋亡是面对环境中的生理性或是病理性因素,为了维持内环境稳定,受基因控制的细胞程序性死亡。同时,他是化疗药物杀伤肿瘤细胞的重要途径。当在细胞凋亡过程中某信号出现缺陷,便为肿瘤耐药提供了机会。一些凋亡因子如抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)家族、人体抑癌基因(p53)、生存素(Survivin)与肝癌的耐药机制关系密切。Bcl-2 在化疗耐药细胞中表达上调,阻止了药物诱导的细胞凋亡。CHENG 等^[17]在体内体外实验研究发现线粒体磷酸甘油酯突变酶/蛋白磷酸酶 5(PGAM5)的高表达可通过阻断 5-Fu 诱导凋亡而赋予 HCC 细胞化学抗性,所以沉默 PGAM5 可以提高 HCC 细胞的 5-Fu 化学敏感性,其机制与介导抗凋亡蛋白(Bcl-xL)引起细胞凋亡有关。同时,肝癌干细胞可通过上调 Bcl-2、Bcl-xL,继而激活 Notch 和 NF- κ B 细胞通路抑制化疗药物诱导的细胞凋亡^[18]。此外,在耐阿霉素的肝细胞 Hep3B 实验证实,突变型 p53 可诱导 Hep3B 细胞中 P-gp 表达,引起细胞凋亡,提示 p53 基因突变与化疗耐药有关^[19]。研究发现肝癌患者容易出现叶酸缺乏症(FD),FD 可通过上调 Survivin 和葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)使肝癌细胞产生抗性^[20]。

1.4 肿瘤微环境的调控 肿瘤微环境是肿瘤细胞发生、发展的重要条件之一,同时也在介导肿瘤的获得性耐药机制中发挥重要作用。缺氧因子诱导、靶向微环境以及肠道、口腔微生态等的改变对肝癌

的微环境产生重要影响,因此,对研究肝癌 MDR 作用机制具有重要参考价值。缺氧诱导因子(HIF)与酸化微环境的影响密不可分,他们共同参与了肿瘤的化疗耐药。刘锋^[21]利用弱碱性碳酸氢钠改变肝癌细胞酸碱环境,抑制 Bcl-2 因子,诱导肝癌细胞凋亡,在耐索拉菲尼的肝癌细胞中发现索拉菲尼抑制 HIF-1 α ,上调 HIF-2 α ,加重细胞缺氧环境,而 HIF-2 α 通过 Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)通路介导肝癌靶向药物耐药。此外,有学者研究肝癌酸性微环境与人肝癌细胞 Bel-7402/5-Fu 及 HepG2/ADM 的关系时,发现酸敏感离子通道(ASICs)可调控 Ca²⁺/磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/Akt 信号通路诱导人肝癌细胞耐药^[22]。肠道微环境的失调通过脑肠轴和细菌移位影响肿瘤炎性、免疫微环境,为肿瘤发生提供条件^[23]。研究发现肠道菌群中微生物如吲哚丙酸通过抑制 NF- κ B 通路,拮抗肝炎,延缓肝癌的发生发展^[24]。VANLANCKER 等^[25]研究发现不同口腔微生物种类对 5-Fu 生理浓度的敏感性存在差异,例如口腔链球菌、绿脓杆菌和唾液乳杆菌对 5-Fu 生理浓度具有高度耐药性。这进一步提示从微生态角度研究肿瘤化疗耐药具有一定的意义。

2 中药逆转策略研究

中药在肿瘤耐药治疗中发挥着不可替代的作用。其主要机制是增加胞内药物浓度、降低酶类物质活性表达、诱导细胞凋亡、改善肿瘤微环境等。

2.1 增加胞内药物浓度 肝癌膜转运蛋白主要有 P-gp、MRP、LRP、BCRP 等。而作为膜转运家族中的 P-gp 是研究中医药逆转肿瘤 MDR 最深入、最重要的靶点,对肝癌细胞具有重要研究意义。

2.1.1 中药单体 目前,提取中药中有效成分是联合化疗逆转肝癌 MDR 的研究热点。耿燕娜等^[26]发现姜黄素可通过下调 MDR1 基因及 P-gp 的表达,从而抑制耐 ADM 的 HepG2 肝癌细胞的增殖。相关研究发现中药藤黄提取物新藤黄酸(GNA)、黄芪皂苷 II 同样参与下调 P-gp 表达,逆转肝癌耐药^[27-28]。MA 等^[29]通过体外实验发现积雪草苷以剂量和时间依赖性方式显著抑制肝癌细胞的增殖,介导 P-gp 的差异表达拮抗 HCC 细胞 MDR。陈昭琳^[30]发现,槲皮素可能通过部分靶 FDZ7 蛋白,抑制下游 β -catenin 入核,从而影响下游转运蛋白 MDR1/P-gp 和 MRP2 的表达,增加耐 5-Fu 肝癌细胞敏感性。另外,部分中药单体与信号通路或者钙通道阻滞作用相关。研究报道,双氢青蒿素(DHA)可以逆转肝癌细胞化疗耐药,其主要机制与抑制 p53(R248Q)-细

胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)-NF- κ B-二十二碳六烯酸(DHA)来降低P-gp的表达,减少ADM的外排有关^[19]。研究发现川芎嗪作用于钙通道诱导下调P-gp的表达,逆转BEL-7402细胞化疗耐药^[31]。汉防己甲素(TET)是一种钙通道拮抗剂,在建立肝癌耐药细胞系实验中发现,TET显著降低耐药细胞内Ca²⁺浓度,增加胞内药物浓度^[32]。综上,可发现以上中药单体具有明确逆转肝癌化疗耐药的作用,主要机制是通过下调P-gp表达,减少化疗药物外排,增加细胞内药物浓度。部分中药单体可影响钙通道阻滞作用,从而参与MDR。

2.1.2 复方 赵锦燕^[33]通过体内外实验研究证明小柴胡汤可下调P-gp、MRP1、BCRP蛋白表达,抑制药物外排,也证明小柴胡汤可以作为化疗增敏剂,调控miR-122增加对耐5-Fu肝癌细胞的敏感性,逆转肝癌MDR。临床研究证实小柴胡汤通过下调P-gp提高肝动脉化疗栓塞的临床疗效^[34]。在5-Fu耐药肝癌细胞研究中发现,健脾化痰方、抗癌I号方同样通过下调P-gp蛋白的表达,对BEL-7402细胞耐药具有逆转作用^[35-36]。干细胞相关因子ABCG2也参与了药物外排,有研究表明解毒消癥饮中乙酸乙酯提取物通过下调耐药基因ABCG2的表达,显著提高肝癌Huh7细胞对小剂量化疗药物5-Fu的敏感性^[37]。中药注射液作为临床治疗疾病的一种独特手段,如康莱特注射液、艾迪注射液通过下调P-gp表达,增加化疗药物积累,参与肝癌MDR^[38-39]。

2.2 影响酶类物质活性变化 细胞内GSH和GST活性水平的升高及Topo与PKC的活化等酶类物质活性变化参与逆转肝癌细胞耐药机制。

2.2.1 中药单体 在建立的HepG2/ADM的动物模型中,通过免疫组化法发现PKC、GST- π 、Topo II处于高表达状态,美洲大蠊多肽一定程度可下调PKC、GST- π 、Topo II的表达,提示这类酶与肝癌MDR有关^[40]。此外,有研究发现由葫芦科植物栝楼根中提取化合物23,24-二氢葫芦素B通过下调GST- π 来抑制MRP1蛋白的外排,从而促使细胞凋亡,增强肝癌细胞对化疗药物的敏感性^[41]。黄芩苷来源于中药黄芩,王术华^[42]在耐ADM肝癌细胞实验研究中发现,黄芩苷逆转MDR机制与P-gp、MRP、GSH/GST的表达相关。去乙酰化酶3(HDAC3)在肝癌组织组织中呈现高表达,其通过参与雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路、调控T淋巴细胞亚群,进入诱导细胞凋亡。胡礼仪等^[43]发现白

芍总苷可逆转BEL-7402/ADM细胞的耐药性,作用机制是通过抑制HDAC3,从而下调MDR1的表达。

2.2.2 复方 王亚琪等^[44]的实验研究中益气化痰解毒方呈剂量依赖方式抑制耐Sorafenib人肝癌细胞增殖,显著抑制GST- π 基因的过表达来拮抗Sorafenib获得性耐药。研究报道由白花蛇舌草、人参、黄芪、猪苓、天花粉等组成的中药复方“天仙”醇提物能增加肝细胞的细胞色素P4503A4酶(CYP3A4)水平,它与常规化疗药物联合给药减轻了化疗药物的不良反应并提高了化疗的有效性,达到减毒增效的效果^[45]。这对于逆转肝癌化疗耐药具有潜在可能性。此外,有学者发现华蟾素注射液可下调黏着斑激酶(FAK)的表达,抑制肝癌细胞间的黏附与聚集,促进细胞凋亡,逆转MDR^[46]。

2.3 诱导细胞凋亡,逆转细胞信号通路异常 Bcl-2家族、胱天蛋白酶(Caspase)家族、p53是诱导肝癌MDR常见的细胞凋亡因子,参与细胞信号通路的调控,对逆转肝癌MDR有重要意义。

2.3.1 中药单体 冬凌草甲素是冬凌草主要生物活性成分,对多种肿瘤治疗具有重要作用,同时也能改善胰腺癌、胃癌等肿瘤耐药。安丽丽等^[47]究冬凌草甲素可下调Caspase-3、Bcl-2蛋白表达,诱导耐药细胞凋亡。新黄藤酸也具有相同的逆转机制^[27]。薯蓣皂苷是薯蓣科植物穿山龙根茎提取物,具有潜在的抗癌作用。薯蓣皂苷组的ADM摄取率和凋亡率均高于空白组,且该组Caspase-3、促凋亡蛋白(Bax)表达高于空白组,提示其耐药机制与细胞凋亡有关^[48]。另外,部分信号通路异常也可促进肝癌细胞的凋亡机制,积雪草苷调控PI3K/Akt和丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)通路、姜黄素调控PI3K/Akt信号通路、醉茄素A调控酪氨酸蛋白激酶(JAK)/转录激活因子(STAT)通路、尾叶香茶菜丙素调控张力蛋白同源物(PENT)/Akt通路诱导耐药细胞的凋亡,从而在逆转肝癌耐药中发挥重要作用^[49-51]。

2.3.2 复方 Bcl-2家族在HCC发生中发挥抗凋亡的作用。研究发现小柴胡汤联合化疗药物给药显著上调Bax表达,下调Bcl-2的表达,诱导细胞凋亡^[33]。大黄蛰虫丸联合化疗抑制Bcl-2蛋白,诱导肝细胞癌凋亡,逆转MDR^[52]。此外,艾迪注射液可上调凋亡相关蛋白5(PDCD5)的表达,诱导细胞凋亡,从而部分逆转肝癌细胞MDR^[39]。YANG等^[38]研究发现康莱特注射液通过PI3K/Akt信号通路调控Bcl-2、Bax蛋白诱导细胞凋亡和周期的停滞。KONG等^[53]发现华蟾素注射液中含有一种丰富的

生物碱-丁硫氨酸,可通过JAK2/STAT3通路诱导肝癌细胞自噬,这一发现也为肝癌MDR的研究提供重要参考价值。在肝癌细胞中,位于细胞核的yes相关蛋白(YAP)可以促进下游相关基因表达,与ADM及5-Fu耐药相关促进肝癌细胞增殖与凋亡,槐耳是传统的药用真菌,制成槐耳颗粒通过抑制YAP蛋白表达促进耐奥沙利铂的肝癌细胞凋亡^[54]。

2.4 调控肿瘤微环境 近年来,随着生物学技术的发展,缺氧因子诱导、靶向微环境、肠道微环境等研究方向也成为目前中医药逆转肝癌MDR的热点。

2.4.1 中药单体 活性氧(ROS)水平的升高与肿瘤的增殖、凋亡密切相关。研究发现川芎嗪可能通过上调耐药BEL-7402细胞内的ROS,参与肝癌细胞ADM耐药^[55]。黄良玖等^[41]实验探究葫芦素B逆转肝癌BEL-7402耐药机制与增加ROS表达,促进细胞凋亡有关。此外,中药单体积雪草苷、白花丹素通过提高ROS的水平,增加耐药细胞对化疗药物敏感性,进而一定程度逆转MDR^[29,56]。另外,香菇多糖(LNT)是食用菌香菇的提取物,研究者发现LNT抑制血管内皮生长因子(VEGF)和HIF-1 α 表达,且LNT预处理联合sorafenib作用于耐药株BEL-7402/S细胞48h的半数抑制率浓度(IC₅₀)低于sorafenib组^[57]。该研究提示沉默HIF-1 α 协同中药干预MDR,诱导细胞凋亡具有一定研究前景。

2.4.2 复方 王亚琪等^[58]发现将益气化痰解毒方与索拉菲尼联合,可抑制其瘤组织HIF-1 α 和血管拟态(VM)的表达,拮抗索拉菲尼耐药。陈晓辉等^[23]提出健脾法改善肠道微环境,这与肝癌的扶正健脾中医治疗原则类似,为改善微环境逆转肝癌耐药提供理论支持。研究发现扶正祛邪汤可以显著改善肝癌大鼠肠道微生态,其机制可能通过Toll样受体4(TLR4)/NF- κ B信号通路,修复肝损伤,抑制疾病进展^[59]。上皮间质转化(EMT)的激活以及肿瘤干细胞(CSCs)的生成与肿瘤微环境中的相关信号因子的调控密切相关,并且EMT改变与干细胞密切联系。研究发现著名中药小复方“松友饮”作用于过表达的耐奥沙利铂肝癌细胞株,抑制肝癌“干性”,呈EMT改变,增强肝癌组织对化疗的敏感性^[60-61]。

中药逆转肝癌化疗耐药的靶点及相关机制见表1。

3 讨论

中医药在肝癌的系统治疗中,发挥着越来越重要的作用。中药可以通过下调膜转运蛋白,改变酶类物质活性,诱导细胞凋亡、调控微环境及相关因

子等机制发挥抗耐药效应,体现了中药干预肝癌耐药的减毒增效、多靶点等优势,在肝癌治疗中有较好应用价值和前景。但是目前仍存在一些问题有待解决:①目前联合中药是逆转肿瘤化疗MDR常用方法,同时受制于肝癌细胞耐药机制多样,也缺乏系统性研究,研究方向主要趋向于中药介导P-gp逆转肝癌耐药,对于其他耐药蛋白、酶类及肿瘤微环境研究甚少,尚待进一步研究探索。②大多数中药通过下调P-gp实现逆转肝癌耐药,但部分中药单体如积雪草苷可通过多种途径降低P-gp表达及调控ROS表达、参与PI3K/Akt、MAPKs信号转导逆转肝癌的化疗耐药,且目前的研究主要集中在体外实验,未来更应多进行动物实验及临床研究。

鉴此,随着网络药理学技术不断发展,研究者可以采用系统生物学技术及大数据方法分析不同病理阶段肝癌MDR相关作用靶点,同时,结合分子生物学、药理学方面知识,对有逆转肝癌耐药的中药单体及复方其他机制的再研究,更全面地揭示中医药逆转肝癌MDR的科学内涵。这为肝癌体内外实验研究提供新的方向,也为逆转肝癌MDR的中西医逆转剂寻找更多可能。

随着现代医学不断深入研究,将具有多个靶点、减毒增效、不良反应少等优势的中药与化疗药物相结合,从而形成一种中西医结合“分子配伍”复方成为科学家们研究的热点话题,同时也为逆转肿瘤耐药带来更多的机遇和挑战^[62]。阿霉素/水飞蓟素纳米复合药增强了阿霉素对肝细胞癌的疗效,同时减轻了阿霉素对心肌的毒性^[63]。耶鲁大学郑永齐教授带领团队以黄芩汤为基础,将方中中药的活性成分优化配伍、制成一种复方片剂,命名为PHY906。在这项实验研究中,通过建立HepG2荷瘤裸鼠为模型来研究PHY906和索拉非尼对肿瘤生长的联合作用。结果显示PHY906可通过上调人单核细胞趋化因子(hMCP1)和促进巨噬细胞浸润,改善肿瘤微环境,进一步增强索拉非尼的疗效^[64]。除此之外,近年来研究发现肝癌的发生、进展伴随着肠道菌群的紊乱,而诸多研究发现中药成分例如黄芩提取物、黄连生物碱等在改善肠道菌群失调,恢复肠道屏障完整性发挥着一定的作用。利用中药或联合化疗药物通过影响细胞信号通路调控肠道微环境,或许可以成为治疗肝癌的新型策略,同时也为逆转肝癌耐药提供新的方向和思路。

表1 中药逆转肝癌化疗耐药的靶点及机制

Table 1 Mechanisms and targets of TCM reversing chemotherapy resistance in hepatocellular carcinoma

类型	中药	靶点	化疗耐药细胞	逆转化疗耐药机制	参考文献	
中药 单体	双氢青蒿素	P-gp、p53-ERK1	Hep3B/ADM 细胞	增加细胞内药物浓度	[19]	
	姜黄素	MDR1、P-gp、PI3K/Akt	HepG2/ADM 细胞、 BEL-7402/ADR 细胞	增加细胞内药物浓度, 促进细胞凋亡	[26, 49]	
	新藤黄酸	P-gp、Bax/Bcl-2、Caspase-3	BEL-7402/ADM 细胞	增加细胞内药物浓度, 诱导细胞凋亡	[27]	
	黄芪皂苷 II	MDR、P-gp	BEL-7402/FU 细胞	增加细胞内药物浓度	[28]	
	积雪草苷	P-gp、PI3K/Akt、MAPKs、ROS	BEL-7402/ADM 细胞	增加细胞内药物浓度, 诱导细胞凋亡, 调控肿瘤微环境	[29]	
	槲皮素	MDR1/P-gp、MRP2、 β -catenin	BEL-7402/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度	[30]	
	川芎嗪	P-gp、ROS	BEL-7402/ADM 细胞	增加细胞药物浓度, 调控肿瘤微环境	[31, 55]	
	汉防己甲素	Ca ²⁺	BEL-7402/DOX 细胞	增加细胞内药物浓度	[32]	
	美洲大蠊多肽	PKC、GST- π 、Topo II	HepG2/ADM 细胞	影响酶类物质活性变化	[40]	
	葫芦素	MRP1、GST- π 、ROS	BEL-7402/ADM 细胞	影响酶类物质活性变化, 调控肿瘤微环境	[41]	
	黄芩苷	P-gp、MRP、GSH/GST	BEL-7402/ADM 细胞	影响酶类物质活性变化	[42]	
	白芍总苷	HDAC3、MDR1	BEL-7402/ADM 细胞	影响酶类物质活性变化	[43]	
	冬凌草甲素	cleaved Caspase-3、Caspase-3、Bcl-2	Huh-7/Sorafenib 细胞	诱导细胞凋亡	[47]	
	薯蓣皂苷	Bcl-2、Caspase-3、Bax	HepG2/ADM 细胞	诱导细胞凋亡	[48]	
	醉茄素 A	Bcl-2、cleaved Caspase-3、JAK/STAT	HepG2/ADM 细胞	诱导细胞凋亡	[50]	
	尾叶香茶菜丙素	PENT/Akt	HepG2/ADM 细胞	诱导细胞凋亡	[51]	
	白花丹素	ROS	HepG2/Sorafenib 细胞	调控肿瘤微环境	[56]	
	香菇多糖	VEGF、HIF-1 α	BEL-7402/Sorafenib 细胞	调控肿瘤微环境	[57]	
	复方	小柴胡汤	P-gp、MRP1、BCRP、Bax、Bcl-2、miR-122	BEL-7402/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度, 诱导细胞凋亡	[33-34]
		健脾化痰方	P-gp	BEL-7402/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度	[35]
抗癌1号方		P-gp、MRP1	BEL-7402/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度	[36]	
解毒消癥饮		ABCG2	Huh7/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度	[37]	
康莱特注射液		P-gp、PI3K/Akt、Bax、Bcl-2	BEL-7402/ADM 细胞	增加细胞内药物浓度, 诱导细胞凋亡	[38]	
艾迪注射液		P-gp、PDCD5	BEL-7402/5-FU 细胞	增加细胞内药物浓度, 诱导细胞凋亡	[39]	
益气化痰解毒方		HIF-1 α 、VM、GST- π	QGY7702/Sora 细胞	影响酶类物质活性, 调控肿瘤微环境	[44, 57]	
华蟾素注射液		FAK、JAK2/STAT3	BEL-7402/5-FU 细胞	影响酶类物质活性, 诱导细胞凋亡	[46, 52]	
大黄蛭虫丸	Bcl-2	SMMC-7721/DOX 细胞	诱导细胞凋亡	[53]		

[参考文献]

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.

[2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范 2019 年版[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(2): 277-291.

[3] KUMADA T, TOYODA H, TADA T, et al. High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma [J]. J Gastroenterol, 2014, 49(3): 555-563.

[4] TANG L, CHEN R, XU X. Synthetic lethality: A

promising therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2020, 476: 120-128.

[5] WEI L, WANG X, LV L, et al. The emerging role of microRNAs and long noncoding RNAs in drug resistance of hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 147.

[6] 陈勇, 覃乐, 叶晓雪, 等. 细胞焦亡与肝脏疾病的相关性及中医药研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(21): 232-241.

[7] 曾元莲, 于少朋, 胥亦, 等. 中药调控 HIF-1 α 抑制肝癌的研究进展[J]. 中药与临床, 2020, 11(2): 65-70.

[8] 宋忠阳, 陈玉婵, 张志明, 等. 中药单体调控肝癌细

- 胞自噬研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(3): 1542-1547.
- [9] 汤嵩, 江啸, 王翔, 等. 原发性肝癌多药耐药相关机制的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2018, 25(8): 1020-1024.
- [10] 慈小燕, 崔涛, 武卫党, 等. 药物的跨膜转运机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2018, 41(6): 973-979.
- [11] JULIANO R L, LING V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants[J]. *Biochim biophys Acta*, 1976, 455(1): 152-162.
- [12] 姚敏, 顾星, 王理, 等. 肝癌患者核因子- κ B异常表达及转录干预对多药耐药的逆转效果[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(10): 761-766.
- [13] 赵鑫, 陈乐彤, 王静, 等. 三磷酸腺苷结合盒G2调控肝癌细胞多药耐药的作用[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(11): 2724-2727.
- [14] 李银蕊, 吕鸿, 彭芳, 等. 美洲大蠊多肽PAE₂逆转肝癌多药耐药性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5): 52-61.
- [15] FU X T, SONG K, ZHOU J, et al. Autophagy activation contributes to glutathione transferase Mu 1-mediated chemoresistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 346-352.
- [16] SUN B L, LI J, QIAO N S, et al. USP22 mediates the multidrug resistance of hepatocellular carcinoma via the SIRT1/Akt/MRP1 signaling pathway [J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(6): 682-695.
- [17] CHENG J, QIAN D, DING X, et al. High PGAM5 expression induces chemoresistance by enhancing Bcl-xL-mediated anti-apoptotic signaling and predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 991.
- [18] ABDULLAH L N, CHOW E K. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells [J]. *Clin Transl Med*, 2013, 2(1): 3.
- [19] YANG Y, HE J X, CHEN J, et al. Dihydroartemisinin sensitizes mutant p53 (R248Q)-expressing hepatocellular carcinoma cells to doxorubicin by inhibiting P-gp expression [J]. *Biomed Res Int*, 2019, doi:10.1155/2019/8207056.
- [20] Ho C T, SHANG H S, CHANG J B, et al. Folate deficiency-triggered redox pathways confer drug resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 26104-26118.
- [21] 刘锋. HIF-2 α 通过wnt/ β -catenin信号通路介导肝细胞肝癌对索拉菲尼耐药机理的实验研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [22] 张医浩. ASIC1a通过调控Ca²⁺/PI3K/Akt信号通路诱导人肝癌耐药[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
- [23] 陈晓辉, 杨相振, 李耀洋, 等. 基于“肠道菌群-肿瘤微环境”探讨脾虚对肿瘤形成的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(7): 1672-1674.
- [24] ZHAO Z H, XIN F Z, XUE Y, et al. Indole-3-propionic acid inhibits gut dysbiosis and endotoxin leakage to attenuate steatohepatitis in rats [J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(9): 1-14.
- [25] VANLANCKER E, VANHOECKE B, SMET R, et al. 5-Fluorouracil sensitivity varies among oral microorganisms [J]. *J Med Microbiol*, 2016, 65(8): 775-783.
- [26] 耿燕娜, 尹元元, 武毅君, 等. 姜黄素抑制多药耐药肝癌细胞HepG2/ADM的增殖及其机制研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(31): 4329-4331.
- [27] 展凡. 新藤黄酸通过调控细胞自噬提高人肝癌BEL-7402/ADM细胞敏感性的研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [28] 王培培, 许杜娟, 黄灿, 等. 黄芪皂苷II对人肝癌多药耐药细胞BEL-7402/FU的逆转耐药作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(2): 139-144.
- [29] MA Y, WEN J, WANG J, et al. Asiaticoside antagonizes proliferation and chemotherapeutic drug resistance in hepatocellular carcinoma (HCC) cells [J]. *Med Sci Monit*, 2020, doi:10.12659/MSM.924435.
- [30] 陈昭琳. 老鹰茶总黄酮中主要黄酮苷类与其苷元的肠道转运特性及抗人肝癌细胞耐药的机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2015.
- [31] 邓薇, 王姗姗, 张秋芳, 等. 三磷酸肌醇与川芎嗪通过钙通道影响肝癌耐药细胞内药物蓄积[J]. 医药导报, 2012, 31(5): 568-571.
- [32] 孙倩茹, 王炳芳, 张明, 等. 汉防己甲素对肝癌耐药细胞抑制作用机制研究[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2012, 22(2): 130-132, 136.
- [33] 赵锦燕. 小柴胡汤调控miR-122逆转肝癌多药耐药的作用机制[D]. 福州: 福建中医药大学, 2016.
- [34] 张雯雯, 蒋吟啸, 杨丹, 等. 小柴胡汤联合经导管动脉栓塞化疗治疗原发性肝癌的有效性与安全性的系统评价[J]. 中国医院用药评价与分析, 2020, 20(2): 149-153, 157.
- [35] 凌博凡, 侯茜, 邹玺, 等. 健脾化痰方对肝癌耐药细胞P-糖蛋白的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(7): 2577-2580.
- [36] 高卓维, 黄华聪, 潘斯敏, 等. 抗癌I号方对人肝癌5-Fu细胞株BEL-7402/5-Fu细胞耐药性的逆转作用研究[J]. 现代消化及介入诊疗, 2019, 24(11): 1224-1227.
- [37] 陈旭征, 黎金浓, 胡丹, 等. 解毒消癥饮逆转氟尿嘧啶诱导的肝癌干细胞耐药的机制研究[J]. 中华细胞

- 与干细胞杂志:电子版, 2013,3(4): 191-196.
- [38] YANG C D, HOU A H, YU C F, et al. Kanglaite reverses multidrug resistance of HCC by inducing apoptosis and cell cycle arrest via PI3K/Akt pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 983-996.
- [39] 喻贡金. 艾迪注射液对人肝癌多药耐药细胞的逆转作用研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.
- [40] 李彩琳, 吕鸿, 张鸿翰, 等. 美洲大镰多肽逆转人肝癌 HepG2/ADM 细胞多药耐药性的作用及机制研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(1): 152-159.
- [41] 黄良玖, 钟佳玲, 赵红梅, 等. 23,24-二氢葫芦素 B 抑制 Nrf2-ARE 通路逆转肝癌耐药的实验研究 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(3): 217-223.
- [42] 王术华. 黄芩苷逆转人肝癌细胞耐药株 Bel-7402/ADM 多药耐药性的相关机制研究 [J]. *中国现代药物应用*, 2012, 6(9): 10-11.
- [43] 胡礼仪, 侯永彬, 余莉华, 等. 白芍总苷对肝癌耐药细胞 BEL-7402/ADM 耐药性的逆转作用及机制探讨 [J]. *山东医药*, 2017, 57(10): 1-4.
- [44] 王亚琪, 曾普华, 郜文辉, 等. 益气化痰解毒方对 MRP、GST- π 和 Topo II 基因在 Sorafenib 获得性耐药人肝癌 QGY7702 细胞表达的干预研究 [J]. *吉林中医药*, 2020, 40(4): 505-509.
- [45] LICHTI-KAISER K, STAUDINGER J L. The traditional Chinese herbal remedy tian xian activates pregnane X receptor and induces CYP3A gene expression in hepatocytes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(8): 1538-1545.
- [46] 韦艳, 卢珩, 王荣荣, 等. 华蟾素注射液抗肝癌细胞多药耐药性的蛋白质组学分析 [J]. *基础医学与临床*, 2014, 34(6): 814-818.
- [47] 安丽丽, 周静. 冬凌草甲素通过 miR-217/ABCC1 通路对索拉非尼耐药的肝癌细胞 Huh-7/Sor 增殖、凋亡的影响 [J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(3): 441-446.
- [48] 宋正伟, 张奇能. 薯蓣皂苷下调 ABCC1 表达对人肝癌细胞 HepG2/ADM 耐药的影响 [J]. *中国药师*, 2020, 23(1): 34-39.
- [49] 魏蔚, 刘玉华. 姜黄素通过活化 PI3K/Akt 信号通路逆转肝癌耐药细胞株 Bel7402/ADR 的耐药性 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(12): 3015-3019.
- [50] 张阳, 赵柯心, 张磊. 醉茄素 A 通过 JAK/STAT 通路对人肝癌耐药细胞 HepG2/ADM 凋亡的影响 [J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(4): 641-646.
- [51] 王欣玉, 裴晓东, 何志龙, 等. 尾叶香茶菜丙素对肝癌耐药株 HepG2/ADM 细胞体外活性的影响 [J]. *安徽医药*, 2021, 25(11): 2131-2135.
- [52] LI W, CAO X X, ZI H N, et al. Effects of Dahuang Zhechong pill on doxorubicin-resistant SMMC-7721 xenografts in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2018.03.039.
- [53] KONG W S, SHEN F X, XIE R F, et al. Bufotionine induces autophagy in H22 hepatoma-bearing mice by inhibiting JAK2/STAT3 pathway, a possible anti-cancer mechanism of cinobufacini [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270(6): 113848.
- [54] TAO Y Q, SHAN L, XU X, et al. Huaier augmented the chemotherapeutic sensitivity of oxaliplatin via downregulation of YAP in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer*, 2018, 9(21): 3962-3970.
- [55] 王玲. 川芎嗪通过 ROS 逆转人肝癌多药耐药细胞耐药的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [56] 朱德强, 陈学军. 白花丹素对肝癌索拉非尼耐药细胞 HepG2R 增殖和凋亡的影响及其机制 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2018, 44(6): 1223-1229, 15.
- [57] 韩丽丽, 吴菲, 黄蓝萱, 等. 香菇多糖对培养肝癌细胞索拉非尼耐药的逆转作用及机制 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2021, 42(1): 48-52.
- [58] 王亚琪, 曾普华, 郜文辉, 等. 益气化痰解毒方联合索拉非尼对人肝癌索拉非尼耐药细胞移植瘤及缺氧诱导因子 1 α 与血管拟态表达的影响 [J]. *陕西中医*, 2020, 42(2): 143-146.
- [59] 王军, 徐建良, 杜燕红. 扶正祛邪汤对肝癌模型大鼠肠道菌群微生态环境的作用研究 [J]. *陕西中医*, 2021, 42(2): 143-147.
- [60] 朱小辉, 王嘉健, 唐磊, 等. 肿瘤微环境中上皮-间质转化与肿瘤干细胞的调控 [J]. *中国细胞生物学报*, 2021, 43(1): 63-72.
- [61] 贾庆安. 中药小复方“松友饮”通过下调分化抑制因子 1(ID1)抑制肝癌“干性”提高肝癌对化疗敏感性研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [62] 张文政, 毛许庆, 孙雪妮, 等. 中西医结合分子配伍治疗肿瘤协同增效及逆转耐药的研究进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2021, 48(11): 566-570.
- [63] LI Y, YANG D, WANG Y, et al. Co-delivery doxorubicin and silybin for anti-hepatoma via enhanced oral hepatic-targeted efficiency [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 14: 301-315.
- [64] LAM W, JIANG Z, GUAN F, et al. PHY906 (KD018), an adjuvant based on a 1800-year-old Chinese medicine, enhanced the anti-tumor activity of Sorafenib by changing the tumor microenvironment [J]. *Sci Rep*, 2015, doi:10.1038/srep09384.

[责任编辑 张丰丰]