

槐耳浸膏的实验研究及临床应用进展

李立新, 叶胜龙, 王艳红, 汤钊猷

(复旦大学肝癌研究所, 上海中山医院, 上海市肝脏肿瘤临床医学中心, 上海 200032)

Progress on Experimental Research and Clinical Application of *Trametes Robiniophila*

LI Li-xin, YE Sheng-long, WANG Yan-hong, et al.

摘要: 槐耳颗粒目前在临床肿瘤治疗中运用较为广泛。全文对槐耳的菌质制备、化学研究、作用机制、药理及毒理研究、临床应用等方面作一综述, 旨在为槐耳的进一步研究提供帮助。

关键词: 槐耳浸膏; 实验研究; 临床应用

中图分类号: R73-3

文献标识码: A

文章编号: 1004-0242(2007)02-0110-04

槐耳是我国民间重要的药用真菌。其学名为 *trametes robiniophila murr*, 中药名为槐栓菌^[1]。它是生长在槐及洋槐、青檀等树干上的高等真菌子实体。按 Ainsworth 等 1973 年真菌分类系统, 属于真菌门 Eumycota, 担子菌亚门 Bisidiomycotina, 层菌纲 Hymenomyces, 非褶菌目 Aphyllophorales, 多孔菌科 Polyporaceae, 栓菌属 *Trametes*^[2]。现代不少文献误认为它是槐树上的黑木耳, 以致对其认识较为混乱。经考证: 槐耳的入药史最早可追溯到公元 3 世纪 (1600 年前) 葛洪的《肘后方》到明朝的《本草纲目》等有关草本均有记载。其别名有“槐菌”、“槐蛾”、“槐鸡”、“槐鹅”等。现已确证槐耳就是槐栓菌^[2]。它味苦辛, 性平无毒, 有“治风”、“破血”、“益力”的功效^[3]。

1 槐耳菌质的制备

由于槐耳的生长条件要求严格, 生长周期很长, 生物效应较低, 难以满足药用需要。目前已采用固体发酵工艺来生产槐耳菌质, 即药用真菌在农副产品组成的固体营养基质上生长, 分解基质, 吸取营养, 生长菌体供药用。在 0~100 天的发酵过程中, 随着发酵时间的延长, 基质转化为菌质, 产品中多糖含量迅速下降, 蛋白质含量逐步上升。当发酵周期达 45 天左右时, 多糖与蛋白质含量渐趋稳定, 这时期菌质中提取成分的抑瘤率最高, 也是菌质中槐耳菌丝体由营养生长转向生殖生长的阶段。现已知道多糖蛋

白 (PS-T) 是槐耳菌质的重要有效成分, 因此测定多糖与蛋白质的含量可作为发酵质量的监控指标和判定菌质的发酵终点, 也是药品的重要质量标准^[4]。近来也有作者改用双向发酵工程来生产菌质。即由以往仅用富含碳、氮等营养的农副产品作为营养基质, 改为采用具有一定活性成分的中药材作为药性基质, 它既能提供真菌成长所需的营养, 又因真菌的酶而被改变组织成分, 从而产生新的性味功能。实验证实: 由黄芪作为基质发酵槐耳菌而产生的菌质, 其药效明显超过槐耳菌质^[5]。

2 槐耳的基础研究

2.1 化学研究

槐耳菌质得精致槐耳多糖蛋白, 简称 PS-T。经小鼠肉瘤 S₁₈₀ 抑瘤试验, 抑瘤率达 40%~47%, 说明 PS-T 具有抗癌活性, 是槐耳菌质和槐耳清膏的有效作用部位^[6]。

槐耳多糖蛋白是一种棕褐色粉末, 没有明显的熔点, 在 280 时变黑, 易溶于热水, 稍溶于低浓度乙醇, 不溶于高浓度乙醇、丙酮、乙醚、乙酸乙酯、正丁醇等有机溶剂。其水溶液透明呈黏稠状, pH 值为 5.5, 无旋光性^[7]。经高效液相色谱和电泳分析表明其主要成分基本为均一多糖, 并由光谱和气相层析方法证明槐耳多糖为一蛋白结合杂多糖, 其具体组成为: 6 种单糖 (含量为 41.53%) 和 18 种氨基酸 (含量为 12.93%)。该多糖蛋白的分子量为 30 000, 其多糖分子糖苷键构型主要为 β -型^[7-10]。

收稿日期: 2006-04-05; 修回日期: 2006-05-10

2.2 作用机制

2.2.1 促进巨噬细胞功能

槐耳多糖蛋白(PS-T)能激活巨噬细胞,增强巨噬细胞的吞噬功能,使之直接杀伤肿瘤细胞并处理、递呈肿瘤抗原,进而激活T细胞产生抗肿瘤效应。巨噬细胞还可释放TNF-、IL-1、IFN-等细胞因子来调节抗肿瘤效应。经槐耳多糖蛋白作用后的小鼠,其血清中溶菌酶活性也明显增加^[11]。

2.2.2 诱导细胞因子

槐耳多糖蛋白能明显诱生、干扰素,对干扰素促进NK细胞活性有协同作用,后者又可产生IFN-、IL-2等。IL-2可刺激T、B淋巴细胞增殖活化。活化的巨噬细胞也可产生IFN-、IL-1、CSF等细胞因子。在这些细胞因子的协同作用下增强T细胞、巨噬细胞、NK细胞等对肿瘤细胞的杀伤能力^[6,11]。

2.2.3 促进细胞免疫功能

槐耳多糖蛋白对脐血EaRF(活性花环)及GVHR(移植物抗宿主反应)有增强作用。另外在干扰素尤其是IFN-的协同作用下可使NK细胞活性增强,提高CTL对肿瘤的杀伤作用^[6]。陈慎宝等^[11]用槐耳多糖给小鼠腹腔注射,10天后取血测定淋巴细胞转化率均高于生理盐水对照组。陆鹏等^[12]应用二乙基亚硝胺制备大鼠肝癌模型,同时给大鼠灌服槐耳浸膏,20周后取肝用免疫组化检测IL-2R阳性细胞,证明槐耳浸膏能增加肝内IL-2R阳性细胞数,从而增强体内细胞免疫功能。

2.2.4 提高体液免疫作用

陈慎宝等^[11]通过动物实验表明槐耳多糖蛋白可明显提高机体产生抗体的水平。在特异性抗体的作用下,可增加吞噬细胞的调理吞噬作用及发挥ADCC作用,进而杀伤、吞噬或溶解肿瘤细胞。

2.2.5 抑制肿瘤血管生成

陈大兴等^[13]用不同浓度的槐耳浸膏作用于人脐静脉血管内皮细胞,观察其对细胞的增殖能力、迁移能力、附壁能力及血管生成的影响。结果发现槐耳浸膏2mg/ml时可显著降低肿瘤组织的血管内皮细胞的增殖能力,减少血管形成,抑制血管内皮细胞的迁移、黏附,从而降低肿瘤组织中的微血管密度。许戈良等^[14]观察了槐耳浸膏对血管内皮生长因子(VEGF)诱导的人脐静脉内皮细胞增殖和分化成血管能力的影响。结果显示:槐耳浸膏在浓度为0.1g/L~10g/L时能明显抑制VEGF诱导的内皮细胞增殖,呈量效关系。它阻止内皮细胞由S期进入G₂/

M期。在浓度为1g/L时可抑制内皮细胞体外分化成管样结构,浓度为10g/L时则完全阻断内皮细胞体外分化成管样结构的能力,说明槐耳浸膏对血管内皮细胞体外构建新生血管具有抑制作用。

2.2.6 诱导肿瘤细胞凋亡

临床实践及细胞实验已证明槐耳浸膏能抑制多种肿瘤细胞的增殖。诱导肿瘤细胞的凋亡是其发挥这一作用的途径之一。周进等^[15]采用不同浓度的槐耳浸膏与人胰腺癌细胞Panc-1共同培养,发现槐耳浸膏能明显抑制Panc-1的生长,细胞周期阻滞主要在G₁期。槐耳浸膏在浓度为3.0mg/ml、作用时间36h时达到凋亡高峰,凋亡率达15%~20%。细胞免疫组化进一步证实槐耳浸膏能上调凋亡基因Caspase-3的表达。程若川等^[16]将不同浓度的槐耳浸膏与人直肠癌HR8348细胞共同培养36h,结果显示细胞凋亡指数随槐耳浸膏浓度的增加而增加,当浓度为4.0mg/ml时达到最大。槐耳浸膏组bcl-2、bcl-xl、bak、p53蛋白表达较空白对照组明显增强,而bax变化不明显。槐耳浸膏组bak/bcl-2和bak/bcl-xl比值显著大于空白对照组。另外有作者分别观察了槐耳浸膏诱导人肺腺癌细胞A₅₄₉、食管癌细胞、Mdt-4细胞的凋亡作用,证明槐耳浸膏对这些肿瘤细胞均有明显诱导凋亡的作用^[17-19]。

2.2.7 逆转耐药细胞株

槐耳浸膏能逆转部分耐药细胞株,同时对化疗亦有增敏作用。张玉宝等^[20]观察了槐耳浸膏在乳腺癌综合治疗中的作用并探讨了其相应的机制。结果提示:0.01mg/ml剂量的槐耳颗粒能显著降低化疗药物ADM对人乳腺癌耐药细胞株MCF-7/A的IC₅₀(3.95μg/ml),与逆转前耐药细胞株MCF-7/A的IC₅₀(17.67μg/ml)相比,差异有显著性(P<0.05),其逆转倍数为4.5,耐药倍数为21.7。人乳腺癌敏感细胞株MCF-7/S无MDR-1 mRNA表达,低毒剂量和非细胞毒性剂量的槐耳颗粒可使MCF-7/A细胞的耐药基因MDR-1表达水平下调。说明槐耳颗粒逆转MCF-7/A耐药性的机制是通过下调耐药基因MDR-1的表达水平来实现的^[20]。黄涛等探讨了槐耳浸膏对耐顺铂的人肺腺癌细胞A₅₄₉^{DDP}化疗敏感性的逆转作用及其机制,结果表明槐耳浸膏对A₅₄₉和A₅₄₉^{DDP}的细胞毒性作用相似,并可致凋亡。经槐耳浸膏作用后A₅₄₉及A₅₄₉^{DDP}的顺铂IC₅₀均呈下降趋势,并与槐耳浸膏有剂量依赖性。给予1mg/ml槐耳浸膏作用40h后再经相应顺铂作用的A₅₄₉和A₅₄₉^{DDP}细胞凋亡的发生

率差异无显著性,但较同剂量的顺铂单独作用于 A₅₄₉ 和 A₅₄₉^{DDP} 凋亡率有极显著性差异。说明槐耳浸膏可逆转人肺腺癌细胞对顺铂的耐药性,提高顺铂对 A₅₄₉^{DDP} 化疗的敏感性^[21]。

2.2.8 其他

槐耳还能促进小鼠脾细胞 DNA 的合成,提高血清中血红蛋白的含量,说明它对造血细胞有一定的促进作用。陈莉等在鼠肝癌模型制备早期给小鼠灌服槐耳清膏发现具有显著的防癌作用,癌变率显著性降低,在癌形成与发展过程中灌服槐耳清膏也有显著的抑癌效应,可减轻癌变的病理变化。槐耳清膏还能通过抑制肝硬化来干预癌的形成,其疗效与疗程呈正相关^[22]。

2.3 药理及毒理研究

2.3.1 药理

槐耳浸膏灌胃药效最佳剂量在小鼠为 1 500mg/kg,研究显示对小鼠肉瘤 S₁₈₀ 抑瘤率达 46%,对腹水型 S₁₈₀ 生命延长率为 38%。粗多糖及 PS-T 灌胃及腹腔给药也同样有明显的抑瘤和延长生命的作用。多糖静脉给药对犬血压、心电图、心率和对麻醉后的呼吸频率均无明显影响。对兔呼吸系统、大鼠神经系统的实验也未见异常^[23]。

2.3.2 毒理

大剂量槐耳浸膏给小鼠、大鼠灌胃(小鼠>20000mg/kg 大鼠>15 000mg/kg)均未能测出 LD₅₀,且在观察期间均未引起动物死亡。大鼠按人临床用药量的 5.5 倍、50.6 倍、95 倍灌胃 90 天,家兔各剂量组连续给药半年,实验动物生长正常,生化指标、血象无异常,也未见药物引起的病理改变,特殊毒理如诱变试验和微核与染色体畸变等试验均为阴性反应^[6]。

3 槐耳的临床应用

3.1 槐耳颗粒治疗肝癌

蒋梅等应用槐耳颗粒治疗中晚期原发性肝癌 98 例,所有病例均服药 1 个月以上,最长服药时间 38 个月。治疗期间停用其他抗癌药物。结果显示肿瘤完全缓解 0 例,部分缓解 2 例,无变化 24 例,病变进展 72 例。瘤体稳定率为 24.49%。一期患者中 6 个月、1 年、3 年生存率分别为 94.74%、73.68%、10.53%。二期患者中 6 个月、1 年、3 年生存率分别为 68.66%、16.67%、1.67%。AFP 阳性病例中稳定及

下降率为 37.97%。槐耳颗粒对患者的疼痛、纳呆、失眠症状均有不同程度的改善^[24]。郭添胜等^[25]比较了槐耳颗粒联合肝动脉化疗栓塞术及单用肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌的近期疗效,发现两者差异无显著性,联合组在肝功能改善、人体功能状况评分改善、减少粒细胞下降率、改善食欲下降较单纯组好。

3.2 槐耳颗粒治疗乳腺癌

钟少文等^[26]将 62 例一期乳腺癌病人分为两组:治疗组 29 例,连服槐耳颗粒 3 个月。对照组 33 例,以 CTX+THP+5-Fu 化疗,每 3 周为 1 个疗程,共 4 个疗程。结果表明治疗组不仅在中医证候、生存质量的改善方面优于对照组,在中位生存时间上也优于后者。另外槐耳浸膏联合化疗治疗乳腺癌不仅可以提高化疗疗效,减轻毒副反应(白细胞、血红蛋白下降等),还可提高乳腺癌患者的 IgG、IgA、IgM 水平,促进机体的免疫功能^[27,28]。

3.3 槐耳颗粒治疗消化道恶性肿瘤

邓艾平等^[29]将 74 例有化疗指征的消化道恶性肿瘤患者随机分为两组,分别给予槐耳颗粒联合化疗(羟基喜树碱 10mg/m²,亚叶酸钙 100mg,5-Fu 500mg)和单用化疗。观察患者在治疗后的疗效和生活质量的改变。结果前者治疗后总有效率为 60.5%,生活质量状况 Karnofsky 评分提高及稳定者占 86.6%;后者总有效率为 33.3%,生活质量状况 Karnofsky 评分提高及稳定者占 69.5%。两者差异有显著性。槐耳颗粒联合化疗治疗大肠癌、胃癌术后患者,同样具有减轻不良反应,提高生存率的作用,并能促进机体的细胞免疫功能^[30,31]。

3.4 槐耳颗粒治疗慢性乙肝

槐耳多糖蛋白对小鼠血清干扰素诱生作用非常明显。对感染鸭肝炎病毒的实验鸭使用该药后可使其血清 HBV-DNA 水平明显下降。唐保元等^[32]用槐耳颗粒治疗慢性乙肝病毒感染者 20 例,结果 HBeAg 阴转 6 例(占 30%),其中 3 例 HBeAb 转为阳性,1 例在 HBeAg 转为 HBeAb 时 HBsAg 阴转,提示槐耳对慢性乙肝有较好疗效。

目前槐耳颗粒已在临床上得到较为广泛应用,涉及以肿瘤疾病为主的多项领域,并已取得了许多独到的疗效。现有的基础理论研究已为槐耳颗粒抑制肿瘤提供了部分理论依据。随着实验研究的不断深入,尤其是细胞生物学及分子生物学技术的运用,槐耳抑制肿瘤的机制必将会被人们揭开。

参考文献:

- [1] 邓叔群. 中国的真菌[M]. 北京: 科技出版社, 1963:515.
- [2] 庄毅. 槐耳的鉴定与考证[J]. 中国食用菌, 1993, 13(6): 22.
- [3] 李时珍. 槐耳[A]. 本草纲目下册(菜部)二十八卷[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982:1712.
- [4] 庄毅. 药用真菌的固体发酵[J]. 中国药学杂志, 1991, 26(2): 80.
- [5] 庄毅. 药用真菌新型固体发酵工程与槐芪菌质的研制[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(3): 175- 178.
- [6] 庄毅. 真菌抗癌药物槐耳颗粒的研制[J]. 中国肿瘤, 1999, 8(12): 540- 543.
- [7] 郭跃伟, 程培元, 陈玉俊, 等. 槐耳菌丝体多糖的研究() [J]. 中草药, 1992, 23(4): 175- 177.
- [8] 郭跃伟, 程培元, 陈玉俊, 等. 槐耳菌丝体多糖的分离和分析[J]. 中国生化药物杂志, 1993, 1: 56- 60.
- [9] 周学敏, 郭跃伟, 陈玉俊, 等. 槐耳多糖的含量测定[J]. 中草药, 1993, 24(3): 127.
- [10] 郭跃伟, 程培元, 陈玉俊, 等. 槐耳菌丝体多糖的研究() 槐耳多糖的组成及摩尔比测定[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(3): 155- 157.
- [11] 陈慎宝, 丁如宁. 槐耳菌质成分对小鼠免疫功能的影响[J]. 食用菌学报, 1995, 2(1): 21- 25.
- [12] 陆鹏, 陈莉, 陆正鑫. 实验性肝癌中比较槐耳与 IL-2 对 PTEN 和 IL-2R 阳性细胞的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(15): 1982- 1985.
- [13] 陈大兴, 陈孝平, 张万广. 槐耳清膏治疗肝癌的实验研究[J]. 中国普通外科杂志, 2004, 13(8): 578- 582.
- [14] 许戈良, 英卫东, 马金良, 等. 槐耳浸膏体外抑制血管生成的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(12):1410- 1412.
- [15] 周进, 李德春, 匡玉庭. 金克(槐耳清膏)抑制胰腺癌细胞 Panc-1 生长转移的实验研究 [J]. 苏州大学学报(医学版), 2005, 25(2): 226- 228.
- [16] 程若川, 汤礼贵, 兰丽琴, 等. 槐耳清膏诱导人直肠癌 HR8348 细胞凋亡的实验研究[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2003, 10(6): 568- 571.
- [17] 黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏诱导人肺癌细胞 A549 凋亡的实验研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(8): 487- 488.
- [18] 李保庆, 李勇, 王其彰, 等. 槐耳颗粒对食管癌细胞凋亡及免疫功能的影响[J]. 中国肿瘤, 2003, 12(12): 752- 753.
- [19] 王家顿, 谢大兴, 陈金明, 等. 抗癌药物诱导 Mdt-4 细胞凋亡的周期时相性分析 [J]. 中国肿瘤, 2002, 11(9): 533- 534.
- [20] 张玉宝, 张国强, 王劲松, 等. 槐耳颗粒在乳腺癌综合治疗中的作用[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2004, 11(6): 512- 515.
- [21] 黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏对耐顺铂人肺癌细胞系 A₅₄₉^{DRP} 逆转的实验研究[J]. 中国药师, 2002, 5(9): 517- 521.
- [22] CHEN Li, LU Zhengxin, LU Peng, et al. Anticancer effect of PS-T on the experimental hepatocellular carcinoma [J]. Chinese-German J Clin Oncol, 2004, 3(1):55- 59.
- [23] 程若川, 王建忠. 槐耳的研制及临床应用[J]. 昆明医学院学报, 2003, 24(1): 101- 103.
- [24] 蒋梅, 周岱翰. 槐耳冲剂治疗中晚期原发性肝癌 98 例[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(6): 21- 22.
- [25] 郭添胜, 黄福喜, 曹小龙. 槐耳颗粒联合介入治疗原发性肝癌的疗效观察[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(16): 1846- 1847.
- [26] 钟少文, 江慧玲, 刘鑫, 等. 金克槐耳颗粒治疗 期乳腺癌[J]. 中国肿瘤, 2003, 12(12): 754- 755.
- [27] 付美兰, 郭丽英, 玛依怒尔, 等. 槐耳颗粒对 43 例晚期乳腺癌化疗患者造血及免疫功能的影响[J]. 肿瘤学杂志, 2005, 11(4): 318.
- [28] 陈前军, 赖熙雯, 司徒红林, 等. 乳腺癌术前行槐耳颗粒联合化疗临床疗效[J]. 中国肿瘤, 2004, 13(5): 330- 331.
- [29] 邓艾平, 毛德莉. 槐耳颗粒治疗消化系统恶性肿瘤 74 例临床观察[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(5): 453- 454.
- [30] 袁明, 黄桂林, 李志刚, 等. 槐耳颗粒配合化疗对大肠癌患者术后免疫功能的影响 [J]. 中国肿瘤, 2005, 14(7): 487- 488.
- [31] 姚建高, 韩少良, 朱冠宝, 等. 期胃癌术后联合化疗与金克的疗效[J]. 中国肿瘤, 2003, 12(10): 606- 608.
- [32] 唐保元, 闵贤, 章莉莉. 槐耳菌冲剂对慢性乙型肝炎 e 系统影响的初步观察 [J]. 南京医学院学报, 1991, 11(2): 122- 123.