

山慈菇抗乳腺癌的作用机制研究进展

刘 颖, 张子英, 马丽杰*

内蒙古医科大学基础医学院 药理学教研室, 内蒙古 呼和浩特 010110

摘 要: 在中国乳腺癌已经成为上升幅度最快的恶性肿瘤, 占女性死亡率的首位。目前化学药治疗乳腺癌存在不良反应大、耐药、容易侵袭及转移等缺点。山慈菇作为传统的中蒙医常用抗癌药, 不仅能抑制肿瘤细胞的生长增殖、诱导凋亡、干扰侵袭及迁移, 还能抗血管生成, 目前已经广泛应用于临床。将近些年来山慈菇抗乳腺癌的作用机制进行综述, 为山慈菇进一步应用于临床提供参考。

关键词: 山慈菇; 乳腺癌; 研究进展

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2019)03-0863-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.03.062

Research progress on anti-breast cancer mechanism of *Iphigenia indica*

LIU Ying, ZHANG Zi-ying, MA Li-jie

Department of Pharmacology, Basic Medical College, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Abstract: Breast cancer has become the fastest growing malignancy in China, accounting for the highest mortality rate among women. At present, western medicine in the treatment of breast cancer has many disadvantages such as high side effects, drug resistance, easy invasion, and metastasis. As a commonly used anticancer drug in traditional Chinese and Mongolian medicine, *Iphigenia indica* Kunth can not only inhibit the growth and proliferation of cancer cells, induce apoptosis, interfere with invasion and migration, but also resist angiogenesis, which have been used in clinical practice. In this paper, recent studies on anti-breast cancer mechanism of *Iphigenia indica* are summarized, which can provide reference for further clinical application of *Iphigenia indica*.

Key words: *Iphigenia indica* Kunth; breast cancer; research progress

乳腺癌作为女性最常见的恶性肿瘤, 在中国已经成为上升幅度最快的恶性肿瘤, 占女性死亡率的首位^[1]。在临床中, 主要以手术治疗为主, 术后采用化疗、放疗、内分泌及靶点等治疗方式。但西药在治疗乳腺癌时存在不良反应大、耐药、侵袭及转移等缺点, 在杀伤乳腺癌细胞的同时也会损害正常细胞, 导致机体免疫功能下降。现代中药研究发现中药不仅能影响肿瘤细胞的生长增殖、凋亡、侵袭及迁移, 还能缓解乳腺癌患者术后的不良反应, 抑制肿瘤的复发及转移, 更好的改善患者的生活水平和生存率^[2]。中医认为乳腺癌的发病原因主要是气

滞血瘀、痰浊凝滞、肝脾郁结、阴寒内盛、冲任失调。蒙医对于乳腺类疾病发病原因的看法与中医殊途同归, 认为乳腺增生在治疗中应遵循清七素、化瘀、止痛等原则^[3]。总的来说, 热毒内淤、邪毒留滞是乳腺癌发病的主要因素^[4], 同时寻找能治疗上述病症的中药成为了重中之重。山慈菇 *Iphigenia indica* Kunth 为常用抗癌药, 始载于《本草拾遗》^[5]。山慈菇的药性甘、微辛、凉, 具有清热解毒、消痈散结的功效, 主要用于痈肿疔毒和淋巴结核, 目前现代临床广泛应用于肿瘤^[6], 在 1 374 诊次恶性肿瘤病案中共用 453 味药物, 使用频率超过 170 次的

收稿日期: 2019-01-01

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究资助项目 (NJZZ18100); 内蒙古医科大学科技百万工程资助项目 (YKD2017KJBW007)

作者简介: 刘 颖 (1993—), 女, 在读硕士研究生。E-mail: 1028824715@qq.com

*通信作者 马丽杰 (1974—), 女, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事中蒙药药理学研究。E-mail: nmmalj@hotmail.com

药物有 48 种,其中使用频率最高的为山慈菇,1 062 次,占 77.29%^[7]。相关研究表明山慈菇对乳腺癌^[8]、肝癌^[9]、甲状腺癌^[10]、肠癌^[11]、肺癌^[12]等均有作用。在乳腺癌方面,收集的 455 张乳腺癌患者的处方中,山慈菇的使用次数排第 4 位,使用频次高达 284 次^[13]。山慈菇通过影响细胞的增殖与凋亡、干扰侵袭及迁移、抑制新血管生成来发挥抗乳腺癌作用。因此,本文将近些年来山慈菇抗乳腺癌作用机制的研究状况进行综述。

1 影响乳腺癌细胞的增殖与凋亡

在细胞的周期中,乳腺癌细胞的生长与增殖是导致乳腺癌恶化的主要原因,同时诱导乳腺癌细胞凋亡是有效的治疗方式。刘银花等^[14]将山慈菇水提液分为 5 个浓度(1.50、1.25、1.0、0.75、0.50 g/mL)进行实验,加入细胞悬液中处理 24 h 后,发现不同浓度的山慈菇提取物对小鼠乳腺癌 4T1 细胞增殖均有明显抑制作用。同时刘银花等^[14]运用流式细胞术发现山慈菇水提液对乳腺癌 4T1 细胞具有明显促凋亡作用,并且随着药液浓度升高,促进凋亡的程度越明显。牛晓雨等^[15]将实验组分别加入不同浓度(100、200、400、800 mg/mL)的山慈菇水煎剂,置于培养箱 48 h,除 100 mg/mL 组外,其他组别均对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞产生不同程度的抑制作用。进一步对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞进行了实验前后的形态观察,通过显微镜观察山慈菇水煎剂处理 48 h 的乳腺癌细胞,发现细胞核形态随浓度增加发生了变化,出现核形态改变、染色质凝集等一系列细胞在凋亡前期的状态^[15]。郭淳等^[16]将山慈菇水煎剂分为 6 个组(50、100、200、400、600、800 g/L)处理 48 h 后,3 个高剂量组的山慈菇水煎剂对乳腺癌 T-47D 细胞产生了不同程度的生长增殖抑制作用。郭淳等^[16]在进行实验中,发现 50、100、200 g/L 组乳腺癌细胞形态一直完好,细胞死亡数目较少。而 400、600、800 g/L 组的细胞形态发生了不同程度的细胞脱落,这种脱落随着山慈菇水煎剂浓度的升高,细胞死亡越多。考虑山慈菇在对乳腺癌细胞产生增殖抑制的同时,过量的山慈菇也会损伤细胞,具有一定的细胞毒性,这种毒性是随着剂量增大而产生的。考虑在临床等应用过程中,应该通过前期实验调整好适当的剂量来避免这种情况。同时上述提及的乳腺癌细胞,其中 4T1 属于高侵袭性的鼠源乳腺癌细胞,MDA-MB-231 细胞系是雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人类表皮生长因

子-2(HER2)均表现为阴性的三阴性乳腺癌细胞,而 T-47D 是分离于乳腺上皮型腺癌细胞,其属于 ER 阳性的 Luminal 型乳腺癌细胞。上述研究提示山慈菇对于 Luminal 型乳腺癌细胞、高转移的三阴性乳腺癌以及高侵袭性的鼠源乳腺癌均有一定的作用,考虑山慈菇对于上述乳腺癌细胞所对应的乳腺癌临床病理分型也具有相同的作用。

对于山慈菇影响乳腺癌细胞增殖与凋亡的机制,相关文献也有提及。秋水仙碱能够阻滞细胞周期,将秋水仙碱作用于细胞可以改变细胞微管的状态,同时改变细胞的发育进程、阻断染色体的分裂以及阻碍细胞器的正常运动,使微管解聚或停止组装^[17]。考虑山慈菇影响增殖与凋亡是否与它的秋水仙碱成分影响了微管有关,这一机制有待于进一步研究。也有研究发现山慈菇水煎剂作用 48 h 后可以使乳腺癌细胞周期各个时相的细胞所占百分数改变,G₁ 期细胞比例降低,G₂ 期细胞比例提高^[15]。提示山慈菇对乳腺癌细胞影响乳腺癌细胞增殖与凋亡作用是通过阻滞 G₂ 期细胞而实现的。在很早之前,抑癌基因 p53 已经被证明参与了调控细胞周期的进程、修复损伤的 DNA、维持基因组的稳定性等活动^[18]。同时 DNA 损伤可以激活抑癌基因 p53,上调 p21Cip1/Waf1 蛋白转录水平,使 CDKs 活性受到抑制,从而诱导细胞阻滞 G₁ 和 G₂ 期^[19]。从而考虑山慈菇影响乳腺癌细胞增殖与凋亡是否通过激活 p53 通路而导致细胞周期 G₂ 阻滞,发挥了相关作用。

2 干扰乳腺癌细胞侵袭及迁移

肿瘤细胞的侵袭及转移是术后复发的高风险因素,特别是乳腺癌这种高侵袭性的肿瘤细胞,抑制其侵袭及转移将会对术前治疗、术后化疗起到关键作用。刘琦等^[20]采用 Transwell 小室法测定了山慈菇的侵袭力,对处理过后的细胞采用血球计数板计算穿过侵袭腔的细胞数,发现山慈菇-蜂房药能明显抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力,阳性对照药物组和山慈菇-蜂房药对组比较差异无统计学意义。其中蜂房药性甘、平,具有攻毒杀虫,祛风止痛的功效^[13],与山慈菇共同治疗恶性肿瘤,能起到相辅相成的疗效。同时相似的研究提及将不同浓度山慈菇水煎剂对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞处理 24、48 h 后,并未发现划痕的距离减少,实验组均可明显抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移^[15]。将山慈菇水煎剂作用于乳腺癌 T-47D 细胞,同样可以阻止细胞迁移^[16]。提示山慈菇能够抑制乳

腺癌细胞侵袭及迁移,并且在降低肿瘤转移率的同时,可能避免了对正常细胞的损害。

对于机制,认为与肿瘤侵袭、转移关系最密切的是细胞基质金属蛋白酶-9(MMP-9)^[21]。有文献表明采用 RT-PCR 法检测山慈菇水煎剂对 MDA-MB-231 细胞的 MMP-9 的 mRNA 水平, MMP-9 的 mRNA 水平明显降低^[22]。而采用 ELISA 法检测大鼠血清中 MMP-9 的蛋白水平,实验组 ig 大鼠 1.5、3.0 mg/mL 山慈菇水提液,结果表明不同实验组与模型组相比 MMP-9 的蛋白水平均明显降低^[22]。提示山慈菇能抑制 MMP-9 而影响乳腺癌的侵袭及转移;这与相关文献中所提及的 MMPs 能够抑制乳腺癌及其他肿瘤转移的结论相一致^[23]。同时金属蛋白酶组织抑制物(TIMPs)通过与 MMPs 结合形成复合物而使 MMPs 的降解活性被抑制,同时癌细胞浸润以及肿瘤细胞的侵袭和转移也被抑制^[24]。刘琦等^[22]研究发现山慈菇组的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 TIMP-1 的 mRNA 明显升高。考虑山慈菇抗乳腺癌细胞的侵袭及迁移的具体机制与 MMP-9 和 TIMP-1 有密切联系,并且 MMP-9 水平的降低及 TIMP-1 基因过度表达均可抑制肿瘤生长、浸润和侵袭。

3 抑制乳腺癌细胞新血管生成

乳腺癌是一种血管生成依赖性肿瘤,肿瘤血管生成是影响肿瘤生长、侵袭、转移的先决条件之一^[25]。杨雪威等^[24]选用雌性未孕 SD 大鼠建立了乳腺癌荷瘤大鼠模型后,实验组分别 ig 1.5、3.0 mg/mL 山慈菇水提液,每天 1 次,给药 6 周。用免疫组织化学法检测对大鼠乳腺癌肿瘤组织微血管密度(MVD)水平,取肿瘤组织石蜡切片,检测肿瘤组织 MVD 水平,结果显示实验组的 MVD 水平均低于模型组。杨雪威等^[25]进一步采用 ELISA 法检测乳腺癌大鼠血清中血管内皮生长因子(VEGF),MMP-9 的蛋白水平,以及用 Western Blotting 法检测乳腺癌大鼠肿瘤组织中 VEGF, MMP-9 的 mRNA 水平。结果表明山慈菇水提液处理后,实验组的 VEGF 和 MMP-9 的表达水平均低于模型组,这种抑制呈现出剂量相关性。因此,考虑山慈菇通过抑制乳腺癌肿瘤组织以及血清中 VEGF 和 MMP-9 的表达,从而抑制了新生血管形成来发挥抗乳腺癌作用。

4 结语

山慈菇通过改变细胞的发育进程、激活 p53 通路和阻滞 G₂ 期细胞等影响乳腺癌细胞生长增殖以及诱导凋亡;降低 MMP-9 的水平及 TIMP-1 基因过

度表达干扰乳腺癌细胞的侵袭及迁移;抑制乳腺癌肿瘤组织及血清中 VEGF 及 MMP-9 的表达从而抑制了新生血管形成来发挥抗血管生成作用等一系列方法来发挥抗乳腺癌作用。目前对于山慈菇抗乳腺癌的研究逐渐增多,在乳腺癌方面的研究不仅囊括了体外实验还有部分体内研究。但是对于山慈菇的研究还存在局限,如山慈菇逆转乳腺癌细胞多药耐药的作用机制研究较少以及临床应用中主要为复方,不能突出说明山慈菇单味药的作用。随着对于山慈菇抗乳腺癌基础研究的深入,将有助于加快山慈菇的相关研究工作,相信山慈菇的开发和利用前景将更加广阔。在未来,还需对山慈菇进行更多更深层次的研究,为山慈菇应用于乳腺癌及其他肿瘤提供更确切的理论依据。

参考文献

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1): 10-29.
- [2] 张勇. 张宗歧治疗乳腺癌经验初探 [J]. 山西中医学院学报, 2008, 9(2): 38-40.
- [3] 秀兰, 张彬. 用蒙医理论分析乳腺增生病的病因病机 [J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(11): 1, 3.
- [4] 崔娜娟, 王洪琪. 清热解毒中药在恶性肿瘤防治中的机理研究与应用概况 [J]. 甘肃中医, 2005, 18(3): 43-44.
- [5] 陈藏器, 尚志钧. 本草拾遗 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2002.
- [6] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [7] 赵惠, 王志英, 周仲瑛. 周仲瑛从痰辨治恶性肿瘤用药分析 [J]. 中医杂志, 2015, 56(9): 740-742.
- [8] 夏文斌, 薛震, 李帅, 等. 杜鹃兰化学成分及肿瘤细胞毒活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(23): 1827-1830.
- [9] 徐小娟. 山慈菇多糖、牛膝多糖对 H22 小鼠肝癌抑制作用及其抗肿瘤机制研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [10] 于治凡, 刘英华, 肖均财, 等. 山慈菇对甲状腺癌 SW579 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 癌症进展, 2018, 16(10): 1292-1294, 1298.
- [11] 于林楠, 翟宏颖. 山慈菇提取物对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响 [J]. 中国民族民间医药, 2016, 25(16): 17-19.
- [12] 阮小丽, 施大文. 山慈菇的抗肿瘤及抑菌作用 [J]. 中药材, 2009, 32(12): 1886-1888.
- [13] 凌汶静. 常用抗肿瘤中药的临床应用与规律探讨 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [14] 刘银花, 钟世军, 曾涛, 等. 山慈菇提取液对小鼠

- 4T1 乳腺癌细胞抑制作用机制的研究 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(1): 134-137.
- [15] 牛晓雨, 王璐, 孙放, 等. 山慈菇水煎剂对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的影响 [J]. 中成药, 2018, 40(1): 197-200.
- [16] 郭淳, 龚永杰, 孙放, 等. 山慈菇水煎剂对人乳腺癌 T-47D 细胞增殖和迁移的影响 [J]. 中医学报, 2017, 32(10): 1832-1835.
- [17] 王亚茹, 邓高松, 李云, 等. 秋水仙碱对微管蛋白的作用机制及其细胞效应研究进展 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(12): 2570-2576.
- [18] Sherr C J, Roberts J M. CDK inhibitor: positive and negative regulators of G1 phase progression [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(12): 1501-1512.
- [19] 戴大英, 翟为溶. 肿瘤抑制基因 p53 和 p21 WAF1/Cip1/Sdi1 的相关性 [J]. 临床与病例杂志, 2000, 20(6): 440-442.
- [20] 刘琦, 程旭峰, 张新峰, 等. 山慈菇 - 蜂房药对抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞体外侵袭转移的机理研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(4): 389-392.
- [21] 王祥军, 周士福, 时伟峰, 等. UPA 和 MMP-9 在乳腺浸润性导管癌中的表达及其相关性 [J]. 四川医学, 2009, 30(8): 1200-1202.
- [22] 杨雪威, 王思源, 赵佳, 等. 山慈菇提取液对乳腺癌大鼠肿瘤组织血管内皮生长因子和基质金属蛋白酶-9 表达的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7): 838-840, 856.
- [23] Han B, Nakamura M, Moil I, *et al.* Urokinase-type plasminogen activator system and breast cancer [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(1): 105-112.
- [24] Somiari S B, Shriver C D, Heckman C, *et al.* Plasma concentration and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in patients with breast disease, breast cancer and at risk of developing breast cancer [J]. *Cancer Lett*, 2006, 233(1): 98-107.
- [25] Locopo N, Fanelli M, Gasparini G. Clinical significance of angiogenic factor in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 1998, 52(1/3): 159-173.