

中药抗肿瘤血管生成研究概况

陈 丽 霞

(南京中医药大学第一临床医学院硕士研究生, 江苏省南京市仙林大道 138 号, 210046)

[关键词] 中药; 肿瘤; 抗血管生成

大多数癌前病变的明显特点之一是缺乏新生血管的形成, 这与有丰富血管新生的肿瘤相对比, 说明由癌前病变状态过渡到血管生成期可能是肿瘤发生的“开关”。在肿瘤血管前期, 肿瘤细胞主要依赖弥散作用获取营养, 瘤体直径达到 2mm, 细胞数达到 10^7 左右, 其继续生长就必须由新生血管来提供足够的氧及营养物质^[1]。自 1971 年 Folkman^[2]首次提出肿瘤的生长和转移具有血管依赖性之后, 肿瘤血管生成的调节机制和抗血管生成研究得到广泛关注。

1 肿瘤与血管生成

目前认为, 肿瘤的发生、发展与血管生成一般需要经过以下几个阶段: (1) 肿瘤很小 ($< 2\text{mm}$), 无血管, 通过弥散作用汲取营养, 此即血管前期 (prevascularphase)。 (2) 进入血管期 (vascularphase), 肿瘤诱导血管调节因子正平衡, 诱导内皮细胞增殖, 毛细血管出芽。 (3) 新生血管由周围的宿主血管长入, 肿瘤血管化, 迅速生长。 (4) 肿瘤细胞侵入新生血管并形成肿瘤栓子。 (5) 肿瘤细胞远处种植、转移, 重复血管生成过程^[3]。肿瘤的血管生成是一复杂过程, 其基本步骤为: (1) 肿瘤血管生成促进因子与血管生成抑制因子失衡, 血管生成促进因子主要包括血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、血小板源性生长因子 (PDGF) 等, 其中 VEGF 为主要的促血管生成因子, 在所有的血管调控因子中作用最显著; 血管生成抑制因子主要包括血管抑素 (angiostatin)、内皮抑素 (endostatin)、凝血栓蛋白 (TSP-1) 等。这两者的失衡导致血管生成表型 (angiogenic phenotype) 形成。 (2) 血管内皮基底膜的降解, 在血管内皮基质降解酶系统中基质金属蛋白酶系统 (MMPs) 发挥重要作用, MMPs 中以 MMP2 和 MMP9 研究最多, MMP2 被认为是肿瘤“血管生成开关”的一种调节因子。 (3) 内皮细胞向肿瘤组织迁移及在迁移中增殖。 (4) 内皮细胞管道化、分支化形成血管环。 (5) 形成新的基底膜。

2 中药抗血管生成研究现状

近年的研究表明, 某些抗肿瘤中药及提取的有效

成分和复方制剂显示出较强的肿瘤新生血管抑制作用。

2.1 中药单体抗肿瘤血管生成研究

人参皂苷 Rg³: 人参含有多种皂苷, 其中人参皂苷 Rg³ 对肿瘤诱导的新生血管形成有明显的抑制作用, 其分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_{13}$ 。王兵等^[4]研究结果表明, 人参皂苷 Rg³ 有抑制肺癌细胞诱导血管内皮细胞增殖的作用。耿怀成等^[5]发现, 来自肺癌细胞的条件培养液 (CM) 能刺激内皮细胞呈管状结构生长; 用人参皂苷 Rg³ 处理肺癌细胞后的 CM 对管状结构生长的刺激作用减弱。这一结果可能是因 Rg³ 下调肿瘤细胞血管形成因子的表达, CM 中血管形成因子含量减少所致。高勇等^[6]采用鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 方法观察了人参皂苷 Rg³ 作用后肿瘤新生血管的生长情况, 并利用 Lewis 肺癌模型探讨其在体内对肿瘤生长及肿瘤新生血管形成的影响, 结果表明, 人参皂苷 Rg³ 可明显抑制 Lewis 肺癌的生长, 其抑瘤作用机制部分是因为抑制了肿瘤的新生血管形成。辛颖^[7]的研究表明, 人参皂苷 Rg³ 对 B16 黑色素瘤的生长、转移有抑制作用, 提示人参皂苷 Rg³ 对肿瘤的生长及转移可能存在一定的抑制作用, 其抑瘤机制可能与抗血管生成相关。刘素勤等^[8]应用人参皂苷 Rg³ 的口服剂参一胶囊联合 NP 方案治疗晚期非小细胞肺癌; 白细胞减少发生率降低, 并可改善行为状况, 提高患者细胞免疫功能。

白及提取物: 白及提取物中含有较多的多糖类物质, 其主要成分为葡配甘露聚糖 (含 4 分子甘露聚糖及 1 分子葡萄糖), 在其结构上含有游历的醛基及 α 羟基酮。冯敢生^[9]将白及提取物与人肝癌细胞系 HepG2 细胞共同培养, 发现各组间细胞增殖率、凋亡率及上清液中血管内皮生长因子 (VEGF) 浓度差异无显著性意义, 但观察到经白及处理后的 HepG2 细胞上清液可以明显抑制 ECV-304 内皮细胞的增殖, 并且抑制率与白及的剂量成正比, 推测白及提取物可能通过影响肿瘤血管生成因子与其受体的结合而抑制血管生成。

姜黄素: 姜黄素是姜黄、莪术和郁金等姜黄属药用植物中的酚性色素成分, 以姜黄中的含量为最高, 主要含有 3 种主要成分: 姜黄素 I; 姜黄素 II, 即脱甲氧基姜黄素; 姜黄素 III, 即双脱甲氧基姜黄素 (Cur2 III)。3

种姜黄素单体(姜黄素 I、II、III)均具有确切的抗人内皮细胞和肺腺癌裸鼠移植瘤血管生成作用,其中姜黄素 III 最强,通过自分泌及旁分泌两种途径来抑制 VEGF 及其受体的表达^[10,11]。姜黄素及其衍生物具有抑制内皮细胞迁移和特异性地抑制内皮细胞增殖作用,起到抑制血管生成的作用^[12]。

去甲斑蝥素:去甲斑蝥素具有明显的抗癌作用。斑蝥素的化学合成比较困难,难以大量投入生产。相反,去甲斑蝥素易合成,具有类似抗肿瘤活性且毒性小,已经用于临床。莫日根等^[13]通过体外培养人脐静脉内皮细胞,应用细胞形态学、细胞生长曲线、噻唑兰还原法、DNA 琼脂糖凝胶电泳、流式细胞仪检测方法等研究去甲斑蝥素抗癌与抑制血管形成之间的关系,结果表明,去甲斑蝥素对体外培养的人脐静脉内皮细胞(HUEVC)有显著的生长抑制作用,药效呈时间依赖性,并在一定范围内与剂量呈正相关。而免疫组织化学法检测结果证明,去甲斑蝥素不仅能够降低 Bel-7402 肝癌细胞分泌血管内皮生长因子,而且能降低 VEGF 的特异性受体 FLK 的蛋白表达量;但对 HUVECFactor VII 相关抗原表达没有明显抑制,从而认为去甲斑蝥素抗肿瘤作用与其抑制肿瘤血管形成有关。

Bufalin:Bufalin 是从蟾酥中提取的抗癌有效成分。Lee DY 等^[14]以原代培养的牛主动脉内皮细胞在 I 型胶原蛋白三维培养基中生成的毛细血管样网络结构为模型,观察加入 Bufalin 对血管生成的影响,结果表明,5nmol/L Bufalin 即可显著抑制毛细血管的生成;FCM 分析可见血管内皮细胞阻滞于 G/M 期,细胞增殖受到抑制,从而认为 Bufalin 抗肿瘤作用与其抑制肿瘤血管形成密切相关。

昆布多糖硫酸酯:昆布多糖是一种广泛存在于褐藻中的中性葡聚糖,尤其在昆布属、海带属等植物体中含量丰富。昆布多糖在人工条件下可硫酸化为昆布多糖硫酸酯(laminarin sulphate, LAMS),LAMS 是 bFGF 附着的拮抗剂和 bFGF 依赖性细胞增殖的抑制剂。Hoffman 等^[15]发现,LAMS 的硫酸化程度越高,对 bFGF 的抑制作用越强,其抑制 bFGF 增殖的机制在于使 bFGF 不能与其亲和位点结合,干扰其信号刺激作用。因此,Hoffman 等认为,LAMS 能够干扰肿瘤组织中的 bFGF 的血管生成信号刺激,使肿瘤血管生成受阻。其同期研究还发现,LAMS 能抑制培养于基质膜材料 matrigel 上的内皮细胞形成管状结构,并且呈良好的剂量依赖关系,加入 3g/ml LAMS 可以阻止人微血管内皮 HMEC 细胞形成具有完整网络的管状结构;加入 30g/ml LAMS,HMEC 细胞则不能形成管状结

构。徐中平等^[16]用鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)模型研究 LAMS 对血管的抑制作用,结果显示,LAMS 的血管抑制活性明显大于苏拉明(CAM 形成的抑制率分别为 80%和 35%),但是其不良反应亦比较大。

槲皮素:槲皮素能够显著地抑制肿瘤生长,并且可呈剂量依赖性地抑制 VEGF 和 bFGF 诱导的 CAM 血管增生,由此表明,槲皮素具有抑制 VEGF 和 bFGF 的促血管生成作用。其机制在于槲皮素可通过抑制 HUVEC 的 DNA 合成和细胞分裂,阻滞细胞于 S/G₀ 期,从而抑制 HUVEC 的增殖^[17]。

青蒿琥酯:青蒿琥酯是倍半萜内酯类化合物青蒿素(artemisinin)的水溶性衍生物,临床用于治疗脑型疟疾和恶性疟疾等。青蒿素类药物的抑瘤活性在整体动物实验中已得到确证。近期体外实验发现^[18],该药对 HUVEC 的增殖、迁移和小管形成三个环节均有较强的抑制作用。在人卵巢癌裸鼠移植瘤模型中,青蒿琥酯能明显地抑制移植瘤的血管增生,下调肿瘤细胞分泌 VEGF 及其受体 KDR/flk-1。

雷公藤红素:雷公藤红素是我国首先从雷公藤根中提取出来的三萜色素类单体,具有明显抑制血管生成的作用^[19]。此外,中药单体还包括各种中药多糖、从红花中提取的羟基红花黄色素 A、乌索酸、鲨鱼软骨提取物等具有抑制血管生成的作用。

2.2 中药复方及注射剂抗肿瘤血管生成研究

参麦注射液:尹丽慧等^[20]采用 MTT 法检测参麦注射液对牛血清促进的牛内皮细胞、人肝癌细胞 SMMC-7721 增殖的影响;用琼脂糖刮除法检测参麦注射液对牛血清促进的牛内皮细胞迁移的影响;用 CAM 模型,观察参麦注射液对 CAM 血管生成的影响。发现其能够直接作用于内皮细胞,显著抑制内皮细胞的增殖与游走,是一种特异性内皮细胞生长抑制剂;同时参麦注射液抗迁移能力明显大于抗增殖能力。低剂量对 CAM 血管生成无明显影响,中、大剂量组具有显著抑制血管生长效应。

复方苦参注射液:复方苦参注射液为以苦参等中草药制成,具有多种抗肿瘤活性。研究证实,复方苦参注射液在化疗中能保护甚至增强机体免疫功能,联合化疗可提高临床疗效,降低化疗毒副作用。李敏等^[21]通过体内外实验发现低剂量复方苦参注射液体外可明显抑制 HUVEC 增殖和迁移,对 HUVEC 和肿瘤细胞具有明显差异细胞毒性作用,对鸡胚绒毛尿囊膜新生血管有明显的抑制作用。

薏苡仁注射液:由薏苡仁提取的薏苡仁油制成的薏苡仁注射液具有确切的抗肿瘤作用。研究发现,薏苡

仁注射液能明显抑制体外培养的大鼠主动脉环的新生血管生成,并且对S₁₈₀肉瘤有一定的抑制作用,可以下调 VEGF、bFGF 蛋白的表达,抑制肿瘤血管形成的作用明显,可显著抑制肿瘤生长^[22]。实验发现薏苡仁治疗组的S₁₈₀瘤体内微血管密度均明显低于对照组;免疫组化显示薏苡仁大、中剂量组均可下调 S₁₈₀ 瘤体内 VEGF、bFGF 的表达。有研究者采用薏苡仁注射液处理主动脉发现极少有新生血管,血管生成亦很快进入衰退期,对血管生成的抑制作用显著^[23]。

川芎嗪注射液:有研究探讨了川芎嗪注射液对小鼠 Lewis 肺癌生长和转移的影响及其与肿瘤血管生成和 VEGF 表达的关系。结果显示,川芎嗪对 Lewis 肺癌小鼠移植瘤生长有明显抑制作用,对肺转移也有明显的抑制作用。但丹参注射液则对 Lewis 肺癌小鼠移植瘤的生长和肺转移则无明显作用。另外,川芎嗪对 Lewis 肺癌移植瘤的血管密度(MVD)和 VEGF 的表达均有显著抑制作用^[24]。

3 问题与展望

肿瘤血管生成抑制剂与传统的化疗药物相比,具有许多优点,如不良反应少、不会产生耐药等。但这其中也存在着一些问题:(1)研究方法单一、抑制血管生成机制不明确,中药因其所含成分复杂,对肿瘤血管生成的影响有可能是多靶点、多层次的,既作用于相关的基因,又作用于相应的蛋白和受体。因此,对抗血管生成中药的研究应从分子水平、细胞水平、器官组织模型,以及肿瘤模型等不同层面入手,做系统全面的研究,而不是局限于某一方面。(2)临床研究较少,临床治疗疗效尚需进一步摸索和证实,其在临床作为血管生成抑制剂联合化疗有待进一步研究。(3)抗血管生成治疗目的在于切断肿瘤的血供,治疗周期一般较长,疗效评价不应以近期疗效为标准,因此,尚需抗血管生成治疗的疗效标准。

参考文献

[1]Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other disease. Nature, 2000, 407(6801) : 249~253.
[2]Folkman J. Tumor angiogenesis:therapeutic implications. N Engl J Med, 1971, 285(21) : 1182~1186.
[3]Hayes AJ, Li LY, Lippman ME. Science, medicine, and the future. Antivasular therapy: A new approach to cancer treatment. BMJ, 1999, 318(7187) : 853~856.
[4]王兵. 人参皂苷 R₃ 对肺癌诱导血管内皮细胞增殖的抑制作用. 中国新药杂志, 2002, 11(9) : 700~702.
[5]耿怀成. 人参皂苷 R_{g3} 抗肿瘤新生血管形成的实验研究. 医学研究生学报, 2002, 15(6) : 493~495.
[6]高勇, 王杰军, 许青, 等. 人参皂甙 R_{g3} 抑制肿瘤新生血管形

成的研究. 第二军医大学学报, 2001, 22(1) : 40~42.
[7]辛颖, 倪劲松, 王心蕊, 等. 20(S)-人参皂苷 R_{g3} 对 B16 黑色素瘤生长的抑制作用. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(6) : 604~607.
[8]刘素勤, 孙亮新, 班丽英. 参一胶囊联合 NP 方案治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察. 临床肿瘤学杂志, 2007, 12(11) : 847~849.
[9]冯敢生, 李欣, 郑传胜, 等. 中药白及提取物抑制肿瘤血管生成机制的实验研究. 中华医学杂志, 2003, 83(5) : 412~416.
[10]杨和平, 李剑明, 唐春兰, 等. 姜黄素活性单体成分抗血管生成的实验研究. 第三军医大学学报, 2005, 27(11) : 1068~1070.
[11]唐春兰, 杨和平, 李剑明, 等. 姜黄素Ⅲ对 A549 裸鼠移植瘤 VEGF 蛋白表达的影响. 第三军医大学学报, 2005, 27(9) : 831~833.
[12]沃兴德, 丁志山, 袁巍, 等. 姜黄素及其衍生物抑制肿瘤作用的实验研究. 浙江中医学院学报, 2005, 29(2) : 53~57.
[13]莫日根, 牛建昭, 王继峰, 等. 去甲斑蝥素对人脐静脉内皮细胞株的细胞毒作用. 北京中医药大学学报, 2001, 11(6) : 25.
[14]Lee DY, Yasuda M, Yamamoto T, et al. Bufalin inhibits endothelial cell proliferation and angiogenesis in vitro. Life Sei, 1997, 60(2) : 127~134.
[15]Hoffman R, Paper DH, Donaldson J, et al. Inhibition of angiogenesis and murine tumour growth by laminarin sulphate. Br J Cancer, 1996, 73(10) : 1183~1186.
[16]徐中平, 李福川. 昆布多糖硫酸酯的抑制血管生成和抗肿瘤作用. 中草药, 1999, 30(7) : 551~553.
[17]王晓庆, 梁中琴, 顾振纶, 等. 槲皮素抑制血管生成作用的实验研究. 中国药理学通报, 2004, 20(10) : 1161~1164.
[18]陈欢欢, 周慧君. 青蒿琥酯的抗血管生成作用. 药学报, 2004, 39(1) : 29~33.
[19]黄煜伦, 周幽心, 周岱, 等. 霄公藤红素抑制血管生成的实验研究. 中华肿瘤杂志, 2003, 25(5) : 429~432.
[20]尹丽慧, 丁志山, 高承贤, 等. 参麦注射液对血管生成影响的研究. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(10) : 761~763.
[21]李敏, 钱晓萍, 刘宝瑞. 复方苦参注射液联合热疗抗血管生成作用的实验研究. 实用临床医药杂志, 2007, 11(3) : 57~61.
[22]冯刚, 孔庆志, 黄冬生, 等. 薏苡仁注射液对小鼠移植性 S180 肉瘤血管形成抑制的作用. 肿瘤防治研究, 2004, 31(4) : 229~230.
[23]娄晓玲, 张良. 薏苡仁注射液对血管生成的影响. 肿瘤, 2000, 20(4) : 313~314.
[24]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. 中草药, 2004, 35(3) : 296~299.