

人参皂苷与肿瘤

封颖璐综述 凌昌全审校

摘要 人参皂苷(GS)是人参的主要有效成分,包括数十种单体。GS 及其不同单体的抗肿瘤机制各异,主要有以下几个方面:甾体类激素样作用,诱导肿瘤细胞凋亡,调节多种癌基因及抑癌基因表达,逆转肿瘤细胞的多药耐药性提高化疗药物疗效,提高机体免疫力,一定条件下对恶性细胞诱导分化,抑制肿瘤血管生成。

关键词 人参皂甙;抗肿瘤药物(中药);中药药理学

中图分类号 R730.52 **文献标识码** A **文章编号** 1000-8225(2005)09-0665-04

现代药理研究及临床流行病学调查发现,人参对多种肿瘤具有非器官特异性的预防作用,在降低肿瘤发生率、治疗及预防肿瘤复发方面有重要作用^[1]。人参皂苷(ginsenoside, GS)是人参的主要有效成分,具有确切的抗肿瘤活性。目前已经明确结构的 GS 单体约有 40 余种,大体分为 3 类:①人参皂苷二醇型,包括 Rb1、Rb2、Rc、Rh2 等。②人参皂苷三醇型,主要有 Re、Rf、Rg1、Rg2、Rh1 等。③齐墩果酸型,代表有 Ro、Rh3、Ri 等。不同的 GS 单体通过各自途径发挥不同的抗肿瘤作用,现就近年来的研究状况综述如下。

1 甾体类激素样抗肿瘤作用

甾体类激素与肿瘤的关系非常密切,它在肿瘤治疗及预后中的作用受到越来越多的关注。甾体类激素通过激活或抑制其受体基因的表达,选择性地启动激素依赖的基因网络,发挥调节肿瘤细胞代谢的生物学效应。与 GS 相关的甾体类激素主要有糖皮质激素(glucocorticoids, GC)和性激素。

1.1 GC 样作用

Attele 等^[2]报道 GS 对血浆细胞膜上的多受体系统具有靶向性,并可激活细胞内类固醇受体,从而发挥激素样抗肿瘤作用。目前研究发现具有此类作用的 GS 单体主要有 Rg1、Rb1、Rh1、Rh2 等。例如 Rg1 通过剂量依赖方式诱导受体基因表达,和 GC 一样,它也可导致细胞内糖皮质激素受体含量下调。Lee 等^[3]实验发现 Rg1 以 1~10 μmol/L 的特殊亲和力与³H 地塞米松共同竞争结合糖皮质激素受体,并激活 GC 反应元件。尽管 Rg1 和地塞米松均以剂量

依赖的方式发挥作用,但要产生同样规模的反应,前者的需要浓度是后者的 2~3 倍。Popovich 等^[4]认为, Rh2 可促进人白血病细胞的凋亡,其途径可能与地塞米松一样,均为受体依赖性。

1.2 性激素样作用

GS 单体不但具有 GC 样作用,还可通过与性激素受体结合,调节性激素分泌,发挥抗肿瘤作用。Tsai 等^[5]在探索 Rb1 对体内外黄体素分泌的影响时发现,接受游泳运动实验的小鼠中,用药组的睾丸素水平较生理盐水对照组明显低。体外实验表明 Rb1 可以直接作用于鼠 AP 细胞,提高黄体素的分泌量。Lee 等^[6,7]在 GS 与性激素关系方面做了大量研究。发现一定浓度的 Rb1、Rh1 可以激活 MCF-7 人乳腺癌细胞中雌激素荧光酶报告基因的转录,激活作用可被特异性雌激素受体拮抗剂 ICI182,780 阻断,从而证明 Rb1、Rh1 的雌激素样作用是雌激素受体依赖性的。但这二者均不能激活糖皮质激素受体、维甲酸受体、雄激素受体。

由此可见,某些 GS 单体具有植物激素作用,可通过与甾体类激素受体结合,调节此类激素分泌,并激活或抑制其受体基因的表达,从而调节肿瘤细胞代谢。

2 诱导肿瘤细胞凋亡

凋亡又称“程序性细胞死亡”或“细胞自杀”。在正常情况下,机体细胞增殖与凋亡之间保持动态平衡,一旦这种平衡被打破,无论增殖失控或凋亡受阻都会导致肿瘤的产生。因而,人工诱导肿瘤细胞凋亡成为抗癌治疗的研究热点。Rh2 和 Rg3 是两种目前研究最多的与凋亡相关的 GS 单体。

2.1 Rh2 与凋亡

Rh2 可以通过不同途径调节凋亡相关基因包括 c-jun、caspase、bcl-2 和 bax 等的活性及表达,诱导肿

基金项目:国家自然科学基金委杰出青年基金资助项目(30025045)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院中医科

瘤细胞凋亡。Ham 等^[8]发现 Rh2 处理过的人肝癌 SK-HEP-1 细胞会发生凋亡,并且凋亡过程中 c-Jun 的 N 末端蛋白激酶 1 (c-Jun N-terminal protein kinase 1, JNK1) 活性明显上调,异位的 JNK1 过表达可抑制凋亡,而隐性的 JNK1 突变体表达可促进凋亡。caspase 是细胞凋亡调控的关键分子群,被称为凋亡执行器。它们通过切断与周围细胞的联络,重组细胞骨架,关闭 DNA 复制和修复,破坏 DNA 和核结构,诱导凋亡小体的形成等,在细胞凋亡中发挥重要作用。Park 等^[9]也证实 Rh2 可诱导人肝癌 SK-HEP-1 细胞凋亡,并发现在凋亡过程中,有 bcl-2 敏感的 caspase-3 蛋白激酶的活化。caspase-3 促使细胞周期相关蛋白 p21 裂解,并伴有细胞周期素 A 依赖蛋白激酶 CDK2 的活化,从而导致凋亡发生。此外,Fei 等^[10]研究发现 Rh2 还可以通过诱导凋亡,抑制体外培养的人恶性黑色素瘤 A375-S2 细胞的生长,该凋亡的产生部分依赖 caspase-3 和 caspase-8 通路,其他凋亡通路也可能参与其中。

Rh2 诱导凋亡的机制复杂,除调节凋亡相关基因的表达外,还有其他作用机制值得进一步研究。如 Kim 等^[11]在研究 Rh2 对脑肿瘤的作用时发现, Rh2 处理过的鼠 C6 神经胶质瘤细胞发生了凋亡,凋亡相关基因 bcl-2 和 bax 表达水平无变化,证明 Rh2 诱导的细胞凋亡与以下两种因素有关:细胞内活性氧和 bcl-xl 非依赖方式激活的 caspase 通路。

2.2 Rg3 与凋亡

Rg3 是与凋亡关系密切的另一种 GS 单体。Liu 等^[12]报道它可通过激活细胞周期激酶抑制子 p21 和 p27 的表达,抑制多种生物标记基因,如前列腺特异性抗原、雄激素受体等的表达,使人前列腺癌 LNCaP 细胞阻滞于 G₁ 期,进而通过 caspase-3 介导的凋亡机制抑制细胞生长。

此外,尚有一些 GS 单体如 Rb1、Rb2、Rc 等也从不同途径对细胞凋亡产生作用,目前仍在研究中。

3 逆转肿瘤细胞耐药性

化疗仍是目前肿瘤治疗的主要手段,肿瘤细胞产生耐药性是导致化疗失败和肿瘤复发的重要原因,多药耐药基因的过表达是肿瘤细胞产生耐药的重要机制之一。多药耐药 1 基因产物 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, Pgp) 位于细胞膜上,可使药物外流,细胞内药物减少,导致细胞对多种化疗药物产生耐药。同时,这一过程需要钙离子通道参与,所以阻滞该通道也有助于逆转耐药性。

Kim 等^[13]研究发现 Rg3 可以剂量依赖的方式

逆转耐药细胞 KBV20C 对多柔吡星、长春新碱、VP-16 等的耐药性。Rg3 逆转肿瘤细胞耐药性主要通过抑制药物向细胞外流动,该抑制作用产生的机制主要是 Rg3 可与多种化疗药物竞争结合位于细胞膜上的 Pgp,而与控制多药耐药 1 基因的表达及 Pgp 水平均无关。Tachikawa 等^[14]报道,在牛肾上腺嗜铬细胞中,Rg3 通过剂量依赖的方式降低乙酰胆碱诱导的钙离子内流,并且高浓度的 Rg3 还可以调节细胞膜的流动性。

4 提高免疫功能

机体免疫功能与肿瘤发生发展关系密切,当宿主免疫功能低下或受抑制时,肿瘤发病率高,而在肿瘤进行性生长时,免疫功能也会受到抑制,两者互为因果,因而提高免疫力,已成为抗肿瘤治疗不可或缺的部分。近来 Kong 等^[15]证实,GS 可加速接种过 Newcastle 病疫苗的鸡外周淋巴细胞增殖,提高血清抗体滴度,促进体液和细胞免疫。Hu 等^[16]给使用 ovalbumin 免疫过的奶牛肌肉注射 GS,每 2 周注射一次,共 2 次,并设立空白对照组,结果发现用药组血清中抗体反应较未用药组明显升高。另一实验给 S. aureus 疫苗免疫过的奶牛注射 Rb1,发现 Rb1 不但可以提高抗体产生量,而且对淋巴细胞的增殖有明显促进作用。证明了 GS 和 Rb1 对免疫功能有明确的增强作用,并且指出 Rb1 的作用要优于 GS。

GS 不但可以介导多种免疫效应,还能调节细胞产生细胞因子。Lee 等^[17]利用鼠脾细胞研究 Rg1 对免疫功能的影响时发现,Rg1 可以提高 T 细胞中 T 辅助细胞的比例,促进白细胞介素-2 基因的表达,这表明 Rg1 可以提高 CD4⁺T 细胞的免疫活性,但具体机制未明。实验过程中观察到 Rg1 对未受刺激的 CD4⁺T 细胞不产生有丝分裂作用,但可通过剂量依赖的方式用抗 CD3 或抗 CD28 抗体放大 CD4⁺T 细胞的增殖活性。同时 Rg1 可以提高白细胞介素-2 mRNA 和 CD4⁺T 细胞上白细胞介素-4 mRNA 的表达,表明 Rg1 诱导 T 辅助细胞 2 家族的产生。提高细胞表面蛋白 CD69 的表达也是 Rg1 的重要作用。

5 抗肿瘤侵袭及转移

GS 抗肿瘤侵袭转移的作用机制主要表现在抑制肿瘤血管生成、减低细胞粘附性及调节细胞内钙离子浓度等方面。

当肿瘤大小超过 1.0 ~ 2.0 mm³ 时,不仅需要新生血管供给营养和排泄代谢产物,还需要提供有利于转移的通道。因而抑制血管生成可以阻止肿瘤生长转移^[18]。新生血管的形成过程大体分为 3 步:①

局部毛细血管基底膜降解。②血管内皮细胞迁移并伴随细胞增殖。③内皮细胞形成新的毛细血管。破坏以上任一环节都将阻碍血管生成。Fujimoto 等^[19]用 Rb2 处理子宫内膜癌细胞,发现 Rb2 可抑制金属蛋白酶-2 的表达和活性,但不能改变细胞中金属蛋白酶抑制子-1 和金属蛋白酶抑制子-2 的表达。结论是在某些内膜癌中,Rb2 可以通过金属蛋白酶抑制子-2 阻止肿瘤细胞向基底膜的侵袭。

肿瘤转移与肿瘤细胞粘附性关系密切。癌细胞浸润时,先由表面受体识别层连蛋白、纤维连接蛋白,进而附着于Ⅳ型胶原上,这样粘附于细胞外基质的肿瘤细胞才不会被清除而具有侵袭性。Rg3 对前列腺癌 LNCaP 细胞系具有生长抑制活性,在 250 μmol/L 浓度下孵育 48h 后,发现肿瘤细胞失去粘附能力^[12]。

此外,Rhim 等^[20]发现 Rg3 可以剂量依赖方式抑制鼠神经元的钙离子通道,调节细胞内钙离子浓度,抵抗肿瘤的侵袭转移。

6 参与细胞信号转导

GS 可以通过调节多种癌相关基因的转录与表达,参与细胞信号转导,达到抗肿瘤目的。如 Keum 等^[21]发现,Rg3 不但可以抑制鼠皮肤和人中性粒细胞中真核生物转录因子 NF-κB,而且对另一种转录因子激活蛋白-1 也有抑制作用。已知该蛋白在癌基因 c-fos 和 c-jun 的转录激活中有重要作用。因而推测,Rg3 的抗肿瘤活性可能是通过下调 NF-κB 和激活蛋白-1 实现的。另有研究证实^[22],Rb1、Rh1 可以在 mRNA 和蛋白质水平提高 c-fos 的表达,而另外两种 GS 单体 Rc 和 Re 既不能提高 c-fos 的表达,也不能作为转录因子与细胞内甾体类激素受体连接。

此外,GS 对肿瘤细胞的诱导分化,也是其抗癌的机制之一,是当今肿瘤治疗学研究的热点。其具体作用机制尚在探索中。

7 结语

大量研究表明 GS 及其各种单体具有明确的抗肿瘤作用。目前已有部分皂苷单体作为新一代高效、低毒抗癌药应用于临床,取得了一定疗效。随着单体皂苷作用研究的不断深入,是否需要考虑这样的问题:人参皂苷单体的抗肿瘤活性是否优于总皂苷,各单体间在疗效上是否具有协同或制约的关系,研究仍是任重而道远。

参 考 文 献

1 Yun TK. Experimental and epidemiological evidence on non-organ

specific cancer preventive effect of Korean ginseng and identification of active compounds. *Mutat Res*, 2003, 523-524: 63-74.

2 Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58 (11): 1685-1693.

3 Lee YJ, Chung E, Lee KY, et al. Ginsenoside-Rg1, one of the major active molecules from *Panax ginseng*, is a functional ligand of glucocorticoid receptor. *Mol Cell Endocrinol*, 1997, 133(2): 135-140.

4 Popovich DG, Kitts DD. Structure-function relationship exists for ginsenosides in reducing cell proliferation and inducing apoptosis in the human leukemia (THP-1) cell line. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 406(1): 1-8.

5 Tsai SC, Chiao YC, Lu CC, et al. Stimulation of the secretion of luteinizing hormone by ginsenoside-Rb1 in male rats. *Chin J Physiol*, 2003, 46(1): 1-7.

6 Lee YJ, Jin YR, Lim WC, et al. Ginsenoside-Rb1 acts as a weak phytoestrogen in MCF-7 human breast cancer cells. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(1): 58-63.

7 Lee YJ, Jin YR, Lim WC, et al. Ginsenoside Rc and Re stimulate c-fos expression in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(1): 53-57.

8 Ham YM, Chun KH, Choi JS, et al. SEK1-dependent JNK1 activation prolongs cell survival during G-Rh2-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304(2): 358-364.

9 Park JA, Lee KY, Oh YJ, et al. Activation of caspase-3 protease via a Bcl-2-insensitive pathway during the process of ginsenoside Rh2-induced apoptosis. *Cancer Lett*, 1997, 121(1): 73-81.

10 Fei XF, Wang BX, Tashiro S, et al. Apoptotic effects of ginsenoside Rh2 on human malignant melanoma A375-S2 cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(4): 315-322.

11 Kim HE, Oh JH, Lee SK, et al. Ginsenoside RH-2 induces apoptotic cell death in rat C6 glioma via a reactive oxygen- and caspase-dependent but Bcl-X (L)-independent pathway. *Life Sci*, 1999, 65 (3): PL33-40.

12 Liu WK, Xu SX, Che CT. Anti-proliferative effect of ginseng saponins on human prostate cancer cell line. *Life Sci*, 2000, 67 (11): 1297-1306.

13 Kim SW, Kwon HY, Chi DW, et al. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by ginsenoside Rg (3). *Biochem Pharmacol*, 2003, 65(1): 75-82.

14 Tachikawa E, Kudo K, Nunokawa M, et al. Characterization of ginseng saponin ginsenoside-Rg(3) inhibition of catecholamine secretion in bovine adrenal chromaffin cells. *Biochem Pharmacol*, 2001, 62 (7): 943-951.

15 Kong XF, Hu YL, Rui R, et al. Effects of Chinese herbal medicinal ingredients on peripheral lymphocyte proliferation and serum antibody titer after vaccination in chicken. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(7): 975-982.

16 Hu S, Concha C, Lin F, et al. Adjuvant effect of ginseng extracts on the immune responses to immunisation against *Staphylococcus aureus* in dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol*, 2003, 91(1): 29-37.

17 Lee EJ, Ko E, Lee J, et al. Ginsenoside Rg1 enhances CD4 (+) T-

- cell activities and modulates Th1/Th2 differentiation. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(2):235-244.
- 18 Thompson WD, Li WW, Maragoudakis M. The clinical manipulation of angiogenesis: pathology, side-effects, surprises, and opportunities with novel human therapies. *J Pathol*, 2000, 190(3):330-337.
- 19 Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, et al. Inhibitory effect of ginsenoside-Rb2 on invasiveness of uterine endometrial cancer cells to the basement membrane. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2001, 22(5):339-341.
- 20 Rhim H, Kim H, Lee DY, et al. Ginseng and ginsenoside Rg3, a newly identified active ingredient of ginseng, modulate Ca^{2+} channel currents in rat sensory neurons. *Eur J Pharmacol*, 2002, 436(3):151-158.
- 21 Keum YS, Han SS, Chun KS, et al. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- κ B activation and tumor promotion. *Mutat Res*, 2003, 523-524:75-85.
- 22 Lee Y, Jin Y, Lim W, et al. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2003, 84(4):463-468.
- (收稿日期:2005-01-04 修回日期:2005-01-25)

小檗碱抗肿瘤的分子机制研究进展

田原僮 钟毅 潘玉琢综述 赵丽娟审校

摘要 小檗碱又名黄连素,是一种季胺类化合物,属于异喹啉衍生物。近年来,随着对小檗碱及其衍生物的深入研究发现,小檗碱对许多肿瘤均有治疗作用。现综合国外对小檗碱的研究,从 DNA 水平、RNA 水平及蛋白质水平上浅谈小檗碱抗肿瘤的研究进展。

关键词 小檗碱;抗肿瘤药(中药);肿瘤

中图分类号 R730.52 **文献标识码** A **文章编号** 1000-8225(2005)09-0668-04

小檗碱(berberine, Ber)又名黄连素,可来源于毛茛科植物黄连(*coptis chinensis franch*)的根状茎、小檗碱科植物日本小檗碱 *Berberis DC* 根茎、罂粟科植物白屈菜(*chelidonium majus L*)种子和芸香科植物黄柏(*phellodendron amurense rupr*)树皮和果实等。小檗碱属于异喹啉衍生物,用于腹泻治疗已经有 3000 多年历史。近年来,随着对小檗碱及其衍生物的深入研究发现,小檗碱对许多肿瘤均有治疗作用,其中包括白血病、脑肿瘤、肺癌、肝癌、食管癌、结肠腺癌和膀胱癌等。现综述小檗碱抗肿瘤的分子机制研究进展。

1 小檗碱在 DNA 水平上的作用

小檗碱可以抑制环氧化酶(cyclooxygenase, COX)-2 的表达及活性。COX 是前列腺素(PG)合成过程中一个重要的限速酶。COX 可分为 COX-1 与 COX-2 二种异构体^[1]。COX-1 为结构性酶,在许多细胞中持续表达,主要介导生理性前列腺素形成;COX-2 为诱导性酶,需在有丝分裂原的诱导下选择性表达。COX-2 主要存在于炎症部位,与痛敏有关,在结肠癌高表达^[2]。COX-2 催化花生四烯酸

产生 PG 和凝血烷酸。PG 通过腺苷酸环化酶偶联受体和过氧化物增殖家族受体发挥自分泌和旁分泌作用,影响细胞增殖、凋亡及血管生成。因此,阻断 PG 合成可以促进细胞凋亡。

DuBois^[2]和 Sheng 等^[3]报道小檗碱可以抑制 COX-2,可阻断结肠腺瘤和腺癌的形成。小檗碱及其类似物可使 COX-2 合成减少,但对不同细胞有不同调节机制。Fukuda 等^[4]报道小檗碱可以与结肠癌细胞内的大分子蛋白质结合,抑制 COX-2 基因的启动子,使 COX-2 基因转录受阻,COX-2 生成减少。Lee 等^[5]报道 13-甲基小檗碱和 13-乙烷基小檗碱可以在不影响 COX-2 蛋白表达情况下,抑制 COX-2 活性,使 PG E_2 产生减少。Cordero 等^[6]证明小檗碱浓度为 3mmol/L 时,对人类结肠癌细胞有明显的细胞毒性作用,并且证明这种细胞毒作用是通过抑制 COX-2 的转录活性实现的。

2 小檗碱在 RNA 水平上的作用

2.1 作用于激活蛋白-1 和尿激酶型纤溶酶原激活物

激活蛋白-1(activator protien-1, AP-1)是由 Fos(55kD)和 Jun(39kD)组成的异二聚体,通过亮氨酸拉链(leucine zipper, LZ)与 DNA 调节序列上的 AP-1 位点结合,激活与生长相关的基因。肿瘤细胞及