

重楼抗肿瘤作用机制研究进展

夏亚飞¹, 阎姝^{2*}

(1. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193; 2. 天津市南开医院, 天津 300100)

[摘要] 介绍中药重楼抗肿瘤的作用机制。通过中国知网和 Pubmed 检索工具, 查阅近年来 34 篇相关资料, 对中药重楼抗肿瘤作用机制的文献进行整理和分析。中药重楼可通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞分化、抑制肿瘤细胞转移、调节机体免疫等机制发挥抗肿瘤的作用。诱导肿瘤细胞凋亡为其主要途径, 但某些作用机制尚需进一步研究。

[关键词] 中药重楼; 肿瘤; 作用机制

[中图分类号] P285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0304-04

Advances on Studies of Antitumor Mechanisms by Rhizoma Paridis

XIA Ya-fei¹, YAN Shu^{2*}

(1. Graduate School of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;
2. Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China)

[Abstract] The paper introduced the antitumor mechanisms on Rhizoma Paridis. The antitumor mechanisms were reviewed based on recent 34 relevant articles about Rhizoma Paridis by CNKI and Pubmed. Rhizoma Paridis may play an anti-tumor effect by inducing tumor cell apoptosis, inhibiting tumor cell proliferation, inducing tumor cell differentiation, inhibiting tumor cell metastasis and regulating immune mechanisms. Inducing apoptosis of tumor cells may be their main way, but further studies on other mechanisms can be needed.

[Key words] Rhizoma Paridis; tumor; mechanism

中药重楼为百合科植物云南重楼或七叶一枝花的干燥根茎。主要分布于四川、云贵等地。重楼具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊之功效, 用于臃肿、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、跌

打伤痛、凉风抽搐等症。重楼皂苷为甾体皂苷, 是重楼的主要活性物质, 具有抗肿瘤、消炎、止血、抗氧化、促进子宫收缩和保护血管内皮细胞等药理作用。重楼作为民间抗癌药, 广泛应用于恶性淋巴瘤、肺癌、鼻咽癌、脑肿瘤及消化系统肿瘤等的治疗^[1]。目前研究表明重楼在体外体内均具有很强的抗肿瘤作用^[2-4], 本文就其抗肿瘤作用机制的研究现状予以综述。

1 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡又称程序性细胞死亡, 是由细胞内特定基因操纵、调控的一种生理性或病理性的自杀性细胞死亡方式^[5]。诱导肿瘤细胞凋亡是目前许多抗肿瘤药物作用的主要机

[收稿日期] 20111121(011)

[基金项目] 2010 天津市科技计划项目(10JCYBJC15100)

[第一作者] 夏亚飞, 硕士, 从事中药学研究, Tel: 15002212899, E-mail: yafei_33@163.com

[通讯作者] * 阎姝, 博士, 主任药师, 硕士生导师, 从事中药药理学研究, Tel: 13389989966, E-mail: yjknkyy@126.com

榭皮苷、榭皮素和乔松素-7-O-葡萄糖苷[J]. 中草药, 2009, 40(6):981.

[70] 杜曦, 唐斌, 张青碧, 等. 赶黄草中没食子酸、榭皮素及 β -谷甾醇的高效液相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(4):358.

[71] 尚远宏, 刘圆, 彭镰心, 等. RP-HPLC 测定扯根菜中榭皮素的含量[J]. 华西药学期刊, 2005, 20(6):559.

[72] 冯长根, 汪洪武, 任启生. RP-HPLC 测定赶黄草中榭

皮素的含量[J]. 中国药学期刊, 2004, 39(2):97.

[73] 贺晓华, 许龙, 杜方麓, 等. 反相高效液相色谱法测定赶黄草中没食子酸的含量[J]. 中南药学, 2008, 6(6):717.

[74] 陈国栋, 杨军, 刘慧, 等. 扯根菜黄化苗转绿过程中 4 种生理指标的动态变化[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(36):18379, 18383.

[责任编辑 邹晓翠]

制^[6-7]。中药重楼诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制包括阻滞肿瘤细胞增殖周期、影响癌基因和抑癌基因的表达、影响细胞凋亡信号传导等。

1.1 阻滞肿瘤细胞增殖周期 一般而言,每一代肿瘤细胞的增殖周期都需要依次经历 G₁, S, G₂, M 期 4 个阶段。重楼能够作用于细胞周期的某一环节,从而使细胞增殖周期受阻,诱导其发生凋亡。陈志红等^[8]通过 Hoechst-PI 双染观察重楼总皂苷对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞凋亡的影响,结果发现不同浓度的重楼总皂苷处理人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞 24 h 后,细胞形态出现不同程度的皱缩,变形,胞浆浓缩、核染色质聚集、核固缩、部分核碎裂,出现凋亡小体。提示重楼总皂苷对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞的生长抑制可能与其诱导的凋亡有关。采用流式细胞仪检测不同浓度的重楼总皂苷作用于人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞 24, 48 h 后,结果表明细胞被阻滞在 S 期;不同浓度的重楼总皂苷作用于人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞 24 h 后观察到凋亡峰,随着重楼总皂苷浓度的增加,凋亡峰面积增加,凋亡细胞增加,说明重楼总皂苷通过改变细胞周期来诱导凋亡。贾科等^[9]采用流式细胞术检测胃癌细胞株 MGC-803 经 10~40 mg·L⁻¹ 重楼总皂苷作用 24, 48 h 后,结果为 G₁/G₀ 期 DNA 含量降低, S 期 DNA 含量明显增加,因此细胞被阻滞在 S 期,随着浓度的增加,细胞的凋亡率增加。因此,重楼总皂苷通过改变细胞周期来诱导凋亡。程志祥等^[10]的细胞实验表明重楼总皂苷作用人肝癌细胞系 HepG₂ 细胞后,细胞形态和数量均发生了明显改变。采用流式细胞仪(FCM)检测重楼总皂苷能够诱导 HepG₂ 细胞凋亡,引起 HepG₂ 细胞 S 期阻滞。

1.2 影响癌基因和抑癌基因的表达 在线粒体途径中, Bcl-2 家族蛋白通过改变线粒体膜的通透性而调节细胞色素 C 的释放,从而调控细胞凋亡过程^[11-12]。Bax 与 Bcl-2 同属于 Bcl-2 超家族的成员,是细胞凋亡途径中一组重要的调节基因。研究表明重楼总皂苷影响线粒体功能诱导多种肿瘤细胞株发生凋亡^[13-15]。杨福冬^[16]运用滇重楼茎叶总皂苷(DRG)抗 BGC823 胃癌模型,研究 DRG 对荷人胃癌裸鼠抑瘤率结果表明 DRG 可能通过诱导肿瘤细胞 Bcl-2 蛋白表达下调, Bax 蛋白表达增加,从而促进肿瘤细胞凋亡而发挥抑瘤效应。

1.3 影响细胞凋亡信号传导 Caspases 是一个半胱氨酸蛋白酶家族,是细胞凋亡的主要执行者。caspase-3 是 caspases 家族中重要的成员之一,大多数触发细胞凋亡的因素最终均需通过 caspase-3 的活化来介导信号途径的传导^[17]。贾科等^[9]研究发现随着重楼总皂苷浓度增加,胃癌细胞株 MGC-803 凋亡率显著增加,并且伴随 Survivin 蛋白和 EphA2 蛋白表达减弱,而 caspase-3 蛋白表达增强,其作用机制可能通过抑制 Survivin 和 EphA2 蛋白的表达以及增强 caspase-3 蛋白的表达来诱导肿瘤细胞的凋亡。张晓运用免疫细胞化学染色检测 Bax, Bcl-2, caspase-3 蛋白发现,用重楼皂苷 I 处理后肝癌细胞 Bel-7402 中 Bcl-2 蛋白表达明显降低, Bax, caspase-3 蛋白表达显著升高,由此推测,重楼皂苷 I 可能是通过影响

Bcl-2, Bax 的表达,从而激活 caspase-3 通路发挥抗肿瘤作用的^[18]。

高冬等^[19]发现重楼能显著提高 Hela 细胞内基础钙的水平。胞内钙离子信号系统与细胞凋亡的调控有密切关系,钙离子作为第 2 信使,是细胞凋亡信息传递的关键环节,刺激因素激活细胞受体-G 蛋白-磷酸肌醇系统,引起外钙内流、胞内储存钙释放,从而激活多种蛋白酶,最终导致凋亡发生。朱丽丽等^[20]应用 Fluo-3/AM 荧光标记技术和激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)检测不同药物浓度处理的 SGC-7901 人低分化胃癌腺癌细胞[Ca²⁺]_i 的变化,实验结果证明了重楼皂苷可能通过增加细胞内[Ca²⁺]_i 诱导细胞凋亡,从而发挥其抗 SGC-7901 细胞增殖的作用。

2 抑制肿瘤细胞增殖

正常人体细胞分裂的速度是在一定范围内进行的,当机体受到外在因素的影响或内在环境的失衡,肿瘤细胞的分裂周期或细胞凋亡速度改变,肿瘤细胞数量持续增加,肿块增大。陈志红等^[21]用 MTT 法测定重楼总皂苷对人肺癌细胞(A549)细胞的增殖抑制率的实验研究,结果表明重楼总皂苷对 A549 细胞的增殖具有抑制作用,且其抑制作用具有时间和浓度依赖性。随着作用时间的延长和药物浓度的增加,细胞抑制效果越来越明显,重楼总皂苷对 A549 细胞的生长有量-效、时-效关系。李晞等^[22]通过流式细胞仪(FCM)分析人结肠癌(SW480)细胞周期,发现 SW480 细胞在 S 期的分布比例下降, G₀-G₁ 期和 G₂/M 期细胞分布增多,表明重楼可能通过抑制肿瘤细胞的蛋白质与 DNA 合成,抑制肿瘤细胞的有丝分裂,来实现对肿瘤细胞增殖的抑制。石小枫等^[23]采用核酸同位素前体掺入实验,体内外均表明重楼能抑制 DNA, RNA 的生物合成,干扰物质代谢,降低更新速率,抑制肿瘤生长繁殖。

3 诱导肿瘤细胞分化

诱导分化是指恶性肿瘤细胞在体内外分化诱导剂的作用下,向正常分化方向逆转的现象^[24]。分化的观察指标应是一个综合性指标,单独观察其中任一项指标,均无法证明肿瘤细胞的分化,而应该综合观察细胞的形态、功能以及生物学行为 3 个方面的指标。目前研究诱导分化所涉及的几种机制,同时也可以影响肿瘤细胞的增殖和凋亡。此外,目前对重楼诱导肿瘤细胞分化方面报道的很少。

4 抑制肿瘤细胞转移

4.1 抑制基质金属蛋白酶 基质金属蛋白酶(MMPs)几乎能降解所有的细胞外基质(ECM)成分,是与肿瘤侵袭、转移关系最大的酶。因此,抑制基质金属蛋白酶的活性,就可以抑制肿瘤细胞的侵袭转移。安叙辰将一定量的 MMP-16 溶液分别加入酶反应缓冲溶液及重楼水提取物 5, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 g·L⁻¹ 的质量浓度中,孵育 30 min 后加入 0.2 μg DQ-gelatin 底物检测。检测的荧光强度变化即代表酶降解底物活力的强弱。结果显示重楼水提取物在体外对 MMP-16 有抑制作用,且这种抑制作用存在着剂量依赖,即重楼水提取物对 MMP-16 的抑制作用随药物浓度的增加而增强^[25]。

4.2 抑制血管生成 肿瘤血管生成在肿瘤从良性向恶性的转变、癌细胞进入血液循环、转移灶的发展和破裂中都起着重要作用,涉及肿瘤从形成到转移的全过程^[26]。因此,抗血管生成机制的研究和抗血管生成药物的开发给肿瘤治疗带来了新的希望^[27]。胡静等^[28]建立小鼠皮下肝癌 H22 模型,观察用药后肿瘤生长情况,计算抑瘤率,用免疫组化方法测定肿瘤组织中 CD34 的表达的实验说明了重楼醇提取物对 KM 小鼠 H22 移植瘤具有一定的生长抑制作用,同时可明显抑制肿瘤组织微血管密度,推测其抗肿瘤作用可能与血管生成抑制作用有关。胡静等^[29]利用 transwell 小室趋化实验、体外管腔形成实验观察重楼醇提取物对人脐静脉血管内皮细胞 (HUVEC) 迁移、成血管能力的影响。体外管腔形成实验发现,15 ~ 60 mg·L⁻¹的重楼醇提取物管腔形成数目减少,且管腔不完整,与对照组相比有显著性差异(*P* 分别为 0.000 001 1, 0.000 041 7, 0.000 875 2)。经 15 ~ 60 mg·L⁻¹的重楼醇提取物处理后内皮细胞迁移数明显少于对照组(*P* 分别为 0.000 000 5, 0.000 003 3, 0.009 993)。而在该浓度范围内,对人肠癌 LOVO 细胞无明显细胞毒作用(细胞抑制率在 12.1% ~ 13.9%)。15 ~ 60 mg·L⁻¹的重楼醇提取物可诱导内皮细胞凋亡,抑制内皮细胞 DNA 的合成,且呈剂量依赖性(相关系数分别为 0.929, -0.922, *P* = 0.036, 0.039)。由此可以看出重楼醇提取物在体外能有效抑制血管生成。其机制可能与抑制内皮细胞增生、迁移和管腔形成,诱导内皮细胞凋亡,抑制内皮细胞 DNA 的合成有关。

5 调节机体免疫

肿瘤坏死因子(TNF)- α 的适量表达在宿主抵抗微生物入侵和抑制肿瘤产生的防御系统中起着关键作用,但过量的肿瘤坏死因子(TNF- α)与其他炎性因子一起产生多种病理损伤^[30]。研究发现,重楼总皂苷对细菌内毒素脂多糖(LPS)诱导大鼠腹腔巨噬细胞(PM Φ)释放 TNF- α , IL-1 β 具有显著的抑制作用^[31]。王瑞烈等^[32]发现重楼总皂苷对多发骨折-脂多糖两次打击模型大鼠急性肺损伤具有保护作用,机制可能与下调血清中的 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平从而减轻炎症反应有关。凌雨等研究证明:重楼总皂苷可以降低多发性创伤模型大鼠血清中的 TNF- α , IL-1 β 及 IL-6 的水平^[33]。

重楼皂苷 I ~ III 在小鼠成纤维细胞 L-929 培养基中可引起刀豆球蛋白 A 诱导的小鼠淋巴细胞增殖效应,并能促进小鼠粒/巨噬细胞克隆形成细胞(GM-CFC)增殖。重楼皂苷 II 尚对植物血凝素(PHA)诱导的人外周全血细胞有促进有丝分裂作用;体内实验能增强 C3H/HeN 小鼠的自然杀伤细胞活性,诱导干扰素产生;并可抑制 S-抗原诱导的豚鼠实验性自身免疫性眼色素层炎(EAU)发生发展,认为重楼皂苷 II 是较强的免疫调节剂^[34]。

6 结语

综上所述,中药重楼可通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞分化、抑制肿瘤细胞转移、调节机体免疫等机制发挥抗肿瘤的作用,因此,重楼在抗肿瘤方面

起着重要的作用。

7 展望

随着对重楼抗肿瘤实验研究的深入开展,重楼抗肿瘤作用机制日益清晰,也越来越受到国际社会的重视。通过动物实验,应用免疫学、细胞遗传学及分子生物学等方法研究重楼对多种肿瘤的抑制作用,结果重楼表现出对不同的细胞株,具体的药物作用时间及剂量存在一定的差别,而且在不同类型的肿瘤细胞中表现出不同的作用机制。因此,重楼在抗肿瘤方面确实发挥着重要的作用。尽管在重楼抗肿瘤作用机制方面取得了一定的研究成果,但是有些作用机制还是不能完全肯定,还需进一步的研究验证。其中重楼在诱导肿瘤细胞分化方面研究报道的甚至很少,还有待以后进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 赵保胜,朱寅荻,马勇,等. 中药重楼研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 267.
- [2] 王艳霞,李惠芬. 重楼抗肿瘤作用研究[J]. 中草药, 2005, 36(4): 628.
- [3] Sun J, Liu B R, Hu W J, et al. *In vitro* anticancer activity of aqueous extracts and ethanol extracts of fifteen traditional Chinese medicines on human digestive tumor cell lines[J]. *Phytother Res*, 2007, 21: 1102.
- [4] 胡文静,钱晓萍,邹玺,等. 重楼、土鳖虫对人肝癌 SMMCZ7721 细胞增殖抑制的协同作用[J]. 南京中医药大学学报, 2007, 23(4): 234.
- [5] 郭晓辰,张军平. 中药调控血管平滑肌细胞凋亡的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 288.
- [6] Xu Y F, Ge R L, Du J, et al. Corosolic acid induces apoptosis through mitochondrial pathway and caspases activation in human cervix adenocarcinoma HeLa cells [J]. *Cancer Letters*, 2009, 284: 229.
- [7] Svkotiis G P, Papavassiliou A G. Apoptosis: the suicidesolution in cancer treatment and chemoprevention [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2006, 15(6): 575.
- [8] 陈志红,龚先玲,刘义,等. 重楼总皂苷对人鼻咽癌细胞 CNE-2Z 周期及凋亡的影响[J]. 中成药, 2011, 33(1): 25.
- [9] 贾科,吴庆琛,张成,等. 重楼总皂苷对胃癌细胞株 MGG-803 生长的抑制作用[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(4): 284.
- [10] 程志祥. 重楼总皂苷作用于人肝癌细胞系 HepG₂ 的蛋白组学研究[D]. 南京:南京医科大学肿瘤内科学, 2008.
- [11] Cory S Adams J M. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch[J]. *Nat Rev Cacer*, 2002, 2(9): 647.

- [12] Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death [J]. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(4):495.
- [13] Jenny Y N, Rose C Y, Suen Y K, et al. Polyphyllin D is a potent apoptosis inducer in drug resistant HepG₂ cells [J]. *Cancer Lett*, 2005, 217:203.
- [14] Lee M S, Judy Chan Y W, Kong S K, et al. Effects of polyphyllin D, a steroidal saponin in Paris polyphylla, in growth inhibition of human breast cancer cells and in xeno-graft [J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4:1248.
- [15] Jing C, Mingjie L, Zhao W, et al. Apoptosis induced by Di-oscine in HeLa cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(2):193.
- [16] 杨福冬. 滇重楼茎叶总皂苷抗 BGC823 胃癌模型药理学及机制研究 [D]. 昆明:昆明医学院, 2009.
- [17] 陈旭, 王娟, 蒋晓山, 等. 莪术醇对肺癌 A549 细胞凋亡诱导因子、聚 ADP 核糖聚合酶及 Caspase-3 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(19):157.
- [18] 张晓. 重楼皂苷 I 对肝癌细胞 Bel-7402 生长抑制作用的实验研究 [D]. 福州:福建中医药大学, 2010.
- [19] 高冬, 高永琳, 白平. 重楼对宫颈癌细胞钙信号的影响 [J]. *福建中医学院学报*, 2003, 13(4):26.
- [20] 朱丽丽, 李惠芬. 重楼皂苷对 SCG-7901 细胞增殖抑制及诱导凋亡的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(6):1501.
- [21] 陈志红, 龚先玲, 刘义. 重楼总皂苷对人肺癌细胞 A549 的增殖抑制及对细胞周期的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2010, 26(15):2685.
- [22] 李晞, 王继红, 肖亚雄. 重楼提取液对人结肠癌 SW480 细胞增殖的影响及其作用机制 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2010, 23(6):619.
- [23] 石小枫, 杜德极, 谢定成, 等. 重楼总皂苷对 H22 动物移植性肿瘤的影响 [J]. *中药材*, 1992, 15(2):33.
- [24] 王晓兰, 宋佳玉, 王建刚. 壁虎抗肿瘤作用研究现状 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4):262.
- [25] 安叙辰. 重楼抑制基质金属蛋白酶 16 抗肿瘤机理的实验研究 [D]. 吉林:吉林大学, 2011.
- [26] Shinizu K, Asai T, Oku N. Antineovascular therapy, a novel anti-angiogenic approach [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2005, 9(1):63.
- [27] Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, et al. Angioprevention angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents [J]. *FASEB J*, 2002, 16(1):2.
- [28] 胡静, 钱晓萍, 刘宝瑞, 等. 重楼醇提物抗鼠 H22 移植瘤血管生成的体内实验研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(10):1886.
- [29] 胡静, 钱晓萍, 刘宝瑞, 等. 重楼醇提物体外抑制血管生成作用研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(8):1273.
- [30] 谭兵. 抗肿瘤坏死因子- α 治疗的研究进展 [J]. *国际内科学杂志*, 2007, 34(3):143.
- [31] 周满红, 杜文胜, 龙胜双. 重楼总皂苷对脂多糖诱导大鼠腹腔巨噬细胞分泌 TNF- α 及 IL-1 β 的影响 [J]. *四川中医*, 2008, 26(4):14.
- [32] 王瑞烈, 任达福, 张小军, 等. 重楼对多发骨折-脂多糖两次打击急性肺损伤的保护作用 [J]. *中国中医骨伤杂志*, 2009, 17(5):10.
- [33] 凌丽, 梁昌强, 单立婧, 等. 重楼总皂苷对多发性创伤大鼠血清细胞因子水平的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2009, 11(6):241.
- [34] 汤海峰, 赵越平, 蒋永培. 重楼属植物的研究概况 [J]. *中草药*, 1998, 29(12):839.

[责任编辑 邹晓翠]