

· 综述 ·

中药逆转肿瘤细胞多药耐药研究进展

张芳^{1,2}, 徐春蕾^{1,2}, 邱郑^{3*}

- (1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023;
2. 南京中医药大学中药学一级学科, 江苏 南京 210023;
3. 中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

[摘要] 阐述了肿瘤多药耐药(MDR)是临床化疗失败的主要原因之一,已成为恶性肿瘤化疗过程急需解决的问题。中药有毒性小、安全有效、多靶点等优势,在逆转肿瘤MDR的研究中正受到越来越广泛的关注。中药通过作用于介导MDR形成的膜转运系统、药物代谢系统、促进肿瘤细胞凋亡等机制,对多种肿瘤的MDR具有逆转作用。如何有效地从浩瀚庞大的中药资源库中快速筛选并定位到具有逆转MDR活性的分子仍是目前中药研发亟待解决的瓶颈问题之一。建立科学合理的抗肿瘤药物筛选模型和高效可靠的方法和系统,能够满足现代医学的科学阐述要求,又能兼顾中医药本身的整体观念和辨证论治的思想,还需要大量艰苦的科学工作。

[关键词] 多药耐药; 药物转运; 药物代谢; 细胞凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0342-07

[doi] 10.11653/syjf2013240342

Advances and Prospect in Reversing Multidrug Resistance of Tumor Cells by Chinese Materia Medica

ZHANG Fang^{1,2}, XU Chun-lei^{1,2}, QIU Zheng^{3*}

- (1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
2. National First-Class Key Discipline for Traditional Chinese Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;
3. School of Life Science & Biotechnology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] The development of multidrug resistance (MDR) to conventional therapy is one of the most important obstacles that lead to the failure of clinical chemotherapy in treating cancers and has become an extremely urgent one to overcome. Chinese materia medica which is capable of circumventing MDR with minimal adverse side effects, curative effects and multiple targets is an attractive resource library and has aroused more and more concern. Chinese materia medica has the activity to reverse the MDR of wide variety of tumors through mediation in drug delivery system, drug metabolic system and promotion of apoptosis.

[Key words] multidrug resistance; drug delivery system; drug metabolic system; apoptosis

2013年1月,全国肿瘤登记中心发布的《2012中国肿瘤登记年报》^[1]中披露,我国每年新发肿瘤病例估计约为312万例,平均每天8550人,全国每

分钟有6人被诊断为恶性肿瘤,我国居民一生罹患癌症的概率为22%,即每5个人中就有1人会患癌症。恶性肿瘤一直是危害人类生命和健康最严重的

[收稿日期] 20130322(014)

[基金项目] 江苏高校优势学科建设工程项目(yssx-2010);南京中医药大学中药学一级学科开放课题(2011zyx6-001);江苏省高校自然科学基金项目(12KJB360006);国家自然科学基金项目(81102899);江苏省政府留学奖学金

[第一作者] 张芳,讲师,博士,从事中药生物技术研究, E-mail:fangzhang@njutcm.edu.cn

[通讯作者] *邱郑, Tel:025-51194702, E-mail:qiuzheng754@hotmail.com

疾病之一,寻找低毒高效的抗肿瘤药物一直是研究者孜孜以求的目标,但是由于肿瘤细胞特有的多药耐药(multidrug resistance,MDR)现象限制了抗肿瘤药物的治疗效果。目前临床使用的多种抗肿瘤药物用于多药耐药细胞时治疗时效果大打折扣,这是导致化疗失败的主要原因。可以说,人类应用化疗对抗肿瘤的治疗史,也是一部肿瘤多药耐药的发展史。因此,MDR已成为肿瘤化疗的瓶颈和亟待解决的重点课题,要获得理想化的治疗效果,必须对肿瘤发生机制及多药耐药现象进行更深入的理论探讨,探寻突破或扭转耐药机制产生的可能方案。

多药耐药是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同时,对其他化学结构和作用机制完全不同的抗肿瘤药物也产生交叉耐药性^[2]。体内外研究发现肿瘤多药耐药的分子机制异常复杂,是涉及基因突变、相关蛋白表达、酶类介导、细胞凋亡功能失常等多种因素参与的复杂过程^[3]。多年的临床实践使研究者认识到中药在治疗肿瘤及逆转肿瘤MDR中的巨大潜力。中药具有多靶点、多环节、多效应的特点,可作用于肿瘤发生、发展的多个环节,不但在抑制杀伤肿瘤细胞、改善患者症状与体征、减轻放化疗不良反应、延长生存期等方面发挥重要作用,而且由于不良反应低、不易产生耐药、能提高机体免疫力等优势,其抗肿瘤活性已得到越来越多的国际关注,成为近年来研究的热点^[4-5]。本文主要从肿瘤细胞建立MDR的各个角度,包括药物转运与药物代谢,促进肿瘤细胞凋亡等方面对近年来中药在逆转肿瘤MDR领域的应用进行综述。

1 中药影响药物运逆转MDR

MDR肿瘤细胞往往表现出药物转运异常,主要源自于膜转运蛋白的过度表达。膜转运蛋白是MDR细胞的药物外排泵,可以与细胞内化疗药物结合并将药物排至胞外,同时促进药物在胞内再分布,使胞内药物相关细胞器内的药物浓度低于该药物靶点的致死浓度,从而产生耐药^[6]。目前已知的MDR相关蛋白主要包括P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MRP)、肺耐药相关蛋白(LRP)、乳腺癌抗药性蛋白(BCRP)^[7]等。这些蛋白在正常的组织中也有表达,作为正常机体的有效生理性屏障的重要组成部分,具有排泄功能,可以减少环境和机体代谢过程中带来的有害物质。而在一些肿瘤细胞尤其是MDR细胞中这些MDR相关蛋白的表达尤为突出,因此这些蛋白在临床上被认为是判断肿瘤MDR的重要指标。这些蛋白的高表达或单独、或共同介导肿瘤细胞

MDR,使得MDR的产生途径十分丰富,治疗愈发艰难。近年来研究人员发现,中药或其活性成分在逆转以上膜转运蛋白介导的MDR中有惊喜表现^[8]。

三羟基大豆异黄酮(THIF)是黄豆苷元的主要代谢物,Lo等发现阿霉素(Epi)与THIF合并使用治疗宫颈癌时效果明显增强,荧光素酶分析显示THIF下调由AP1,GC-box和Y-box组成的多药耐药MDR1启动子区,THIF通过多种转录因子对MDR1基因负调控可产生新的MDR调控机制。THIF与Epi连用时,MRP,MDR1,MRP2的mRNA表达均明显低于单用Epi时。这表明MDR转录因子介导的Epi抗性被THIF抑制,THIF明显提高了hela细胞内Epi的浓度积累,同时THIF and/or Epi通过上调p53,Bax,and caspase-9引起细胞凋亡^[9]。

绞股蓝总皂苷系从绞股蓝属植物中提取的皂苷类化合物,其化学分复杂,基本化学结构具有人参皂苷类似骨架四环三萜的达玛烷型结构,Zhu等对绞股蓝中提取的绞股蓝皂苷H6逆转P-gp及MRP1介导的长春新碱抗性的人口腔癌KB/VCR细胞多药耐药性进行研究,发现H6在浓度为2~40 nmol·L⁻¹时本身不具备对KB/VCR的明显的抗增殖作用,但在以上浓度时可增强长春新碱对KB/VCR的细胞毒作用,表现出明显的协同作用。进一步发现H6降低P-gp的RNA转录水平,通过刺激P-蛋白ATP酶的作用发挥抑制P-蛋白的作用,并通过阻塞STAT3的磷酸化来降低MRP1的表达^[10]。

姜黄素(curcumin, Cur)是姜科植物根茎的有效成分,具有化疗增敏等作用,研究发现Cur可降低ADM和紫杉醇对乳腺癌MCF-7/ADR和A549/Taxol细胞系的IC₅₀值,同时升高阿霉素在MCF-7/ADR细胞中的浓度积累和保持^[11],有学者认为Cur通过抑制PI3K/Akt/NFκB途径降低mdr1-mRNA及P-gp的表达水平来发挥其作用^[12]。

白花前胡甲素(praeurptorin A, PA)是白花前胡根的提取物中的角吡喃香豆素成分,能抑制KB V1细胞MDR1的mRNA水平和P-gp水平,从而部分逆转P-gp过量表达的KBV1细胞对抗肿瘤药物的耐药性,增加细胞内药物的积蓄。另外,有学者发现PA的某些衍生物比PA具有更强的逆转MDR作用,该衍生物可与异搏定非竞争性结合P-gp ATP酶,并降低被激活的P-gp特异性抗体UIC2的作用^[13]。

厚朴酚是中药和厚朴中的连苯酚类化合物,能有效逆转U937/ADR多药耐药,其机制可能与抑制

NF- κ B p65 活性、下调 MDRI 和 P-gp 表达有关^[14]。

黄芩素提取自高黄芩根部,实验表明在非细胞毒剂量时与 ADM 合用后能逆转 A2780/ADM 对 ADM 的耐药性,其逆转机制可能是与化疗药物竞争 P-gp 上的结合位点,从而降低化疗药物的外流,增加细胞内化疗药物的积累^[15]。此外,4'-甲醚-黄芩素可逆转人绒毛膜癌耐药细胞株 MDR 其功能与抑制 MDR1 mRNA 及其产物 P-gp 的表达、增加细胞内化疗药物的浓度有关^[16]。

半夏醇提取液对耐阿霉素的人白血病细胞系 K562/A02 有明显的逆转作用,其抗耐药机制与 MDR1 mRNA 表达下降,表达产物 P-gp 含量减少有关^[17]。

五味子醇提取物对肿瘤 MDR 有显著的逆转作用,其作用机制与降低药物外排泵功能,抑制 P-gp 基因和蛋白过度表达,从而增加抗肿瘤药物在细胞内的蓄积有关^[18]。

大蒜素是从大蒜的鳞茎中提取的一种亚磺酸酯类化合物,研究发现大蒜素与柔红霉素(DNR)两药连用逆转 K562/A02 细胞 MDR 效果明显强于单用,且无毒性叠加作用,其逆转耐药可能与其下调 MDRI 及 P-gp 的表达有关^[19]。

苦参碱来自豆科植物苦参的干燥根,可以通过逆转 *mdr1* 表达产物 P170 的表达来逆转肿瘤 MDR。苦参碱联合长春新碱、阿霉素作用于 KBV200 耐药细胞株,与抗肿瘤药物单用组比较,处于不同周期的细胞比例及凋亡数均无明显变化,但可使细胞内 P-gp 表达水平下降,显示苦参碱逆转 KBV200 细胞对长春新碱和阿霉素的耐药作用可能与细胞周期及凋亡无关,而是与降低 P-gp 水平有关^[20]。

榄香烯是从中药温莪术根茎提取的有效单体,是榄香烯抗肿瘤有效成分之一,不但可以抑制 BEL-7402 细胞的生长,且对耐药株 BEL-7402/DOX 仍有较强的杀伤作用。同时经榄香烯长期作用, BEL-7402 细胞中仍无 P-gp 表达,说明已经耐药的肿瘤细胞对榄香烯仍然敏感。此外,对于已产生 MDR 的乳腺癌 MCF-7/ADM 细胞系、胃癌 SGC7901/VCR 细胞系,榄香烯均有很好的逆转效果,通过降低其中 P-gp 和 MRP 的表达而逆转耐药的 MDR^[21]。

冬凌草甲素是从传统中药冬凌草中提出分离出来的一种四环二萜类化合物,可显著下调 K562/A02 细胞 MDR 蛋白 P170 的表达,使传统化疗药物 DNR、HHT 的 IC₅₀ 值显著下降,冬凌草甲素联合 DNR 处理细胞非常显著地提高了 MDR 细胞内 DNR

的浓度,这种逆转作用主要依靠下调 P-gp 的表达而实现。此外,冬凌草甲素还能引起 MDR 细胞凋亡,两种途径共同作用,逆转肿瘤细胞 MDR^[22]。

人参皂苷是人参中发挥抗肿瘤作用的主要活性成分,除可对肿瘤的生长直接起抑制作用外,还可逆转肿瘤细胞的 MDR,增强肿瘤对化疗药物的敏感性。原人参三醇(PPT)是人参中的三萜皂苷类化合物,部分 PPT 具有逆转 *mdr1*/P-gp 介导的 MDR,对耐顺铂人肺腺癌细胞系 A549DDP 细胞具有逆转作用;在人 MDR1 基因转染的小鼠淋巴瘤细胞中某些 PPT 能通过抑制药物的外排而部分逆转肿瘤 MDR;人参皂苷 Rc 和 Rd 对 MDR 小鼠淋巴瘤细胞中 P-gp 的转运功能具有一定的抑制作用。人参皂苷 Rb₁ 在体外通过增加耐药细胞内细胞毒药物浓度水平而逆转白血病 K562/HHT 细胞系的 MDR,其主要的逆转机制是通过抑制 P-gp 外排药物功能,提高细胞内药物有效浓度从而完成逆转^[23-25]。

土的宁是中药马钱子中的主要活性生物碱,能够逆转人白血病 K562/A02 细胞株的 MDR,RT-PCR 和 Western Blot 分别检测非细胞毒浓度的土的宁对 MRP 基因及其表达产物的影响,发现可引起 MRP 基因及其蛋白的表达降低,而 MDR1, Topo II, GST 的表达均不受影响,说明土的宁通过抑制 MRP 的表达逆转 MDR^[26]。

此外,浙贝母碱、大黄素、斑蝥素等均能降低 P-gp 的表达,提高抗癌药物在癌细胞中的浓度而增强抗癌效应,从而发挥其逆转耐药的作用^[27-28]。

2 中药影响细胞药物代谢逆转肿瘤细胞 MDR

介导 MDR 的药物代谢酶系统组成复杂,主要包括谷胱甘肽 S 转移酶(GST)和谷胱甘肽(GSH)的升高、蛋白激酶 C(PKC)的激活等^[29]。近年来许多学者对中药或其有效成分在影响药物代谢从而逆转肿瘤细胞 MDR 进行了广泛研究。

川芎嗪是伞型科中药川芎的根茎中提取的吡嗪生物碱类化合物,除了可以降低 P-gp 的表达外,还可以通过降低 GST 活性来发挥其逆转 MDR 功能,不同程度地降低 HL6/VCR 细胞对柔红霉素、阿霉素、长春新碱、依托泊苷的 IC₅₀ 值,联合环孢菌素 A 可较好地逆转复发难治型白血病的 MDR;此外,还可以纠正小鼠艾氏腹水癌、胃癌细胞的 GST 活性,部分纠正其耐药性,显著增强顺铂、丝裂霉素的抑瘤效果。最近研究显示对人粒细胞性白血病 K562/A02 的 MDR 有较好的逆转作用,RT-PCR 及 western-blot 分析发现川芎嗪可抑制 GST π 的 mRNA 及蛋白

质表达,并可调节 GST 相关酶的活性从而发挥其逆转作用^[30]。

三氧化二砷(As_2O_3)是砒霜中的主要活性成分,能显著降低 A549 耐药株对 ADR 的 IC_{50} 值,增加细胞内 ADR 的积聚,通过下调 GsT,MRP-mRNA 的表达而实现逆转耐药。此外,还可增加 MCF-7/ADM 细胞内 ADM 的含量,逆转倍数为 2.1 倍,非毒性、低毒性剂量作用前后 GST 酶活性有显著改变、GST-mRNA 的表达水平也呈不同程度的下调,结果提示三氧化二砷可部分逆转人乳腺癌 MCF-7/ADM 细胞对 ADM 的耐药性,其逆转机制可能与细胞内 GST-酶活性的改变有关^[31]。

甲基莲心碱(neferine, Nef)系中药莲子心中的一种双苄基异喹啉类生物碱,在研究其对 K562/A02 细胞耐药性的影响时,RT-PCR 和 western-blot 结果显示未经 Nef 处理组 K562/A02 细胞 GST- π 的扩增带亮度较强,而经 Nef 处理组扩增带亮度明显减弱。提示 Nef 在 mRNA 水平上抑制 GST- π 基因的 mRNA 转录,同时,未经 Nef 处理的 K562/A02 组的蛋白杂交带,明显强于经 Nef 处理组,提示 Nef 能抑制 GST- π 蛋白的表达^[32]。

五味子素 B 是中药北五味子中含量最高的联苯环辛烯类木脂素,可逆转耐奥沙利铂人结肠癌细胞(THC-8307/OXA)的 MDR,其作用机制与下调 GST- π 的表达有关^[33]。

此外,葡萄籽多酚、金雀异黄素、中药提取物鸦胆子油等的逆转 MDR 作用,机制均可能与 GST- π 表达下调有关^[34]。

青蒿琥酯是菊科艾属黄花蒿中提取的丁二酸单酯类化合物,除已临床广泛使用的抗疟功能外,近期发现能够逆转 K562/A02 细胞耐药的 MDR,研究显示 K562/A02 细胞内 GSH 呈现高表达($P < 0.05$),经 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 青蒿琥酯处理 48 h 后, K562/A02 细胞内 GSH 含量较药物处理前明显降低($P < 0.05$),提示其逆转作用与抑制 GSH 活性有关^[35]。

槲皮素是自然界中广泛存在的植源性黄酮类化合物,最新研究表明槲皮素可逆转胃癌细胞株 EPG85-257RDB 的 MDR,除对 P-gp,MRP1 和 BCRP 的活性进行调节外,还对对 PKC 有抑制作用,能影响 PKC 等细胞信号分子的传导,作为 PKC 拮抗药使得 MDR 中 P-gp 或 MRP 介导的耐药机制阻断,使化疗药物对抗肿瘤的药理作用得以正常发挥^[36-37]。

3 中药影响细胞凋亡转运逆转肿瘤细胞多药耐药

细胞凋亡又称程序性细胞死亡,是细胞为维持

内环境稳定而由基因控制的细胞自主的有序的死亡,在肿瘤发生、侵入与转移过程中发挥重要作用。细胞凋亡的相关基因是肿瘤 MDR 的靶分子,与前述其他各种途径共同介导 MDR,使肿瘤细胞的凋亡程序受抑而增殖过度,细胞死亡不足,因此促进肿瘤细胞凋亡是逆转肿瘤 MDR 的有效途径^[29]。近年来利用中药诱导凋亡已成为肿瘤研究领域的一个新的热点,国内外研究者以体外细胞株为对象对某些中药或其活性成分诱导肿瘤细胞凋亡的作用进行了大量的探索和研究。

大金发藜醇提取物及其多种片段对大鼠 L1210 细胞中具有较好的抗肿瘤活性,并且经该醇提取物处理的细胞呈现出典型的细胞凋亡形态学特征如染色质凝集、DNA 聚集等,同时流式细胞法检测发现处理后的细胞线粒体膜电位下降,膜联蛋白 v pe/7aad 双染色法表明细胞内磷脂酰丝氨酸外流,表明大金发藜醇提取物的确引起 L1210 细胞凋亡^[38]。

茄边碱是中药龙葵中提取的一种生物碱成分,可明显抑制 SMM-7721 和 HepG2 细胞的生长并诱导细胞凋亡,细胞周期分析显示茄边碱使细胞周期停滞在 G_2/M 期,并可激活 caspase-3 的表达从而诱导凋亡^[39]。

苦参碱是从豆科植物苦参中提取的生物碱,可抑制胃癌癌细胞株 SGC-7901 细胞的增殖,其抑制作用具有剂量依赖性和时间依赖性,电镜观察及流式细胞术分析显示苦参碱,Fas 和 FasL 均呈现向上调控,同时伴随 caspase-3 酶活性上升,二者共同诱导细胞凋亡^[40]。

驱蛔脑是天然萜类过氧化物,可诱导 MDR 细胞 G_2-M 期停滞,以及亚 G_1 细胞比例升高,并导致更高的 DNA 损伤最终引起细胞凋亡,这些结果在使用其他的同基因背景的核苷酸切除修复系统(NER)缺失细胞及正常细胞系实验后得到进一步证实,显示驱蛔脑是细胞毒性及 DNA 修复化合物,通过介导凋亡逆转 MDR^[41]。

青蒿中提取的连苯化合物 AH-I 与 5-FU 联合应用后,结肠癌 HT-29 细胞球抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达与单独化疗组比较有所减少,而促凋亡蛋白 FAS, FAS-L 的表达较单独化疗组明显增多。说明 AH-I 与 5-FU 联合应用于结肠癌裸鼠移植瘤,可抑制肿瘤组织 NF- κ B 活性,降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,增强促凋亡蛋白 FAS, FAS-L 的表达且都具有剂量依赖效应^[42]。

姜黄素除可降低 P-gp 表达外,还能诱导 COC1/

DDP 细胞凋亡, DDP 与姜黄素联用诱导细胞凋亡的能力比单用 DDP 或姜黄素明显增加, 加入姜黄素后 MDR 细胞生存率下降明显 ($P < 0.05$), COC1/DDP 中顺铂与姜黄素联合用药与单独用顺铂相比, 凋亡率明显增加 ($P < 0.05$)。其机制可能与降低 Bcl-2, Survivin 基因的表达, 增加 Caspase-3 基因的表达有关。此外, 姜黄素还可增强马法兰对多发性骨髓瘤 MDR 细胞株 MOLP-2/R 的毒性, 联用时与单用马法兰组相比, MOLP-2/R 细胞的凋亡率由 $(23.3 \pm 0.6)\%$ 增至 $(52.6 \pm 0.8)\%$, G_2/M 期细胞由 9.1% 增至 18.5% , 该作用是通过抑制 FA/BRCA 途径中的关键蛋白 FANCD2 单泛素化来实现的, 姜黄素介导的 FA/BRCA 途径受抑制, 能增强马法兰对 MOLP-2/R 细胞的凋亡诱导及 G_2/M 期阻滞作用, 提高细胞内药物浓度^[43]。

雷公藤内酯醇是从卫矛科植物雷公藤的根、叶、花及果实中提取的一种环氧二萜内酯化合物, 雷公藤内酯醇联合紫杉醇后细胞的凋亡率高于其各自单用组及空白对照组, 细胞周期中 G_2/M 期的比例较高, 透射显微镜下可见到 COC1/DDP 细胞细胞膜表面微绒毛消失, 线粒体增多、内质网扩张, 细胞膜皱缩, 细胞核固缩、碎裂、溶解等凋亡样改变, 且细胞 Caspase-7 蛋白阳性比例高于其各自用药组, 推测雷公藤内酯醇联合紫杉醇促进 COC1/DDP 细胞凋亡机制也可能与其促使细胞 Caspase-7 蛋白表达上调有关^[44]。此外, 雷公藤内酯还可以上调 caspase-3 的表达诱导人曲小管上皮细胞系 HK-2 的凋亡^[45]。

人参皂苷 Rh₂ 可以诱导耐阿霉素乳腺癌细胞系 (MCF7/AdrR) 的细胞凋亡, 诱导 G_0/G 期阻滞, 阻滞细胞由 G_1 期向 S 期的转化, 其诱导作用可能是通过上调 Fas, Bax 表达、下调 Bcl-2 表达以及阻滞细胞周期而实现的^[46]。

泽泻提取物和其成分泽泻醇 B-单乙酸酯 (ABA) 能修复 MDR 细胞 HepG2-DR 和 K562-DR 对长春碱、阿霉素和紫杉醇等的敏感性, ABA 能修复长春碱对 HepG2-DR 细胞周期的 G_2/M 阻滞作用, 增加阿霉素在细胞内的积蓄并减缓细胞对 Rh-123 的外排^[47]。

粉防己碱 (tet) 是中药防己科千金藤属植物粉防己块根中提取分离的一种双苄基异喹啉类生物碱, 已经证实粉防己碱有明显的 MDR 逆转作用。最新研究表明, Tet 在敏感的 KB 细胞及 MDR 的 KBv200 细胞中均能引起明显的形态学改变、DNA 断裂等凋亡特性, 进一步研究发现 Tet 可引起 ROS

升高、Bax/Bcl-2 升高、caspase-9 及 caspase-3 激活等, 同时抑制 Erk1/2 和 Akt1/2 活性, 推断 Tet 通过启动细胞内凋亡途径来逆转 MDR^[48]。

白藜芦醇是主要来源于蓼科植物虎杖的根茎提取物的多酚类化合物, 作用于 MCF-7/ADM72 h 之后, 发现细胞增殖明显下降并呈剂量依赖关系, 使 MCF-7/ADM 细胞阻滞于 G_0/G_1 期, 提示白藜芦醇可能是一种细胞周期蛋白依赖性激酶 (Cdk2) 的抑制剂, 同时通过作用于细胞的骨架结构蛋白质来干扰细胞的有丝分裂过程, 使细胞周期延长从而抑制 MCF-7/ADM 的增殖^[49]。

藤黄酸是提取自藤黄树脂的一种氧杂蒽酮, 对 MDR 细胞株 (KB, KBvin, A549, DU-145) 均有较好的抑制作用, 且其耐药系数元低于 ADR、长春新碱 (VCR) 和依托泊苷 (VP16) 的耐药系数。进一步研究发现藤黄酸是一个新 DNA 非嵌入型 Topo II 催化抑制剂, 它能够抑制 Topo II 介导的 DNA 链的切割和 ATP 的水解。其分子机制可能在于藤黄酸能够竞争 ATP 结合于 Topo II α 的 ATPase 结构域^[50]。

表鬼臼毒素是从小蘗科鬼臼属植物华鬼臼的根和茎中提取到的木脂类成份, 该类物质能干扰拓扑异构酶 II, 抑制 DNA 重新组合且在 DNA 内引起蛋白断裂, 使染色体畸变和细胞凋亡^[51]。

山荷叶素是具有 4-羟基的一种萜基木质素, 研究发现其糖脂化衍生物可以抑制 TOPO II α 活性, 从而导致细胞凋亡而逆转 MDR^[52]。

4 结语与展望

中药及其活性成分复杂多变, 是抗肿瘤药物的重要组成部分和新药发现的源泉, 近年来不但国内这方面的研究方兴未艾, 而且也吸引了越来越多的国际关注。尤其是中药多靶点、多途径的特点使得中药在肿瘤防治包括逆转 MDR 方面有很大的优势, 如汉防己甲素、雄黄、姜黄素、THIF 等从不同途径逆转 MDR, 这些研究为中药获得国际认可并走向国际天然药物的主流市场提供了有力的数据支撑。

但由于中药本身成分复杂, 许多中药以复方形式发挥最大药效, 而现有的研究中大多仍拘泥于西药的单成分研究模式, 以中药单体试验时仅采用单一成分或部分提取物考察整个复方中药或某个活性单体的作用, 而未能对中药中各成分间的相互关系进行全面考虑, 忽视了中药复方这一重要载体, 因此不能很好地反映中药的具体疗效以及辨证论治的优势。

其次, 对于中药逆转 MDR 的分子机制, 多数研

究仍集中于经典机制的简单重复,对 P-gp, MRP 等靶点的研究较多,缺乏创新性的实验探索,尤其对中药多靶点的全面考察研究较少。

另外,如何有效地从浩淼庞大的中药资源库中快速筛选并定位到具有逆转 MDR 活性的分子仍是目前中药研发亟待解决的瓶颈问题之一。建立科学合理的抗肿瘤药物筛选模型和高效可靠的方法和系统,能够满足现代医学的科学阐述要求,又能兼顾中医药本身的整体观念和辨证论治的思想,还需要大量艰苦的科学工作。

【参考文献】

- [1] 全国肿瘤登记中心. 中国肿瘤登记年报[M]. 北京: 军事医学科学出版社出版, 2013:1.
- [2] Chloë D, Charlotte B, Christopher B, et al. The role of proton dynamics in the development and maintenance of multidrug resistance in cancer [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Basis Disease* [J]. 2013, 1832 (5):606.
- [3] Tyler J. Curriel immunotherapy: A useful strategy to help combat multidrug resistance [J]. *Drug Resist Update*, 2012, 15(1/2):106.
- [4] 齐元富, 聂奔, 李慧杰. 中药逆转肿瘤多药耐药的前景探讨[J]. *中医杂志*, 2012, 53(6):476.
- [5] 宋相容, 侯世祥. 中药逆转肿瘤多药耐药的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(16):1300.
- [6] Lespine A, Ménez C, Bourguinat C, et al. P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: Prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance [J]. *Int J Parasit: Drug and Drug Resist*, 2012, 12 (2):58.
- [7] Pradeep K K, Dananjay P, Ashim K M, et al. Molecular evidence and functional expression of multidrug resistance associated protein (MRP) in rabbit corneal epithelial cells [J]. *Exp Eye Res*, 2007, 84(1):53.
- [8] Eichhorn T, Efferth T. P-glycoprotein and its inhibition in tumors by phytochemicals derived from Chinese herbs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2):557.
- [9] Lo Y L, Wang W, Ho C T. 7,3,4-Trihydroxyisoflavone modulates multidrug resistance transporters and induces apoptosis via production of reactive oxygen species [J]. *Toxicol*, 2012, 302(2/3):221.
- [10] Zhu H, Liu Z, Tang L, et al. Reversal of P-gp and MRP1-mediated multidrug resistance by H6, a gypenoside aglycon from *Gynostemma pentaphyllum*, in vincristine-resistant human oral cancer (KB/VCR) cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 696(1/3):43.
- [11] Yang L, Wei D D, Chen Z. Reversal of multidrug resistance in human breast cancer cells by Curcuma wenyujin and *Chrysanthemum indicum* [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(8/9):710.
- [12] 范昊宁, 佟丽, 范欣, 等. 姜黄素对肿瘤的抑制和放射增敏作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(3):333.
- [13] Shen X, Chen G, Zhu G. (±)-3'-O, 4'-O-dicinnamoyl-cis-khellactone, a derivative of (±)-praeurotin A, reverses P-glycoprotein mediated multidrug resistance in cancer cells [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 21(14):7138.
- [14] Lai C H, Lai Y S, Kuo D H. Magnolol potently suppressed lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression via downregulating MAPK and NF-κB signaling pathways [J]. *J Funct Food*, 2011, 3 (3):198.
- [15] Huang S T, Lee Y, Gullen E A, et al. Impacts of baicalein analogs with modification of the 6th position of A ring on the activity toward NF-κB-, AP-1-, or CREB-mediated transcription [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(18):5046.
- [16] 朱利群, 徐珊, 李卓, 等. 4'-甲醚-黄芩素逆转人绒毛膜癌耐药细胞株多药耐药性的相关机制研究[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2009, 29(9):1215.
- [17] 彭向前, 冯玮, 张文会, 等. 半夏醇提取物逆转多药耐药细胞系 K562/A02 的耐药性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(8):157.
- [18] 孙华, 刘耕陶. 五味子果仁醇提取物含药血清逆转肿瘤多药耐药及抑制耐药糖蛋白(P-gp)的作用[J]. *中国新药杂志*, 2009, 18(12):1130.
- [19] 陈宝安, 李静, 程坚, 等. 汉防己甲素联合柔红霉素对 K562/A02 细胞株 P21 蛋白和 P 糖蛋白表达的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17(5):1179.
- [20] 陈鸿雁, 王驰, 舒艳, 等. 苦参碱与 3 种抗肿瘤药物联合作用对 KBV200 耐药细胞株细胞周期的影响 [J]. *中国药房*, 2006, 17(7):500.
- [21] Adio M A. (α)-trans-β-elemene and related compounds: occurrence, synthesis, and anticancer activity [J]. *Tetrah*, 2009, 65(27):5155.
- [22] Li C, Wang E, Cheng Y, et al. Oridonin: An active diterpenoid targeting cell cycle arrest, apoptotic and autophagic pathways for cancer therapeutics [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(5):701.
- [23] Gu Y, Wang G J, Sun J G, et al. Pharmacokinetic characterization of ginsenoside Rh₂, an anticancer nutrient from ginseng, in rats and dogs [J]. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(9):2257.
- [24] Dai H, Li X, Li X, et al. Coexisted components of *Salvia miltiorrhiza* enhance intestinal absorption of cryptotanshinone via inhibition of the intestinal P-gp [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(14):1256.
- [25] Oh G S, Pae H O, Choi B M, et al. 20(S)-

- Protopanaxatriol, one of ginsenoside metabolites, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expressions through inactivation of nuclear factor- κ B in RAW 264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide [J]. *Cancer Lett*, 2004,205(1):23.
- [26] 高娜, 茆俊卿, 张育, 等. 土的宁对 K562/A02 细胞经典及非经典多药耐药机制作用的实验研究[J]. *中药药理与临床*, 2008,25(4):29.
- [27] Hsu S C, Chung J G. Anticancer potential of emodin [J]. *Bio Medicine*, 2012,2(3):108.
- [28] 顾政一, 张裴, 聂勇战, 等. 5 种生物碱胃癌多药耐药逆转剂的筛选及机制研究[J]. *中草药*, 2012, 43(6):1151.
- [29] 黎小妍, 张二红, 刘玉兴, 等. 肿瘤多药耐药机制及其逆转方案的研究[J]. *中国处方药*, 2012,10(4):24.
- [30] Song Y N, Guo X L, Zheng B B, et al. Ligustrazine derivate DLJ14 reduces multidrug resistance of K562/A02 cells by modulating GST π activity [J]. *Toxicol Vitro*, 2011, 25(4):937.
- [31] 杨扬, 李曰庆, 李乃卿. 三氧化二砷在乳腺癌方面的研究进展[J]. *医学综述*, 2010,16(15):2276.
- [32] 肖希斌, 谢兆霞, 秦群. 甲基莲心碱抑制 K562/A02 细胞 GST- π 的表达[J]. *西安交通大学学报*, 2005, 26(5):428.
- [33] 金秀东, 徐秋玲, 念红, 等. 复方五味子素 B 对人结肠癌细胞多药耐药性逆转作用及其机制研究[J]. *中国药师*, 2010,13(7):915.
- [34] 李丽, 周庚寅, 靳英, 等. 葡萄糖苷多酚对多药耐药的逆转作用及其机制[J]. *山东大学学报*, 2004, 42(4):387.
- [35] Sertel S, Eichhorn T, Sieber S, et al. Factors determining sensitivity or resistance of tumor cell lines towards artesunate [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 185(1):42.
- [36] Borska S, Chmielewska M, Wysocka T, et al. *In vitro* effect of quercetin on human gastric carcinoma: Targeting cancer cells death and MDR [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012,50(9):3375.
- [37] Yuan J, Wong I L, Jiang T. Synthesis of methylated quercetin derivatives and their reversal activities on P-gp-and BCRP-mediated multidrug resistance tumour cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 54(5):413.
- [38] Cheng X, Xiao Y, Wang X, et al. Anti-tumor and pro-apoptotic activity of ethanolic extract and its various fractions from *Polytrichum commune* L. ex Hedw in L1210 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(1):49.
- [39] Ding X, Zhu F S, Li M, et al. Induction of apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells by solamargine *Solanum nigrum* L [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(2):599.
- [40] Dai Z, Gao J, Ji Z Z, et al. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cells via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 123(1):91.
- [41] Abbasi R, Efferth T, Kuhmann C, et al. The endoperoxide ascaridol shows strong differential cytotoxicity in nucleotide excision repair-deficient cells [J]. *Toxicol App Pharmacol*, 2012, 259(3):302.
- [42] 潘凤. 中药青蒿中 NF- κ B 特异性抑制剂的筛选及其逆转肿瘤细胞群集耐药的作用研究[D]. 北京: 第三军医大学, 2008.
- [43] Ye M Y, Zhao Y N, Li Y, et al. Curcumin reverses cis-platin resistance and promotes human lung adenocarcinoma A549/DDP cell apoptosis through HIF-1 and caspase-3 mechanisms [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(8/9):779.
- [44] 朱四红. 雷公藤内酯醇联合紫杉醇对人卵巢癌耐顺铂细胞株体外活性的影响及机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [45] Shu B, Duan W, Yao J, et al. Caspase 3 is involved in the apoptosis induced by triptolidein HK-2 cells [J]. *Toxicol Vitro*, 2009,23(4):598.
- [46] 朴丽花. 人参皂苷 Rh₂ 对人乳腺癌细胞多药耐药的逆转作用及其相关机制的实验[D]. 延边: 延边大学, 2011.
- [47] Fong W F, Wang C, Zhu G Y, et al. Reversal of multidrug resistance in cancer cells by *Rhizoma Alismatis* extract [J]. *Phytomedicine*, 2007, 14(2/3):160.
- [48] Wei N, Liu G T, Chen X G, et al. H1, a derivative of tetrandrine, exerts anti-MDR activity by initiating intrinsic apoptosis pathway and inhibiting the activation of Erk1/2 and Akt1/2 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 82(11):1593.
- [49] Chen C, Zhou J, Ji C. Quercetin: A potential drug to reverse multidrug resistance [J]. *Life Sci*, 2010, 87(11/12):333.
- [50] Yen C Y, Goto K N, Hwang T H, et al. Design and synthesis of gambogic acid analogs as potent cytotoxic and anti-inflammatory agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(12):4018.
- [51] Naik K P, Dubey A, Soni K, et al. The binding modes and binding affinities of fepipodophyllotoxin derivatives with human topoisomerase II α [J]. *J Mol Graphic Model*, 2010, 29(4):546.
- [52] 李贵海, 刘明霞, 孙付军, 等. 粉防己碱对获得性多药耐药小鼠 S180 肿瘤细胞 P170, LRP, TOPO II 表达的调控[J]. *中国中药杂志*, 2005,30(16):1280.

[责任编辑 邹晓翠]