

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250929.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1089.R.20250929.1334.002>

蟾蜍化学成分及抗肿瘤作用研究进展

孙逸龙^{1,2}, 胡雨荷², 李 珊³, 孙永康^{1,4,5}, 徐方彪^{1,2}, 宋研博^{1,2}, 吴易俊^{1,2}, 韩 瑾^{1,2}, 王新志^{1,4,5}✉

(1. 河南中医药大学第一附属医院脑病中心, 河南 郑州 450099; 2. 河南中医药大学第一临床医学院, 河南 郑州 450046; 3. 河南中医药大学, 河南 郑州 450003; 4. 中西医防治重大疾病河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046; 5. 河南省中医药科学院脑病研究所, 河南 郑州 450046)

[摘要] 蟾蜍是一种传统名贵中药材, 具有解毒散结、行水消胀、拔疔消肿等功效, 现代多用于治疗各类肿瘤疾病。药理研究表明蟾蜍二烯内酯类、吲哚生物碱类、甾醇类、多肽类为蟾蜍中主要的抗肿瘤成分, 可通过调节 PI3K/AKT、Wnt/ β -catenin、NF- κ B、STAT3/p-STAT3 等信号通路, 以诱导肿瘤细胞自噬与凋亡、破坏肿瘤细胞分裂进程、破坏相关线粒体结构、抑制肿瘤细胞中的糖酵解反应、抑制肿瘤细胞上皮间质转化、逆转肿瘤细胞多药耐药等多种途径发挥抗肿瘤作用。蟾蜍及其提取物对脑神经胶质瘤、鼻咽癌、人下咽鳞状细胞癌等头颈部肿瘤, 肺癌、肝癌、食管癌、胰腺癌、结直肠癌等消化道肿瘤, 子宫内膜癌、宫颈癌、乳腺癌等生殖系统肿瘤均有明显的抑制作用, 具有缩小肿块、减轻放化疗副反应、提高机体免疫力、预防术后肿瘤复发与转移、减轻癌痛、提高患者生存质量等治疗优势。本文旨在论述蟾蜍及其提取物的主要抗肿瘤成分, 以及其治疗多系统恶性肿瘤与相关并发症的作用机制及疗效, 为蟾蜍临床应用及未来研究发展方向提供新思路。

[关键词] 蟾蜍; 成分; 抗肿瘤; 研究进展

[中图分类号] R285; R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)15-1188-13

Progress in the study of chemical compositions and antitumour effects of *Bufo vulgaris*

SUN Yilong^{1,2}, HU Yuhe², LI Shan³, SUN Yongkang^{1,4,5}, XU Fangbiao^{1,2}, SONG Yanbo^{1,2}, WU Yijun^{1,2}, Han Jin^{1,2}, WANG Xinzhi^{1,4,5}✉

(1. Encephalopathy Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450099, China; 2. The First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 3. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China; 4. Collaborative Innovation Center of Prevention and Treatment of Major Diseases by Chinese and Western Medicine, Henan Province, Zhengzhou 450046, China; 5. Institute of Brain Disease, Henan Academy of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Chinese Medicine Heritage and Innovation "Hundred Thousand-Ten Thousand" Talent Project-National Chinese Medicine Leading Talent Support Program [No. (2018) 284]

[Author]: SUN Yilong, E-mail: sunyilong0117@163.com.

[Correspondence to]: WANG Xinzhi, Professor, Chief Physician, Doctoral Supervisor, E-mail: znqznq@163.com.

Received: 2025-06-09

Revised: 2025-09-13

JHMu, 2026;32(15):1188-1200

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] Toad, a valuable traditional Chinese medicinal material, possesses multiple therapeutic effects including detoxification, mass resolution, diuresis, edema reduction, and boil drainage with swelling alleviation. Modern applications primarily focus on its antitumor properties. Pharmacological studies have identified bufadienolides, indole alkaloids, sterols, and polypeptides as the primary antitumor components in toad. These compounds exert anticancer effects through regulating signaling pathways such as PI3K/AKT, Wnt/ β -catenin, NF- κ B, and STAT3/p-STAT3, thereby inducing tumor cell autophagy and apoptosis, disrupting tumor cell division, impairing mitochondrial structure, inhibiting glycolysis in tumor cells, suppressing epithelial-mesenchymal

[基金项目] 中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)——国家中医药领军人才支持计划[国中医药人教发(2018)284号]

[作者简介] 孙逸龙, E-mail: sunyilong0117@163.com。

[通讯作者] 王新志, 教授, 主任医师, 博士生导师, E-mail: znqznq@163.com。

[收稿日期] 2025-06-09 **[修回日期]** 2025-09-13 **[网络出版时间]** 2025-09-29 16:06:21

transition (EMT), and reversing multidrug resistance (MDR). Toad and its extracts demonstrate significant inhibitory effects on head and neck tumors (e.g., glioma, nasopharyngeal carcinoma, hypopharyngeal squamous cell carcinoma), lung cancer, digestive tract malignancies (e.g., liver cancer, esophageal cancer, pancreatic cancer, colorectal cancer), and reproductive system tumors (e.g., endometrial cancer, cervical cancer, breast cancer). Their therapeutic advantages include tumor size reduction, mitigation of chemoradiotherapy side effects, immune enhancement, prevention of postoperative recurrence and metastasis, cancer pain relief, and improved quality of life. This review aims to elucidate the primary antitumor components of toad and their mechanisms of action in treating multisystem malignancies and related complications, thereby providing insights for clinical applications and future research directions.

[Key words] Toad; Composition; Antitumour; Research Progress

蟾蜍又名苦蠃、蟾、虾蟆等,是蟾蜍科动物中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍的全体,多于夏、秋二季捕捉。蟾蜍居于泥土或石下,冬季多居于水底泥中,《素问·阴阳离合论》中言:“未出地者,命曰阴处,名曰阴中之阴”,蟾蜍属阴,为阴中之阴,其性凉,《本草正》载蟾蜍:“消癖气积聚,破坚癥肿胀”,蟾蜍大多部位均可入药,包括干蟾、蟾酥、蟾皮、蟾衣、蟾胆等^[1],多以蟾皮、蟾酥为用,蟾蜍除头顶外周身满布大小不同的圆形瘰疬,似人身各系统肿块,故蟾蜍可治疗肿瘤,研究证实蟾蜍及其提取物可用于肺癌、胃癌等多系统肿瘤的联合治疗^[2]。研究发现,蟾蜍二烯内酯类、吡啶生物碱类、甾醇类、多肽类为蟾蜍中主要的抗肿瘤成分,可通过诱导肿瘤细胞自噬与凋亡、破坏肿瘤细胞分裂进程、破坏相关线粒体结构、抑制肿瘤细胞中的糖酵解反应、抑制肿瘤细胞上皮间质转化、逆转肿瘤细胞多药耐药等多种途径发挥抗肿瘤作用。此外,除了常见的蟾皮与蟾酥之外,干蟾、蟾衣、蟾蜍卵、蟾胆中的提取物也具有不同程度的抗肿瘤作用。本文通过总结蟾蜍抗肿瘤有效成分,并对蟾蜍及其提取物抗肿瘤作用的相关机制及疗效进行综述,以期对蟾蜍的临床应用及新药开发提供依据。

1 蟾蜍抗肿瘤有效成分

1.1 蟾蜍二烯内酯类

蟾蜍二烯内酯类广泛存在于干蟾、蟾衣、蟾皮、蟾酥、蟾胆、蟾蜍卵中,是一种脂溶性的强心甾体类化合物,目前普遍认为蟾蜍中蟾蜍二烯内酯类发挥主要的抗肿瘤作用^[3],其中以蟾毒灵、华蟾酥毒基、远华蟾精、华蟾毒它灵、日蟾蜍他灵等7种物质最重要,占蟾蜍二烯内酯类化合物的85%以上^[4]。研究表明,蟾毒灵、华蟾酥毒基等对鼻咽癌、胃癌、卵巢癌、骨肉瘤等多种恶性肿瘤均有很好的抑制作用。华蟾素抗癌谱广泛,与多种放化疗、免疫治疗联合使用可以增强抗肿瘤疗效,华蟾素注射液及华蟾素胶囊在临床上被广泛应用于肿瘤患者的中医治疗,其主要活性成分就是蟾蜍二烯内酯类及多肽化合

物等^[5]。

1.2 吡啶生物碱类

吡啶生物碱类物质主要为蟾毒色胺类化合物,主要存在于干蟾、蟾酥与蟾皮中。目前已从蟾皮中分离出5-羟色胺、蟾毒色胺、蟾蜍噻啉等11种吡啶生物碱类化合物。研究表明,吡啶生物碱类具有抗炎、抗肿瘤等作用^[6]。Xie等^[7]研究证实,从蟾皮中提取出的蟾蜍噻啉通过诱导肿瘤细胞周期阻滞在G₂/M期而以剂量和时间依赖性抑制肝癌细胞增殖。缪珠雷等^[8]提出,蟾蜍噻啉能破坏肿瘤生长微环境,靶向作用于巨噬细胞儿茶酚胺受体β₂(32-AR),抑制与肿瘤生长、侵袭、转移有关的巨噬细胞M2极化而抗肿瘤。

1.3 甾醇类

甾醇类化合物主要存在于干蟾、蟾酥、蟾皮及蟾胆中,包括胆甾醇、β-谷甾醇、7α-羟基胆甾醇等,具有抗菌、抗肿瘤^[9]等作用,主要发挥抗癌作用的物质为胆甾醇。研究表明,胆甾醇可通过靶向基因编码为CYP19A1的芳香酶调节性激素分泌从而抑制子宫内膜癌变^[10]。

1.4 多肽类

多肽类化合物主要存在于干蟾、蟾酥、蟾蜍卵、蟾皮中,华蟾素注射液中多肽成分占固体物含量的50%以上^[11]。研究表明,从蟾蜍卵中获取的蟾蜍活性多肽能阻滞肿瘤细胞G₂/M期的转化或诱导细胞凋亡抑制结肠癌和胃癌细胞增殖^[12]。磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine kinase, PI3K/AKT)通路对于肿瘤细胞的增殖、凋亡有重要作用,刘旭^[13]研究发现,华蟾素注射液中的主要多肽类抗肿瘤成分QK-17可通过下调PI3K表达,抑制AKT磷酸化(p-AKT),下调与细胞凋亡有关的B淋巴细胞瘤-2基因/Bcl-2相关X蛋白基因(B-cell lymphoma-2/Bcl-2 associated X protein, Bcl-2/Bax)比值,同时能增加促进细胞凋亡的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,诱导三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer,

TNBC) 细胞 MDA-MB-231 凋亡, 并可将 MDA-MB-231 细胞周期阻滞于 S 期、明显抑制细胞增殖。癌症的发生、发展与血管生成关系密切, Xia 等^[14]研究发现, 蟾酥肽可干扰血管生成所需的关键信号因子的表达, 影响丝裂原活化蛋白激酶

(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路的调节, 抑制血管生成。

蟾蜍及其提取物通过多通路、多靶点用于恶性肿瘤的辅助治疗, 其作用机制见表 1。

表 1 蟾蜍及其提取物抗肿瘤作用机制

Tab 1 Mechanisms of the Antitumor Action of Toad and Its Extracts

抗肿瘤作用	模型	作用成分	作用途径	参考文献
抑制细胞增殖	人鼻咽癌 HK-1、5-8F 细胞	日蟾毒它灵	下调 PFKFB4 表达	[17]
	人下咽鳞状细胞癌 FaDu 细胞	蟾毒灵	降低 EGFR 膜表达, 降低 β -catenin 活性, 降低 c-MYC 的表达和活性	[18]
	人肺癌 A549 细胞	沙蟾毒精	增加 ROS 水平	[20]
	人非小细胞肺癌 A549 细胞	蟾蜍二烯内酯	上调 FOXO1, 下调 G9a	[24]
	人肝癌 SMMC-7721 和 BEL-7402 细胞	蟾蜍噻唑	阻滞细胞周期于 G ₂ /M 期	[7]
	小鼠肝癌 Hepal-6 模型	沙蟾毒精	降低 PCSK9 蛋白的表达, 诱导巨噬细胞 M1 型极化	[29]
	人肝癌 HepG2 细胞	华蟾毒他灵	下调 SREBP1 表达	[27]
	人结肠 SW480、人胃癌 SGC7901 细胞	蟾蜍活性多肽	阻滞细胞周期于 G ₂ /M 期	[12]
	人结直肠癌 HCT-116 细胞	沙蟾毒精	下调 PI3K/AKT/mTOR 通路相关蛋白表达	[41]
	人结肠癌 SW620 细胞	蟾酥	抑制 CDK1、TOP2A	[49]
	人胰腺癌 ASPC-1、PANC10.05 细胞	蟾蜍二烯内酯类化合物 6、7	抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路活性	[50]
	裸鼠胰腺导管腺癌 MIA-PaCa2、PDAC-1 细胞	蟾蜍二烯内酯	抑制 YEATS2, 下调 NF- κ B	[51]
	人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞	蟾蜍多肽 QK-17	将细胞周期阻滞在 S 期	[13]
	人乳腺癌 MDA-MB-231、4T1 细胞	蟾蜍二烯内酯	抑制 Pin1-YAP/TAZ 通路的激活	[59]
	人子宫内膜癌细胞	胆甾醇	下调 CYP19A1	[10]
	人子宫内膜癌 RL95-2、HEC-1-B 细胞	华蟾毒他灵	上调 GSK-3 β , 抑制 Wnt/ β -catenin 通路活性	[61]
	人卵巢癌 SKOV3 细胞	蟾毒灵	抑制 ERK 和 p38 MAPK 蛋白磷酸化	[62]
	人卵巢癌 SKOV3 细胞	蟾毒灵	抑制 EGFR、AKT、ERK 磷酸化	[63]
	人宫颈癌 C33A 细胞	蟾毒灵	激活 ROS/JNK 信号通路	[64]
	人弥漫大 B 淋巴瘤细胞系 SU-DHL-10 和 SU-DHL-6	蟾毒灵	上调 p21, 使细胞周期 G ₂ /M 阻滞	[65]
	小鼠骨肉瘤 143B 细胞	远华蟾毒精	抑制 JAK2/STAT3 信号通路活性	[66]
诱导细胞自噬	人鼻咽癌 HK-1、5-8F 细胞	日蟾毒它灵	下调 PFKFB4 表达, 调节 GSK-3 β /mTOR 信号通路	[17]
	人肝癌 HepG2、Huh-7 细胞	华蟾毒精	下调 PI3K/AKT/mTOR, 上调 MAP1 轻链 3 蛋白 II、自噬相关基因 beclin-1 和自噬相关蛋白 12-5 的表达	[33]
诱导细胞凋亡	人黑色素瘤 A-375 细胞	蟾酥内酯	降解 p62/SQSTM1 蛋白	[67]
	人神经胶质瘤 U251 细胞	蟾毒灵	抑制 DRP1	[3]
	人胶质母细胞瘤 U87、U373 细胞	蟾蜍噻唑	诱导 ER 应激, 激活 UPR	[15]
	人下咽鳞状细胞癌 FaDu 细胞	蟾毒灵	下调 Bcl-xL、Mcl-1 水平, 上调 Bax、caspase 3 水平	[18]
	人非小细胞肺癌 A549 细胞	蟾毒灵	上调 LINC00597, 吸附 hsa-miR-367-3p, 激活 TFRC	[25]
	裸鼠肝癌 HepG2 细胞模型	蟾毒灵	上调苯乙胺、 α -亚麻酸	[30]
	人肝癌 HepG2、Hep3B 细胞	蟾蜍二烯内酯类化合物 1 β -OH-ABF	抑制 mTOR 磷酸化	[36]
	人肝癌 HepG2、SNU-739、HepG2/ADM 细胞	华蟾毒他灵	抑制 HIF-1 α , 抑制糖酵解	[38]
	人食管癌 Kyse-520 细胞	华蟾酥毒基	上调 Bax, 下调 Bcl-2 表达	[52]
	人胃癌 MGC803 细胞	蟾蜍二烯内酯	下调 SUMO1、HIF1 α , 上调 MDA、ROS、Fe ²⁺ 和总铁水平	[55]

续表				
抗肿瘤作用	模型	作用成分	作用途径	参考文献
免疫调节	人乳腺癌MDA-MB-231细胞	蟾蜍多肽 QK-17	下调 PI3K 表达,抑制 p-AKT,下调 Bcl-2/Bax 比值,增加 ROS	[13]
	人乳腺癌MDA-MB-231、4T1细胞	蟾蜍二烯内酯	下调 Bcl-2/Bax 比值	[59]
	人黑色素瘤 A-375细胞	蟾酥内酯	上调 caspase 3	[67]
	小鼠肝癌 HepG2细胞	蟾蜍二烯内酯	上调 CD ₈ ⁺ T 细胞比例	[31]
	人肝癌 HepG2细胞	华蟾毒精	上调 p53、caspase 3、Bax 的表达,下调 AKT、ERK 的表达	[35]
抑制细胞迁移和侵袭	人结肠癌 HCT-116细胞	沙蟾毒精	抑制 HSP90β 的活性,降低 PD-L1 表达	[40]
	人肺癌 A549、H1299细胞	沙蟾毒精	下调 IKKβ、IκBα 和 p65 NF-κB 磷酸化水平	[22]
	人结直肠癌细胞 SW-480	华蟾毒精	抑制 Wnt/β-catenin 信号通路	[42]
	人结直肠癌 HCT116、RKO、SW480细胞	华蟾毒精	下调 IL-6、STAT3	[44]
	小鼠结直肠癌细胞 HCT116、SW620	华蟾毒精	下调 c-MYC,抑制 NRF2 信号通路的激活	[46]
	人乳腺癌MDA-MB-231、HCC 1937细胞	蟾毒它灵	上调 E-钙黏蛋白的表达,下调 N-钙黏蛋白和波形蛋白的表达,逆转 EMT	[58]

2 抗肿瘤作用

蟾蜍抗肿瘤机制多样,主要与 PI3K/AKT、Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)、核因子- κ B(nuclear factor κ B,NF- κ B)、信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)/磷酸化信号转导和转录激活因子 3(phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3,p-STAT3)等信号通路有关,本文根据肿瘤发生部位的不同对蟾蜍及其提取物抗肿瘤机制进行综述,其中部分肿瘤进展及蟾蜍抗肿瘤主要机制见图1。

2.1 头颈部肿瘤

线粒体的分裂与融合是线粒体维持自身功能与结构的重要途径,也是肿瘤治疗的重要靶点。动力相关蛋白 1(dynamin related protein 1,Drp1)是调控线粒体融合和分裂的关键蛋白,蟾毒灵可通过抑制 Drp1 蛋白的功能破坏线粒体结构,影响线粒体功能,诱导神经胶质瘤 U251 细胞凋亡^[3]。研究表明,内质网(endoplasmic reticulum,ER)应激与多种肿瘤发病有关,ER 应激可诱导肿瘤细胞激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response,UPR),恢复内质网稳态或诱导细胞凋亡,蟾蜍噻啉具有诱导 ER 应激的特性,能在胶质母细胞瘤 U87 和 U373 中引发细胞凋亡,抑制肿瘤生长,且在治疗胶质母细胞瘤时与替莫唑胺有协同作用^[15]。

细胞自噬对于肿瘤有双向调节作用,是目前抗肿瘤治疗的重要途径之一。自噬受多种信号通路调节,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target

ofrapamycin,mTOR)是调节自噬的重要因子^[16]。糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β ,GSK-3 β)属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族,与 mTOR 同为 PI3K/AKT 通路下游因子,激活 GSK-3 β 磷酸化(p-GSK-3 β)能够调节 mTOR 磷酸化(p-mTOR)来触发自噬。熊雪梅^[17]发现日蟾毒它灵通过调节 GSK-3 β /mTOR 信号通路激活鼻咽癌 HK-1、5-8F 细胞自噬;6-磷酸果糖-2-激酶 4(fructose2,6-biphosphatase 4,PFKFB4)与自噬调节密切相关,在多种肿瘤细胞中高表达,参与肿瘤细胞迁移、侵袭及凋亡等,PFKFB4 过表达将明显逆转日蟾毒它灵对 p-mTOR 的抑制及对 p-GSK-3 β 的激活作用,可能作为 GSK-3 β /mTOR 信号轴的上游调节器参与了日蟾毒它灵诱导的鼻咽癌细胞株 HK-1、5-8F 的自噬过程。日蟾毒它灵亦可通过下调 PFKFB4 的表达诱导鼻咽癌细胞在 G₂/M 期发生阻滞,破坏其分裂进程而抗肿瘤。

人下咽鳞状细胞癌是头颈部肿瘤中恶性程度最高、预后最差的癌症之一,Mhaidly 等^[18]研究发现,蟾毒灵能明显降低人下咽鳞状细胞癌 FaDu 细胞中表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)的膜表达,并能明显降低 β -catenin 的磷酸化活性,降低能促进细胞周期进程和增殖的原癌基因和转录因子 c-髓细胞瘤基因(cellular-myelocytomatosis,c-MYC)的表达和活性,阻止 FaDu 细胞增殖;蟾毒灵亦能下调抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤-超大分子(B-cell lymphoma-extra large,

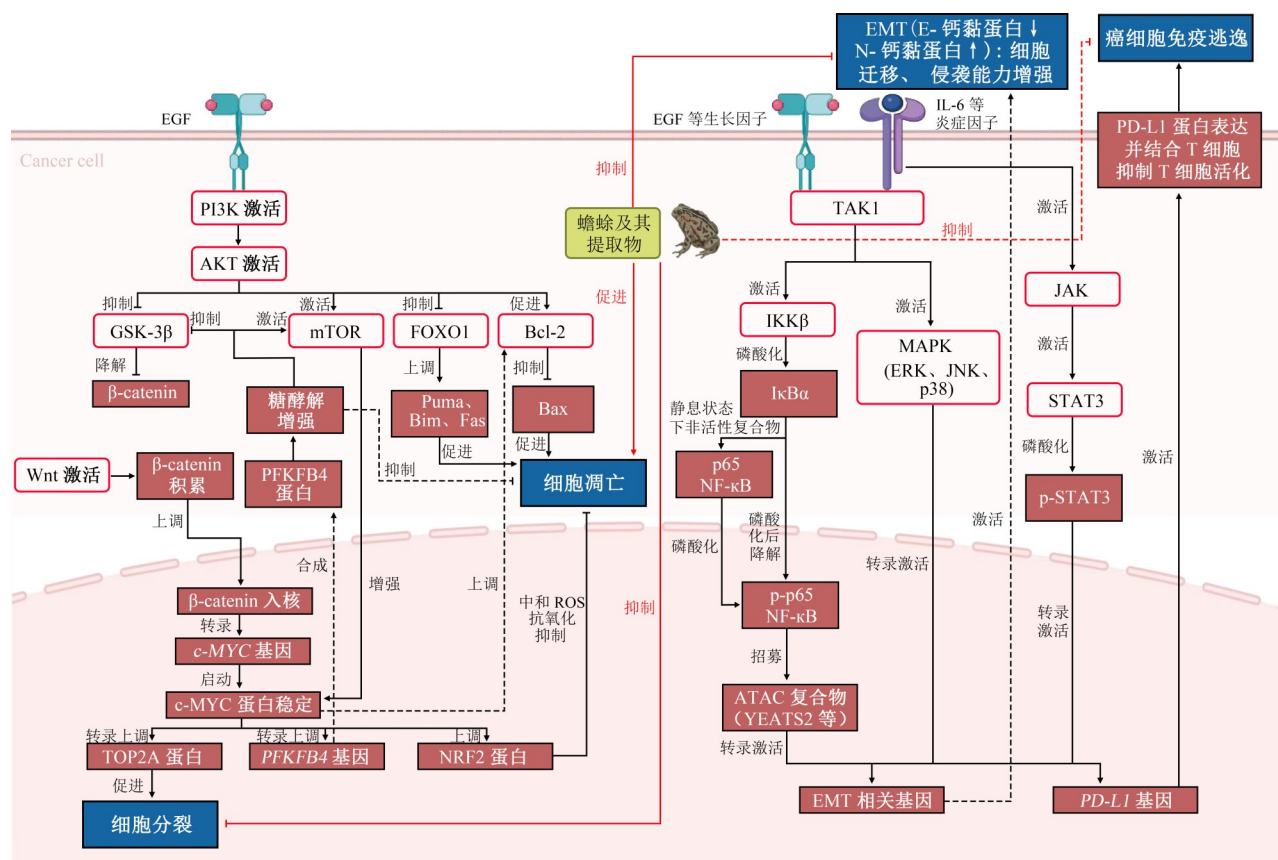


图1 部分肿瘤进展及蟾蜍抗肿瘤主要机制

Fig 1 Partial mechanisms of tumor progression and the antitumor mechanisms of toad

Bcl-xL)和髓性细胞白血因子1(myeloid cell leukemia 1, Mcl-1)水平,上调促凋亡蛋白Bax和裂解的半胱氨酸蛋白酶3(cysteine specific proteinase 3, caspase 3)水平促进FaDu细胞凋亡。EGFR激活后,会招募并激活PI3K,使AKT转化为p-AKT,磷酸化并抑制GSK-3 β 的活性。GSK-3 β 是“破坏复合体”的核心组分,负责磷酸化 β -catenin并靶向其降解,GSK-3 β 被抑制后 β -catenin无法被降解而在细胞质中积累,转入细胞核激活c-MYC。Bcl-xL属于Bcl-2家族,Bcl-2/Bax比值下调亦与PI3K/AKT通路相关,因此蟾毒灵对于人下咽鳞状细胞癌FaDu细胞的增殖抑制及促进凋亡作用均与此通路有关,且蟾蜍多肽QK-17亦可作用于此类通路,后续可进一步针对此通路的不同靶点加深研究。

2.2 肺癌

ROS与肿瘤发生、进展和生存表型密切相关,细胞核内ROS非常敏感,在细胞核内ROS可能直接氧化DNA,损伤DNA修复系统,使细胞快速死亡^[19]。ROS增多可通过内源性和外源性途径共同诱导细胞凋亡,过量的ROS可启动肿瘤中的程序性细胞死亡,研究表明,沙蟾毒精可以通过促进细胞

凋亡、增加ROS水平,将肺癌A549细胞阻滞在G₂/M期来发挥生长抑制作用^[20]。上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤细胞迁移的关键步骤,NF- κ B信号通路参与多种肿瘤进程,p65 NF- κ B的激活与癌细胞的EMT、迁移和侵袭密切相关。NF- κ B的主要激酶IKK使抑制性核因子 κ B抑制蛋白 α (inhibitor of nuclear factor kappa B alpha, I κ B α)磷酸化,导致I κ B α 与p65 NF- κ B解离,磷酸化后的p65 NF- κ B从细胞质进入细胞核启动转录^[21]。沙蟾毒精可降低肺癌细胞胞质中核因子 κ B抑制物激酶 β 亚基(inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta, IKK β)、I κ B α 和p65 NF- κ B的磷酸化水平,减少p65 NF- κ B从胞质向核内释放,抑制肺癌A549、H1299细胞的EMT和迁移^[22]。

H3K9甲基转移酶(H3K9 methyltransferase, G9a)是一种具备催化赖氨酸甲基化功能的组蛋白甲基转移酶,在肺癌、肝癌等多系统肿瘤中高表达,可导致抑癌基因失调、维持癌症谱系的自我更新、促进癌细胞增殖与迁移等^[23]。叉头盒蛋白O1A(forkhead box O1, FOXO1)是肿瘤关键的负性转录调节因子,可抑制癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

FOXO1通路在凋亡和细胞周期阻滞中主要依赖其目的基因P53调节细胞凋亡调节因子(P53 regulated modulator of apoptosis, Puma)、Bcl-2介导的细胞死亡介质(Bcl-2 interacting mediator of cell death, Bim)、自杀相关因子(factor associated suicide, Fas)配体等的表达而发挥主导作用,研究表明,在非小细胞肺癌A549细胞中,华蟾素通过作用于FOXO1与G9a影响其下游增殖细胞核抗原、细胞角蛋白8、Bim、Puma、半胱氨酸蛋白酶8(cysteinyI aspartate specific proteinase 8, caspase 8)、caspase 3和Bcl-2/Bax等与增殖、迁移和凋亡相关分子的表达而抗肿瘤,当FOXO1表达沉默后,华蟾素对肺癌A549细胞的抗肿瘤作用将明显减低^[24]。长链非编码RNA在肺癌中起关键作用,研究发现,蟾毒灵可通过上调作为竞争性内源RNA的长链非编码RNA LINC00597,进而吸附微小RNA hsa-miR-367-3p,激活铁死亡诱导因子转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC),抑制肺癌A549细胞生长并诱导其铁死亡,为蟾毒灵促进肺癌细胞铁死亡提供了新靶点^[25]。

2.3 肝癌

胆固醇代谢异常是肿瘤代谢重编程基本特性的最常见模式之一。固醇调节元件结合蛋白1(sterol regulatory element binding proteins 1, SREBP1)是调控肝癌细胞脂质合成过程中关键的脂肪生成转录调节剂,在细胞核中,SREBP1通过与相应的靶基因结合,促进下游相关基因转录,调节相关脂质合成,使用SREBP1的抑制剂可明显抑制癌细胞增殖^[26]。孟唤男^[27]研究发现华蟾毒他灵能够抑制SREBP1基因的转录活性,抑制肝癌细胞增殖。在肝癌肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中,胆固醇代谢异常可介导肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)极化调控肿瘤发展。TME中癌细胞胆固醇代谢异常可影响肿瘤免疫逃逸,通过阻断或削弱胆固醇转运可抑制多种类型肿瘤生长与侵袭,TAM的M1亚型能上调免疫反应,M2亚型则可抑制免疫反应。前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proproteinon-vertasesubtilisin/kexintype9, PCSK9)通过与细胞膜上的低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, LDLR)结合,介导LDLR降解,调节胆固醇水平^[28]。研究表明,沙蟾毒精可以明显降低PCSK9蛋白表达,进而降低LDLR水平,诱导肝癌模型小鼠巨噬细胞向M1型极化,并增强M1型巨噬细胞吞噬肿瘤细胞的潜力,抑制肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,

HCC)的增殖^[29]。PCSK9转录受SREBP1调控,SREBP1的活化会同时上调LDLR和PCSK9的表达,因此认为,蟾蜍能通过SREBP1/PCSK9通路发挥抗HCC作用,可作为日后主要研究方向之一。

苯乙胺是一种参与HCC中苯丙氨酸代谢的生物标志物,能够调节物质代谢和诱导细胞凋亡; α -亚麻酸是一种不饱和脂肪酸,其代谢对肿瘤细胞增殖具有极其重要的作用。研究显示,经蟾毒灵处理后的HepG2荷瘤裸鼠细胞中苯乙胺和 α -亚麻酸表达上调,提示蟾毒灵通过上调苯乙胺和 α -亚麻酸促进HCC细胞凋亡^[30]。

华蟾素片给药方式的差异也会影响其抗癌作用。袁贤达等^[31]通过对肝癌小鼠脾脏及肿瘤组织中的免疫细胞亚群动态进行探究,发现华蟾素片的油性制剂与水溶性制剂均能有效提高脾脏CD₈⁺T细胞所占比例,二者并无明显差异。但在肿瘤组织中,华蟾素片油剂较于水剂能更有效地增加CD₈⁺T细胞比例,说明油剂形式的给药途径能更好地促进具有肿瘤细胞杀伤活性的CD₈⁺T细胞向肿瘤组织浸润,强化华蟾素口服剂型的免疫介导抗肿瘤作用。同时,华蟾素片油剂还能减少脾脏中调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)的数量,有助于解除免疫抑制,进一步增强T细胞的抗肝癌活性。

PI3K/AKT/mTOR信号通路的激活可导致细胞增殖和血管生成,与肿瘤临床侵袭性密切相关^[32]。Xu等^[33]研究发现,华蟾毒精通过抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路,上调自噬相关因子MAP1轻链3蛋白II、自噬相关基因beclin-1和自噬相关蛋白12-5的表达,诱导人肝癌HepG2、Huh-7细胞自噬;且自噬抑制剂MRT68921联合华蟾毒精相比于二者单独应用能明显降低人肝癌细胞株HepG2、Huh-7中的Bcl-2/Bax比值,促进细胞凋亡。Bcl-2/Bax受PI3K/AKT/mTOR调节,表明MRT68921可能通过抑制PI3K/AKT/mTOR自噬信号通路在HCC细胞中有效增强华蟾素的抗癌作用,华蟾毒精联合MRT68921治疗HCC可能是日后研究的新方向。

p53是人体癌症中关键的肿瘤抑制基因,在细胞癌变过程中,p53基因的突变率和缺失率逐渐上升,在提高肿瘤细胞增殖和侵袭能力的同时还可能导致其产生耐药及放射抵抗^[34]。caspase 3被认为是细胞凋亡过程中的核心蛋白之一,在细胞凋亡的内源性和外源性路径中至关重要,调节caspase 3所介导的凋亡路径在控制肝癌细胞的迁移、侵袭及逆转耐药等方面具有明显优势。Feng等^[35]研究发现,

华蟾毒精通过上调 p53、caspase 3 和 Bax 的表达,下调 AKT 和细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)的表达,降低人肝癌 HepG2 细胞的存活率,抑制 HepG2 细胞的迁移。全景羽^[36]研究发现蟾蜍二烯内酯类化合物 1 β -OH-ABF 可以通过抑制 mTOR 磷酸化诱导人肝癌 HepG2、Hep3B 细胞凋亡。

与正常细胞相比,肝癌细胞表现出更高的葡萄糖吸收率和更活跃的有氧糖酵解,这种能量代谢的变化通常会增加肝癌细胞的侵袭性,并与患者的不良预后相关。缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 组成的蛋白质复合体,能调节肿瘤各个阶段的关键基因表达^[37]。HIF-1 α 在调控多种酶蛋白方面起关键作用,抑制 HIF-1 α 活性是控制癌细胞增殖、血管生成和肿瘤进展的重要手段。李海营^[38]发现华蟾毒他灵可以通过抑制 HIF-1 α ,抑制 HCC 中的糖酵解反应,促进 HCC 细胞凋亡。

2.4 其他消化系统肿瘤

肠癌在恶性肿瘤中的发病率和死亡率均位列前 5,其发病率和死亡率仍呈上升趋势。沙蟾毒精对结肠癌细胞具有直接的细胞毒性,研究表明,沙蟾毒精在低浓度下可通过调节免疫反应发挥抗肿瘤作用。程序性死亡受体 1(programmed death 1, PD-1)与程序性死亡受体配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)的相互作用在 T 细胞介导的免疫反应中是一个关键的免疫检查点,PD-L1 在肿瘤细胞中过表达将抑制 T 细胞的细胞毒功能,使肿瘤细胞发生免疫逃逸。热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)在真核细胞中普遍表达,主要参与蛋白质折叠、稳定和细胞信号转导,与肿瘤免疫密切相关^[39]。在各种癌症中,热休克蛋白 90 β (heat shock protein 90 β , HSP90 β)常上调表达使肿瘤细胞更好的存活。研究表明,沙蟾毒精在较低浓度下就可抑制 HSP90 β 活性,减少其与 STAT3/p-STAT3 的相互作用,降低 STAT3/p-STAT3 的稳定性和表达,下调 PD-L1 的表达,使 T 细胞对结肠癌 HCT-116 细胞的毒性增强,发挥抗肿瘤作用^[40]。孟昭阳等^[41]研究发现,华蟾毒精可下调 PI3K/AKT/mTOR 通路相关蛋白的表达抑制人结直肠癌细胞 HCT-116 增殖,发挥抗结直肠癌作用。Wnt/ β -catenin 信号通路与肠癌、肺癌等多系统肿瘤的发生、发展密切相关,该通路激活会促进肿瘤细胞的迁移与侵袭。研究表明,华蟾毒精能促进 β -catenin 磷酸化,减少其向细胞核内的转运,降低 Wnt/

β -catenin 信号通路下游关键靶基因转录活性,抑制人结直肠癌 SW-480 细胞活性及迁移能力^[42]。FOLFOX-4 在结直肠癌化疗中广泛应用,但会导致免疫功能异常、血液学毒性等不良反应,一项临床观察表明,FOLFOX-4 化疗联用蟾酥注射液可以调整人体 T 细胞群体中 CD4⁺/CD8⁺ 的比例,提高 CD4⁺、CD3⁺、NK 细胞水平,减少机体免疫损伤,提高肠癌患者远期存活率及生存质量^[43]。EMT 是导致肿瘤转移和复发的机制之一,Bai 等^[44]研究发现,华蟾毒精可抑制 STAT3 磷酸化,并阻断白介素-6(interleukin 6, IL-6)诱导的 STAT3 核转位,抑制结直肠癌细胞的 EMT 和迁移。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, NRF2)是细胞抗氧化程序的重要转录调节器,NRF2 激活与癌症转移密切相关,下调 NRF2 可有效抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移;c-MYC 在各种类型的癌症中过表达,研究表明,c-MYC 通过葡萄糖 6-磷酸脱氢酶和转酮醇酶介导的核苷酸生物合成直接调节 NRF2 信号通路的活化,导致癌症进展^[45]。Wang 等^[46]发现沙蟾毒精可通过下调 c-MYC 水平使 NRF2 信号通路失活,抑制结直肠癌细胞的迁移和侵袭。细胞周期蛋白依赖性激酶 1(cyclin dependent kinase 1, CDK1)是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族中的一种高度保守的蛋白激酶,在真核生物细胞周期的 G₁/S 期和 G₂/M 期过渡中扮演关键角色^[47],与多种肿瘤的发生、发展密切相关。DNA 拓扑异构酶 II α (DNA topoisomerase II alpha, TOP2A)在细胞有丝分裂过程中发挥关键作用,研究显示, TOP2A 能激活 PI3K/AKT 信号通路,促进癌细胞的迁移、侵袭及 EMT^[48]。Tao 等^[49]发现蟾酥可通过抑制 CDK1 和 TOP2A 使细胞 G₂/M 期发生阻滞以发挥抗结肠癌作用。

胰腺癌是全球致死率最高的恶性肿瘤之一,严重危害公众健康。从蟾蜍卵中提取出的蟾蜍二烯内酯类化合物 6、7 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路,对胰腺癌细胞 ASPC-1 和 PANC10.05 展现出明显的抗增殖作用^[50]。YEATS 结构域包含蛋白 2(YEATS domain-containing 2, YEATS2)是 ATAC 复合体的一部分,在胰腺癌中高表达,在转录调控和适应性反应中发挥关键作用。转化生长因子 β 激酶 1(transforming growth factor beta kinase 1, TAK1)属于 MAPK 家族,参与激活 NF- κ B 的 IKK β 等多个下游靶标磷酸化,促进肿瘤细胞增殖、进展以及化疗耐药性的产生,研究表明,华蟾素通过抑制 YEATS2,下调 TAK1,下调 NF- κ B 信号通路,诱

导胰腺导管腺癌细胞周期阻滞^[51],然而华蟾素中的成分是直接与YEATS2结合,还是通过其他分子与其结合目前尚不清楚。

蟾蜍的有效抗癌成分在食管癌和胃癌方面的研究较为有限。邓旭^[52]研究发现,经过华蟾酥毒基处理后的食管癌Kyse-520细胞,Bax/Bcl-2比值明显降低,证明华蟾酥毒基可明显诱导食管癌细胞凋亡。研究发现,胃癌患者肠道中大肠杆菌和嗜黏蛋白阿克曼菌的相对丰度较于健康人明显上升^[53]。戴静杰等^[54]发现,华蟾素注射液可以改变肠道菌群的丰度,提示华蟾素对胃癌发展的抑制作用可能与肠道菌群变化有关。铁死亡是一种程序性细胞死亡,在抑制肿瘤生长和免疫治疗方面有重要作用,靶向诱导铁死亡是癌症的重要治疗方向之一。郑梓莹等^[55]研究发现,华蟾素可促进胃癌细胞凋亡,并有效促进人胃癌MGC803细胞内MDA、ROS、Fe²⁺和总铁水平的积累,使用铁死亡抑制剂ferrostatin-1则会使华蟾素诱导的细胞凋亡率和铁死亡标志物的水平下调,表明华蟾素可以诱导胃癌细胞铁死亡;且华蟾素还可下调能够调节蛋白质活性的蛋白翻译后修饰小分子泛素相关修饰物1(small ubiquitin-related modifier 1, SUMO 1)水平,减少胃癌细胞中HIF-1 α 的积累,促进细胞凋亡并抑制肿瘤血管生成。

2.5 生殖系统肿瘤

TNBC属于乳腺癌的一种亚型,具有高度的侵袭能力和转移性。癌细胞的侵袭、转移与上皮细胞标志物E-钙黏蛋白表达水平呈负相关,与间质细胞标志物N-钙黏蛋白表达呈正相关,EMT可上调N-钙黏蛋白,下调E-钙黏蛋白,将有极性、黏附紧密的上皮细胞转化为无极性、具有迁移能力的间质细胞^[56,57]。Park等^[58]发现,蟾毒它灵可增加癌细胞中E-钙黏蛋白的表达,降低N-钙黏蛋白和波形蛋白的表达来逆转EMT,抑制TNBC的转移与侵袭。肽基脯氨酰顺反异构酶NIMA相互作用蛋白1(peptidylprolyl cis/trans isomerase NIMA-interacting 1, Pin1)是一种TNBC的诊断标志物,与下游的Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)/PDZ结合域的转录共刺激因子(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ)相互作用,与肿瘤发生、发展以及化疗耐药等方面密切相关,靶向Pin1/YAP/TAZ信号通路可能是抗TNBC研究的新方向,孔璐^[59]通过免疫组化研究发现,Pin1、YAP、TAZ在TNBC患者组织中的阳性表达率明显提升,华蟾素注射液可有效抑制Pin1/YAP/TAZ通路的激活,发

挥抗TNBC作用,并能下调Bcl-2/Bax的比值,诱导乳腺癌MDA-MB-231、4T1细胞凋亡。周纳多^[60]发现华蟾毒精仿生纳米药物不仅可以靶向诱导癌细胞焦亡,减少TNBC的转移、侵袭,还可以有效规避华蟾毒精自身的心脏毒性与其他毒副作用,为后续研究提供了新方向。

ENKUR基因编码钙调蛋白结合蛋白主要参与细胞增殖、信号转导等过程,对子宫内膜癌细胞的增殖具有抑制作用。华蟾蜍它灵能减少子宫内膜癌RL95-2、HEC-1-B细胞的增殖,其机制与诱导ENKUR基因上调,激活GSK-3 β 并磷酸化降解 β -catenin,抑制Wnt/ β -catenin通路活性有关^[61]。ERK对癌细胞凋亡、基因表达发挥调控作用,MAPK亚族中的MAPK1/3和p38 MAPK在多种肿瘤中表达上调。王淞等^[62]发现蟾毒灵可抑制ERK和p38 MAPK蛋白磷酸化,降低卵巢癌SKOV3细胞活力,抑制卵巢癌细胞增殖。EGFR在卵巢癌中过表达,研究表明,蟾毒灵可降低EGFR的磷酸化水平,抑制ERK和AKT的磷酸化,抑制卵巢癌细胞生长^[63]。研究表明,ROS过量积累会打破细胞内的氧化和抗氧化系统平衡,引起氧化应激和线粒体功能障碍,触发自噬过程;c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)具有激活防御反应、保护机体免受急性氧化损伤和外来侵害的功能,二者均可影响细胞自噬。孔翠翠等^[64]实验发现,蟾毒灵处理后的宫颈癌C33A细胞的生存率明显下降,细胞内磷酸化JNK及ROS水平明显升高,给予ROS、JNK抑制剂后该作用受到明显影响,表明蟾毒灵通过激活ROS/JNK信号通路发挥抗肿瘤作用。

2.6 其他肿瘤

弥漫大B淋巴瘤是一种恶性程度高的淋巴瘤,40%以上患者会出现复发、难治性问题。p21是一种重要的CDK抑制因子,上调p21表达可以抑制CDK1-CyclinB1复合物,导致细胞周期G₂/M阻滞。宋金成^[65]发现,蟾毒灵可上调p21表达,使细胞周期G₂/M发生阻滞,抑制弥漫大B淋巴瘤细胞增殖。

骨肉瘤是青少年最常见的原发性骨恶性肿瘤,生长速度快、易于转移。Janus激酶2(janus kinase 2, JAK2)/STAT3信号通路对细胞周期、凋亡和转移相关蛋白的表达起着调控作用,研究发现,远华蟾毒精可抑制JAK2/STAT3信号通路,抑制骨肉瘤的增殖^[66]。

黑色素瘤是一种常见的皮肤恶性肿瘤,发病率和死亡率在全球处于较高水平。曹小仁^[67]研究发

现,蟾酥内酯可以通过激活黑色素瘤 A-375 细胞中的 caspase 3 诱导细胞凋亡;螯合剂 1(p62/sequestosome 1,p62/SQSTM1)是一种自噬降解标志物,经蟾酥内酯作用后的 A-375 细胞中 p62/SQSTM1 蛋白以剂量依赖性方式被降解,表明蟾酥内酯可通过诱导人黑色素瘤细胞自噬发挥治疗作用。

2.7 多药耐药肿瘤及肝癌介入术后治疗

多药耐药(multi-drug resistance,MDR)是对多种结构不同的细胞毒性抗癌化合物产生耐药性,极大地限制了一些恶性肿瘤的治疗效果,其发生机制与自噬诱导、ABC 转运蛋白表达上调、细胞凋亡、DNA 修复异常以及机体微环境等因素有关^[68]。舒美玲等^[69]发现华蟾素处理的卵巢癌 A2780/DDP 细胞能恢复对顺铂的敏感性,减少癌细胞增殖,故华蟾素可能成为卵巢癌细胞耐药的逆转剂。5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil,5-FU)是临床常用的抗结直肠癌一线化疗药物,但超过 50% 的患者存在 5-FU 耐药。血管生成是 5-FU 耐药的关键成因之一,华蟾素可抑制 HIF-1 α 与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)基因中的缺氧反应元件结合,逆转血管生成,抑制耐药性的产生^[70,71]。

经动脉化疗栓塞(transarterial chemoembolization,TACE)介入治疗是临床针对肝癌的一种重要的局部治疗方法,尽管能够有效阻断肿瘤组织的血液供应,但也可能促使肿瘤血管再生并增加侧支循环形成风险,TACE 术后患者常被建议口服索拉菲尼等具有抗肿瘤血管生成、抑制肿瘤生长作用的药物,但控制情况并不理想。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)和 IL-6 在激活细胞因子介导的炎症反应中发挥关键作用,机体受损后二者表达上调,增加炎症反应,加剧肿瘤细胞生长^[72]。孙志刚等^[73]分别将索拉菲尼、索拉菲尼联合华蟾素注射液治疗的 TACE 术后患者作为对照组和实验组进行临床观察,发现实验组患者病灶复发、转移的控制率明显高于对照组,IL-6、TNF- α 的下降幅度也大于对照组,提示索拉菲尼联合华蟾素注射液可有效提高 TACE 术后肝癌患者的抗肿瘤效果。

3 讨论

近年来,恶性肿瘤的发病率和死亡率不断上升,尽管针对恶性肿瘤的手术、放化疗、靶向及免疫治疗方案层出不穷,但由于其具有各自的局限性以及毒副作用使得最终治疗效果并不理想。因此,寻求更优的治疗方案一直是广大医务工作者的努力方向。中医药治疗肿瘤历史悠久,在古籍中可见到诸多与肿瘤异名同性的疾病,比如“癥瘕”“积聚”

“肠覃”等,中医药治疗肿瘤已建立起成熟且丰富的理论体系,在减缓肿瘤细胞增殖速度、防止术后复发、缓解放化疗的毒副作用以及提升患者生存品质等方面均展现出明显优势。蟾蜍属于传统名贵中药材,全身各部位均可入药,药用价值丰富,可通过多靶点抑制细胞增殖、诱导细胞自噬与凋亡、减少细胞迁移和侵袭、协同放化疗增敏,并能增强肿瘤患者的免疫功能、改善生存状况、延长存活时间,可广泛用于头颈部肿瘤、肺肿瘤、消化系统肿瘤以及生殖系统肿瘤等多系统肿瘤的治疗。蟾蜍二烯内酯类是蟾蜍的主要抗肿瘤成分,以蟾蜍二烯内酯类为主要成分制成的中成药华蟾素注射液在临床上应用广泛,疗效明显。此外,蟾蜍噻啉、胆甾醇、蟾蜍活性多肽、蟾酥肽等其他提取物也同样具有抗肿瘤作用。蟾蜍全身多部位、多成分均体现出较明显的抗肿瘤效果,但目前研究多针对蟾蜍二烯内酯类抗肿瘤的临床疗效及作用机制,对蟾蜍其他抗肿瘤成分的研究甚少,蟾蜍其他抗肿瘤成分的提取纯化、作用机制以及药代动力学研究可能是未来的研究焦点。

作者贡献度说明:

孙逸龙:负责文章设计、整体构思、论文撰写;胡雨荷:负责论文撰写;李姗、孙永康、徐方飏、宋研博、吴易俊、韩瑾:负责论文修订及审校;王新志:负责最终版本修订,对文章整体负责。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- 秦欣欣.蟾蜍类代表药的古代文献研究及其对甲型流感病毒感染的干预机制[D].北京:北京中医药大学,2022.
Qin XX. Ancient literature research on toad-derived medicines and their mechanisms against influenza A virus [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2022.
- 严静怡.蟾蜍灵抗肿瘤作用的研究进展[J].东南大学学报(医学版),2024,43(4):644-649.
Yan JY. Research progress on the antitumor effect of bufalin [J]. J Southeast Univ (Med Ed), 2024, 43(4): 644-649.
- 袁佳妮.蟾毒灵及其脂质体抗肿瘤作用及机制研究[D].西安:中国人民解放军空军军医大学,2020.
Yuan JN. Study on the antitumor effect and mechanism of bufalin and its liposome [D]. Xi'an: Air Force Medical University, Chinese People's Liberation Army, 2020.

- 4 曹振宇,董颖.蟾蜍毒素研究进展[J].刑事技术,2024,49(5):495-501.
Cao ZY, Dong Y. Research progress on toad toxins [J]. Forensic Sci Technol, 2024, 49(5):495-501.
- 5 宋少晨,张冠南,李柳,等.基于癌毒病机理论探讨华蟾素治疗消化系统恶性肿瘤及其作用机制[J].中国中药杂志,2025,50(21):5999-6007.
Song SC, Zhang GN, Li L, et al. Exploring the treatment of digestive system malignancies with cinobufacini and its mechanism of action based on the theory of cancer toxin pathogenesis [J]. China J Chin Mater Med, 2025, 50(21):5999-6007.
- 6 喻昌燕,孟令杰,姜念,等.蟾皮化学成分和药理活性的研究进展[J].中草药,2021,52(4):1206-1220.
Yu CY, Meng LJ, Jiang N, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of toad skin [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(4):1206-1220.
- 7 Xie RF, Li ZC, Gao B, et al. Bufothionine, a possible effective component in cinobufocini injection for hepatocellular carcinoma [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141(2):692-700.
- 8 缪珠雷,李玉虎,杨鸣泽.靶向 β 2-AR抑制M2极化的华蟾素分子对接及实验验证[J].时珍国医国药,2021,32(11):2589-2591.
Miao ZL, Li YH, Yang MZ. Molecular docking and experimental verification of cinobufacini targeting β 2-AR to inhibit M2 polarization [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(11):2589-2591.
- 9 邓莎,李梦园,武小玲,等.蟾酥化学成分及抗肿瘤作用研究进展[J].中成药,2022,44(3):884-890.
Deng S, Li MY, Wu XL, et al. Research progress on chemical constituents and antitumor effects of toad venom [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3):884-890.
- 10 Xita N, Lazaros L, Georgiou I, et al. CYP19 gene: A genetic modifier of polycystic ovary syndrome phenotype [J]. Fertil Steril, 2010, 94(1):250-254.
- 11 李斌.华蟾素注射液及其多肽抗激素非依赖性前列腺癌的机制研究[D].天津:天津中医药大学,2021.
Li B. Mechanism study of cinobufacini injection and its polypeptide against hormone-independent prostate cancer [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- 12 阮之平,田涛,焦敏,等.蟾蜍活性多肽对不同肿瘤细胞的抗癌功能及机制研究[J].现代肿瘤医学,2015,23(15):2100-2104.
Ruan ZP, Tian T, Jiao M, et al. Anticancer function and mechanism of active peptides from toad on different tumor cells [J]. J Mod Oncol, 2015, 23(15):2100-2104.
- 13 刘旭.华蟾素注射液及其多肽抗三阴性乳腺癌的机制研究[D].天津:天津中医药大学,2020.
Liu X. Mechanism study of cinobufacini injection and its polypeptide against triple-negative breast cancer [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- 14 Xia F, Gao F, Yao H, et al. Identification of angiogenesis-inhibiting peptides from Chan Su [J]. Protein Expr Purif, 2019, 163:105445.
- 15 Markouli M, Strepkos D, Papavassiliou AG, et al. Targeting of endoplasmic reticulum (ER) stress in gliomas [J]. Pharmacol Res, 2020, 157:104823.
- 16 Al-Bari MAA, Ito Y, Ahmed S, et al. Targeting autophagy with natural products as a potential therapeutic approach for cancer [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18):9807.
- 17 熊雪梅.日蟾蜍它灵诱导鼻咽癌细胞自噬的作用及分子机制研究[D].石河子:石河子大学,2023.
Xiong XM. Study on the effect and molecular mechanism of gamabufotalin inducing autophagy in nasopharyngeal carcinoma cells [D]. Shihezi: Shihezi University, 2023.
- 18 Mhaidly N, Barake N, Trelcat A, et al. Bufalin suppresses head and neck cancer development by modulating immune responses and targeting the β -catenin signaling pathway [J]. Cancers (Basel), 2024, 16(15):2739.
- 19 Wu S, Jiang L, Lei L, et al. Crosstalk between G-quadruplex and ROS [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(1):37.
- 20 Tuli HS, Kaur J, Vashishth K, et al. Molecular mechanisms behind ROS regulation in cancer: A balancing act between augmented tumorigenesis and cell apoptosis [J]. Arch Toxicol, 2023, 97(1):103-120.
- 21 Mirzaei S, Saghari S, Bassiri F, et al. NF- κ B as a regulator of cancer metastasis and therapy response: A focus on epithelial-mesenchymal transition [J]. J Cell Physiol, 2022, 237(7):2770-2795.
- 22 Zhao J, Zhang Q, Zou G, et al. Arenobufagin, isolated from toad venom, inhibited epithelial-to-mesenchymal transition and suppressed migration and invasion of lung cancer cells *via* targeting IKK β /NF κ B signal cascade [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 265:113313.
- 23 Ni Y, Shi M, Liu L, et al. G9a in cancer: Mechanisms, therapeutic advancements, and clinical implications [J]. Cancers (Basel), 2024, 16(12):2175.
- 24 张玲玲.华蟾素通过FOXO1/G9a对非小细胞肺癌A549细胞的抗肿瘤作用研究[D].成都:成都中医药大学,2022.

- Zhang LL. Study on the antitumor effect of cinobufacini on non-small cell lung cancer A549 cells through FOXO1/G9a [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- 25 Huang J, Deng C, Guo T, et al. Cinobufotalin induces ferroptosis to suppress lung cancer cell growth by lncRNA LINC00597/hsa-miR-367-3p/TFRC pathway *via* resibufogenin [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2023, 23(6):717-725.
 - 26 Bader DA, McGuire SE. Tumour metabolism and its unique properties in prostate adenocarcinoma [J]. *Nat Rev Urol*, 2020, 17(4):214-231.
 - 27 孟唤男. 华蟾毒它灵通过靶向脂代谢抑制肝癌增殖 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
Meng HN. Cinobufagin inhibits hepatocellular carcinoma proliferation by targeting lipid metabolism [D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
 - 28 Ben-Naim L, Khalaila I, Papo N. Modifying pH-sensitive PCSK9/LDLR interactions as a strategy to enhance hepatic cell uptake of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) [J]. *Protein Eng Des Sel*, 2022, 35:gza032.
 - 29 Li Y, Chen Y, Zhao C, et al. Arenobufagin modulation of PCSK9-mediated cholesterol metabolism induces tumor-associated macrophages polarisation to inhibit hepatocellular carcinoma progression [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128:155532.
 - 30 Liang P, Ma Y, Yang L, et al. Uncovering the mechanisms of active components from toad venom against hepatocellular carcinoma using untargeted metabolomics [J]. *Molecules*, 2022, 27(22):7758.
 - 31 袁贤达, 王骏, 金明吉, 等. 华蟾素油剂对肝癌细胞的体外抑制活性及肿瘤微环境中对免疫细胞的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2019, 14(12):1629-1637.
Yuan XD, Wang J, Jin MJ, et al. Inhibitory activity of cinobufacini oil preparation on hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo* and its effect on immune cells in tumor microenvironment [J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2019, 14(12):1629-1637.
 - 32 胡雨荷, 刘湘花, 孙逸龙, 等. 原发性肝癌脂代谢相关通路及药物干预的研究进展 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2023, 29(10):788-792.
Hu YH, Liu XH, Sun YL, et al. Research progress on lipid metabolism related pathways and drug intervention in primary liver cancer [J]. *Chin J Hepatobiliary Surg*, 2023, 29(10):788-792.
 - 33 Xu Z, Bao J, Jin X, et al. The effects of cinobufagin on hepatocellular carcinoma cells enhanced by MRT68921, an autophagy inhibitor [J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(6):1595-1611.
 - 34 Wang H, Guo M, Wei H, et al. Targeting p53 pathways: Mechanisms, structures, and advances in therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1):92.
 - 35 Feng W, Zhao X, Yao Q, et al. Cinobufagin inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocarcinoma cells by activating apoptosis, AKT, and ERK pathways [J]. *Acta Biochim Pol*, 2022, 69(4):831-837.
 - 36 全景羽. 基于mTOR信号通路探讨1 β -OH-arenobufagin诱导肝癌细胞凋亡的作用机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2021.
Quan JY. Study on the mechanism of 1 β -OH-arenobufagin inducing apoptosis in hepatocellular carcinoma cells based on mTOR signaling pathway [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2021.
 - 37 Lee SH, Golinska M, Griffiths JR. HIF-1-independent mechanisms regulating metabolic adaptation in hypoxic cancer cells [J]. *Cells*, 2021, 10(9):2371.
 - 38 李海营. 华蟾毒它灵通过抑制HIF-1 α 介导的Warburg效应诱导肝癌细胞凋亡 [D]. 开封: 河南大学, 2020.
Li HY. Cinobufagin induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells by inhibiting HIF-1 α -mediated Warburg effect [D]. Kaifeng: Henan University, 2020.
 - 39 Rahmy S, Mishra SJ, Murphy S, et al. Hsp90 β inhibition upregulates interferon response and enhances immune checkpoint blockade therapy in murine tumors [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1005045.
 - 40 Shang Z, Fan Y, Xi S, et al. Arenobufagin enhances T-cell anti-tumor immunity in colorectal cancer by modulating HSP90 β accessibility [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128:155497.
 - 41 孟昭阳, 赵娟, 朱琴芳, 等. 基于网络药理学和细胞实验探讨华蟾素注射液抗结直肠癌的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(17):4755-4767.
Meng ZY, Zhao J, Zhu QF, et al. Exploring the mechanism of cinobufacini injection against colorectal cancer based on network pharmacology and cell experiments [J]. *China J Chin Mater Med*, 2024, 49(17):4755-4767.
 - 42 陈丹, 李晓武, 张伟斌, 等. 华蟾毒精通过Wnt/ β -catenin信号通路抑制人结直肠癌SW-480细胞活性及迁移能力的机制研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(4):167-171, 269.
Chen D, Li XW, Zhang WB, et al. Mechanism of cinobufagin inhibiting activity and migration of human colorectal cancer SW-480 cells *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(4):167-171, 269.

- 43 Ding H, Tang X, Tang W. Effect of adjuvant chemotherapy with toad venom injection in the treatment of intermediate and advanced colon cancer and its effect on cellular immunity, PTEN, and PI3k [J]. *Anticancer Drugs*, 2025, 36(6):495-500.
- 44 Bai Y, Wang X, Cai M, et al. Cinobufagin suppresses colorectal cancer growth *via* STAT3 pathway inhibition [J]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(1):200-214.
- 45 Tang YC, Hsiao JR, Jiang SS, et al. c-MYC-directed NRF2 drives malignant progression of head and neck cancer *via* glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase activation [J]. *Theranostics*, 2021, 11(11):5232-5247.
- 46 Wang M, Hu S, Yang J, et al. Arenobufagin inhibits lung metastasis of colorectal cancer by targeting c-MYC/Nrf2 axis[J]. *Phytomedicine*, 2024, 127:155391.
- 47 Chen J, Wang W, Li S, et al. RNA-seq reveals role of cell-cycle regulating genes in the pathogenicity of a field very virulent infectious bursal disease virus [J]. *Front Vet Sci*, 2024, 11:1334586.
- 48 Zhao Q, Li H, Zhu L, et al. Bioinformatics analysis shows that TOP2A functions as a key candidate gene in the progression of cervical cancer [J]. *Biomed Rep*, 2020, 13(4):21.
- 49 Tao C, Wang J, Gu Z, et al. Network pharmacology and metabolomics elucidate the underlying mechanisms of *Venenum Bufonis* in the treatment of colorectal cancer [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317:116695.
- 50 Chen Z, Yu Q, Chen J, et al. Bufadienolide-fatty acid conjugates from the fertilized eggs of toad bufo gargarizans: Isolation, characterization, toxicity, and antiproliferative evaluation [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(31):17377-17391.
- 51 Lan T, Chen HF, Zheng F, et al. Cinobufacini retards progression of pancreatic ductal adenocarcinoma through targeting YEATS2/TAK1/NF- κ B axis[J]. *Phytomedicine*, 2023, 109:154564.
- 52 邓旭. 华蟾酥毒基对食管癌 Kyse-520 细胞周期和凋亡的影响及其机制探讨[D]. 锦州:锦州医科大学, 2019.
- 53 Li N, Bai C, Zhao L, et al. The relationship between gut microbiome features and chemotherapy response in gastrointestinal cancer [J]. *Front Oncol*, 2021, 11:781697.
- 54 戴静杰, 潘利斌, 刘彪, 等. 华蟾素调节肠道菌群抑制胃癌细胞进展的机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2024, 41(21):2906-2916.
- 55 郑梓莹, 张燕, 陈文, 等. 华蟾素通过调控 HIF1 α 的 SUMO 修饰促进胃癌细胞铁死亡[J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(7):1342-1349.
- 56 Zheng ZY, Zhang Y, Chen W, et al. Cinobufacini promotes ferroptosis in gastric cancer cells by regulating SUMO modification of HIF1 α [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2024, 40(7):1342-1349.
- 57 Debnath P, Huirem RS, Dutta P, et al. Epithelial-mesenchymal transition and its transcription factors[J]. *Biosci Rep*, 2022, 42(1):BSR20211754.
- 58 Ang HL, Mohan CD, Shanmugam MK, et al. Mechanism of epithelial-mesenchymal transition in cancer and its regulation by natural compounds[J]. *Med Res Rev*, 2023, 43(4):1141-1200.
- 59 Park SJ, Jung HJ. Bufotalin suppresses proliferation and metastasis of triple-negative breast cancer cells by promoting apoptosis and inhibiting the STAT3/EMT axis [J]. *Molecules*, 2023, 28(19):6783.
- 60 孔璐. 华蟾素注射液基于 Pin1-YAP/TAZ 通路抗三阴性乳腺癌的机制研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2022.
- 61 Kong L. Mechanism study of cinobufacini injection against triple-negative breast cancer based on Pin1-YAP/TAZ pathway [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- 62 周纳多. 基于普鲁士蓝纳米粒子的化疗/光热治疗联合靶向抗 TNBC 研究[D]. 长沙:湖南大学, 2023.
- 63 Zhou ND. Study on chemotherapy/photothermal therapy combined with targeted anti-TNBC based on prussian blue nanoparticles [D]. Changsha: Hunan University, 2023.
- 64 尹霁琦. 华蟾蜍它灵抑制子宫内癌增殖及其机制研究[D]. 广州:南方医科大学, 2020.
- 65 Yin AQ. Study on the inhibition of endometrial cancer proliferation by cinobufagin and its mechanism [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2020.
- 66 王淞, 杨春娇, 温真鹏, 等. 基于网络药理学研究蟾毒灵治疗卵巢癌的作用机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(5):667-674.
- 67 Wang S, Yang CJ, Wen ZP, et al. Study on the mechanism of bufalin in the treatment of ovarian cancer based on network pharmacology [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2021, 32(5):667-674.
- 68 Dou L, Zou D, Song F, et al. Bufalin suppresses ovarian cancer cell proliferation *via* EGFR pathway[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 135(4):456-461.

- 64 孔翠翠, 李艳兰, 宫鹏超, 等. 蟾蜍灵诱导人宫颈癌 C33A 细胞自噬作用的机理研究[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(24):4350-4354.
Kong CC, Li YL, Gong PC, et al. Mechanism study of bufalin inducing autophagy in human cervical cancer C33A cells [J]. J Mod Oncol, 2019, 27 (24) : 4350-4354.
- 65 宋金成. 中药蟾毒灵(Bafulin)相关文献的文本计量学分析以及蟾毒灵在弥漫大B淋巴瘤中的作用及分子机制的研究[D]. 沈阳:中国医科大学, 2021.
Song JC. Bibliometric analysis of literature related to bufalin and study on the role and molecular mechanism of bufalin in diffuse large B-cell lymphoma [D]. Shenyang: China Medical University, 2021.
- 66 Ma X, Xu W, Jin X, et al. Telocinobufagin inhibits osteosarcoma growth and metastasis by inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 942:175529.
- 67 曹小仁. 基于 AKT 信号通路研究蟾酥内酯对黑色素瘤细胞的作用及其分子机制[D]. 成都:成都中医药大学, 2019.
Cao XR. Study on the effect of bufadienolides on melanoma cells and its molecular mechanism based on AKT signaling pathway [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2019.
- 68 Emran TB, Shahriar A, Mahmud AR, et al. Multidrug resistance in cancer: Understanding molecular mechanisms, immunoprevention and therapeutic approaches [J]. Front Oncol, 2022, 12:891652.
- 69 舒美玲, 吴悦, 叶映泉, 等. 华蟾素调控 PI3K/AKT 通路逆转卵巢癌 A2780/DDP 细胞顺铂耐药的作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(4):671-677, 741.
Shu ML, Wu Y, Ye YQ, et al. Mechanism of cinobufacini regulating PI3K/AKT pathway to reverse cisplatin resistance in ovarian cancer A2780/DDP cells [J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(4):671-677, 741.
- 70 Chhonker SK, Rawat D, Koiri RK. Repurposing PDE5 inhibitor tadalafil and sildenafil as anticancer agent against hepatocellular carcinoma *via* targeting key events of glucose metabolism and multidrug resistance [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2022, 36(8):e23100.
- 71 赵秦英, 吴悦, 桂仲璇, 等. 华蟾素调控 HIF-1 α /VEGF 通路逆转结肠癌 HCT15/5-FU 细胞耐药的体外研究[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(6):902-907.
Zhao QY, Wu Y, Gui ZX, et al. *In vitro* study on cinobufacini regulating HIF-1 α /VEGF pathway to reverse drug resistance in colon cancer HCT15/5-FU cells [J]. Acta Univ Med Anhui, 2023, 58(6):902-907.
- 72 Yoshimatsu Y, Wakabayashi I, Kimuro S, et al. TNF- α enhances TGF- β -induced endothelial-to-mesenchymal transition *via* TGF- β signal augmentation [J]. Cancer Sci, 2020, 111(7):2385-2399.
- 73 孙志刚, 李佳, 焦勤书, 等. 动脉置管灌注华蟾素注射液联合索拉非尼治疗经动脉化疗栓塞术后原发性肝癌患者近期疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(5):223-226.
Sun ZG, Li J, Jiao QS, et al. Observation on the short-term efficacy of arterial catheter perfusion of cinobufacini injection combined with sorafenib in the treatment of primary liver cancer patients after transarterial chemoembolization [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(5):223-226.

[本文编辑] 朱金月