

# 三叶青黄酮对肺癌小鼠抗肿瘤作用的研究

李天平, 轩贵平, 贺灵芝

湖南环境生物职业技术学院医药技术学院, 湖南 衡阳

收稿日期: 2023年6月14日; 录用日期: 2023年7月9日; 发布日期: 2023年7月14日

## 摘要

三叶青为葡萄科崖爬藤属植物, 其属于我国东南地区重要的药源植物。其能体现出活血止痛、祛风化痰、解毒清热的效果。其在治疗肺炎、惊厥、高热、各类肿瘤方面, 能取得满意效果。三叶青黄酮为三叶青的主要成分。基于此, 本文分析三叶青黄酮对肺癌小鼠抗肿瘤作用研究情况, 旨意为相关人员的研究工作提供参考文献。

## 关键词

三叶青黄酮, 肺癌, 实验小鼠, 抗肿瘤, 作用分析

# Study on the Anti-Tumor Effect of Sanyeqing Flavonoids on Lung Cancer Mice

Tianping Li, Guiping Xuan, Lingzhi He

School of Medical Technology, Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang Hunan

Received: Jun. 14<sup>th</sup>, 2023; accepted: Jul. 9<sup>th</sup>, 2023; published: Jul. 14<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Sanyeqing is a plant of the vine family, belonging to the cliff climbing genus. It is an important medicinal plant in the southeastern region of China. It can demonstrate the effects of promoting blood circulation, relieving pain, dispelling wind and resolving phlegm, and detoxifying and clearing heat. It can achieve satisfactory results in treating pneumonia, convulsions, high fever, and various types of tumors. Flavonoids from Sanyeqing are the main components of Sanyeqing. Based on this, this article analyzes the research status of the anti-tumor effect of Sanyeqing flavonoids on lung cancer mice, with the aim of providing reference literature for relevant personnel's research work.

## Keywords

Sanyeqing Flavonoids, Lung Cancer, Experimental Mice, Anti Tumor, Function Analysis

Copyright © 2023 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

民间中药三叶青为葡萄科崖爬藤属植物三叶崖爬藤, 据《本草纲目》记载, “三叶崖爬藤, 性味苦、辛、凉, 清热凉血、活血祛风”。《中药大辞典》亦称其具有“清热解毒、祛风化痰、活血止痛的功效”。临床上主要用于治疗病毒性脑膜炎、乙型脑炎、病毒性肺炎、黄疸型肝炎等, 尤其是其块根对小儿高烧具有特效。三叶青喜凉爽气候, 耐旱, 忌积水; 对土壤要求不严, 抗病、少虫害, 十分耐寒; 可塑性强, 具有较高的观赏价值。它化学成分丰富、生物活性多样, 临床用于治疗小儿高热、肺炎、脑膜炎和毒蛇咬伤等, 自 20 世纪 90 年代我国学者从三叶青中成功分离得到了黄酮类化合物, 并证实其具有明显的体外抗肿瘤作用, 从而引发了国内外众多学者的广泛关注。最近又被证实: 三叶青具有良好的提高免疫力和体内抗肿瘤活性, 不仅可以开发成茶品, 提高免疫力, 预防各种疾病; 也可以用于各种肿瘤的治疗, 尤其对肺癌效果显著, 三叶青黄酮针对 A549 细胞侵袭力的影响随三叶青黄酮浓度增加, 侵袭细胞显著减少, 表现为浓度依赖性。且和对照组相比, 当三叶青黄酮浓度达到  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时侵袭 A549 细胞减少到 65%,  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时细胞减少到 39%, 差别显著。该项结果证实: 三叶青黄酮可明显抑制 A549 细胞侵袭转移[1]。三叶青活性物质的抗肿瘤活性已经得到证实, 大量的实验数据显示其黄酮类活性成分具有良好抑制肺癌细胞生长的活性, 但是目前对于三叶青抗肺癌活性的研究大多数都只停留在体外实验, 而黄酮类化合物的体内抗肿瘤活性却少有人关注, 本课题希望通过三叶青黄酮类化合物灌胃荷人肺癌细胞小鼠, 进一步证实其体内抗癌活性, 为促进三叶青临床抗癌应用提供参考。

## 2. 三叶青的相关介绍

三叶青学名为三叶崖爬藤(*Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg), 其也被称之为蛇附子、金线吊葫芦、石老鼠。为鼠李目, 葡萄科草质藤本。三叶青全草都能入药, 其以果实、块根的用药效果最为显著。每年的 3~6 月为三叶青的花季, 每年的 4 月至 10 月能结果。三叶青有着比较长的花果期, 当其开花以后一个月左右结果。果实成熟之后颜色鲜红, 性凉, 味甘, 有滋补的效果。果实大小如同绿豆。冬至到惊蛰期间择取生长期在 3 年以上的三叶青加以采摘。使用这种采摘方式能获得质量好的三叶青。在此刻对三叶青的块根进行采摘, 淀粉含量往往可以达到 70.00% 以上, 其具有良好的药用价值。

## 3. 三叶青黄酮针对实验小鼠瘤体抑制率、脾指数、胸腺指数、相关基因表达影响研究情况

就三叶青黄酮针对实验小鼠瘤体抑制效用分析来看, 有文献表明: 所有实验小鼠都存在皮下肿瘤生长的情况[2]。经比较证实: 各组三叶青总黄酮剂量的动物体质量和对照组、每个组剂量对比不存在明显差别,  $P > 0.05$ ; 每个剂量小组和对照组相比, 存在统计学意义,  $P < 0.05$ ; 低剂量组最优、中剂量组其次, 高剂量组最差。各个小组之间两两对比无明显差别,  $P > 0.05$ 。从三叶青黄酮针对实验小鼠体重改变影响情况来看, 所有小鼠为皮下肿瘤生长, 没有发现死亡情况, 每个组的小鼠体重变化相似, 表现为逐

步升高的势态[3]。相较于对照组,各给药组的小鼠体重增长缓慢。每个给药组之间小鼠体重增加无明显统计学意义,  $P > 0.05$ 。就三叶青黄酮针相关基因表达影响情况而言,相较于对照组,中剂量组和低剂量组都能显著加大 H-22 细胞 CytC 的 mRNA 表达量,组间数据存在统计学意义,  $P < 0.05$ ;高剂量组相反表现出了轻度下调的趋势,  $P > 0.05$ ;中剂量组和低剂量组都能显著加大 H-22 细胞 CytC 的 mRNA 表达量,和对照组相比,组间数据存在统计学意义,  $P < 0.05$ 。高剂量组和不同组两两对比无明显统计学意义,  $P > 0.05$  [4]。

从三叶青黄酮对针对实验小鼠胸腺指数、脾脏指数影响来讲,相较于对照组,低剂量组的小鼠脾脏指数更高,组间数据存在统计学意义,  $P < 0.05$ ;高剂量组、中剂量组针对脾脏指数影响和对照组相似,  $P > 0.05$ ;高剂量组和低剂量组的胸腺指数比对照组更高,但对对照组相比,无统计学意义,  $P > 0.05$ 。中剂量组轻度降低,但对对照组相比,组间数据无统计学意义,  $P > 0.05$ ;中剂量组和低剂量组对比,胸腺指数存在统计学意义,  $P < 0.05$ 。

#### 4. 三叶青黄酮对肺癌小鼠抗肿瘤作用分析

导致患者肿瘤失败的主要原因是肿瘤出现转移。使用有效方式积极控制转移为决定病患疾病预后的关键所在。肺部肿瘤的转移发生包含细胞的增殖、细胞黏附、细胞侵袭等等诸多方面,导致患者出现这一情况的机制相当复杂。现阶段,中草药抗癌机制的研究颇受关注。中草药于促进癌细胞凋亡、抑制侵袭转移以及增殖等方面已经取得重大突破[5]。三叶青有着镇痛消炎、化瘀活血、化痰祛风、解毒清热等等作用。这种药物在治疗肿瘤疾病方面也能够取得不俗成效。

最近几年,线粒体于细胞凋亡机制中的作用研究备受民众关注。因线粒体膜间隙的细胞色素 c 释放到细胞质内,会触发 caspase 级联,引起细胞凋亡。从另外一方面来看,线粒体的外膜上, Bcl-2 蛋白家族会调控细胞色素 c 源自于线粒体释放。通常来讲,其指的就是细胞色素 c 于细胞凋亡过程之中所发挥出的重要作用,并非单纯影响能量代谢。更重要的方面之一为:细胞色素 c 源自于线粒体释放,其在凋亡过程中细胞色素 c 经过线粒体外膜实现释放,加上 ATP/dATP 参与于胞质内。Apaf-1 结合最终形成寡聚体。Apaf-1 经过其氨基端与 procaspase-9 功能前区产生相互作用,令 caspase-3 的活性增加,后深度激活处于下游的 caspases。值得注意的是, Bcl-2 蛋白家族主要经过释放细胞色素 c,最终执行凋亡指令。

caspases 为一类和秀丽隐杆线虫同源地执行哺乳动物细胞凋亡重要蛋白酶家族[6]。通常而言,其主要以无活性酶原的方式存在于细胞质之中。如果有导致凋亡刺激存在时其活性增加。caspase-3 为 caspase 家族之中极为重要的凋亡执行者,其能够实现自身切割。于凋亡执行阶段之内, caspase-3 会对整体或者部分关键性蛋白产生酶切效用。Nagata 实验室于细胞质之中找到了一类可以把染色质切割的核酸酶。这种物质首先经由 caspase-3 实现激活,因而也被称之为 CAD。CAD 能够于 DNA 表面识别一定序列,与此同时在该位置断裂最终形成梯形。当前有诸多学者指出:其属于典型的凋亡表现[7]。所以说细胞色素 c 以及 caspase-3 为哺乳动物细胞凋亡信号转导过程中重要的因素。从上述内容中可发现,选择 caspase-3 以及 CytC 视为指标,针对三叶青黄酮在机体中抗肿瘤作用和机理开展研究,观察其针对荷瘤小鼠免疫器官影响是非常重要的。

有文献研究表明:三叶青黄酮所体现出的抗肿瘤效应,并不会表现为剂量依赖性[8]。就小鼠的瘤体体积来看,模型对照组的小鼠瘤体积为  $5.24 (3.73, 5.44) \text{ cm}^3$ ,高剂量组为  $1.66 (2.12, 1.38) \text{ cm}^3$ ,中剂量组为  $2.14 (2.77, 2.08) \text{ cm}^3$ ,低剂量组为  $4.11 (4.78, 2.90) \text{ cm}^3$ 。

整体分析低剂量作用要比高剂量药物好,代表在开展抗肿瘤药理实验过程之中,药物于人体之中代谢一定会受到诸多因素调控影响。但是进行单一体外实验所得出的结果很可能存在局限性。在此同时结合实验之内小鼠体重改变情况分析,具体原因可能在于下述三项:其一,三叶青黄酮所体现出的抗肿瘤

效应很可能为双向调节,其存在反馈负反馈机制。其二,给药浓度太高会影响试验结果。其三,三叶青黄酮经过别的途径体现出了较强的作用,最终影响结果。其四,三叶青黄酮可能存在一定毒副作用。其五,三叶青黄酮之内,可能包含具有毒性作用的杂质[9]。

另有研究证实:在三叶青的块根内醇提取乙酸乙酯萃取物含量水平比较高[10]。通过鉴定和分析,其主要物质为黄酮。通过开展体外实验证实:三叶青黄酮针对体外培养肿瘤细胞能够取得抑制效应。恶性及良性肿瘤的生长以及侵袭为一个相当复杂的过程。值得注意的是,如果癌瘤生长直径在 2.0 mm 以上就一定会有新的血管生成。最近几年以来,关于肿瘤的治疗已经把血管生成以及转移视为全新的治疗靶点,恶性以及良性肿瘤血管生成则需要细胞外基质和肿瘤细胞间相互作用[11]。基质金属蛋白酶(MMPs)会涉及降解细胞外基质,其为肿瘤血管生成以及转移到关键环节。MMPs 会受到内源性基质金属蛋白酶组织抑制药物(TIMPs)的调控。后者包含了 TIMP-1,2,3,4。MMPs 和 TIMPs 平衡被打破可能会造成细胞外基质过分降解引起肿瘤细胞生长、血管生成以及肿瘤侵袭。动态性调控某个关键 TIMPs 能够预防肿瘤新血管形成肿瘤的生长与侵袭。IV 型胶原酶,特别是 MMP-2 和癌瘤之间的关系最为密切。由于 IV 型胶原酶不但能够对细胞间基质成分起到酶解作用,另外也可解底层膜的重要成分及 IV 型胶原。绝大部分肿瘤细胞以及邻近基质细胞均表现出了 MMP-2 表达的情况。有文献研究表明:胃癌组织内低 TIMP-2 表达患者预后不佳。通过进一步研究表明:癌瘤组织之内的 TIMP-2 值和肿瘤与预后存在相关性[12]。所以说,将 TIMP-2 视为指标,针对三叶青黄酮机体中抗肿瘤的作用以及机制开展深入观察,针对 H22 荷瘤小鼠抑瘤作用和免疫器官的影响是相当重要的。

有研究表明:三叶青黄酮有着相当明显的抗肿瘤效应,其具体作用并非表现出剂量依赖性的特点[13]。深入性分析低剂量作用,要比高剂量要好。低剂量三叶青黄酮能够在原有基础上加大荷瘤小鼠胸腺指数以及脾脏指数。针对脾脏指数的作用具有统计学意义,代表低剂量针对免疫系统影响较为深远。低剂量组能够显著上调癌瘤组织中 TIMP-2mRNA 表达。与之相比,高剂量组和中剂量组虽说表现出了上调趋势,但具体的统计学分析无明显差别,代表三叶青黄酮所体现出的抗肿瘤效应机制和上调 TIMP-2mRNA 表达存在相关性。

有实验研究表明:三叶青黄酮能够积极抑制小鼠以及人类肺癌细胞株 A549 增殖,且表现出了时间以及浓度依赖性。当具体的药物浓度达到 10 g/L,作用时间达到 72 h,其针对细胞的抑制率最高。代表三叶青黄酮可以显著抑制肺癌细胞增殖。在癌细胞转移时,其经过细胞外基质为癌细胞出现侵袭转移的重点环节。癌细胞侵袭完全依赖于细胞的迁移能力强弱[14]。经过划痕试验可知:三叶青黄酮能够发挥出抑制肺癌 A549 细胞迁移个效果,且和具体浓度表现为正相关性。通过显微镜观察表明:经过结晶紫染色质后穿透 Transwell 小室的 A549 细胞数目随着三叶青黄酮浓度水平加大,细胞数量逐步减少,且存在明显差别。该组文献研究证实:三叶青黄酮可以显著减少 A549 细胞增殖与侵袭转移[15]。

## 5. 小结

综上所述,三叶青黄酮可以明显遏制肿瘤细胞生长,相关作用和上调的肿瘤细胞 TIMP-2 基因表达、促凋亡基因 Fasp-3、CytC 的表达存在相关性。此外,该物质还会抑制肺癌 A549 细胞侵袭、转移,其可能和减少 MMP-9 以及 MMP-2 蛋白表达存在相关性。这一点是值得相关工作人员注意的。

## 基金项目

2020 年,湖南省教育厅科学研究一般项目:《基于 PAA/GO/M-NP 电化学传感器检测黄酮类药物的研究》(项目编号:20C0688)的研究成果。

2023,湖南省教育规划“十四五”规划课题《高职药学专业“产学研用创”五位一体科教融汇人才

培养模式的研究》(项目编号: ND233231)的研究成果。

2021年,湖南省自然科学基金项目《基于金属硫化物 MxSy 负载贵金属纳米粒构建电化学传感器检测残留抗生素的研究》(项目编号: 221JJ50088)的研究成果。

2020年湖南环境生物职业技术学院校级青年基金项目《三叶青黄酮对肺癌小鼠抗肿瘤作用的研究》的阶段性研究成果。

2018年湖南省衡阳市科技局指导性项目《三叶青黄酮对肺癌小鼠抗肿瘤作用的研究》,(课题编号: S2018F9031018293)阶段性研究成果之一。

## 参考文献

- [1] 胡桃, 钟良瑞, 冯正权. 三叶青黄酮干预荷肺癌小鼠 MDSCs 生成及相关因子表达的研究[J]. 新中医, 2021, 53(8): 118-121.
- [2] 林钰久, 柴树人, 龙坤兰, 陈骏, 石翼敏, 徐静静. 三叶青黄酮对荷 Lewis 肺癌小鼠免疫功能及肿瘤组织凋亡相关蛋白的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(1): 8-15.
- [3] 刘培刚, 魏克民. 三叶青生物学、药理学及临床应用相关研究进展[J]. 中国中医药科技, 2018, 25(6): 927-932.
- [4] 魏旻俊, 陈志炉, 浦锦宝, 魏克民, 刘培刚. 基于内吞作用途径的三叶青黄酮抗肿瘤细胞 A549 的 miRNA 调控作用[J]. 中国中医药科技, 2018, 25(5): 661-665.
- [5] 胡桃, 冯正权, 钟良瑞, 梁波. 三叶青黄酮对荷 Lewis 肺癌小鼠髓源性抑制细胞的作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(10): 1229-1233.
- [6] 钟良瑞, 陈华, 景晶, 乔红丽, 魏克民, 王伟东. 三叶青黄酮抑制肺癌 A549 细胞生长与蛋白酶体活性的关系研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(10): 1123-1126.
- [7] 张祺箐, 冯正权. 三叶青黄酮干预荷癌小鼠 Treg 细胞生成及其 CD152 表达的研究[J]. 新中医, 2017, 49(11): 5-8.
- [8] 张祺箐, 冯正权. 三叶青黄酮对荷 Lewis 肺癌小鼠脾脏单个核细胞 PGE<sub>2</sub>、COX-2 表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2017, 27(10): 842-845.
- [9] 张胜强, 张洪艳, 齐宝林, 高克峰, 黄建伟, 刘贵廷, 崔虎军. 三叶青黄酮诱导肺癌 SPC-A-1 细胞凋亡与 cleaved-caspase-3 表达的关系[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(12): 1139-1143+1148.
- [10] 郝庆伟. 三叶青黄酮干预荷 Lewis 肺癌小鼠髓源抑制细胞的生成及相关细胞因子分泌的研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2017.
- [11] 孙倩倩. 三叶青黄酮通过 COX-2/PGE<sub>2</sub> 通路干预荷 Lewis 肺癌小鼠 M2 型巨噬细胞及相关因子表达的研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2017.
- [12] 邱模昌, 杨章坚. 三叶青提取物抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(5): 65-67.
- [13] 侯雪华. 三叶青黄酮对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤微环境的影响及相关机制研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2016.
- [14] 胡桃. 三叶青黄酮干预荷肺癌小鼠 MDSCs 生成及其相关因子表达的研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2016.
- [15] 张祺箐. 三叶青黄酮干预荷肺癌小鼠 Treg 细胞生成和相关细胞因子表达的研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2014.