

- 列腺炎的临床观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, (15): 617- 618.
- [14] 付勇, 章海凤, 张波, 等. 热敏灸治疗慢性前列腺炎不同灸位 30 例[J]. 江西中医学院学报, 2012, 24(3): 34- 36.
- [15] 康明非, 章海凤, 付勇, 等. 热敏灸治疗慢性前列腺炎不同灸量方案的临床疗效评价[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(1): 125- 127.
- [16] 陈伊, 张庆. 膻穴热敏化艾灸法治疗慢性非细菌性前列腺炎的临床观察[J]. 现代诊断与治疗, 2008, 19(5): 280- 281.
- [17] 李世昌, 赵黎. 针刺与艾灸治疗慢性前列腺炎疗效分析[J]. 四川中医, 2011, 29(11): 112- 113.
- [18] 文翠芬. 针灸治疗慢性非细菌性前列腺炎的 168 例疗效观察[J]. 中外医学研究, 2011, 9(26): 38- 39.
- [19] 沈群, 陆菁. 针灸治疗慢性非细菌性前列腺炎疗效观察[J]. 上海针灸杂志, 2013, 32(7): 569- 570.
- [20] 陈仲新. 温针灸为主治疗慢性非细菌性前列腺炎疗效观察[J]. 中国针灸, 2009, 29(4): 275- 278.
- [21] 宋世庆, 赵树玲. 点刺放血治疗慢性非细菌性前列腺炎 62 例[J]. 中国针灸, 2010, 30(9): 744.
- [22] 周红军. 次髎、至阴穴刺血治疗慢性前列腺炎 32 例[J]. 上海针灸杂志, 2013, 32(10): 871.
- [23] 王燕, 魏若晶, 朱国栋, 等. 常规药物辅助耳穴贴压治疗慢性前列腺炎的临床研究[J]. 医学研究与教育, 2014, 31(6): 36- 40.
- [24] 陈胜辉, 陈伊, 姚文亮, 等. 长强敷贴治疗慢性前列腺炎疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 37(2): 229- 231.
- [25] 曹忠民, 温建余, 鲁明. 皮肤透药法治疗非炎症性盆痛综合征 94 例[J]. 陕西中医, 2010, 31(3): 322- 323.
- [26] 李俊. 川参通注射液穴位注射治疗慢性非细菌性前列腺炎的临床疗效观察[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 683- 684.
- [27] 贾天鹏. 穴位埋线治疗慢性前列腺炎 68 例临床观察[J]. 甘肃中医, 2011, 24(5): 48- 49.
- [28] 马永, 王祖龙, 孙自学, 等. 穴位埋线治疗湿热瘀阻型慢性盆腔疼痛综合征疗效观察[J]. 中国针灸, 2014, 34(4): 351- 354.

(责任编辑: 刘淑婷)

## 中药治疗淋巴瘤的实验研究进展

代兴斌<sup>1</sup>, 黄燕<sup>2</sup>, 孙雪梅<sup>1</sup>

1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029

[关键词] 淋巴瘤; 中药材; 蟾酥; 砒霜; 实验研究

[中图分类号] R286 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2016) 06-0252-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.06.112

近 40 年来, 中草药治疗淋巴瘤做了大量的研究, 取得了一定的成绩。通过综述近年中药治疗淋巴瘤的相关实验研究文献, 笔者发现夏枯草、黄芩、蟾酥、雷公藤、砒霜、金花茶、郁金/姜黄、牡丹皮、通关藤、附子、青蒿等单味中药或中药单体及中药复方等在体外实验中均显示出抗淋巴瘤作用。上述中药抗淋巴瘤的主要机制在于细胞毒性、免疫调节、抗血管新生、去甲基化等, 体现了中药抗淋巴瘤的多途径、多靶点优

势。努力发掘中药宝库, 研发天然抗淋巴瘤药物, 渐成为淋巴瘤治疗领域的研究热点, 具有广阔的前景。传统化疗药物存在疗效不确切、毒副反应大、价格昂贵等问题, 随着一批疗效确切、不良反应小的天然抗癌药物的应用, 探索新型天然抗肿瘤药物是目前肿瘤研究领域的热点。笔者将文献报道的中医药抗淋巴瘤的实验研究进行回顾分析, 重点总结药物的种类、作用效应及相关机制。

[收稿日期] 2016-01-20

[作者简介] 代兴斌 (1981-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 血液系统疾病。

## 1 夏枯草

夏枯草具有清火明目、软坚散结等作用,因其含有三萜类、甾体类、黄酮类、香豆素类多种活性成分,显示出明确的抗肿瘤活性<sup>[1-2]</sup>。不同浓度的夏枯草提取物作用于人B细胞淋巴瘤 Raji 细胞、T淋巴瘤 Jurkat 细胞 48 h 后均显示出增殖抑制作用(MTT法),二者的 IC<sub>50</sub> 分别为(18.01±0.92) μg/mL、(25.47±0.92) μg/mL;流式细胞术检测结果显示,夏枯草提取物在 15、20 和 25 μg/mL 浓度时对 Raji、Jurkat 细胞产生的早期凋亡率分别是(9.44±0.25)%、(21.68±0.46)%、(35.03±0.35)%和(4.06±0.14)%、(13.59±0.23)%和(22.92±0.20)%,在同一浓度条件下,前者早期凋亡率高于后者(P<0.01);琼脂糖凝胶电泳结果显示,随着药物浓度的提高,实验组细胞中 Bcl-2 蛋白的表达逐渐减弱,Bax 蛋白的表达逐渐增强,与空白对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05);在相同浓度下,Raji 细胞内 Bcl-2 蛋白的下降水平和 Bax 蛋白的升高程度均高于 Jurkat 细胞,差异均有统计学意义(P<0.05)。提示夏枯草提取物对淋巴瘤细胞具有抑制增殖、诱导凋亡的作用,对 B 细胞淋巴瘤的疗效可能优于 T 细胞淋巴瘤,其机制可能与调节 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达有关<sup>[3]</sup>。有学者<sup>[4]</sup>研究了夏枯草经水煎醇沉法制成的夏枯草注射液对 Raji 细胞增殖的影响和机制,该药对 Raji 细胞的增殖具有明显的抑制作用且呈剂量依赖性,IC<sub>50</sub> 为 0.118 mg/mL;形态学观察进一步证实了该药可诱导 Raji 细胞的凋亡;免疫细胞化学研究显示,药物在 50 mg/mL 浓度作用 48 h 后,Raji 细胞的 Bcl-2 蛋白表达水平升高,Bax 蛋白的表达水平减弱,与对照组比较,差异有统计学意义(P<0.01)。

## 2 黄芩

黄芩味苦,性寒,能清热燥湿、泻火解毒、止血,主要含黄酮类化合物,如黄芩素、黄芩黄酮和黄芩甙等。Takashi 等<sup>[5]</sup>将黄芩粉末溶于二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide 或 DMSO)后用于包括淋巴瘤细胞(Daudi, Raji, Ramos, NCEB1)、白血病细胞和骨髓瘤细胞等 12 种恶性血液病细胞株,体外实验结果显示,该药对包括急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、骨髓瘤在内的多种淋巴系统恶性肿瘤具有较高的敏感性,对 3 种代表性细胞株的半数抑制浓度分别为:Nalm-6, 12.3 μg/mL; Daudi, 4.57 μg/mL; NCI-H929, 5.01 μg/mL。在 50 μg/mL 的浓度下作用 72 h 后进行细胞周期分析,结果各细胞的 S 期细胞比例明显减少,而处于 sub-G<sub>1</sub> 期的细胞数目明显增加。在同样浓度下作用 48 h, Nalm-6、Daudi 和 NCI-H929 三种细胞的早期凋亡率分别为 13%、14%和 10%,死亡率分别为 3%、8%和 28%。进一步研究发现,该药的作用机制在于:破坏肿瘤细胞的线粒体,对 Bcl 基因家族的调节,提高 CDK 抑制因子 p27 的水平,降低原癌基因 c-myc 的水平。同时质谱分析表明,黄芩含有 21%的黄芩苷,黄芩苷是黄芩抗肿瘤作用的主要活性成分。为提高黄芩的利用度,Wang 等<sup>[6]</sup>研制

了汉黄芩素磁性纳米颗粒,并对其抗淋巴瘤效果进行了研究,结果表明,该药物能够抑制细胞增殖,阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡。进一步的机制研究发现,该药物显著上调 Caspase-3 和 Caspase-8 的表达,survivin 和 cyclin-E 的表达明显降低。

## 3 蟾酥

蟾酥是中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍的耳后腺、皮肤腺所分泌的白色浆液的干燥品,吲哚碱衍生物为其主要有效成分。其水溶性提取物(蟾酥注射液)作用于淋巴瘤 U937 细胞 24 h 后可产生增殖抑制作用,光镜和电镜观察可出现核着边、核碎片和凋亡小体,琼脂糖凝胶电泳检测进一步验证了该药的诱导凋亡效果<sup>[7]</sup>。

## 4 雷公藤

雷公藤为卫矛科植物雷公藤的根、叶、花,其性凉,味辛苦,具有清热解毒、舒筋活血、祛风通络、消肿止痛的作用。雷公藤内酯醇是其重要活性成分,其作用于 Raji 细胞 24、48 和 72 h 后可产生 11.02%~81.05%的抑制率,这种效应呈时间和剂量依赖性;同时,可将细胞阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期;形态学观察可见胞体固缩、核碎裂及凋亡小体等细胞凋亡的特征<sup>[8]</sup>。雷公藤的作用机制比较复杂,药理研究表明<sup>[9]</sup>,该药可通过上调环氧化酶(Cyclooxygenase, COX)(前列腺素内氧化酶还原酶)-2 的表达而抑制 U937 细胞前列腺素(prostaglandins, PGs)-2 的合成,从而作用于机体的炎症、肿瘤等病理状态。

## 5 砒霜

砒霜是以毒攻毒中药的代表药物,其性热,味辛酸,有毒,主要有效成分是三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)。其抑制白血病细胞增殖、促进细胞分化、诱导细胞凋亡的作用已获得国际认可。为探讨 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对淋巴瘤血管新生的影响,钟璐等<sup>[10]</sup>应用实时荧光定量聚合酶链技术和酶联免疫吸附法检测了药物作用前后 Raji、Jurkat 细胞内 VEGF 基因和蛋白的表达,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 24、48 和 72 h 后两种细胞 VEGF 和 VEGF mRNA 的表达量均较给药前明显减少(P<0.01),且这种效应与药物作用的时间明显相关。据此可推测,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可通过阻断淋巴瘤细胞生长所需的血管条件而发挥抑制细胞增殖的作用。

还有学者以高度甲基化的淋巴瘤细胞株 CA46 作为研究基因甲基化和表达关系的实验对象,开展了 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 逆转该细胞 p16 基因甲基化状态和调节转录作用的实验研究<sup>[11]</sup>,结果显示,不同浓度的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 均能明显抑制 CA46 细胞的生长,明显增加 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞的比例;与对照组相比,药物作用 72 h 后 p16 基因的甲基化程度明显减弱,可逆转异常的甲基化现象,同时甲基转移酶 DNMT3A、DNMT3B 的表达明显下降,且呈浓度依赖性,DNMT1 的表达未出现改变。因此,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 具有细胞周期调控和抑制肿瘤细胞增殖的作用,主要机制在于抑制甲基转移酶 DNMT3A 和 DNMT3B 的表达,使 p16 基因去甲基化,恢复其活性。

## 6 金花茶

金花茶为中国广西地区常用草药,具有清热解毒、利尿消肿等功效。Peng等<sup>[12]</sup>从其中提取了一种新的酰化黄酮糖苷类化合物,并进一步验证了该化合物抗淋巴瘤的药理作用,在不同浓度下(10, 25, 50, 100, 200, 400 $\mu$ M)作用24 h后可对U937细胞产生不同程度的增殖抑制作用,IC<sub>50</sub>为140.1 $\mu$ M,流式细胞仪检测发现该化合物可增加U937细胞的早期死亡率,这种效应与其提高细胞内Caspase-3的活性有关。

## 7 郁金/姜黄

二者为同一植物的不同药用部位,均可活血散瘀和行气止痛,前者为姜科植物姜黄的块根,后者为其干燥根茎;前者性味辛苦寒,行气力强,且凉血,后者性味辛苦温,祛瘀力胜。二者均含有姜黄酮、姜黄素等多种抗肿瘤成分。榄香稀属我国开发研制的类非细胞毒性抗肿瘤药物,其本质是从温郁金中提取的抗癌有效成分,已广泛用于肿瘤的临床治疗。实验研究表明,不同浓度的榄香稀(15~40 $\mu$ g/mL)对B细胞淋巴瘤Raji细胞不仅具有生长抑制作用,而且具有诱导凋亡作用,均呈量效和时效关系;细胞周期分析显示,S期和G<sub>2</sub>/M期细胞的比例明显减少,而G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞的比例明显升高;体内研究证实,给予皮下荷瘤的SCID小鼠连续14天腹腔注射榄香烯(125 mg/kg),能产生明显抑瘤效果(肿瘤抑制率达75.36%),且具有良好的耐受性。尚有研究表明<sup>[13]</sup>,3.125~50 $\mu$ M的姜黄素作用24 h可显著抑制Raji细胞增殖(抑制率17.3%~88.48%),促进Raji细胞的凋亡,与浓度、作用时间呈正相关,而相同浓度的姜黄素对外周血单个核细胞(PBMNC)无显著抑制作用,提示姜黄素具有选择性细胞毒性。Western blot法定量测定姜黄素25 $\mu$ M作用24 h后Raji细胞Caspase-8和Caspase-9的表达,结果显示,给药组细胞Caspase-8和Caspase-9的表达高于对照组;姜黄素通过增强细胞死亡受体Fas的表达,激活Caspase-8,进而启动Caspase级联反应,激活线粒体下游Caspase-9效应酶,最终诱导细胞凋亡。

## 8 牡丹皮

牡丹皮为著名清热凉血、活血祛瘀中药,含有牡丹酚、芍药苷等多种成分,近年来发现的新成份没食子酸具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抑菌和保护心脑血管等多种药理作用。韩国的一项关于没食子酸免疫调节作用的研究发现<sup>[14]</sup>,没食子酸能够解除调节性T细胞(Treg)对CD4<sup>+</sup>T细胞效应因子的抑制作用,能够抑制Treg向肿瘤组织的趋化和迁移;经没食子酸处理后,Treg表面分子标记(CTLA-4、CCR4、CXCR4和TNFR)和Foxp3的表达均明显减少,说明没食子酸可以通过下调Treg转录因子Foxp3发挥对Treg的抑制效应;研究者进一步将其用于鼠源性T细胞淋巴瘤(EL4)的体内实验,结果发现,该药能够明显抑制小鼠淋巴瘤的生长,并延长小鼠的生存时间,但在Treg缺失的荷瘤小鼠的体内没有取得这种反应,由此说明没食子酸的抑瘤效应与其对CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的调节作用;没

食子酸能够显著降低荷瘤小鼠脾脏内CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg的数量,尤其是明显减少肿瘤浸润CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg的数量。上述结果表明,该药能够用于逆转免疫抑制,可以辅助肿瘤免疫治疗以提高综合治疗的疗效。

## 9 其他单味中药

如通关藤<sup>[15]</sup>、附子<sup>[16]</sup>、青蒿<sup>[17]</sup>等在体外实验中均显示出抗淋巴瘤的作用。

## 10 中药复方

透脓散源于明·陈实功的《外科正宗》,由黄芪、穿山甲(炒末)、川芎、当归、皂角针等组成,具有补益气血、托毒透脓的功效,为托毒溃脓之名方。实验研究表明<sup>[18]</sup>,该方可以抑制Raji细胞的增殖,这种抑制效应呈时间和浓度依赖性;在125、250和500 $\mu$ g/mL的浓度下作用48 h可导致(12.23 $\pm$ 1.98)%、(20.97 $\pm$ 3.96)%和(30.4 $\pm$ 4.87)%的凋亡率,与对照组(6.02 $\pm$ 1.01)%比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。分子机制研究提示,在250 $\mu$ g/mL的浓度下作用48 h即可以提高Raji细胞内NF- $\kappa$ B基因和蛋白的水平,而降低细胞内Bad、Caspase-9和Caspase-3 mRNA与蛋白表达。辽宁中医药大学附属医院的院内制剂千金逐水丸对人胃恶性淋巴瘤,小肠淋巴瘤、结肠恶性淋巴瘤裸鼠原位移植模型均具有抑制作用<sup>[19]</sup>。

以上可以看出,中医药对淋巴瘤的实验研究逐步深入,研究者多选择具有清热解毒、活血化瘀及补益正气等功效的中药进行抗淋巴瘤的实验研究,其中相关药物的单体或有效成分的研究占主要地位。值得注意的是,中药复方的研究不仅显示出确切疗效,而且相关的分子作用机理也逐渐清晰,这对传统中医药的发展具有更重要的意义。同时,研究的角度除了中药的细胞毒作用以外,还有免疫调节、抗血管新生、去甲基化等,也证实了中医药多途径、多靶点的作用模式和优势。当然,大部分中药对淋巴瘤起作用的有效成分或有效部位尚不明确,具体的分子作用机制也需要深入的研究阐明。

## [参考文献]

- [1] 刘悦,宋少江,徐绶绪.夏枯草的化学成分及生物活性研究进展[J].沈阳药科大学学报,2003,20(1):55-59.
- [2] 范云双,姚智,滕杰,等.绿升麻中具有抗肿瘤活性的三萜类化合物[J].中草药,2007,38(2):267-270.
- [3] 付晓瑞,孙振昌,张明智.夏枯草提取物诱导B、T淋巴瘤细胞凋亡的实验研究[J].中药材,2012,35(3):433-437.
- [4] 张可杰,张明智,王庆端,等.夏枯草对Raji细胞生长和凋亡相关基因蛋白表达的影响[J].中药材,2006,29(11):1207-1209.
- [5] Kumagai T, Muller CI, Desmond JC, et al. Scutellaria baicalensis, a herbal medicine: Anti-proliferative and apoptotic activity against acute lymphocytic leukemia,

lymphoma and myeloma cell lines [J]. *Leukemia Research*, 2007, 31 : 523- 530.

[6] Wang L, Zhang HJ, Chen BA, et al. Effect of magnetic nanoparticles on apoptosis and cell cycle induced by wogonin in Raji cells[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2012, 7 : 789 - 798.

[7] 李贵新, 徐功立, 姜夕锋, 等. 蟾酥注射液抑制淋巴瘤 U937 细胞增殖和诱导其凋亡的研究[J]. *中成药*, 2002, 24(11) : 854- 856.

[8] 蔡静怡, 杨志刚, 李庆华, 等. 雷公藤内酯醇抑制淋巴瘤 Raji 细胞增殖并诱导其凋亡的实验研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(8) : 1666- 1668.

[9] Tao X, Schulze- Koops H, Ma L, et al. Effects of tripterygium wilfordii hook f extracts on induction of cyclooxygenase 2 activity and prostaglandin E<sub>2</sub> production [J]. *Arthritis & Rheumatism*, 1998, 41(1) : 130- 138.

[10] 钟璐, 徐菲, 钟华, 等. 三氧化二砷抑制淋巴瘤细胞株血管内皮生长因子表达的研究[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2011, 20(5) : 272- 274.

[11] 周华蓉, 沈建箴, 付海英, 等. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 逆转人恶性淋巴瘤 CA46 细胞系 p16 基因甲基化状态及激活转录的实验研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18(2) : 403- 409.

[12] Peng X, Yu DY, Feng BM, et al. A new acylated flavonoid glycoside from the flowers of *Camellia nitidissima* and its effect on the induction of apoptosis in human lymphoma U937 cells [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2012, 14(8) : 799- 804.

[13] 吴青, 陈燕, 李新刚. 姜黄素影响 Caspase 8 和 Caspase 9 诱导淋巴瘤 Raji 细胞凋亡的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2005, 13(4) : 624- 627.

[14] Lee H, Lee H, Kwon Y, et al. Methyl Gallate Exhibits Potent Antitumor Activities by Inhibiting Tumor Infiltration of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Regulatory T Cells [J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(11) : 6698- 6705.

[15] 薛红利, 黄学娣, 何东, 等. 通光藤提取物对血液肿瘤细胞株增殖和凋亡的影响[J]. *四川大学学报*, 2012, 43(2) : 174- 179.

[16] 陈佩珏, 曾升平. 附子提取物诱导 B 淋巴细胞凋亡的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(6) : 454- 456.

[17] 陈均法, 张卓一, 姚斌莲, 等. 青蒿琥酯对 T 细胞淋巴瘤细胞株凋亡诱导作用的实验研究[J]. *中国中医药科技*, 2013, 20(6) : 603- 604, 615.

[18] Fang LH, Wang RP, Hu SY, et al. Tounongsan Extract Induces Apoptosis in Cultured Raji Cells[J]. See comment in PubMed Commons below *Chin J Integr Med*, 2012, 18(7) : 522- 528.

[19] 苏姿兵, 孙维刚, 潘淑云. 千金逐水丸对胃肠道恶性淋巴瘤的实验研究[J]. *实用中医内科杂志*, 2007, 21(2) : 25.

(责任编辑: 刘淑婷)



· 书讯 · 1. 欢迎购买《新中医》杂志合订本。合订本便于收藏, 易于查阅, 最有益于读者。1996 年每套 53 元, 1997 年、1998 年每套各 55 元, 1999 年、2000 年每套各 67 元, 2001 年、2002 年、2003 年、2004 年每套各 88 元, 2005 年、2006 年每套各 110 元, 2007 年、2008 年每套各 130 元, 2009 年、2010 年每套各 150 元, 2011 年每套 200 元, 2012 年、2013 年、2014 年每套各 230 元, 2015 年每套 250 元 (均含邮费)。欲购者请汇款至广州市番禺区广州大学城外环东路 232 号广州中医药大学《新中医》编辑部发行科 (邮政编码: 510006), 并在汇款单附言栏注明书名、套数。

2. 欢迎邮购以下书籍 中国秘方验方精选续集 (25 元)、岭南正骨精要 (15 元)、郁症论 (15 元)、儿童多动症 (25 元)、许小士儿科临床经验集 (13 元)、中药新用精选 (23 元)、简明中药成分手册 (58 元)、毒药本草 (90 元)、中医经典新探索与临床发挥 (15 元)、针灸精选 (23 元)、实用针灸临床处方 (15 元)、岭南针灸经验集 (42 元)、岭南中草药撮要 (45 元)、中药及其制剂不良反应大典 (48 元)、当代著名中医学家临床经验蒲辅周研究 (35 元)、岭南儿科双璧 (20 元)、外科专病中医临床诊治 (55 元)、消化科专病中医临床诊治 (60 元)、血液科专病中医临床诊治 (65 元)。购书款均含邮费。《新中医》编辑部