

[文章编号] 1006-2440(2010)01-0023-04

人参皂苷 Rh₂ 抗肿瘤细胞作用研究进展

程 春 何志贤 王 华

(南通大学附属医院普外科, 江苏 226001)

关键词 人参皂苷 Rh₂; 细胞凋亡; 抗肿瘤作用

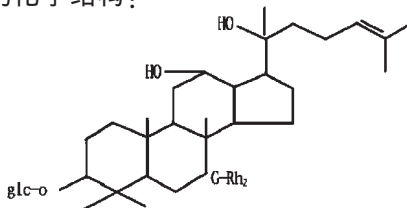
中图分类号 R285.5

文献标识码 B

人参是传统名贵中药, 具有大补元气, 补气益肺, 安神益智的功效。研究发现人参中有效成分人参皂苷 Rh₂ 可通过调节免疫功能, 抑制肿瘤的浸润和转移, 诱导癌细胞凋亡及抑制肿瘤新生血管的形成; 逆转肿瘤细胞的耐药性, 增强抗癌药的药效; 诱导癌细胞分化并抑制癌细胞生长; 还具有拮抗致癌剂起化学防癌的作用。本文对人参皂苷 Rh₂ 的特点、抗癌作用机制综述如下。

1 人参皂苷 Rh₂ 的发现和结构

人参皂苷 Rh₂ 单体属于 20(S) 原人参二醇型, 首次是由日本学者北川勋从朝鲜红参中分离出来, 收率仅为 0.001%。金凤燮等^[1]采用酶转化法, 提取效果较传统方法提高了 500~700 倍, 实现了工业化生产, 为人参皂苷 Rh₂ 的实际应用提供了可行性。人参皂苷 Rh₂ 的化学结构:



2 人参皂苷 Rh₂ 抗肿瘤作用机制

2.1 抑制肿瘤细胞增殖

细胞周期的失控是肿瘤发病极其重要的环节。大量研究表明, 人参皂苷 Rh₂ 在体外以剂量、时间依赖方式抑制多种癌细胞株的增殖, 但对不同肿瘤细胞的抑制期不尽相同, 作用机制也不尽相同。人参皂苷 Rh₂ 使 MCF-7 细胞阻滞于 S 期, 抑制其进入 G₂/M 期, 而使 MCF-7/ADM 的 S 期细胞减少, G₂/M 期细胞增多^[2]。人参皂苷 Rh₂ 将人食管癌细胞 Eca-109 阻滞于 G₀/G₁ 期, G₁ 期细胞明显增加, S 和 G₂/M 期细胞减少; 但对 C₆ 胶质瘤细胞阻滞于 S 期, 使 S 期细胞增多, G₀/G₁ 期减少^[3,4]。

DNA 在细胞增殖周期中起关键作用, 通过外界因素的作用使 DNA 的合成抑制或损伤, 将会影响细胞周期的进程, 进而达到抗肿瘤的作用。周桂华等研

究人参皂苷 Rh₂ 对 PC-3M 肿瘤细胞 DNA 合成影响时, 发现 DNA 含量较多的 S 期细胞数量减少而 DNA 含量较少的 G₂ 期细胞数量增多, 提示人参皂苷 Rh₂ 直接抑制了癌细胞 DNA 复制和转录能力, 蛋白质合成受阻, 从而使肿瘤细胞的增殖减慢或停止^[5]。

正常细胞周期进程有赖于一系列调控因子的有序聚合和激活。细胞周期蛋白 (cyclin) 和周期蛋白依赖性蛋白激酶 (CDK) 特异性结合, 通过介导外源信号, 诱导蛋白磷酸化来调控细胞周期进程, 其表达量随不同细胞周期的转换而改变。研究认为, 人参皂苷 Rh₂ 通过对不同类型 cyclin 和不同类型 CDK 的作用, 影响不同种类的肿瘤细胞, 抑制肿瘤细胞增殖。人参皂苷 Rh₂ 直接抑制 MFC 细胞 cyclin D1 的活性, 增强 P27^{kip1} 表达, 进而特异性抑制 cyclin D1/CDK4, cyclin D1/CDK6, cyclin E/CDK2 等激酶活性系统, 使 MCF 细胞受抑制在 G₀/G₁ 期^[6]。在研究人参皂苷 Rh₂ 对乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 作用时, 发现 G₀/G₁ 期特异性调节因子 cyclinD/CDK 下游区 Rb 蛋白磷酸化减弱, 核转录因子 E₂F₁ 减少, 从而抑制一系列与 S 期有关的靶分子的表达, 抑制 DNA 复制和细胞增殖^[7]。人参皂苷 Rh₂ 能影响食管癌 Eca-109 细胞周期调控因子 cyclinE/CDK2 和 P21^{WAF1} 的蛋白表达, 细胞受抑于 G₀/G₁ 期, 从而抑制癌细胞增殖^[3]。P21^{WAF1} 蛋白是周期蛋白依赖激酶抑制因子 (cyclin-dependent kinase inhibitors, CDKI) 一种, 通过抑制 CDK2 阻滞肿瘤细胞增殖。Sunga 等^[8]研究人参皂苷 Rh₂ 对人乳腺癌细胞株 MCF 增殖抑制作用, 发现 P15^{Ink4B} 和 P27^{kip1} 基因表达蛋白起重要作用, 并使细胞阻滞在 G₀/G₁ 期。

以上各种机制相互交错和影响, 如人参皂苷 Rh₂ 对于胃 MFC 的作用既受 cyclin-CDK 复合物的影响, 也受 P27^{kip1} 的影响, 同时 P27^{kip1} 蛋白又加强对 cyclin-CDK 复合物的抑制作用。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

Caspase 蛋白家族在细胞凋亡中发挥重要的作用, 已发现其家族成员至少有

13 个, 其中最为重要的当属 Caspase3、Caspase8。Caspase 可在凋亡的不同阶段发挥作用, 形成凋亡信号传导级联放大反应^[8]。国内报导人参皂苷 Rh₂ 诱导人乳腺癌细胞株 T47D 的凋亡与 Caspase3 有关^[9]。Fei 等^[10]研究结果显示人参皂苷 Rh₂ 诱导恶性黑色素瘤细胞 A375-S2 的凋亡与 Caspase3、Caspase8 有关。人参皂苷 Rh₂ 作用于 HeLa 细胞, 通过通膜脂的破坏, 使非依赖性 Fas 配体活化, 同时激活 Caspase8, 诱导细胞凋亡^[11]。

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是细胞生长信号调节途径中的重要成员之一, PKC 激活后, 通过对靶蛋白分子丝氨酸/苏氨酸残基的磷酸化而介导多种分子生物学效应, 其中对细胞凋亡起抑制作用。Kim 等^[12]在研究人神经母细胞瘤 SK-N-BE 中, 发现 PKC 的几种亚型在人参皂苷 Rh₂ 诱导凋亡中发挥作用, 但与鼠神经胶质瘤 C₆ 细胞凋亡无关^[13]。

Ca²⁺ 作为信号转导系统中的第二信使发挥调节细胞增殖、分化及诱导凋亡的介导作用。Kim 等^[14]报道人参皂苷 Rh₂ 对黑色素瘤细胞 B16 作用时, 能升高细胞内的 Ca²⁺ 浓度, 激活 PKC, 促进细胞分化, 诱导凋亡。另外, 吴歌等发现人参皂苷 Rh₂ 对胃 MCF 细胞株也是通过升高细胞内 Ca²⁺ 浓度, 经线粒体途径诱导细胞凋亡^[6]。

c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 信号通路属于丝裂原激活蛋白激酶通路。Ham 等^[15]发现经 Rh₂ 处理的人肝癌 SK-HEP-1 细胞发生明显的凋亡, JNK1 活性显著上升, 但异位 JNK1 过度表达会抑制肿瘤细胞凋亡, 而隐性的 JNK1 突变体表达则能促进凋亡。吴歌等在研究人参皂苷 Rh₂ 对小鼠前胃癌系 MFC 作用中, 发现 JNK 磷酸化, c-Jun 磷酸化蛋白表达增强, 在 Caspase3 的协同作用下促进细胞凋亡^[6]。

GRIM-19 基因是 GRIMs 新家族成员之一, 其过度表达可增加 IFN/RA 诱导的乳腺癌细胞凋亡率。GRIM-19 为小核蛋白, 定位于人染色体 19p13.1, 是线粒体复合体 I 组成成分, 主要位于线粒体内膜上。邵月婷等研究激素非依赖性人前列腺癌细胞 PC-3M 在人参皂苷 Rh₂ 作用下的凋亡机制, 发现实验组 Grim-19 基因及其蛋白表达较对照组明显升高, 可能与细胞凋亡作用有关^[16]。

2.3 抑制肿瘤转移

2.3.1 抑制肿瘤血管、淋巴管的形成: 肿瘤血管、淋

巴管的生成是肿瘤生长和转移的基础, 细胞间连接粘附分子 (the junction adhesion molecule, JAM) 在介导肿瘤血管与淋巴管生成中起重要作用。JAM 是一类整合膜蛋白, 主要参与上皮或内皮细胞之间连接复合物的形成, 介导细胞间的粘附。人参皂苷 Rh₂ 可下调肿瘤细胞 JAM 的表达, 从而影响 JAM-1、JAM-2 介导的血管、淋巴管生成, 同时可以直接作用于肿瘤的血管和淋巴管, 减少瘤细胞进入血液和淋巴液, 降低肿瘤的转移^[17]。杨慧科等发现人参皂苷 Rh₂ 可以通过抑制 COX-2 的释放, 降低淋巴管生成因子 (VEGF-C) 表达或直接降低 VEGF-C 表达, 而不是通过阻断因子与受体 (VEGFR-3) 结合的作用来影响肿瘤淋巴管的生成^[18]。

2.3.2 降低肿瘤细胞侵袭基底膜的能力: 肿瘤细胞侵袭基底膜包括首先与基底膜粘附, 进而分泌型胶原酶降解基底膜, 最后通过阿米巴运动穿过基底膜等三个步骤。在 B16-BL6 小鼠黑色素瘤细胞自发肺部转移模型研究中, 人参皂苷 Rh₂ 通过调节层粘蛋白受体 $\alpha_6\beta_4$ 和 $\alpha_v\beta_6$, 降低瘤细胞与基底膜的粘附作用, 从而明显减少肺部转移结节, 人参皂苷 Rh₂ 13mg/kg、26mg/kg、52mg/kg 的肿瘤转移抑制率分别为 59%、62% 和 71%, 65 μ g/ml 时的侵袭抑制率达到 67%^[19]。

2.4 逆转肿瘤细胞多药耐药性 人参皂苷 Rh₂ 抑制人乳腺癌细胞株 MCF/ADM 的 Pgp 耐药途径, 有利于化疗药物对肿瘤的作用^[2]。人参皂苷 Rh₂ 可提高柔红霉素、长春新碱等药物对多药耐药白血病细胞的细胞毒性。在 B16 黑色素瘤细胞株和 Lewis 肺癌细胞株诱导 C₅₇Bl/6 小鼠产生的肿瘤模型中, 发现人参皂苷 Rh₂ 联合 CTX 可以增强 CTX 抗肿瘤作用和减少其细胞毒性^[20]。人参皂苷 Rh₂ 与紫杉醇有协同作用, 能促进紫杉醇抑制 HeLa 细胞增殖和诱导细胞凋亡^[21]。

2.5 诱导细胞分化作用 Odashima 等发现人参皂苷 Rh₂ 对黑色素瘤 B16 细胞具有诱导分化作用, 表现为黑色素生成能力明显增强, 黑色素颗粒增多, 细胞形态向正常上皮样细胞分化, 呈现网状结构^[22]。另外, 人参皂苷 Rh₂ 可诱导畸胎瘤 F9 细胞分化, 此过程通过与糖皮质激素受体或同类核受体结合, 使分化后细胞重新表达分化标志蛋白^[23]。曾小莉等研究显示, 20 μ g/ml 人参皂苷 Rh₂ 能有效降低 SMMC-

7721 肝癌细胞株端粒酶活性和转录,产生诱导分化作用^[24]。

2.6 对肿瘤的直接杀伤作用 张晖等发现人参皂苷 Rh₂ 对 MCF-7 的抑制作用强于 MCF-7/ADM,作用 24h、48h 和 72h,对 MCF-7 的 IC₅₀ 值均低于 MCF-7/ADM,表明人参皂苷 Rh₂ 可以直接作用于肿瘤细胞,并有效抑制肿瘤细胞的生长^[2]。

2.7 提高免疫功能 人参皂苷 Rh₂ 可增强荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能及血清溶血素抗体的生成能力,提高小鼠 NK 细胞杀伤活性和 IL-2 活性^[25]。周东波等发现人参皂苷 Rh₂ 在第二信号(脂多糖)的协同下,诱导 MHC- 类抗原及 Fc 受体表达,调节 TNF- α 、NO 和 IL-1 等活性物质的生成,从而增强机体的免疫功能和对肿瘤细胞的抵抗能力^[26]。

3 展 望

人参皂苷 Rh₂ 作为人参天然活性成分之一,以其毒性低,分子量小,脂溶性好,具有很强的抗肿瘤活性等优势,近年来对其各方面的研究甚多,但研究尚不够系统,尤其是对人参皂苷 Rh₂ 的作用部位、作用通路以及对癌基因、抑癌基因的影响等还有待进一步阐明,对不同肿瘤细胞的作用及其诱导分化效应还需进一步的明确和证实。随着研究深入,将进一步揭示人参皂苷 Rh₂ 抗肿瘤机制,为临床应用提供更翔实的依据。

参考文献

- [1] 金凤鸾,鱼红闪,卢明春,等.人参皂苷实现工业化生产[J].家庭医学,2004,(9):5.
- [2] 张晖,孔棣,吴咸中,等.人参皂苷 Rh₂ 致 MCF-7/ADM 凋亡的实验研究[J].中国中西医结合外科杂志,2007,13(3):261-264.
- [3] 李丽,齐凤英,刘俊茹,等.人参皂苷 Rh₂ 对食管癌细胞 Eca-109 细胞周期的影响[J].中国中药杂志,2005,30(20):1617-1621.
- [4] 李殿友,罗毅男,杨红,等.人参皂苷 Rh₂ 诱导 C6 胶质瘤细胞凋亡的实验研究[J].中国肿瘤临床,2003,30(7):474-477.
- [5] 周桂华,孟艳,李杨,等.人参单体皂苷 Rh₂ 对前列腺癌细胞株 PC-3M 细胞移行周期的影响[J].中国病理生理杂志,2002,18(7):823-825.
- [6] 吴歌,杨世杰.人参皂苷单体 Rh₂ 对小鼠前胃癌 MFC 细胞的增殖抑制作用[J].吉林大学学报(医学版),2008,34(1):101-104.
- [7] Choi S, Kim TW, Singh SV. Ginsenoside Rh₂-mediated G1 Phase Cell Cycle Arrest in Human Breast Cancer Cells Is

Caused by p15Ink4B and p27Kip1-dependent Inhibition of Cyclin-dependent Kinases[J].Pharm Res,2009,26(10):2280-2288

- [8] 易彤波,杨连粤.Caspase-8 在 5-氟尿嘧啶诱导肝癌细胞凋亡中的作用[J].中华普通外科杂志,2002,17(3),171-172.
- [9] 朱君荣,孙建国,谢海棠,等.人参皂苷 Rh₂ 对人乳腺癌 T47D 细胞的生长抑制作用及对 Caspase23 表达的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2007,12(6):630-634.
- [10] Fei XF,Wang BX,Tashiro S,et al.Apoptotic effects of ginsenoside Rh₂ on human malignant melanoma A375-S2 cells[J].Acta Pharm Sin,2002,23(4):315-322.
- [11] Yi JS, Choo HJ, Cho BR, et al.Ginsenoside Rh₂ induces ligand-independent Fas activation via lipid raft disruption [J].Biochemical and Biophy Rese comm,2009,385(2):154-159.
- [12] Kim YS,Jin SH.Ginsenoside Rh₂ induces apoptosis via activation of caspase-1 and -3 and up-regulation of Bax in human neuroblastoma[J].Arch Pharm Res ,2004,27(8):834-839.
- [13] 李殿友,罗毅男,杨红,等.人参皂苷 Rh₂ 诱导 C6 胶质瘤细胞凋亡的实验研究[J].中国肿瘤临床,2003,30(7):474-477.
- [14] Kim YS, Kim DS, Kim SI Ginsenoside Rh₂ and Rh₃ induce differentiation of HL-60 cells into granulocytes: modulation of protein kinase C isoforms during differentiation by ginsenoside Rh₂[J]. Int J Biochem Cell Biol,1998,30(3):327-338.
- [15] Ham YM, Lim JH, Na HK,et al. Ginsenoside-Rh₂-induced mitochondrial depolarization and apoptosis are associated with reactive oxygen species-and Ca²⁺-mediated c-Jun NH₂-terminal kinase 1 activation in HeLa cells[J]. Pharmacol Exp Ther 2006,319(3):1276-1285.
- [16] 邵月婷,李峰,高丽芳,等. Rh₂ 诱导 PC-3M 细胞凋亡及对新基因 GRIM-19 表达的影响[J].长春医学,2006,4(1):10-13.
- [17] 王强,吴美清,赵玲辉,等.人参皂苷 Rh₂ 对小鼠移植瘤生长及对细胞间连接黏附分子表达的影响[J].中国中药杂志,2008,33(18):2116-2119.
- [18] 杨慧科,吕艳华,刘慧冬,等.人参皂苷 Rh₂ 对小鼠移植瘤血管内皮生长因子 C 及淋巴管生成的影响[J].解剖学报,2009,40(2):265-268.
- [19] 陶丽华,刘红岩,韩锐.人参皂苷 Rh₂ 抗 B16-BL6 黑色素瘤转移的作用[J].辽宁中医杂志,2006,33(11):1505-1506.
- [20] Wang Z, Zheng Q, Liu K, et al. Ginsenoside Rh₂ enhances antitumour activity and decreases genotoxic effect of cyclophosphamide[J].Basic Clin Pharmacol Toxicol,2006,98(4):411-415.

(下转第 28 页)

参考文献

- [1] Demain AL, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress[J]. J Antibiot (Tokyo), 2009,62(1):5-16.
- [2] Roberts JA, Kruger P, Paterson DL, et al. Antibiotic resistance—what's dosing got to do with it[J]? Crit Care Med, 2008,36(8):2433-2440.
- [3] Dong Y, Zhao X, Domagala J, et al. Effect of fluoroquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1999,43(7):1756-1758.
- [4] Drlica K, Zhao X. Mutant selection window hypothesis updated[J]. Clin Infect Dis, 2007,44(5):681-688.
- [5] Smith HJ, Nichol KA, Hoban DJ, et al. Stretching the mutant prevention concentration (MPC) beyond its limits [J]. J Antimicrob Chemother, 2003,51(6):1323-1325.
- [6] 黄瀚, 刘世坤. 对抗菌药物防突变浓度及突变选择窗两概念的探讨与思索[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008,13(1): 21-24.
- [7] Zhao X. Clarification of MPC and the mutant selection window concept[J]. J Antimicrob Chemother, 2003,52(4):731.
- [8] 刘同华, 邢茂, 宋光伟, 等. 细菌耐药突变选择窗理论的研究与应用[J]. 药学服务与研究, 2009,9(1):9-12.
- [9] Aubert G, Carricajo A, Fonsale N, Vautrin AC. Optimization of the use of ciprofloxacin[J]. Pathol Biol (Paris), 2008,57(3): 236-239.
- [10] 崔俊昌, 陈良安. 细菌耐药突变选择窗与合理用药[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2007,6(5):293-295.
- [11] 李朝霞, 刘又宁. 细菌耐药突变选择窗理论与抗菌药物合理应用[J]. 中国药学杂志, 2006,41(16):1201-1205.
- [12] Stephan B, Greife HA, Pridmore A, et al. Mutant prevention concentration of pradofloxacin against *Porphyromonas gingivalis*[J]. Vet Microbiol, 2007,121(1-2):194-195.
- [13] Zhao X, Drlica K. A unified anti-mutant dosing strategy[J]. J Antimicrob Chemother, 2008,62(3):434-436.
- [14] Cui J, Liu Y, Wang R, et al. The mutant selection window in rabbits infected with *Staphylococcus aureus*[J]. J Infect Dis, 2006,194(11):1601-1608.
- [15] Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance[J]. J Antimicrob Chemother, 2003,52(1):11-17.
- [16] Zhao X, Drlica K. Restricting the selection of antibiotic-resistant mutant bacteria: measurement and potential use of the mutant selection window [J]. J Infect Dis, 2002,185(4): 561-565.
- [17] Pasquali F, Lucchi A, Manfreda G. Mutant prevention concentration of ciprofloxacin, enrofloxacin and nalidixic acid against *Campylobacter jejuni* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008,31(5):500-502.
- [18] Zinner SH, Gilbert D, Lubenko IY, et al. Selection of linezolid-resistant *Enterococcus faecium* in an in vitro dynamic model: protective effect of doxycycline [J]. J Antimicrob Chemother, 2008,61(3):629-635.
- [19] Sahuquillo Arce JM, Colombo Gainza E, Gil Brusola A, Ortiz Estevez R, Canton E, Gobernado M. In vitro activity of linezolid in combination with doxycycline, fosfomicin, levofloxacin, rifampicin and vancomycin against methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* [J]. Rev Esp Quimioter, 2006,19(3):252-257.
- [20] Firsov AA, Smirnova MV, Strukova EN, et al. Enrichment of resistant *Staphylococcus aureus* at ciprofloxacin concentrations simulated within the mutant selection window: bolus versus continuous infusion [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008,32(6):488-493.
- [21] Homma T, Hori T, Sugimori G, et al. Pharmacodynamic assessment based on mutant prevention concentrations of fluoroquinolones to prevent the emergence of resistant mutants of *Streptococcus pneumoniae* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007,51(11):3810-3815.
- [22] Firsov AA, Lubenko IY, Smirnova MV, et al. Enrichment of fluoroquinolone-resistant *Staphylococcus aureus*: oscillating ciprofloxacin concentrations simulated at the upper and lower portions of the mutant selection window [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(6):1924-1928.

[收稿日期] 2009-08-25

(上接第 25 页)

- [21] 焦玉莲, 王强修, 李建峰, 等. 人参皂苷 Rh 增强紫杉醇诱导 Hela 细胞的凋亡[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(21): 1623-1626.
- [22] Odashima S, Ohta T, Kohno H, et al. Control of phenotypic expression of cultured B16 Melanoma cells by plant glycosides[J]. Cancer Res, 1985,45(6):2781-2784.
- [23] Lee YN, Lee HY, Chung HY, et al. In vitro induction of differentiation by ginsenosides in F9 teratocarcinoma cells[J]. Eur J Cancer, 1996, 32A(8):1420-1428.
- [24] 曾小莉, 涂植光. 端粒酶在人参皂苷 Rh2 诱导肝癌细胞分化中的作用[J]. 癌症, 2004,23(12):1655-1659.
- [25] 葛迎春, 李晨燕, 任慧君, 等. 人参皂甙 Rh2 注射液对荷肝癌 (H22) 小鼠免疫功能的影响[J]. 特产研究, 2002, 24(3):4-7.
- [26] Zhou DB, Hu CP, Liang S, et al. Effect of ginsenoside Rh2 on immunocompetence of alveolar macrophages in patients with non-small cell lung cancer[J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2007,32(5):868-872.

[收稿日期] 2009-11-12