

川芎嗪抗消化系统肿瘤机制的研究进展

李华^{1,2}, 卞尧尧¹, 杨丽丽¹, 周肸¹, 曾莉¹

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023; 2. 河北医科大学附属邢台市人民医院, 河北 邢台 054001)

摘要: 消化系统肿瘤严重威胁着我国居民健康, 其发病率和死亡率居于我国第二位。研发高效安全的抗肿瘤药物是目前亟待解决的问题, 植物类提取物的抗癌功效已逐渐成为研究热点。川芎嗪是活血药川芎的有效成分, 其抗肿瘤作用日渐受到关注。从影响肿瘤细胞增殖与凋亡、侵袭与转移、逆转耐药等方面对川芎嗪的抗肿瘤作用进行了综述, 为进一步探索川芎嗪在消化系统肿瘤中的抗癌机制研究和新药研发提供理论依据。

关键词: 川芎嗪; 消化系统肿瘤; 增殖; 转移; 化疗耐药

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-0482(2020)03-0424-04

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2020.0424

引文格式: 李华, 卞尧尧, 杨丽丽, 等. 川芎嗪抗消化系统肿瘤机制的研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(3): 424-427.

Research Progress on Anti-Tumor Effect of Ligustrazine in Digestive System Neoplasms

LI Hua^{1,2}, BIAN Yao-yao¹, YANG Li-li¹, ZHOU Xi¹, ZENG Li¹

(1. The First School of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Xingtai People Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Xingtai, 054001, China)

ABSTRACT: Digestive system neoplasms remain a major threat to residents' health in our country, with the second highest morbidity and mortality in China. Therefore, there is an urgent need for developing safe and effective anti-tumor drugs. The anti-tumor effect of plant extracts has gradually become a research focus. A growing attention has been paid to anti-cancer effects of Ligustrazine, which is the effective component of Chuanxiong. We reviewed the anti-neoplastic effect of Ligustrazine from the aspects of proliferation, apoptosis, metastasis, invasion and reversion of chemotherapy resistance in neoplasms of digestive system, providing a theoretical basis and foundation for further exploring the anti-cancer mechanisms of Ligustrazine and promoting the clinical application.

KEYWORDS: Ligustrazine; digestive system neoplasms; proliferation; metastasis; chemotherapy resistance

1 对消化系统肿瘤的认识

中医学讲究整体观, 认为人与自然界、社会环境都是一个有机整体, 这和目前所倡导的生物-医学-社会心理模式达到了耦合。中医对消化系统疾病的认识源远流长, 早在《黄帝内经》中就有相关记载, 如“饮食不下, 膈塞不通, 邪在胃脘”^[1]。消化系统肿瘤属于中医“噎膈”“反胃”“肠覃”“肝积”“锁肛痔”等范畴^[2]。随着历代医家学术思想的总结与治疗肿瘤经验的积累, 现已形成了系统且独特的理论体系和辨证论治思路。

消化道肿瘤与血瘀关系极为密切, 晚期常有明显的瘀血征象。除肿块、疼痛等表现外, 唇甲青紫、皮下瘀斑、皮肤甲错、呕血、黑便、形体消瘦、舌面瘀

斑等是消化系统肿瘤晚期常见的症状。这些表现为应用活血化瘀法提供了客观依据。活血化瘀方药具有促血行、利血脉、消癥结、除瘀血、止疼痛等功效。现代药理研究, 活血化瘀药除能直接抗癌外, 还可改善血液循环, 如降低血液黏度, 抑制血小板粘附, 抗凝促纤溶, 调整外周微循环功能等^[3]。这些作用显然对恶性肿瘤的治疗是有益的。

川芎是活血化瘀的常用中药, 近年来对川芎有效成分的研究主要集中于挥发油、酚类、内酯类、有机酸及生物碱等方面。目前关于川芎对恶性肿瘤侵袭与转移影响的研究越来越受到学术界的重视。

2 川芎嗪的研究概况

川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort, 原名芎穷,

收稿日期: 2019-10-22

基金项目: 国家自然科学基金(81673982)

第一作者: 李华, 男, 博士研究生, E-mail: lihua200626478@126.com

通信作者: 曾莉, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事中医外科临床与基础研究, E-mail: zengbingli@163.com

又称香果,为多年生草本植物,最早见于公元前一二世纪,在《神农本草经》中列为上品,其道地药材为四川灌县(今都江堰市)所产。据《本草纲目》记载,川芎味辛,性温,归肝胆、心包经,其功效为活血行气,祛风止痛,是一种以疏通血脉、促进血行、消散瘀血为主要作用的药物。川芎主要含生物碱(川芎嗪)、酚类(阿魏酸)、挥发油(藁本内酯)等物质。其中川芎嗪为主要活性物质,于1977年首次从川芎的根茎中提取、分离并结构鉴定,川芎嗪经人工合成并制成磷酸川芎嗪(TMPP)和盐酸川芎嗪(TMPH)2种针剂和片剂,在临床上广泛应用。自20世纪70年代陈可冀首先将其应用于缺血性中风至今,已有近50年的历史。川芎嗪作为一种新型的钙离子拮抗剂,具有抑制自由基产生、提高内源性超氧化物歧化酶活性、清除氧自由基^[4]、改善血液流变学、抑制血小板聚集、抑制纤维化、调节脂质代谢、抗脂质过氧化、镇静镇痛等药理活性^[5-7]。

3 川芎嗪在消化系统肿瘤中的抗癌机制

川芎除活血止痛外,在抗肿瘤方面亦发挥了一定的功效。川芎嗪的抗肿瘤作用与阻滞肿瘤细胞的细胞周期、抑制肿瘤细胞的增殖、诱导肿瘤细胞凋亡和自噬、抑制新生血管生成、抑制肿瘤细胞粘附和侵袭、逆转肿瘤细胞多药耐药等多种途径相关。本文总结目前文献报道的川芎嗪在消化系统肿瘤中的抗癌机制,将从以下6个方面进行论述。

3.1 抑制肿瘤细胞增殖

肿瘤细胞增殖失控是肿瘤细胞区别于普通体细胞的重要生物学特征。细胞周期失控,就像寄生在细胞内的微生物,不受正常生长调控系统的控制,能持续地分裂与增殖。近年来,已有多项研究表明川芎嗪具有抗肿瘤细胞增殖的作用^[8-10]。在消化系统肿瘤中,川芎嗪显著抑制肝癌、胃癌及结直肠癌细胞的生长,并且引起细胞周期阻滞。在肝癌荷瘤大鼠动物模型中观察到川芎嗪通过调控细胞周期相关蛋白 cyclin B1 诱导肝癌细胞出现 G2/M 细胞周期阻滞,进而抑制肿瘤细胞增殖^[11]。张加军等^[12]的研究结果显示,川芎嗪对人肝癌细胞株 HepG2 的增殖抑制作用可能与下调变性 p53 蛋白的表达有关,川芎嗪的药物作用呈现时间、剂量依赖性。Ji 等^[13]针对人胃癌细胞株 SGC-7901 的研究表明,川芎嗪抑制肿瘤细胞增殖作用同样呈现剂量和时间依赖性,并且引起 G1 期细胞周期阻滞。在结肠癌中,川芎嗪发挥了类似的抑制肿瘤细胞增殖的作用^[14]。

这些研究为川芎嗪治疗消化系统肿瘤提供了新的分子生物学基础和实验依据。

3.2 促进肿瘤细胞凋亡和自噬

细胞凋亡和自噬是重要的细胞分解过程,在肿瘤细胞存活和死亡中发挥着重要作用^[15]。细胞凋亡,被称为 I 型程序性细胞死亡,凋亡的失常因于凋亡抑制基因和凋亡活化基因的失调。细胞自噬,被称为 II 型程序性细胞死亡,是细胞在内外环境因素作用下对细胞内部蛋白或细胞器降解的过程。细胞自噬在肿瘤治疗中是一把双刃剑,一方面肿瘤细胞通过自噬降解化疗药物进而逃避杀伤,另一方面一些药物可以通过诱导肿瘤细胞发生自噬降解细胞内重要蛋白和细胞器进而发生自噬性死亡^[16-17]。川芎嗪可以通过多种机制诱导肿瘤细胞凋亡的发生。在胃癌、肝癌及结肠癌细胞中,川芎嗪通过诱导 Bcl-2 家族中促凋亡蛋白(Bax、Bad 和 Bik 等)和抑制 Bcl-2 家族中抗凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-xl 等)的表达,发挥诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[11,14,18]。Bcl-2 家族蛋白位于线粒体外膜,其表达变化,改变了线粒体的通透性,通过线粒体外膜渗透作用,降低线粒体膜电位,使线粒体膜间隙的可溶性蛋白释放到细胞质或转位到细胞核,如细胞色素 C 外渗,由线粒体向细胞核转位,进而激发含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 Caspase 家族的级联反应,诱导凋亡的发生^[19]。此外,Ji 等^[13]针对人胃癌细胞株 SGC-7901 的研究表明,川芎嗪促进肿瘤细胞凋亡可能与调控 NF-κBp65、cyclinD1 和 p16 蛋白的表达有关。在肝癌细胞中,Cao 等^[20]的研究发现川芎嗪可以激活自噬相关蛋白 Atg5、Becn1 的表达,并发生 LC3-I 向 LC3-II 的转化和选择性自噬接头蛋白(p62 蛋白)降解,使用川芎嗪处理细胞后行 MDS 染色可观察到清晰的自噬小体,并且与药物的剂量呈正向关系,从而有力地证明了川芎嗪诱导肝癌细胞自噬的产生。

3.3 诱导肿瘤细胞活性氧(ROS)的生成

ROS 的积累对细胞具有杀伤作用,由于肿瘤细胞具有较高的代谢,细胞内活性氧的基础水平较正常细胞高,肿瘤细胞对 ROS 的积累更加敏感,诱导 ROS 增加是化疗药物杀伤肿瘤细胞的重要机制^[21]。此外,ROS 被证实是细胞凋亡和自噬的重要介质^[22]。研究表明,川芎嗪可诱导人肝癌细胞株 HepG2 ROS 的累积,并与肿瘤细胞的凋亡和自噬相关。川芎嗪可在一定程度上诱导 ROS 簇的产生,

并且促进半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3 (Caspase-3) 和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 的活化, 从而诱导肿瘤细胞凋亡和自噬^[20]。易波等^[23]的研究提示, 高浓度川芎嗪作用人胃癌细胞株 SGC-7901, 诱导产生大量 ROS 从而激活 AMPK 信号通路, 促使从胞浆迁移至线粒体, 导致线粒体膜电位崩解, Cyt c 释放至胞浆, 激活 Caspase-9、Caspase-3, 最终导致肿瘤细胞凋亡。

3.4 抑制肿瘤细胞侵袭与转移

侵袭与转移是恶性肿瘤复发率及死亡率高的主要原因, 川芎嗪被证实可通过不同的途径对肿瘤的侵袭与转移产生抑制作用。肿瘤侵袭转移过程中, 需借助与基底膜、细胞外基质血管壁、淋巴管壁及血小板等的粘附而完成, 所有的粘附过程均借由粘附因子而实现, 川芎嗪对肿瘤粘附的影响即来自于对粘附分子的干预。随着川芎嗪浓度的增大, 肝癌细胞株 HepG2 的粘附率明显降低, 细胞迁移和侵袭数量明显减少, 提示川芎嗪能有效降低 HepG2 细胞的侵袭和迁移能力, 且呈剂量依赖性^[24]。

3.5 抑制肿瘤组织血管生成

肿瘤的生长依赖于肿瘤组织中新生血管的形成, 抑制肿瘤血管生成能起到抑制肿瘤细胞增殖的作用。肿瘤细胞能够分泌多种血管生成因子, 其中 VEGF 是高效、高特异性作用于血管内皮的促血管生成因子^[25]。研究结果显示, 川芎嗪通过抑制 HIF-1 α 的表达, 使 VEGF 表达降低, 最终起到抑制血管生成, 恢复机体正常的微环境, 最终达到抑制肿瘤的目的^[26]。

3.6 逆转肿瘤细胞多药耐药

肿瘤多药耐药 (MDR) 是导致肿瘤化疗失败的主要原因。肿瘤的耐药性涉及细胞内药物的浓度降低, 药物靶分子的改变, 代谢解毒, DNA 损伤修复功能失衡等多种机制。克服肿瘤细胞 MDR, 提高抗癌药物疗效成为肿瘤治疗亟待解决的关键性课题。从天然药物中寻找高效、低毒、作用靶点广泛的肿瘤 MDR 逆转剂 (RRA) 已成为目前的研究热点。多药耐药基因 (MDR1) 及其编码的糖蛋白 (P-gp), 多药耐药相关蛋白 (MRP)、肺耐药蛋白 (LRP), 谷胱甘肽转移酶 (GST- π) 是近年来研究较多的耐药基因, 以及 DNA 拓扑酶活性改变和钙离子浓度的改变等方面均在耐药过程中发挥重要作用^[27]。川芎嗪作为一种钙离子通道拮抗剂, 可逆转多种肿瘤细胞株的抗药耐药性, 并对谷胱甘肽合成酶 (GSHs)、超氧

化物歧化酶 (GSHPx) 的活性具有降低作用, 使抗药性细胞恢复其敏感性。魏志霞等^[27]研究发现, 川芎嗪干预后, 钙离子通道阻滞作用使 P-gp 蛋白在肿瘤细胞内表达下调, 使得 SMMC-7221/ADM 内的柔红霉素积聚有所增强, 从而逆转肿瘤多药耐药。此外, 川芎嗪治疗肝癌细胞株后发现, 相关耐药基因 MRP2、MRP3、MRP5 mRNA 水平下降, 并且蛋白质编码的水平均有不同程度地下降, 表明川芎嗪能有效逆转 MDR BEL-7402/ADM 细胞的耐药性^[28]。另一项研究表明, 川芎嗪抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖且呈浓度及作用时间依赖性, 可以通过抑制胃癌细胞中耐药相关蛋白 MDR1、GST- π 的表达, 其表达量与川芎嗪剂量呈现明显的时间-浓度效应关系^[29]。此外, 1 组结肠癌患者术前使用川芎嗪注射液, 术后取结肠癌组织标本用免疫组化法分别染色多药耐药相关蛋白 P-gp, 并检测其蛋白表达。结果提示, P-gp 蛋白阳性率明显下降, 进一步说明川芎嗪对结肠癌多药耐药性基因表达有抑制作用^[30]。

3.7 免疫调节

近年来研究表明, 川芎嗪可以通过上调免疫细胞的活性加强免疫调节, 进而增强机体的肿瘤免疫应答, 有助于机体对肿瘤细胞的免疫杀伤。高婷等^[31]研究发现, 川芎嗪使卵巢恶性肿瘤患者 IFN- γ 和 T-bet 的表达频率及表达强度明显提高, IL-4 和 GATA3 的表达频率及表达强度明显降低。川芎嗪能降低 Th2 类细胞因子和 GATA3 的表达, 提高 Th1 类细胞因子和 T-bet 的表达。

4 展望

综上所述, 川芎嗪对于消化系统肿瘤的增殖、凋亡、侵袭、转移、血管生成、逆转耐药及调节免疫等方面均有一定的作用, 具有较大的开发潜力。今后, 应继续开展对川芎中其它活性物质或有效部位抗多药耐药方面的研究, 从多方面、多角度、多靶点入手, 在蛋白及分子水平阐释其作用机制, 根据体内实验及临床功效来评价其安全性及有效性, 寻求更大的突破。同时, 应加强对不同产区所产川芎中有效物质组成及其逆转多药耐药作用差异性方面的研究, 这将为深入开发天然植物资源川芎的医疗价值提供理论基础, 为其临床应用提供依据。

参考文献:

- [1] 奚胜艳, 岳利峰, 李卫东, 等.《黄帝内经》胃本源理论临床意义及对消化系统肿瘤防治的作用[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(6): 1267-1270.
- [2] 李忠, 王沛. 临床肿瘤学[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社,

- 2002;3-4.
- [3] ZHENG Z, LI Z, CHEN S, et al. Tetramethylpyrazine attenuates TNF α -induced iNOS expression in human endothelial cells; Involvement of Syk-mediated activation of PI3K-IKK-I κ B signaling pathways [J]. *Exp Cell Res*, 2013(319): 2145-2151.
 - [4] LIN KH, KUO WW, JIANG AZ, et al. Tetramethylpyrazine ameliorated hypoxia-induced myocardial cell apoptosis via HIF-1 α /JNK/p38 and IGFBP3/BNIP3 inhibition to upregulate PI3K/Akt survival signaling[J]. *Cell Physiol Biochem Int J Exper Cell Physiol Biochem Pharmacol*, 2015, 36(1):334.
 - [5] ZHAO YK, LIU Y, CHEN KJ. Mechanisms and clinical application of tetramethylpyrazine (an interesting natural compound isolated from *Ligusticum wallichii*): Current status and perspective[J]. *Oxidat Med Cell Longev*, 2016, 2016:1-9.
 - [6] LIANG SD, XU CS, ZHOU T, et al. Tetramethylpyrazine inhibits ATP-activated currents in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Brain Res*, 2005,1040(1/2):92-97.
 - [7] YAN J, ZOU K, LIU X, et al. Hyperexcitability and sensitization of sodium channels of dorsal root ganglion neurons in a rat model of lumbar disc herniation[J]. *Europ Spine J*, 2016, 25(1):177-185.
 - [8] WANG Y, FU Q, ZHAO W. Tetramethylpyrazine inhibits osteosarcoma cell proliferation via downregulation of NF- κ B *in vitro* and *in vivo*[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(4):984-988.
 - [9] ZHENG CY, XIAO W, ZHU MX, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 by tetramethylpyrazine and its effects on A549 cell invasion and metastasis[J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(6):2029-2037.
 - [10] JIA Y, WANG Z, ZANG A, et al. Tetramethylpyrazine inhibits tumor growth of lung cancer through disrupting angiogenesis via BMP/Smad/Id-1 signaling[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(5):2079.
 - [11] CAO J, MIAO Q, ZHANG J, et al. Inhibitory effect of tetramethylpyrazine on hepatocellular carcinoma: Possible role of apoptosis and cell cycle arrest[J]. *J Biol Regul Homeost Agent*, 2015, 29(2):297.
 - [12] 张加军, 邢国辉, 王继伟, 等. 川芎嗪对人肝癌 HepG2 细胞的影响及与突变型 p53 蛋白表达的影响[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(17):157-159.
 - [13] JI AJ, LIU SL, JU WZ, et al. Anti-proliferation effects and molecular mechanisms of action of tetramethylpyrazine on human SGC-7901 gastric carcinoma cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(8):3581-3586.
 - [14] 万慧芳, 余波, 涂硕, 等. 川芎嗪对人结肠癌 LoVo 细胞增殖与凋亡的影响[J]. *中成药*, 2014, 36(7):1367-1371.
 - [15] BERASAIN C, PERUGORRIA MJ, LATASA MU, et al. The epidermal growth factor receptor: A link between inflammation and liver cancer[J]. *Exp Biol Med*, 2009, 234(7):713-725.
 - [16] PAN HC, JIANG Q, YU Y, et al. Quercetin promotes cell apoptosis and inhibits the expression of MMP-9 and fibronectin via the AKT and ERK signalling pathways in human glioma cells[J]. *Neurochem Int*, 2015, 80:60-71.
 - [17] PANDA PK, MUKHOPADHYAY S, DAS DN, et al. Mechanism of autophagic regulation in carcinogenesis and cancer therapeutics[J]. *Semin Cell Devel Biol*, 2015, 39:43-55.
 - [18] BI L, YAN X, CHEN W, et al. Antihepatocellular carcinoma potential of tetramethylpyrazine induces cell cycle modulation and mitochondrial-dependent apoptosis; Regulation of p53 signaling pathway in HepG2 cells *in vitro*[J]. *Integr Cancer Ther*, 2016, 15(2):226.
 - [19] AOUACHERIA A, BAGHDIGUIAN S, LAMB HM, et al. Connecting mitochondrial dynamics and life-or-death events via Bcl-2 family proteins[J]. *Neurochem Int*, 2017, 109:141-161.
 - [20] CAO J, MIAO Q, MIAO S, et al. Tetramethylpyrazine (TMP) exerts antitumor effects by inducing apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 26(1):212-220.
 - [21] MOLDOGAZIEVA NURBUBU T, LUTSENKO SERGEY V, TERENTIEV ALEXANDER A. Reactive oxygen and nitrogen species-induced protein modifications; Implication in carcinogenesis and anticancer therapy[J]. *Cancer Res*, 2018, 78: 6040-6047.
 - [22] CHUNG YM, BAE YS, LEE SY. Molecular ordering of ROS production, mitochondrial changes, and caspase activation during sodium salicylate-induced apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34(4):434-442.
 - [23] YI B, LIU D, HE M, et al. Role of the ROS/AMPK signaling pathway in tetramethylpyrazine-induced apoptosis in gastric cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(2):583-589.
 - [24] 孙晓, 尹中普, 尹红梅. 川芎嗪对人肝癌 HepG-2 细胞体外侵袭和迁移的影响[J]. *实用肝脏病杂志*, 2018,21(1):31-34.
 - [25] 柴瑾, 宋恺, 沈钢. 川芎嗪对肿瘤细胞的 VEGF 表达和肿瘤血管内皮细胞生长的影响[J]. *国际中医中药杂志*, 2009, 31(1):71-72.
 - [26] 李雷宇, 张俊华, 张银旭, 等. 川芎嗪抗大肠癌 sw620 裸鼠移植瘤血管生成及抑瘤机制的实验研究[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2010, 29(5):519-523.
 - [27] 魏志霞. 川芎嗪对肝癌多药耐药株 SMMC-7721/ADM 的逆转作用[J]. *江苏医药*, 2005, 31(5):371-372.
 - [28] WANG XB, WANG SS, ZHANG QF, et al. Inhibition of tetramethylpyrazine on P-gp, MRP2, MRP3 and MRP5 in multi-drug resistant human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(1):211.
 - [29] 杨伟霞, 陆少锋, 贾宁, 等. 川芎嗪对人胃癌细胞株 SGC-7901/ADR 增殖、凋亡和 MDRI、GST- π 表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2015,33(8):2008-2010.
 - [30] 吴凤青. 川芎嗪对结肠癌多药耐药性基因表达的抑制[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011,13(3):145-146.
 - [31] 高婷, 凌斌, 赵卫东, 等. 卵巢恶性肿瘤免疫状态与转录因子 T-bet/GATA3 相关性 & 川芎嗪干预研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2007, 23(2):85-88.

(编辑:董宇)