

人参皂苷减轻结肠癌化疗副反应机制的研究进展

王启龙¹ 张春泽^{2*} 张伟华²

(1. 天津中医药大学, 天津 300049; 2. 天津市人民医院, 天津 300121)

摘要: 人参被列为上品药物, 具有保护心脑血管、神经系统及肝功能等广泛的药理作用, 并有明显的抗肿瘤、协同化疗作用及减轻化疗副反应的作用。结肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 目前临床上对结肠癌的治疗常以手术、化疗以及中药辅助化疗的方法, 部分患者常因不能耐受化疗副反应而终止药物化疗, 导致患者生存质量普遍下降。最新研究表明, 化疗药物可通过半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶和 gasdermin E 介导正常细胞的焦亡产生相关毒副作用。查阅国内外人参皂苷药理作用的相关研究资料, 并进行分析、综述, 发现人参皂苷能抑制细胞焦亡、减轻结肠癌化疗副反应。

关键词: 人参皂苷; 化疗副反应; 结肠癌; 细胞焦亡; 细胞凋亡; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶

中图分类号: R285.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-2406(2019)05-0128-04

doi: 10.19656/j.cnki.1002-2406.190161

Research Progress on the Mechanism of Ginsenoside in Alleviating Side Effects of Chemotherapy in Colon Cancer

WANG Qilong¹, ZHANG Chunze^{2*}, ZHANG Weihua²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300049, China;
2. Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China)

Abstract: Ginseng is listed as a top-grade herb in TCM. It has a wide range of pharmacological effects, such as protecting cardiovascular and cerebrovascular system, nervous system and liver function, it also has obvious anti-tumor and synergistic effects of chemotherapy and can alleviate side effects of chemotherapy. Colon cancer is one of the most common malignant tumors of digestive system. At present, the treatment of colon cancer is usually treated with surgery, chemotherapy and TCM adjuvant chemotherapy. Some patients often terminate the chemotherapy because of the intolerant side effects of chemotherapy, resulting in a general decline in the life quality. Recent studies have shown that chemotherapeutic drugs can mediate the pyroptosis of normal cells by cysteine aspartate protease and gasdermin E to produce related toxic and side effects. The pharmacological effects of ginsenosides at home and abroad were reviewed and analyzed to provide a scientific reference for ginsenosides to inhibit pyroptosis and alleviate the side effects of chemotherapy in colon cancer.

Key words: Ginsenoside; Side effects of chemotherapy; Colon cancer; Pyroptosis; Apoptosis; Cysteine aspartate protease

基金项目: 国家重点实验室开放研究课题(No. 2018094); 天津市卫生计生委、天津市中医药管理局重点项目(No. 2017057); 天津市卫生健康委员会项目(No. 2014KZ053)

作者简介: 王启龙(1989-), 男, 住院医师, 主要研究方向: 中西医结合临床。

通讯作者: 张春泽(1980-), 男, 副主任医师, 主要研究方向: 中西医结合临床。

收稿日期: 2019-04-10

修回日期: 2019-04-25

结肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 发病率位于胃肠道肿瘤的第3位。我国结肠癌发病率呈逐年上升趋势, 严重危害了人们的生命健康。目前临床上对结肠癌的治疗常以手术、化疗以及中药辅助化疗的方法。化疗是目前治疗癌症最有效的手段之一, 但是许多化疗药物对正常组织具有严重细胞毒性和刺激性, 最新研究表明, 肿瘤患者化疗过程中的毒副作用主要是化疗药物通过半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase-3)和 gasdermin E(GSDME)介导正常细胞的焦亡过程实现

的^[1]。但是大部分化疗的不良反应和毒副作用是可逆的,通过使用一些人参皂苷类药物可以控制或者减轻化疗的毒副作用。目前人参皂苷的药理活性备受关注,本文将对细胞焦亡机制和人参皂苷的药理作用机制进行综述。

1 细胞焦亡

细胞焦亡是近年来新发现的一种有别于凋亡和坏死的具有促炎作用的细胞死亡方式,细胞凋亡涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用,并不是病理条件下,自体损伤的一种现象,而是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程;而细胞焦亡是一种程序性细胞死亡^[2],可激活强烈的炎症反应,在炎症反应与免疫防御方面起到重要的作用。

1.1 细胞焦亡特性

发生焦亡的细胞会出现细胞核浓缩、染色质 DNA 断裂、TUNEL 染色阳性、Annexin V 染色阳性。炎症性 Caspase 是天然免疫防御的关键。Caspase 过度活化能导致许多自身炎症、自身免疫甚至代谢疾病^[3]。

1.2 GSDMD

研究发现的 GSDMD,可由经典炎症通路激活 Caspase,诱导细胞焦亡的进行。Gasdermin D (GSDMD) 作为 gasdermin 蛋白家族的一员,与之家族其他蛋白之间有大约 45% 的同源性,如 GSDMA, GSDMB, GSDMC, DFNA5 等。被炎症 Caspase 切割后, Gasdermin 蛋白家族可裂解出现 Gasdermin - N 与 Gasdermin - C 两个具有活性的结构域。其 N 端结构可直接诱导细胞焦亡的产生。Sborgi 等证实了 Gasdermin - N 在细胞焦亡过程中具有不可替代的作用^[4],同期研究观察到 GSDMD - N 端结构域能靶向结合人工生物膜,导致细胞膜穿孔诱发焦亡的产生^[5-6]。

1.3 GSDME

实验研究中最先被命名为 DFNA5 的 GSDME 是属于 GSDMD 的 Gasdermin 家族一员,参与诱导细胞死亡,并被认为是肿瘤抑制因子^[7-9],在炎症 Caspase 的切割下可诱导细胞焦亡的产生。Caspase - 3 可以特异性的切割与 GSDME 相关的蛋白,产生的 DFNA5 - N 片段以质膜为靶点,可以在质膜上形成众多平均直径为 21nm 的孔,使细胞膜失去完整性,导致细胞膜失去调控物质进出的能力,同时白细胞介素 - 1 β (IL - 1 β) 可以顺利通过这些孔隙,诱发炎症反应、募集更多的炎症细胞,扩大炎症反应^[10-11]。

值得注意的是, GSDME 在大多数癌症细胞中是极低表达的,而在正常组织细胞中可以正常表达^[12-13],

所以化疗药物不仅仅可以灭杀癌细胞,也可以通过 Caspase - 3 和 GSDME 介导正常细胞的焦亡产生,从而使患者出现化疗药物的毒副作用,导致患者生存质量普遍下降,甚至因不能耐受而被迫中止化疗药物治疗。

史氏等使用细胞焦亡模型 iBMDMs 细胞敲出了 GSDMD 后,发现阻断了 LFn - BsaK 诱导的细胞焦亡,而同时当恢复 GSDMD 表达时, LFn - BsaK 诱导的细胞焦亡形式出现,而且当敲除 GSDMD 后,用 LFn - Flic 诱导细胞焦亡,没有发生焦亡的情况,尤其是使用 NAIP5 - NLRC4 经典炎症通路的情况下。同时实验发现, GSDMD 可以控制白细胞介素 - 1 β (IL - 1 β) 的释放,在敲除 Gsdmd 之后,在各种诱导凋亡的途径中, IL - 1 β 的释放都是减少的^[14]。因此减少肿瘤患者化疗过程中正常细胞焦亡的发生,从而减轻化疗过程中的毒副作用,对于肿瘤患者的治疗具有重要意义^[15]。

2 人参皂苷的药理作用

中国 4 000 年前就有记载“人参,味甘微寒,主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明目,开心益智。久服,轻身延年。一名人衔,一名鬼盖。生山谷。”人参和西洋参中提取出的人参皂苷类成分,具有广泛药理作用,如抗炎、抗瘤、抗氧化、抗细胞凋亡及免疫调节等,也是许多中药方剂及中成药中重要的起效成分。人参皂苷 Rg3 和 Rh2 是具有显著抗癌效果的人参提取物,并且人参皂苷 Rg3、Rh4、C - K、Rb1、Rb2 及 TGCG 等也表现出一定的抗癌效应。

2.1 保护心脑血管作用

研究发现,人参皂苷 Rh3 预处理可下调缺血再灌注损伤大鼠心肌 Caspase - 3 的表达,抑制心肌细胞凋亡,保护心肌细胞,进而减轻缺血再灌注的损伤^[16]。与此同时人参皂苷 Rd 能通过降低胆固醇的累积并抑制低密度脂蛋白的氧化活动来预防动脉粥样硬化的发生^[17]。

2.2 保护神经系统

Rg1 可以减少神经纤维缠结的形成,抑制凋亡效应蛋白 Caspase - 3 的表达,保护神经细胞,抵抗阿尔茨海默病进展^[18]。 β - 淀粉样蛋白 (A β) 肽的升高是阿尔茨海默病的一种病理体现,经 Rg1 处理的 N2a - APP695 细胞能明显减轻 A β 的产生^[19]。另有相关研究实验报道,对神经挤压损伤的大鼠模型应用 Rg1 可促进其神经末梢的修复^[20]。

2.3 保护肝功能

预防性应用 Rg1 于四氯化碳 (CCl₄) 诱导的肝衰

竭小鼠模型中,可抑制急性肝衰竭所致的炎性反应,并通过抑制 Caspase - 3 及 Caspase - 8 等多种靶点,减轻肝细胞凋亡通路激活所致的细胞坏死。同时,人参皂苷 CK 可减轻 CCL₄ 致大鼠慢性肝损伤的程度,保护肝细胞^[21-22]。

2.4 抗肿瘤作用

2.4.1 抑制结肠癌细胞增殖

大多数结直肠癌是由 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活引起的,在结肠癌细胞系 HCT116 异种移植瘤模型中,He 等^[23]通过实验验证了 Rg3 能有效抑制结肠癌细胞增殖,并提出 Rg3 阻断了 Wnt/ β -catenin 信号通路机制,提供了新的治疗方案和方向。目前抗血管生成已成功用于结直肠癌的治疗之中,人参皂苷 Rg3 无论在体外还是在体内实验都能抑制结直肠癌细胞的生长,并下调血管生成相关基因的表达程度,抑制了结直肠癌血管化,此外 Rg3 还增强了 5-氟尿嘧啶和奥沙利铂对于肿瘤细胞的毒性^[24]。同时 Yang 等^[25]发现, Rg3 可通过抑制 C/EBP β 和 NF- κ B 信号传导,展现强烈的细胞增殖抑制作用;腹腔注射 Rg3 3 周可显著抑制裸鼠移植肿瘤的生长。人参皂苷 Rg2 也能有效抑制结肠癌细胞的增殖,并通过与 HCT116 结直肠癌高表达的 PDZ 结合激酶/T-LAK 细胞源性蛋白激酶(PBK/TOPK)直接结合,抑制 PBK/TOPK 活性,诱导 HCT116 结直肠癌细胞的死亡^[26]。

2.4.2 阻止结肠癌细胞周期

人参总皂苷(TGCG)对 HT-29 细胞的增殖具有剂量依赖性抑制作用, TGCG 在 G0/G1 和 G2/M 阶段诱导细胞周期停滞,并通过 C-Myc 和 p53 介导的信号通路诱导 HT-29 细胞凋亡^[27]。人参皂苷 Rb1 的肠道微生物代谢产物——人参皂苷化合物 K(C-K),可以以剂量和时间依赖性的方式显著抑制人结直肠癌细胞株 HCT-116、SW-480 和 HT-29 的增殖,同时观察到 C-K 在 G1 期抑制了细胞,并显著诱导了细胞凋亡^[28-29]。

2.4.3 诱导结肠癌细胞凋亡

Wu 等^[30]在结直肠癌细胞异种移植瘤模型实验中发现, Rh4 对肿瘤生长有明显的抑制作用,将结肠癌细胞周期阻断于 G0/G1 期,并诱导 Caspase 依赖性细胞凋亡和自噬,有效抑制了结直肠癌细胞的增殖,并且对正常结肠上皮细胞无明显的细胞毒性。Rh2 处理 HCT116 和 SW480 结直肠癌细胞可激活 p53 通路,显著提高促凋亡调节因子 Bax 的水平,同时降低抗凋亡调节因子 Bcl-2 的水平,诱导细胞的凋亡^[31]。与此

同时 Rg3 也能通过上调细胞凋亡相关蛋白 p53、Bax 和 Caspase - 3 的表达,加速癌症细胞的死亡^[32]。

2.4.4 诱导结肠癌细胞自噬

研究报道, C-K 不仅能诱导结肠癌细胞的凋亡,还可以通过活性氧物种 c-jun NH2 末端激酶途径介导癌症细胞的自噬^[33]。随之产生的自噬体将逐步损毁细胞核。在新近的实验研究中, WU 等首次证实 Rh4 可通过激活结直肠癌细胞中的 ROS/JNK/P53 途径引发细胞的自噬和凋亡。

3 展望

我国科研人员对于人参皂苷的药理活性已有较深刻的理解,并可以从分子水平阐述人参皂苷药理机制,尤其是人参皂苷通过抑制结肠癌细胞增殖、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、诱导细胞自噬等方式体现抗肿瘤的作用,同时证实与化疗药物联合应用,能降低化疗药物的毒副作用并增强抗癌作用。

随着细胞焦亡的理论被逐步认知,最近研究为我们揭示了化疗药物通过激活 Caspase - 3 通路诱导正常细胞焦亡的机制。相关实验研究表明,人参皂苷类药物能下调正常组织在异常及应激状态下 Caspase - 3 的表达,从而保护各脏器组织;相反的人参皂苷类药物能上调细胞中 Caspase - 3 的表达,进而介导细胞凋亡及焦亡的产生,加强药物抗癌作用。

值得注意的是, GSDME 作为 Caspase 介导的细胞焦亡的关键底物蛋白,在其下游起着不可替代的作用,并广泛表达于正常组织中。但是目前国内鲜有实验研究报道人参皂苷类药物抑制化疗药物所介导正常细胞焦亡的机制,因此探索抑制细胞焦亡的机制并寻找小分子化合物抑制 GSDME 介导正常细胞的焦亡过程,为减轻化疗药物的毒副作用提供理论基础,具有巨大的临床应用价值。

参考文献:

- [1] ZHANG X X, ZHANG H B. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through Caspase - 3 - dependent cleavage of GSDME [J]. Science China Life Sciences 2018, 61(6): 739 - 740.
- [2] WALLACH D, KANG T B, DILLON C P, et al. Programmed necrosis in inflammation: toward identification of the effector molecules [J]. Science 2016, 352(6281): aaf2154.
- [3] SHI J J, ZHAO Y, WANG Y P, et al. Inflammatory Caspases are innate immune receptors for intracellular LPS [J]. Nature, 2014, 514(7521): 187 - 192.
- [4] SBORGI L, PIPERCEVIC J, MULVIHILL E, et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death [J]. The EMBO journal 2016, 35(16): 1766 - 1778.
- [5] DING J, WANG K, LIU W, et al. Pore-forming activity and struc -

- tural autoinhibition of the gasdermin family [J]. *Nature* ,2016 ,535 (7610) : 111 – 116.
- [6] AGLIETTI R A ,ESTEVEZ A ,GUPTA A ,et al. GsdmD p30 elicited by Caspase – 11 during pyroptosis forms pores in membranes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2016 ,113(28) : 7858 – 7863.
- [7] TAMURA M ,TANAKA S ,FUJII T ,et al. Members of a novel gene family ,Gsdm , are expressed exclusively in the epithelium of the skin and gastrointestinal tract in a highly tissue – specific manner [J]. *Genomics* 2007 ,89(5) : 618 – 629.
- [8] OP DE BEECK K ,VAN CAMP G ,THYS S ,et al. The DFNA5 gene , responsible for hearing loss and involved in cancer ,encodes a novel apoptosis – inducing protein [J]. *European journal of human genetics* : E J H G 2011 ,19(9) : 965 – 973.
- [9] VAN ROSSOM S ,OP DE BEECK K ,FRANSSENS V ,et al. The splicing mutant of the human tumor suppressor protein DFNA5 induces programmed cell death when expressed in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Frontiers in Oncology* 2012 ,2: 77.
- [10] SBORGI L ,PIPERCEVIC J ,MULVIHILL E ,et al. GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death [J]. *The EMBO journal* 2016 ,35(16) : 1766 – 1778.
- [11] LIU X ,ZHANG Z ,RUAN J ,et al. Inflammasome – activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. *Nature* ,2016 (7610) ,535: 153 – 158.
- [12] VAN LAER L ,HUIZING E H ,VERSTREKEN M ,et al. Nonsyndromic hearing impairment is associated with a mutation in DFNA5 [J]. *Nature genetics* ,1998 ,20(2) : 194 – 197.
- [13] AKINO K ,TOYOTA M ,SUZUKI H ,et al. Identification of DFNA5 as a target of epigenetic inactivation in gastric cancer [J]. *Cancer science* 2007 ,98(1) : 88 – 95.
- [14] SHI J ,ZHAO Y ,SHAO F ,et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory Caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature* ,2015 ,526 (7575) : 660 – 665.
- [15] SAROSIEK K. Chemotherapy – treated cells go up in flames [J]. *Science translational medicine* 2017 ,9(390) : pii: eaan4289.
- [16] 王俊东 ,崔勇 ,王建国 ,等. 人参皂苷 Rh3 预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌组织中 Caspase – 3 的作用 [J]. *长春中医药大学学报* 2017 ,33(1) : 13 – 15.
- [17] LI J ,XIE Z Z ,TANG Y B ,et al. Ginsenoside – Rd , a purified component from panax notoginseng saponins , prevents atherosclerosis in apoE knockout mice [J]. *European journal of pharmacology* 2011 ,652(1 – 3) : 104 – 110.
- [18] 李玺 ,刘颖 ,袁海峰 ,等. 人参皂苷 Rg1 对冈田酸所致大鼠脑片 tau 蛋白磷酸化的影响 [J]. *中西医结合学报* 2010 ,8(10) : 955 – 960.
- [19] CHEN L M ,LIN Z Y ,ZHU Y G ,et al. Ginsenoside Rg1 attenuates β – amyloid generation via suppressing PPAR γ – regulated BACE1 activity in N2a – APP695 cells [J]. *European journal of pharmacology* 2012 ,675(1 – 3) : 15 – 21.
- [20] MA J X ,LI W X ,TIAN R F ,et al. Ginsenoside Rg1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury [J]. *Neuroscience letters* 2010 ,478(2) : 66 – 71.
- [21] 罗欢. 人参皂苷 Rg1 对四氯化碳所致小鼠急性肝衰竭模型作用机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学 2017.
- [22] 张雷明 ,傅风华 ,王天 ,等. 人参皂苷 CK 对四氯化碳致大鼠慢性肝损伤的影响 [J]. *时珍国医国药* 2006 ,17(1) : 38 – 39.
- [23] HE B C ,GAO J L ,LUO X ,et al. Ginsenoside Rg3 inhibits colorectal tumor growth through the down – regulation of Wnt/ β – catenin signaling [J]. *International journal of oncology* 2011 ,38(2) : 437 – 445.
- [24] TANG Y C ,YANG Y ,ZHUO J ,et al. Ginsenoside Rg3 targets cancer stem cells and tumor angiogenesis to inhibit colorectal cancer progression in vivo [J]. *International journal of oncology* 2018 ,52(1) : 127 – 138.
- [25] YANG X ,ZOU J ,CAI H ,et al. Ginsenoside Rg3 inhibits colorectal tumor growth via down – regulation of C/EBP β /NF – κ B signaling [J]. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedicine & pharmacotherapy* 2017 ,96: 1240 – 1245.
- [26] YANG J ,YUAN D ,XING T ,et al. Ginsenoside Rh2 inhibiting HCT116 colon cancer cell proliferation through blocking PDZ – binding kinase / T – LAK cell – originated protein kinase [J]. *Journal of ginseng research* 2016 ,40(4) : 400 – 408.
- [27] LI T ,SUN W ,DING X ,et al. Total ginsenosides of Chinese ginseng induces cell cycle arrest and apoptosis in colorectal carcinoma HT – 29 cells [J]. *Oncology Letters* 2018 ,16(4) : 4640 – 4648.
- [28] ZHANG Z ,DU G J ,WANG C Z ,et al. Compound K , a Ginsenoside Metabolite , Inhibits Colon Cancer Growth via Multiple Pathways Including p53 – p21 Interactions [J]. *International journal of molecular sciences* 2013 ,14(2) : 2980 – 2995.
- [29] WANG C Z ,DU G J ,ZHANG Z ,et al. Ginsenoside compound K , not Rb1 , possesses potential chemopreventive activities in human colorectal cancer [J]. *International Journal of Oncology* ,2012 ,40 (6) : 1970 – 1976.
- [30] WU Q ,DENG J ,FAN D ,et al. Ginsenoside Rh4 induces apoptosis and autophagic cell death through activation of the ROS/JNK/p53 pathway in colorectal cancer cells [J]. *Biochemical pharmacology* ,2018 ,148: 64 – 74.
- [31] LI B H ,ZHAO J ,WANG C Z ,et al. Ginsenoside Rh2 induces apoptosis and paraptosis – like cell death in colorectal cancer cells through activation of p53 [J]. *Cancer letters* 2011 ,301(2) : 185 – 192.
- [32] LI J ,QI Y. Ginsenoside Rg3 inhibits cell growth , migration and invasion in Caco – 2 cells by downregulation of lncRNA CCAT1 [J]. *Experimental and Molecular Pathology* 2019 ,106: 131 – 138.
- [33] CHEN L ,MENG Y ,SUN Q ,et al. Ginsenoside compound K sensitizes human colon cancer cells to TRAIL – induced apoptosis via autophagy – dependent and – independent DR5 upregulation [J]. *Cell death & disease* 2016 ,7(8) : e2334.