

砷类物抗癌机制的研究现状

张雪莲¹, 杨如意^{2*}, 张晓兰¹, 许广慈¹

¹青海大学医学院, 青海 西宁

²青海大学附属医院中西医结合科, 青海 西宁

收稿日期: 2022年9月21日; 录用日期: 2022年10月14日; 发布日期: 2022年10月24日

摘要

砷类物最早用于抗肿瘤治疗源于1971年三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病开始。雄黄是最常见的砷的硫化物矿物之一, 药理学研究证实纳米雄黄具有抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡、诱导细胞分化、抑制核酸合成、抑制新生血管生成等功能。基于以上药理作用, 近年来对砷类物抗肿瘤的研究成为热点。本文通过检索近十年砷类物的相关文献, 以雄黄为主综述砷类物在抗肿瘤方面的研究成果。希望通过这一综述加快雄黄等砷类物抗肿瘤的相关研究进程, 为目前的临床抗肿瘤用药提供进一步的参考。

关键词

砷类物, 抗癌, 雄黄, 肿瘤

Research Status of Anti-Cancer Mechanism of Arsenic

Xuelian Zhang¹, Ruyi Yang^{2*}, Xiaolan Zhang¹, Guangci Xu¹

¹Medical College of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Integrative Medicine, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Sep. 21st, 2022; accepted: Oct. 14th, 2022; published: Oct. 24th, 2022

Abstract

Arsenic was first used in anti-tumor therapy since arsenic trioxide began to treat acute promyelocytic leukemia in 1971. Realgar is one of the most common arsenic sulfide minerals. Pharmacological studies have confirmed that nano realgar has the functions of inhibiting cell proliferation, inducing cell apoptosis, inducing cell differentiation, inhibiting nucleic acid synthesis, and inhibiting angiogenesis. Based on the above pharmacological effects, the research on anti-tumor effect

*通讯作者。

of arsenic compounds has become a hot spot in recent years. This paper reviews the research results of arsenic in anti-tumor, mainly realgar, by searching the relevant literature of arsenic in the past decade. It is hoped that this review will accelerate the research progress of arsenic compounds such as realgar in anti-tumor, and provide further reference for current clinical anti-tumor drugs.

Keywords

Arsenic, Anti-Cancer, Realgar, Tumor

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着现代医疗水平的发展, 高血压、糖尿病等上世纪的疑难杂症得到了较好地解决, 但恶性肿瘤一直未被妥善处理。如今恶性肿瘤的发病率及死亡率呈逐年上升趋势, 已成为人类健康的一大杀手[1]。若早期发现还可通过局部手术、靶向化疗等获得一线生机, 耽误到晚期不仅让患者承受更多身体及心理不适, 还会增加经济负担[2]。随着祖国医学的不断发展传承, 中药被认为具有较慢、较少的副作用及不良反应, 现被广泛研究用于抗肿瘤治疗。雄黄是最常见的砷类矿物药, 主要成份为 As_2S_2 或 As_4S_4 [3]。关于雄黄的作用在不少中医古籍中都有记载, 在《神农本草经》中, 雄黄味苦, 平, 寒。主寒热, 鼠瘻, 恶疮, 疽痔, 死肌, 杀精物, 恶鬼, 邪气, 百虫, 肿毒。李时珍在《本草纲目》记载: “雄黄乃治疮杀毒要药也, 而入肝经气分, 故肝风, 肝气, 惊痫, 痰涎, 头痛眩晕, 暑疔泄痢, 积聚诸病, 用之有殊功; 又能化血为水, 治疟疾寒热, 伏暑泄痢, 酒饮成癖, 头风。” 历代文献中可见雄黄虽主要外用于疮疡, 亦不乏治疗恶疮积聚、肿瘤毒邪的记载, 为现代应用于肿瘤的治疗提供线索[4]。

2. 雄黄的抗肿瘤机制

2.1. 抑制细胞增殖

① 王巍炜[5]等人通过酶联免疫法测量培养 24 h、48 h 后的细胞在 490 nm 的吸光度值(A_{490})来测算生长抑制率, 结果显示雄黄组的 A 值明显低于生理盐水对照组且不同时间点的生长抑制率明显高于对照组, 说明雄黄对肺癌 A549 细胞增殖有抑制作用。② 詹秀琴等[6]通过水飞法、气流法、微射流法将雄黄制备成不同直径的粒子来处理肝癌 SMMC7721 细胞, 结果显示三组的增殖抑制率分别为 36.6%、56.2%和 71.1%, 说明雄黄对癌细胞的增殖抑制会随着粒子直径的减小而增强。③ 已有研究表明纳米雄黄对肺癌 A549 细胞及急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)细胞株 THP-1 有抑制增殖作用, 且抑制效应与浓度和时间呈正相关[7] [8]。④ 齐元富等[9]证明纳米雄黄对 A549 细胞 β -catenin 与 c-myc 表达均有明显抑制作用, 并随药物浓度增大抑制作用增强。 β -catenin 和 c-myc 是 Wnt 信号通路的上下游关键因子, 而 Wnt 信号通路与癌症的发生有着十分密切的联系[10], 因此说明纳米雄黄可以通过某种途径阻断 Wnt 信号转导通路从而抑制肺癌 A549 细胞增殖。⑤ 王孟昌[11]等人通过 cDNA 表达芯片技术检测、分析雄黄治疗前后 72 h 的多发性骨髓瘤细胞(RPMI8226)系基因表达谱发现治疗后 BTG1 和 CCL2 明显上调。BTG1 (B 细胞易位基因)是一个 P53 调控基因, 是抗增殖基因大家庭的一员[12], 有研究表明 BTG1 在卵

巢癌、喉癌、食管鳞癌等肿瘤中低表达,参与肿瘤的生长、转移和浸润[13][14][15]。CCL2 作为趋化因子中 CC 亚族中重要的一员,也称为单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1),或小诱导细胞 A2 (small inducible cytokine A2) [16],已有文献[17][18]证实 CCL-2 在肿瘤进展中起重要作用。基于以上阐述说明雄黄可能通过上调 BTG1 及 CCL2 的表达从而调控抗增殖基因来抑制骨髓瘤细胞的增殖,但具体分子机制亟待进一步研究。

2.2. 诱导细胞凋亡

细胞凋亡是细胞在生理或病理条件下,调控一系列基因的激活、表达等,自主有序的结束自身生命的过程[19]。目前大量研究证实雄黄抗肿瘤的主要机制就是细胞凋亡,唐敏等人[20]认为正是因为这种程序性死亡才让细胞凋亡成为杀伤肿瘤细胞的最佳方式。① 研究表明雄黄可以诱导卵巢癌细胞凋亡[21],且抑制作用存在时间剂量依赖关系[22]。② 程艳香等[23]研究证实雄黄可以剂量依赖性的诱导宫颈癌细胞 HPV16/18 凋亡,并且考虑凋亡可能与细胞色素 C 的释放和 caspase-3, caspase-9 的活化有关。③ 马淑云[24]等研究发现 24 mg/L 雄黄混悬液处理时间越长,G1 期细胞阻滞越严重,且浓度与 Caspase-3 的表达呈正相关。进一步提示雄黄对卵巢癌细胞的诱导凋亡作用可能与影响细胞周期及激活 Caspase-3 活性有关。④ 已有研究表明[25][26]雄黄诱导细胞凋亡可能与下调 Bcl-2 蛋白和上调 P53 表达有关。齐元富等通过实验证实随雄黄浓度的升高 Bcl-2 表达与浓度呈负相关,而 P53 表达呈正相关。提示雄黄凋亡皮肤鳞癌 A431 细胞与 Bcl-2 下调及 P53 上调有关。⑤ 赵婧[27]研究发现雄黄可能通过调控 Bcl-2/Bax 比例,促进细胞内 ROS 的生成,降低线粒体膜电位膜水平,从而激活 Caspase-3 介导的细胞凋亡途径。

2.3. 诱导细胞分化

雄黄对肿瘤细胞的诱导分化作用最早源于陈思宇[28]的研究,他发现雄黄对 NB4 白血病细胞具有促进分化作用。后来罗丽云[29]通过研究雄黄纳米微粒对人白血病细胞株 HL260 的诱导分化作用时发现 0.50 $\mu\text{mol/L}$ 纳米雄黄诱导分化作用最强。王川[30]研究发现低浓度的雄黄水分散剂型可促进慢性髓系白血病 K562 细胞红系分化标志性蛋白血红蛋白和血型糖蛋白 A (GlycophorinA, CD235a)表达上调,诱导 K562 细胞发生红系分化并表现出时间和剂量依赖效应。袁丽佳等[31]研究发现,雄黄处理 30 分钟后 ROS 处于最低水平,24 小时后反弹至高于对照组的水平,且减少和增加都是雄黄浓度依赖的。该实验结果证明雄黄对 HL60 (人早幼粒白血病细胞)的分化作用呈浓度依赖性,而且发现 MPTP 的开放和 ROS 的降低与分化密切相关。

2.4. 抑制核酸形成

早在 1998 年,周霭祥[32]将青黛与雄黄按比例(9:1, 8:2, 7:3)制成胶囊或片剂(雄黄比例越大作用越强)治疗慢粒,发现青黄散对 L615、S180 细胞的 DNA、RNA 合成有不同程度的抑制作用,且抑制作用呈浓度相关性。唐永等人[33]发现雄黄可与细菌胞内酶的功能基(-SH 基)结合改变或抑制其活性从而影响细菌 DNA 的合成。近期只有王明哲等人[34]在关于雄黄抑制核酸复制的研究中发现,用不同影响因素处理人腺病毒 3 型(HAdV-3)感染 Hep-2 细胞并测量各组病毒载量,发现 HAdV-3 病毒对照组病毒复制量($699,932 \pm 23.85$),利巴韦林组(459124.84 ± 12.82),雄黄组则为(912435.44 ± 16.57),分析数据不难发现雄黄纳米微粒对腺病毒的核酸复制有一定的抑制作用,但利巴韦林组抑制作用更强。该研究对临床抑制肿瘤复制提供了新思路。

2.5. 抑制肿瘤血管生成

肿瘤的生长必须依赖血管生成,抑制肿瘤生长过程中的血管新生,切断肿瘤的供养,最终达到遏制

肿瘤生长和转移的目的,是一种全新的靶向肿瘤治疗方法[35]。李秀荣等人[36]用不同浓度纳米雄黄处理皮肤鳞癌 A431 细胞,采用免疫组化法和 RT-PCR 法检测色素上皮源性因子(PEDF)和 VEGF mRNA 的表达情况,发现纳米雄黄可增加血管抑制因子 PEDF 的表达且呈浓度依赖性,而对血管内皮生长因子 VEGF 呈浓度依赖性的抑制作用。该研究提示雄黄抑制肿瘤血管的生成与 PEDF 的上调和 VEGF 的下调有关。Zhang L [37]等人发现经 As₄S₄ 处理后的胃癌细胞内 E-cadherin 和 KLF4 表达上调,β-catenin、VEGF 和 Sp1 表达下调,提示雄黄可阻断肿瘤细胞黏附、抑制其血管生成。Song Peng [38]等人通过体内斑马鱼和鸡胚绒毛尿囊膜模型实验研究雄黄转化液(RTS)抗血管生成的机制,发现 RTS 可通过抑制 VEGF/bFGF 诱导的 VEGFR2 和 ERK、FAK、Src 等下游蛋白激酶的磷酸化从而抑制血管生成。齐元富等人[39]发现雄黄不仅能通过下调 VEGF 抑制血管生成,还可通过抑制缺氧诱导因子(HIF)-1 的表达来抑制血管生成,且抑制作用随浓度增高作用增强。刘寨东等人[40]用流式细胞仪检测纳米雄黄处理后的肺癌 A549 细胞内的 b-FGF、MMP-9 表达,发现雄黄对其的表达呈浓度依赖性的抑制作用,提示雄黄可能通过抑制 b-FGF、MMP-9 的表达发挥抗血管作用。

3. 小结

三氧化二砷的抗肿瘤作用除了上述几点外,还可以促进免疫应答、抑制肿瘤干细胞分化及微量三氧化二砷的保护作用。砷类药物因其对人体具有一定的毒性使用率较低,但随着纳米雄黄、雄黄转化液等现代多学科产物的出现,雄黄的药物毒性问题得到进一步解决。上述文章中已有许多蛋白及因子被发现可以参与抑制肿瘤生长及转移,所以我们亟需进一步研究抗肿瘤机制的通路等具体问题。

参考文献

- [1] 谢欣, 吴玉玲, 李想, 等. 有毒中药调控凋亡通路抑制肿瘤细胞增殖[J]. 中药与临床, 2021, 12(5): 71-74+88.
- [2] 韩希翠. 放化疗联合治疗食管癌患者的临床疗效与预后研究[J]. 智慧健康, 2022, 8(14): 75-77.
- [3] 李少元, 杨旭萍, 张尊建, 等. 纳米雄黄的药理活性及毒性研究进展[J]. 中南药学, 2018, 16(5): 661-664.
- [4] 周超凡, 林育华. 传统中药朱砂应用概况及其安全性[J]. 药物不良反应杂志, 2008, 10(2): 104-109.
- [5] 王巍炜, 王德光, 巫正伟, 等. 纳米雄黄对肺癌 A549 细胞增殖、凋亡及迁移的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(34): 5098-5103.
- [6] 詹秀琴, 赵凤鸣. 纳米雄黄抑制肿瘤细胞增殖的体内外研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(3): 184-188.
- [7] 杨玥, 陈静, 易娟, 等. 纳米雄黄对肺癌 A549 细胞及其肿瘤干细胞的凋亡诱导作用[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(6): 36-39.
- [8] 郭云. 基于内质网途径研究雄黄诱导急性髓系白血病 THP-1 细胞凋亡的机制及临床观察[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [9] 齐元富, 李慧杰, 刘寨东. 纳米雄黄对肺癌 A549 细胞增殖影响及其机制的探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(1): 27-30.
- [10] 云波, 刘淑萍, 王海生, 等. Wnt 通路中 β-catenin 在恶性肿瘤中的异常表达[J]. 科学技术与工程, 2010, 10(20): 5027-5030.
- [11] 王孟昌, 刘蓬勃. 雄黄对多发性骨髓瘤细胞株 RPMI8226 细胞基因表达谱的作用[J]. 临床医学工程, 2010, 17(10): 1-3.
- [12] Matsuda, S., Rouault, J., Magaud, J., et al. (2001) In Search of a Function for the TIS21/PC3/BTG1/TOB Family. *FEBS Letters*, 497, 67-72. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02436-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02436-X)
- [13] Li, W., Zou, S.T., Zhu, R., et al. (2014) B-Cell Translocation 1 Gene Inhibits Cellular Metastasis-Associated Behavior in Breast Cancer. *Molecular Medicine Reports*, 9, 2374-2380. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2118>
- [14] 姜润学, 胡万宁, 孙国贵, 等. BTG1 对喉癌细胞增殖和凋亡的影响及其机制研究[J]. 中国癌症杂志, 2015, 25(12): 959-965.
- [15] 高明, 刘丽英, 李晟磊, 等. 食管鳞状细胞癌组织中 BTG-1 的表达及其对食管鳞状细胞癌细胞株 EC9706 凋亡的

- 影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(7): 7-10+182.
- [16] 姜懿纳, 陈乃宏. CCL2/MCP-1 在其相关疾病的机制研究[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(12): 1634-1638.
- [17] Zheng, Y., Wang, Z., Wei, S., *et al.* (2021) Epigenetic Silencing of Chemokine CCL2 Represses Macrophage Infiltration to Potentiate Tumor Development in Small Cell Lung Cancer. *Cancer Letters*, **499**, 148-163. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.11.034>
- [18] He, M., Yu, W., Chang, C., *et al.* (2020) Estrogen Receptor α Promotes Lung Cancer Cell Invasion via Increase of and Cross-Talk with Infiltrated Macrophages through the CCL2/CCR2/MMP9 and CXCL12/CXCR4 Signaling Pathways. *Molecular Oncology*, **14**, 1779-1799. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12701>
- [19] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(2): 103-107.
- [20] 唐敏, 戴仕林, 周礼仕, 等. 黄芩茎叶总黄酮对结肠癌 HCT116 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 902-908.
- [21] 陈文雪, 张峰, 杨会钗, 等. 雄黄对荷人卵巢癌裸鼠移植瘤细胞凋亡的基础研究[J]. 肿瘤, 2007(10): 787-790.
- [22] 秦艳, 赵建武, 刘彩虹, 等. 纳米雄黄混悬液诱导卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡及其对 Bcl-2/Bax 表达的影响[J]. 贵州医药, 2017, 41(9): 905-908.
- [23] Cheng, Y.X., Liu, R., Wang, Q., *et al.* (2012) Realgar-Induced Apoptosis of Cervical Cancer Cell Line Siha via Cytochrome c Release and Caspase-3 and Caspase-9 Activation. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **18**, 359-365. <https://doi.org/10.1007/s11655-011-0697-z>
- [24] 马淑云, 高尚风, 吴胜军, 等. 纳米雄黄混悬液对卵巢癌 SKOV3 细胞抑制增殖及诱导凋亡机制探讨[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(25): 4382-4384.
- [25] 林梅, 裴军昌, 张东生, 等. 雄黄抗癌作用的研究进展[J]. 中国实用医药, 2007(13): 1-4.
- [26] 齐元富, 李慧杰, 颜芹. 纳米雄黄对皮肤鳞癌 A431 细胞 p53、Bcl-2 表达的影响及相关机制探讨[J]. 河北中医, 2014, 36(1): 109-111.
- [27] 赵婧. 雄黄对食管癌细胞株 Eca109 增殖的抑制作用及机制研究[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [28] 陈思宇, 刘陕西, 李信民. 雄黄对急性早幼粒细胞白血病细胞诱导凋亡和促进分化的双重作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2002(4): 401-404.
- [29] 罗丽云, 张天蓝, 王夔. 雄黄纳米微粒对人白血病细胞株 HL-60 的诱导分化作用[J]. 中国中药杂志, 2006(16): 1343-1346.
- [30] 王川. 雄黄水分散剂型制备及抗肿瘤功效研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [31] 袁丽佳, 王聪, 刘伟, 等. 雄黄通过 ROS 依赖的线粒体途径诱导 HL-60 细胞分化(英文) [J]. 中国药理学, 2013, 22(2): 184-189.
- [32] 周霭祥. 青黄散治疗白血病的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(10): 582-583.
- [33] 唐永, 李先荣, 程霞, 等. 雄黄药理作用的实验研究及其毒性观察[J]. 时珍国医国药, 1998, 19(9): 322-323.
- [34] 王明哲, 甫尔哈提·吾守尔, 王成祥, 等. 雄黄纳米颗粒在基因水平上抑制腺病毒复制的实验研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(5): 357-359.
- [35] 鲁美钰, 仲维兰, 司春枫, 等. 肿瘤血管生成机制及抗肿瘤血管新生的靶向药物研究进展[J]. 安徽医药, 2018, 22(5): 798-802.
- [36] 李秀荣, 李慧杰, 林艳艳. 纳米雄黄抑制 A431 细胞株新生血管的机制研究[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(2): 232-234.
- [37] Zhang, L., Kim, S., Ding, W., *et al.* (2015) Arsenic Sulfide Inhibits Cell Migration and Invasion of Gastric Cancer *in Vitro* and *in Vivo*. *Drug Design, Development and Therapy*, **9**, 5579-5590. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S89805>
- [38] Song, P., Hai, Y., Wang, X., *et al.* (2018) Realgar Transforming Solution Suppresses Angiogenesis and Tumor Growth by Inhibiting VEGF Receptor 2 Signaling in Vein Endothelial Cells. *Archives of Pharmacal Research*, **41**, 467-480. <https://doi.org/10.1007/s12272-018-1014-6>
- [39] 齐元富, 李慧杰, 于连洋. 纳米雄黄干预肺癌 A549 细胞对血管内皮生长因子及缺氧诱导因子-1 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(3): 720-722.
- [40] 刘寨东, 齐元富, 李秀荣. 纳米雄黄协同顺铂对人肺癌 A_(549)细胞 b-FGF、MMP-9 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(3): 252-253.