

槐耳的抗肿瘤实验研究及临床应用进展

贾艳会 综述,张剑白[△]审校(哈尔滨医科大学附属第一临床医学院儿内科 150001)

【关键词】槐耳; 肿瘤; 实验; 临床

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.055 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)07-0989-03

槐耳颗粒为药用真菌槐耳的提取物,其含有多糖、蛋白质、生物碱等多种有机成分及 10 余种矿物质元素,其中主要有效成分为多糖蛋白^[1]。现就其实验研究成果及其在临床应用中取得的实用价值进行综述。

1 槐耳抗肿瘤作用的实验研究

1.1 诱导肿瘤细胞凋亡

1.1.1 阻滞肿瘤细胞周期促进凋亡 现代生物科学对细胞周期调控机制的研究发现肿瘤是一类细胞周期性疾病。王家顿等^[2]用体外培养的急性淋巴白血病 Molt-4 细胞系与槐耳颗粒一起孵育,在分析细胞凋亡的周期时相性时发现槐耳能够诱导 G1 期的 Molt-4 细胞发生明显凋亡,且阻滞细胞停滞在 G1 期,从而促进细胞凋亡。崔洋等^[3]用槐耳作用于骨肉瘤 MG63 细胞发现槐耳可以使其阻滞于 G2 期,从而促进 MG63 细胞凋亡。另外有学者用槐耳诱导肺腺癌细胞 A549 显示槐耳可阻滞其由 S 期进入 G2/M 期^[4]。可见,槐耳可以不同程度地阻滞肿瘤细胞的细胞周期,进而发挥促进肿瘤细胞凋亡的作用。

1.1.2 对凋亡相关基因表达的抑制或上调 与凋亡相关的基因中 Caspase 家族参与细胞凋亡的主要是 caspase 3 和 caspase 7,它们降解 DNA 修复酶,导致 DNA 修复的抑制并启动 DNA 的降解。Bax 和 Bcl-2 分别是 Bcl-2 家族中促进凋亡基因和抑制凋亡基因。p53 是一种肿瘤抑制基因,很多肿瘤细胞的 p53 基因发生了突变或缺失。张光军等^[5]用槐耳与人肝癌细胞 MHCC97H 共同培养,检测肝癌细胞 Bax、Bcl-2 及 p53 基因的表达情况,发现槐耳可以使 MHCC97H 细胞的 Bax 及 p53 蛋白表达增强,而 Bcl-2 蛋白表达减少。吴志慧等^[6]论述了槐耳对于胃癌 SGC-7901 细胞有明显的增值抑制并发现槐耳可以使胃癌 SGC-7901 细胞的 survivin mRNA 表达下调。Survivin 是一种凋亡抑制蛋白,可以直接或间接抑制 caspase 3 和 caspase 7 的表达。另外有学者研究还发现槐耳可以诱导乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 的 Bax 及 p53 蛋白表达升高、Bcl-2 蛋白表达减少和 caspase 3 表达明显增强,从而促进乳腺癌细胞凋亡^[7]。综上所述槐耳可以通过抑制或上调肿瘤细胞凋亡的相关基因,发挥抗肿瘤的作用。

1.2 与化疗药物有协同作用 目前,肿瘤化疗药物单用及联合应用的总体效率有限,寻求一种高效低毒的化疗增敏剂以增强化疗疗效是目前迫切需要解决的问题。许多研究表明槐耳在肿瘤细胞抑制方面与其他化疗药物联用时具有协同作用。汪丽菁等^[8]研究结果显示槐耳与顺铂联用时 MKN45 细胞凋亡率显著高于槐耳及顺铂的单用。王运玉等^[9]论述了槐耳清膏和羟基脲单独应用均可抑制白血病细胞株 K562 细胞增殖并诱导其凋亡,均可下调 K562 细胞的 Bcl-XLmRNA 的表达,并上调 bax mRNA 的表达,而两药联合应用时以上作用更为

明显。

1.3 抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭 肿瘤转移是引起肿瘤患者死亡的关键因素。肿瘤转移是一个复杂的并受多因素调控的动态过程,其中上皮间质转化是许多肿瘤侵袭和转移早期的一个重要的环节。姜建武等^[10]检测发现槐耳处理结肠癌 SW480 细胞后 E-cadherin 在蛋白和 mRNA 水平表达均升高,而 twist,snail 和 vimentin 表达均降低,从而证实了槐耳可能是通过抑制上皮-间质转化有效抑制结肠癌 SW480 细胞侵袭转移。崔洋等^[3]同样论述了槐耳颗粒可以抑制骨肉瘤 MG63 细胞的迁移和侵袭能力。

1.4 逆转肿瘤细胞耐药性 肿瘤化疗失败的主要原因是肿瘤细胞对化疗药物产生了耐药性^[11-13]。耐药的分子机制主要包括靶基因突变和扩增、多重耐药基因的产生、药物进入肿瘤细胞内浓度减少等。因此,肿瘤耐药已成为当今治疗肿瘤疾病的一大难题。喻喆等^[14]论述了槐耳颗粒可以逆转人肝癌耐药细胞 BEL-7402/5-Fu 对氟尿嘧啶、表阿霉素和紫杉醇的耐药性。进一步检测发现槐耳作用后肝癌耐药细胞的 MDR1(多重耐药基因 1)及 P-gp(P-糖蛋白)表达明显下降。有研究还发现了槐耳能够逆转人乳腺癌耐药细胞株的耐药性,以及肺腺癌细胞对顺铂的耐药性^[15-16]。以上研究结果提示槐耳具有逆转肿瘤细胞耐药的作用。

1.5 提高免疫细胞的杀伤能力 机体的免疫应答过程十分复杂,尤其是在抗肿瘤的免疫反应中,既存在细胞免疫反应,又有体液免疫反应的参与。槐耳的有效成分多糖蛋白的抗肿瘤作用主要是通过使体内的免疫细胞活性增强,进而提高对肿瘤细胞的杀伤能力。多糖蛋白可以激活巨噬细胞、中性粒细胞、NK 细胞等,并且有促进 T 淋巴细胞分裂、增殖、成熟及分化等作用。活化的细胞又可以分别诱生出 α 、 γ 干扰素和 IFN- γ 、IL-2、IFN- α 、IL-1、CSF 等细胞活性因子。这些细胞活性介质一方面可以直接增强免疫活性细胞吞噬肿瘤细胞的能力,又可以相互协同作用增强免疫活性细胞对肿瘤细胞的杀伤能力^[17]。

1.6 抑制肿瘤血管形成 肿瘤血管形成包括血管扩张及通透性增加、内皮细胞增殖和迁移、管腔的形成三个步骤。其中血管内皮细胞的增殖和迁移是新生血管形成过程中的关键环节。内皮细胞增殖和迁移的过程受多种生长因子调控的,其中 VEGF 在肿瘤血管形成方面起着十分重要的作用。体外实验显示槐耳可以诱导骨肉瘤细胞及人脐静脉内皮细胞的 VEGF 蛋白表达明显减低,从而抑制血管的形成^[18]。Ren 等^[19]探讨了槐耳在动物体内是通过减少 VEGF 表达,从而抑制肿瘤新生血管生成,达到抗肿瘤的目的。

2 槐耳治疗肿瘤的临床应用

2.1 提高化疗药物的化疗疗效 修忠标等^[20]选择临床骨肉

[△] 通讯作者, E-mail: zjbhmu@126.com。

瘤患者多例,随机分为两组,治疗组为槐耳颗粒+ A-D-I 方案治疗,对照组仅为 A-D-I 方案治疗。临床随访观察治疗组临床缓解率较对照组显著提高,证实了槐耳能够增强骨肉瘤化疗药物的疗效。Ouyang 等^[21]通过观察槐耳联合化疗与单用化疗药物对消化系统恶性肿瘤患者显示联合化疗组较单独化疗组临床疗效明显升高,证实了槐耳与化疗药物联合应用能提高化疗药物的临床疗效。

2.2 减轻不良反应提高肿瘤患者的生命质量 选择一种即可以保证化疗质量,又可以减少不良反应、减轻肿瘤患者痛苦的化疗辅助药物尤为重要。Wang 等^[22]观察了槐耳联合多西他赛对老年晚期非小细胞肺癌患者可见加用槐耳颗粒组在恶心、白细胞减少、血小板减少、肝损害、肾损害等方面发生率明显减低,且加用槐耳后患者生活质量改善率显著提高。大量的临床观察显示槐耳在肿瘤治疗的应用过程中可以明显减轻其他化疗药物的不良反应。这可能与槐耳的无毒作用或不良反应轻微、能够提高细胞免疫及体液免疫的功能等有关^[23-24]。因此槐耳可以作为临床中一种理想的辅助化疗药物。

2.3 联合其他方法治疗肿瘤 经过文献查阅发现,槐耳同样可以联合放射治疗方法来治疗肿瘤疾病。梁贵文等^[25]就探讨了槐耳联合微波热凝固治疗原发性肝癌,观察显示在提高生活质量、改善疲乏、食欲缺乏、疼痛等主要症状方面优于单用微波热凝固治疗。Yuan 等^[26]也证实了槐耳配合伽玛刀治疗原发性肝癌可以明显增强患者的免疫功能。

2.4 优势与争议 槐耳虽然具有抑制肿瘤生长、增强免疫功能的双重作用,而且具有协同化疗、减轻化疗不良反应、改善全身症状、提高生存质量的初步优势。但是在对于移植术后关于免疫排斥反应方面存在着不同的观点。有人发现大鼠心脏移植术后用槐耳灌胃能够引发移植器官的损伤,促进移植排斥反应,缩短移植物的生存期^[27]。槐耳对原发性肝癌肝移植患者术后排斥反应的研究结论却为槐耳可以使免疫排斥反应发生率减低^[23]。因此需要更多的实验研究来探讨槐耳在免疫排斥方面的作用。

参考文献

- [1] 庄毅. 从槐耳的研发成功议菌物药(真菌药物)的发展创新[J]. 海峡科技与产业, 2014(10):92-101.
- [2] 王家顿, 谢大兴, 陈金明, 等. 抗癌药物诱导 Molt_4 细胞凋亡的周期时相性分析[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(9): 37-38.
- [3] 崔洋, 刘伟东, 史进, 等. 槐耳浸膏对骨肉瘤 MG63 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013(12): 5415-5419.
- [4] 黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏诱导人肺腺癌细胞 A549 凋亡的实验研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(8): 58.
- [5] 张光军, 郑起, 袁周, 等. 槐耳清膏体外诱导人肝癌细胞 MHCC97H 凋亡[J]. 肿瘤学杂志, 2010, 16(4): 281-284.
- [6] 吴志慧, 蒋建伟, 曹明溶, 等. 槐耳清膏诱导胃癌 SGC-7901 细胞凋亡的实验研究[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2009, 29(4): 370-373.
- [7] 汪丽菁, 谢华夏, 徐志远, 等. 槐耳清膏增加人胃腺癌细胞 MKN45 对顺铂敏感性研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 10(3): 868-871.
- [8] Zhang N, Kong X, Yan S, et al. Huaier aqueous extract inhibits proliferation of breast cancer cells by inducing apoptosis[J]. Cancer Sci, 2010, 101(11): 2375-2383.
- [9] 王运玉, 吴柱国. 槐耳清膏联合羟基脲对 K562 细胞增殖、凋亡及相关基因表达的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(3): 190-192.
- [10] 姜建武, 李小兰, 冷彦, 等. 槐耳颗粒在体外对结肠癌 SW480 细胞侵袭转移的影响[J]. 医药导报, 2015, 34(4): 455-458.
- [11] 夏红强. E-cadherin 在肿瘤组织的检测及意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2003, 8(6): 471-472.
- [12] 朱皓宇, 于晓红. Twist 基因在恶性肿瘤中的研究与进展[J]. 实用癌症杂志, 2012, 27(2): 215-217.
- [13] 潘燕, 韩婧, 张晔, 等. Vimentin 在肿瘤转移中的作用及药物研究进展[J]. 生理科学进展, 2010, 41(6): 413-416.
- [14] 喻喆, 吴涛, 张阳. 槐耳清膏体外逆转人肝癌耐药细胞 BEL-7402/5-Fu 多药耐药性[J]. 肿瘤学杂志, 2013, 19(6): 443-447.
- [15] 李戎, 谢莎, 张莉, 等. 槐耳颗粒逆转人乳腺癌细胞 MCF-7 耐药的初步机制[J]. 中国实用医药, 2009, 4(17): 1-3.
- [16] 黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏对耐顺铂人肺腺癌细胞系 A₅₄₉(DDP) 逆转的实验研究[J]. 中国药师, 2002, 5(9): 517-518.
- [17] 李立新, 叶胜龙, 王艳红, 等. 槐耳浸膏的实验研究及临床应用进展[J]. 中国肿瘤, 2007, 16(2): 110-113.
- [18] 何旭, 公伟勋, 王雁冰, 等. 槐耳清膏在体外抑制人骨肉瘤 Saos-2 细胞相关实验研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(2): 139-141.
- [19] Ren JZ, Zheng CS, Feng GS, et al. Effect of Huaier extract combined with chemoembolization on the expression of VEGF, MVD and hepatic function of rabbit VX2 hepatocarcinoma[J]. World Chin J Digestol, 2009, 17(5): 449-453.
- [20] 修志标, 朱夏. 金克对骨肉瘤的化疗增效及减毒作用的临床观察[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(1): 30-31.
- [21] Ouyang YH, Li BS, Yuan SQ, et al. Clinical observation of Huaier Granules for treating digestive system cancers in 102 cases[J]. Mod Med Health, 2011, 27(6): 814-815.
- [22] Wang HM, Liu SX, Liao GQ, et al. Huaier granule combined docetaxel for nonsmall-cell lung cancer in elder patients: a clinical study [J]. Eval Anal Drug-use Hosp Chin, 2011, 11(4): 356-358.
- [23] 黄炜, 严律南, 吴泓, 等. 槐耳颗粒在肝癌肝移植患者术后临床应用价值的回顾性队列研究[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(6): 547-551.
- [24] Ji DL, Mai DH. Effect of huaier granule on immunity and quality of life in patients with gastric cancer undergoing postoperative concurrent radiochemotherapy [J]. Bull Chin Cancer, 2010, 19(1): 73-76.
- [25] 梁贵文, 田华琴, 黄志庆, 等. 槐耳颗粒联合微波热凝固治疗原发性肝癌的疗效观察[J]. 内蒙古中医药, 2008, 33(22): 1-2.
- [26] Yuan L, Yang JQ, Pan GD. Curative effect of huaier com-

bined with whole body γ -knife on the immunological function in the patients with primary hepatic cancer (PHC)[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2010, 21 (3): 684-686.

[27] 黄致远, 陈义发, 朱鹏, 等. 槐耳颗粒对小鼠心脏移植物生存期的影响[J]. 临床外科杂志, 2008, 16(10): 688-689.

(收稿日期: 2015-10-25 修回日期: 2015-12-26)

• 综述 •

PIVKA-II 用于肝癌诊疗的研究进展

辛文瀚 综述, 罗 萍[△] 审校(成都中医药大学 610075)

【关键词】 人异常凝血酶原; 肝癌; 检验诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.056 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)07-0991-03

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其在我国的发病率和病死率居高不下, 且患者早期影像学检查不易发现, 实验室甲胎蛋白(AFP)检测特异性不高, 在鉴别诊疗方面存在一些自身缺陷。本文基于近几年国内外对 PIVKA-II 这一新型肝癌肿瘤标志物的临床研究进行梳理综述。

我国是肝炎大国, 每年由于慢性病毒性肝炎所导致的肝癌成为我国肝癌的主要成因, 肝癌在我国的发病率仅次于肺癌, 同时也是全球癌症死亡的首要原因, 诊出率位列世界第五^[1-3]。肝脏穿刺活检作为肝癌确诊的金标准, 虽然在诊断精准度上有着绝对的优势, 但由于患者依从性差, 且存在一定扩散癌变组织的风险, 目前临床对肝癌诊断手段主要采用影像学显影技术和肿瘤标志物检测。影像学检查在疾病的诊断和治疗中发挥着重要作用, 已成为了临床最大的证源。但是在肝癌诊断中影像学显影下出现肉眼可分辨的病灶区时病情已达中晚期居多, 这对患者的早期诊治意义不大。因此, 结合相关肿瘤标志物检测是当前临床用于提高肝癌诊疗水平, 达到早期诊断、判断病情进展和预后的重要手段。肿瘤标志物是一类由肿瘤组织或其刺激机体产生的异常物质, 临床常用生化、免疫学方法对其进行测定来反应肿瘤的发生发展, 判断患者预后情况。目前, 临床上用于肝癌诊断的肿瘤标志物主要有甲胎蛋白(AFP)、 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)、白细胞介素(IL)-6 和 IL-10 以及一些糖类抗原, 其中以 AFP 最为常用。资料显示在肝癌患者中 AFP 检测的灵敏度和特异性分别在 39%~64%、76%~91%, 其中约 40% 的肝癌患者 AFP 并不升高, 呈阴性^[4-5]。此外, 其水平的上调还常出现在许多慢性肝炎, 急慢性肝炎, 肝硬化以及其他肿瘤患者中。而其他几类肿瘤标志物由于缺乏组织特异性, 则只用于辅助诊断。因此, 进一步寻找灵敏度和特异性更高的新一代肝癌肿瘤标志物以提高肝癌的诊疗水平具有重要意义。

人异常凝血酶原(PIVKA-II)是通过维生素 K 缺乏或拮抗剂 II 诱导的蛋白质, 又称为右旋- γ -羧基-凝血酶原。相关研究认为, PIVKA-II 产生机制可能与患者肝脏维生素 K 缺乏导致的代谢异常, 使得存在于凝血酶原氨基末端附近的 GIa 区的 10 个谷氨酸在羧化作用不完全而形成的无凝血活性的异常凝血酶原^[6-7]。自 1984 年首次报道以来其在肝癌诊断中逐渐成为研究热点^[8-9], 本文复习梳理近年来国内外相关研究成果, 对 PIVKA-II 在肝癌的诊疗中的价值进行综述如下。

1 作为肝癌早期诊断和鉴别诊断的指标

肝癌的发生伴随着一个长期的病理改变过程, 患者常有多年的肝病史, 从慢性肝炎, 肝硬化最后转变为肝癌。精确的筛

查方法对于肝癌的早期诊断并与其他肝病的鉴别诊断显得尤为重要。朱宇等^[6]对 136 例早期肝癌和 56 例肝炎患者研究发现, PIVKA-II 水平在慢性肝炎组与早期肝癌组和中晚期肝癌组含量差异有统计学意义($P < 0.01$), PIVKA-II 随着慢性肝炎, 早期肝癌, 到中晚期肝癌的进展过程, 其含量呈逐步上升趋势。若以正常人群组做参考, 以 25.5 mAu/mL 作为 PIVKA-II 肝癌诊断的临界值时, 其灵敏度和特异性可以分别达到 84.6% 和 90.6%。PIVKA-II AUC 曲线下面积为 0.936 (95%CI: 0.908~0.964) 显著优于 AFP 曲线面积 0.848 (95%CI: 0.800~0.896)。文献^[10]对 1 255 例慢性乙肝和肝癌患者进行对比研究发现, 慢性肝炎, 肝硬化等良性肝病患者的 PIVKA-II 常不超过 40 mAu/mL, 而临床常用于诊断原发性肝癌的 AFP 常用 10 ng/mL 作为诊断肝癌的临界值, 对比二者检验效能发现 PIVKA-II 其独立检测的灵敏度和特异性分别到达 73.9%、89.7%。而 AFP 其灵敏度为 67.5%, 特异性为 90.3%。在特异性无显著差异的情况下, PIVKA-II 有效提高了鉴别诊断的灵敏度。文献^[11]对 90 例肝癌患者血清进行对比检测发现; 有 38 例(占总患者人数的 42.2%)患者 AFP < 20 μ g/mL, 这通常在临床诊断中并不会引起医师的注意, 而 PIVKA-II 以 40 mAu/mL 为临界值判断, 其检出灵敏度可以达到 95.9%。与此同时, 研究进一步发现, PIVKA-II 的血清水平在慢性肝炎急性加重和肝硬化的慢性肝病患者中不会升高, 而活动性肝炎和肝硬化患者体内 AFP 均有不同程度的升高, 因此 PIVKA-II 比 AFP 在肝癌的鉴别诊断中更具特异性^[12]。

近几年的研究还进一步揭示了 PIVKA-II 含量变化和肝癌进程的关系。文献^[13]研究者对 313 例原发性肝癌患者检测发现, 肿瘤直径 ≥ 5 cm 的患者 PIVKA-II 含量明显高于肿瘤直径小于或等于 5 cm 的患者 ($P < 0.01$)。同时 PIVKA-II 数值和肿瘤 TNM 分期呈正相关, TNM 1 期患者检测数值明显高于 2, 3 期患者 PIVKA-II 检测数值 ($P = 0.025$), 且同样以 40 mAu/mL 为临界值对患者进行检测, 总体阳性率达到 82.6%。综上所述, PIVKA-II 在肝癌诊断能力和鉴别诊断上有着自身独特的优势, 且 PIVKA-II 检测值在一定程度上和肝癌病程进展呈正相关, 这充分显示了 PIVKA-II 具有较好的临床应用价值。

2 作为肝癌预后监测的指标:

早期肿瘤的治疗多以手术配合放、化疗。通常临床在治疗肝细胞癌(HCC)时认为, HCC 直径小于 2 cm 预后良好^[14]。然而, 切除肿瘤组织后患者的预后和复发因素仍然不明确。通过对肝癌患者 PIVKA-II 的监测发现, PIVKA-II 对于预后判

[△] 通讯作者, E-mail: 842380596@qq.com.