

小檗碱抗妇科肿瘤作用机制的研究进展

孙莹¹, 张明发^{2*}, 沈雅琴²

1. 天津中医药大学第一附属医院 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

2. 上海美优制药有限公司, 上海 201204

摘要: 妇科肿瘤严重威胁女性的生命健康, 目前妇科肿瘤的治疗仍以手术和放疗为主, 并使用化疗药预防复发和转移。小檗碱为季铵生物碱, 具有广泛的生物活性。小檗碱能够抑制肿瘤细胞生长、增殖, 抑制肿瘤细胞迁移、侵袭, 诱导肿瘤细胞凋亡, 并增加化疗药敏感性。总结了小檗碱抗乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌等妇科肿瘤作用机制的研究进展, 以期将小檗碱开发为防治妇科肿瘤的新药提供参考。

关键词: 小檗碱; 抗肿瘤; 妇科肿瘤; 乳腺癌; 卵巢癌; 宫颈癌; 子宫内膜癌

中图分类号: R285.5; R977 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)08-2105-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.08.048

Research advance on mechanism of berberine against gynecology cancer

SUN Ying¹, ZHANG Ming-fa², SHEN Ya-qin²

1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300181, China

2. Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201204, China

Abstract: Gynecological tumors pose a serious threat to women's lives and health. At present, the treatment of gynecological tumors is still mainly surgery and radiotherapy, and chemotherapy drugs are used to prevent recurrence and metastasis. Berberine is a quaternary ammonium alkaloid with a wide range of pharmacological activities. Berberine can inhibit the growth and proliferation of tumor cells, inhibit the migration and invasion of tumor cell migration, induce apoptosis of tumor cells, and increase the sensitivity of chemotherapy drugs. This article summarized the research progress on mechanism of berberine against gynecological tumors, such as breast carcinoma, ovarian carcinoma, cervical carcinoma, endometrial carcinoma, etc., in order to provide reference for the development of berberine as a new drug for the prevention and treatment of gynecological tumors.

Key words: berberine; anticancer; gynecology cancer; breast carcinoma; ovarian carcinoma; cervical carcinoma; endometrial carcinoma

国际癌症研究机构报道全球 2020 年女性癌症新发病人数 922.7 万人, 其中乳腺癌 226.1 万人、宫颈癌 60.4 万人、子宫体癌 41.7 万人、卵巢癌 31.4 万人, 分别占据女性 10 大癌症发病率的第 1、4、6、8 位, 且全球女性癌症患者有 1/4 以上死于妇科肿瘤^[1]。2020 年中国女性癌症新发病人数为 209.3 万人, 其中乳腺癌 41.6 万人、宫颈癌 11.0 万人、子宫体癌 8.2 万人、卵巢癌 5.5 万人, 分别占第 1、6、9、10 位。可见妇科肿瘤严重威胁女性的生命健康。目前妇科肿瘤的治疗仍以手术和放疗为主, 并使用化疗药预防复发和转移。为了寻找更有效且不良反

应小的治疗药物, 越来越多的研究人员将视线转向中药。小檗碱在植物界中广泛分布, 最早是从小檗科植物小檗 *Berberis amurensis* Rupr. 中提取分离得到的季铵生物碱, 目前已能人工合成, 成本较植物中提取低。小檗碱具有广泛的生物活性, 如抗炎、抗菌、抗病毒、抗腹泻、抗高血压、抗缺氧、降血糖、调血脂等^[2], 同时作为非处方药, 小檗碱的不良反少。小檗碱能够抑制肿瘤细胞生长、增殖, 抑制肿瘤细胞迁移、侵袭, 诱导肿瘤细胞凋亡, 并增加化疗药敏感性。本文总结了小檗碱抗乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌等妇科肿瘤作用机制

收稿日期: 2023-05-28

作者简介: 孙莹, 主管护师, 研究方向为中药 I 期临床、生物等效性试验。E-mail: msasy@sina.com

*通信作者: 张明发 (1946—), 男, 研究员, 研究方向为中药药理。E-mail: 13816371915@139.com

的研究进展,以期将小檗碱开发为防治妇科肿瘤的新药提供参考。

1 抑制肿瘤细胞生长、增殖

小檗碱可以抑制人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞,卵巢癌 HO-8910、SKOV3 细胞,子宫内膜癌 Ishikawa、RL95-2 细胞以及宫颈癌 CaSki 细胞的生长或增殖,其机制包括调控肿瘤抑制因子、阻滞细胞周期、抑制色氨酸-2,3 双加氧酶(TDO)-Kyn-芳香烃受体(AhR)通路、下调磷酸化信号转导与转录因子3(STAT3)信号通路。

1.1 调控肿瘤抑制因子

曾智豪等^[3-4]报道皮下接种 MCF-7 细胞制作乳腺癌成功的裸鼠,连续 21 d ip 小檗碱 10、20、25 mg/kg,能剂量相关地降低荷瘤小鼠的 MCF-7 细胞移植瘤体积,促进癌细胞凋亡,使瘤组织结构破坏,出现坏死细胞,其作用机制是下调肿瘤组织中的 p53、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、表皮生长因子受体蛋白的过表达。动物离体实验发现小檗碱 5~40 mg/L 浓度和时间相关地抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖,小檗碱 40 mg/L 作用 72 h 的增殖抑制率达 60%,使 MCF-7 细胞周期滞留在 G₀/G₁ 期, S 期细胞数减少,也能浓度和时间相关地提高 MCF-7 细胞的半胱天冬酶活性和下调 B 细胞淋巴瘤/白血病基因 2(Bcl-2)的表达^[5]。也有报道小檗碱作用 72 h 抑制 MCF-7 细胞增殖的半数抑制浓度(IC₅₀)为 20 μmol/L^[6]或 20.6 μmol/L^[7], IC₅₀ 的小檗碱使 MCF-7 细胞减少 31%、细胞周期滞留在 G₁/G₂ 期^[6],并浓度相关地抑制乳腺癌细胞己糖激酶 II 活性及其蛋白表达、抑制癌细胞的糖酵解、提高氧化型辅酶 I/还原型辅酶 I 比值、降低葡萄糖消耗、ATP 和乳酸含量^[7]。孙育等^[8]报道小檗碱 12.5、25.0、50.0、100.0 μmol/L 浓度相关地抑制人卵巢癌 HO-8910 细胞活力,β-连环蛋白、细胞周期蛋白-D1 的基因和蛋白表达下调, p21 基因和蛋白表达上调。

可见,小檗碱通过调控肿瘤抑制因子半胱天冬酶、MMP、β-连环蛋白等活性, p53、Bcl-2 的表达,抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞和人卵巢癌 HO-8910 的活力,从而抑制妇科肿瘤。

1.2 阻滞细胞周期

曾智豪等^[3-4]报道皮下接种 MCF-7 细胞制作乳腺癌成功的裸鼠,连续 21 d ip 小檗碱 10、20、25 mg/kg,使瘤组织结构破坏,出现坏死细胞,剂量相关地使 MCF-7 细胞周期滞留在 G₀/G₁ 期,减少 S 期

和 G₂/M 期细胞数。小檗碱 10 μmol/L (IC₅₀) 作用 72 h 可使人三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞减少 12%,并使细胞周期滞留在 S 期^[7]。李军等^[9-10]报道小檗碱 5~80 mg/L 浓度和时间相关地抑制雌激素依赖性人子宫内膜癌 Ishikawa 细胞增殖,作用 48 h 的 IC₅₀ 为 40 mg/L,当浓度高于 80 mg/L 时,抑制增殖作用出现平台现象;作用 72 h 后使癌细胞全部固缩死亡;使细胞周期滞留在 G₀/G₁ 期, S 期和 G₂/M 期细胞数减少。王玉^[11]报道小檗碱 10~80 μmol/L 能浓度和时间相关地抑制雌激素依赖性人子宫内膜癌 RL95-2 细胞和非雌激素依赖性人 HEC-1A 细胞增殖,使细胞周期滞留在 G₁/G₀ 期, S 期和 G₂/M 期细胞数减少,线粒体膜电位下降,葡萄糖消耗量和乳酸生成增加。刘明珠^[12]报道小檗碱 5、10、15、20 μmol/L 作用 48 h 抑制人宫颈癌 CaSki 细胞和 Siha 细胞增殖的 IC₅₀ 分别为 21.86、16.84 μmol/L,小檗碱 5、20、40 mg/L 浓度和时间相关地抑制 CaSki 细胞和 Siha 细胞增殖,使细胞周期滞留在 G₂/M 期。

可见,小檗碱通过阻滞细胞周期,抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞、三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞、子宫内膜癌 RL95-2 细胞、宫颈癌 CaSki 细胞和 Siha 细胞的增殖。

1.3 抑制 TDO-Kyn-AhR 通路

卵巢癌 SKOV3 细胞是髓样分化因子-88 阳性卵巢癌细胞,属紫杉醇抵抗型(即 I 型)卵巢癌, A2780 细胞是髓样分化因子-88 阴性卵巢癌细胞,属紫杉醇敏感型(II 型)。赵云平^[13]报道小檗碱可浓度和时间相关地抑制 SKOV3 细胞和 A2780 细胞生长,作用 72 h 的 IC₅₀ 分别为 2.48、2.41 μmol/L;也能浓度和时间相关地抑制这 2 种卵巢癌细胞高表达 AhR 基因,并降低癌细胞上清色氨酸的消耗及其代谢物 Kyn 产量。而 Kyn 是 AhR 的配体,激活 AhR 后可导致癌细胞处于免疫抑制状态而逃避免疫。

吡啶胺-2,3 双加氧酶(IDO)和 TDO 都是色氨酸沿 Kyn 途径代谢的主要限速酶。SKOV3 细胞高表达 IDO、TDO 基因,而 A2780 细胞高表达 TDO 基因,不表达 IDO 基因。小檗碱对 TDO、IDO 基因表达均有抑制作用^[13-14]。孟囡园^[15]进一步研究发现 SKOV3 细胞和 A2780 细胞均高表达程序性死亡分子配体-1(PD-L1)基因不表达或极低表达程序性死亡分子-1(PD-1)基因,小檗碱 2.5 μmol/L 作用 6 h 对 A2780 细胞的 PD-L1 基因表达下调倍数达 790 倍,对 SKOV3 细胞的 PD-L1 基因表达倍数更高,

达 10 万倍以上, 认为小檗碱主要是通过抑制 *TDO* 基因表达减少卵巢癌细胞 *Kyn* 代谢物产生, 下调 *AhR* 的蛋白表达, 即通过抑制 *TDO-Kyn-AhR* 通路去除卵巢癌的免疫抑制状态, 因此小檗碱对 I 型和 II 型卵巢癌均有效。

1.4 下调 *STAT3* 信号通路

刘明珠^[12]报道小檗碱 5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 作用 48 h 抑制人宫颈癌 *CaSki* 细胞和 *Siha* 细胞增殖的 IC_{50} 分别为 21.86、16.84 $\mu\text{mol/L}$, 小檗碱 5、20、40 mg/L 浓度和时间相关地抑制 *CaSki* 细胞和 *Siha* 细胞增殖, 上调裂解的半胱天冬酶-3 表达, 下调细胞周期蛋白-B1、细胞周期蛋白依赖性激酶-1 和 *STAT3* 的表达, 因此小檗碱是通过抑制 *STAT3* 信号通路抑制癌细胞增殖; 17 $\mu\text{mol/L}$ 小檗碱能提高 *Siha* 细胞对 X 线放射敏感性, 放射增敏比为 1.55。

小檗碱除了调控半胱天冬酶-3、细胞周期蛋白-B1 等机制, 还下调 *STAT3* 表达, 抑制人宫颈癌 *CaSki*、*Siha* 细胞增殖, 且能提高 *Siha* 细胞对 X 线放射敏感性, 其在放疗、化疗方面都对抗肿瘤细胞有益。

2 抑制肿瘤细胞迁移、侵袭

小檗碱可抑制人乳腺癌 *MCF-7*、*MDA-MB-231* 细胞, 宫颈癌 *CaSki*、*HeLa*、*AN3CA* 细胞和 *HEC-1A*, 卵巢癌 *SKOV3* 细胞的迁移和侵袭, 其机制包括调控上皮间质转化 (EMT) 信号通路、*MMP-2* 通路、激活蛋白-1 (*AP-1*) 通路、组蛋白去乙酰化酶-4、鞘氨醇-1-磷酸/鞘氨醇-1-磷酸受体-1 通路。

2.1 调控 EMT 信号通路

高小炎^[16]报道小檗碱抑制正常氧环境下和缺氧环境下的 *MCF-7* 细胞增殖的 IC_{50} 分别为 10.26、26.53 $\mu\text{mol/L}$, *MCF-7* 细胞在缺氧环境时对小檗碱敏感性下降; 小檗碱可促进正常氧环境和缺氧环境时的 *MCF-7* 细胞的缺氧诱导因子-1 α 的基因表达, 但都下调缺氧诱导因子-1 α 的蛋白表达, 还能下调正常氧环境时的 *MCF-7* 细胞的上皮-钙黏蛋白和 β -连环蛋白的蛋白表达, 并抑制正常氧环境和缺氧环境时的 *MCF-7* 细胞迁移和侵袭, 认为小檗碱是通过促进缺氧诱导因子-1 α 蛋白的降解抑制 EMT 的信号通路发挥抑制乳腺癌生长和转移。

与 *MCF-7* 细胞相比, 人乳腺癌 *MDA-MB-231* 细胞对小檗碱更敏感: 作用 72 h 抑制增殖的 IC_{50} 分别为 20、10 $\mu\text{mol/L}$ ^[6] 和 20.6、15.2 $\mu\text{mol/L}$ ^[7], 作用 48 h 的 IC_{50} 分别为 106、85 $\mu\text{mol/L}$ ^[17]。高小炎^[16]报

道在正常氧环境下, 小檗碱作用 *MCF-7* 细胞和三阴性乳腺癌 *MDA-MB-231* 细胞 48 h 的 IC_{50} 分别为 10.26、5.33 $\mu\text{mol/L}$, 在缺氧环境下作用 48 h 的 IC_{50} 分别为 26.53、4.14 $\mu\text{mol/L}$; 抑制这两种乳腺癌细胞在正常氧环境和缺氧时的迁移和侵袭; 三阴性乳腺癌细胞在缺氧时对小檗碱更敏感, 原因是与正常氧环境时比较, 在抑制缺氧诱导因子-1 α 蛋白表达的同时并不促进缺氧诱导因子-1 α 的基因表达。提示小檗碱是通过促进缺氧诱导因子-1 α 蛋白的降解和上调上皮-钙黏蛋白和 β -连环蛋白的基因和蛋白表达, 抑制 EMT 的信号通路发挥抑制三阴性乳腺癌细胞生长和转移。

刘岚等^[18]报道给裸鼠腋下接种人三阴性乳腺癌 *MDA-MB-231* 细胞, 待肿瘤体积长到约 100 mm^3 后 ip 小檗碱 25 mg/kg , 连续 7 d, 3 次/d, 可显著减缓肿瘤生长, 肿瘤体积明显减小; 离体实验发现小檗碱 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关地抑制 *MDA-MN-231* 细胞增殖、迁移和侵袭, 上调上皮-钙黏蛋白和叉头状转录因子 (FOXO)-3a 的表达和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 的磷酸化, 下调蜗牛状蛋白、波形蛋白、神经-钙黏蛋白的表达, 认为小檗碱是通过激活 p38MAPK/FOXO3a 信号通路, 抑制 *MDA-MB-231* 细胞增殖和 EMT, 阻滞癌细胞迁移、侵袭和转移。

刘明珠^[12]报道小檗碱 5、20、40 mg/L 浓度和时间相关地降低人宫颈癌 *CaSki* 细胞的侵袭迁移能力。肖华等^[19]给裸鼠皮下接种 *CaSki* 细胞, 5 d 后连续 14 d 隔天 1 次 ip 小檗碱 10 mg/kg , 可显著抑制肿瘤体积和质量的增长, 并能上调肿瘤组织内的 miR-145-5p 表达; 离体实验发现小檗碱能够显著抑制 *CaSki* 细胞增殖、迁移、侵袭和集落形成能力, 促进谷氨酰胺消耗、减少 ATP 和 α -酮戊二酸生成, 并显著上调 miR-145-5p、上皮-钙黏蛋白, 下调神经-钙黏蛋白、波形蛋白、*MMP-9* 的表达, 提示小檗碱是通过上调 miR-145-5p 的表达, 消耗癌细胞内谷氨酰胺和 ATP 并阻滞 EMT, 抑制宫颈癌 *CaSki* 细胞增殖、迁移和侵袭。

可见, 小檗碱通过抑制 EMT 信号通路抑制人乳腺癌 *MCF-7* 细胞、乳腺癌 *MDA-MB-231* 细胞、宫颈癌 *CaSki* 细胞、人宫颈癌 *CaSki* 细胞的侵袭和迁移; 小檗碱是通过激活 p38MAPK/FOXO-3a 信号通路抑制 *MDA-MB-231* 细胞增殖和 EMT, 阻滞癌细胞迁移、侵袭和转移。

2.2 调控 MMP-2 通路

MMP-2 被认为是肿瘤侵袭中的关键蛋白水解酶, STAT3 可通过调节 MMP-2 的表达在肿瘤侵袭转移中发挥重要作用^[20]。来丽娜等^[21-22]报道小檗碱可引起 Bax 表达上调、Bcl-2 表达下调;使基质 MMP-2 阳性表达细胞数减少、基质金属蛋白酶组织抑制因子-2 阳性表达细胞数增多,降低 HeLa 细胞的黏附和迁移能力;也能浓度和时间相关地抑制人脐静脉内皮细胞的增殖和抑制 HeLa 细胞的血管内皮生长因子的表达,即小檗碱可能是上调 Bax 和基质金属蛋白酶组织抑制因子-2 的表达,下调 Bcl-2、MMP-2 和血管内皮生长因子的表达,抑制 HeLa 细胞黏附和转移,并诱导细胞凋亡。

2.3 上调 AP-1 表达、下调组蛋白去乙酰化酶-4 表达

王玉^[11]报道小檗碱 10~160 $\mu\text{mol/L}$ 浓度和时间相关地抑制低分化人宫颈癌 AN3CA 细胞和 HEC-1A 细胞增殖、集落形成、迁移、侵袭能力;小檗碱在过表达环氧化酶-2(COX-2)的 HEC-1A 细胞中抑制增殖、迁移、侵袭的能力被削弱,并认为小檗碱是通过诱导 AP-1 表达,促进 miR-101 表达而下调 COX-2 表达;整体动物实验发现给裸鼠皮下接种 HEC-1A 细胞移植成功后或静脉注射 HEC-1A 细胞制作肺转移成功后,连续 4 周 ig 小檗碱 50、100 mg/kg 均能抑制皮下移植瘤生长和显著减少肺转移结节数,说明小檗碱能够防治子宫内膜癌和防治癌转移。

赵文佳^[23]报道小檗碱浓度和时间相关地抑制人三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素-8 的分泌及其组蛋白去乙酰化酶-4 的表达,上调 p21,认为小檗碱抗乳腺癌细胞增殖的可能机制是:下调组蛋白去乙酰化酶-4 表达和上调 p21 的表达,抑制乳腺癌的发展和转移。姜玉婷等^[24]报道小檗碱 20、40 $\mu\text{mol/L}$ 作用 48 h 使宫颈癌 AN3CA 细胞穿过膜的平均细胞数由对照组的 139.7 个分别减少到 110.0、56.7 个,即小檗碱也能够浓度相关地降低宫颈癌 AN3CA 细胞在体外的侵袭能力。

小檗碱通过诱导 AP-1 表达,抑制宫颈癌 HEC-1A 细胞增殖,治疗子宫内膜癌和防治癌转移;下调组蛋白去乙酰化酶-4 的表达和上调 p21 的表达,抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的发展和转移。

2.4 下调鞘氨醇-1-磷酸/鞘氨醇-1-磷酸受体-1 通路

智多等^[25]认为小檗碱可通过抑制长链非编码

RNA 肺腺癌转移相关转录因子-1 的表达,诱导卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡,并降低其迁移和侵袭能力。金芙蓉等^[26]认为小檗碱是通过下调鞘氨醇-1-磷酸/鞘氨醇-1-磷酸受体-1 通路相关蛋白的表达抑制 SKOV3 细胞侵袭、迁移和血管形成。目前关于小檗碱调控鞘氨醇-1-磷酸/鞘氨醇-1-磷酸受体-1 通路的实验研究还比较少,以后可多设计该通路的动物研究,以进一步阐明作用机制和靶点。

3 诱导肿瘤细胞凋亡

鲁周南等^[27]报道小檗碱作用 24 h 能抑制癌细胞迁移和诱导凋亡,质量浓度在 12.5、25、50 mg/L 诱导子宫内膜癌 HEC-1A 细胞的凋亡率由对照组的 8.40% 分别提高到 24.07%、29.84%、69.13%,使癌细胞内出现空泡、结构破坏、裂解成碎片、贴壁细胞减少,并散在排列。

3.1 抑制磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt) /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 通路

温纯洁^[17]报道小檗碱 20~160 $\mu\text{mol/L}$ 浓度和时间相关地抑制 MCF-7 细胞增殖,使细胞周期滞留在 G₁ 期, S 期细胞数减少,并诱导凋亡,抑制细胞克隆形成。张创^[28]报道小檗碱作用 24 h 抑制 MCF-7 细胞增殖的 IC₅₀ 为 36.277 $\mu\text{mol/L}$;采用基因芯片技术测定小檗碱处理 MCF-7 细胞后的基因表达谱数据,发现小檗碱可能是热休克蛋白-90 抑制剂、组蛋白去乙酰化酶抑制剂或通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路促进肿瘤细胞凋亡。

钱洁等^[29]报道小檗碱 10~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度和时间相关地抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,抑制 24、48、72 h 细胞增殖的 IC₅₀ 分别为 52.15、49.28、44.63 $\mu\text{mol/L}$,使 MDA-MB-231 细胞呈现不规则形态、细胞皱缩、细胞质浓缩、细胞外出现碎片、细胞间距变大、贴壁能力下降;小檗碱 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 作用 24 h 后浓度相关地提高细胞总凋亡率,并诱导细胞自噬泡形成;上调癌细胞中自噬因子 beclin1 表达和自噬相关蛋白轻链 3II (LC3II) /轻链 3I (LC3I) 的表达量比,抑制 Akt、mTOR 的磷酸化,而自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤能对抗小檗碱的上述作用,提示小檗碱是通过抑制 Akt/mTOR 通路诱导癌细胞自噬和凋亡,产生抗肿瘤作用。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路在肿瘤发展中起着至关重要的作用,小檗碱通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路促进人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡;抑制 Akt/mTOR 通路,诱导三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细

胞凋亡。

3.2 调控相关蛋白和酶的表达

纪武等^[30]在离体实验发现小檗碱 5、20、40 mg/L 可降低 HeLa 细胞的侵袭迁移能力,并诱导癌细胞凋亡,40 mg/L 小檗碱作用 48 h 使 HeLa 细胞凋亡率达到 45.36%;使细胞体积变大、内有空泡样改变、漂浮细胞增多,活细胞数减少,能浓度相关地抑制 HeLa 细胞的 Bcl-2、MMP-9、NF- κ B p65 的蛋白表达,上调 Bax 蛋白表达。

刘明珠^[12]报道小檗碱 5、20、40 mg/L 可诱导宫颈癌 CaSki 细胞凋亡,40 mg/L 作用 48 h 使 CaSki 细胞凋亡率达到 42.47%,使细胞体积增大;内有空泡样改变、漂浮细胞增多、活细胞数减少。给裸鼠皮下接种 CaSki 细胞的次日开始连续 30 d 小檗碱 10、30、50 mg/kg,能剂量相关地降低荷瘤小鼠的肿瘤体积,也能剂量相关地降低肿瘤组织的 Bcl-2、MMP-9、NF- κ B p65 的蛋白表达,上调 Bax 的蛋白表达^[30]。

来丽娜等^[22]报道小檗碱 5、20、40 mg/L 可诱导 HeLa 细胞凋亡,作用 48 h 后可见凋亡的 DNA 降解形成的梯带,且浓度相关地诱导细胞凋亡,并引起 Bax 表达上调、Bcl-2 表达下调;使 MMP-2 阳性表达的细胞数减少、基质金属蛋白酶组织抑制因子-2 阳性表达细胞数增多,提示小檗碱可能是上调 Bax 和基质金属蛋白酶组织抑制因子-2 的表达,下调 Bcl-2、MMP-2 和血管内皮生长因子的表达,诱导细胞凋亡。

Raghav 等^[31]报道小檗碱抑制 HeLa 细胞增殖的 IC₅₀ 为 18 μ mol/L,此浓度小檗碱显著诱导 HeLa 细胞分裂间期和有丝分裂的微管发生解聚作用,使细胞周期滞留在 G₂/M 期,并阻止有丝分裂。小檗碱在低于 11 μ mol/L 就能抑制 HeLa 细胞迁移,也能与微管蛋白结合,改变微管蛋白二聚体的构象,一方面抑制微管蛋白装配成微管,另一方面还能使微管解聚,这可能是小檗碱抑制 HeLa 细胞有丝分裂、诱导凋亡的分子机制。

因此认为小檗碱通过下调 Bcl-2、MMP-9、NF- κ B p65 蛋白的表达、上调 Bax 蛋白的表达,诱导宫颈癌 HeLa、CaSki 细胞的凋亡,这个作用通路值得深入研究,对开发抗宫颈癌新药有现实意义。

3.3 提高机体免疫功能

马雯钰^[32]报道小檗碱 50、100、150 μ mol/L 浓度和时间相关地抑制小鼠三阴性乳腺癌 4T1 细胞生

长和集落形成,并诱导凋亡。给小鼠乳房垫接种 4T1 细胞后连续 20 d 小檗碱 45、75、145 mg/kg,剂量相关地抑制 4T1 细胞肿瘤体积和质量增长,其中 145 mg/kg 组的肿瘤体积平均为 1 719 mm³,明显低于对照组的 2 102 mm³,引起肿瘤组织结构改变、出血、炎性细胞浸润;下调肿瘤组织中 Bcl-2、X 连锁凋亡抑制蛋白 (XIAP) 的蛋白表达和上调 Bax、细胞色素 C、半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-8、半胱天冬酶-9、Bid、Fas、Fas 相关死亡结构域蛋白 (FADD) 的蛋白表达;使荷瘤小鼠血清免疫细胞标志物 CD8、免疫抑制分子 PD-L1 和调节性 T 细胞的标志性分子叉头状转录因子-P3 (FOXP3)、炎性细胞因子白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的基因表达上调,抗炎细胞因子白细胞介素-10 和上皮生长因子受体基因表达下调;使肿瘤组织和脾脏中自然杀伤细胞增多;使肿瘤组织中乙酸浓度升高、荷瘤小鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸短链脂肪酸浓度增高,这与小檗碱增加有益肠道微生物菌群丰度和多样性相一致。说明小檗碱通过提高机体的免疫机制来抑制肿瘤的生长,但是目前类似的实验研究还比较少,以后可以多开展其提高免疫作用的药理实验研究。

3.4 阻滞 Toll 样受体-4 (TLR4)/核因子- κ B (NF- κ B) 通路

洪丹丹等^[33]报道小檗碱可抑制 HeLa 细胞和沉默 TLR4 表达的 HeLa 细胞这 2 种癌细胞迁移和促进细胞凋亡,也能下调 NF- κ B p65、Bcl-2 和 TLR4 的基因和蛋白表达,而使 TLR4 表达沉默可进一步增强小檗碱的上述作用,提示小檗碱是通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路的机制诱导癌细胞凋亡的。但目前有关小檗碱调控 TLR4/NF- κ B 信号通路的抗妇科肿瘤的实验研究比较少。

3.5 激活线粒体/半胱天冬酶通路

低质量浓度小檗碱 (50 mg/L) 或顺铂 (5 μ mol/L) 均不显著引起 HeLa 细胞凋亡、线粒体膜电位下降、细胞色素 C 释放,胞内脂质过氧化物形成、活性氧产生,如果上述浓度的两药联用,上述作用均被显著增强,并使半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-9 活性显著增强。而半胱天冬酶抑制剂 z-DEVD-FMK 能对抗两药联用引起的细胞凋亡,提示两药联用主要是激活线粒体/半胱天冬酶通路,诱导 HeLa 细胞凋亡,产生对癌细胞的毒性作用^[28]。小檗碱联用顺铂调控线粒体/半胱天冬酶通路诱导宫颈癌

HeLa 细胞凋亡, 对于提高化疗疗效有临床应用价值, 但是目前的证据还比较少, 应继续深入研究。

3.6 抗氧化应激

宋霞^[34]报道小檗碱抑制 MCF-7 细胞增殖的 IC₅₀ 为 93.69 mg/L, 并诱导凋亡, 促进半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-9、p53、鼠双微基因-2 (mdm2)、Bax、Bak、mTOR、4E 结合蛋白 (4ebp) 的基因表达, 抑制 Bcl-2、S6k、Akt 基因表达, 提示小檗碱是通过促进细胞活性氧生成引起的氧化应激, 降低线粒体膜电位诱导癌细胞凋亡。可见小檗碱抗人乳腺癌 MCF-7 细胞是通过多个通路、多种机制起作用的, 如通过抗氧化应激、调控肿瘤抑制因子与 EMT 信号通路、阻滞细胞周期、抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路, 进而促进 MCF-7 细胞凋亡。

4 增加化疗药敏感性

4.1 减少乳腺癌细胞内的雌激素

MCF-7 细胞属于雌激素受体阳性乳腺癌细胞。小檗碱浓度和时间相关地诱导雌激素代谢酶细胞色素 P4501A1 (CYP1A1) 的基因和蛋白表达, 提示小檗碱可促进雌激素的分解代谢, 也是小檗碱抗乳腺癌的作用机制之一。小檗碱 20~160 μmol/L 浓度和时间相关地抑制 MCF-7 细胞和他莫昔芬耐药的 MCF-7 细胞株 (MCF-7/TAM) 的细胞增殖。小檗碱与雌激素受体拮抗剂他莫昔芬联用抗 MCF-7 细胞和 MCF-7/TAM 细胞作用 (抑制增殖, 诱导凋亡和 p21、Bax 的蛋白表达, 下调 Bcl-2 蛋白表达) 进一步增强, 即小檗碱可通过减少乳腺癌细胞内雌激素含量提高乳腺癌细胞对他莫昔芬的敏感性^[17]。

4.2 抑制组蛋白去乙酰化酶-2 (SIRT2) 表达

李翀瑶^[35]报道小檗碱或阿霉素均能浓度相关地抑制 MDA-MB-231 细胞增殖, 作用 24 h 的 IC₅₀ 分别为 78.87 μmol/L 和 1.12 mg/L, 二者联用时的 CI 均小于 1, 产生抑制协同作用, 最佳联用方案为小檗碱 60 μmol/L + 阿霉素 0.5 mg/L; 阿霉素 1 mg/L、小檗碱 80 μmol/L 和最佳联用方案作用 24 h, 均能使 MDA-MB-231 细胞的迁移能力显著下降, 说明小檗碱本身对三阴性乳腺癌细胞的增殖和迁移均有抑制作用, 与阿霉素联用可产生协同作用, 提示小檗碱是通过抑制 SIRT2 表达和上调乙酰化转移酶 P300 和乙酰化组蛋白 H3K56 的表达产生抗癌作用。

4.3 下调 RAD51 表达

人卵巢癌属免疫抑制型肿瘤, 可逃避免疫系统

监控, 因此易复发和转移, 是妇科肿瘤死亡率最高的肿瘤。徐光伟^[36]报道小檗碱使卵巢癌 HEY 细胞和 SKOV3 细胞周期滞留在 G₁ 期, 并诱导凋亡, 下调细胞周期蛋白-E、Bcl-2 的蛋白表达, 上调 p21 和 Bax 的蛋白表达; 小檗碱 10 μmol/L 能显著下调 HEY 细胞内同源重组修复关键蛋白 RAD51 的表达; 小檗碱 10 μmol/L 联用顺铂 1 μmol/L 可对抗顺铂诱导 RAD51 表达上调, 增强顺铂上调 HEY 细胞和 SKOV3 细胞的 Bax 表达、下调 Bcl-2 表达和诱导凋亡的作用, 提示小檗碱可通过下调 RAD51 表达抑制癌细胞的修复, 增强癌细胞对化疗药的敏感性。

4.4 下调 miR-21 的表达

Lin 等^[37]报道小檗碱浓度和时间相关地抑制卵巢癌 OVCAR3 细胞和 3 例患者原发卵巢癌细胞增殖, 使细胞周期滞留在 G₀/G₁ 期, 电镜可见小檗碱或顺铂都能使大多数癌细胞出现典型的凋亡和坏死细胞的死亡形态, 抑制增殖细胞核抗原 (PCNA) 和 Ki67 的表达, 促进与凋亡相关的半胱天冬酶通路、激活与坏死相关的 RIPK3-MLKL 通路, 提示小檗碱联用顺铂抑制卵巢癌细胞增殖、诱导细胞凋亡和坏死的作用进一步增强。

王婉等^[38]报道小檗碱联用顺铂可提高 SKOV3 细胞对顺铂的敏感性, 认为小檗碱是通过诱导错配修复基因 (hMLH1) 启动子区 CpG 岛的去甲基化和增强 hMLH1 的基因表达, 提高 hMLH1 的功能, 诱导癌细胞凋亡; 还可通过上调卵巢癌的抑癌基因程序性细胞死亡因子-4 (PDCD4) 和下调 miR-21 的表达, 提高癌细胞对顺铂的敏感性。

4.5 抑制乙醛脱氢酶-1 活性

宋涛涛等^[39]报道小檗碱 0.2、0.4、0.8、1.6 μmol/L 浓度相关地抑制紫杉醇耐药卵巢癌 SKOV4/DR 细胞的药物转运蛋白 P-糖蛋白和乙醛脱氢酶-1 的表达; 小檗碱 0.8 μmol/L 显著抑制 SKOV3/DR 细胞增殖、迁移、侵袭, 并诱导凋亡, 使耐药癌细胞裂解的半胱天冬酶、BAD、Bax 的表达显著上调, Bcl-2、C-myc 和侵袭相关蛋白蜗牛状蛋白、波形蛋白、神经-钙黏蛋白、MMP-3、MMP-9 的表达显著下调; 小檗碱联用紫杉醇的上述作用进一步增强, 提示小檗碱可通过抑制乙醛脱氢酶-1 活性下调了卵巢癌细胞的 P-糖蛋白表达, 从而逆转对紫杉醇的耐药性。

5 结语

小檗碱能防治乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231、

4T1 细胞, 宫颈癌 HeLa、CaSki 细胞和子宫内膜癌 HEC-1A 细胞移植瘤在小鼠体内生长和肺转移。离体实验表明小檗碱能浓度相关地抑制乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231、4T1 细胞, 卵巢癌 SKOV3、HEY、A2780、HO-8910 细胞, 宫颈癌 HeLa、CaSki、Siha 细胞, 子宫内膜癌 HEC-1A、RL95-2、AN3CA、Ishikawa 细胞的增殖, 迁移、侵袭, 并诱导癌细胞凋亡。小檗碱也能提高妇科肿瘤细胞对化疗和放疗的敏感性。Zhang 等^[40]报道小檗碱和阿霉素抑制 MDA-MB-231 细胞和 4T1 细胞增殖的 IC_{50} 分别为 52.72、0.329 mg/L 和 0.821、0.040 mg/L; 小檗碱联用阿霉素因浓度比不同可产生协同、相加和拮抗作用, 只有当浓度比为 7.8 : 1、15.6 : 1 时, 可产生强大协同作用, 因此在临床上使用时选择最佳剂量比很重要。

小檗碱抗妇科肿瘤的药理机制是多方面的, 涉及到上调 miR-145-5p 表达, 激活 AP-1/miR-101 通路、MAPK/FOXO 通路, 促进活性氧生成诱导氧化应激性线粒体损伤、缺氧诱导因子的降解, 抑制去乙酰化酶表达、表皮生长因子及其受体的表达、PI3K/Akt/mTOR 通路、TLR4/NF- κ B 通路、STAT 通路、鞘氨醇-1-磷酸/鞘氨醇-1-磷酸受体通路、TDO/Kyn/AhR 通路, 下调修复基因 RAD5 表达和上调错配修复基因 hMLH1 表达等作用机制, 因此具有比较广谱抗妇科肿瘤作用, 建议应针对具体的作用靶点进行更深入的药理研究, 如防治卵巢癌和三阴性乳腺癌的复发、转移等。

小檗碱抗妇科肿瘤细胞的基础研究已经进行了比较多的实验研究, 临床上也有人将其应用于防治妇科肿瘤, Qin 等^[41]报道 60 例宫颈癌患者术后均进行每周 1 次化疗和盆骨放疗, 加服小檗碱 300 mg, 3 次/d, 能显著预防急性放射性直肠炎发生, 提高生活质量评分, 使放疗完成时间显著缩短, 说明小檗碱能预防宫颈癌患者放化疗时的急性直肠炎发生, 提高放化疗时的生活质量。但这样的临床研究比较少, 多为短期治疗, 以后可以更多地开展设计严谨的多中心临床研究。肿瘤属于慢性疾病、需要长期用药治疗, 而小檗碱是不良反应较低的 OTC 药物, 临床研究可考察小檗碱能否提高肿瘤患者 5 年生存率, 从基础和临床两个方面加速新药研发进程, 使更多的妇科肿瘤患者受益。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 年全球癌症统计报告解读 [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-14.
- [2] 陈美琳, 李芝奇, 范琦琦, 等. 小檗碱药理作用及其相关作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5861-5872.
- [3] 曾智豪, 陈小伍, 朱达坚, 等. 盐酸小檗碱对 MCF-7 乳腺癌小鼠体内抑制肿瘤生长的实验研究 [J]. 河北医学, 2016, 22(6): 988-990.
- [4] 曾智豪. 盐酸小檗碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞乳鼠移植瘤的作用研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [5] 冉广宇, 杨彦彪. 盐酸小檗碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 临床荟萃, 2013, 28(6): 683-685.
- [6] 王丽. 小檗碱对乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDA-MB-231 生长的抑制作用 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2): 115-116.
- [7] 任辉, 章联, 林晓燕. 小檗碱调节己糖激酶 II 抑制乳腺癌细胞糖酵解的作用研究 [J]. 中国药师, 2017, 20(11): 1945-1949.
- [8] 孙育, 刘朝阳, 刘英洁. 小檗碱抑制人卵巢癌细胞 HO-8910 体外增殖机制研究 [J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(8): 925-928.
- [9] 李军, 薛晓鸥, 刘小丽. 小檗碱抑制人子宫内膜癌细胞增殖及转移机制的研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(8): 32-34.
- [10] 李军, 薛晓鸥, 刘小丽, 等. 小檗碱对与肿瘤相关巨噬细胞共培养的人子宫内膜癌 Ishikawa 细胞株的作用 [J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(7): 448-452.
- [11] 王玉. 小檗碱抑制子宫内膜癌细胞增殖的作用与机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [12] 刘明珠. 小檗碱对宫颈癌细胞抑制作用及放射增敏性研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [13] 赵云平. 小檗碱对人卵巢癌细胞 IDO、AhR mRNA 表达及 IDO 活性影响的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [14] 玛丽莎. 小檗碱对人卵巢癌细胞 SKOV3、A2780 TDO、AhR mRNA 表达影响的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [15] 孟囿园. 小檗碱对人卵巢癌细胞 PD-L1 和 PD-1 mRNA 的表达的作用 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [16] 高小炎. 小檗碱调控肿瘤乏氧微环境抑制乳腺癌生长和转移机制研究 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2022.
- [17] 温纯洁. 盐酸小檗碱对乳腺癌细胞的生长抑制作用及其机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- [18] 刘岚, 耿真, 许颖, 等. 小檗碱激活 p38MAPK/FOXO3a 信号通路抑制三阴性乳腺癌增殖、侵袭和 EMT [J]. 解剖科学进展, 2021, 27(1): 18-21.

- [19] 肖华, 梁永钢, 张春艳, 等. 小檗碱通过上调 miR-145-5p 抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭、迁移和谷氨酰胺代谢 [J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(22): 4058-4063.
- [20] Xie T X, Wei D, Liu M, *et al.* Stat3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis [J]. *Oncogene*, 2004, 23(20): 3550-3560.
- [21] 来丽娜, 赵娜, 范毅敏. 小檗碱对 HeLa 细胞黏附和移动作用的体外实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(1): 13-14.
- [22] 来丽娜, 赵娜, 郭春花, 等. 小檗碱对 HeLa 细胞凋亡及其凋亡相关蛋白表达的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 244-247.
- [23] 赵文佳. 小檗碱药理作用对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的影响 [J]. 社区医学杂志, 2016, 14(17): 21-23.
- [24] 姜玉婷, 孙雯雯, 李佳, 等. 小檗碱对低分化子宫内膜癌细胞 AN3CA 的抑制作用研究 [J]. 中国医药科学, 2022, 12(23): 23-26.
- [25] 智多, 刘爽, 钟璐. 小檗碱通过调控长链非编码 RNA 肺腺癌转移相关转录因子 1 抑制卵巢癌的发生、发展 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2022, 56(5): 468-473.
- [26] 金芙蓉, 潘一红, 瞿向东. 小檗碱对卵巢癌 SKOV3 细胞 SIP/SIPR1 通路调控作用及血管生成的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(4): 712-716.
- [27] 鲁周南, 包晓霞, 薛晓鸥, 等. 小檗碱体外抗子宫内膜癌 HEC-1A 细胞的作用研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(12): 1018-1024.
- [28] 张创. 小檗碱抗肿瘤活性筛选及作用机制研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [29] 钱洁, 谭佳妮, 程海波, 等. 小檗碱对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖抑制作用及其分子机制研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 422-427.
- [30] 纪武, 朱根海, 贺国丽, 等. 小檗碱对人宫颈癌细胞生物学行为及裸鼠成瘤的影响 [J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(9): 657-661.
- [31] Raghav D, Ashraf S M, Mohan L, *et al.* Berberine induces toxicity in HeLa cells through perturbation of microtubule polymerization by binding to tubulin at a unique site [J]. *Biochemistry*, 2017, 56(20): 2594-2611.
- [32] 马雯钰. 小檗碱与运动通过 SCFAs 和免疫调节通路抑制乳腺癌生长机制研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [33] 洪丹丹, 任青玲, 徐传花, 等. 小檗碱调控 TLR4/NF- κ B 信号通路抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖研究 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35(5): 692-697.
- [34] 宋霞. 小檗碱联合多柔比星抗肿瘤作用的机制研究 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [35] 李翀瑶. 小檗碱联合阿霉素对三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移的影响 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2021.
- [36] 徐光伟. 小檗碱对人卵巢癌细胞的生长抑制作用及其机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [37] Lin L, Fan J Y, Ai G H, *et al.* Berberine in combination with cisplatin induces necroptosis and apoptosis in ovarian cancer cells [J]. *Biol Res*, 2019, 52(1): 1-14.
- [38] 王婉, 张帆, 袁慧, 等. 小檗碱对人卵巢癌细胞 SKOV3 增殖及凋亡机制的研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(10): 1498-1501.
- [39] 宋涛涛, 李梦一, 袁冰凡, 等. 小檗碱通过抑制 ALDH1 活性降低卵巢癌细胞药物转运蛋白的表达逆转紫杉醇耐药 [J]. 中国药师, 2022, 25(7): 1144-1150.
- [40] Zhang R S, Zhang Y X, Zhang Y, *et al.* Rationmetric delivery of doxorubicin and berberine by liposome enables superior therapeutic index than doxil [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2020, 15: 385-389.
- [41] Qin K, Chang Y, Yuan X L, *et al.* Efficacy and safety of berberine in the prophylactic treatment of acute radiation proctitis in postoperative patients with cervical cancer: a randomized controlled study [J]. *Oncol Transl Med*, 2021, 7(1): 1-6.

[责任编辑 解学星]