

· 综 述 ·

斑蝥素中毒机体各系统损伤及其机制的研究进展

张有友, 余亚蕾, 张杰, 关础怀, 任亮, 刘良

(华中科技大学同济医学院法医学系, 湖北 武汉 430030)

摘 要: 斑蝥素中毒已被证实可引起多器官损害, 由此造成的急性循环衰竭、急性肾衰竭或多器官功能衰竭是斑蝥素中毒患者的常见死因。目前有关斑蝥素中毒主要靶器官损伤及其机制的研究尚未明确。本文通过梳理近年来国内外有关斑蝥素中毒的毒理病理学研究文献, 系统综述了斑蝥素中毒后机体消化系统、循环系统、呼吸系统、泌尿系统、生殖系统、皮肤黏膜、免疫系统和神经系统的毒理病理损伤及机制的最新研究进展, 为进一步完善斑蝥素中毒分子毒理学机制及临床干预斑蝥素中毒的决策制定提供借鉴。

关键词: 法医毒理学; 斑蝥素; 中毒; 损伤机制; 综述

中图分类号: DF795.1 文献标志码: A doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.04.021

文章编号: 1004-5619(2020)04-0545-04



Research Progress on Multiple Organ Damage and Mechanism of Cantharidin Poisoning

ZHANG You-you, YU Ya-lei, ZHANG Jie, GUAN Chu-huai, REN Liang, LIU Liang

(Department of Forensic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Cantharidin poisoning has been proven to cause multiple organ damage. Acute circulatory failure, acute renal failure, and multiple organ failure resulting from cantharidin poisoning are the main causes of death for patients with cantharidin poisoning. However, research on the damage of main target organs and mechanism of cantharidin poisoning is not clear. This paper reviews the latest toxicological and pathological research literatures at home and abroad related to cantharidin poisoning and comprehensively summarizes the latest research progress on the toxicological and pathological damage and mechanism of the digestive system, circulatory system, respiratory system, urinary system, reproductive system, skin mucosa, immune system, and nervous system after cantharidin poisoning, to provide reference for improving the molecular toxicological mechanism of cantharidin poisoning and decision-making in the clinical intervention of cantharidin poisoning.

Keywords: forensic toxicology; cantharidin; poisoning; damage mechanism; review

斑蝥素作为斑蝥体内重要的毒性物质, 化学名称为六氢-3 α , 7 α -二甲基-4, 7-环氧异苯并呋喃-1, 3-二酮。斑蝥这一传统中药具有破血消癥、攻毒蚀疮、引赤发泡之效, 用于癥瘕肿块、积年顽癣、瘰癧、赘疣、痈疽不溃、恶疮死肌等症^[1]。该药为芫菁科昆虫南方大斑蝥或黄黑小斑蝥的干燥虫体, 其性辛、热, 有大毒。因斑蝥用药历史悠久, 在民间常流传用其治疗皮肤病、狂犬病、恶性肿瘤等, 由于民间偏方大多为无证行医, 施药者对其药理作用、用法用量、毒性及性能等

相关知识掌握不够, 加之药物管理不严, 因多服、误服发生中毒反应者不在少数^[2]。国外斑蝥中毒案例多见于将其作为性兴奋剂或者误服等情况^[3]。既往20年斑蝥素中毒案例的回顾性分析发现, 患者首发症状主要集中在泌尿系统、消化系统, 常伴有心血管系统、神经系统、生殖系统等症状; 外用治疗患者易出现皮肤黏膜中毒表现^[4]。临床资料分析得出, 在泌尿系统和心血管系统方面, 患者常出现急性少尿、无尿, 恶性心律失常、心肌坏死等^[4]。死亡病例的临床资料及法医

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2018YFC0807202-3)

作者简介: 张有友(1989—), 男, 博士, 主要从事毒药物心肌及神经系统损伤机制研究; E-mail: 869974299@163.com

通信作者: 任亮, 男, 博士, 副主任法医师, 硕士研究生导师, 主要从事法医病理学和法医毒理学科研究、教学与检案; E-mail: 36918280@qq.com

通信作者: 刘良, 男, 博士, 主任法医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事法医病理学和法医毒理学科研究、教学与检案; E-mail: liuliang@mails.tjmu.edu.cn

病理学检验综合分析发现,大多数病例的死因为急性肾衰竭、急性循环衰竭或者多器官功能衰竭^[4],但其有关机制至今尚未探明。故本文总结斑蝥素中毒靶器官损伤及其机制的最新研究进展,将为斑蝥素中毒分子毒理学机制的完善提供参考,为临床上斑蝥素中毒的抢救及后续治疗方案的制定提供借鉴。

1 消化系统毒性

斑蝥素中毒患者消化系统表现以消化道出血和肝功能衰竭为著,症状主要为恶心、呕吐、呕血、腹痛、腹胀、便血等,文献^[5]报道中毒患者服用斑蝥素后以消化道出血较为常见。在中毒死亡案例及动物染毒实验后可见食管和胃肠道黏膜充血、出血、糜烂等组织病理学改变,目前普遍认为这一现象与急性应激有关。

因斑蝥素相关制剂在治疗肝癌方面有一定疗效,治疗的同时部分患者伴随肝功能相关生化指标的异常,故有关其肝毒性的研究较多^[6-7]。目前斑蝥素肝毒性机制主要集中在内质网应激、凋亡、过氧化脂质生成等方面^[7-8],且有研究^[8]发现,维生素C对斑蝥素中毒肝损伤有一定保护作用。此外,药物肝毒性在很大程度上与大多数药物(包括中草药)通过肝代谢有关,细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)酶在肝代谢过程中起着非常重要的作用,其中ZHOU等^[6]发现斑蝥素对CYP1A2和CYP2C19的活性没有显著影响,但可抑制CYP2D6和CYP3A4的活性,同时在体内诱导CYP2C9活性,该研究结果为临床上安全有效地使用斑蝥素提供了一定指导。因此,使用斑蝥素治疗时要注意CYP2C9、CYP2D6和CYP3A4介导的斑蝥素与其他药物间的相互作用。

2 循环系统毒性

斑蝥素中毒患者循环系统表现以心肌缺血、炎症、低血容量休克等急危重症为著,主要的组织病理学改变为心肌肌质凝聚、心肌纤维炎性改变、心外膜下出血等^[4-5,9-10]。邵好珍等^[11]通过建立急性斑蝥素染毒小鼠动物模型研究发现,斑蝥素中毒主要靶器官损害为心脏,考虑与核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)过表达相关。RABKIN等^[12]以家兔为研究对象的实验研究发现,斑蝥素中毒后血气分析检测提示氧分压降低,并出现严重的心肌缺血、心律失常、猝死等心血管系统并发症。这些严重的心血管不良事件的发生给人类生命安全造成了很大威胁,但其心血管毒性机制尚未形成共识。目前相关实验研究得到的结论主要集中在缺血缺氧后氧化应激途径导致的钙超载、线粒体功能受损等方面^[13]。基于前期实验^[11-12],发现斑蝥素中毒存在严重的心肌缺血及蛋白表达改变,推测可

能的心肌损伤机制为斑蝥素抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)介导的磷酸肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路,影响心肌组织中Akt磷酸化、凋亡蛋白的表达,抑制新生血管再生,造成心肌组织坏死。斑蝥素作为一种典型的蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)抑制剂,可调节30多种不同激酶的活性,包括PI3K、Akt和细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, ERK)等^[14-15]。

3 呼吸系统毒性

斑蝥素在辅助治疗非小细胞肺癌、恶性胸腔积液等疾病方面也取得了一些成果^[16],但对于误服或者错服的患者而言,斑蝥素的呼吸系统毒性以呼吸困难、呼吸节律改变等较为常见,组织病理学改变可有支气管肺炎、肺胸膜下出血等^[5]。本课题组前期实验^[17]发现,大鼠斑蝥灌胃后呼吸频率先快后慢,死亡时心电监护提示呼吸停止早于心搏停止,故考虑急性斑蝥中毒死亡过程中呼吸抑制作用不容忽视。近数十年来,斑蝥素呼吸系统毒性机制方面仍未见更深层次的研究,结合前期成果,对于斑蝥素中毒呼吸抑制损伤机制仍需相关实验验证完善。

4 泌尿系统毒性

斑蝥素泌尿系统毒性常以肾衰竭^[18]、出血性膀胱炎^[5]为主,常见症状包括腰痛、尿频、尿急、尿痛、排尿困难、少尿、血尿等,严重者可因急性肾衰竭死亡。动物实验及人体死后标本均发现严重的肾小球及肾小管坏死、间质炎症、被膜下出血、蛋白或红细胞管型等病理改变^[5]。目前关于斑蝥素导致中毒性肾病的机制以氧化应激为主,研究^[19]发现,斑蝥素染毒后大鼠血肌酐、尿素氮显著升高,同时伴有丙二醛(malondialdehyde, MDA)表达升高、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)表达降低。但也不能排除灌注不足所致的急性肾前性肾衰竭,因此继发性因素也需得到高度重视,尤其对于心肾综合征。关于膀胱毒性的研究^[20],病理改变以膀胱炎症改变为主,其机制可能与Akt及NF- κ B信号通路过度激活出现炎症因子高度表达,促进组织和细胞炎症反应的发生有关,具体机制仍需进一步实验完善及细胞水平验证。

5 生殖系统毒性

斑蝥素作为“催情剂”在欧洲具有悠久的使用历史^[21-22],因其具有生殖器官兴奋现象,故中毒时常出现阴茎异常勃起、异常射精、子宫收缩出血、流产等。

同时,因斑蝥素具有致流产作用,民间将其作为堕胎药曾风靡一时。关于其生殖毒性的研究,服用斑蝥素中毒经抢救成功的人群,因不孕不育行相关检查时发现精子活力降低、无精、输精管管腔阻塞等异常改变^[23]。动物实验行为学观察^[5]可发现雄性大鼠出现射精、阴茎勃起等,雌性大鼠可见阴道出血,中毒死亡后解剖可见子宫和卵巢出血。

6 皮肤黏膜毒性

斑蝥素具有很强的腐蚀性,经皮肤接触可引起皮肤黏膜改变,主要表现为水泡形成、皮肤黏膜溃烂、皮肤烧灼感。DINH等^[13]经皮下注射斑蝥素成功建立了皮肤局部炎症模型,通过比较观察抗感染药物治疗前后皮丘大小、颜色及血液学检查结果发现,斑蝥素皮下注射可引起皮肤黏膜炎症改变,通过甲泼尼龙或者特异性肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)阻断剂可以起到治疗皮肤局部炎症的作用。这一结果明确了斑蝥素皮下注射可引起机体局部损伤并促进炎症因子表达,同时为临床治疗提供了极具价值的参考。

7 免疫系统毒性

斑蝥素免疫系统损伤主要与胸腺、脾等组织器官有关。本课题组前期通过大量实验^[5]证实了急性斑蝥素中毒后胸腺、脾及淋巴组织中淋巴细胞变性坏死显著,酶组织化学检验可见三磷酸腺苷酶及葡萄糖-6-磷酸酶活性下降,提示斑蝥素对免疫系统有抑制作用。目前斑蝥素在抗肿瘤及治疗免疫相关疾病方面的研究与其免疫抑制作用尤其是对调节性T淋巴细胞的抑制密切相关^[24]。关于免疫抑制状态的研究,目前多采用动物实验观察免疫器官指数、T淋巴细胞亚群、脾淋巴细胞增殖率、血清细胞因子、腹腔巨噬细胞吞噬指数等指标^[25],进行免疫抑制后动物免疫功能评估。尤其在有关脾免疫功能方面的研究, NF- κ B 信号通路和 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路可能参与其中^[26],故推测两者在斑蝥素免疫抑制进程中发挥一定作用,关于其具体信号转导途径仍需进一步实验完善求证。

8 神经系统毒性

斑蝥素中毒患者神经系统症状主要以头晕、头痛、口舌麻木、四肢麻木、癫痫样症状发作、意识障碍、面瘫、新发脑卒中等为主^[4]。通过总结前期斑蝥素中毒案例^[4]发现,斑蝥素中毒可出现肢体力弱、抽搐、意识障碍等表现,死后组织病理学检验发现肢体力弱可能与脑组织缺血或者出血改变存在关联,关于抽搐和

意识障碍,目前推测可能与斑蝥素中毒引起的机体循环灌注不足有关。关于人群中面瘫、肢体麻木等症状,考虑与斑蝥素免疫抑制作用导致的神经系统改变有关。因此,推测“神经-内分泌-免疫网络”^[27]可能在这一复杂神经系统病变中发挥一定作用。

总之,从古代在民间偏方中使用斑蝥治疗犬咬伤、皮肤疾病等,到目前通过不断提纯得到不良反应较少的斑蝥素成分用以辅助治疗肿瘤,斑蝥素及其相关衍生物有着广泛的应用前景。因此,进一步加强斑蝥素毒理病理学研究,完善斑蝥素分子毒理学机制及病理损伤机制,对于指导斑蝥素的临床合理用药、中毒后的抢救治疗以及死后鉴定有很好的应用价值。尤其是在法医学鉴定方面,斑蝥素中毒后因存在药物死后体内再分布或因尸体腐败无法检测出毒物时,往往缺乏相关特异性分子生物学标志物,给最终鉴定意见的出具带来困难。解决这一难题的关键就是不断深入研究斑蝥素的药代动力学及不同剂量、不同时间染毒后的体内分布情况,同时总结死后毒理病理学改变,完善分子毒理学机制研究,丰富斑蝥素毒理病理学理论体系。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2015年版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:331-332. China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015 edition (Volume 1)[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House,2015:331-332.
- [2] 白璐,王玉瑾,颜有仪. 斑蝥的滥用及检测[J]. 中国司法鉴定,2012(2):72-74. doi:10.3969/j.issn.1671-2072.2012.02.017. BAI L, WANG Y J, Yan Y Y. The abuse and detection of cantharis[J]. Zhongguo Sifa Jianding,2012(2):72-74.
- [3] NARLI O Z, SAHIN U, CIVRIZ B S, et al. Multiple arterial thrombosis related with cantharidin ingestion[J]. Case Rep Hematol,2018,2018:8159093. doi:10.1155/2018/8159093.
- [4] ZHANG Y, ZHOU X, ZHANG J, et al. Cantharides poisoning: A retrospective analysis from 1996 to 2016 in China[J]. Regul Toxicol Pharmacol,2018,96:142-145. doi:10.1016/j.yrtph.2018.05.007.
- [5] 刘良. 法医毒理学[M].5版. 北京:人民卫生出版社,2016:177-179. LIU L. Forensic toxicology[M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House,2016:177-179.
- [6] ZHOU C J, QIAO L M, ZHAO L H, et al. Evaluation of the impact of cantharidin on rat CYP enzymes by using a cocktail of probe drugs[J]. Fitoterapia,2015,107:49-53. doi:10.1016/j.fitote.2015.10.008.
- [7] 肖翹. 斑蝥素中毒的毒理学初步研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2017.

- XIAO X. A preliminary study on the toxicology of cantharidin poisoning[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2017.
- [8] WU W, SU M, LI T, et al. Cantharidin-induced liver injuries in mice and the protective effect of vitamin C supplementation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1):182-187. doi:10.1016/j.intimp.2015.06.003.
- [9] 李新新, 陈晓雷. 斑蝥中毒法医学鉴定1例[J]. *法医学杂志*, 2012, 28(1):65-66. doi:10.3969/j.issn.1004-5619.2012.01.020.
- LI X X, CHEN X L. Forensic identification of cantharides poisoning: A case report[J]. *Fayixue Zazhi*, 2012, 28(1):65-66.
- [10] ZHANG Y, YU Y, ZHANG J, et al. Molecular biomarkers of cantharidin-induced cardiotoxicity in Sprague-Dawley rats: Troponin T, vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1 α [J]. *J Appl Toxicol*, 2020, 40(8):1153-1161. doi:10.1002/jat.3974.
- [11] 邵好珍, 马齐襄, 胡晓炜, 等. 斑蝥素引起小鼠急性中毒的器官损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(16):55-60. doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20181617.
- SHAO H Z, MA Q X, HU X W, et al. Target organ for acute toxicity of cantharidin[J]. *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, 2018, 24(16):55-60.
- [12] RABKIN S W, FRIESEN J M, FERRIS J A, et al. A model of cardiac arrhythmias and sudden death: Cantharidin-induced toxic cardiomyopathy[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1979, 210(1):43-50.
- [13] DINH P H, CORRAZA F, MESTDAGH K, et al. Validation of the cantharidin-induced skin blister as an *in vivo* model of inflammation[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2011, 72(6):912-920. doi:10.1111/j.1365-2125.2011.04020.x.
- [14] CHANG Y, LI J Y, JAYAKUMAR T, et al. Ketamine, a clinically used anesthetic, inhibits vascular smooth muscle cell proliferation via PP2A-activated PI3K/Akt/ERK inhibition[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12):E2545. doi:10.3390/ijms18122545.
- [15] PERSAD A, VENKATESWARAN G, HAO L, et al. Active β -catenin is regulated by the PTEN/PI3 kinase pathway: A role for protein phosphatase PP2A[J]. *Genes Cancer*, 2016, 7(11/12):368-382. doi:10.18632/genesandcancer.128.
- [16] 李丽静, 臧亚茹, 于文会, 等. 化疗联合斑蝥酸钠维生素B6注射液对非小细胞肺癌患者的治疗效果及其机制[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 44(6):1286-1290. doi:10.13481/j.1671-587x.20180630.
- LI L J, ZANG Y R, YU W H, et al. Therapeutic effect of chemotherapy combined with sodium cantharidinate vitamin B6 injection in patients with non-small cell lung cancer and its mechanism[J]. *Jilin Daxue Xuebao (Medicine edition)*, 2018, 44(6):1286-1290.
- [17] 刘良, 邓伟年, 张益鹤, 等. 大鼠急性斑蝥中毒血流动力学研究[J]. *中国法医学杂志*, 1993, 8(3):137-139.
- LIU L, DENG W N, ZHANG Y G, et al. Hemodynamics of acute cantharidin poisoning in rats[J]. *Zhongguo Fayixue Zazhi*, 1993, 8(3):137-139.
- [18] COTOVIO P, SILVA C, GUEDES M M, et al. Acute kidney injury by cantharidin poisoning following a silly bet on an ugly beetle[J]. *Clin Kidney J*, 2013, 6(2):201-203. doi:10.1093/ckj/sft001.
- [19] 唐大轩, 张莉, 刘亚欧, 等. 甲基斑蝥酸对肾毒性的影响[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(3):49-51. doi:10.13412/j.cnki.zyyl.2017.03.015.
- TANG D X, ZHANG L, LIU Y O, et al. Effects of methyl cantharidimide on nephrotoxicity[J]. *Zhongyao Yaoli Yu Linchuang*, 2017, 33(3):49-51.
- [20] 孙笑, 盛鸿昊, 胡晓炜, 等. 斑蝥素引起小鼠急性膀胱炎的作用及相关机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(16):49-54. doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20181616.
- SUN X, SHENG H H, HU X W, et al. Effect of cantharidin in inducing acute cystitis in mice[J]. *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, 2018, 24(16):49-54.
- [21] MOED L, SHWAYDER T A, CHANG M W. Cantharidin revisited: A blistering defense of an ancient medicine[J]. *Arch Dermatol*, 2001, 137(10):1357-1360. doi:10.1001/archderm.137.10.1357.
- [22] WEST E, KRYCHMAN M. Natural aphrodisiacs -- A review of selected sexual enhancers[J]. *Sex Med Rev*, 2015, 3(4):279-288. doi:10.1002/smrj.62.
- [23] 唐弟祥, 梁宁康, 许先斌. 加味六味地黄丸治愈斑蝥中毒所致不孕症1例[J]. *吉林中医药*, 2006, 26(2):35.
- TANG D X, LIANG N K, XU X B. A case of infertility caused by cantharidin poisoning cured by Jiawei Liuwei Dihuang Pill[J]. *Jilin Zhongyiyao*, 2006, 26(2):35.
- [24] MO L, ZHANG X, SHI X, et al. Norcantharidin enhances antitumor immunity of GM-CSF prostate cancer cells vaccine by inducing apoptosis of regulatory T cells[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(7):2109-2118. doi:10.1111/cas.13639.
- [25] HSIEH C H, HUANG Y C, TSAI T H, et al. Cantharidin modulates development of human monocyte-derived dendritic cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2011, 25(8):1740-1747. doi:10.1016/j.tiv.2011.09.001.
- [26] 赖昕. 白藜芦醇对免疫抑制小鼠的免疫功能及脾淋巴细胞 JNK/NF- κ B 信号级联通路的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
- LAI X. The enhancement of immune function and regulation of JNK/NF- κ B signal pathway of spleen lymphocyte by resveratrol-treatment in immunosuppressive mice induced by cyclophosphamide[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2017.
- [27] MALAGOLI D, OTTAVIANI E. Cross-talk among immune and neuroendocrine systems in molluscs and other invertebrate models[J]. *Horm Behav*, 2017, 88:41-44. doi:10.1016/j.yhbeh.2016.10.015.

(收稿日期:2019-03-20)

(本文编辑:张建华)