

中药对恶性肿瘤细胞信号转导通路的影响及其作用机理研究的进展

曾艳兵 张妮娜 卜 平

细胞信号转导通路(cellular signal transduction pathway)是指细胞接受外界信号 ,通过一整套特定的机制 ,将胞外信号转导为胞内信号 ,最终调节特定基因表达 ,并引起细胞的应答反应。许多研究表明 ,如果控制细胞增殖、分化的信息传递通路中某一环节的异常 ,可引起细胞生长失控 ,导致肿瘤的产生。中药对肿瘤治疗在临床上已得到广泛应用 ,它可以直接杀死肿瘤细胞 ,促进肿瘤细胞凋亡 ,提高患者的免疫功能及作用于肿瘤细胞转导信号通路等途径来实现对肿瘤的治疗作用。本文就中药对恶性肿瘤细胞信号转导通路的影响及其作用机理作一综述。

中药对 cAMP-PKA 信号转导通路的影响及其作用机理

1 通过提高 cAMP 水平而抑制恶性肿瘤细胞的生长 cAMP 是细胞内的第二信使物质 ,其重要的生物学功能之一就是能够调节细胞的增殖与分化。在恶性肿瘤细胞中 cAMP 的水平会明显低于正常细胞中的水平 ,而 cGMP 的水平高于正常细胞中的水平。因为 cAMP 具有抑制肿瘤细胞生长、促进分化的作用 ,所以应用中药来提高肿瘤细胞内的 cAMP 水平 ,降低 cGMP 的水平实现中药的抗肿瘤作用 ,许多学者对此都做了很多实验研究 ,并取得了一些显著成果。

项树林等^[1]从“扶正祛邪”的角度出发 ,用大蒜油与红毛五多糖合剂(AGPS)作用于 U14 和 S180 荷瘤小鼠 ,结果表明(大蒜油 500mg + AGPS500mg)/kg 作用 7 天后 ,荷瘤小鼠低 cAMP 水平得到明显回升 ,且肿瘤细胞的增殖得到抑制。因此可以看出血浆中 cAMP 水平的提高与肿瘤细胞生长的抑制有一定关系。韩兆诚等采用自拟补气养血方中药煎剂给荷瘤小鼠灌胃 21 天 ,小鼠体重增加 ,肿瘤缩小 ,抑瘤率为 61.23% ,血浆中 cAMP 水平变化不明显 ,但 cGMP 含量显著减少 ,cAMP/cGMP 比值显著增大。李震等^[2]用自拟清热解毒方中药煎剂对荷瘤小鼠灌胃 ,抑瘤率为 53.01% ,同样也发现 cAMP/cGMP 比值增大。易永林等^[3]用人参茎叶总皂甙(GSL)对 18 例急性淋巴细胞白血病细胞进行诱导分化 ,对急性粒单和单核细胞

的诱导分化作用较强 ,可能也是由于 cAMP 水平升高之故。

2 通过阻断 cAMP-PKA 信号而促进肿瘤细胞凋亡 肿瘤的发生不仅仅是原癌基因的活化、抑癌基因失活的结果 ,在细胞周期的调控中 Rb、p53、p16、CKI 等一系列周期蛋白因子的活性丧失 ,导致肿瘤抑制信号系统无法对细胞周期中的调节蛋白家族 Cyclin-CDRs 进行调控 ,而 cAMP-PKA 作为这些因子的上游调控 ,这些因子的表达均须通过 cAMP-PKA 的通路。有研究表明 ,复方中药白龙能促进对 G₁ 期人胃癌细胞 BGC82-3 中抑癌基因 p16、PRb、p21 的表达 ,对癌基因 c-myc 的表达拮抗作用显著 ,当用 PKA 抑制剂阻断 cAMP-PKA 通路时 ,则白龙的药效不明显^[4]。还有研究表明 ,白龙是通过 cAMP-PKA 与 DAG/PKC 的正负调节来抑制肿瘤细胞的生长^[5]。

中药对酶联受体信号转导通路的影响及其作用机理

1 对某种蛋白激酶和磷酸酯酶的作用 酶联受体信号通路主要是以蛋白质特定残基的磷酸化与去磷酸化来传递信息 ,蛋白激酶使这些残基磷酸化 ,蛋白磷酸酯酶则使之去磷酸化。此信息系统与细胞的生长、增殖密切相关 ,而且有些原癌基因成员本身就是蛋白激酶 ,如 erb-β 基因的产物 P68 与 EGF 受体的膜内区序列高度同源 ,它可以在没有 EGF 作用的条件下产生细胞增殖信息。neu 基因可编码 PDGF 受体 ,酶联受体的配体与其受体结合后 ,则也有可能激活某些癌基因 ,如成纤维细胞接受 PDGF 后 ,2h c-myc 的 mRNA 增加 40 倍 ,c-fos mRNA 也明显增高。因此肿瘤的产生、生长与抑制均与此信号转导通路有千丝万缕的联系 ,用中药作用于该通路进行抗肿瘤具有很重要意义。杨江苏等^[6]运用猪苓多糖和茯苓多糖作用于人早幼粒白血病细胞(HL-60) ,结果两种多糖对胞浆和胞膜部分酪氨酸蛋白的激酶 ,TPK 活力均有不同程度抑制作用 ,对磷酸酪氨酸蛋白磷酸酶(PTPP)有不同程度的激活作用。

2 对酶联受体信号转导通路中各种配体的影响 肿瘤细胞生长和转移需伴有血管的再生 ,为其提供氧和营养物质 ,并将废物带走 ,肿瘤血管再生的程度不仅取决于肿瘤细胞 ,毛细血管内皮细胞等 ,还需促血管再

生因子和抗血管再生因子之间的相互作用,其中血管内皮细胞生长因子(VEGF)特异性地与血管内皮细胞上的酪氨酸受体结合,诱导血管内皮细胞分裂、增殖,向肿瘤细胞迁移,形成新生血管,应用中药影响 VEGF 的生成抑制肿瘤新生血管的生成,来实现其抗肿瘤的功效。丁罡等^[7]用丹参、赤芍水煎剂对大鼠 Welken 256 癌脾内移植后肝转移模型,用 ELISA 法检测血清 VEGF,用免疫组织化学法检测肿瘤细胞组织微血管密度的变化,结果丹参、赤芍能增强实验大鼠 VEGF 的表达及肿瘤血管的形成,促进肿瘤的转移,阐明了活血化瘀中药与肿瘤转移的关系。高勇等^[8]利用鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)观察人参皂甙(Rg3)作用后,肿瘤新生血管的生长情况,发现人参皂甙可明显抑制 Lewis 肺癌瘤体的生长,新生血管数明显减少。王兵等^[9]应用从苦豆中提取的氧化苦参碱(Oxymatrine, Oxy)对肿瘤诱导血管内皮细胞(VEC)的增殖研究,发现肺癌(SPC-A-1)和胃癌细胞(mKN-45)的条件培养液能促进 VEC 增殖,但经不同浓度 Oxy 作用后的肺癌、胃癌细胞条件培养液对 VEC 增殖有不同程度抑制作用,并推测可能是 Oxy 抑制肿瘤细胞分泌 VEGF 和 bFGF 有关。当在 VEC 中同时加入 Oxy 和肺癌、胃癌细胞的条件培养液, Oxy 对肺癌、胃癌诱导的 VEC 增强有较强的抑制,推测可能是 Oxy 通过下调增殖期 VEC 相关生长因子受体的表达,使 VEC 对肿瘤细胞分泌的生长因子敏感性较低,从而影响 VEC 的增殖。

中药对磷酸酰肌醇信号转导通路的影响及其作用机理

磷酸酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)通路是胞外信号分子与细胞表面 G 蛋白的偶联受体结合,激活磷酸脂酶(α -PLC),使质膜上的 4,5-二磷酸肌醇(PIP)水解成 1,4,5-三磷酸肌醇(PI3)和二酰基甘油(DG),IP3 使胞内 Ca^{2+} 浓度升高, DG 则激活蛋白激酶(α -PKC)。在许多癌变的细胞中,某些癌变的基因编码的蛋白质可以影响肌醇磷脂代谢,如 ras 基因产物可以充当 G 蛋白的作用,src、ros、fos 等编码类似 PI 激酶和 PIP 激酶的蛋白质,使 PIP_2 异常增加,胞内钙离子浓度提高,PKC 非正常活化,使细胞生长紊乱,因此应用中药来转变这些非正常的信号转导,抑制肿瘤细胞的生长。黄添友等^[10]发现茯苓多糖(PPS)、刺五加多糖(ASPS)影响 S180 细胞膜 PIP 转换为 DG 和 IP_3 ,能显著抑制肿瘤细胞的生长。

而用槲皮酮(quercetin),即一种植物类黄酮(flavonoid),通过抑制 PI 激酶和 PIP 激酶的活性,降低胞内 IP_3 的浓度,使胞内 Ca^{2+} 浓度的释放减少,从

而抑制了人乳房癌细胞的生长^[11]。Shen F 则用槲皮酮与染料木苷(genistin)协同作用于卵巢癌细胞,槲皮酮使细胞不能完成 G_2 和 S 期的转换,染料木苷则使细胞不能完成 G_2 和 M 期的早期转换,但它们都通过阻碍 PI 激酶和 PIP 激酶的活性,从而抑制卵巢癌细胞的生长^[12]。

李宝元^[13]在用中药白龙片对人胃癌(MGC 80-3)细胞不同周期时相癌基因 c-H-ras、c-myc 和抑癌基因 Rb、P53、P21 表达的影响时,PKC- α 基因表达抑制与 c-H-ras、c-myc 的表达抑制相似,说明两者之间具有很密切的因素关系。有人^[14]发现白藜芦醇(resveratrol)能抑制胃癌细胞 KATO-III 中 PKC 的活性和经纯化的 PKC- α 的活性,但对 ERK1/ERK2 的活性无影响,且细胞停留在 G_0/G_1 期,最后导致细胞凋亡。

中药对钙和钙调蛋白(calmodulin)通路的影响及其作用机理

钙在体内通常以结合钙和游离钙离子两种形式存在,细胞外液约 50%~60% 为结合钙,游离钙离子浓度约为 0.1~10mmol/L,胞内钙 99.9% 为结合钙。钙离子是重要的第二信使物质,许多细胞功能均与钙离子浓度密切相关,如调节细胞的分裂、环核苷酸的代谢、磷酸酰肌醇循环和 DNA 的合成等。钙调蛋白(calmodulin)的活性形式是 Ca^{2+} -CaM 复合物,然后结合并激活靶酶,从而启动靶酶引起细胞反应, CaM 正是由于它能调节 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 影响细胞的多种功能而得名。

李宇彬等^[15]用 5-FU 和中药海藻、昆布、黄芪、苦参提取的有效成分组成的中西药复方制剂海嘧啉作用于人胃癌细胞 SGC-7901,用激光扫描共聚焦技术观察 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的变化,结果表明海嘧啉可以显著升高肿瘤细胞内游离钙离子的浓度,用定磷法测定海嘧啉对肿瘤细胞膜钙泵活性的影响,表明海嘧啉能显著降低 S180 和 H22 荷瘤小鼠细胞膜 Ca 泵的活性。

综上所述,从目前国内外研究现状看,有关中医中药对细胞信号转导通路的报道主要集中在 cAMP-PKA 信号转导通路、磷酸酰肌醇信号转导通路钙和钙调蛋白(calmodulin)信号转导通路,而对 Ca-CaM 通路的研究较少。且这些药物中单体药物较多,复方药物较少。此外,细胞内众多的信号传递类似于信息高速公路,有着错综复杂的网络,如一条信息途径的成员,可参与激活或抑制另一条信息途径,两种不同的信息途径可共同作用于同一种效应蛋白或同一基因调控协同发挥作用。一种信息分子可作用于几条信息传递途径,体现中医中药理论特色的多条通路、多靶点的研究尚未见报道。随着中医中药抗肿瘤的各种机制的进一

步深入研究,中药在抗肿瘤方面具有越来越大的发展前景。特别对于从中草药中筛选抗肿瘤药物 I、II 类新药研究有着十分广阔的发展前景,相信经过不懈努力,会有更多更好的具有自主知识产权的抗肿瘤新药出现。

参 考 文 献

- 1 项树林,谢景玉,胡庆和,等.大蒜油与刺五加多糖合剂对荷瘤小鼠血浆 cAMP 和肿瘤细胞分裂周期的影响.中国中医基础医学杂志 1997;4(2):28—30.
Xiang SL, Xie JY, Hu QH, et al. Effect of garlic oil and a-canthopanax giraldii polysaccharide complex on plasma cAMP in tumor-bearing mice and tumor cell cycle. Chin J Basic Med TCM 1997;4(2):28—30.
- 2 李震,李军山,李哲,等.清热解毒方对肿瘤小鼠红细胞膜流动性及血浆环核苷酸水平的影响.山东生物医学工程 2001;20(3):8—10.
Li Z, Li JS, Li Z, et al. Effect of Qingre Jiedu Recipe Complex on red blood cell membrane fluidity and plasma cAMP in tumor-bearing mice. Shangdong J Biomed Engineer 2001;20(3):8—10.
- 3 易永林,李薇,郝秀智,等.人参茎叶总皂甙对 58 例急性非淋巴细胞白血病细胞的诱导分化作用.中国中西医结合杂志 1993;13(12):722—724.
Yi YL, Li W, Hao XZ, et al. Inductive differentiation effect of ginsenosides on human acute non-lymphocytic leukemic cells in 58 patients. Chin J Integr Tradit West Med 1993;13(12):722—724.
- 4 刘军,柳惠图,梁云燕,等.复方中药白龙对 G₁ 期人胃癌细胞中抑癌基因的影响及与 PKA 信号通路的相关性.中国中西医结合杂志 1999;19(10):613—616.
Liu J, Liu HT, Liang YY, et al. Effect of Bailong recipe on proliferation phenotype of human gastric carcinoma BGC82-3 cell line. Chin J Integr Tradit West Med 1999;19(10):613—616.
- 5 Gu SQ, Liang YY, Fan LR. Co-regulative effect of the cAMP/PKA and DAG/PKC signal pathways on human gastric cancer cells during differentiation induced by traditional Chinese medicine. China Natl J New Gastroenterol 1997;3(1):50—53.
- 6 杨江苏,秦旭平,张娜,等.两种真菌多糖对 HL-60 细胞酪氨酸蛋白磷酸化作用的影响.中国药理学杂志 2000;35(5):303—305.
Yang JS, Qin XP, Zhang N, et al. Effect of two fungi polysaccharides on tyrosine phosphorylation in human promyelocytic leukemia cells. China Pharm J 2000;35(5):303—305.
- 7 丁罡,宋明志,于尔辛.丹参、赤芍对大鼠 Walker 256 癌肝转移影响机制的研究.中国癌症杂志 2001;11(4):364—366.
Ding G, Song MZ, Yu EX. Study on the mechanism of Salvia, Radix Paeoniae rubra affecting Walker 256 liver metastasis in experimental rats. China Oncol 2001;11(4):364—366.
- 8 高勇,王杰军,许青,等.人参皂甙 Rg3 抑制肿瘤新生血管形成的研究.第二军医大学学报 2001;22(1):40—42.
Gao Y, Wang JJ, Xu Q, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 on tumor neoangiogenesis. Acad J Sec Mil Med Univ 2001;22(1):40—42.
- 9 王兵,王国俊,徐钧.氧化苦参碱对肿瘤诱导血管内皮细胞增殖的抑制作用.实用肿瘤杂志 2000;15(5):297—300.
Wang B, Wang GJ, Xu J. Inhibitory effect of oxymatrine on vascular endothelial cell proliferation induced by tumor. J Pract Oncol 2000;15(5):297—300.
- 10 黄添友,佟丽,吴波,等.四种植物多糖对 S180 细胞膜磷脂酰肌醇转换的影响.第一军医大学学报 1995;15(3):211—212.
Huang TY, Tong L, Wu B, et al. Effect of plant polysaccharides on phosphatidylinositol turnover of the plasma membrane of sarcoma S180 cell. J First Mil Med Univ 1995;15(3):211—212.
- 11 Yeh YA, Herenyiova M, Weber G. Quercetin: synergistic action with carboxyamidtriazole in human breast carcinoma cells. Life Sci 1995;57(13):1285—1292.
- 12 Shen F, Weber G. Synergistic action of quercetin and genistein in human ovarian carcinoma cells. Oncol Res 1997;9(11—12):597—602.
- 13 李宝元,梁云燕,王代树.中药白龙片与 HMBA 对人胃癌不同周期细胞癌基因与抑癌基因表达调控的共性研究.中国中西医结合杂志 2001;21(4):286—290.
Li BY, Liang YY, Wang DS. Study on common character of regulative molecular mechanism of Chinese drug Bailong and hexamethylen bisacetamide in human cancer cell and their oncogene and tumor suppressor gene expression. Chin J Integr Tradit West Med 2001;21(4):286—290.
- 14 Mary Jo Atten, Bashar M Attar, Thomas Milson. Resveratrol-induced inactivation of human gastric adenocarcinoma cells through a protein kinase C-mediated mechanism. Biochem Pharmacol 2002;62(12):1423—1432.
- 15 季宇彬,高世勇,孔琪,等.海嘧啶对肿瘤细胞内 [Ca²⁺]_i 的影响.哈尔滨工业大学学报 2001;33(3):309—317.
Ji YB, Gao SY, Kong Q, et al. Influence of sea pyrimidine on [Ca²⁺]_i in tumor cells. J Harbin Inst Technol 2001;33(3):309—317.