

浅谈人参皂苷 Rh2对肿瘤细胞增殖周期和凋亡的影响

郭志廷¹,王鲁¹,褚秀玲²,王春元¹,韦旭斌^{*}

(1. 吉林大学临床兽医教研室,吉林长春 130062; 2. 河北北方学院,河北张家口 075131)

摘要:人参皂苷 Rh2是人参中具有抗肿瘤活性的有效成分之一,其抗肿瘤的机理比较广泛,本文着重就其对肿瘤细胞增殖周期调控和诱导凋亡两方面的最新研究作一综述。

关键词:人参皂苷 Rh2;抗肿瘤;细胞凋亡

中图分类号:S853.7 文献标识码:B 文章编号:1003-8655(2006)02-0040-03

人参皂苷 - Rh2 (ginsenoside Rh2)是从人参中分离得到的原人参二醇型低糖链皂苷单体。它是生晒参加工红参时,由于某些原人参二醇组人参皂苷受热分解产生的次皂苷。大量的研究表明,其具有良好的抗肿瘤活性,可以补充手术、放疗、化疗的不足和防止毒副作用的发生。近年来,逐渐成为众多学者所瞩目的焦点。Rh2抗肿瘤的机制非常广泛,但对肿瘤细胞增殖周期进行调控和诱导凋亡是其抗肿瘤机制中最基本、最有效的途径。

正常情况下细胞增殖与细胞凋亡之间保持着一种动态平衡。这种平衡是维持多细胞生物自身稳定的重要因素。细胞增殖失控或细胞凋亡受阻均可导致肿瘤发生,通过人工启动肿瘤细胞死亡来治疗或消除肿瘤是目前许多抗肿瘤药物的主要作用机制之一。

1 增殖周期调控

细胞增殖周期一般分为 G₁、S、G₂和 M期,其中最为关键的是 DNA倍增和染色体复制的 S期。大多数抗肿瘤药物为细胞周期特异性药物,主要杀伤处于增殖期的肿瘤细胞,特别是对 S期和 M期细胞最为敏感。

研究发现, G - Rh2 在体外浓度为 10 ~ 60μmol/L 间能够以剂量依赖方式抑制各种已知人类卵巢癌细胞株的增殖,并且在 IC₅₀浓度左右导致细胞凋亡^[1]。Rh2可以抑制乳腺癌细胞的增殖,使细胞阻滞于 G₁期,滞留于 G₁/S关卡处,阻止其向 S期发展^[2]。另外,有学者认为 Rh2对前列腺癌细胞增殖的抑制作用可能与 MAP激酶三种模块的调变有关^[3]。国内有人报道 Rh2可诱导喉癌细胞 Hep - 2形态学发生改变,影响细胞的增殖活力,抑制其生长,且这一变化在实验范围内呈剂量、

时间依赖性作用^[4]。由此可见,细胞周期调控在细胞生命中占有举足轻重的地位,通过阻断其中任何一个环节的合成或表达,均可有效防止肿瘤的发生。下面着重就其中的几个方面做一阐述。

1.1 介导 DNA的合成

DNA是细胞的一种重要遗传物质,如果在细胞增殖周期中,通过外界因素的作用使 DNA的合成减慢或抑制,将会影响细胞周期的进程,进而达到抗肿瘤的作用。周桂华等利用³H - TdR掺入法研究了人参皂苷 - Rh2对肿瘤细胞 DNA合成的影响,结果发现与对照组比较 PC - 3M细胞的³H - TdR掺入率明显减少;流式细胞仪的检测结果表明 Rh2作用后 DNA含量较多的 S期细胞数量减少,而且 DNA含量较少的 G₁期细胞数量增多^[5]。这是由于 Rh2作用细胞后,直接抑制了癌细胞的 DNA复制和转录能力,使癌细胞的蛋白质合成受阻,从而使肿瘤细胞的增殖减慢或停止。而在 Rh2诱导的 SK - HEP - 1细胞凋亡的早期,参与 DNA复制的一种基本启动因子 - Cdc6,经历了 caspase - 3介导的裂解。Cdc6的裂解导致 p49 - Cdc6核滞留的增强,在 DNA的复制过程中,它充当一种重要的副调节抑制因子。Cdk2使 Cdc6磷酸化且促进 Cdc6神经核的排除,从而阻止其启动不正当 DNA的复制^[6]。

1.2 介导 cyclin和 CDK

细胞周期蛋白 cyclin和周期素依赖性蛋白激酶 CDK是细胞周期调控中两种主要核心蛋白质成分。cyclin作为生长因子的感受器,与 CDK结合为外源信号的整合器,通过介导外源信号,诱导蛋白磷酸化来调控细胞周期进程,其表达量随细胞周期不同时期的转换而改变。在 SK - HEP - 1细胞中,

收稿日期:2005 - 07 - 14

基金项目:国家自然科学基金(项目编号:30471272)

作者简介:郭志廷(1979 -),男,内蒙古人,在读硕士。研究方向:临床兽医中医学。

*为通讯作者,教授,博士生导师

发现 Rh2作用后细胞周期蛋白 A - Cdk2的活动急剧上调,这些上调效应被 cdk2的一种显性负效等位基因的复合表达所阻断,最终促进细胞发生凋亡^[7]。Lukas等^[8]认为 Rh2诱导的凋亡可能是因为 cyclin D的表达下降, cyclin/CDK激酶系统活性降低, Rb蛋白磷酸化作用减弱,使细胞不能通过 G1 - S期的限制点而被阻滞于 G1期,从而使肿瘤细胞的增殖受到抑制。

从上述资料可以看出,细胞周期调控依赖于一系列大分子蛋白质有序的活动,以维持细胞的增殖和分化,保证机体的正常发育。如果我们对这些重要蛋白的合成与代谢适时进行调控,使细胞在癌变早期即被扼杀,对肿瘤的防治无疑有着重要的作用。

2 诱导凋亡

细胞凋亡是一种主动的、由遗传控制的程序性死亡。它是机体免疫自稳和免疫监视功能的重要组成部分,对肿瘤的发生、发展及药物治疗有重要影响。细胞凋亡的意义主要包括:将机体的组成成分限制在生理需要的范围内,使细胞增殖和细胞死亡处于动态平衡状态,以保持细胞总数相对稳定;清除损伤、衰老和多余的细胞,防止细胞癌变等。

2.1 介导细胞 G(1)期

多种和 G(1)期相关的细胞周期调节蛋白被 Rh2所调节,结果导致 Rh2诱导的 G(1)期细胞生长受到阻滞,最终导致细胞发生凋亡。Cheng CC等研究发现,Rh2对人肺腺癌 A549细胞具有抗增生的效果。用 30ug/ml的 Rh2对 A549细胞进行处理后,导致 G(1)期细胞发生阻滞,接着细胞发生凋亡;DR4死亡受体表达水平增加,而别的死亡受体或 Bcl-2家族分子的水平却没有变化^[9]。结果提示:在细胞凋亡的初期,DR4死亡受体表达水平的增加可能扮演一个非常重要的角色。同时这种 Rh2介导的 G(1)期阻滞伴随着蛋白水平、cyclin - D1、cyclin - E与 Cdk6激酶活性的下调和 pRb2/p130的上调。

另外,通过流式细胞仪检测发现 Rh2作用的 C₆胶质瘤细胞核内 DNA降解形成的凋亡峰,并且细胞凋亡比率在一定药物浓度范围内随药物浓度的升高而增加;G₀/G₁期细胞百分率明显下降,而 S期细胞百分率显著增加^[10]。可见,G₁期在细胞生长周期中占据非常重要的地位,Rh2使肿瘤细胞

的发育停滞在 G₁期,进而诱导细胞发生凋亡。樊光华等^[11]同样通过流式细胞术证实 GS - Rh2具有诱导细胞凋亡的作用,细胞凋亡率(AR)随 GS - Rh2浓度增高和作用时间延长而升高,当 GS - Rh2浓度由 12.5ug/ml增至 50.0ug/ml时,AR由 16.2%升高至 27.5%。在临床实践中,G - Rh2可作为一种潜在的化疗药,与其它周期特异性药物联合应用,提高恶性肿瘤的化疗效果。

2.2 介导 Caspase和 Bcl-2

Caspase蛋白家族是一组与细胞因子成熟和细胞凋亡有关的蛋白酶,在细胞凋亡过程中发挥重要的作用。而 Bcl-2家族蛋白通过增加线粒体膜透性,来抑制多种形式的细胞凋亡,使细胞生长停留在 G₀期。研究发现,G - Rh2具有抑制离体 A375 - S2细胞增殖和诱导人肝癌细胞 SK - HEP - 1细胞发生凋亡的作用,它们是通过 Casp - 3通路的激活来实现的^[12,13]。在 Rh2诱导 SK - N - BE(2)发生凋亡的过程中,发现 Bax的表达增加,而 Bcl-2的表达没有发生变化^[14]。因此推测:caspase - 1和 caspase - 3的激活及 Bax的上调参与了 Rh2诱导的细胞凋亡。

一般情况下,Rh2诱导肿瘤细胞发生凋亡往往不是单纯通过上述的某一个途径来发挥作用的,而是几个途径相互影响,共同调节。文献报道^[7,16]人参皂苷 Rh2的抗肿瘤活性最强,可以抑制多种肿瘤细胞的增殖,并且发现诱导凋亡与抑制细胞增殖呈正相关。琼脂糖电泳图谱和流式细胞术结果显示,Rh2给药组细胞发生典型的凋亡,报告称 Rh2作用于凋亡相关蛋白 Bcl-2非敏感途径,活化 caspase - 3蛋白激酶,该酶促使细胞周期相关复合蛋白 p21^{WAF1/CIP1}裂解并伴有周期素 A依赖蛋白激酶 CDK2的活化,从而导致细胞发生凋亡。但也有学者持反对态度,他们认为 Rh2诱导的细胞凋亡是通过产生的 ROS来实现的^[15]。

从上述文献可以看出,caspase不是启动凋亡反应的唯一蛋白酶,许多别的蛋白酶也可诱导细胞发生凋亡,说明 caspase可能是细胞程序性死亡的主要生理效应分子,其他蛋白酶则可以作为凋亡启动分子或者通过 caspase的蛋白水解激活来诱导凋亡。

2.3 介导其它途径

在 Rh2处理过的鼠胶质瘤 C6Bu - 细胞中,通

过电子显微镜观察到了凋亡细胞的一系列特征性的形态学变化,诸如细胞萎缩、染色质凝聚、核固缩。但作者认为所引发的细胞凋亡不是通过 Bcl-2, Bcl-xL 和 Bax 的旁途径,而且通过别的途径^[16]。而在 Rh2 诱发鼠神经胶质瘤 C6Bu-1 细胞和人神经母细胞瘤 SK-N-BE(2) 细胞的凋亡中,发现前者的凋亡与蛋白激酶 C 有关,蛋白激酶 C 的几个亚型 - 、 、 、 、 的水平在细胞凋亡中发生改变,而后者却不然^[17]。

从现在资料可以看出, Rh2 诱导肿瘤细胞发生凋亡,主要通过作用于肿瘤的某些旁途径和细胞周期蛋白家族的一些重要成员来实现,因此,从这方面进行抗肿瘤研究具有积极的意义。细胞凋亡成为恶性肿瘤防治的新举措,越来越多的研究成果使人们从细胞凋亡角度设计新的抗肿瘤治疗策略,提高治疗效果^[18]。

3 结语

G-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,近年来人们对其的研究甚多。尽管这些研究还远不能全面揭示其调控肿瘤细胞增殖周期和诱导凋亡的机制,但已初步形成 Rh2 防治肿瘤研究的一个新动向,而其机制也必将随着研究的深入更加清晰,为临床有效防治肿瘤疾病带来希望。

参考文献:

[1] Nakata, H, Y Kikuchi Inhibitory effects of ginsenoside Rh2 on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cells[J]. Japanese Journal of Cancer Research, 1998, 89 (7): 733 - 740

[2] Oh M, Choi YH, Choi, et al Anti - proliferating effects of ginsenoside Rh2 on MCF - 7 human breast cancer cells [J]. Int J Oncol, 1999, 14 (5): 869 - 875.

[3] Kim HS, Lee EH, Ko SR. Effects of ginsenosides Rg3 and Rh2 on the proliferation of prostate cancer cells [J]. Arch Pharm Res, 2004, 27 (4): 429 - 435.

[4] 于广久,康健,郭凤. 人参单体皂苷 Rh2 对人喉癌细胞株 Hep - 2 抗增殖作用的研究 [J]. 锦州医学院学报, 2003, 24 (6): 34 - 36.

[5] 周桂华,孟艳,李扬,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): 723 - 825.

[6] Yim H, Jin YH, Park BD, et al Caspase - 3 - mediated cleavage of Cdc6 induces nuclear localization of p49 - trun-

cated Cdc6 and apoptosis [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14 (10): 4250 - 4259.

[7] Jin YH, Yoo KJ, Lee YH, et al Caspase 3 - mediated cleavage of p21^{WAF1/CIP1} associated with the cyclin A - cyclin - dependent kinase - complex is a prerequisite for apoptosis in SK - HEP - 1 cells [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (39): 30256 - 30263.

[8] Lukas J, Pagano M, Staskova Z, et al Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cell cycle progression in human tumor cell lines [J]. Oncogen, 1994, 9 (1): 707 - 718.

[9] Cheng CC, Yang SM, Huang CY, et al Molecular mechanisms of ginsenoside Rh2 - mediated G(1) growth arrest and apoptosis in human lung adenocarcinoma A 549 cells [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2005, 55 (6): 531 - 540

[10] 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.

[11] 樊光华,姜浩,欧文胜. 人参皂苷 - Rh2 诱导人肿瘤 Bel - 7404 细胞凋亡的作用 [J]. 实用癌症杂志, 2003, 18 (1): 16 - 18.

[12] Kim KW, Kim SI Caspase specifically cleaves p21^{IP1} in the earlier stage of apoptosis in SK - HEP - 1 human hepatoma cells [J]. Eur J biochem, 1998, 257 (1): 242 - 248

[13] Fei XF, Wang BX, Tashiro S, et al Apoptotic effects of ginsenoside Rh2 on human malignant melanoma A 375 - S2 cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23 (4): 315 - 322

[14] Kim YSS, Jin SH. Ginsenoside Rh2 induces apoptosis via activation of caspase - 1 and - 3 and up - regulation of Bax in human neuroblastoma [J]. Pharm Res, 2004, 27 (8): 834 - 839.

[15] Kim HE, Oh JH, Lee SK, OK YI. Ginsenoside RH - 2 induces apoptotic cell death in rat C6 glioma via areactive oxygen - an caspase - dependent but Bcl - X(L) - independent pathway [J]. Life Sci, 1999, 65 (3): 33 - 40

[16] Kim YS, Jin SH, Lee YH, et al Ginsenoside Rh2 induces apoptosis independently of Bcl - 2, Bcl - xL, or Bax in C6 Bu - 1 cells [J]. Arch Pharm Res, 1999, 22 (5): 448 - 453.

[17] Kim YS, Jin SH, Lee YH, et al Differential expression of protein kinase C subtypes during ginsenoside Rh2 - induced - apoptosis in SK - N - BE (2) and C6Bu21 cells [J]. Arch Pharm Res, 2000, 23 (5): 518 - 524.

[18] Micheau, So lary E, Hammann A, et al Sensitization of cancer cells treated with cytotoxic drugs to fas - mediated cytotoxicity [J]. J Natl Cancer Inst, 1997, 89 (11): 783 - 789.