

基于中药成分马兜铃酸致癌性的思考与探讨*

本期专题讨论概述

栾 洋^{1,2**}

(1. 上海交通大学医学院/公共卫生学院 上海 200025;

2. 中药安全性研究联合实验室 上海 200025)

摘 要:含有马兜铃酸中药的安全性是近年国内外关注的热点话题,上海交通大学医学院公共卫生学院栾洋课题组围绕马兜铃酸致癌毒性开展了系列研究,并积极组织学术讨论,继2015年和2018年开展专题讨论会后,再次邀请本领域相关研究人员就马兜铃酸与肝癌的相关性这一科学问题,发表新研究进展、综述和各自不同的学术观点,形成本专辑,以期对中药不良反应(特别是致癌性)的风险评估及防控提供有价值的参考,以及为如何科学地传承中医药提供宝贵的思路。

关键词:马兜铃酸 致癌性 药物不良反应 安全用药

中医药是祖先赋予我们的瑰宝,但只有科学地传承与发展才能赋予其长久的生命力。过去一些难以察觉的潜在的健康风险,而如今通过现代检测手段得以揭示,继而推动更加深入的研究,这对于中医药的传承与发展无疑是一大进步。中药安全性研究既非评价中医药的地位,亦非否定中药的疗效,而是基于客观科学的态度,采用“取精华、去糟粕”的传承方式,使其取得长远发展。

近年来,含马兜铃酸中药的肾毒性及潜在致癌风险在国内外持续引起关注。为此,本课题组(上海交通大学医学院公共卫生学院栾洋研究员课题组)围绕马兜铃酸毒性问题开展了系列研究,分别于



图1 2015年上海国际中药安全性研讨会报告者留念

* 国家自然科学基金委员会面上项目(8187140141):马兜铃酸物质基础与致癌毒性研究,负责人:栾洋;上海交通大学医学院栾洋研究团队长期从事遗传毒性药物毒性研究,曾于2015年和2018年分别组织和举办上海国际中药安全性研讨会,现今在此基础上组织本期专题讨论:马兜铃酸致癌性的研究、思考与讨论。

** 通讯作者:栾洋,研究员,主要研究方向:遗传毒理,药物毒理,本期专题讨论的发起人。



图2 2018年上海交通大学马兜铃酸安全性研讨会会场

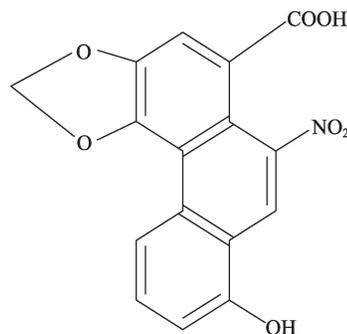
2015年和2018年先后牵头组织学术讨论。其中,2015年会议邀请了纽约州立大学石溪分校 Arthur P. Grollman 教授做了题为“基于马兜铃酸类物质的致癌作用机制及形成肿瘤的机理”的主旨报告,以及来自美国、日本、泰国、中国的学者80余人围绕中药成分质量控制及管理、中药临床不良反应及中药毒性机制研究等议题进行发言与交流。

2017年11月,国际权威医学期刊《科学——转化医学》(*Science translational medicine*)发表了一篇题为“马兜铃酸及其衍生物与中国台湾地区及亚洲地区肝癌广泛相关”(Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia)的论文,该研究认为在中国大陆地区有近一半肝癌患者的发病与服用含马兜铃酸的中药存在相关性,且该期杂志以“一种中草药的黑暗面”作为封面故事讲述,再次把中药安全性问题推至舆论的风口浪尖,甚至在国内出现了主张废除中药的声音。针对上述争议,上海交通大学医学院再次于2018年8月举办了马兜铃酸安全性研讨会,会议邀请了该论文的通讯作者 Steven G. Rozen 教授进行主旨报告,同时共有来自国内22家科研单位中70余名从事马兜铃酸相关研究的科研人员参会,围绕生物信息学分析、含马兜铃酸中药物质基础研究和监管、马兜铃酸致癌毒性机制研究以及临床不良反应监测4个议题开展了报告与交流,经过充分讨论,与会者针对核心的科学问题达成了初步共识,并进一步归纳整理亟待解决或尚存分歧的关键问题,初步提出了应对措施。

上述研讨会不仅促进了学术交流和国际合作,同时也为中药安全性的研究思路提供了重要参考。为便于准确理解马兜铃酸毒性研究的重要性,我们需要系统地回顾其在天然产物包括中草药中的分布情况,以及其毒性研究的相关进展。

一、马兜铃酸的背景知识

马兜铃酸(Aristolochic acids, AAs)为硝基菲甲酸类化合物,天然存在于马兜铃属及细辛属等马兜



铃科植物中。AAs是一类化合物的总称,其中以马兜铃酸I(AAI)最为常见,化学结构如右图所示。据统计,分布于全世界的马兜铃科植物共8属400余种,其中4属71种产自中国。

马兜铃酸的药理活性较为广泛,其应用史悠久。早在2500年前,古希腊和古埃及史书中即有应用马兜铃酸治疗水肿的记载。在中国,含马兜铃酸的人药植物主要以马兜铃属和细辛属为主。现代药理学研究表明,马兜铃属的中药具有利尿、抗感染、消炎、抗蛇毒和抗癌等作用,因而广泛应用于临床。在以上两属的药用植物中,广防己、关木通和青木香于2003年被取消药用标准,目前仍在使用的中药共24种,包括马兜铃属14种(大叶青木香、大百解、朱砂莲、九月生(朱砂莲)、天仙藤(马兜铃藤)、马兜铃、防己、汉防己、淮通、木防己(水城木防己)、木香马兜铃、大青木香、冕宁防己、寻骨风)和细辛属10种(茗叶细辛、乌金七、杜衡、湘细辛、细辛、甘肃细辛、南坪细辛、毛细辛、金耳环、山慈菇)。另外,目前仍有一定量的含马兜铃酸的中药制剂应用于临床,据统计,含马兜铃属中药的中成药共计47种、方剂共计75首;含细辛属中药的中成药290种、方剂1500余首。现行最新版《中华人民共和国药典》(2015版)一部中共收录含马兜铃酸中药材3种,分别为马兜铃、天仙藤和细辛,并对天仙藤和细辛中的马兜铃酸I的限量检测标准作出规定(即细辛中马兜铃酸I不得超过0.001%;天仙藤中马兜铃酸I不得超过0.01%)。

截至目前,马兜铃酸诱导肾病的确切机制尚不完全明晰,现有的主流研究认为主要是由马兜铃酸原型引起的细胞毒性所导致,且其致癌作用的主要机制是诱导基因突变。即马兜铃酸进入体内后经代谢活化后形成马兜铃酸内酰胺氮离子,可以与DNA碱基环外氨基结合,形成相应DNA加合物,进而诱发以A:T→T:A颠换突变为主的突变,发生在肿瘤驱动基因上会诱导肿瘤的发生。

二、马兜铃酸的毒性研究大事记

2.1 从流行病学研究的视角认识马兜铃酸毒性

早在1964年,我国医生吴松寒在《江苏中医》报道了马兜铃酸的相关病例^[1],患者服用含马兜铃酸的木通后引起了急性肾功能衰竭;1967年,Ciba基金会研究团队出版了专著《巴尔干地方性肾病》(*The Balkan Nephropathy*)^[2],尽管基于当时研究尚不阐释病因,但该书对于疾病的描述能为后续病因的研究提供重要参考。1993年,比利时学者Vanherweghem JL等人在《柳叶刀》(*Lancet*)上报了中草药减肥药的服用人群出现了进展性肾纤维化^[3],结合同一时期亚洲地区流行病学研究发现,该疾病被冠名为“中草药肾病”。从2007年开始,美国纽约州立大学石溪分校Arthur Grollman教授团队先后在巴尔干肾病和中国台湾地区中草药肾病并发泌尿系统肿瘤的患者体内鉴定出了马兜铃酸DNA加合物,以及关键抑癌基因的突变特征与马兜铃酸的特征突变相吻合,在《美国科学院院报》(*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,PNAS*)等权威杂志上发表系列文章^[4,5]。至此,中草药肾病和巴尔干肾病的致病因素被阐释为马兜铃酸,并明确马兜铃酸可导致人类恶性肿瘤的发生。2012年,国际癌症研究所(IARC)基于已获得的来自动物实验和人群研究确凿数据,把马兜铃酸的致癌级别提升为一级致癌物^[6]。随着测序技术的出现,2013年《科学——转化医学》(*Science translational medicine*)期刊以封面故事形式刊登了分别来自两个研究团队的论文,两个团队均在相关泌尿系统肿瘤DNA测序中发现了马兜铃酸特征性突变,之后在国际上统一被编号为Signature 22号^[7,8]。2017年,在同一杂志《科学转化医学》(*Translational Medicine*)的封面故事中,杜克-新加坡国立大学Steven Rozen教授团队再次报道在肝癌中发现了该特征性突变,认为亚洲地区近50%肝癌的发生与马兜铃酸的摄入有关性^[9],该研究引起学术界的极大关注(详见图3)。

2.2 从毒理学研究的视角认识马兜铃酸毒性

德国的Mengs等人最早于1982年连续发表了3篇论文^[10-12],阐述大鼠和小鼠给予马兜铃酸后均能

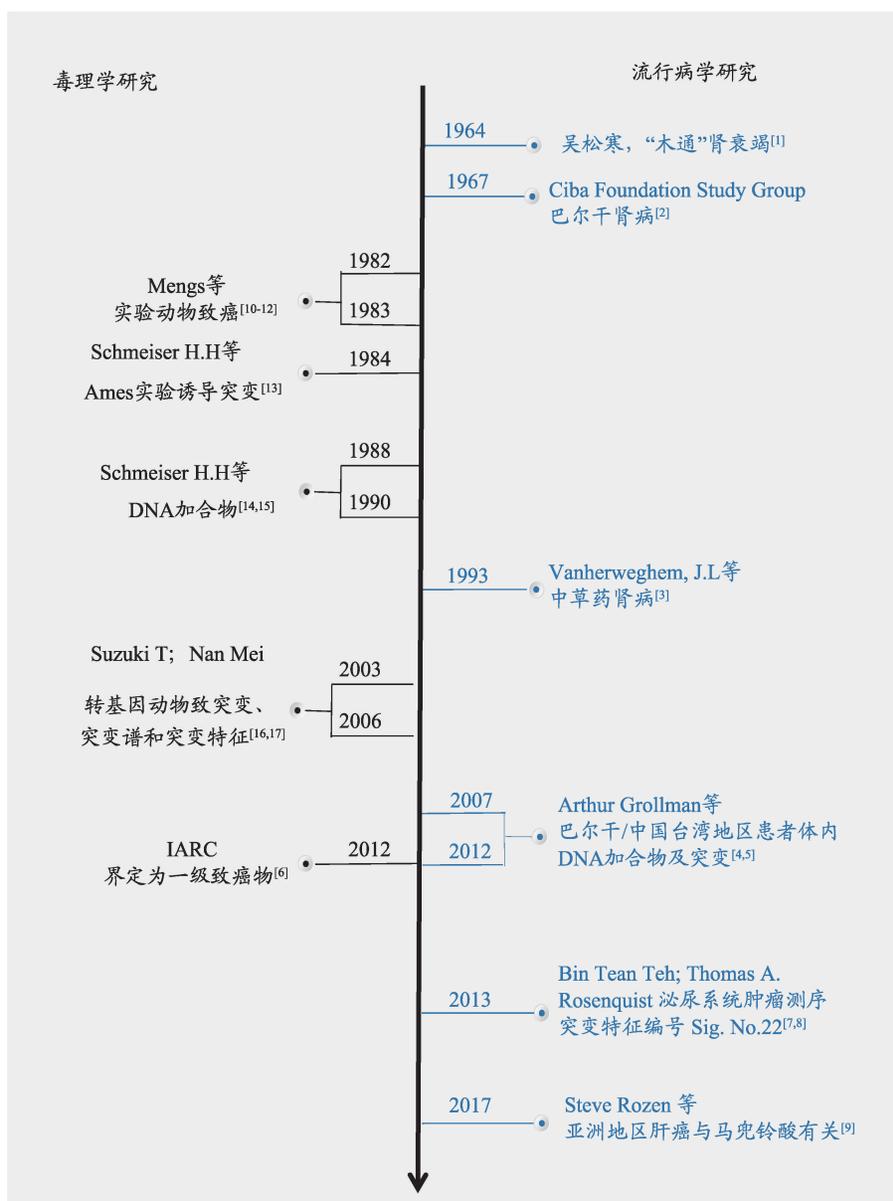


图3 马兜铃酸毒性研究大事记

诱导其形成恶性肿瘤,发病部分主要分布在泌尿系统、前胃和结肠。1984年,德国Schmeiser HH团队在Ames实验上发现了马兜铃酸的诱变作用^[13],该团队随后于1988年起首次报道了马兜铃酸可与DNA形成加合物,并陆续进行系列研究,相应的论文成果发表在《癌变》(*Carcinogenesis*)等杂志上^[14,15]。2003年,日本国立卫生研究院(NIHS)的Suzuki Takayoshi团队首次利用转基因小鼠发现马兜铃酸可诱发基因突变,并得到了马兜铃酸突变谱和突变特征^[16]。2006年美国美国食品和药物管理局(FDA)的Nan Mei研究团队在大鼠上也证实了同样的突变特征^[17]。上述突变研究能为后续临床发现提供重要的理论参考(详见图3)。

综上,由于马兜铃酸的肾毒性和致癌风险,国外已对其实行禁用。然而,考虑到中医药理论体系与西医药理论体系之间存在差异,且中药基于千年来的传统医学经验指导,被使用并流传至今。我们的祖先通过不断的实践与应用,从中进行了毒性的探索,将中药毒性分为有毒、小毒、大毒,总结出“配

伍减毒”、“以毒攻毒”、“炮制减毒”等与毒理相关的中医理论。值得注意的是,癌症的发生与发展是个相对漫长的过程,而基于古代有限的医疗水平、较为匮乏的物质条件以及战乱纷飞的生存环境,难以追溯到完整的用药记录,并缺乏相应的流行病学调研;加之古人寿命相对较短,且癌症并非当时的主要死因,故中药的致癌风险存在被古人忽略的可能性。对于马兜铃酸的致癌性,笔者认为需要利用现代科学手段进行系统研究,通过建立有充分科学依据并可获得国际共识/国际认可的中药安全标准以解决潜在的安全性问题。马兜铃酸是一类结构类似的化合物总称,不同的类似物在各药材中含量不同,因此首先要明确毒性的物质基础,从而对主要毒性成分进行评价,通过探索安全剂量外推拟用于普通人群的剂量,制订可保障用药安全的限量标准;其次要进行马兜铃酸相关癌症的流行病学研究,结合临床检测和药物服用史来分析有毒成分的摄入情况,继而对中国相关肿瘤患者样本进行测序和分析,综合分析潜在的致病因素如炎症或其他环境致癌物(如黄曲霉毒素)对疾病的贡献度,明确具体的用药目标人群范围并制订相应的用药方案;再则要深入研究其毒性机制,探索相关的生物标志,进行毒性的预测、监测和预防。另外,在研究结果尚未明确之前,应加强监测马兜铃导致的不良反应/事件。总之,我们应该客观看待并评价中药不良反应,绝不能因为部分中药成分具有潜在致癌毒性,而

表1 本期“马兜铃酸致癌性的研究、思考与讨论”专题约稿学者

| 序号 | 学术带头人 | 单位 | 题目 |
|----|--------|------------------------------|--|
| 1 | 肖小河研究员 | 中国人民解放军总医院第五医学中心 全军中医药研究所 | 马兜铃酸与肝癌相关性的研究及思考 |
| 2 | 马双成研究员 | 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所 | 马兜铃酸类成分研究进展 龙胆泻肝丸中马兜铃酸I的液质联用法检测分析 |
| 3 | 杨凌研究员 | 上海中医药大学上海中医药大学系统药代动力学中心 | 马兜铃酸致癌作用的分子毒理学关键点 |
| 4 | 蔡少青教授 | 北京大学药学院 | 3种马兜铃酸和2种马兜铃内酰胺在北细辛、华细辛及汉城细辛不同部位的分布及含量分析 |
| 5 | 栾洋研究员 | 上海交通大学医学院&诗丹德标准技术服务 有限公司 | 马兜铃酸IVa与2-脱氧核苷体外反应形成 加合物的LC-MS/MS研究 |
| 6 | 龚祝南教授 | 南京师范大学生命科学学院 | 基于HPLC-Q-TOF/MS法分析马兜铃水煎剂化学成分的研究 |
| 7 | 马双成研究员 | 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所 | 龙胆泻肝丸中马兜铃酸I的液质联用法检测分析 |

表2 本期专题特约评述学者

| 序号 | 特邀评述人 | 单位 | 题目 | 时间/年 |
|----|-------------------|--------------------------------|-------------------|------|
| 1 | 叶祖光研究员 | 中国中医科学院中药研究所 | 关于马兜铃酸毒性作用之管见 | 2019 |
| 2 | 肖小河研究员 | 解放军总医院第五医学中心全军中医药研究所 | 马兜铃酸毒性再研究的关键问题及意义 | 2019 |
| 3 | 杨凌教授 | 上海中医药大学交叉科学学院 | 关于马兜铃酸的争议 | 2019 |
| 4 | 韩泽广教授 | 上海交通大学系统生物医学研究院 | 马兜铃酸导致肝癌 | 2019 |
| 5 | 栾洋研究员 | 上海交通大学医学院公共卫生学院 | 中药成分马兜铃酸致癌性的思考 | 2019 |
| 6 | 梁爱华研究员 | 中国中医科学院中药研究所 | 含马兜铃酸中药:正视风险,合理用药 | 2019 |
| 7 | Steven G Rozen 博士 | 杜克-新加坡医学院终身教授 | | 2018 |
| 8 | 石铁流教授 | 华东师范大学 | | 2018 |
| 9 | 石乐明教授 | 复旦大学生命科学学院教授 | | 2018 |
| 10 | 马双成研究员 | 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所 | | 2018 |
| 11 | 茅益民教授 | 上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科 | | 2018 |
| 12 | 张天宝教授 | 中国人民解放军海军军医大学(第二军医大学) 基础医学部 | | 2018 |

以偏概全、因噎废食,更不能长期忽视公众对其的疑虑/隐患,应及时开展相应的研究并给出明确的科学答案。当今,我们应做到遵循中医理论的指导下,结合现代技术手段,力图阐明毒性机理,加强马兜铃酸致癌性的风险评估及防控,从中总结科学合理的使用方法,以保障马兜铃科这一类常用中药的临床用药安全。

本期“专题讨论”收录了近期关于马兜铃酸研究新进展的学术论文(含实验性及综述性文章),并在2018年马兜铃酸安全性研讨会纪要的基础上,再次邀请本领域相关研究人员就马兜铃酸与肝癌的相关性这一科学问题撰文讨论,继而发表各自不同的评论观点,通过促进深入的学术交流,最终能为中药不良反应(特别是致癌性)的风险评估及防控提供有价值的参考,同时促进其临床用药安全水平的提高。

(鸣谢:感谢《世界科学技术——中医药现代化》为推进上海交通大学医学院公共卫生学院举办的上海国际中药安全性研讨会的学术交流提供平台,感谢杂志社积极参与组织稿件和邀请评论专家发表观点所付出的辛勤劳动。)

参考文献

- 1 吴松寒. 木通所致急性肾功能衰竭二例报告. 江苏中医, 1964(10): 12-13.
- 2 Wolstenholme GE and Knight J. CIBA Foundation Study Group No.30. The Balkan Nephropathy. Boston, MA, CIBA Foundation, 1967.
- 3 Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet*, 1993. **341**(8842): 387-391.
- 4 Grollman AP, Shibutani S, Moriya M, et al. Aristolochic Acid and the Etiology of Endemic (Balkan) Nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007. **104**(29): 12129-12134.
- 5 Chung-Hsin C, Dickman KG, Masaaki M, et al. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012. **109**(21): 8241-8246.
- 6 Plants Containing Aristolochic Acid. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 100A (2012).
- 7 Ling PS, See-Tong P, R MJ, et al. Genome-wide mutational signatures of aristolochic acid and its application as a screening tool. *Science translational medicine*, 2013. **5**(197).
- 8 L HM, Chung-Hsin C, S SV, et al. Mutational signature of aristolochic acid exposure as revealed by whole-exome sequencing. *Science translational medicine*, 2013. **5**(197).
- 9 Awt N, Poon SL, Huang MN, et al. Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia. *Science Translational Medicine*, 2017. **9**(412): 6446.
- 10 Mengs U, Lang W and Poch J-A. The carcinogenic action of aristolochic acid in rats. *Archives of Toxicology*, 1982. **51**(2).
- 11 Mengs U. On the histopathogenesis of rat forestomach carcinoma caused by aristolochic acid. *Archives of Toxicology*, 1983. **52**(3).
- 12 Mengs U. Tumour induction in mice following exposure to aristolochic acid. *Archives of Toxicology*, 1988. **61**(6).
- 13 Schmeiser HH, Pool BL and Wiessler M. Mutagenicity of the two main components of commercially available carcinogenic aristolochic acid in *Salmonella typhimurim*. *Cancer Letters*, 1984. **23**(1): 97-101.
- 14 Schmeiser HH, Schoepe KB and Wiessler M. DNA adduct formation of aristolochic acid I and II in vitro and in vivo. *Carcinogenesis*, 1988. **9**(2): 297-303.
- 15 Pfau W, Schmeiser HH and Wiessler M. Aristolochic acid binds covalently to the exocyclic amino group of purine nucleotides in DNA. *Carcinogenesis*, 1990. **11**(2): 313-319.
- 16 Kohara A, Suzuki T, Honma M, et al. Mutagenicity of aristolochic acid in the lambda/lacZ transgenic mouse (Muta™ Mouse). *Mut.Res.-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2002. **515**(1): 63-72.
- 17 Mei N, Arlt VM, Phillips DH, et al. DNA adduct formation and mutation induction by aristolochic acid in rat kidney and liver. *Mutation Research/fundamental & Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2006. **602**(1): 83-91.

**Thinking and Discussion on the Carcinogenicity of Aristolochic Acids,
A Class of Compounds from Traditional Chinese Medicine:
A Summary of the Presentations in the International Symposium on the
Safety of Traditional Chinese Medicine**

Luan Yang^{1,2}

*(1. School of Public Health, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China;
2. Joint Laboratory on Chinese Herbal Medicine Safety, Shanghai 200025, China)*

Abstract: The safety of aristolochic acids (AAs)-containing Chinese herbal medicine has raised concern in recent years. Dr. Luan Yang with her team, are studying on the carcinogenesis of AAs in School of Public Health, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. She also organized workshops on herbal safety and AAs toxicity in 2015 and 2018, respectively. The present special issue aims to present the ongoing progress in AAs carcinogenesis studies, containing research articles, reviews and insights, with contributions from the leading researchers and groups in the area of Chinese herbal medicine safety study. Together with the summary of workshops on AAs safety, this issue will provide valuable reference for risk assessment and prevention and control of adverse reactions (especially carcinogenicity) of Chinese herbal medicine, and provide valuable ideas for how to scientifically inherit traditional Chinese medicine.

Keywords: Aristolochic acids, Carcinogenesis, Adverse drug reactions, Safe medication

(责任编辑:周阿剑,韩紫欣;责任译审:邹建华。)