

用药的换药次数,充分释药后不需除去,减少患者的疼痛。

另外,开展中药与胶原蛋白等组织工程生物材料结合的中药外用制剂新型给药形式的研究,是中医外治治则祛腐生肌的重要体现。外用中药和胶原蛋白既各自发挥祛腐、生肌作用,又相互协同促进对方更好的、多靶点的、发挥综合治疗作用,中药是通过祛腐使组织细胞再生,胶原蛋白和人体皮肤组织结构相似,作为皮肤组织生长的原料,直接参与生长以生肌,同时伴有血小板凝集功能,还有机械止血作用,协助中药祛腐,二者协同相辅相成,有利地促进病变皮肤愈合康复。

展望

外治中药与组织工程生物材料——胶原蛋白巧妙结合,充分体现“祛腐生肌”的传统中医理论,该给药形式借鉴了组织工程学原理,赋予了中药新的活力,提供了一种全新的给药模式,胶原蛋白加入到各个外用剂型中,即增加疗效又提高制剂稳定性,辅助成型,是治疗皮肤破损和溃疡为表征皮肤疾病的一种新尝试。

参考文献

- [1]詹晓平,陈思静,王钰文,等.促进药物经皮吸收的物理学方法研究进展[J].中国医药工业杂志,2007,38(2):135.
- [2]王海,丁杰.生肌散治疗伤口经久不愈的临床应用研究[J].辽宁中医药大学学报,2007,9(1):94-95.
- [3]顾其胜.胶原蛋白的临床应用[J].Chinese J Reparative and Reconstructive Surgery, 2006,20(10):1052.
- [4]史渭,高平,李剑,等.胶原蛋白海绵治疗褥疮疗效观察[J].医学理论与实践,2006,19(11):1321.
- [5]Harriger MD, Supp AP, Warden GD. Glutaraldehyde cross linking of collagen substrates inhibits degradation in skin substitutes grafted to athymic mice[J]. Biomed Mater Res, 1997, 35: 137-145.
- [6]陈晓东,袁即山,祁少海,等.胶原蛋白海绵在多种创面修复中的应用[J].中国临床康复,2004,32(8):7200.
- [7]王卉,郑玲,张凤英.胶原蛋白海绵治疗癌性皮肤溃疡的观察[J].中华护理杂志,2002,37(4):317.
- [8]卢晓林.胶原蛋白在医学中的应用研究现状[J].口腔医学研究,2009,25(6):806.
- [9]高智仁,许云波,祝卫,等.复方胶原凝胶在烧伤临床的应用62例报告[J].武警医学,1997,8(1):17.
- [10]李小华,何绮文,李斯明,等.胶原-氧氟沙星凝胶治疗褥疮的疗效观察[J].实用护理杂志,2003,19(3):49.
- [11]杨小红,李斯明,戴丽冰,等.胶原凝胶复合物治疗褥疮的临床研究[J].创伤外科杂志,2002,2(4):219.
- [12]阙华发,唐汉钧,王林扬,等.益气化瘀法促进慢性难愈性创面修复愈合的机制研究[J].中西医结合学报,2005,3(3):243.
- [13]纪珊.生肌玉红膏外敷治疗糖尿病足临床观察[J].辽宁实用糖尿病杂志,2003,1(4):47.
- [14]安凤敏.生肌玉红膏的制备及对烧伤修复的疗效分析[J].现代康复,2001,5(6):126.
- [15]姚昶,高卫卫,杨理,等.生肌玉红膏促进慢性体表溃疡愈合的实验研究[J].上海中医药大学学报,2009,23(6):29.
- [16]袁亮,李国栋,洪子夫,等.中医祛腐生肌法祛腐作用机理的实验研究[J].成都中医药大学学报,2007,3(2):45.
- [17]魏振东,郝泗城,孙建华.中药去腐生肌散等促进动物实验性皮肤溃疡修复作用的病理观察[J].天津医药,1990,18(9):547.
- [18]龚旭初,吴妮星,李虹,等.“去腐生新膏”治疗慢性皮肤溃疡临床与实验研究[J].江苏中医药,2006,27(1):23.
- [19]章学林,唐汉钧,黄灶华.复黄生肌膏促进伤口愈合作用的实验研究[J].天津中医,1997,14(2):75.
- [20]李应全,张萍,马剑峰,等.生肌愈皮膏的实验与临床研究[J].中国现代应用药学杂志,1998,15(2):3.
- [21]左倩虹.象皮生肌玉红膏治疗瘰疬[J].湖南中医杂志,2001,17(1):42.

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划基金资助项目(2008BAI53B073)

* 山东中医药大学药学院(250355)

通讯作者:代龙, dailongdailong@263.net; 13156189167

中药诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究进展

金文伟

凋亡(apoptosis)是由细胞凋亡相关基因启动的细胞程序化死亡过程,其与肿瘤的发生、发展及治疗密切相关,近10年来逐渐成为肿瘤学研究的热点。中医中药在肿瘤的综合治疗方面有其独特的优势,临床上不乏治疗肿瘤的有效中药和方剂,这些都对延长肿瘤患者的生存期、改善生活质量起到了很大的帮助作用,因此近年来人们对哪些中药能诱导肿瘤细胞凋亡及其如何诱导肿瘤细胞凋亡做了大量的实验研究,兹将这方面的研究进展概述如下。

1 选择目标中药的依据及近十年研究成果

笔者在分析了大量相关文献后将选择目标中药的依据大致分为临床经验、中医典籍和大量筛选。下面从这3个方面简单介绍一下近10年的研究成果。

1.1 临床经验

临床医家对肿瘤的治疗积累了丰富的经验,同时也总结了

许多验方。对这些验方的进一步研究无疑具有重要意义。孙静等^[1]报道益气养阴方治疗急性白血病的临床缓解率达70%,因此他们研究了益气养阴方治疗急性白血病的机制,结果表明,诱导白血病细胞凋亡是益气养阴方治疗急性白血病的重要机制之一。王玉荣等^[2]研究了肿瘤专家王泽时教授的临床验方——加味四君子汤抗肿瘤作用的机理,结果表明其作用机理可能是将细胞周期阻滞在G0-G1期,继而导致受阻滞的细胞发生凋亡。张巍等^[3]研究了辽宁中医药大学附属医院肿瘤科治疗肺癌的有效方剂——肺积宁方,结果表明肺积宁方能抑制人肺腺癌A549细胞增殖,其抑制作用可能是通过诱导细胞凋亡和下调VEGF表达来实现的。

1.2 中医典籍

中医典籍浩如烟海,其中记载了无数古代医家治疗肿瘤的有效方剂。近年来人们在继承的基础上对其中的一些方剂进

行了机理方面的探讨。徐晓焱等^[1]研究了桂枝茯苓丸,结果表明桂枝茯苓丸能够诱导肿瘤细胞发生凋亡。王迪等^[2]研究了逍遥散,结果表明逍遥散提取液可诱导人乳腺癌(MCF-7)细胞发生凋亡,其诱导细胞凋亡的机制可能部分是通过 caspase-3 途径。陈达理等^[6]研究了四君子汤,发现四君子汤可以显著抑制荷瘤小鼠肿瘤生长,证明有明显的抑瘤作用,但该方在体内没有诱导肿瘤细胞凋亡的作用,可能通过间接作用而发挥治疗效果。

1.3 大量筛选

我国学者近几年来进行了大量单味中药诱导肿瘤细胞凋亡的研究,到目前为止,已发现了许多种中药提取物在体外实验中有诱导肿瘤细胞凋亡的作用,并进一步研究了诱导凋亡的机制。马靖等^[7-8]建立了基于体外诱导肿瘤细胞凋亡的快速筛选体系,已从大量中草药中首次筛选发现甘草提取物诱导胃癌 MGC-803 细胞凋亡,其进一步研究发现^[9]甘草提取物还能选择性诱导肝癌 HepG2、肺癌 NSCLC 与宫颈癌 Hela 细胞凋亡,但对 BGC-823、SGC 等肿瘤细胞无明显诱导凋亡作用,并初步探讨了其诱导凋亡的分子机理。陈丽萍等^[10]探讨了白花蛇舌草提取液(HDE)诱导人肺癌 SPC-A-1 细胞凋亡的作用及初步作用机制,发现一定浓度的 HDE 对 SPC-A-1 细胞具有抑制增殖和诱导凋亡作用,其机制可能与相关基因 bcl-2 的调控有关。马玲娣等^[11]研究了苦参碱在体内外对小鼠 H22 肝癌细胞的诱导凋亡作用,发现苦参碱在体内外都对小鼠 H22 肝癌细胞表现出较强的抗肿瘤作用和诱导凋亡作用,促凋亡作用与其上调细胞内 Bax 表达,抑制 Bcl-2 表达有关。

2 实验研究的具体内容

2.1 研究药物的形式

有学者用中药提取物,如马玲娣等^[11]从中药苦参中提取有效成分——苦参碱,研究其对小鼠 H22 肝癌细胞的凋亡作用;亦有学者用药物血清,如刘春英等^[12]采用血清药理学方法研究肺癌平药物血清诱导 A549 人肺癌细胞凋亡。

2.2 细胞凋亡的检测

细胞凋亡的检测是基于凋亡细胞所形成的形态学和生物化学特征,特别是 DNA 的断裂。近年来细胞凋亡的检测方法主要有:形态观察法;凋亡形态主要表现在细胞皱缩、胞核固缩、染色质凝聚,并常伴有凋亡小体形成^[13]。通过应用各种染色法并借助倒置显微镜、透射电镜、扫描电镜等可观察到凋亡细胞的各种形态学特征。多数实验都用到了此方法,如陈婷梅等^[14]。DNA 琼脂糖凝胶电泳法;此法可检测 DNA 断裂的情况,其经典现象为在琼脂糖凝胶电泳中表现出“梯状”条带特征,这种梯状条带为细胞凋亡特征性指标。用此法者如孙静等^[15]。另外,MTT 法可测癌细胞生长抑制率;流式细胞仪法可检测细胞周期;AnnexinV-PI 双标法用以区分早期凋亡、晚期凋亡和坏死;Hoechst 荧光染色法可计数凋亡细胞数百分比;TUNEL 法即 DNA 断裂的原位末端标记法,用荧光素原位标记后可观察凋亡细胞。赵建平^[15]综合运用了这些方法。

2.3 分子机制的研究

细胞凋亡的分子机制涉及到 caspase 家族、caspase 抑制剂、Bcl-2 家族、p53 基因及其他信号传导途径。近年来对于细胞凋亡分子机制的研究,最多见的是免疫组化法检测 Bcl-2 蛋白及 Bax 蛋白的表达,马玲娣等^[11]、陈丽萍等^[10]、蒋时红等^[16]均采用了此法,结果为 Bcl-2 蛋白的表达水平下降,Bax 蛋白表达增强,表明各种药物诱导肿瘤细胞凋亡的机制与通过调控凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的表达有关。还有如王迪等^[2]用 caspases-3 特异性抑制剂预处理 MCF-7 细胞,再用逍遥散提取

液处理,结果可见,后者诱导的细胞凋亡作用被阻断,由此可以推断逍遥散提取液诱导 MCF-7 细胞凋亡依赖 caspases-3 途径。马靖等^[8]以双重免疫标记法和免疫组化法检测甘草提取物处理前后 p53 基因表达的变化,结果 p53 基因表达没有明显改变,提示甘草提取物诱导 MGC-803 细胞凋亡是通过 p53 非依赖型途径。马靖等^[9]又对胞内游离钙、线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)及原癌基因 c-fos、c-jun 与 c-myc 表达量的变化进行了研究,结果发现:胞内钙升高、 $\Delta\Psi_m$ 下降和 c-fos、c-jun 与 c-myc 蛋白表达上调参与甘草诱导肿瘤细胞凋亡的调控。袁淑兰等^[17]对细胞凋亡相关基因 Fas、Bcl-2、Bax、p53 和周期负调基因 p21 的表达进行检测,结果 Fas、Bax、p53 及 p21 表达明显增加,Bcl-2 表达明显降低,提示丹参酮 II A 诱导鼻咽癌细胞凋亡的作用机制可能与其诱导某些凋亡及周期调控相关基因的表达有关。

3 问题与展望

纵观近年来众多中药诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究,我们发现,不断有新的单味中药的有效成分或复方被证明具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用,这些研究成果给临床用药及新药开发提供了有力依据。但是在研究了大量相关文献后,笔者发现在研究方法和内容上仍存在一些不足之处。方法上如:各学者研究凋亡时所采用的实验方法多样且较随意,即便使用相同方法,其所用的动物、仪器、试剂等亦不相同。笔者认为如果能在统一的标准下,对中药诱导肿瘤细胞凋亡进行一系列定量研究,那么不仅可以说明某种中药具有诱导作用,还能获得公认的实验数据从而横向对比各种中药诱导作用的强弱,这样可能更有意义。此外,鉴于中医的“整体观”和“辨证论治”特色及中药的“多途径、多靶点”作用,笔者认为对复方的研究宜造模后在体内进行;单味中药的研究可先从体外开始,获得结果后可单独或合成复方进行体内探索。另外,体外培养的细胞与体内生长的细胞所处环境迥异,体内细胞所处的内环境较稳定且复杂,受到各种神经和体液因素的调节,而体外细胞所处环境相对较单一且易变,因此,从体外细胞所获实验结果不宜做与体内等等的推论。细节方面的问题,如在制备药物血清时,笔者认为,应结合药物的体内过程及药代动力学特点确定给药时间及采血时点,明确所得药物血清的血药浓度,在此基础上研究其诱导凋亡的作用,既能明确量效关系,又有利于重复和对比。

在研究内容上,对单味中药的研究较多,而对经典中的治法及相应的代表方剂的研究较少。目前已有实验研究的经方如桂枝茯苓丸,时方如四君子汤、逍遥散等;治法中对益气养阴法的实验研究较多,其他如健脾益气法等,对于温阳法等经典治法的研究基本上仍停留在文献及临床研究阶段。通过以上问题的探讨,我们可以对中药诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究作出如下展望:即在统一的实验标准、合理的实验方法、严密的科学思维条件下,继续单味中药的筛查研究,增加复方特别是经典治法及其代表方的研究。未来 10 年,国家经济将继续平稳较快发展,科研条件及水平在此基础上将得到进一步提升,因此,我们有理由相信,中药诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究必能再结丰硕果实。

参考文献

- [1]孙静,李震,王莉,等.益气养阴方诱导急性白血病细胞凋亡的实验研究[J].肿瘤防治杂志,2002,9(1):46-49.
- [2]王玉荣,王泽时.加味四君子汤诱导小鼠肿瘤细胞凋亡的实验研究[J].山西中医学院学报,2004,5(1):16-18.
- [3]张巍,殷东风.肺积宁方诱导人肺癌 A549 细胞凋亡及下调 VEGF 表达的实验研究[J].实用肿瘤学杂志,2007,21(4):331-335.

- [4]徐晓焱,韩彦龙,邓代千.桂枝茯苓丸诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究[J].医学综述,2008,14(16):2521-2522.
- [5]王迪,张虹,付士波.逍遥散诱导乳腺癌细胞凋亡实验研究[J].辽宁中医杂志,2009,36(3):472-473.
- [6]陈达理,黄涛.四君子汤对荷瘤小鼠抑瘤和诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究[J].山东中医杂志,2004,23(4):228-229.
- [7]马靖,庞大本,池旭生,等.药物诱导细胞凋亡时 DNA 检测技术的探讨[J].癌症,2000,19(8):828-830.
- [8]马靖,彭文烈,梁东,等.甘草提取物诱导胃癌 MGC-803 细胞凋亡的初步研究[J].中国中西医结合杂志,2000,20(12):932-934.
- [9]马靖,符乃阳,李玉梅,等.甘草提取物体外选择性诱导几种人肿瘤细胞凋亡[J].癌症,2001,20(8):806-811.
- [10]陈丽萍,杨香生,韦星,等.白花蛇舌草提取液诱导人肺癌 SPC-A-1 细胞凋亡的实验研究[J].江西中医学院学报,2005,17(6):53-55.
- [11]马玲娣,张彦,何於娟,等.苦参碱对小鼠 H22 肝癌细胞凋亡作用的实验研究[J].肿瘤,2007,27(8):602-606.
- [12]刘春英,井欢,郝宏党,等.肺癌平药物血清诱导 A549 人肺

- 癌细胞凋亡的实验研究[J].中国中医基础医学杂志,2004,10(9):37-39.
- [13]李岩松,康铁帮,梁念慈.懈皮素对 HL-60 细胞中 p53, bcl-2 基因表达的影响[J].中国药理学通报,1999,15(3):255-257.
- [14]陈婷梅,王亚平,陈地龙,等.人参总皂苷诱导 K562 细胞凋亡的实验研究[J].中草药,2003,34(3):235-237.
- [15]赵建平,王媛媛.人参多糖体外诱导人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2006,26(S1):95-97.
- [16]蒋时红,刘旺根,谢慧珺,等.3 种治法方药诱导 H22 荷瘤小鼠细胞凋亡的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(12):78-80.
- [17]袁淑兰,王艳萍,陈晓禾,等.丹参酮 II A 诱导人鼻咽癌细胞凋亡及其作用机制的体外实验研究[J].华西医科大学报,2002,33(1):84-86.

* 南京中医药大学第一临床医学院(215122)

子宫肌瘤中医研究进展

刘 勇* 王 蕊* 邢红梅*

子宫肌瘤为衍生自单个子宫肌层细胞的单克隆性良性肿瘤,生育期妇女患病率约为 20%~25%,并呈逐年上升的趋势^[1]。现就近年来中西医对子宫肌瘤的研究进展综述如下。

1 病因病机

子宫肌瘤属中医学“癥瘕”、“石瘕”或“月经过多”、“崩漏”等范畴。本病的发生多因素体正气不足,加之产后胞宫空虚,风寒之邪乘虚而入,滞留血脉,复遇长期不良情志刺激,导致脏腑功能失调,气血不和,使瘀血内停,积而成癥瘕。张晓^[2]分析子宫肌瘤的病因病机,以冲任受损、气血失和、血液瘀滞为本,综观脉证瘀血作祟、病程进展由实致虚。陈雪芬^[3]认为,子宫肌瘤的病机为瘀血内停,久蕴化热,伤津生燥所致。

2 中医辨证治疗

倪平^[4]自拟消积汤治疗子宫肌瘤 47 例(当归、熟地黄、川芎、赤芍、桃仁、红花、桂枝、三棱、莪术、海藻、穿山甲、水蛭),气虚型加党参、黄芪;血虚型加鸡血藤;气滞型加木香、枳实;痰湿型加二陈汤,结果治愈 24 例,显效 8 例,无效 3 例,总有效率 93.6%。羊菊芬^[5]从瘀论治子宫肌瘤,认为气滞血瘀是主证型,药用柴胡、赤芍、白芍、丹参、香附、莪术、三棱、夏枯草、炙鳖甲、昆布、海藻、鸡内金、石见穿。此外,又分 3 个兼证型。气虚血瘀型:用党参、黄芪、白术、赤芍、白芍、牡丹皮、三棱、莪术、制香附、昆布、海藻、穿山甲、鸡内金。阴虚血瘀型:用炙龟甲、赤芍、白芍、牡丹皮、三棱、莪术、鳖甲、海藻、昆布、制香附、生地、女贞子、墨旱莲。肾虚血瘀型:药用当归、赤芍、白芍、丹参、鹿角片、三棱、莪术、海藻、昆布、穿山甲、制香附、石见穿。每型之中,逢经期又各有加减。刘荣先^[6]自拟子宫丸(桃仁、赤芍、牡蛎、鳖甲、乳香、没药、三棱、莪术、红花、牡丹皮、三七),血热型加生地、地骨皮;血瘀型加蒲黄、五灵脂;脾虚型加白术、黄芪;肾阴虚加山药、龟甲胶;肾阳虚型加杜仲、肉桂,治疗 38 例,痊愈 21 例,好转 4 例,无效 3 例。

3 (中西医结合治疗)China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net
张秀珍^[7]益气活血,软坚散结加维生素治疗子宫肌瘤。内

服方党参、黄芪、白术、丹参、夏枯草、半枝莲、赤芍、莪术、仙鹤草、山楂、海藻、白花蛇舌草、贯众,随证加减,同时口服 VitC 0.2g,每日 3 次;VitE 100mg,每日 3 次;CoVitB2 片,每日 3 次,月经周期 5~14 天服,连续 3 个月经周期为 1 个疗程。治疗 21 例,肌瘤消失 16 例,缩小 1 例,不变 4 例。叶文贞^[9]采用三联法治疗子宫肌瘤。内服桂枝茯苓丸加乳香、没药。经净后连续滴注 500ml 联合复方丹参 8~10 支 15 天。康宁汤 II 号灌肠(紫花地丁、蒲公英、败酱草、丹参、白花蛇舌草、苦参根、益母草)。治疗 70 例,痊愈 52 例,好转 18 例。此外还有张主恩^[9]等中西医结合治疗子宫肌瘤 28 例,中药以桂枝茯苓丸为基本方加减,西药口服维生素 A、B₁、E,配合使用雄激素、益母草浸膏等,结果治愈 12 例,其中 9 例加用雄激素,3 例未加;好转 14 例,其中 8 例加雄激素;无效 2 例,均未用雄激素,疗程 96~284 天,加用雄激素者疗程明显缩短(28~42 天),症状改善也很明显。

总之,子宫肌瘤的病因多数学者认为,与卵巢功能失调、雌激素水平增高有关,同时与神经免疫系统的调节有关,在中医方面主要与气血瘀滞、痰湿内阻、肾虚血瘀等有关。以往对于有临床症状的子宫肌瘤患者主要用手术治疗,近年来纷纷报道采用中药治疗取得显著疗效,并且也有用西药治疗者。

参考文献

- [1]宋维汉,李骏,白昌民,等.13653 例子宫肌瘤病例调查与分析[J].中国妇幼保健,1994,9(4):53.
- [2]张晓.子宫肌瘤的病机及证治探讨[J].南京中医药大学学报,1999,15(3):137.
- [3]陈雪芬.861 消瘤片治疗子宫肌瘤 40 例临床观察[J].中医杂志,1995,35(10):611.
- [4]倪平.自拟消积汤治疗子宫肌瘤 47 例[J].黑龙江中医药,1999,(4):40.
- [5]羊菊芬.子宫肌瘤从瘀论治[J].南京中医学院学报,1994,10(2):49.