

华蟾素抗肿瘤研究进展

刘旭^{1,2}, 邵瑞^{1,2}, 田晓轩^{1,2}, 王彧^{1,2*}

(1. 天津中医药大学 天津市现代中药重点实验室, 天津 300193;
2. 天津国际生物医药联合研究院, 天津 300457)

[摘要] 华蟾素是我国传统中药材中华大蟾蜍干皮的提取物,其主要成分为蟾毒内酯类、生物碱类、多肽类、胆固醇类等。随着对华蟾素药理作用的深入研究,已证实华蟾素在抗炎、抗病毒、抗肿瘤、消肿止痛等方面具有重要的应用价值。近年来,华蟾素的抗肿瘤活性逐渐被国内外学者重视。分子药理学研究表明,华蟾素主要通过增强机体免疫功能、抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、逆转肿瘤细胞多药耐药性以及抑制肿瘤血管生成等多种途径发挥抗肿瘤作用。华蟾素诱导细胞凋亡的机制涉及广泛,包括死亡受体介导的外源性信号通路和线粒体参与的内源性信号通路,有多种酶或蛋白参与了华蟾素诱导细胞凋亡的过程。临床研究表明,华蟾素作为临床上常用的抗肿瘤中药制剂,具有低毒、副作用少、抗癌谱广等特点,广泛应用于肝癌、胃癌、肺癌、结肠癌、食管癌、胆囊癌、非霍奇金淋巴瘤等发病率较高的肿瘤的治疗,无论单独应用还是与其他药物联合应用均表现出良好疗效,单独应用时,对中晚期肿瘤患者具有较好疗效,联合应用时,可以提高疗效,减少不良反应。为了促进华蟾素抗肿瘤活性的研究,扩大其应用前景,本文通过对华蟾素近年来相关文献的整理归纳,对其抗肿瘤机制的研究进展及其在临床上的应用做一综述,以供实验研究及临床参考。

[关键词] 华蟾素; 抗肿瘤; 作用机制; 临床应用

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R287; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)05-0229-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190528

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181116.1503.007.html>

[网络出版时间] 2018-11-19 13:23

Research Progress on Anti-tumor of Cinobufacini

LIU Xu^{1,2}, SHAO Rui^{1,2}, TIAN Xiao-xuan^{1,2}, WANG Yu^{1,2*}

(1. *Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;*
2. *Tianjin International Joint Academy of Biomedicine, Tianjin 300457, China*)

[Abstract] Cinobufacini is an extract from skin of *Bufo gargarizans*, and composed of bufadienolides, peptides, alkaloids and cholesterol. With the deepening of research of its pharmacological effect, it has been proved that cinobufacini has important application value in anti-inflammation, anti-virus, anti-tumor, as well as swelling and pain relief. In recent years, more attention has been given to its anti-tumor activity. The molecular pharmacology studies showed that cinobufacini plays an important role on anti-tumor by enhancing the immunity, inhibiting the proliferation of tumor cells, inducing the apoptosis of tumor cells, reversing multidrug resistance of tumor cells, and inhibiting the tumor angiogenesis. Both intrinsic pathway mediated by mitochondria and extrinsic pathway mediated by death receptor are involved in cinobufacini-induced apoptosis. Clinical studies have shown that cinobufacini is broadly used as an anti-tumor traditional Chinese medicine, due to its advantages of low toxicity, less side effects, and wide anticancer spectrum. It is broadly used in the treatment of liver cancer, gastric

[收稿日期] 20180731(013)

[基金项目] 天津市教委科研计划项目(2017KJ141)

[第一作者] 刘旭,在读硕士,从事中药抗肿瘤方向研究,E-mail:liuxu8024@163.com

[通信作者] *王彧,博士,副研究员,从事中药抗肿瘤方向研究,E-mail:wangyu@tjutcm.edu.cn

carcinoma, lung cancer, colon cancer, esophageal carcinoma, carcinoma of gallbladder, and non-Hodgkinlymphoma. Either single or combined application plays an active role in improving the efficacy and reducing side effects. To promote the research of anti-tumor activity of cinobufacini, and expand its application prospects, this review focuses on anti-tumor mechanism and clinical application of cinobufacini.

[**Key words**] cinobufacini; anti-tumor; mechanism; clinical application

目前,恶性肿瘤已成为一类严重影响人类身体健康和生命的疾病,现在临床上所用的化疗药物多数具有明显的细胞毒性,因此从不同途径寻找高效低毒的抗肿瘤药物成为当务之急^[1]。中药是中华医药的瑰宝,具有多靶点、多途径、交叉发挥作用等特点,可作用于肿瘤发生、发展的多个环节,在抗肿瘤治疗中具有独特的优势,因此在中药中寻找抗肿瘤药物成为一种有效途径^[2-3]。华蟾素为干蟾皮提取物,具有清热解毒、消肿、溃坚等作用。蟾皮为蟾蜍科动物中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍等的皮,适用于痈疽疮毒、疔积腹胀、瘰疬肿瘤等证^[4]。《神农本草经》中曾记载:“蟾蜍味辛寒,主邪气,破癌坚血、痈肿、阴疮,服之不患热病”,为临床运用华蟾素治疗肿瘤提供了理论依据^[5]。华蟾素现已广泛应用于临床,常用于治疗肝癌、胃癌、肺癌、结肠癌等肿瘤的治疗。近年来,华蟾素的抗肿瘤活性受到众多学者的关注,与普通化疗药物相比,华蟾素具有毒副作用小、不良反应少、抗癌活性高等优点^[6-7],且能够提高患者机体免疫力、抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡、提高患者生活质量。华蟾素化学成分较为复杂,主要含有蟾毒内酯类、生物碱类、多肽类、胆固醇类等成分,其中蟾毒内酯类、吲哚生物碱类、多肽类成分为抗肿瘤的主要活性成分^[8-10]。随着现代免疫学和分子生物学技术的进步,华蟾素的抗肿瘤活性逐渐被人们认识,本文着重就华蟾素抗肿瘤机制的研究进展及其在临床上的应用进行阐述,希望为华蟾素抗肿瘤活性的深入研究提供参考依据。

1 华蟾素抗肿瘤的作用机制

恶性肿瘤是一类严重影响人类健康的疾病,其发生发展是一个多步骤、多因素、多基因综合作用的复杂的动态变化过程。研究发现中药可通过抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、逆转肿瘤细胞多药耐药性、调节免疫系统等多种途径发挥抗肿瘤作用。华蟾素作为传统中药蟾皮的提取物,其抗肿瘤活性已引起人们的重视。

1.1 抑制肿瘤细胞增殖

1.1.1 抑制肿瘤细胞 DNA 和 RNA 的合成 DNA 是构成染色体的主要物质,对细胞的生长、分化、

分裂和性状起着决定性的作用。正常细胞中 DNA 的含量相对稳定,而在肿瘤细胞中 DNA 的含量明显增多,因此可用肿瘤细胞中 DNA 的含量反映肿瘤细胞的恶性增殖能力^[11]。华蟾素能够调节肿瘤细胞的核苷酸代谢,干扰 DNA 和 RNA 的生物合成,阻碍细胞进行有丝分裂,从而抑制肿瘤细胞的增殖。采用裸鼠人肝癌模型局部注射华蟾素,通过组织切片 Feulgen 染色发现治疗后肿瘤细胞中 DNA 含量下降^[12]。另外,将胃癌、肝癌、结肠癌 3 种肿瘤细胞用 $2 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素孵育 48 h 后其生长抑制率为 16.6% ~ 23.3%,细胞形态由多边形变成圆形,染色质疏松,细胞核溶解,DNA 电泳显示连续膜状条带,认为华蟾素可直接损伤肿瘤细胞 DNA,并由此导致细胞坏死^[13]。

1.1.2 干扰细胞周期 正常的细胞周期能够严格按照 G_1 -S- G_2 -M- G_1 (G_0) 的顺序运转并受到相关基因的严格调控^[14]。而肿瘤细胞则是由于调控基因的异常导致细胞处于失控状态下的无序增殖^[15]。华蟾素呈剂量依赖地抑制 HepG2 细胞的增殖,其机制为华蟾素诱导 HepG2 细胞周期阻滞于 S 期,从而使肌动蛋白丝的定期重组变得混乱,细胞形态和超微结构发生变化,细胞表面出现明显的收缩和深孔^[16]。同样,华蟾素可诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系细胞周期阻滞于 S 期,细胞骨架断裂,细胞形态和细胞表面超微结构改变^[17]。

1.2 诱导肿瘤细胞凋亡 细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序的死亡,它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用,其在肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用。目前已知有 2 种经典的细胞凋亡信号通路,即死亡受体介导的外源性信号通路和线粒体参与的内源性信号通路^[18],此外细胞凋亡是一个复杂的过程,多种蛋白或酶包括 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 蛋白家族及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶家族 (Caspase)、原癌基因 (Bcl-2, C-myc 等) 及抑癌基因 (p53 等) 均参与了细胞凋亡的启动与进程^[19-20]。死亡受体是位于细胞表面的受体,属于肿瘤坏死因子受体超家族,它们与相应的配体结合后,可以通过一系列的信号转导

过程,将凋亡信号向细胞内部传递^[20]。线粒体是细胞生命活动控制中心,它不仅是细胞呼吸链和氧化磷酸化的中心,而且是细胞凋亡调控中心。细胞凋亡的关键步骤是细胞色素 C 从线粒体释放^[21],释放到细胞浆的细胞色素 C 与凋亡酶激活因子 (Apaf-1) 结合,进而活化 Caspase 蛋白酶家

族,从而诱导细胞凋亡。研究表明华蟾素能诱导多种肿瘤细胞的凋亡,QI 等^[22]对华蟾素及其主要活性成分诱导的肿瘤细胞凋亡做出了部分总结。本课题组进一步更新和完善,补充了近 5 年的研究成果,华蟾素及其主要活性成分诱导的肿瘤细胞凋亡见表 1。

表 1 华蟾素诱导的肿瘤细胞凋亡

Table 1 Apoptosis-inducing activity of cinobufacini

| 药物 | 肿瘤细胞类型 | 机制 | 通路 |
|---------|----------------------|--|--|
| 华蟾素 | 肝癌细胞 HepG2, Bel-7402 | 线粒体膜电位破坏,释放细胞色素 C, Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)/Bcl-2 增大, Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9, Caspase-10 活化,剪切型 DNA 修复酶 (PARP) 降解,仅含 BH3 结构域的促凋亡的 Bcl-2 家族成员 Bid 形成 tBid | 线粒体/Fas 介导的 Caspase 依赖性通路 ^[23] |
| | 胃癌细胞 SGC-7901 | 上调 Bax 基因,下调 Bcl-2 基因 ^[24] | - |
| | 非霍奇金淋巴瘤细胞 Ramos | 活化 Caspase-3 ^[25] | - |
| | 红白血病细胞 K562 | 上调 Caspase-3 表达 ^[26] | - |
| | 肝癌细胞 HepG2 | 下调拓扑异构酶 (Topo) I, Topo II mRNA 表达 ^[27] | - |
| | 白血病细胞 U937 | 上调 Fas, 下调 Bcl-2, Fas-L ^[28] | - |
| | 宫颈癌细胞 HeLa | 活化 Caspase-3 ^[29] | - |
| 华蟾素和阿霉素 | 肝癌细胞 | 上调 Bax, 细胞色素 C 表达, 下调 Bcl-2 表达, Bid 形成 tBid | Fas/线粒体介导的信号通路 ^[30] |
| 华蟾素和顺铂 | 骨肉瘤细胞 OS732 | Fas 表达上调 ^[31] | - |
| 蟾毒灵 | 骨肉瘤细胞 MG-63 | 线粒体跨膜电位降低, 上调 Apaf-1, 剪切型 PARP, 剪切型 Caspase-3, Caspase-7, Caspase-9, 下调 Bcl-2/Bax | 线粒体介导的信号通路 ^[32] |
| | 前列腺癌细胞 PC-3 | 诱导 MiR-181a 的表达来抑制 Bcl-2 ^[33] | - |
| | 视网膜母细胞瘤细胞 HXO-RB44 | 线粒体膜电位降、Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9 活化、上调细胞色素 C 表达 | 线粒体介导的信号通路和死亡受体介导的信号通路 ^[34] |
| 华蟾毒精 | 骨肉瘤细胞 U2OS | 上调 Bax, 剪切型 PARP 表达, 糖原合成酶激酶-3 (GSK-3 β) 的磷酸化增多, 下调 X 连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP), 凋亡抑制蛋白-1 (cIAP-1), 凋亡抑制基因 (survivin), Bcl-2, p65 表达 | GSK-3 β /NF- κ B 通路 ^[35] |

1.3 逆转肿瘤细胞多药耐药性 肿瘤细胞多药耐药性 (MDR) 是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生抗药性的同时,对结构和作用机制不同的抗肿瘤药物产生交叉耐药性,是肿瘤化疗失败的主要原因,也是困扰肿瘤治疗的一大难题。肿瘤多药耐药性的机制有多种,其中 P 糖蛋白 (P-gp) 介导的耐药机制被认为是经典的耐药机制,P-gp 是一种三磷酸腺苷能量依赖型药物膜转运蛋白,通过水解 ATP 获得能量,主动将进入细胞内的各种抗癌药物转运至细胞外,导致肿瘤细胞内药物浓度降低而不能杀死肿瘤细胞^[36-38]。华蟾素通过转录途径下调 P-gp 和

MRP-1 蛋白的表达,逆转 Raji/ADR 细胞对阿霉素 (DOX) 的耐药,对 Raji 及 Raji/ADR 细胞 72 h 增殖抑制率为 75.6%,69.3%,半抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 3.9,4.6 mmol · L⁻¹,逆转 DOX 耐药倍数为 255.7 倍^[39],研究表明华蟾素可逆转肿瘤细胞的多药耐药性。

1.4 抑制肿瘤血管生成 肿瘤的生长、浸润、转移过程与血管生成密不可分,血管是肿瘤赖以生存的温床、可提供生长必需的养料、是肿瘤转移的途径。因而抑制肿瘤血管新生,切断其营养提供及转移途径,可一定程度限制肿瘤生长、转移^[40]。华蟾素能

抑制 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长,减少瘤内血管密度(MVD),抑制肿瘤血管生成,其作用机制与华蟾素降低瘤内血管内皮生长因子(VEGF)及血管内皮细胞膜上 VEGFR/2(KDR)蛋白表达、调控与肿瘤血管生成的有关的信号传导有关^[41]。

1.5 免疫调节及抗炎作用 肿瘤的发生发展和机体的免疫功能密切相关。机体的免疫系统分为特异性免疫(细胞免疫和体液免疫)和非特异性免疫,特异性免疫由 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞完成,NK 细胞和巨噬细胞在非特异性免疫中发挥重要作用。当机体免疫力正常时,肿瘤细胞不易产生和生长,但当机体免疫力降低时,肿瘤发生的概率将增大。现代药理学研究表明,增强肿瘤患者机体的免疫力,减轻机体的炎症反应是华蟾素发挥抗肿瘤作用的重要途径。华蟾素可促进脾淋巴细胞分泌白细胞介素-2(IL-2),从而增强 T 淋巴细胞免疫功能^[42]。进一步研究表明,华蟾素能够抑制裸鼠体内肿瘤的生长和胸腺增大,促进 T 淋巴细胞增殖,调节 T 淋巴细胞亚群,从而改善细胞免疫功能^[43]。华蟾素通过抑制肿瘤坏死因子(TNF)- α 诱导的核转录因子- κ B(NF- κ B) p65 的表达,NF- κ B 启动子的转录活性及环氧化酶-2(COX-2)的活化,降低 IL-6,IL-8 mRNA 的表达,发挥抗炎作用,进而抑制肺癌 A549 细胞的增殖^[44]。

2 临床应用

蟾皮是我国传统的中药材,单独入药始见于《本经逢原》,曰:“蟾皮,辛,凉,微毒。”在我国古代已有记载蟾皮可用于肿瘤的治疗,如中医外证全书《疡医大全》卷七引《邵氏秘书》中记载仙传夺命膏“干蟾皮 2 两,芫花 1 两,土木鳖 1 两,白及 1 两,驴蹄 1 个,大鲫鱼 1 斤,商陆 1 斤,山羊角 3 个等”,主治发背对口,一切肿毒,痞块,风气;《理渝》中记载方剂云台膏“生大黄 5 两,木鳖仁 3 两,玄参 2 两,生地 2 两,忍冬藤 2 两,生甘草节 2 两,蟾皮 1 两等”,主治发背、搭手、对口、发疽、颈核、乳痈、肚痛、腰痛,一切无名肿毒,附骨流注与恶毒顽疮,蛇犬伤。随着生物制剂技术、化学提取分离技术以及现代药理学的发展,蟾皮已开发成多种制剂及剂型,如华蟾素注射液、华蟾素片、华蟾素口服液、华蟾素胶囊等。近年来,华蟾素在临床上广泛应用,常用于治疗肝癌、胃癌、肺癌、结肠癌、食管癌、胆囊癌、非霍奇金淋巴瘤等,无论是单独应用还是与其他药物联合应用均有良好疗效,能够提高患者机体免疫力、改善患者生活质量、延长生存期。

2.1 单独应用 华蟾素单独应用时,对中晚期肿瘤患者具有较好疗效。使用华蟾素治疗中晚期肝癌患者,发现应用华蟾素的患者病情恶化率较低(11.4%),治疗后总有效率较高(82.86%),血清总胆红素、丙氨酸氨基转移酶等指标有明显下降,可以看出华蟾素注射液在一定程度上可抑制肝癌细胞的生长,且具有肝保护功能、提高生存质量和延长生存期的作用^[45]。华蟾素注射液治疗晚期肺癌合并恶性心包积液的患者,发现患者呼吸困难、胸闷、心悸等症状明显缓解,患者生活质量得到改善,心包积液内肿瘤标志物 CA-125 的水平明显降低,且心包积液量明显减少,胃肠道的不良反应及骨髓抑制较少^[46]。

2.2 联合应用 华蟾素与其他药物联合应用时,可以提高疗效,减少不良反应。华蟾素胶囊联合 XELOX 方案治疗晚期结肠癌患者,能明显提高患者的疾病控制率,改善患者的生活质量,并减轻化疗不良反应^[47]。华蟾素和卡培他滨联合治疗老年胃癌患者,发现研究组(卡培他滨和华蟾素)患者近期总有效率优于对照组(卡培他滨),不良反应发生率较低^[48]。使用华蟾素联合 CHOP 方案治疗非霍奇金淋巴瘤,发现该治疗非霍奇金恶性淋巴瘤疗效较好,不良反应轻,患者可耐受^[49]。华蟾素注射液联合化疗对中晚期食管癌患者化疗的疗效较好,同时降低了不良反应的发生率,改善了患者的生存质量^[50]。吉西他滨-奥沙利铂(Gemox)联合华蟾素注射液治疗胆囊癌,发现联合应用时耐受性好,疗效好,提高了晚期胆囊癌(GBC)患者的生活质量^[51]。

3 总结与展望

本文对华蟾素抗肿瘤机制及临床应用进行综述,通过查阅华蟾素相关文献发现,华蟾素是一种广谱的抗肿瘤药物,但目前机制研究多停留在多种成分的综合作用和蟾毒内酯类成分的体外抗肿瘤活性,然而蟾毒内酯类成分在华蟾素中所占比重较小,不能很好解释华蟾素药效功能,华蟾素中的其他化学成分如多肽类研究较少。为此,可进一步深入探索华蟾素中的其他化学成分的抗肿瘤作用及机制,以便为临床用药提供更可靠的理论依据。

[参考文献]

- [1] 党欢,冯斌,王鹏远,等.九节龙皂苷抗肿瘤作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14):216-221.
- [2] 焦延娜,韩淑燕.抗癌中药单体对肿瘤细胞自噬的调

- 控[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 206-214.
- [3] 李晓花, 李海涛, 金玲钰, 等. 傣百解提取物对人肺癌 A549 裸鼠移植瘤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 104-108.
- [4] 高学敏. 中药学[M]. 2版. 中国中医药出版社, 2007: 513-513.
- [5] 袁梅美, 惠起源. 华蟾素抗恶性肿瘤的研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(2): 44-46.
- [6] 姜秋雯, 陈涛. 华蟾素抗恶性肿瘤的机制及不良反应的研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(11): 2737-2739.
- [7] 梁朝晖, 张维彬, 汪波. 华蟾素在肿瘤防治中的意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(15): 1512-1513.
- [8] 贾小晴, 孙萍. 华蟾素抗肿瘤成分及作用机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(3): 215-217.
- [9] SU Y H, HUANG X Q, ZHANG D Z, et al. HPLC separation and determination of bufadienolide in Cinobufacini injection [J]. Chinese Trad Patent Med, 2003, 25(1): 24-27.
- [10] 吴旭, 高波, 杨健, 等. 华蟾素注射液多肽成分体外抗肿瘤活性研究[J]. 药学学报, 2012, 47(6): 822-826.
- [11] 韩鸿彬, 陈嘉勇. 华蟾素抗肿瘤作用及其机制的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2005, 12(2): 160-162.
- [12] 刘莉, 蒋亚生, 张士华, 等. 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.
- [13] 张振玉, 张昆和, 王崇文, 等. 华蟾素对三种消化系肿瘤细胞杀伤机制研究[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(5): 28-29.
- [14] 高畅, 杨美春, 莫新欣, 等. 中药及其活性成分在抗肿瘤中对细胞周期影响的研究进展[J]. 中国医疗前沿, 2012, 7(5): 12-13.
- [15] 李泉旺, 孙韬, 胡凯文. 华蟾素抗肿瘤机制的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 2075-2078.
- [16] WU Q, LIN W D, LIAO G Q, et al. Antiproliferative effects of cinobufacini on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells detected by atomic force microscopy[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(3): 854-861.
- [17] MA L, SONG B, JIN H, et al. Cinobufacini induced MDA-MB-231 cell apoptosis-associated cell cycle arrest and cytoskeleton function[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(3): 1459-1463.
- [18] 李鹏, 李祺福, 黄胤怡. 肿瘤治疗的新途径——中药有效成分诱导恶性肿瘤细胞分化[J]. 生物学通报, 2002, 37(3): 8-11.
- [19] Ghavami S, Hashemi M, Ande S R, et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes [J]. J Med Genet, 2009, 46(8): 497-510.
- [20] 史新惠, 王芳. 肺癌中相关凋亡分子的新近研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(10): 1729-1732.
- [21] Hellebrand E E, Varbiro G. Development of mitochondrial permeability transition inhibitory agents: a novel drug target[J]. Drug Discov Ther, 2010, 4(2): 54-61.
- [22] QI F, LI A, Inagaki Y, et al. Antitumor activity of extracts and compounds from the skin of the toad bufo gargarizans cantor [J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(3): 342-349.
- [23] QI F, LI A, Inagaki Y, et al. Induction of apoptosis by cinobufacini preparation through mitochondria-and Fas-mediated caspase-dependent pathways in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(2): 295-302.
- [24] 邵淑丽, 刘盛楠, 张蕾, 等. 华蟾素诱导人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡[J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(9): 1826-1832.
- [25] Efuet E T, DING X P, Cartwright C, et al. Huachansu mediates cell death in non-Hodgkin's lymphoma by induction of caspase-3 and inhibition of MAP kinase [J]. Int J Oncol, 2015, 47(2): 592-600.
- [26] 盛秀胜, 徐玲娟. 华蟾素诱导人红白血病细胞 K562 凋亡及对 Caspase-3 表达的影响[J]. 实用肿瘤杂志, 2007, 22(1): 32-36.
- [27] 高山, 田莉莉, 陈华, 等. 华蟾素注射液对人肝癌 HepG-2 细胞增殖及拓扑异构酶表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 250-255.
- [28] 张莉, 李军民, 钱樱, 等. 华蟾素诱导 U937 细胞凋亡及其作用机制[J]. 肿瘤, 2007, 27(5): 341-344.
- [29] 赵昕, 姜义, 赵颖, 等. 华蟾素通过激活 caspase3 诱导 HeLa 细胞凋亡[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(2): 330-333.
- [30] XIA J, Inagaki Y, GAO J, et al. Combination of cinobufacini and doxorubicin increases apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through the Fas-and mitochondria-mediated pathways [J]. Am J Chin Med, 2017, 45(7): 1537-1556.
- [31] HUANG T, GONG W H, LI X C, et al. Efficient killing effect of osteosarcoma cells by cinobufacini and cisplatin in combination [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(6): 2847-2851.
- [32] WANG D, BI Z. Bufalin inhibited the growth of human osteosarcoma MG-63 cells via down-regulation of Bcl-2/Bax and triggering of the mitochondrial pathway [J]. Tumour Biol, 2014, 35(5): 4885-4890.
- [33] ZHAI X, FANG F, LIU Q, et al. MiR-181a contributes to

- bufalin-induced apoptosis in PC-3 prostate cancer cells [J]. BMC Complement Altern Med, 2013, 13(1):1-6.
- [34] MENG Q, YAN Z, AN L X, et al. Inhibitory effect of bufalin on retinoblastoma cells (HXO-RB44) via the independent mitochondrial and death receptor pathway [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(11):4968-4974.
- [35] YIN J Q, WEN L, WU L C, et al. The glycogen synthase kinase-3 β /nuclear factor-kappa B pathway is involved in cinobufagin-induced apoptosis in cultured osteosarcoma cells [J]. Toxicol Lett, 2013, 218(2):129-136.
- [36] 袁斐, 白钢钢, 苗筠杰, 等. 中药逆转肿瘤细胞多药耐药的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(6):857-863.
- [37] Borst P, Evers R, Kool M, et al. A family of drug transporters; the multidrug resistance-associated proteins [J]. J Natl Cancer Inst J, 2000, 92(16):1295-1302.
- [38] Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy [J]. Curr Pharm Des, 2006, 12(3):273-286.
- [39] 张诚, 万鼎铭, 曹伟杰. 华蟾素对 Raji/ADR 细胞多药耐药的逆转作用及机制 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(5):1306-1310.
- [40] 马继恒, 华海清. 中药抗肿瘤血管生成研究进展 [J]. 肿瘤研究与临床, 2010, 22(2):141-144.
- [41] 刘浩, 林洪生, 花宝金, 等. 华蟾素调控 VEGF/VEGFR-2 信号传导抑制肿瘤血管生成的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(11):2489-2491.
- [42] 刘祥胜, 刘开俊, 杨业金. 华蟾素对 HeLa 细胞生长和小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2 的影响 [J]. 免疫学杂志, 2005, 21(b06):132-135.
- [43] 薛瑞, 张青松, 张玉洁, 等. 华蟾素对乳腺癌 MCF-7 移植瘤裸鼠的抗肿瘤作用及机制研究 [J]. 实用药物与临床, 2014, 17(7):815-817.
- [44] WANG J Y, CHEN L, ZHENG Z, et al. Cinobufocini inhibits NF- κ B and COX-2 activation induced by TNF- α in lung adenocarcinoma cells [J]. Oncol Rep, 2012, 27(5):1619-1624.
- [45] 王志超, 冯正平, 王宏. 华蟾素治疗中晚期肝癌的近期疗效观察 [J]. 现代医院, 2008, 8(6):56-57.
- [46] SUN T, ZHANG Y, SHEN Y, et al. A case of advanced lung cancer with malignant pericardial effusion treated by intrapericardial Cinobufacini injection instillation [J]. BST, 2014, 8(4):235-239.
- [47] 刘金鹏, 江静, 魏辉, 等. 华蟾素联合 XELOX 方案治疗晚期结肠癌的临床疗效观察 [J]. 西部医学, 2017, 29(11):1560-1563.
- [48] 李巍, 李海洲. 华蟾素联合卡培他滨治疗老年胃癌患者的临床疗效分析 [J]. 中国民康医学, 2016, 28(4):82-83.
- [49] 吴涛, 王晓芳. 华蟾素注射液联合 CHOP 方案治疗非霍奇金淋巴瘤临床研究 [J]. 医药论坛杂志, 2011, 32(01):89-90, 93.
- [50] 刘怀民, 郑玉玲, 刘晓莉, 等. 华蟾素联合化疗治疗中晚期食管癌 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):235-237.
- [51] QIN T J, ZHAO X H, YUN J, et al. Efficacy and safety of gemcitabine-oxaliplatin combined with huachansu in patients with advanced gallbladder carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(33):5210-5216.

[责任编辑 张丰丰]