

【综述】

中药多糖体外抗胃肠肿瘤作用的研究进展

许峰巍, 孟静岩*

天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 肿瘤是严重危害人体健康的疾病之一, 胃肠肿瘤是我国人口中消化系肿瘤的多发病种, 而针对其进行放疗、化疗治疗的同时对正常细胞毒性不容忽视。中药多糖抗肿瘤的同时, 能提高人体免疫功能, 且对正常细胞无伤害, 使其成为抗肿瘤研究的热点。对中药多糖体外抑制人胃癌细胞系 MGC-803、SGC-7901, 人结肠腺癌细胞 LoVo、HCT-116、HT-29 的增殖和促凋亡作用及相关作用机制进行综述, 旨在为中药多糖的抗胃肠肿瘤的临床研究提供依据。

关键词: 中药多糖; 天然化合物; 抗肿瘤; 胃肿瘤细胞株; 肠肿瘤细胞株

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 11-1659-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.11.027

Research progress on polysaccharide of Chinese materia medica against gastrointestinal tumors *in vitro* experiments

XU Feng-wei, MENG Jing-yan

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Tumor is a seriously disease that endanger human health. Gastrointestinal cancer is one of the most prevalent types of digestive system cancers among the Chinese population. While radiotherapy and chemotherapy kill cancer cells, their toxicity to normal cells cannot be ignored. Hence, polysaccharides from Chinese materia medica (CMM) have been the focus of anti-tumor research, as they can improve functions of the immune system and do not harm to normal cells. In this review, we have analyzed the recent advances in the study of the effects of polysaccharides from CMM on human gastric cancer cell lines (MGC-803 and SGC-7901) and intestinal tumor cell lines (LoVo, HCT-116, and HT-29) *in vitro*. The purpose of this study is to provide a material basis for clinical research of polysaccharides from CMM.

Key words: polysaccharide of Chinese materia medica; natural compound; anti-tumor; gastric tumor cells line; intestinal tumor cell line

中药多糖具有抗肿瘤、抗氧化、提高机体免疫功能等作用, 是对正常细胞无伤害的生物活性物质^[1]。据 2013 年中国癌症病例和癌症死亡事件分析结果, 胃肠肿瘤位于肿瘤致死的前十位^[2]。目前胃肠肿瘤的治疗手段主要有手术、放疗、化疗, 靶向治疗和免疫治疗^[3], 但是都有一定的适用范围和局限性, 故肿瘤患者急需新型、高效的治疗手段, 鉴于中药多糖抗肿瘤的同时, 能提高人体免疫功能, 且对正常细胞无伤害, 使其成为抗肿瘤研究的热点。胃肠肿瘤在中医文献里无明确病名, 多根据其发病部

位、病因病机或临床症状命名, 属中医的“积聚”范畴^[4], 治疗上多以扶正祛邪、消癥散结为主要原则^[5]。中医药的积极干预能在一定程度上缓解胃肠道肿瘤手术、化疗等治疗后产生的副作用, 有助于患者康复^[6]。

药理学研究发现中药多糖是一类天然大分子化合物, 是单糖脱水后形成的糖苷键以线性或分枝形式连接而成的链状聚合物, 如黄芪多糖、红花多糖、人参多糖等具有显著的免疫调节作用、抗肿瘤活性以及低毒高效性, 能在肿瘤发生、发展过程的

收稿日期: 2017-07-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81273636); 天津市重大科技攻关项目 (12ZCDZSY16800)

作者简介: 许峰巍, 女, 在读硕士, 研究方向为中医药治疗肿瘤。Tel: 18202617082 E-mail: xufengwei2011@163.com

*通信作者 孟静岩, 教授, 研究方向为中医药治疗肿瘤基础研究。Tel: 13207605418 E-mail: mengjy@163.com

多个环节中起抑制作用^[7]。本文对中药多糖体外抑制人胃癌细胞系 MGC-803、SGC-7901, 人结直肠癌细胞 LoVo、HCT-116、HT-29 的增殖和促凋亡作用进行总结, 以期对中药多糖的抗肿瘤临床研究提供依据。

1 抑制胃癌细胞株增殖和促凋亡

1.1 对人胃癌细胞系 MGC-803 的影响

陈慧玲等^[8]研究羊栖菜多糖 (SFPS) 抑制肿瘤血管内皮细胞增殖作用机制发现, SFPS 具有抑制人胃癌 MGC-803 肿瘤血管内皮细胞增殖的作用, 实验分别以低浓度 10、30、100 mg/L, 及高浓度 300、1 000 mg/L 的 SFPS 溶液进行对比干预研究, 随着多糖浓度增加及作用时间延长 MGC-803 细胞培养上清中 VEGF-A 的含量越低, 表明 SFPS 可通过阻断或干扰 VEGF-A 及其受体, 抑制血管内皮细胞增殖, 抗肿瘤血管生成, 达到抑制肿瘤细胞发生发展的目的。

李荣辉等^[9]经过 MTT 实验证明树舌多糖可以抑制人胃癌 MGC-803 肿瘤细胞增殖, 进一步采用 PepTag 非放射性法检测树舌多糖对 cAMP 依赖蛋白激酶 (PKA) 活性的影响, 实验组较对照组 PKA 活性增强, 细胞增殖受到抑制, 证明树舌多糖可上调细胞内 PKA 进而对增殖信号传导通路 (Ras/Raf/MAPK 通路) 起负调节作用, 为其抑制细胞增殖的重要机制。

朱红岩^[10]通过 Western blotting 及划痕实验研究发现, 石见穿多糖可通过抑制人胃癌细胞系 MGC-803 细胞内白细胞介素-8 (IL-8) 的表达来实现对细胞体外迁移能力的抑制。周杰等^[11]使用 MTT 实验研究显示黄芪多糖可抑制 MGC-803 细胞增殖, 细胞周期分析提示黄芪多糖可将细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 以上抑制肿瘤细胞增殖的实验效应均具有明显的浓度和时间相关。

1.2 对人胃癌细胞系 SGC-7901 的影响

王婷婷等^[12]实验从形态学角度探讨不同浓度红花多糖诱导人胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的作用发现, 0.08~0.64 mg/mL 剂量的红花多糖对 SGC-7901 细胞的增殖抑制作用逐渐增强, 0.64 mg/mL 剂量的抑制作用最强, 在 24 h 的抑制率为 44.57%, 72 h 的抑制率上升到 91.09%。红花多糖对胃癌细胞 SGC-7901 的抑制作用呈时间与剂量相关。透过电镜形态学上发现红花多糖作用 SGC-7901 细胞 24 h 后, 显示细胞核变小, 密度增高, 细胞核开始分裂,

出现裂痕。0.64 mg/mL 红花多糖处理 48、72 h 后, SGC-7901 细胞内 Rho 123 荧光强度明显减弱, 镜下几乎观测不到荧光。与马新博等^[13]研究证明红花多糖能够通过降低细胞线粒体膜电位 (MMP), 诱导胃癌细胞 SGC-7901 线粒体肿胀, 促进细胞凋亡的作用呈时间相关的结论相近。

黄靓等^[14]研究人参多糖注射液对人胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的诱导作用及机制, 发现人参多糖可以诱导胃癌细胞凋亡, 在同一浓度下, 人参多糖作用 24、48、72 h 后, 促进细胞凋亡作用随时间延长逐渐增强; 在同一作用时间下, 人参多糖浓度在 12.5~100 μg/mL, 浓度越高则促进细胞凋亡作用越明显, 并且人参多糖可促使胃癌细胞的 Bax 表达及抑制 Bcl-2 表达, 使 Bax/Bcl-2 蛋白表达比值增加, 说明人参多糖注射液可以影响细胞的基因表达, 可能是其诱导胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的重要机制, 且呈明显的浓度、时间相关。

黄芪多糖对胃癌细胞 SGC-7901 既有抑制其增殖作用, 也有促进其凋亡的作用。聂超^[15]研究证明黄芪多糖可诱导 SGC-7901 人胃癌细胞凋亡, 黄芪多糖可阻止肿瘤细胞由 S 期进入 G₂ 期, 延缓细胞周期进程, 减慢细胞增殖速度, 达到抑制肿瘤细胞的增殖的目的, 且呈时间和浓度相关。肖阳等^[16]研究也发现黄芪多糖可以抑制人胃癌细胞 SGC-7901 增殖, 具有一定的浓度相关。黄芪多糖浓度小于 12.5 μg/mL, 抑制作用不明显, 浓度在 50~100 μg/mL 可以抑制胃癌细胞增殖, 抑制作用随浓度增加而增强。

应邈等^[17]研究枸杞多糖对胃癌细胞 MGC-803 及 SGC-7901 的生长抑制作用, 发现枸杞多糖浓度为 100 mg/L 时对 MGC-803 细胞抑制作用与 200 mg/L 枸杞多糖对 SGC-7901 细胞的抑制效果相近, 说明枸杞多糖对 MGC-803 细胞的抑制作用强于 SGC-7901 细胞, 且多将细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 具有浓度相关。

曲晓兰等^[18]通过泰山紫草多糖与阳性对照药羟基喜树碱对胃癌细胞 SGC-7901 干预的比较研究发现, 泰山紫草多糖能够抑制人胃癌细胞生长, 具有良好的抗肿瘤活性。

1.3 对其他胃癌细胞系的影响

有学者研究了中药多糖对其他人胃癌细胞株影响。张杰等^[19]研究发现威灵仙多糖可以抑制人胃癌细胞 BGC-823 的生存蛋白 (Survivin) 基因表达,

从而促进胃癌细胞凋亡。刘继威等^[20]研究证明白及多糖与 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 联用可提高 5-FU 抗人胃癌 MKN-45 细胞株增殖的作用, 单独作用于肿瘤细胞无明显抑制作用。

2 抑制结肠癌细胞株和促凋亡

2.1 对人结直肠腺癌细胞 LoVo 的影响

孙伟等^[21]研究红花多糖对人结肠癌 LoVo 细胞增殖、凋亡、侵袭作用机制发现, 红花多糖浓度为 0.5、1、1.5 g/L 干预 LoVo 细胞 24 h, 细胞增殖稳定, 呈现规律细胞的周期; 48 h 后, 细胞周期出现变化, S 期与 G₂ 期细胞比例降低, 说明红花多糖可抑制细胞 S 期与 G₁/S 转换, 从而抑制细胞增殖。流式细胞仪检测作用 48 h 后, 实验组细胞凋亡率 (5.94%、12.3%、15.5%) 明显高于对照组 (2.71%), 说明红花多糖能诱导 LoVo 细胞凋亡, 进一步采用 RT-PCR 及 Western blotting 法检测结果显示红花多糖促进 LoVo 细胞凋亡机制可能与其上调 LoVo 细胞的 Bax, Caspase-3 (胱天蛋白酶) mRNA 的表达, 降低 Bcl-2 mRNA 表达有关。其抑制细胞增殖及促进细胞凋亡作用均呈明显的时间和浓度相关。

季宇彬等^[22]研究发现不同浓度的昆布多糖干预 LoVo 细胞 24 h 后, 可检测到 Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3 浓度增加, 证明昆布多糖对其有促进激活作用, 进而促使细胞凋亡反应发生发展, 且激活作用与昆布多糖的浓度正相关。

梁曾恩妮^[23]研究发现灵芝多糖处理 LoVo 细胞后, 可将细胞周期阻滞于 S 期, 抑制细胞增殖; 也可以活化 Caspase-3、caspase-8 和 caspase-9, 其促进 LoVo 细胞凋亡的机制与昆布多糖促进细胞凋亡的作用机制相近。

2.2 对结直肠腺癌细胞 HCT-116 的影响

胡泽成^[24]分别使用浓度为 10、20、50、100 mg/mL 的青龙衣多糖干预处于对数期的人结肠癌 HCT-116 细胞, 结果发现与空白组比较, 各处理组 G₀/G₁ 期细胞比例增加, S 期和 G₂/M 期细胞比例下降; 各给药组 Akt 及 p-Akt 蛋白含量明显降低, 且除 10 mg/mL 组外, 其余浓度实验组与空白组比较, 早期凋亡率与总凋亡率均有增加。表明青龙衣多糖对人结肠癌 HCT-116 细胞具有抑制增殖, 促进凋亡的作用, 其抗肿瘤机制可能与 PI3K/Akt 信号通路相关。

梁曾恩妮^[23]观察灵芝多糖体和抗癌药 5-FU 对人结肠癌 HCT-116 细胞的体外抑制作用, 并研究灵芝多糖体与 5-FU 联用对人结肠癌 HCT-116 细胞增殖的

影响。结果发现灵芝多糖在体外对 HCT-116 细胞增殖有抑制及促进其凋亡的作用, 并呈浓度及时间相关; 且灵芝多糖体与 5-FU 联合应用对肠癌细胞的抑制作用高于单用灵芝多糖、5-FU 组。

2.3 对人结肠癌细胞 HT-29 的影响

徐伟丽等^[25]研究玉米麸皮多糖对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的抑制作用, 发现使用水提玉米麸皮多糖处理对数期 HT-29 细胞后, 细胞有丝分裂数和集落形成率降低, 细胞有明显的形态学改变, 并呈时间和剂量相关。Cheng 等^[26]研究发现人参多糖可抑制 HT-29 细胞增殖, 使之细胞周期阻滞在 G₂/M 期, 且呈时间、浓度相关。

黄晓东等^[27-28]研究五味子多糖对人结肠癌 HT-29 细胞增殖、侵袭的抑制作用及其机制中发现, 与对照组相比, 药物处理组细胞的上清液中 bcl-2 蛋白表达较低; bax 和 Caspase-3 的蛋白表达较高; 组细胞增殖抑制率、侵袭活性抑制率均升高及细胞凋亡率; 呈浓度时间相关。证明五味子多糖可以抑制 HT-29 细胞增殖和侵袭能力, 能显著抑制细胞的体外增殖和侵袭能力, 其作用机制可能与降低 bcl-2 基因表达, 上调 bax 及 Caspase-3 基因表达, 激活细胞凋亡通道诱导细胞凋亡有关。

2.4 对其他肠癌细胞株的影响

姜恩平等^[29]研究发现五味子多糖对人结肠癌 SW480 细胞有抑制生长和促进凋亡的作用, 不通浓度的五味子多糖在处理细胞 24 h 后, 均能降低细胞的 bcl-2 蛋白表达, 增加 bax 蛋白表达; 降低细胞增殖速度, 加快细胞凋亡, 且高浓度组 (40 mg/mL) 对细胞的作用效果明显高于中浓度组 (20 mg/mL) 及低浓度组, 说明其抑制及促进细胞凋亡作用具有剂量依赖关系。

3 结语

多种中药多糖具有抗肿瘤作用, 现有的体外细胞实验可说明以下几点: (1) 中药多糖对胃肠肿瘤细胞的干预是多方面的, 可以直接改变肿瘤细胞形态, 调控肿瘤细胞的细胞周期、基因表达及蛋白酶活性, 且在一定浓度范围内对肿瘤细胞具有直接的抑制增殖和促进凋亡的作用。(2) 肿瘤依然是严重威胁人类生命和健康的疾病, 中药多糖作为一类新型高效低毒的天然抗肿瘤药物, 在抑制肿瘤细胞增殖、生长的同时对正常细胞无损伤或损伤较小, 使之具有巨大的研究前景。(3) 同种中药多糖对于同类肿瘤细胞的不同细胞系显现不同的生长抑制作

用^[17],其显现出的作用差别可能与肿瘤细胞的分化程度有关。(4)常用补益类中药,如人参、黄芪等具有提高人体免疫力、改善肿瘤局部微环境,达到扶正以祛邪的效果,其所含的多糖(黄芪多糖、人参多糖)广泛应用于各类肿瘤的实验研究。如黄芪多糖抑制肝癌^[30]、胃癌、肠癌等肿瘤细胞增殖,具有明显的抑制肿瘤细胞增殖、促进其凋亡的作用,并且黄芪多糖与铂类化疗药联合使用中也展现了其增强化疗药杀伤肿瘤细胞的作用,如黄芪多糖联合顺铂治疗鼻咽癌,显示其增效减毒作用^[31-32]。

有研究显示苍术提取物多对肺癌、消化系统肿瘤、白血病、黑色素瘤、宫颈癌等生长均有抑制作用;苍术烯内酯、苍术酮、茅术醇、苍术多糖可能是其活性成分^[33]。但是,相对于苍术酮、茅术醇,对苍术多糖的研究还比较少。因此,中药多糖的抗肿瘤研究还有很多工作需要做。

目前,针对中药多糖抗肿瘤机制的研究在不但深入,逐渐由细胞水平向分子水平、基因水平发展,并且中药多糖与抗肿瘤药物联合运用、中药多糖的使用剂型研究,相关的动物在体实验以及临床研究也在进一步进行中。因为肿瘤患者的基因突变组合不尽相同,以及人体具有的个体差异,所以临床治疗时需要根据患者的个体情况合理用药。中药多糖与化学合成的抗肿瘤药品联合应用在靶向治疗、增效减毒方面可进一步发挥优势,期待在不久的将来中药多糖治疗肿瘤有更多的突破。

参考文献

- [1] 钱珍,江国荣.多糖抗肿瘤作用的研究进展[J].中国药物警戒,2015,12(2):96-98.
- [2] Zheng R, Zeng H, Zhang S, et al. Estimates of cancer incidence and mortality in China, 2013 [J]. Chin J Cancer, 2017, 36(1): 66.
- [3] 徐泽宽.2015年V1版《NCCN胃癌临床实践指南》更新解读[J].中国实用外科杂志,2015,35(5):512-514,518.
- [4] 刘沈林.中医论治胃肠肿瘤的理论与实践[J].中医学报,2014,29(6):771-772.
- [5] 韦堂军,程银.略论传统中医的肿瘤辨治观[J].世界科学技术:中医药现代化,2015,17(4):891-896.
- [6] 贾大鹏,李柏.胃肠肿瘤术后患者中医证候演变规律研究概况[J].辽宁中医药大学学报,2016,18(11):214-217.
- [7] 郑昱婧,宋淑亮,梁浩,等.中药多糖在抗肿瘤免疫中的研究进展[J].生命的化学,2016,36(5):601-606.
- [8] 陈慧玲,李培飞,陈声灿,等.羊栖菜多糖通过 VEGF 途径抑制胃癌细胞诱导的肿瘤血管内皮细胞增殖的实验研究[J].现代实用医学,2016,28(6):710-712,696.
- [9] 李荣辉,孙立群,梁启超,等.树舌多糖对胃癌 MGC-803 细胞蛋白激酶 A 活性的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(4):845-846.
- [10] 朱红岩.石见穿多糖抑制人胃癌细胞系 MGC-803 细胞增殖、迁移的作用及其对人胃癌细胞系 MGC-803 细胞中白细胞介素-8 表达的影响[D].承德:承德医学院,2013:26-35.
- [11] 周杰,朱萱萱,王海丹,等.黄芪多糖对人胃癌细胞系 MGC-803 的生长抑制作用及细胞周期的影响[J].中华中医药学刊,2013,31(5):1116-1119.
- [12] 王婷婷,石学魁,孙阳,等.红花多糖对人胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的形态学实验研究[J].中医药信息,2015,32(2):19-21.
- [13] 马新博,石学魁,宫汝飞,等.红花多糖对人胃癌 SGC-7901 细胞线粒体膜电位及增殖的影响[J].广东医学,2013,34(7):1002-1005.
- [14] 黄靓,李国庆,毛振江,等.人參多糖注射液对胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的诱导作用及机制[J].世界华人消化杂志,2014,22(33):5114-5117.
- [15] 聂超.黄芪多糖对 P53 基因介导的信号传导与胃癌发生发展的相关性研究[D].南京:南京中医药大学,2014:41-53.
- [16] 肖阳,刘洁婷,柏合,等.黄芪多糖针对人胃癌细胞 SGC-7901 体外实验抑制作用[J].牡丹江医学院学报,2014,35(3):7-9.
- [17] Miao Y, Xiao B, Jiang Z, et al. Growth inhibition and cell-cycle arrest of human gastric cancer cells by *Lycium barbarum* polysaccharide [J]. Med Oncol, 2010, 27(3): 785-790.
- [18] 曲晓兰,王新慧,刘克,等.泰山紫草多糖超声提取工艺优化及其体外抗肿瘤活性[J].中成药,2016,38(10):2285-2287.
- [19] 张杰,杨旭东,王崴,等.Survivin 在威灵仙多糖诱导人胃癌 BGC-823 细胞凋亡中的基因表达[J].牡丹江医学院学报,2014,35(6):13-15.
- [20] 刘继威,魏晓东,唐艳萍.白及多糖及其与 5-Fu 联用对人胃癌 MKN45 细胞株的影响[J].内蒙古中医药,2014,33(5):46-48.
- [21] 孙伟,童仕伦,郑勇斌,等.红花多糖对人结肠癌 LoVo 细胞增殖、凋亡、侵袭作用机制研究[J].安徽医药,2016,20(6):1045-1050.
- [22] 申奥,季宇彬,汲晨峰.昆布多糖对结肠癌 LoVo 细胞凋亡过程中 Caspase-8、3、7 的作用[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2010,26(6):641-644.
- [23] 梁曾恩妮.灵芝多糖对结肠癌细胞增殖抑制和凋亡的影响初步研究[D].长沙:湖南农业大学,2014:46-52.

- [24] 胡泽成. 青龙衣多糖对结肠癌 HCT-116 细胞增殖、凋亡及 PI3K/Akt 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(18): 136-139.
- [25] 徐伟丽, 崔鹏举, 鲁兆新, 等. 玉米麸皮多糖对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的抑制作用 [J]. 哈尔滨工业大学学报, 2015, 47(2): 62-66.
- [26] Cheng H, Li S, Fan Y, et al. Comparative studies of the antiproliferative effects of ginseng polysaccharides on HT-29 human colon cancer cells [J]. Med Oncol, 2011, 28(1): 175-181.
- [27] 黄晓东, 路倩, 范红艳, 等. 五味子多糖对人结肠癌 HT29 细胞增殖的抑制作用及其机制 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(22): 6337-6338.
- [28] 黄晓东, 路倩, 沈楠, 等. 五味子多糖对人结肠癌 HT-29 细胞体外增殖及侵袭能力的抑制作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2015, 41(2): 287-290.
- [29] 姜恩平, 王卓. 五味子多糖对人结肠癌 SW480 细胞增殖和凋亡的作用 [J]. 大家健康: 学术版, 2014, 8(23): 34-35.
- [30] Huang W H, Liao W R, Sun R X. Astragalus polysaccharide induces the apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells by decreasing the expression of Notch1 [J]. Int J Mol Med, 2016, 38(2): 551-557.
- [31] 郭浩杰, 杨严格, 安乐, 等. 中药多糖的分子修饰及其药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(7): 1074-1080.
- [32] Zhen Z, Meng M, Ni H. Chemosensitizing effect of astragalus polysaccharides on nasopharyngeal carcinoma cells by inducing apoptosis and modulating expression of Bax/Bcl-2 ratio and Caspases [J]. Med Sci Mon Int Med J Exp Clin Res, 2017, 23: 462-469.
- [33] 张明发, 沈雅琴. 苍术抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(5): 885-890.