

• 综述 •

中药复方抗 Lewis 肺癌药理作用研究进展

魏文静¹, 刘同祥^{1,2*}, 张冠庆¹, 刘世杰¹

1. 中央民族大学 中国少数民族传统医学研究院, 北京 100081

2. 中华人民共和国国家民族事务委员会-教育部共建重点实验室, 北京 100081

摘要:近年来, 中药复方在抗肿瘤方面发挥着日益重要的作用, 而肺癌作为最主要和最常见的肿瘤, 许多复方已在其治疗或辅助治疗过程中体现出了很大的应用价值。现对中药复方抗 Lewis 肺癌的研究现状做一综述, 以期为进一步研究和深入挖掘现有的以及尚未被开发利用的复方用药提供有益参考。

关键词: 中药复方; Lewis 肺癌; 研究进展

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)02-0138-004

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.015

Research progress in pharmacological effects of Chinese medicinal formula against Lewis lung cancer

WEI Wen-jing¹, LIU Tong-xiang^{1,2}, ZHANG Guan-qing¹, LIU Shi-jie¹

1. Institute of Chinese Minority Traditional Medicine Research, Minzu University of China, Beijing 100081, China

2. State Nationalities Affairs Commission and Department of Educational Key Laboratory of Minority Traditional Medicine, Beijing 100081, China

Abstract: In recent years, Chinese medicinal formula plays an increasingly important role in treating tumor. Lung cancer as the most main and the most common-known tumor, many formulas have been shown great application value in the treatment or assistant treatment of lung cancer. Now research status of Chinese medicinal formula against Lewis lung cancer is reviewed which could provide a useful reference for the further study and deep searching for potential formulas that have not yet been developed.

Key words: Chinese medicinal formula; Lewis lung cancer; research progress

《2012 中国肿瘤登记年报》显示肺癌仍居肿瘤发病及死亡的第一位, 无论男女死亡率最高者均为肺癌^[1]。面对如此严峻的形势, 如何寻找对症治疗的新药, 继续扩大抗肺癌药物的筛选范围也就成为一个亟待解决的问题。近年来, 中药及民族药复方制剂用于抗肺癌的研究方兴未艾, 随着新技术、新方法的广泛应用, 许多针对肺癌的相关研究已经达到了分子水平, 理论研究成果也取得很大突破。从目前发表的文献来看, 中药复方主要是通过增强机体免疫功能、调控细胞周期行为和信号转导通路、抗血管生成和癌细胞黏附、诱导肺癌细胞凋亡等作用机制发挥抗肺癌作用。此外, 中药复方还可以与

化疗药联用, 通过减轻化疗药的毒副作用从而改善患者的生存质量。

1 中药复方对 Lewis 肺癌的主要药理作用

1.1 抑制作用

肺癌属于中医的“肺积”、“息贲”、“肺癰”、“息积”等范畴, 是全身性疾病的局部表现, 是因虚而致病, 因虚而致实。中医理论认为肺癌的形成、发展多与气虚、血瘀、毒聚等症候有关^[2]。在此理论指导下, 中药复方针对不同类型的症候辨证施治、灵活用药, 在多年的临床实践中, 已经初步形成了扶正培本、活血化瘀、清热解毒、软坚散结、以毒攻毒等多种疗法, 对 Lewis 肺癌的生长均有良好的

收稿日期: 2013-01-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81073151)

作者简介: 魏文静 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为民族药新药研究与开发。Tel: 13811145179 E-mail: weiwenjing198706@126.com

*通信作者 刘同祥, 博士, 教授。Tel: (010)68933254-801 E-mail: liutongxiang@yahoo.com.cn

抑制作用。

1.2 与化疗药联用, 增效减毒

董银兰等^[3]通过药效学实验发现, 复方乌骨藤胶囊与环磷酰胺联合用药可以明显对抗治疗量环磷酰胺致荷瘤小鼠的体质量下降, 对小鼠 Lewis 肺癌具有明显的抑制作用, 并且可以使治疗量环磷酰胺所致骨髓有核细胞数、外周血白细胞数降低有明显的回升作用, 因此认为乌骨藤胶囊与环磷酰胺联合应用于肿瘤治疗可增效减毒。

2 中药复方抗 Lewis 肺癌的作用机制

2.1 增强机体免疫

肿瘤患者的生存质量除与药物的毒副作用有关外, 还与患者机体免疫能力的调节密切相关。目前的动物实验和临床观察都表明恶性肿瘤的发生、发展, 患者对治疗措施的疗效和患者的存活期都与机体的免疫状态有密切关系^[4]。目前普遍认为当宿主免疫功能低下或受抑制时, 肿瘤发生率增高。

中药复方抗 Lewis 肺癌大多来源于临床组方, 如补肾疏肝方为临床运用多年的经验方, 在五子衍宗丸合逍遥散的基础上加減而成, 由枸杞、车前子、覆盆子、菟丝子、制北五味子、淫羊藿、柴胡、瓜蒌、黄芪等组方。古兆森等^[5]对 Lewis 肺癌模型组小鼠 ig 给予 0.9% 生理盐水; 顺铂 (DDP, 0.2 g/L) 组 ip 给药 0.5 mL, 1 次/2 d, 共 3 次; 补肾疏肝方 (1.75 g/L) 组 ig 给药 0.4 mL; 中药联合 DDP 组则每天给予中药 0.4 mL、并 ip DDP 0.5 mL, 1 次/2 d, 共 3 次。在治疗过程中发现补肾疏肝方组小鼠精神状态好于模型组和 DDP 组, 且进食增多、体质量增加、毛色光润、活泼好动。酶联免疫吸附法检测结果显示, 相比于模型组, 补肾疏肝方组动物血清中白细胞介素-2 (IL-2) 水平显著升高、IL-10 水平降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 提示补肾疏肝方能提高小鼠免疫功能, 可能是通过调节反映免疫平衡状态的 Th1/Th2 相关细胞因子的表达水平而发挥抗肿瘤作用的。

柴胡龙牡汤为经方柴胡加龙骨牡蛎汤加減而成, 由柴胡、生龙骨、生牡蛎、黄芩、半夏、太子参、桔梗、炙甘草等 11 味中药组成。潘玉真等^[6]对 40 只造模成功的 C57BL/6J 小鼠分组给药, 模型组和正常对照组均隔天 ip 生理盐水 0.1 mL, 共 3 次; 化疗组隔天 ip DDP 4.8 mg/(kg·d), 共 3 次; 中药组予以柴胡龙牡汤 400 mg/d (0.4 mL/d, 含生药 0.4 g), 1 次/d, 连续 12 d; 综合组 DDP、柴胡龙牡

汤的给药剂量和方法分别同化疗组、中药组。12 d 后采用乳酸脱氢酶 (LDH) 释放实验、双抗体夹心 ELISA 法检测脾脏 NK 细胞活性和脾上清液中 γ -干扰素 (IFN- γ)、IL-10 的量, 并运用流式免疫荧光技术检测脾 T 淋巴细胞亚群。结果发现柴胡龙牡汤组 NK 细胞活性最高, IFN- γ 的量为 65.78 ± 17.68 , 高于化疗组, IL-10 水平低于模型组和化疗组, 且显著升高 CD4⁺ 细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值, 提示柴胡龙牡汤能改善机体的细胞免疫功能。

2.2 调控细胞周期行为和信号转导通路

肿瘤的发生是由于基因突变引起的, 其发生涉及原癌基因的激活、抑癌基因的表达降低; 而基因的表达发生在细胞周期, 因此肺癌也是细胞周期性疾病, 干扰肺癌基因在细胞周期中的表达成为抗肺癌治疗的一个重要思路^[7]。此外, 调控蛋白也可参与基因的表达、调控、激活、抑制基因的转录或翻译, 包括具有相关调节功能的基因和酶类。同时, 这些调控蛋白往往参与机体内细胞信号传导过程。换句话说, 细胞信号的转导有赖于各种关键调控因子的广泛参与, 调控蛋白在基因表达和分泌的过程中发挥着极其关键的作用。

肺岩宁方为龙华医院肿瘤科徐振晔教授的经验方, 主要由生黄芪、白术、蜂房、黄精、山茱萸、淫羊藿等组方。郑展等^[8]前期体内药效学实验证实肺岩宁具有干预细胞周期 G₁/S 检测点信号通路的作用, 为进一步探讨该方对 S 期核小体构象调控因子表达的影响, 采用流式细胞术检测细胞周期时相分布和增殖指数, 发现增殖指数明显低于模型组和 DDP 组 ($P < 0.01$), S 期分布比例最少; 采用实时聚合酶链反应法和蛋白质印迹法检测调控因子 H3-K56、Ty1 转座基因调节因子 109 (Rtt109)、细胞反沉默功能因子 1 (Asf1)、腺病毒 E2 启动子结合转录因子 1 (E2F1) mRNA 和蛋白的表达, 发现肺岩宁组 H3-K56、Rtt109、Asf1、E2F1、mRNA 和蛋白的表达较模型组显著下调 ($P < 0.01$), 提示肺岩宁方可能通过影响核小体构象调控因子的表达而干预异常细胞周期来发挥抗肺癌细胞增殖作用的。

肺积 1 号方为潍坊市中医院肿瘤科以中医“益气扶正、清热解毒”为原则研制的中药复方, 由黄芪、党参、浙贝母、枳壳、桔梗、苦杏仁、陈皮、清夏、白花蛇舌草、莪术、连翘、甘草等组成。庄静等^[9]给模型组小鼠 ig 生理盐水 0.4 mL/只, 1 次/d; 肺积 1 号方低、中、高剂量组分别 ig 含生药 1.0、

2.0、4.0 g/mL 的中药混悬液 0.4 mL, 1 次/d。连续用药 14 d, 停药 1 d 后接种第 21 天, 采用免疫组化法检测 Lewis 肺癌小鼠移植瘤 Cyclin D1 的表达, 发现肺积 1 号方中、高剂量组的表达水平均低于模型组 ($P<0.01$)。提示肺积 1 号方可以下调 Lewis 肺癌肿瘤组织细胞周期蛋白 Cyclin D1 的表达, 这可能是其抗肿瘤作用机制之一。

中药复方抗 Lewis 肺癌尚有少量来自传统经方, 如麦门冬汤合苇茎汤, 两者均出自《金匱要略·肺痿肺癰咳嗽上气病》, 合用可治疗肺部虚火咳嗽、痰瘀阻肺等疾患。熊飞等^[10]采用链菌素亲生物素-过氧化物酶法检测肿瘤组织中表皮生长因子受体 (EGFR)、分裂原活化抑制剂 MEK 激酶、Raf 激酶 3 种蛋白的表达, 发现与对照组相比, 麦门冬汤合苇茎汤组 EGFR 表达下降 ($P<0.01$), 而各组 MEK、Raf 表达无显著性差异, 提示麦门冬汤合苇茎汤抑制肿瘤生长的作用机制可能与其下调肿瘤组织中 EGFR 的表达, 进而影响其下游信号通路的传导有关。

2.3 抑制血管生成和癌细胞黏附

转移是肺癌的恶性标志和特征, 约 90% 的肺癌患者死于转移并发症^[11]。肺癌的转移是一个多因素参与、极其复杂的过程。通常情况下, 肺癌细胞在体内向邻近部位发生侵袭和远处转移主要靠细胞外基质和基底膜的降解、细胞黏附因子过表达以及微血管的新生等完成的。

肺金生方来源于《金匱要略》经典方泽漆汤, 由泽漆、石见穿、前胡、人参、桂枝、黄芪、半夏、红豆杉、蜂房、生姜组成。庞德湘等^[12]对接种 Lewis 肺癌细胞 24 h 后的小鼠分组给药, 即生理盐水组、肺金生方低、中、高剂量 (0.925、1.850、3.700 g/mL) 组 ig 生理盐水、不同剂量中药 0.2 mL, 1 次/d; 环磷酰胺 (CTX) 组按 20 mg/kg 剂量, 第 1~5 天 ip, 同时 ig 生理盐水 0.2 mL, 1 次/d。14 d 后通过免疫组化实验检测血管内皮生长因子-C (VEGF-C)、nonmetastasis23 (nm23) 的表达。发现肺金生方各剂量组均能降低 VEGF-C 的表达 ($P<0.01$ 、 $P<0.05$), 中、高剂量组均能提高 nm23 的表达 ($P<0.01$), 提示肺金生方抑制 Lewis 肺癌小鼠自发性肺转移与其降低 VEGF-C 表达和提高 nm23 的表达有关。

抗肺癌合剂为中医药治疗肺癌的特色复方。林洁^[13]对接种 Lewis 肺癌细胞的 C57BL/6 小鼠随机分组后给药, 抗肺癌合剂高、中、低剂量组 ig 相当于生药 120、60、30 g/kg 的抗肺癌合剂; 模型组每天

ig 生理盐水 0.04 mL/g; CTX 组每周 3 次 ip CTX 20 mg/(kg·d)。15 d 后处死小鼠, 剥取移植瘤块, 对免疫组化染色切片细胞浆表达的 VEGF 进行定量分析。与模型组比较, 抗肺癌合剂高、中剂量组的 VEGF 水平明显缩小, 且平均瘤质量与模型组有显著差异 ($P<0.01$), 说明抗肺癌合剂可能是通过降低 VEGF 表达抑制肿瘤血管生长, 从而抑制肿瘤转移。

固本抑瘤方是基于肿瘤转移理论, 结合现代药理研究总结出来的经验方, 由红豆杉、黄芪、山药、薏苡仁、党参等组成。山广志等^[14]采用 RT-PCR 技术测定瘤组织中 kiss-1 基因的表达水平, 用丹麦 DAKO 公司 EnVisionTM 二步法检测移植瘤中肿瘤细胞 nm23 的表达。发现固本抑瘤方中、高剂量组 (1.4、2.8 g/mL, 0.4 mL/只, ig 给药) 肿瘤细胞的 kiss-1、nm23 基因的表达水平显著升高, 说明该方对肺癌转移具有一定的抑制作用。此外, 周卫东等^[15]发现肺岩宁膏方尚具有提高 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的免疫功能, 对 Lewis 肺癌转移也有一定的抑制作用。

2.4 诱导肺癌细胞凋亡

益气养阴解毒方为临床经验方, 由黄芪、炒白术、茯苓、炙鸡内金、天花粉、太子参、炒白芍、白花蛇舌草、山慈菇、蜈蚣、鳖甲等组成。张梅等^[16]对接种 Lewis 肺癌细胞的 C57BL/6 小鼠 24 h 后分组给药, 益气养阴解毒方低、中、高剂量组 (0.5、1.0、2.0 g/mL, 相当于 60 kg 成人临床用量的 5、10、20 倍) 按 0.3 mL/只 ig 给药, 2 次/d, 26 d 后采用免疫组化法检测凋亡相关蛋白胱天蛋白酶-3 (caspase-3) 的表达, 原位末端转移酶标记技术 (TUNEL) 检测细胞凋亡指数。结果发现益气养阴解毒方低、中、高剂量组 caspase-3 表达阳性, 且与剂量成正相关 ($P<0.05$)。TUNEL 法检测显示益气养阴解毒方对移植瘤细胞的凋亡有促进作用, 与 DDP 联合凋亡促进作用增强。因此认为益气养阴解毒方对 Lewis 肺癌小鼠移植瘤具有生长抑制作用, 其作用机制可能与促进 caspase-3 表达, 诱导细胞凋亡相关。

调气消积汤由柴胡、黄芪、人参、半夏、炙甘草、生姜、大枣、天门冬、生牡蛎、莪术、白花蛇舌草等组成。梁靓靓等^[17]应用电镜技术检测调气消积汤对 Lewis 肺癌细胞凋亡的影响, 用 Western blotting 法检测 p53、Bcl-2 基因蛋白的表达, 电镜下可见细胞凋亡的特异性标志凋亡小体形成, 且与对照组相比, p53、Bcl-2 基因蛋白的表达降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 提示调

气消积汤能促进 Lewis 肺癌小鼠肿瘤细胞凋亡,下调凋亡相关基因突变型 p53、Bcl-2 的表达水平,可能是发挥抗肿瘤作用的分子机制之一。此外,调气消积汤还可抑制肿瘤血管形成达到抗肿瘤作用^[18]。

3 结语

中药复方治疗肺癌有一定优势,相比于化疗药具有毒副作用小的特点,还对机体自身的免疫功能起到重要的调节作用。中药复方从多环节、多靶点、多层面防治肺癌,且相关研究进展已由宏观形态学观察深入到微观细胞、分子、基因水平,这对进一步深入开展中药复方抗肺癌研究提供了科学依据,同时也为民族医药的研究与开发提供了方向:可以采用中医药的研究技术与方法积极地开发挖掘民族医药,促进中医药、民族医药事业的同步发展。

中药复方用药遵循中医学理论指导,讲究整体用药的规律性,但目前存在的主要问题是:1)中药复方化学成分复杂,多种有效成分同时起作用,导致药动学研究有碍于定量及血药浓度测定等标准的选择,从而影响药效成分的准确判定,不利于作用机制的深入研究;2)中药复方存在过多的干扰和不确定因素,导致众多实验结果的准确度缺乏可靠性;3)涉及作用机制的研究,大多集中在对基因的调控,反而对它们之间的内在联系和深层次的机制探讨不很透彻;4)研究方法多侧重于体外研究,缺乏更加有说服力的体内药效学研究,当然在体实验同时也是复方用药难以克服的一大难题,这将大大影响中医药现代化的进程。

笔者认为今后在发展中医药及民族医药事业的过程中,要着重解决一些比较关键的技术,重视多学科交叉运用和合作,广泛开展国内国外的学术交流和探讨,同时密切关注国外新技术的发展状态,在理论得到不断创新的同时,也使得技术和方法层面得到革新。目前,癌症的发病率和死亡率居高不下,面对如此险境,扩大药物筛选范围,及早找到攻克癌症的疗法的有效的药物势在必行。也有理由相信,随着现代药理学、免疫学和分子生物学技术的发展,中医药、民族医药用于抗肺癌的治疗必将取得更快的进展,将为促进人类的健康事业做出更大的贡献。

参考文献

- [1] 赫捷,陈万青,毛伟敏,等. 2012 中国肿瘤登记年报 [M]. 北京:军事医学科学出版社,2012: 5-9.
- [2] 汪宗发,谭祖春. 传统医学对肿瘤病因病理研究 [J].

中国医药指南,2004,2(12): 994-996.

- [3] 董银兰,赵岗,宋延平,等. 复方乌骨藤胶囊与环磷酰胺合用治疗 Lewis 肺癌研究增效减毒作用 [J]. 陕西医学杂志,2010,39(11): 1461-1462.
- [4] 陈意生,史景泉. 肿瘤分子细胞生物学 [M]. 北京:人民军医出版,2004: 198-221.
- [5] 古兆森,王淑玲,刘源. 补肾疏肝方对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠免疫及内分泌的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6): 188-191.
- [6] 潘玉真,殷东风,周立江,等. 柴胡龙牡汤对 Lewis 肺癌小鼠免疫功能的影响 [J]. 临床肿瘤学杂志,2011,16(3): 211-215.
- [7] 张彩虹,杜忠海,孙长岗. 中药复方制剂治疗肺癌细胞分子学实验研究进展 [J]. 实用中医内科杂志,2011,25(6): 26-31.
- [8] 郑展,王菊勇,王青,等. 肺岩宁对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠组织中核小体构象调控因子 H3-K56、Rtt109、Asf1 及 E2F1 表达的影响 [J]. 中西医结合学报,2012,10(4): 448-453.
- [9] 庄静,王明霞,韩娜娜,等. 肺积 1 号方影响小鼠肺癌移植瘤细胞周期蛋白 D1 表达的实验研究 [J]. 泰山医学院学报,2011,32(5): 348-350.
- [10] 熊飞,周宗剑,姜淼,等. 麦门冬汤合苇茎汤抑制小鼠 Lewis 肺癌生长的体内实验研究 [J]. 南京中医药大学学报,2011,27(2): 144-147.
- [11] Vicent S, Luis-Ravelo D, Anton I, et al. A novel lung cancer signature mediates metastatic bone colonization by a dual mechanism [J]. Cancer Res, 2008, 68(7): 2275-2285.
- [12] 庞德湘,周楠,边至慰. 肺金生方对 Lewis 肺癌小鼠 VEGF-C 及 nm23 表达的实验研究 [J]. 浙江中医杂志,2012,47(1): 18-19.
- [13] 林洁. 抗肺癌合剂对 Lewis 肺癌的抑制作用及 VEGF 表达的影响 [J]. 中外健康文摘,2012,9(8): 44-45.
- [14] 山广志,凌仕良. 固本抑瘤方对 Lewis 肺癌 kiss-1、nm23 基因表达的影响 [J]. 安徽中医学院学报,2011,30(6): 50-53.
- [15] 周卫东,吴继,王菊勇,等. 肺岩宁膏方对 Lewis 肺癌荷瘤鼠抗瘤作用及对免疫器官的影响 [J]. 医学综述,2011,17(11): 1746-1748.
- [16] 张梅,李平,靳福鹏,等. 益气养阴解毒方抑制 Lewis 肺癌小鼠移植瘤生长及诱导移植瘤细胞凋亡的实验研究 [J]. 北京中医药大学学报,2011,34(10): 679-682.
- [17] 梁靓靓,陈苏宁,张博,等. 调气消积汤影响 Lewis 肺癌细胞凋亡及 p53、Bcl-2 表达的实验研究 [J]. 现代肿瘤医学,2011,19(6): 1086-1089.
- [18] 梁靓靓,陈苏宁,蔡玉文. 调气消积汤对 Lewis 肺癌移植瘤血管生成影响的实验研究 [J]. 中国中医药科技,2011,18(4): 284-286.