

靶向纤溶系统活血化瘀药的抗肿瘤活性研究进展

王 生¹, 赵 杨¹, 陶 丽¹, 张 峰¹, 王爱云¹, 陈文星¹, 郑仕中¹, 陆 茵^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210046

摘 要: 中医理论认为血瘀证贯穿于肿瘤发生发展的始终, 国内外研究结果表明在临床上发现大多数中晚期肿瘤患者表现出不同程度的血液高凝状态, 同时血液高凝表现的浓、黏、凝、聚的临床表现与血瘀证有相似的特征。因而活血化瘀中药应用预防和治疗肿瘤成为国内外关注的焦点, 尤其在活血化瘀药通过抑制血小板聚集和活化进而抑制肿瘤的生长和转移方面取得了一定的进展, 但是对于活血化瘀中药能否有效改善肿瘤患者的纤溶系统的紊乱达到抑制肿瘤转移的目的还未有明确的认知。就近年来国内外基于纤溶系统研究较多的几类抗肿瘤活血化瘀中药进行概述, 为抗肿瘤药物的研究开发提供参考。

关键词: 活血化瘀中药; 血瘀证; 高凝状态; 纤溶系统; 抗肿瘤

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)06-1213-06

Advances in studies on antitumor activities of drugs for activating blood and resolving stasis in targeting fibrinolytic system

WANG Sheng¹, ZHAO Yang¹, TAO Li¹, ZHANG Feng¹, WANG Ai-yun¹, CHEN Wen-xing¹,
ZHENG Shi-zhong¹, LU Yin^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210046, China

Key words: herbal drugs for activating blood and resolving stasis; stasis syndrome; hypercoagulable state; fibrinolytic system; antitumor activity

国内外大量研究资料表明, 绝大多数肿瘤细胞首先通过降解细胞外基质, 从原发部位脱离进入血液环境, 随血液循环进行转移。肿瘤细胞在进入血液环境时, 其自身表达的与凝血相关的蛋白及分泌到血液中的凝血因子, 会引起凝血系统的改变, 介导肿瘤高凝状态的发生。肿瘤介导的高凝状态涉及到凝血系统多方面指标的变化, 1865 年 Trousseau 首先报道癌症患者有自发凝血倾向, 后来被大量临床研究证实, 称之为 Trousseau 综合征^[1-2]。肿瘤介导的高凝状态在一定程度上促进了肿瘤增殖和转移, 而肿瘤的恶性增殖和转移也同时促进了肿瘤高凝状态的发生和发展, 两者互为因果, 在肿瘤病情发展中具有重要的作用^[3-4]。在国内外大量研究成

果的基础上, 可以概括为肿瘤细胞通过激活凝血级联反应、激活血小板、引起纤溶系统的异常 3 个方面介导高凝状态的发生^[5-7]。而肿瘤介导的高凝状态由于引起了凝血系统的改变, 激活凝血相关蛋白, 进一步活化多种肿瘤相关的信号通路, 从而促进肿瘤的增殖和转移。

中医理论中血瘀证及临床研究中肿瘤介导的高凝状态对肿瘤的发生和发展影响重大^[8], 活血化瘀中药因其明确的改善血瘀证和凝血的药效, 在抗肿瘤药物的研究中越来越受到关注。目前活血化瘀中药基于凝血系统的抗肿瘤研究主要集中在凝血激活和血小板活化方面, 对于纤溶系统还没有系统的研究。近年来蚓激酶、蛇毒、川芎嗪等对纤溶系统影

收稿日期: 2011-09-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371727, 30772766); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK2010085, BK2010562); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (2011ZYN4-002); 江苏省教育厅重大专项 (09KJA360002); 江苏省六大人才高峰课题 (06-B-023, 08-A-012); 江苏省中医药局项目 (LZ09022); 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室开放课题 (P09013); 江苏省普通高校研究生科研创新计划项目 (2010-469, 2010-471)

作者简介: 王 生 (1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为活血化瘀中药及其复方对肿瘤转移的影响。

Tel: 13776658045 E-mail: wang1986sheng@163.com

***通讯作者** 陆 茵 Tel: (025)86798154 E-mail: luyingreen@126.com

响较大的活血化瘀中药在抗肿瘤研究中进展迅猛。为了对活血化瘀中药基于凝血系统抗肿瘤的研究有一个更为明确清晰的认识,本文就几类纤溶靶向的活血化瘀中药及主要成分的抗肿瘤研究有关的热点、关注的问题及需要解决的问题进行综述,为活血化瘀中药更好地应用于肿瘤的预防和治疗提供借鉴。

1 抗肿瘤活性突出的纤溶中药

中医治疗肿瘤绝大多数是以虫类中药辅以补气活血类植物药作为防癌抗癌的基础方,总结常见的抗癌经验方,发现虫类中药如蛇毒、蝎毒、地龙、斑蝥等在经验方中出现的频率很高,而植物类中药则以莪术、丹参、川芎为主。大量研究发现蛇毒、蝎毒、蜈蚣、土鳖虫、地龙中均含有大量的纤溶活性物质,而丹参、川芎等在临床上大量应用于心血管疾病的治疗,亦具有很好的纤溶活性^[9]。这些在抗肿瘤经验方中常用的活血破血类中药在治疗血栓类疾病中也发挥着重要的作用。

1.1 地龙

地龙在传统抗肿瘤的经验方中具有很高的使用频率,如骨痛丸、普陀膏及消瘤丸等。地龙俗称蚯蚓,其味咸,性寒,具有清热、平肝、定惊、止喘、通络之功效。研究发现,0.1、0.01 mg/mL 地龙体腔液明显诱导 HeLa 细胞呈现凋亡形态,凋亡率分别为 79.1%和 22.2%,当地龙体腔液 1 mg/mL 时对 HeLa 细胞表现出细胞毒作用,明显诱导细胞的坏死,导致细胞裂解,抑制率达到 84.22%,且存在时效关系^[10]。

1.2 蛇毒与蝎毒

在传统的抗肿瘤经验方中,蛇毒、蝎毒也有较高的出现频率,但是其有限的资源限制了其临床研究。目前的研究资料均表明蛇毒及蝎毒具有良好的抗肿瘤活性,对其研究主要集中在细胞增殖和凋亡方面。利用小鼠乳腺肿瘤病毒诱导形成乳腺肿瘤细胞系 RIII/Sa-MT,发现蛇毒 7 µg/mL 在体外作用 48 h 能够抑制 RIII/Sa-MT 的增殖,抑制率达到 55%。对于同源移植 RIII/Sa-MT 的小鼠,每只小鼠给药 1 µg,每周给药 1 次,连续 4 周,在整体水平也能够很好地抑制肿瘤细胞的生长,抑瘤率达 54%,生存期也显著延长^[11]。蝎毒能够选择性地抑制淋巴瘤 Raji 和外周白血病细胞 Jurkat,但是对外周淋巴细胞只有微弱的细胞毒作用,流式细胞分析表明蝎毒能诱导细胞凋亡并且阻断细胞周期在 G₀/G₁ 期,在 Raji 细胞中,蝎毒上调 PTEN 的表达,降低 AKT 的表

达和 Bad 的磷酸化^[12]。蝎毒提取物可通过抑制肿瘤新生血管生成来抑制 Lewis 肺癌在化疗期间的细胞再增殖^[13]。

1.3 蜈蚣与斑蝥

蜈蚣以其较强的毒性作用在肿瘤细胞的细胞毒活性方面的研究较多。王硕等^[14]研究发现多棘和少棘蜈蚣均可明显抑制肝癌细胞株 Bel-7402 的增殖;多棘蜈蚣和少棘蜈蚣对小鼠 S₁₈₀ 实体瘤均有明显抑制作用,抑瘤率分别为 69.01%和 50.83%。将蜈蚣油性提取液与肝癌细胞株一同培养,检测其对肝癌细胞增殖的抑制作用,发现其对肝癌细胞增殖抑制率达到 82.2%^[15]。斑蝥通过影响 P 糖蛋白基因表达水平,同时抑制多药耐药基因 MDR1 的表达,能够显著地逆转 HepG2/ADM 的多药耐药性^[16]。

1.4 川芎

川芎是植物类具有良好纤溶活性的中药之一,其在抗肿瘤的经验方中出现的频率也较高,如常用的经典方柴胡疏肝散、膈下逐瘀汤、当归龙荟丸、逍遥散、消肿止痛膏治疗各类晚期癌痛等。目前临床上常用的天蟾胶囊中也含有川芎。采用 PI 染色、流式细胞分析技术测定川芎作用于胰腺癌 HS766T 细胞后细胞周期和细胞凋亡的情况,川芎可以抑制 HS766T 细胞的体外增殖,通过阻滞细胞周期 G₀/G₁、抑制细胞增殖、增加合成期细胞百分比来促进细胞凋亡^[17]。

1.5 丹参

丹参在临床上明确用于心血管疾病的治疗,而在传统的抗肿瘤经验方中,丹参具有很高的使用频率。以不同浓度的丹参处理耐药系 SGC7901/ADR 及敏感系 SGC7901 细胞,丹参可逆转 SGC7901/ADR 细胞对阿霉素(ADM)的耐药性,逆转倍数达到 1.89,提高细胞内 ADM 浓度,使细胞周期阻滞于 G₁、G₂ 期,轻度下调细胞膜 P 糖蛋白(P-gp)的表达^[18]。丹参可抑制小鼠 Lewis 肺癌 Cyclin D1 的异常表达并抑制小鼠 Lewis 肺癌生长^[19]。

1.6 莪术

莪术具有明显的抗癌作用,在临床上已经用于癌症的治疗。莪术提取液能够剂量依赖性地降低细胞集落的形成,同时能够阻断 HeLa 细胞周期在 G₁ 期并诱导凋亡;莪术提取液主要通过视网膜母细胞瘤蛋白去磷酸化和降低细胞周期蛋白 D1、D3 的表达,降低 PTEN、AKT、STAT3 的磷酸化及阻断 NF-κB 信号通路达到抗肿瘤目的^[20]。此外,有研究

报道莪术提取物能够逆转乳腺癌 MCF 细胞对 ADM 的耐药性, 阻滞细胞周期在 S 期和 G₂/M 期^[21]。

2 代表性纤溶中药主要成分的抗肿瘤机制

2.1 蚓激酶 (lumbrokinase)

地龙中含有丰富的纤溶活性物质, 1983 年从粉正蚓中分离出 6 种具有纤溶活性的物质, 自此在不同种源的地龙中不断有纤溶活性物质被发现。蚓激酶 (一组具有纤溶活性的酶) 作为代表性的纤溶活性成分, 成为国内外研究者研究的热点, 目前蚓激酶主要用于临床上心血管类疾病的治疗^[22]。但是近年来对于蚓激酶的抗肿瘤作用研究越来越受到科研工作者的关注, 并对此开展了大量的研究, 研究表明蚓激酶同样具有很好的抗肿瘤效果。

2.1.1 抑制细胞增殖 蚓激酶能够很好地抑制多种肿瘤细胞的增殖。蚓激酶在一定程度上能够抑制异种移植肝癌细胞的增殖, 并且和 5-FU 产生协同作用。蚓激酶和 5-FU 对小鼠肝癌异种移植瘤的增殖抑制率分别为 20.53% 和 23.07%, 两者联用抑制率达到 54.2%, 血常规检查发现蚓激酶对造血系统无不良反应^[23]。蚓激酶体外处理不同的肝癌细胞都表现出不同程度的增殖抑制作用, 对不同的肝癌细胞株 HLE、Huh7、HepG2 的 IC₅₀ 分别为 2.11、5.87、17.30 Uku/mL; 每天注射蚓激酶 500 和 1 000 Uku/kg, 连续 4 周, 可以显著抑制异种移植的 Huh7 细胞增殖, 抑制率分别为 46.08% 和 57.52%, 同时对动物体质量、脾、胸腺指数没有明显的影响^[24]。

2.1.2 诱导细胞凋亡 蚓激酶能够诱导肿瘤细胞的凋亡。用 0、5、10 Uku/mL 蚓激酶处理 HLE、Huh7 肝癌细胞 72 h, 细胞凋亡率分别为 3.5%、10.9%、12.3% 和 5.0%、24.7%、34.5%; 蚓激酶处理 HLE 和 Huh7 细胞后, 蛋白检测发现其对细胞分泌基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 均有抑制作用, 作用机制可能与其抑制 p53 蛋白表达并诱导细胞凋亡有关^[25]。

2.1.3 降低细胞侵袭转移能力 研究还发现蚓激酶能够影响细胞的黏附、侵袭行为, 进而抑制肿瘤细胞的转移。蚓激酶对人肝癌细胞系 SMMC27721 细胞侵袭、转移潜能的影响研究发现, 蚓激酶 2、4、6 Uku/mL 作用于 SMMC27721 细胞能降低肝癌细胞与基质胶的黏附、降低 SMMC27721 细胞的侵袭力及迁移能力, 同时能够下调黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) mRNA 和蛋白的表达; 建立裸鼠人肝癌高转移原位移植瘤模型, 与模型组比较, 蚓激酶 800、1 600 Uku/kg 剂量组原位移植瘤

质量减轻; 移植瘤肝内播散率和腹腔移植率降低, 肺转移灶数目明显减少, 在原位移植瘤中 FAK 及 β 1 整合素在 mRNA 及蛋白水平的表达较模型组明显降低^[26]。

2.2 川芎嗪 (ligustrazine) 及其衍生物

川芎含生物碱、阿魏酸、川芎嗪、挥发性内酯等成分, 目前川芎抗肿瘤的效应成分主要是围绕川芎嗪进行研究。

2.2.1 抑制细胞增殖 川芎嗪在体外能够抑制肿瘤细胞的增殖, 但是活性并不是很强。川芎嗪对体外培养的神经胶质瘤细胞的增殖影响研究发现, 川芎嗪只有在高浓度时对胶质瘤细胞增殖表现出抑制效应, 当药物浓度达到 200 mmol/L 时, 能够显著抑制细胞的增殖, 抑制率达到 10%, 而低浓度的川芎嗪能够抑制胶质瘤细胞的迁移。对大鼠大脑移植神经胶质瘤细胞, 生存期一般为 10~23 d, 川芎嗪处理后能够抑制胶质瘤的生长并且显著延长小鼠生存期^[27]。此外, 丰俊东等^[28]研究发现 ip 给予 SD 雄性大鼠川芎嗪 143 和 71.5 mg/kg, 制备含药血清, 将各组含药血清作用于人肝癌细胞 HepG2 48 h, 川芎嗪高、低剂量组血清均能显著抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖, 最高抑制率可达 46.11%。从上述研究结果可以看出, 川芎嗪只有在较高浓度时才会对肿瘤细胞的增殖产生影响, 然而临床川芎嗪应用剂量范围很难使患者体内浓度达到上述体外研究使用剂量, 这是目前临床还无法将其作为直接杀伤肿瘤细胞药物使用的原因之一。但在实际临床应用中, 根据肿瘤具有血瘀证候特征, 亦不能排除将川芎嗪作为活血化瘀药使用的可能性。

2.2.2 逆转肿瘤细胞多药耐药 虽然目前研究的结果表明川芎嗪对多种肿瘤细胞系只有在高浓度时表现出增殖抑制, 且并不看好其抗肿瘤应用前景。但是在后期的研究中发现川芎嗪对逆转肿瘤细胞多药耐药具有很好的效果。川芎嗪能够逆转人肝癌细胞系 HepG2/ADM 的多药耐药, 通过降低 P-gp 170 的表达, 增强细胞内 ADM 药物浓度, 增强 ADM 的细胞毒作用, 调控多药耐药基因 MDR1 的转录水平显著下降^[29]。GST π 的过表达是肿瘤细胞多药耐药的一个重要机制, 研究川芎嗪的衍生物 DLJ14 对 ADM 耐受的人髓性白血病细胞 K562/AO2 的影响时发现, DLJ14 可以通过调节 GST π 的表达和 GST 相关激酶的活性改善 K562/AO2 的多药耐药。DLJ14 与 ADM 联用时, K562/AO2 对 ADM 的细胞毒作用敏感性显著加强, DLJ14 促进阿霉素在胞内的积累

可能是通过下调 GST 相关激酶的活性,同时 DLJ14 能够在蛋白水平和基因水平抑制 K562/AO2 GST π 的表达,进一步研究发现 DLJ14 能增加细胞 JNK 的表达^[30]。肝内的一些膜运载蛋白,如 P-gp、多药耐药相关的基因(MRP2、MRP3、MRP5)能够引起肿瘤细胞对抗化疗药物产生多药耐药性,给肝癌患者的治疗带来障碍。最近的研究发现川芎嗪能够增强人肝癌细胞对化疗药物的敏感性,显著下调 MRP1、MRP2、MRP3、MRP5 的表达,可以作为一个多药耐药的调节剂^[31]。

2.2.3 抗肿瘤转移 肿瘤介导的高凝状态在很大程度上促进肿瘤转移,川芎嗪以其很好的抗血小板激活和抗血栓形成作用成为临床上治疗心血管疾病的一线药物,那么其能否对肿瘤转移产生影响引起越来越广泛的关注。陈刚等^[32]观察川芎嗪注射液(TMP)对小鼠 Lewis 肺癌移植瘤生长和转移及肿瘤血管生成的影响,分别 ip 给予 TMP 50、100、200 mg/kg,连续给药 21 d,结果 TMP 组小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的体积、质量、肺转移灶数、肿瘤微血管密度(MVD)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达均显著降低。本实验室前期针对川芎嗪的抗肿瘤转移开展了大量的研究,川芎嗪 20、100 $\mu\text{g/mL}$ 能够在体外抑制 VEGF 诱导的内皮细胞的迁移和冠状结构的形成以及血管生成;在体内对于 VEGF 诱导的鸡胚尿囊膜的血管生成具有很好的抑制效果,川芎嗪 50、100 $\mu\text{g/鸡胚}$ 能够显著抑制 VEGF 诱导的血管生成,同时对于实验性转移模型 C57BL6 小鼠,川芎嗪 20、60 mg/kg 能够显著减少 B16 F10 黑色素瘤的肺转移^[33]。此外,研究结果还表明川芎嗪可以抑制肿瘤细胞的黏附和侵袭力,进而抑制肿瘤转移,对肿瘤细胞与内皮细胞的黏附有明显抑制作用,并可明显抑制 CD44、CD49 黏附因子表达,还可减轻内皮细胞通透性,保护内皮细胞的完整,阻断肿瘤细胞与基质的黏附。但是目前研究还不够深入,需要进一步的研究认识。

2.2.4 免疫调节及其他抗肿瘤作用 川芎具有一定的免疫调节作用,川芎嗪作为其主要成分可以增强免疫系统对肿瘤细胞的杀伤作用。川芎嗪作用 Colon26 肿瘤细胞后可明显下调其免疫抑制分子的分泌,影响其免疫抑制效应的发挥,通过下调肿瘤细胞分泌免疫抑制分子而阻碍肿瘤细胞产生免疫抑制,这可能是川芎嗪的抗肿瘤效应机制之一^[34]。同时有研究资料表明,川芎嗪可以起到放射增敏的作

用,提高肿瘤细胞对放射线的敏感性,川芎嗪与放射治疗相配合,在改善肿瘤周围组织微循环的同时,也增加了瘤体内血流灌注量,从而改善癌细胞缺氧状态,增加了肿瘤细胞对放射疗法的敏感性。

2.3 斑蝥素(cantharidin)及其衍生物

斑蝥应用于癌症的治疗已有悠久历史,近几年国内外对其主要成分斑蝥素的抗肿瘤作用研究明显增多。斑蝥素是蛋白磷酸酶(PP)1、PP2A 的选择性抑制剂,这也是斑蝥素抑制肿瘤增殖的机制之一^[35]。此外,研究斑蝥素对 A549 细胞增殖的抑制影响发现,MTT 和流式细胞研究结果证实斑蝥素可以明显抑制 A549 的增殖,可阻断细胞周期于 G₂/M 期。大量的研究资料证实斑蝥素的细胞毒作用与 PP1、PP2A 的活性有关^[36]。斑蝥素有很好的抗肿瘤活性,但是作用机制不明确,在白血病细胞中,斑蝥素可 P53 依赖性地诱导细胞凋亡,引起 DNA 的损伤;通过基因敲除和转染的方法,证实斑蝥素对肿瘤细胞 DNA 的损伤是通过 DNA 聚合酶对碱基的序列产生影响;进一步的研究结果表明斑蝥素可引起肿瘤细胞的氧化应激进而引起 DNA 损伤和 P53 依赖性的细胞凋亡^[37]。尽管目前斑蝥素已经在多种肿瘤细胞系中开展了大量的研究,但是由于斑蝥素毒性强烈,内服可引起胃肠炎症、黏膜坏死,使肾小球上皮细胞产生严重浊肿,出现蛋白尿、管型尿、血尿及血清非蛋白氮升高,导致其在临床上取得的成果不是很多。

去甲斑蝥素(norcantharidin)为斑蝥素的衍生物,比斑蝥素的毒性大大减小,是我国首先合成的具有较强抗肿瘤活性和升高白细胞作用的新型抗肿瘤药物。去甲斑蝥素 50 $\mu\text{mol/L}$ 能够显著抑制 CT26 的侵袭,抑制率达到 65.6%,同时降低 MMP-2/9 的活性,并且能够剂量依赖性地降低 CT26 的黏附行为,去甲斑蝥素 100 $\mu\text{mol/L}$ 能够显著下调钙黏蛋白等黏附分子,包括 N-钙黏素、 α -连环蛋白、 β -连环蛋白的表达,但是对于 E-钙黏素没有明显的影响^[38]。异种移植 CT26 的裸鼠腹膜内注射去甲斑蝥素 2 mg/kg,可以减少肺转移结节和延长小鼠的生存期。去甲斑蝥素抑制异种移植胆囊癌呈现量效和时效关系,药物处理后肿瘤体积明显减小,抑制率达到 42.63%^[39]。整合素 $\alpha\beta 6$ 与恶性上皮型肿瘤细胞的生物学行为密切相关,通过特殊的 $\alpha\beta 6$ 胞外相关的信号激酶 ERK,可以促进肿瘤细胞的侵袭和转移,去甲斑蝥素处理 HT-29 结肠癌细胞能够有效地抑制上皮型肿

瘤细胞表达整合素 $\alpha v\beta 6$, 细胞凋亡明显增加, 同时 ERK 的磷酸化表达显著降低^[40]。

3 活血化瘀抗肿瘤药物研究展望

癌栓的形成使肿瘤细胞在机体内转移成为可能, 肿瘤细胞作为异物进入血液, 表面具有抗原表位, 会被机体免疫系统识别和杀伤。在肿瘤转移发生初期, 绝大部分肿瘤细胞被 NK 细胞杀死, 极少数肿瘤细胞逃过免疫监视, 进而能够在体内转移^[41]。国外大量研究资料已经证实肿瘤在入血后会激活凝血系统, 激活血小板、促进纤维蛋白原转化成纤维蛋白, 而纤维蛋白原可以介导活化的血小板黏附在肿瘤细胞表面形成癌栓, 掩盖抗原表位, 进而使免疫系统不能识别肿瘤细胞, 同时阻断 NK 细胞与肿瘤细胞的直接接触, 阻断 NK 细胞对肿瘤的免疫杀伤作用^[42]。因此癌栓对肿瘤发生转移具有重大的意义。能否针对该环节有效地开发抗肿瘤药物值得进一步思考和深入研究。

目前抗肿瘤药物的研究开发模式主要集中在细胞毒活性、血管生成、抑制增殖和诱导凋亡, 这些药物由于显著的不良反应和容易引起耐受在临床上并没有取得很好的效果。传统活血化瘀类中药以其显著的改善凝血系统、抑制血小板活化和抗纤维蛋白形成药效在现代临床上已经广泛用于心血管疾病的治疗, 预示活血化瘀类中药可以抑制和阻断癌栓的形成, 使肿瘤细胞无法逃避免疫监视, 进而实现抑制肿瘤转移的目的; 同时活血化瘀类中药能够调节机体的免疫功能, 增强免疫系统对肿瘤细胞的杀伤作用, 为抗肿瘤药物的研究提供新的思路。本课题组长期以来一直致力于活血化瘀中药抗肿瘤转移的研究, 前期大量的研究表明部分活血化瘀类中药及有效成分能够很好地抑制血小板与肿瘤的黏附, 同时课题组对一些具有活血化瘀功效的海洋药物进行一系列的研究, 如海参糖胺聚糖能够很好地抑制活化血小板介导的肿瘤黏附行为^[43], 但是对于 NK 细胞及免疫系统的影响还未展开相关研究, 下一步将对活血化瘀类中药通过抑制或阻断癌栓形成, 促进免疫系统对肿瘤细胞的直接杀伤作用以达到抗肿瘤的目的进行深入的研究, 或许能为活血化瘀类中药的抗肿瘤药物研究提供一定的参考。

参考文献

[1] Donati M B. Thrombosis and cancer: Trousseau syndrome revisited [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*,

2009, 22(1): 3-8.

- [2] Rak J, Yu J, Luyendyk J, et al. Oncogenes, trousseau syndrome, and cancer-related changes in the coagulome of mice and humans [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(22): 10643-10646.
- [3] Rickles F R, Falanga A. Activation of clotting factors in cancer [J]. *Cancer Treat Res*, 2009, 148(1): 31-41.
- [4] Rickles F R. Cancer and thrombosis in women-molecular mechanisms [J]. *Thromb Res*, 2009, 123(2): 16-20.
- [5] Wenzel J, Zeisig R, Fichtner I. Inhibition of metastasis in a murine 4T1 breast cancer model by liposomes preventing tumor cell-platelet interactions [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2010, 27(1): 25-34.
- [6] Zwicker J, Liebman H A, Neuberg D, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(22): 6830-6840.
- [7] Malik G, Knowles L M, Dhir R, et al. Plasma fibronectin promotes lung metastasis by contributions to fibrin clots and tumor and tumor cell invasion [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(11): 4327-4334.
- [8] Lu X, Li B. Exploration of the effect and mechanism of activating blood circulation and stasis-removing therapy on tumor metastasis [J]. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(5): 395-400.
- [9] 谢文光, 魏钰书. 丹参在纤溶系统中的作用及其机制 [J]. *中医学通报*, 2004, 4(3): 38-41.
- [10] Liu Y Q, Sun Y, Sun Z J, et al. Coelomic fluid of the earthworm *Eisenia fetida* induces apoptosis of Hela cells *in vitro* [J]. *Eur J Soil Biol*, 2007, 43(suppl 1): s143-s148.
- [11] El-Refael M F, Sarkar N H. Snake venom inhibits the growth of mouse mammary tumor cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Toxicon*, 2009, 54(1): 33-41.
- [12] Gao F, Li H, Chen Y D, et al. Upregulation of PTEN involved in scorpion venom-induced apoptosis in a lymphoma cell line [J]. *Leuk Lymphoma*, 2009, 50(4): 633-641.
- [13] 王兆朋, 张维东, 武利存, 等. 蝎毒提取物抑制 Lewis 肺癌化疗期间再增殖实验研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(1): 103-107.
- [14] 王 硕, 覃文慧. 多棘蜈蚣与少棘蜈蚣抗肿瘤作用研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 21(13): 23-26.
- [15] 刘国清, 田秉章, 皮执民, 等. 蜈蚣油性提取液对肝癌细胞增殖的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2002, 12(4): 55-57.
- [16] Zheng L H, Bao Y L, Wu Y, et al. Cantharidin reverses multidrug resistance of human hepatoma HepG2/ADM cells via down-regulation of P-glycoprotein expression [J]. *Cancer Lett*, 2008, 272(1): 102-109.
- [17] 汝 涛, 崔乃强, 李 强. 川芎提取物对胰腺癌

- HS766T 细胞体外增殖的影响 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2007, 13(3): 273-275.
- [18] 玄基泽, 关宏伟, 韩 辉, 等. 丹参逆转胃癌耐药细胞的作用及其机制分析 [J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(33): 4054-4056.
- [19] 徐亚东, 张 薇, 尤立光, 等. 丹参注射液对小鼠 Lewis 肺癌细胞周期素 D1 表达的影响 [J]. 牡丹江医学院学报, 2008, 29(3): 25-27.
- [20] Lim C B, Ky N, Ng H M, *et al.* *Curcuma wenyujin* extract induces apoptosis and inhibits proliferation of human cervical cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Integr Cancer*, 2010, 9(1): 36-49.
- [21] Yang L, Chen Z, Wei D D, *et al.* Reversal of multidrug resistance in human breast cancer cells by *Curcuma wenyujin* and *Chrysanthemum indicum* [J]. *Phyto-medicine*, 18(15): 710-718.
- [22] Popoviae M, Mihaela T, Enjak H R, *et al.* Effect of earthworm (G-90) extract on formation and lysis of clots originated from venous blood of dogs with cardiopathies and with malignant tumors [J]. *Pathol Oncol Res*, 2001, 7(3): 197-202.
- [23] Tang Y, Liang D C, Jiang T, *et al.* Crystal structure of earthworm fibrinolytic enzyme component a: Revealing the structural determinants of its dual fibrinolytic activity [J]. *J Mole Biol*, 2002, 321(1): 57-68.
- [24] Wang J, Chen H, Ji H, *et al.* Effect of earthworm fibrinolytic enzyme on growth of xenografted tumor of hepatocellular carcinoma (HCC) and expression of CD44V6 [J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2009, 36(5): 375-379.
- [25] Chen H, Takahashi S, Imamura M, *et al.* Earthworm fibrinolytic enzyme: anti-tumor activity on human hepatoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Med J*, 2007, 120(10): 898-904.
- [26] 常春霞, 陈 洪, 季 红, 等. 蚯蚓纤溶酶抗肝癌转移作用的实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 2(6): 520-524.
- [27] Fu Y S, Lin Y Y, Chou S C, *et al.* Tetramethylpyrazine inhibits activities of glioma cells and glutamate neuroexcitotoxicity: Potential therapeutic application for treatment of gliomas [J]. *Neuro Oncol*, 2008, 10: 139-152.
- [28] 丰俊东, 徐晓玉. 川芎嗪含药血清对人肝癌细胞 HepG2 增殖的抑制作用 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 551-553.
- [29] 梅 英, 石毓君, 左国庆, 等. 川芎嗪逆转 HepG2/ADM 细胞多药耐药性的体外研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 970-973.
- [30] Song Y N, Guo X L, Zheng B B, *et al.* Ligustrazine derivate DLJ14 reduces multidrug resistance of K562/A02 cells by modulating GST π activity [J]. *Toxicol In Vitro*, 2011, 25(4): 937-943.
- [31] Wang X B, Wang S S, Zhang Q F, *et al.* Inhibition of tetramethylpyrazine on P-gp, MRP2, MRP3 and MRP5 in multidrug resistant human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(1): 211-215.
- [32] 陈 刚, 徐晓玉, 严鹏科, 等. 川芎嗪和丹参对小鼠 Lewis 肺癌生长的抑制作用与抑制血管生成的关系 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 296-299.
- [33] Chen L, Lu Y, Wu J M, *et al.* Ligustrazine inhibits B16F10 melanoma metastasis and suppresses angiogenesis induced by vascular endothelial growth factor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 386: 374-379.
- [34] Cui C, Wang R T, Zhang Y H, *et al.* Study on the down-regulatory effects of *Ligustrazine hydrochloride* on tumor-induced immunosuppression by Colon26 tumor cells *in vitro* [J]. *Chin J Immunol*, 2009, 25(5): 413-416.
- [35] Kizaki M, Sagawa M. *Mylabris phalerata* (Chinese blister beetle) on hematological malignancies [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2011, 17(5): 375-388.
- [36] Wang X H, Yin Y Q, Sui C G, *et al.* Inhibitory effect of cantharidin on proliferation of A549 cells [J]. *Chin J Cancer Res*, 2007, 19(4): 283-286.
- [37] Efferth T, Rauh R, Kahl S, *et al.* Molecular modes of action of cantharidin in tumor cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 69(5): 811-818.
- [38] Chen Y J, Shieh C J, Tsai T H, *et al.* Inhibitory effect of norcantharidin, a derivative compound from blister beetles, on tumor invasion and metastasis in CT26 colorectal adenocarcinoma cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16(3): 293-299.
- [39] Fan Y Z, Zhao Z M, Fu J Y, *et al.* Norcantharidin inhibits growth of human gallbladder carcinoma xenografted tumors in nude mice by inducing apoptosis and blocking the cell cycle *in vivo* [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(4): 414-422.
- [40] Peng C, Liu X Q, Liu E Y, *et al.* Norcantharidin induces HT-29 colon cancer cell apoptosis through the v β 6-extracellular signal-related kinase signaling pathway [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(12): 2302-2308.
- [41] Kitajima M, Ito T, Tumes D J, *et al.* Memory type 2 helper T cells induce long-lasting anti-tumor immunity by activating natural killer cells [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(12): 1-33.
- [42] Gay L J, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumor metastasis [J]. *Nat Rev*, 2011, 11(2): 123-134.
- [43] 钱文慧, 王颖钰, 王 生, 等. 海参糖胺聚糖的抗肿瘤转移前景分析 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 814-818.