

· 综 述 ·

丹参酮 II A 治疗妇科恶性肿瘤的研究进展

张文文 陈苗苗 朱雪琼

丹参酮 II A 是天然的中草药丹参的有效成分,具有扩张血管、抗动脉粥样硬化、改善微循环、抗血栓、抗凝、清除自由基、保护线粒体等作用,被长期用于心肌梗死、心绞痛及动脉粥样硬化等心血管疾病的治疗^[1,2]。丹参酮 II A 包括其衍生物乙酰丹参酮 II A,不仅在心血管领域应用广泛,研究显示其具有抗肿瘤作用,尤其是对白血病、肝癌、结肠癌等疾病^[3]。近年研究表明,丹参酮 II A 有抗妇科恶性肿瘤的作用。本文从促进肿瘤细胞凋亡和细胞分化、抑制肿瘤细胞增殖和细胞毒性作用、抑制肿瘤细胞侵袭和转移等肿瘤细胞的生物学行为着手,就丹参酮 II A 对妇科恶性肿瘤包括宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌和乳腺癌的抗肿瘤效果进行综述。

1 丹参酮 II A 促进妇科恶性肿瘤细胞的凋亡

1.1 促进宫颈癌细胞凋亡

Zhou L 等^[4]研究用丹参酮 II A 处理宫颈癌 HeLa 细胞,并采用亚细胞分离技术、免疫荧光染色及流式细胞仪进行检测,结果显示,丹参酮 II A 能通过破坏有丝分裂的纺锤体,而不干扰微管结构,进而阻断细胞有丝分裂过程,诱导细胞凋亡。与紫杉醇及长春新碱处理组比较,丹参酮 II A 能更快地阻断细胞的有丝分裂过程,提示丹参酮 II A 能通过阻断细胞有丝分裂促进选择性诱导细胞凋亡。Pan TL 等^[5]发现丹参酮 II A 对 HeLa 细胞具有生长抑制作用,从功能蛋白质组学和结构蛋白质组学的角度研究其分子机制,结果发现存在许多凋亡相关蛋白,如 p53、Fas、TNF、TNF 受体和 Bcl-2 等,提示其抑制细胞凋亡生长作用与这些凋亡相关蛋白有关。另外,Pan TL 等^[6]研究发现,应用不同浓度的丹参酮 II A 处理晚期宫颈癌 CaSki 细胞 24 h 后能促使细胞凋亡,且呈剂量依赖性。丹参酮 II A 处理组中 p38、Jun 氨基末端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK)及 Caspase 等线粒体内源性通路

相关蛋白和真核细胞翻译起始因子 2 α 、转录激活因子 4 及 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白等内质网应激相关蛋白的表达均较仅用培养基的对照组明显增加。当应用 JNK 阻断剂及内质网应激通路的阻断剂后,发现上述蛋白的表达均较前明显减少,提示丹参酮 II A 促使细胞凋亡的机制可能与线粒体内源性通路及内质网应激通路的激活有关。

1.2 促进卵巢癌细胞凋亡

杜瑞亭等^[7]研究丹参酮 II A 对卵巢浆液性乳头状腺癌细胞株 SKOV3 的作用,结果表明,在不同时间应用丹参酮 II A (4.0 $\mu\text{g/mL}$) 及不同浓度丹参酮 II A 作用 48 h 后,SKOV3 细胞中的凋亡抑制因子 Survivin mRNA 的表达均下降,而凋亡前体蛋白 Smac/DIABLO mRNA 表达量上调,提示丹参酮 II A 诱导 SKOV3 细胞凋亡是通过下调 Survivin,上调 Smac/DIABLO 的表达而实现。Jiao JW 等^[8]在体外用丹参酮 II A 处理卵巢癌铂耐药细胞株 COC1/DDP 后,通过免疫印迹法检测,结果显示磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)的量增加,且呈时间及浓度依赖性。应用 p38 的抑制剂 SB203580 阻断 p38 信号转导通路后,细胞凋亡率下降,而凋亡抑制因子 Survivin mRNA 的表达明显上调,推测丹参酮 II A 诱导 SKOV3 细胞的凋亡与 p38-MAPK 的通路激活有关。Chang CC 等^[9]研究不同浓度丹参酮 II A 对卵巢腺癌 SKOV3 细胞、TOV-21G 细胞、TOV-112D 细胞及 OVCAR3 细胞的作用,结果发现丹参酮 II A 能明显抑制所有卵巢癌细胞株的活力,并呈浓度依赖性;应用丹参酮 II A (0 ~ 20 $\mu\text{mol/L}$) 作用于 SKOV3 和 TOV-21G 细胞 24 h 后,细胞凋亡蛋白酶激活的标志物聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶(poly-ADP-ribose polymerase, PARP)解离产物增多,而应用细胞凋亡蛋白酶家族的抑制剂 z-VAD-fmk (20 $\mu\text{mol/L}$) 处理 TOV-21G 细胞后,细胞活力较前明显增加,提示丹参酮 II A 抑制 TOV-21G 细胞的活力可能通过诱导细胞凋亡而实现。

1.3 促进乳腺癌细胞凋亡

Yan MY 等^[10]用丹参酮 II A 处理乳腺癌 BT-20 细胞,经流式细胞仪检测,发现细胞发生凋亡,磷酸化-

基金项目:浙江省卫生高层次创新人才经费资助(No. 2010-21)

作者单位:温州医科大学附属第二医院妇产科(浙江 325027)

通讯作者:朱雪琼, Tel: 0577-88002796, E-mail: zjwzzxq@

163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.09.1149

JNK、磷酸化-p38 及 Bax 的表达上调,而 Bcl-xl 和磷酸化-细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)表达下调,提示丹参酮 II A 促进细胞凋亡是通过 MAPK 信号转导通路而实现。

2 丹参酮 II A 抑制妇科恶性肿瘤细胞的增殖和细胞毒性作用

2.1 抑制宫颈癌细胞增殖

Pan TL 等^[5]的研究表明,HeLa 细胞经丹参酮 II A (0.5 $\mu\text{g/mL}$) 作用 24 h 后,细胞增殖的标志指标增殖细胞核抗原量显著减少,于 72 h 达最低值,提示丹参酮 II A 可能通过抑制增殖细胞核抗原的表达来发挥抑制 HeLa 细胞增殖的作用。

2.2 抑制卵巢癌细胞增殖

刘伟等^[11]用不同浓度丹参酮 II A 处理卵巢浆液性癌细胞系 CAOV3 细胞,发现丹参酮 II A 能明显抑制 CAOV3 细胞增殖,并呈剂量依赖性;通过免疫沉淀法纯化蛋白,结果显示,与仅用培养基的对照组相比,丹参酮 II A 处理组的 ERK 活性明显降低,提示丹参酮 II A 对 CAOV3 细胞增殖抑制作用可能是通过抑制 ERK 通路而实现。

2.3 抑制子宫内膜癌细胞增殖

张玥等^[12]在丹参酮 II A 对子宫内膜癌 KLE 细胞生长的体外抑制作用的实验中,通过中性红检测,结果显示低浓度(<50 $\mu\text{g/mL}$)的丹参酮 II A 对 KLE 细胞的增殖无明显抑制作用,当浓度超过 100 $\mu\text{g/mL}$,细胞增殖抑制率明显增加,且随着作用时间延长呈增加趋势,提示丹参酮 II A 对 KLE 细胞的增殖有抑制作用,并呈时间与浓度依赖性。

2.4 对乳腺癌细胞的细胞毒性作用

Yu T 等^[13]研究不同浓度乙酰丹参酮 II A (1.56~3.13 $\mu\text{mol/L}$) 作用于雌激素受体(ER)阳性乳腺癌细胞株 MCF-7、T-47D 细胞及 ER 阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 细胞 72 h 后,发现乙酰丹参酮 II A 对 MCF-7 和 T-47D 细胞株的 IC_{50} 分别为 1.48 和 1.40 $\mu\text{mol/L}$,明显低于其对 MDA-MB-231 细胞的 IC_{50} (7.98 $\mu\text{mol/L}$),提示乙酰丹参酮 II A 对 ER 阳性乳腺癌细胞株较 ER 阴性乳腺癌细胞株具有更强的细胞毒性作用。同时研究发现,乙酰丹参酮 II A 对 ER 阳性乳腺癌细胞株的细胞毒性作用是通过与雌激素受体 α 结合并经由蛋白酶体依赖的途径促进细胞核中雌激素受体 α 蛋白的降解实现的。

3 丹参酮 II A 诱导妇科恶性肿瘤细胞分化

3.1 诱导宫颈癌细胞分化

袁淑兰等^[14]在体外培养宫颈癌细胞株 ME180,

经³H 标记脱氧胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入和集落形成试验证实,丹参酮 II A 作用后,细胞集落形成率和³H-TdR 掺入率明显降低,并使 ME180 细胞在裸鼠体内的成瘤时间延长,成瘤能力降低,并且形成的肿瘤组织趋向良性分化。

3.2 诱导乳腺癌细胞分化

杜睿等^[15]研究丹参酮 II A 对体外培养的 MCF-7 细胞株的作用,采用 MTT 法及集落形成试验检测,结果显示细胞增殖受抑制,并且细胞的形态向良性分化;经 RT-PCR 和流式细胞仪检测,发现丹参酮 II A 可明显增加细胞增殖和分化相关基因雌激素受体 α 、nm23-1、c-fos 的表达量,同时减少 c-myc 的表达量。表明丹参酮 II A 对人乳腺癌细胞株恶性表型的逆转作用可能是通过上调雌激素受体 α 、nm23-1、c-fos 及下调 c-myc 的表达来实现。

4 丹参酮 II A 抑制妇科恶性肿瘤细胞侵袭与转移

4.1 抑制卵巢癌细胞侵袭与转移

有文献报道^[16],采用丹参酮 II A 处理 SKOV3 细胞后,经免疫荧光及 RT-PCR 检测,结果显示肿瘤侵袭相关因子基质金属蛋白酶-2 和血管内皮生长因子 mRNA 表达水平较对照组(DMSO 溶液组)明显下降,提示丹参酮 II A 通过抑制基质金属蛋白酶-2、血管内皮生长因子的表达,使肿瘤细胞穿过基底膜的能力下降,趋化与黏附能力也下降,进而抑制肿瘤的侵袭与转移。

4.2 抑制乳腺癌细胞侵袭与转移

鸟嘌呤核苷酸交换蛋白(guanine nucleotide exchange protein, GEP)家族中的 GEP100 与乳腺癌的侵袭与转移密切相关^[17]。翁时秋等^[18]研究丹参酮 II A 对高转移性人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的 GEP100 基因表达的影响,结果提示 GEP100 基因的表达在丹参酮 II A 处理组显著受抑制,说明丹参酮 II A 可能对抑制乳腺癌细胞的侵袭与转移有一定作用。

5 丹参酮 II A 增加妇科恶性肿瘤化疗的疗效

5.1 增加宫颈癌化疗的疗效

王冬等^[19]研究丹参酮 II A 对体外培养的宫颈癌 HeLa 细胞生长的抑制作用,结果发现,单用丹参酮 II A 组与单用 5-氟尿嘧啶组的细胞生长抑制率分别为 55.45%、54.89%;而两者联用 72 h 后,细胞生长抑制率达 82.85%,说明丹参酮 II A 不仅具有抑制肿瘤细胞增殖的能力,还能增加宫颈癌细胞对化疗药物 5-氟尿嘧啶的敏感性。

5.2 增加卵巢癌化疗的疗效

Jiao JW 等^[8]研究发现在丹参酮 II A 处理 COC1/DDP 细胞 48 h 后,细胞对顺铂的耐药指数下降。同时,RT-PCR 法结果显示切除修复交叉互补基因 -1 和肺耐药蛋白 mRNA 的表达明显下调。此外,应用 SB203580 (10 $\mu\text{mol/L}$) 阻断 p38 信号转导通路可引起切除修复交叉互补基因 -1 和肺耐药蛋白 mRNA 的表达显著上调,说明丹参酮 II A 可能通过 p38 介导的切除修复交叉互补基因 -1 和肺耐药蛋白 mRNA 表达的下调增加对顺铂的敏感性。Chang CC 等^[9]研究发现单用 TNF 相关的凋亡诱导配体 (0 ~ 200 ng/mL) 不能明显降低 SKOV3 及 TOV-21G 细胞的活力;而 TNF 相关的凋亡诱导配体 (0 ~ 200 ng/mL) 分别与丹参酮 II A 联合用药后可明显增加其对细胞的毒性作用,提示丹参酮 II A 能增加卵巢癌对 TNF 相关的凋亡诱导配体的化疗敏感性。

5.3 增加乳腺癌化疗的疗效

研究发现,丹参酮 II A 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞具有多药耐药逆转作用,且与下调多药耐药相关基因 BCRP/ABCG2 表达有关^[20]。翟凤钰等^[21]研究结果显示,单用丹参酮 II A 与 5-氟尿嘧啶均可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖,两药联用时抑制作用更明显;同时联合组的凋亡率高于两单药组的凋亡率之和,可见丹参酮 II A 与 5-氟尿嘧啶具有协同作用。

综上所述,由于目前所用的化疗药物的毒副作用较大,因此低毒有效的药物,特别是中草药已成为综合治疗妇科恶性肿瘤的热点问题。随着丹参对妇科恶性肿瘤细胞的作用与机制研究的深入,将为妇科恶性肿瘤的治疗提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Gao S, Liu Z, Li H, et al. Cardiovascular actions and therapeutic potential of tanshinone II A [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(1): 3-10.
- [2] 赵娜, 郭治昕, 赵雪, 等. 丹参的化学成分与药理作用 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(4): 155-160.
- [3] Tian HL, Yu T, Xu NN, et al. A novel compound modified from tanshinone inhibits tumor growth *in vivo* via activation of the intrinsic apoptotic pathway [J]. *Cancer Lett*, 2010, 297(1): 18-30.
- [4] Zhou L, Chan WK, Xu N, et al. Tanshinone II A, an isolated compound from *Salvia miltiorrhiza* Bunge, induces apoptosis in HeLa cells through mitotic arrest [J]. *Life Sci*, 2008, 83 (11-12): 394-403.

- [5] Pan TL, Hung YC, Wang PW, et al. Functional proteomic and structural insights into molecular targets related to the growth inhibitory effect of tanshinone II A on HeLa cells [J]. *Proteomics*, 2010, 10(5): 914-929.
- [6] Pan TL, Wang PW, Hung YC, et al. Proteomic analysis reveals tanshinone II A enhances apoptosis of advanced cervix carcinoma CaSki cells through mitochondria intrinsic and endoplasmic reticulum stress pathways [J]. *Proteomics*, 2013, 13(23-24): 3411-3423.
- [7] 杜瑞亭, 庄莹莹, 王海琳. 丹参酮 II A 对人卵巢癌细胞 SKOV3 增殖与凋亡的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(18): 2815-2818.
- [8] Jiao JW, Wen F. Tanshinone II A acts via p38 MAPK to induce apoptosis and the down-regulation of ERCC1 and lung-resistance protein in cisplatin-resistant ovarian cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(3): 781-788.
- [9] Chang CC, Lai JS, Tsai CS, et al. Proapoptotic and TRAIL-sensitizing constituents isolated from *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) [J]. *J Biosci Bioeng*, 2013, 116(4): 516-523.
- [10] Yan MY, Chien SY, Kuo SJ, et al. Tanshinone II A inhibits BT-20 human breast cancer cell proliferation through increasing Caspase-12, GADD153 and phospho-p38 protein expression [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(5): 855-863.
- [11] 刘伟, 陈昊. 丹参酮 II A 对人卵巢癌细胞株 CAOV3 增殖与凋亡的影响 [J]. 医药导报, 2007, 26(12): 1398-1400.
- [12] 张玥, 张英姿, 孙聪聪. 丹参酮 II A 对子宫内膜癌 KLE 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 山东医药, 2012, 52(19): 32-34.
- [13] Yu T, Zhou Z, Mu Y, et al. A novel anti-cancer agent, acetyltanshinone II A, inhibits oestrogen receptor positive breast cancer cell growth by down-regulating the oestrogen receptor [J]. *Cancer Lett*, 2014, 346(1): 94-103.
- [14] 袁淑兰, 黄光琦, 王俊杰, 等. 丹参酮和维甲酸对人宫颈癌细胞株的体外诱导分化作用 [J]. 中华肿瘤杂志, 1995, 17(6): 422-424.
- [15] 杜睿, 郑鸿, 王艳萍, 等. 丹参酮 II A 逆转人 ER 阳性乳腺癌细胞的恶性表型及其机理 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(1): 35-38.
- [16] 庄莹莹, 王海琳, 杜瑞亭. 丹参酮 II A 诱导人卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡及机制的研究 [J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(4): 328-331.

- [17] Morishige M, Hashimoto S, Ogawa E, et al. GEP100 links epidermal growth factor receptor signalling to Arf6 activation to induce breast cancer invasion[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(1): 85-92.
- [18] 翁时秋, 王小云, 丁志云, 等. 丹参酮 II A 抑制乳腺癌转移相关基因 GEP100 表达的实验研究[J]. 江苏中医药, 2011, 43(12): 80-81.
- [19] 王冬, 田亚平, 姜英雁. 丹参酮 II A 与 5-FU 抑制 HeLa 细胞生长及诱导细胞凋亡的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(22): 3237-3240.
- [20] 敬静, 郑鸿, 王修杰, 等. 丹参酮 II A 对人 ER 阴性乳腺癌细胞的生长抑制和多耐药逆转作用[J]. 四川大学学报(医学版), 2007, 38(3): 391-395.
- [21] 翟凤钰, 李修伟, 漆起贵, 等. 丹参酮 II A 联合 5-Fu 诱导人乳腺癌细胞系 MCF-7 凋亡的影响[J]. 军医进修学院学报, 2012, 33(6): 653-655.
- (收稿: 2013-03-19 修回: 2014-05-18)

山东省第十一次中西医结合妇产科学术年会 暨中西医结合妇产科与生殖医学新进展学习班在济南召开

山东省第十一次中西医结合妇产科学术年会暨中西医结合妇产科与生殖医学新进展学习班、中国中医药研究促进会妇产科与辅助生育分会第一次会议, 于 2014 年 7 月 25 日在山东新闻大厦顺利召开, 会议由中国中医药研究促进会、山东中西医结合学会主办, 山东中医药大学附属医院承办, 特邀国医大师刘敏如教授、肖承棕教授以及来自美国、澳大利亚的知名专家与全国各地近 400 位妇产科及辅助生殖领域的同道们共聚一堂。

开幕式由中国中医药研究促进会妇产科与辅助生育分会常务副组长张建伟教授主持, 山东中医药大学附属医院生殖中心主任、妇产科与辅助生育分会第一届主任委员连方教授代表主办单位进行了精彩发言, 山东中医药大学附属医院院长杨传华教授、山东省卫生和计划生育委员会仇冰玉副主任、成都中医药大学刘敏如教授、中国中医药研究促进会副会长、中华中医药学会副会长李俊德教授及山东省政协原副主席赵玉兰分别致辞。学术报告环节首先由 81 岁高龄的国医大师、成都中医药大学终身教授刘敏如作题为“中医之路, 六十年见证”的报告。大会邀请京城四大名医之首萧龙友先生之嫡孙女、学术继承人肖承棕教授、澳大利亚试管婴儿技术先驱 Phillip Matson 教授、美国洛杉矶托莱多医院生殖中心实验室主任华人教授孟励、《中国中西医结合杂志》编辑部主任李焕荣博士、复旦大学附属妇产科医院妇产科研究所所长李大金教授、国医大师夏桂成学术继承人谈勇教授、山东中医药大学附属医院妇科国培、连方、叶青教授等 22 位知名专家分别进行了精彩的演讲。

7 月 26 日, 山东中医药大学附属医院生殖与遗传中心师生还精心准备了精彩的才艺表演。紧张与轻松, 分享与收获, 交流与结合, 大会得到了与会专家和代表的一致好评。很多医生表示本次大会的学术交流内容前沿、新颖又贴近临床, 回到科室后还要认真地学习和讨论。

(山东中医药大学附属医院 孙金龙供稿)