

# 天然药物对肿瘤组织中血管内皮生长因子 调节作用的研究现状

魏正茂, 路军章, 窦永起\*  
(解放军总医院, 北京 100853)

[摘要] 目的: 对天然药物对肿瘤组织中血管内皮生长因子(VEGF)调节作用研究现状进行综述。方法: 以单药及复方研究划分, 对国内外天然药物的研究现状进行分析。结果: 国内外研究机构对天然药物抗肿瘤血管再生研究方面积累了大量资料, 其中大部分将主要靶点集中在 VEGF 调节作用方面。结论: 目前对肿瘤组织中 VEGF 调节作用研究的实验方法与技术已经得到很大发展, 对其作用机制研究已达到基因表达水平。国内外研究对象及研究方法上仍存在一些差异, 可以相互启发借鉴。

[关键词] 天然药物; 肿瘤组织; 血管内皮生长因子

[中图分类号] R273 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2007)06-0066-04

## Advance on Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF) by Natural Drugs in Tumor Tissue

WEI Zheng-mao<sup>1</sup>, LU Jun-zhang<sup>2</sup>, DOU Yong-qi<sup>2\*</sup>  
(Trainee Group of the General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

[Abstract] **Objective:** To review the advance on regulation of vascular endothelial growth factor(VEGF) in tumor tissue by natural drugs. **Methods:** The advance of domestic and abroad study on the aspect of single drug and compound recipe were analyzed. **Results:** Mass data about the study of anti-angiogenesis effect in tumor tissue by natural drugs has been assembled by domestic or abroad research institutes, and the principal target was focused on the regulation of VEGF. **Conclusions** The research method and technology has been well developed, and the study of mechanism has been achieved. There are many differences in the methods and objects between domestic and abroad research.

[Key words] natural drugs; tumor tissue; vascular endothelial growth factor(VEGF)

自1972年 Folkman 发现肿瘤血管再生以后, 人们在抗肿瘤组织血管生成研究方面倾注了大量精力, 形成了系统的理论。血管内皮生长因子(VEGF)是参与诱导并维持人类肿瘤组织新生血管生成最重要的血管生成因子之一<sup>[1]</sup>。VEGF 通过受体来发挥其生物学作用。VEGF 一方面以旁分泌方式作用于肿瘤血管内皮细胞并诱导肿瘤血管新生, 另一方面也可通过自分泌途径与自身表面的受体结合而促进肿瘤细胞增殖和侵袭、抑制细胞凋亡<sup>[2]</sup>。目前已知

VEGF 有 3 种受体: Flt-1(VEGF 受体 1)、KDR/Flk-1(受体 2)和 Flt-4(受体 3), 这 3 种受体同属酪氨酸激酶受体, 其中 Flt-1 和 KDR/Flk-1 与肿瘤血管新生关系密切。针对 VEGF 和 VEGF 受体作用过程, 目前研究发现了许多具有抗血管活性的物质。中医药治疗肿瘤积累了深厚的临床经验, 有许多成功个案报道, 并且经临床观察其毒副作用少。目前也引起了不少国外研究机构对天然药物抗肿瘤血管再生研究的兴趣, 积累了大量资料, 其中大部分将主要靶点集中在 VEGF 和 VEGF 受体作用过程方面。由于国内外研究存在差别, 有许多可以借鉴之处, 现在就天然药物对肿瘤组织中 VEGF 调节作用国内外研究现状综述

[收稿日期] 2006-12-30

[通讯作者] \* 窦永起, Tel: (010) 66939456

如下:

## 1 国内

**1.1 单药提取物研究** 国内许多研究者通过对中药提取物的研究,进行了大量的有效化合物认定,并观察了其作用的量效关系、时效关系。

张前<sup>[3]</sup>从红花中提取分离羟基红花黄色素A,观察到提取出的羟基红花黄色素A纯度达到98.9%,浓度为 $0.59\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能使鸡胚尿囊膜体内试验(CAM)血管明显变细、减少( $P < 0.01$ ),并能显著抑制CAM组织中VEGF及VEGF-R(Flt-1)的mRNA表达( $P < 0.05$ )。青蒿琥酯是倍半萜内酯类化合物青蒿素的水溶性衍生物,陈欢欢等<sup>[4]</sup>在体内实验中研究青蒿琥酯抗肿瘤血管生成作用机理时发现青蒿琥酯 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 即明显下调肿瘤的VEGF表达及肿瘤细胞和血管内皮细胞KDR/flk-1受体的表达。唐春兰等<sup>[5]</sup>通过裸小鼠荷人A549肺腺癌动物模型研究发现姜黄素III即双脱甲氧基姜黄素(3%)组血清中VEGF含量显著低于阴性对照组。姜黄素II组与TNP470组VEGF含量相比无显著差异( $P > 0.05$ )。陈惠英等通过人肝癌细胞株Bel-7402研究中药砒霜成分三氧化二砷对VEGF表达的影响,观察免疫组化VEGF蛋白表达情况,结果显示经 $\text{As}_2\text{O}_3$ 作用48h后VEGF蛋白表达明显受抑。一部分学者已经从VEGF及其受体的mRNA表达、蛋白表达等途径阐明了其对肿瘤组织中VEGF调节作用机制。

**1.2 复方研究** 在中国传统医学辨证论治理论的基础上,国内学者在药物配伍组方治疗肿瘤方面积累了不少经验,并且从分子水平对其作用机制进行了研究。

杨国旺等<sup>[6]</sup>通过小鼠Lewis肺癌模型研究中药固本消瘤胶囊的抑瘤作用及机制,观察到中药组、中药加化疗组MVD(肿瘤组织中微血管密度)、VEGF表达水平明显下降,提示固本消瘤胶囊能下调VEGF表达。通过乌三颗粒<sup>[7]</sup>(主要由何首乌、三七、土鳖虫等组成)对肿瘤新生血管形成的干预作用及机制研究发现:给药后VEGF的表达水平从对照组 $29.34\% \pm 11.25\%$ 降低到给药组 $14.45\% \pm 5.83\%$ ( $P < 0.05$ ),说明乌三颗粒具有显著下调VEGF表达的作用。闵存云等<sup>[8]</sup>在观察中药胃康宁含药血清对胃癌细胞生长及P53和VEGF及其受体表达的作用时与对照组比较,用药组胃癌细胞的生长及细胞周期明显改变;P53和VEGF的表达明显减弱( $P <$

$0.05$ ),说明中药胃康宁对胃癌细胞的生长、P53和VEGF的表达有抑制作用。贾喜花等<sup>[9]</sup>研究了乳宁II号方(主药有:生黄芪、太子参、当归、枸杞、天门冬等)对乳腺癌中VEGF、Flk-1的影响,发现给药组能显著下调VEGF和mRNA表达。但在中药胃痛宁<sup>[10]</sup>(由党参、半枝莲、五灵脂等中药组成)对大鼠胃癌VEGF表达的影响研究时发现,胃痛宁给药组的VEGF表达量均较对照组明显减少,有显著性差异( $P < 0.01$ ),但如果服药超过16周后作用无差别,说明中药在长期服用时的疗效有待进一步的研究和观察。

在复方中对活血化瘀方药研究较多,对活血化瘀药物治疗恶性肿瘤的看法一直存在争议,不同研究者通过不同的试验研究甚至获得相反的结论。

徐晓玉等<sup>[11]</sup>通过鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)试验,人脐静脉内皮细胞系内皮细胞ECV304增殖抑制试验,B16黑色素瘤小鼠血管内皮生长因子受体-2(KDR/Flk-1)及微血管密度(MVD)的抑制试验,分别观察CAM血管指数、ECV304细胞吸光度(A值)、肿瘤重量、免疫组化染色显示KDR/Flk-1表达及MVD计数,探讨桃红四物汤II号方抗血管生成作用机理。结果显示桃红四物汤II号方具有抑制CAM血管生成,抑制血管内皮细胞的增生,抑制B16黑色素瘤移植瘤的生长和降低肿瘤微血管密度的作用。该方抗肿瘤血管生长作用机制,可能与抑制内皮细胞KDR/Flk-1的表达,降低VEGF与其受体KDR/Flk-1的结合有关。

丁罡等<sup>[12]</sup>通过大鼠Walker256癌脾内移植后肝转移模型丹参、赤芍治疗试验,分别观察实验大鼠中药灌胃后ELISA检测血清VEGF的变化,免疫组织化学染色(ABC法)染色后大鼠肿瘤组织微血管密度(MVD)的变化以及脾脏、肝脏转移瘤大小、腹水情况。结果显示丹参、赤芍可增强实验大鼠VEGF的表达及血管形成,促进肿瘤侵袭和转移的发生。具体机制没有深入探讨。

同样是活血化瘀药物组方对VEGF表达调节作用却不同,其原因仍不明确,但提示我们应用活血化瘀类中药应严格辨证施治,并结合现代药理学对活血化瘀类药物研究的结果,对于有血管生成促进作用或促恶性肿瘤细胞转移作用的药物一定要禁用或慎用。

## 2 国外单药提取物研究

国外进行的单药提取物研究较多, Kojima-Yuasa-A 等<sup>[13]</sup> 通过体外人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 研究绿茶提取物 (GTE) 对 VEGF 受体 Flt-1 和 KDR/Flk-1 的作用。使用免疫组化和西式印迹法观察到 Flt-1 和 KDR/Flk-1 的表达显著下降。Sartippour, -M-R 等<sup>[14]</sup> 通过研究绿茶 (GTE) 提取物及其单一儿茶素成分没食子儿茶精-3 桔酸酯 (EGCG) 对 VEGF 表达的影响, 观察到条件培养液中 VEGF 缩氨酸分泌显著下降, 并且呈现剂量依赖性。另外, 在 MDA-MB231 人肺癌细胞中 GTE 和 EGCG 可降低 VEGF 的 RNA 水平。这些抑制作用发生在转录调节水平并且伴随有明显的 VEGF 启动子活性的下降, 提示在人类 VEGF 启动子表达的激活蛋白 (AP)-1-应答区域可能参与了 GTE 的抑制作用。Chow, -L-M 等<sup>[15]</sup> 研究皂荚属报春黄甙果实提取物 (GSE) 抗血管生成作用, 观察逆转录酶聚合酶链反应方法测量下 GSE 对 MDA-MB231 肺癌细胞细胞株和 HepG2 肝毒瘤细胞的作用, 结果显示其 VEGF mRNA 表达显著下降, 并具有时间剂量依赖性, 酶连接免疫吸附剂测定分析进一步发现在各种肿瘤细胞中 (包括 MDA-MB231 HepG2 HL-60 细胞株以及从急性白血病患者骨髓中获得的 11 种主要白血病细胞) VEGF 分泌均减少。提示这可以解释 GSE 在实性肿瘤和白血病治疗中的抗血管生成作用。Singh, -R-P 等<sup>[16]</sup> 通过植入前列腺癌 DU145 细胞无胸腺裸鼠研究石榴籽提取物对进展期人类前列腺肿瘤生长和血管发生的抑制作用, 观察到石榴籽提取物喂养可以抑制肿瘤生长 59% ~ 73% ( $P < 0.001$ ), 使肿瘤重量下降 37% ~ 47% ( $P < 0.05$ )。在 DU145 细胞条件培养基中 GSE 有力的抑制 VEGF 分泌。这同时也提示了石榴籽提取物的抑瘤机制。Leyon, -P-V 等<sup>[17]</sup> 通过 B16F10 黑色素瘤诱发的微血管形成动物模型研究青牛胆属考狄叶素提取物对肿瘤生长及 VEGF 表达的作用, 观察微血管生长情况及 ELISA 法检测的致炎细胞因子和 VEGF 水平等, 结果显示在经腹腔内途径给药时, 对照组血清中 VEGF 持续显著增加, 而考狄叶素提取物处理组 VEGF 水平从第 9 天开始下降。通过体外主动脉环测定观察到在此提取物无毒浓度下即可抑制 VEGF 等促血管生成因子的产生。提示在致炎细胞因子作用下降后考狄叶素提取物对 VEGF 的抑制效应开始表现。大多国外研究对实验及检测方法 指标作了比较详细的描述, 个别试验<sup>[17]</sup> 考虑到

了影响 VEGF 表达的其它干扰因素。

其它还有 Lee, -S-J 等<sup>[18]</sup> 研究发现芍药属白花蒿素根提取的 1, 2, 3, 4, 6-五戊-O-没食子酰基- $\beta$ -右旋糖 (PGG) 对 VEGF 与 KDR/Flk-1 结合具有抑制作用。Kim, -E-C 等研究发现姜辣素能够通过抑制 VEGF 实现抗肿瘤作用, 在体内外实验中可抑制 VEGF 引起的内皮细胞增殖, 使细胞周期停滞在 G1 期。Yoon, -S-C 等<sup>[19]</sup> 通过人类纤维肉瘤 HT1080 细胞试验显示传统韩药 Soamsan 能够显著抑制 VEGF 的 mRNA 转录, 并呈现时间依赖性。Yoo, -H-S 等<sup>[20]</sup> 通过人脐静脉内皮细胞 (HUVEC), HT1080 和 B16-F10 细胞研究冬虫夏草提取物 (CME) 抗肿瘤生长和新生血管形成作用是通过下调 VEGF 等与血管生成相关因子的基因表达实现的。Zhang, -Y-X 等<sup>[21]</sup> 发现从竹黄中分离出的化合物 11, 11'-双脱氧-轮枝孢菌素通过抑制 VEGFR-1/Flt-1 进而下调 VEGF 的分泌实现其抗肿瘤作用。Li, -M-H 等<sup>[22]</sup> 研究发现土槿树根皮提取物土槿甲酸 B (PAB) 在体外实验中具有显著抗 VEGF 诱发的人脐静脉血管内皮细胞增殖迁移和微管形成作用, 另外在 MDA-MB-468 细胞中 PAB 能够消除缺氧引发的 VEGF 分泌, 其作用是通过减少 HIF-1 $\alpha$  蛋白实现的。

目前国外有关中药复方的研究报道非常少。

### 3 结论

目前对肿瘤组织中 VEGF 调节作用研究的实验方法与技术已经得到很大发展, 并且对其作用机制研究达到了基因表达水平, 如 Sartippour, -M-R 等提出绿茶 (GTE) 提取物对 VEGF 的抑制作用发生在转录调节水平并且伴随有明显的 VEGF 启动子活性的下降, 认为在人类 VEGF 启动子表达的激活蛋白 (AP)-1-应答区域可能参与了 GTE 的抑制作用。由于已经肯定天然药物对组织中 VEGF 调节作用与天然药物抗肿瘤血管生成作用之间具有必然相关性, 因此我们考虑通过检测天然药物对肿瘤组织中 VEGF 的表达来进行抗肿瘤血管生成中药的筛查, 是否可以作为一个比“三维凝胶模型”<sup>[23]</sup> 更简便的方法或者可以起到互补的效果。目前在中药复方研究方面国外研究几乎是空白, 但是国内研究大多停留在类似于单药研究水平, 在复方中单药之间配伍关系以及组方中有效成分与单药有效成分的关系、组方成分作用的分子机制等方面有待进一步研究。

[参考文献]

- [ 1 ] Kim E-C, Mir J-K, Kim T-Y, *et al.* [ 6]-Gingerol, a pungent ingredient of ginger, inhibits angiogenesis in vitro and in vivo [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335: 300-308.
- [ 2 ] 杨和平, 李剑明, 唐春兰, 等. 姜黄色素活性单体成分抗血管生成的实验研究[ J ]. 第三军医大学学报, 2005, 27: 1068-1070.
- [ 3 ] 张前, 牛欣, 闫妍, 等. 羟基红花黄色素 A 抑制新生血管形成的机制研究[ J ]. 北京中医药大学学报, 2004, 27: 25-29.
- [ 4 ] 陈欢欢, 周慧君. 青蒿琥酯的抗血管生成作用[ J ]. 药学学报, 2004, 39( 1 ): 29-33.
- [ 5 ] 唐春兰, 杨和平, 李剑明, 等. 姜黄素 III 对 A549 裸鼠移植瘤 VEGF 蛋白表达的影响[ J ]. 第三军医大学学报, 2005, 27( 9 ): 831-833.
- [ 6 ] 杨国旺, 王笑民, 王征, 等. 固本消瘤胶囊抑制小鼠 Lewis 肺癌生长及抗血管生成研究[ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10: 50-52.
- [ 7 ] 石锦萍, 杨红, 周毅, 等. 乌三颗粒对肿瘤新生血管形成的干预作用及机制研究[ J ]. 中药药理与临床, 2003, 19( 1 ): 22-24.
- [ 8 ] 闵存云, 李庆明. 中药胃康宁对人胃癌细胞的作用[ J ]. 中华实用中西医结合杂志, 2003, 3( 16 ): 2117-2119.
- [ 9 ] 贾喜花, 唐汉钧, 高尚, 等. 乳宁 II 号及其拆方对乳腺癌 VEGF flk-1 的影响[ J ]. 上海中医药大学学报, 2002, 16( 4 ): 41-44.
- [ 10 ] 李庆明, 余谦, 曾敬, 等. 胃痛宁对大鼠胃癌 VEGF 表达的影响[ J ]. 世界华人消化杂志, 2000, 8: 359-360.
- [ 11 ] 徐晓玉, 王淑美, 陈伟海, 等. 桃红四物汤 II 号抗血管生成作用及其对 KDR/FLK-1 表达的影响[ J ]. 中药新药与临床药理, 2005, 16: 329-332.
- [ 12 ] 丁罡, 宋明志, 于尔辛. 丹参、赤芍对大鼠 Walker256 癌肝转移影响机制的研究[ J ]. 中国癌症杂志, 2001, 11( 4 ): 364-368.
- [ 13 ] Kojima Yuasa A, Hua J J, *et al.* Green tea extract inhibits angiogenesis of human umbilical vein endothelial cells through reduction of expression of VEGF receptors[ J ]. *Life Sci*, 2003, 73: 1299-1313.
- [ 14 ] Sartippour M-R, Sha Z-M, Hebeg D, *et al.* Green tea inhibits vascular endothelial growth factor( VEGF ) induction in human breast cancer cells[ J ]. *J Nutr*, 2002, 132: 2307-2311.
- [ 15 ] Chow L-M, Chui C-H, Tang J-C; *et al.* Anti-angiogenic potential of Gleditsia sinensis fruit extract [ J ]. *Int J Mol Med*, 2003, 12: 269-273.
- [ 16 ] Sing R-P, Tyagi A-K, Dhanalakshmi, -S, *et al.* Grape seed extract inhibits advanced human prostate tumor growth and angiogenesis and upregulates insulin-like growth factor binding protein-3[ J ]. *Int J Cancer*, 2004, 108: 733-740.
- [ 17 ] Leyor P-V, Kuttar G. Effect of Tinospora cordifolia on the cytokine profile of angiogenesis-induced animals [ J ]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4: 1569-1575.
- [ 18 ] Lee S-J, Lee H-M, Ji, -S-T, *et al.* 1, 2, 3, 4, 6-Penta-O-galloyl-beta-D-glucose blocks endothelial cell growth and tube formation through inhibition of VEGF binding to VEGF receptor[ J ]. *Cancer Lett*, 2004, 208: 89-94.
- [ 19 ] Yoon S-C, Kim J-K, Kwak D-H, *et al.* Antitumor activity of Soamsan, a traditional Korean medicine, via suppressing angiogenesis and growth factor transcription [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 93: 403-408.
- [ 20 ] Yoo H-S, Shiu J-W, Cho J-H, *et al.* Effects of Cordyceps militaris extract on angiogenesis and tumor growth[ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25: 657-665.
- [ 21 ] Zhang Y-X, Chen Y, Guo X-N, *et al.* 11, 11'-dideoxyverticillin: a natural compound possessing growth factor receptor tyrosine kinase inhibitory effect with anti-tumor activity[ J ]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16: 515-524.
- [ 22 ] Li M-H, Miao Z-H, Tan W-F, *et al.* Pseudolaric acid B inhibits angiogenesis and reduces hypoxia-inducible factor 1 alpha by promoting proteasome-mediated degradation [ J ]. *Chin Cancer Res*, 2004, 10: 8266-8274.
- [ 23 ] Ruggeri B, Sing J, Gingrich D, *et al.* CEP-7055: a novel, orally active pan inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinase with potent antiangiogenic activity and antitumor efficacy in preclinical models[ J ]. *Cancer Res*, 2003, 63: 5978-5991.