

## 粉防己碱抗肿瘤的作用及机制研究进展

刘锦裕<sup>1</sup>, 李永生<sup>2\*</sup>, 黄玉清<sup>1</sup>(1.福建医科大学协和临床医学院, 福州 350001; 2.福建医科大学附属协和医院, 福州 350001)

**摘要:** 目的 探讨粉防己碱在抗肿瘤方面的作用及其机制的研究进展。方法 检索、整理、归纳粉防己碱抗肿瘤方面作用的文献。结果 粉防己碱能抑制肿瘤的生长;并可通过抗氧化作用来降低肿瘤的发生率;还可通过去除放射引起的 G<sub>2</sub>/M 期阻滞从而产生放射增敏作用;此外还有减轻放、化疗不良反应的作用。结论 粉防己碱可通过多种机制来实现抗肿瘤作用。

**关键词:** 粉防己碱; 抗肿瘤; 逆转多药耐药; 凋亡

中图分类号: R285.6; R979.19

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)03-0205-04

### Progress of Research on Anti-tumor Effect and Mechanisms of Tetrandrine

LIU Jinyu<sup>1</sup>, LI Yongsheng<sup>2\*</sup>, HUANG Yuqing<sup>1</sup>(1.Union Clinical College of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China; 2.Union Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the progress in effects on anti-tumor and its mechanisms of tetrandrine. **METHODS** Literatures about the effects of tetrandrine on anti-tumor and its mechanisms have been reviewed and analyzed. **RESULTS** Tetrandrine can inhibit the growth of tumor cells. It also can reduce the incidence of tumor by antioxidation. Moreover, it can enhance the sensitivity to radiation by abrogating the G<sub>2</sub>/M arrest induced by X-ray. Finally, it can reduce the toxic reaction caused by radiotherapy and chemotherapy. **CONCLUSION** Tetrandrine plays a great important role in anti-tumor though several different kinds of mechanism.

**KEY WORDS:** tetrandrine; anti-tumor; reversion of multidrug resistance; apoptosis

粉防己碱(tetrandrine, Tet), 又名汉防己甲素, 是粉防己的主要有效成分, 它是从防己科植物粉防己的块根中提取的双苜基异喹啉类生物碱<sup>[1]</sup>。据研究, 粉防己碱具有消炎、镇痛、降压、抗矽肺、阻断钙通道等作用<sup>[2]</sup>。近年来研究表明 Tet 具有广谱抗肿瘤作用, 能抑制肝癌、乳腺癌、骨肉瘤等多种肿瘤细胞的生长, 其抗肿瘤的机制也是多种多样。本文就 Tet 抗肿瘤作用及其机制的国内外研究现状作一综述, 为抗肿瘤的深入研究奠定基础。

### 1 抑制肿瘤生长

#### 1.1 逆转多药耐药实现抑制肿瘤生长

多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生抗药性时, 同时对结构和作用机制不同的抗肿瘤药物产生交叉抗药性。Tet 是一种中草药逆转剂, 它能逆转肿瘤的 MDR。逆转机制主要有以下 2 种。

**1.1.1 逆转 P-gp 介导的 MDR** 肿瘤 MDR 的产生是由于多药耐药糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的过度表达引起的。P-gp 是一种由 MDR1 基因编码的依赖于 ATP 酶的能量泵, 它能将化疗药从细胞内转运到细胞外, 是肿瘤病人化疗失败的主要原因<sup>[3]</sup>。如果能抑制 P-gp 的功能或表达, 就能逆转 MDR。Shen 等<sup>[4]</sup>评定了 Tet 对获得性多药耐药的白血病细胞的逆转机制。白血病 K562 细胞分别用 0.6 mg·mL<sup>-1</sup>阿霉素、不同浓度的 Tet 和 0.6 mg·mL<sup>-1</sup>阿霉素共同处理 24 h。结果显示 0.6 mg·mL<sup>-1</sup>阿霉素作用后的 K562 细胞株 MDR1 mRNA 和 P-gp 的表达水平升高, P-gp 外泵功能增强, 细胞内罗丹明的蓄积降低。而 2 mg·mL<sup>-1</sup> Tet 作用后, 阿霉素诱导的 MDR1 mRNA 和 P-gp 的表达降低, 同时 P-gp 外泵功能减弱, 细胞内药物蓄积增多。单用阿霉素作用后白血病细胞 NF-κB 的 mRNA 和蛋白水平表达上升, 而 2 mg·mL<sup>-1</sup>

基金项目: 福建省科技计划项目(2007F3036)

作者简介: 刘锦裕, 男, 硕士生, 医师 Tel: 13075839042

E-mail: LiuJinYu027@sina.com

\*通信作者: 李永生, 副教授, 硕导

Tel: 13365910267 E-mail: lysdr163@163.com

中国现代应用药学 2011 年 3 月第 28 卷第 3 期

Chin JMAP, 2011 March, Vol.28 No.3

· 205 ·

Tet 和  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  阿霉素共同作用后,阿霉素诱导的 NF- $\kappa$ B 的 mRNA 和蛋白水平表达降低。表明了 Tet 能抑制阿霉素诱导的 MDR1 mRNA 和 P-gp 的表达,其机制可能与 Tet 降低阿霉素诱导的 NF- $\kappa$ B 的 mRNA 和蛋白水平的表达有关。

**1.1.2 逆转多药耐药蛋白1(multi-drugresistance1, MRP1)介导的MDR** Chen等<sup>[5]</sup>探讨Tet对人口腔上皮癌多药耐药细胞株耐KB-MRP1的逆转作用及其可能的机制。采用MTT法检测不同浓度Tet对KB-3-1、KB-MRP1细胞的增殖抑制效应。MTT法检测顺铂(DPP)、长春新碱(VCR)、阿霉素(ADM)、依托泊苷(VP-16)对KB-3-1、KB-MRP1细胞增殖的抑制作用及加用Tet时的变化,采用流式细胞仪检测细胞内ADM蓄积程度以及细胞凋亡。得出Tet可以逆转KB-MRP1细胞的MDR,逆转效果与药物浓度有关,逆转机制可能与增加细胞内化疗药物蓄积和增强化疗药物诱导的细胞凋亡有关。

## 1.2 诱导细胞凋亡实现抑制肿瘤生长

**1.2.1 线粒体凋亡途径** 线粒体途径是目前较为明确的凋亡信号转导途径,由于细胞因子不足,细胞脱离原来的环境或DNA损伤等诱发,由Bcl-2家族中促凋亡因子使细胞色素C从线粒体释放入胞浆,与Apaf1、ATP/dATP形成凋亡体,凋亡体活化Caspase 9前体,Caspase 9再激活下游的Caspase 3,从而导致细胞凋亡。Sun等<sup>[6]</sup>观察了Tet对CNE鼻咽癌细胞凋亡的影响,并探讨其诱导凋亡的机制。采用流式细胞仪和DNA电泳,分析细胞凋亡;利用RT-PCR检测加药前后Bcl-2和Bax基因表达水平差异。得出Tet可以诱导CNE鼻咽癌细胞凋亡,机制可能与其上调Bax基因表达和下调Bcl-2基因表达有关。

**1.2.2 外源性凋亡途径** 细胞外源性凋亡途径是由于死亡受体Fas的表达水平升高,与其配体结合,形成Fas三聚体,激活死亡结构域,募集FADD(fas-associated death domain)分子,形成死亡诱导信号复合物(detath-inducing signal complex, DISC),并激活形成死亡效应域,连接Caspase 8的DD区域,激活Caspase 8,启动Caspase的级联反应,最终导致细胞凋亡。Sui等<sup>[7]</sup>观察在Tet作用下,化疗诱导的小鼠MDR S180肿瘤细胞,细胞凋亡因子Fas表达水平明显升高,采用低于治疗剂量的联合化疗药造模,同时给予Tet 4周,流式细胞荧光检测Fas和细胞凋亡表达率。结果显示Tet明显增加凋

亡基因Fas表达率和细胞凋亡率。

## 1.3 抑制细胞增殖实现抑制肿瘤生长

吴浩等<sup>[8]</sup>观察Tet对人结肠癌细胞HT29增殖的影响,并初步探讨其作用机制,结果显示 $2\sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的Tet能明显抑制HT29细胞的增殖( $P<0.05$ )。其半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )约为 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。 $8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的Tet可以使细胞内游离钙离子浓度水平明显降低( $P<0.01$ )。不同浓度的Tet可使HT29细胞G1期或G2-M期明显增加,S期细胞明显减少( $P<0.01$ )。表明了粉防己碱通过抑制钙离子信号传递途径,使细胞周期进行受阻,可能是其抑制HT29细胞增殖的一个主要机制。

## 1.4 抑制血管的生成

血管生成是原发肿瘤的生长和转移的基础,肿瘤细胞从肿瘤血管获取营养,同时可通过肿瘤血管传播肿瘤。所以抑制血管新生可以成为治疗肿瘤的手段。血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是肿瘤血管新生过程中不可或缺的因子,能促进血管内皮细胞增殖,增加血管的通透性,诱导肿瘤组织的新血管生成,有利于肿瘤细胞进入循环<sup>[9]</sup>。Sun等<sup>[10]</sup>研究Tet对大鼠角膜新生血管缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )和VEGF表达的影响。得出粉防己碱能降低角膜新生血管HIF-1 $\alpha$ 和VEGF的表达。而VEGF对肿瘤血管的新生方面起着重要作用,故可得出Tet能抑制血管的生成。

## 2 通过抗氧化作用减少肿瘤的发生率

细胞的氧化反应及状态在肿瘤的发展过程中起重要的作用。肿瘤基因启动子能使细胞产生过多的被激活的氧或者使细胞缺乏清除氧的能力,氧造成的DNA分子的氧化损伤是产生突变和癌的始发原因<sup>[11]</sup>。Tet能清除DPPH自由基,能抑制过氧化氢等自由基对机体多种组织、细胞的损伤,从而减低肿瘤的发生。Zhang等<sup>[12]</sup>研究了Tet的体内外抗氧化作用,得出Tet具有良好的清除自由基、抗氧化作用。

## 3 放射增敏

近年来发现Tet能够提高肿瘤组织的放射敏感性,已经在结肠癌、脑胶质瘤、鼻咽癌等细胞株的研究中得到证实,其主要机制可能与Tet可以作为一种细胞周期关卡清除剂,去除放射引起的G2/M期阻滞有关。Sun等<sup>[13]</sup>探讨Tet在结肠癌中对X射线的增敏作用及机制。结果显示结肠癌HT-29细胞在受

到X射线照射后,明显阻滞于G<sub>2</sub>/M期; Tet可以清除这种阻滞, 并起到显著的增敏作用, 其增敏比为1.63。进一步研究显示, HT-29细胞在受到X射线照射后, 其Chk1蛋白表达水平升高, Cyclin B1表达水平明显降低, 分裂指数也明显降低; 在用Tet处理后, Chk1蛋白表达水平降低, Cyclin B1的表达水平明显增高, 分裂指数也增高。体内实验结果表明, Tet明显引起受照射小鼠结肠癌C26生长延缓。Tet与X射线联合使用组的肿瘤生长延缓天数是单用X射线组的1.63倍, 对照组的2.82倍。表明了Tet是一种细胞周期关卡清除剂, 体外和体内对X射线都有明显的增敏作用。Sun等<sup>[14]</sup>还研究了Tet与X射线对人乳腺癌细胞的作用和机制, 采用克隆形成分析法, 流式细胞术, Western Blot以及分裂指数法进行实验。结果显示在p53突变型MCF-7/ADR细胞中, Tet显著增加X射线的杀伤作用, 其增敏比为1.51; 在X射线照射后, 细胞明显阻滞于G<sub>2</sub>期, Tet可以降低这种阻滞。而在p53野生型MCF-7细胞中, Tet增加X射线的杀伤作用不明显, 增敏比为1.10; 在X射线照射后, 细胞阻滞于G<sub>1</sub>期, 部分阻滞于G<sub>2</sub>期, 加入Tet, 对于这种阻滞作用降低也不明显。进一步研究显示, MCF-7/ADR细胞在受到X射线照射后, 其Cyclin B1与Cdc2蛋白表达水平明显降低; Tet可以逆转X射线对Cyclin B1与Cdc2蛋白的表达的抑制作用。分裂指数结果显示Tet可以促使阻滞于G<sub>2</sub>期的MCF-7/ADR细胞进入M期。总之, Tet是一种G<sub>2</sub>期阻滞清除剂, 能显著增加X射线对人乳腺癌细胞的杀伤作用, 这种作用在p53突变型细胞中更明显。

#### 4 减轻放、化疗的不良反应

抗肿瘤化疗药物的不良反应, 已成为其临床应用以及提高疗效的主要障碍, 放射治疗也会产生一系列的不良反应。Tet同放射治疗、化疗相结合, 可以减轻它们的不良反应, 增强放化疗的效果。起到减毒增效的作用。Xu等<sup>[15]</sup>研究Tet对阿霉素诱导产生的大鼠心脏毒性的保护作用, 结果显示阿霉素能诱导大鼠产生心脏毒性。Tet和阿霉素联用组大鼠心脏的左室收缩压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、心室内压最大上升和下降速率( $\pm dp/dt \max$ )明显比单用阿霉素组的LVSP,  $\pm dp/dt \max$ 高( $P<0.05$ )。Tet能延长阿霉素作用后的大鼠的QT间期。Tet和阿霉素联用组的3氧耗率(S<sub>3</sub>)、呼吸控制比(RCR)和磷/氧比(ADP/O)比单用阿霉素组增加了28%, 48%和27%。表明了Tet能减少阿霉素诱导产

生的心脏毒性, 并能阻止阿霉素诱导的线粒体损伤途径。Tet还具有抗炎作用, 对放疗后的皮肤炎症具有一定功效。Chen等<sup>[16]</sup>通过动物试验验证经Tet治疗后Sprague-Dawley鼠会出现早期的急性放射性皮炎, 但与对照组相比明显减轻。在高剂量的放射条件下, Tet的治疗效果比Madecassol和凡士林更好, 组织学检查发现, Tet可通过抗炎作用减轻急性放射反应。此外Tet还具有抗心律失常的作用, 它能抑制窦房传导功能和自律性从而减慢心率, 能治疗化疗后引起的心律失常。从中医角度看, Tet具有利尿消肿的功效, 能减轻放、化疗后引起的水肿。

#### 5 结语

根据近年来对Tet的研究, 可知Tet可通过抑制肿瘤细胞的增殖、逆转肿瘤多药耐药、诱导肿瘤细胞的凋亡、抑制血管生成来实现对抗肿瘤生长的作用, 并可通过抗氧化作用来降低肿瘤的发生率。此外还有放射增敏和减轻放、化疗后不良反应的作用。其中抑制肿瘤细胞增殖主要与阻滞细胞周期的进行有关。诱导肿瘤细胞的凋亡主要通过内源性途径、外源性途径2条途径来实现的, 可能与上调促凋亡因子和下调抗凋亡因子有关。而逆转MDR的机制可能与Tet直接抑制P-gp的外泵功能和增加细胞内化疗药物的浓度等有关。减少肿瘤的发病率可能与清除DPPH自由基有关。放射增敏可能与Tet去除放射引起的G<sub>2</sub>/M期阻滞有关。

Tet毒性低, 不良反应少, 具有广泛的药理作用, 尤其在抗肿瘤方面具有显著作用。因此在临床上具有广阔的应用价值和发展前景。但目前Tet抗肿瘤作用的研究大部分局限于基础实验研究, 临床方面的研究尚未有报道。Tet在抗肿瘤治疗时的剂量和给药途径也有待进一步研究, 才能更好应用于临床。

#### REFERENCES

- [1] WANG L M, LV H Y, LI Q Y, et al. Progress of research on anti-tumor effect of tetrandrine [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(10): 2558-2559.
- [2] KWAN C Y, ACHIKE F I. Tetrandrine and related bis-benzylisoquinoline alkaloids from medicinal herbs: cardiovascular effects and mechanisms of action [J]. Acta Pharm Sin(药理学报), 2002, 23(12): 1057-1068.
- [3] TSURUO T, NAITO M, TOMIDA A, et al. Molecular targeting therapy of cancer: drug resistance, apoptosis and survival signal [J]. Chin J Cancer(癌症), 2003, 94(1): 15-21.
- [4] SHEN H, XU W, CHEN Q, et al. Tetrandrine prevents acquired drug resistance of K562 cells through inhibition of mdr1 gene transcription [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010,

- 136(5): 659-665.
- [5] CHEN X S, BAO M H, MEI X D. Reversing multidrug resistance of epidermoid carcinoma drug-resistant cell line KB-MRP1 by tetrandrine [J]. *Chin J Cancer(癌症)*, 2007, 26(8): 846-850.
- [6] SUN X C, XU R Z, DENG Y X, et al. Effects of tetrandrine on apoptosis and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2007, 39(11): 869-878.
- [7] SUI Z Y, SUN F J, LI G H, et al. The study of chemotherapy sensitizing effect of EGCG on two multidrug resistant carcinoma cell lines [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床)*, 2006, 22(1): 33-35.
- [8] WU H, LEI S. Effects of tetrandrine of proliferation of human carcinoma cells [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med(现代中西医结合杂志)*, 2000, 9(19): 1853-1855.
- [9] YOYSUNGNOEN P, WIRACHWONG P, BHATTARAKOSOL P, et al. Antiangiogenic activity of curcumin in hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2005, 33(2): 127-135.
- [10] SUN G L, ZHANG M C, CHENG L, et al. Effect of tetrandrine on the expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in corneal neovascularization of rats [J]. *Recent Adv Ophthalmol(眼科新进展)*, 2007, 27(2): 102-105.
- [11] HUANG J W. Progress of research on anti-tumor effect of curcumin [J]. *Gansu J Tradit Chin Med(甘肃中医)*, 2008, 21(1): 55-56.
- [12] ZHANG M, CAO W X, CHEN S L, et al. Anti-oxidative property of tetrandrine and its cardioprotective effects [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med(世界科学技术-中医药现代化)*, 2008, 10(3): 21-26.
- [13] SUN X C, WANG J J, ZHEN Y F, et al. Enhancement of radiosensitivity by tetrandrine is associated with abrogation with of cell cycle checkpoint [J]. *Chin J Radiol Med Prot(中华放射医学与防护杂志)*, 2004, 24(2): 99-101.
- [14] SUN X C, WANG J J, ZHEN Y S, et al. Potentiation of radiosensitivity by tetrandrine in human breast cancer cells and its mechanism [J]. *Chin J Radiol Med Prot(中华放射医学与防护杂志)*, 2003, 23(3): 160-162.
- [15] XU M, SHENG L, ZHU X, et al. Protective effect of tetrandrine on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats [J]. *Tumori*, 2010, 96(3): 460-463.
- [16] CHEN Y J, DAI Y S, CHEN B F, et al. The effect of tetrandrine and extracts of *Centella asiatica* on acute radiation dermatitis in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 1999, 22(7): 703-706.

收稿日期: 2010-07-23