

中医药治疗胆囊癌的实验研究进展

李朝燕 韩 晨 赵爱光

(上海中医药大学附属龙华医院肿瘤一科, 上海 200032)

摘 要 胆囊癌由于早期缺乏特异性表现, 诊断常被延误, 预后极差, 中医药是胆囊癌综合治疗的重要途径。中医药治疗胆囊癌的相关实验研究内容主要包括: 阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、抑制血管新生、抗细胞侵袭转移、诱导细胞自噬、逆转多药耐药、增强放疗化疗敏感性等。阐述中医药治疗胆囊癌的机理, 从而更好地为临床治疗提供参考。目前, 文献报道多以中药单体为多, 复方较少。如何在中医药理论指导下, 结合药理基础实验, 对中药复方抗癌机制进行深入研究是未来努力的方向。

关键词 胆囊癌; 中医药疗法; 实验研究; 综述

中图分类号 R273.58 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X (2019) 09-0086-04

基金项目 国家卫生计生委“重大新药创制”科技重大专项 (2017ZX09304-001); 恶性肿瘤等疾病示范性中药新药临床评价技术平台建设

胆囊癌是胆道系统常见的恶性肿瘤, 在消化道肿瘤发病率居第6位, 5年总生存率仅为5%, 每年全球发病率是2.2/10万人, 死亡率是1.7/10万人^[1-2]。发病的早期即出现肝脏和周围脏器的浸润与转移, 因而早期诊断率和手术切除率均较低, 放化疗治疗效果亦不佳。中医药在肿瘤治疗中有一定优势, 多项研究表明单独使用中药或中西医结合治疗胆囊癌具有确切的疗效。

古代文献中并无胆囊癌的具体病名, 关于胆囊癌的记载散在于“积聚”“胁痛”“肝胃气痛”及“黄疸”等门类中, 胆囊癌的形成与饮食、激素、细菌感染、胆囊结石等因素密切相关, 病机主要分为3类: (1) 情志失调。情志抑郁, 或暴怒伤肝, 使肝失条达, 气机阻滞, 脉络受阻, 气血郁积胆腑或湿热瘀结中焦日久而成积聚。(2) 饮食所伤。饮食不节, 嗜酒过度, 或虫积等损伤脾胃, 以致湿着郁而化热, 熏蒸肝胆, 胆汁不循常道, 湿热蕴结而发为肿块。(3) 久病正虚。由于胆囊慢性炎症, 或腺瘤、结石等长期不愈, 而致正气不足, 气血凝滞, 脉络瘀阻, 久则痰瘀互凝, 气血壅滞更甚, 逐渐化为肿块。

中医药治疗胆囊癌的实验研究主要集中在单味中药及中药有效成分抗癌作用机制方面的研究, 在阻滞细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭转移、诱导细胞自噬、逆转多药耐药、放化疗增效等方面作用显著。

1 阻滞细胞周期, 抑制肿瘤细胞生长与增殖

细胞周期调控异常可导致肿瘤无限增殖, 阻滞细胞周期是抑制肿瘤的重要途径之一。多项研究证明中药及中药活性成分可通过影响细胞周期调控因子的表达, 将其阻滞于静止期, 使DNA合成受阻, 从而抑制胆囊癌细胞的增殖^[3-6]。

细胞增殖周期分为G0/G1、S、G2/M阶段, 细胞周期蛋白(cyclin)和细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)对细胞周期进行正调控, cyclin在细胞周期中周期性表达变化, CDK在特定细胞周期时点激活或失活以调节细胞分裂的进行, 其正常与否与细胞的生长、分化、衰老及肿瘤的产生密切相关。和厚朴酚、木脂素、蔓荆子黄素可下调细胞周期蛋白cyclinD1和CDKs蛋白表达, 阻滞胆囊癌GBC-SD、SGC-996和NOZ细胞于G0/G1期^[7-9]。茶多酚下调cyclin A和CDK2的表达阻滞胆囊癌NOZ和OCUG-1细胞于S期, 从而抑制胆囊癌生长^[10]。醉茄素A下调细胞周期蛋白cyclinD1、CDK1的表达和上调cyclinB1、p21表达, 使细胞阻滞于G2/M期, 进而抑制GBC-SD细胞的增殖并诱导其凋亡^[11]。

细胞因子以及其他外界刺激亦可引起细胞增殖周期的异常, c-myc基因调控正常细胞的增殖和分化, c-myc异常调节转录过程导致生长因子和基因组的不稳定, 使细胞增殖失控, 从而促进肿瘤发生。白藜芦醇可下调Bcl-2、c-myc表达, 阻滞胆囊癌GBC

细胞于G0/G1期^[12]。白术内脂-1下调p-JNK蛋白和p-Smad3L、c-Myc蛋白表达,剂量依赖性诱导胆囊癌NOZ和EHGB-1细胞周期阻滞在G0/G1期,通过调节JNK-p-Smad3L-c-Myc信号通路而发挥抗肿瘤增殖作用^[13]。

2 诱导细胞凋亡

中药可通过调控凋亡细胞相关蛋白及基因的表达诱导凋亡,程序性细胞死亡因子、Bcl-2家族、Caspase家族、p53基因、Survivin基因等是目前凋亡研究的热点。

熊果酸能上调Bax、PARP、Caspase-3表达及下调Bcl-2表达诱导胆囊癌GBC-SD和SGC-996细胞凋亡^[14]。人参皂苷可上调p53、p21蛋白表达,诱导胆囊癌NOZ和GBC-SD细胞线粒体途径的细胞凋亡^[15]。隐丹参酮可通过下调Survivin表达,上调caspase-3的表达诱导胆管癌HCCC-9810细胞凋亡^[16]。杨梅素通过调控Bax、CytC、PARP及Bcl-2蛋白的表达诱导胆囊癌NOZ细胞凋亡程序的运行^[17]。

消癌解毒方由半枝莲、白花蛇舌草、漏芦、僵蚕、蜈蚣、太子参等药物组成,是周仲瑛教授“癌毒”理论指导下的抗癌验方。李广林等^[18]研究发现消癌解毒方通过抑制Ki67的表达,上调Fas的表达促进胆囊癌细胞凋亡。华蟾素有效成分为蟾蜍毒素类,华蟾素注射液可上调Fas及caspase-3 mRNA的表达以诱导人胆管癌QBC939细胞凋亡^[19]。

多条信号转导通路参与中药诱导胆囊癌细胞凋亡的调控,薯蓣皂苷通过ROS介导的PI3K/Akt信号通路诱导胆囊癌NOZ和SGC996细胞凋亡^[20]。黄芩苷和冬凌草可抑制NF- κ B核易位和增加Bax/Bcl-2比率,从而诱导胆囊癌NOZ和SGC996细胞凋亡^[21-22]。

3 影响细胞侵袭转移

侵袭和转移是肿瘤恶性生物学行为的特征性表现,抑制癌细胞的侵袭和转移是抗肿瘤治疗的关键。去甲斑蝥素可抑制人胆囊癌GBC-SD细胞的侵袭运动能力,且对移植瘤周围侵袭和远处肺转移亦有明显抑制作用^[23]。虫草素抑制胆囊癌细胞的增殖和迁移,其机制可能与调控ERK1/2、Ezrin和Akt信号通路有关^[24]。

基质金属蛋白酶(MMPs)是降解细胞外基质的主要酶系。汉黄芩素通过下调MMP2、MMP9和ERK1/2的表达抑制胆囊癌GBC-SD细胞侵袭和迁移^[25]。黄芩苷通过下调细胞内ZFX的表达水平,下调MMP2和MMP9的表达,抑制胆囊癌细胞侵袭转移^[26-27]。苦参碱能够降低胆囊癌患者血清及胆囊组织中MMP-7、p-STAT3及E-Cad水平从而抑制侵袭转移^[28]。

MMPs和TIMPs是调节细胞ECM和BM完整性的重要因素,与肿瘤的侵袭转移密切相关。去甲斑蝥素通过抑制PCNA、Ki67表达抑制人胆囊癌GBC-SD细胞增殖,同时下调MMP2表达,上调TIMP2表达,使MMP2/TIMP2比值下降,从而降低细胞外基质和基底膜的降解和破坏,抑制胆囊癌GBC-SD细胞的侵袭转移^[29-30]。

翻译调节肿瘤蛋白(TCTP)与肿瘤的转移有关,双青蒿素作为一种有效的TCTP的抑制剂,通过减少细胞分裂周期蛋白42(Cdc42)的激活,抑制胆囊癌细胞的入侵及迁移,体内实验亦证实在异种移植的小鼠中,使用双氢青蒿素可降低胆囊癌细胞的转移,提高小鼠的存活率^[31]。

4 抑制肿瘤新生血管生成

肿瘤新生血管形成是肿瘤发生侵袭和转移的最直接途径,VEGF及其与相应受体的结合是启动血管生成的重要信号。丹参酮II A通过下调胆囊癌HCCC-9810细胞内VEGF mRNA和蛋白的表达而抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移^[32]。去甲斑蝥素可改变血管内皮细胞PCNA/凋亡比、下调血管生成因子VEGF、Ang-2和上调血管抑制因子TSP、TIMP2表达而抑制胆囊癌GBC-SD细胞的肿瘤血管生成^[33],同时去甲斑蝥素可降低体内外与血管生成拟态信号相关标记的表达,通过抑制PI3K/MMPs/Ln-5 γ 2信号通路控制胆囊癌GBC-SD细胞的侵袭和转移^[34]。

5 诱导细胞自噬

细胞自噬(Autophagy)是发生病变的细胞器或损坏的蛋白被自噬小泡包裹,进入溶酶体降解而引发的细胞死亡过程。近年来细胞自噬已成为肿瘤治疗的靶标。刘小庆^[35]研究发现虫草素使自噬相关标记物Beclin1蛋白的表达增强,通过诱导细胞自噬来抑制胆囊癌SNU308细胞增殖。

6 逆转多药耐药

多重耐药(MDR)与细胞膜蛋白异常、酶表达异常等因素有关,涉及多种转运蛋白和凋亡通路,是导致胆囊癌化疗失败的主要原因。虫草素通过抑制mTORC1的活化,下调MDR/HIF-1 α ,经AMPK激活胆囊癌GBC-SD细胞信号,从而使胆囊癌GBC-SD细胞凋亡^[36]。

耐药基因ABCG2的过度表达不仅是侧群(SP)细胞的关键标记,也是维持干细胞特性的重要因素。大黄素通过提高ROS水平以增强其细胞毒性,与顺铂联用可显著下调SP细胞中ABCG2的表达及异种移植瘤ABCG2的mRNA水平,从而提高顺铂对胆囊癌SP细胞的敏感性,以抑制胆囊癌干细胞多药抗性的形成^[37]。

7 增强放疗敏感性

放疗是胆囊癌治疗的主要方法,中药与放疗具有协同治疗的作用,可提高胆囊癌细胞对化疗药物的敏感性,增强药物诱导肿瘤细胞凋亡的能力。

雷公藤甲素可增强氟尿嘧啶对人胆囊癌NOZ细胞的生长抑制作用^[38]。虫草素可增加胆囊癌细胞对吉西他滨和5-FU化疗的敏感性,其机制与AMPK活化和MDR降解有关^[36]。淫羊藿通过抑制NF- κ B表达,诱导胆囊癌GBC-SD和SGC996细胞凋亡,增强吉西他滨的抗肿瘤活性^[39]。As₂O₃对离体人胆囊癌细胞有放射增敏作用,经As₂O₃处理的细胞Dq值下降,放射增敏比为1.5131,可有效地抑制细胞亚致死性损伤的修复能力,增强胆囊癌GBCSD细胞对射线的敏感性。

8 结语

胆囊癌是最常见的胆道系统肿瘤,其形成是一个多因素、多步骤、多层次的过程,在胆囊癌的综合治疗中中医药正发挥着越来越重要的作用。近年来,随着研究的不断深入,中医药抗胆囊癌治疗的机理研究已深入到细胞和分子水平,虽然取得了一定的进展,但研究多局限于基础研究阶段,对其作用机制研究较少,例如诱导凋亡的具体途径和靶点仍不明确,自噬及抗胆囊癌细胞侵袭和转移、血管生成、免疫等其他方面的研究仍不多;研究多集中于体外研究,体内实验较少。因此,需要进一步从多方面阐明其抗肿瘤机制。目前,文献报道多以中药单体为多,复方较少。如何在中医药理论指导下,结合药理基础实验,对中药复方的抗癌机制进行深入研究是未来努力的方向。

参考文献

- [1] 董家鸿,王剑明,曾建平.胆囊癌诊断和治疗指南(2015版)[J].临床肝胆病杂志,2016,32(3):411.
- [2] SHAFFER E, HUNDAL R. Gallbladder cancer: epidemiology and outcome[J]. Clin Epidemiol, 2014: 99.
- [3] LI H F, WANG X, XIANG S S, et al. Oleanolic acid induces mitochondrial-dependent apoptosis and G0/G1 phase arrest in gallbladder cancer cells[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3017.
- [4] 陈月光. 茯苓酸对胆囊癌细胞的抑制作用及其机制的研究[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [5] LIU T Y, TAN Z J, JIANG L, et al. Curcumin induces apoptosis in gallbladder carcinoma cell line GBC-SD cells[J]. Cancer Cell Int, 2013, 13(1): 64.
- [6] 吴瑶诗, 黄缘, 董家鸿. 广藿香酮抑制人胆囊癌SGC-996细胞的增殖[J]. 肿瘤, 2017, 37(1): 50.
- [7] 边睿, 相闪闪, 江翰, 等. 厚朴酚体外抗胆囊癌作用及机制研究[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(2): 231.
- [8] LI M L, ZHANG F, WANG X, et al. Magnolol inhibits growth of gallbladder cancer cells through the p53 pathway[J]. Cancer Sci, 2015, 106(10): 1341.
- [9] SONG X L, ZHANG Y J, WANG X F, et al. Casticin induces apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest in gallbladder cancer cells[J]. Cancer Cell Int, 2017: 17.
- [10] WANG J, PAN Y, HU J, et al. Tea polyphenols induce S phase arrest and apoptosis in gallbladder cancer cells. Brazilian Journal of Medical & Biological Research, 2018, 51: (4).
- [11] 李旭, 王敏, 田锐, 等. 醉茄素A诱导人胆囊癌GBC-SD细胞凋亡及其可能的机制[J]. 肿瘤, 2013, 33(6): 502.
- [12] 胜利, 安利峰, 何焯, 等. 白藜芦醇抑制胆囊癌细胞生长与诱导细胞凋亡的实验研究[J]. 中药材, 2005, 28(6): 489.
- [13] 张宝明. 白术内酯-I通过JNK-pSmad3L-c-Myc信号通路在体内和体外抗胆囊癌活性研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2017.
- [14] WENG H, TAN Z J, HU Y P, et al. Ursolic acid induces cell cycle arrest and apoptosis of gallbladder carcinoma cells[J]. Cancer Cell Int, 2014, 14(1): 96.
- [15] ZHANG F, LI M L, WU X S, et al. 20(S)-ginsenoside Rg3 promotes senescence and apoptosis in gallbladder cancer cells via the p53 pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 969.
- [16] 陈春雷, 弓建华, 缪辉来, 等. 隐丹参酮对人胆管癌HCCC-9810细胞中Survivin基因表达的影响[J]. 广东医学, 2011, 32(23): 3028.
- [17] 周永斌. 杨梅素对胆囊癌NOZ细胞体外凋亡机制的实验研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2017.
- [18] 李广林, 张勇. 消癌解毒方对胆囊癌患者细胞增殖及凋亡的影响[J]. 西部中医药, 2015, 28(10): 101.
- [19] 宋艳丽, 章澈, 曹军华, 等. 华蟾素对人胆管癌细胞QBC939抑制作用研究[J]. 实用药物与临床, 2014, 17(9): 1087.
- [20] SONG X L, WANG Z, LIANG H B, et al. Dioscin induces gallbladder cancer apoptosis by inhibiting ROS-mediated PI3K/AKT signalling[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(6): 782.
- [21] SHU Y J, BAO R F, WU X S, et al. Baicalin induces apoptosis of gallbladder carcinoma cells in vitro via a mitochondrial-mediated pathway and suppresses tumor growth in vivo[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2014, 14(8): 1136.
- [22] BAO R F, SHU Y J, WU X S, et al. Oridonin induces apoptosis and cell cycle arrest of gallbladder cancer cells via the mitochondrial pathway[J]. BMC Cancer, 2014: 217.
- [23] 赵泽明, 范跃祖, 傅锦业, 等. 去甲斑蝥素对人胆囊癌侵

- 袭转移的体内外抑制实验研究[J].中华肿瘤杂志, 2005, 27(4): 221.
- [24] 刘特思, 吕游, 闫文帝, 等. 虫草素通过ERK1/2、Ezrin和Akt信号通路抑制胆囊癌细胞SNU-308的增殖和迁移[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(8): 1434.
- [25] 吴文广. 汉黄芩素抑制胆囊癌细胞GBC-SD迁移和侵袭机制的实验研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [26] LIU T Y, GONG W, TAN Z J, et al. Baicalein inhibits progression of gallbladder cancer cells by downregulating ZFX[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0114851.
- [27] 陈虹. 黄芩素对人胆囊癌细胞系SGC996细胞活力及细胞锌指X染色体蛋白表达的干预作用[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25(7): 640.
- [28] 张茜, 郑琪, 陈旭, 等. 苦参碱对胆囊癌患者血清及胆囊组织中MMP-7, p-STAT3及E-Cad水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(30): 5872.
- [29] FAN Y Z, FU J Y, ZHAO Z M, et al. Effect of norcantharidin on proliferation and invasion of human gallbladder carcinoma GBC-SD cells[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(16): 431.
- [30] 范跃祖, 傅锦业, 赵泽明, 等. 去甲斑蝥素对人胆囊癌GBC-SD细胞系MMP2、TIMP2和MMP2/TIMP2的影响[J]. 中华肝胆外科杂志, 2004, 10(7): 495.
- [31] ZHANG F, MA Q, XU Z H, et al. Dihydroartemisinin inhibits TCTP-dependent metastasis in gallbladder cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1): 68.
- [32] 周军, 郑军, 肖文波, 等. 丹参酮IIA对人胆管癌HCC-9810细胞增殖及VEGF表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(12): 1798.
- [33] 范跃祖, 陈春球, 赵泽明, 等. 去甲斑蝥素对胆囊癌肿瘤血管生成的作用及机制研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(10): 693.
- [34] ZHANG J T, SUN W, ZHANG W Z, et al. Norcantharidin inhibits tumor growth and vasculogenic mimicry of human gallbladder carcinomas by suppression of the PI3-K/MMPs/Ln-5 γ 2 signaling pathway[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 193.
- [35] 刘小庆. 虫草素对胆囊癌细胞增殖及迁移的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2016.
- [36] WU W D, HU Z M, SHANG M J, et al. Cordycepin down-regulates multiple drug resistant (MDR) /HIF-1 α through regulating AMPK/mTORC1 signaling in GBC-SD gallbladder cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(7): 12778.
- [37] LI X X, DONG Y, WANG W, et al. Emodin as an effective agent in targeting cancer stem-like side population cells of gallbladder carcinoma[J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(4): 554.
- [38] 付振贺, 黄超君, 谢从景, 等. 雷公藤甲素体外增强氟尿嘧啶诱导人胆囊癌细胞NOZ凋亡作用的研究[J]. 药学服务与研究, 2018, 18(4): 252.
- [39] ZHANG D C, LIU J L, DING Y B, et al. Icariin potentiates the antitumor activity of gemcitabine in gallbladder cancer by suppressing NF- κ B[J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(2): 301.
- 第一作者: 李朝燕(1985—), 女, 医学博士, 主治医师, 中西医结合临床专业。
- 通讯作者: 赵爱光, 医学博士, 主任医师, 博士研究生导师。aiguangzhao@qq.com
- 修回日期: 2019-05-25
- 编辑: 傅如海

文末参考文献著录规则之文献类型和标识代码

根据国家标准GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》中的文末参考文献著录格式, 应在题名后注明“文献类型标识”, 各类文献类型对应的标识代码如下:

普通图书: M; 会议录: C; 汇编: G; 报纸: N; 期刊: J; 学位论文: D; 报告: R; 标准: S; 专利: P; 数据库: DB; 计算机程序: CP; 电子公告: EB; 档案: A; 舆图: CM; 数据集: DS; 其他: Z。

举例:

- (普通图书) 黄亚博. 新世纪江苏省中医药学科发展报告[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2012: 前言.
- (标准) 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 201.
- (期刊) 谈勇, 胡荣魁. 夏桂成国医大师调治复发性流产经验探赜[J]. 江苏中医药, 2015, 47(9): 1.
- (报纸) 周蔓仪. 109项中医药团体标准发布[N]. 中国中医药报, 2015-11-27(1).
- (学位论文) 毕承明. 肺癌证治规律文献研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- 更多参考文献著录规则及举例见本刊网站(www.jstem.cn)首页下载专区。