

[文章编号] 1007-385X(2004)01-0061-03

人参皂苷抗肿瘤作用的研究进展

李杰 综述; 宋淑霞, 吕占军 审阅 (河北医科大学实验动物学部, 河北石家庄 050017)

[摘要] 人参皂苷作为名贵药材, 历史悠久, 目前国内外对其活性进行了深入研究, 本文主要对在抗肿瘤方面的任用及其机理进行详细介绍, 包括: 促进肿瘤细胞凋亡、诱导肿瘤细胞分化, 增强化疗药物的敏感性, 抑制肿瘤血管形成, 提高机体抗肿瘤免疫力以及拮抗肿瘤细胞黏附, 相信随着对人参皂苷的药理作用的深刻认识, 人参皂苷在将来临床应用和预防治疗肿瘤方面具有潜在的应用前景。

[关键词] 人参皂苷; 凋亡; 分化; 增敏; 血管形成; 免疫

[中图分类号] R979.1 [文献标识码] A

* 人参 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 是我国名贵的药材, 已有数千年的药用历史。目前, 国内外对其主要的活性成分人参皂苷预防和抑制肿瘤的作用进行了深入研究。研究结果发现, 人参总皂苷及各单体化合物对促进肿瘤细胞凋亡, 促使肿瘤细胞分化, 提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性以及提高机体抗肿瘤的免疫力等方面有重要的作用。本文就这一方面的研究结果作一归纳, 以供参考。

按照人参皂苷的结构类型(羟基的数量不同)、糖基的数量和位置将分离鉴定出的 60 余种单体皂苷化合物分为 3 组。(a) oleanolic 酸型, 如人参皂苷 Ro; (b) 20(S)- 原人参萜二醇(PD)型, 如人参皂苷 Ra, Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Rg₃, Rh₂, Rs; (c) 20(S)- 原人参萜三醇型(PT), Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Rh₁^[1]。部分皂苷单体口服后以肠道菌群代谢产物的形式发挥药理作用, 例如: M₁^[2], M₄^[3] 分别是 20(S)- 原人参萜二醇型和 20(S)- 原人参萜三醇型人参皂苷在肠道细菌代谢的主要成分, 它们被小肠肠系膜淋巴结吸收后与脂肪酸发生酯化反应, 形成酯化的 M₁(EM₁) 和 M₄(EM₄), 积累在肺和肝组织内发挥作用。Rb₁, Rb₂ 和 Rc^[4,5] 通过肠道细菌代谢为 20-O-β-D-Glucopyranosyl-20(s)- 原人参萜二醇诱导细胞凋亡。

1 人参皂苷促进肿瘤细胞的凋亡、抑制肿瘤细胞增殖

不同种类、不同剂量的人参皂苷通过不同的途径诱导细胞凋亡。Park 等^[6]报道人参皂苷 Rg₃, Rg₅, Rk₁, Rs₅ 和 Rs₄ 对人肝癌细胞 SK-Hep-1 有较大毒性。Rg₅^[7] 与 Rs₄ (乙酰化 Rg₅)^[8] 诱导细胞凋亡的机理类似, 可以通过提高 p53 和 p21Cip/WAF1 (细胞周期依赖蛋白激酶抑制剂) 蛋白水平, 下调细胞周期 E 和 A 依赖的蛋白激酶活性, 诱导 SK-Hep-1 的凋亡, 且 Rs₄ 较 Rg₅ 更为有效。人参皂苷 Rg₃^[1] 是最有效的人前列腺癌细胞(LNCaP) 以及其它雄激素依赖的细胞增殖抑制剂。用 250 mmol/L 的 Rg₃ 与 LNCaP 孵育 48 h 后, 细胞失去了黏附特性。其机制为: (1) 减少 5α 还原酶基因的表达, 从而更有效的刺激促进前列腺细胞增殖的双水化睾酮素的产生。(2) 抑制细胞周期演化基因, 如增殖细胞核抗原(PCNA) 基因、细胞周期蛋白酶 D1 基因, 从而抑制细胞增殖;

通过增加细胞周期蛋白酶抑制基因, 如 p21 和 p27 基因的表达, 使细胞停留在 G₁ 期; (3) 通过下调抑制凋亡的基因 bcl-2 伴随激活促进凋亡必要的基因 caspase-3 诱导细胞凋亡。Wakabayashi 等^[2,8] 报道, 原人参萜二醇皂苷的肠道细菌代谢产物 M₁ 可以在 15 min 内进入细胞核内, 通过上调 p27kip1 的表达, 下调促进细胞增殖的基因 c-myc、细胞周期蛋白 D1 基因的表达, 诱导黑色素瘤细胞(B16-BL6) 的凋亡。Lee 等^[4] 提取并合成出的 Rb₁, Rb₂ 和 Rc 经肠道细菌代谢为 20-O-(β-D-Glucopyranosyl)-20(S)-protopanaxadiol [IH-901], 可以使细胞色素 C 从线粒体内释放, 在细胞质内积累, 从而激活蛋白酶原基因 caspase-3, 诱导人白血病细胞(HL-60) 凋亡。Han 等^[9] 报道浓度高于 10⁻⁵ g/ml 的人参总皂苷、PD 皂苷和 PT 皂苷通过抑制 DNA 合成抑制细胞生长。当浓度为 10⁻⁶ g/ml 时可以阻断表皮生长因子(EGF) 诱导的 c-fos, c-jun 基因表达, 抑制细胞增殖。

2 人参皂苷对肿瘤细胞分化的促进作用

人参皂苷 Rg₁ 和 Rh₁ 可在体外激活黑色素瘤细胞(B16F10) 内的腺苷酸环化酶, 剂量依赖性上调酪氨酸酶的活性和促进黑色素的产生, 显示出分化诱导能力^[10]。Lee 等^[11] 报道, 人参皂苷中的 Rh₁ 和 Rh₂ 通过刺激糖皮质激素受体的核转位诱导恶性畸胎瘤干细胞(F9) 的分化。人参茎叶总皂苷(ginseng styloid and leaf saponin, GSL) 对各型白血病细胞均有不同程度的诱导分化作用, 尤以对急粒单和单核粒白血病细胞的诱导分化作用较强。体外实验结果表明, 用 GSL 诱导后的 U937 细胞, 在形态及功能上均表现出向单核-巨噬细胞方向分化。从生物化学的角度^[12] 研究表明, 给予 GSL 后, 细胞内 cAMP、蛋白激酶 A 以及诱生干扰素的含量增加, 从而能诱导 U937 细胞分化。在信号转导方面^[13] 的研究表明, 一定剂量的人参皂苷能够有效地促进细胞核内的 c-fos 和 GATA-1 转录调控蛋白增加。c-fos 族蛋白通过亮氨酸拉链结构结合成同源或异源二聚体构成转录因子(血管生成

[基金项目] 国家 95 攻关课题(96-A23-06-03)

素-1) AP-1, AP-1 作用于基因调控序列中的转录因子 AP-1 结合位点上,启动靶基因的表达,调控细胞的分化。GATA 族蛋白属于锌指结构的转录家族,作用于靶基因的启动和/或增强子调节序列 T/A(GATA)G 结合部位,调节靶基因的表达,控制细胞的增殖分化。

3 人参皂苷对化疗药物的增敏作用

由于肿瘤细胞群体的非均一性,同一细胞株的不同克隆对药物的敏感性不同,且对化疗剂易产生耐药性。因此,寻求化疗增敏剂来加强细胞毒药物的杀伤作用或改变肿瘤细胞的耐药性已成为今后肿瘤化疗的新策略。高瑞兰等^[14]报道了人参总皂苷可以使化疗药物对白血病祖细胞集落(CFU-AML)形成抑制率显著增高,增强对白血病原始细胞的杀伤效果;18例 AML 的 72 项药敏实验中有 17 项经人参总皂苷作用后能使 CFU-AML 对化疗药物从不敏感转为敏感。其机理为:人参总皂苷可以刺激 AML 白血病祖细胞形成集落,使体内更多静止细胞进入细胞增殖周期,而处于增殖周期的细胞易于被化疗药物杀伤。FCM 细胞周期^[10]分析显示,人参皂苷 Rg₁ 与抗肿瘤剂甲环亚硝脲[1-(2-chloroethyl)-3-(4-methyl-cyclohexyl)-1-nitrosourea, MeCCNU] 联用,在体外能以非细胞周期选择方式诱导黑色素瘤细胞(B16F10)凋亡,而单用 Rg₁ 没有诱导细胞凋亡的作用。Rg₁ 与 MeCCNU 联用,在体外如何启动黑色素细胞发生凋亡? 是对黑色素瘤细胞株有选择性诱导,还是用 Rg₁ 来增强抗肿瘤剂的杀细胞作用,是否能在抗黑色素瘤治疗中发挥作用有待进一步研究。

4 人参皂苷抑制肿瘤新生血管形成

肿瘤微血管密度与肿瘤转移和复发密切相关。新生血管是在血管生长刺激因子的作用下,由瘤体邻近组织的小血管壁芽生,并向瘤组织浸润形成。此过程涉及到蛋白酶分解基底膜,内皮细胞迁移和增生及毛细血管网形成。由于新生微血管的基质不完善,如血管壁缺乏平滑肌支持,壁很薄,易通透,使肿瘤细胞易进入血管顺血流转移到远隔部位形成转移灶^[15];另一方面,新生血管可以为肿瘤细胞带来丰富的氧气和养料。近年来抗血管生成剂已成为肿瘤研究领域的热点之一。Sato 等^[16]报道人参皂苷 Rb₂ 可以通过抑制肿瘤血管的生成抑制黑色素瘤细胞(B16-BL6)肺转移。被称为血管生成抑制剂的 Rg₃ 可通过抑制血管形成,从而抑制高转移性的小鼠黑色素瘤细胞(B16FE17)的肺转移、BALB/c 小鼠结肠癌细胞(26-M3.1)肺转移以及大鼠大肠癌腹膜转移等多种肿瘤细胞的转移。高勇等^[17]用鸡胚绒毛尿囊膜(chorioallantoic membrane, CAM)实验观察到一定剂量的 Rg₃ 对 CAM 血管形成有明显的抑制作用。Rg₃ 抑制血管形成的机制之一是抑制碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的产生,而 bFGF 在体内可以通过自分泌和旁分泌机制,促进肿瘤血管发生,在体外可通过增加血管重建必需的金属蛋白酶活性促进血管形成^[14]。

5 人参皂苷提高机体抗肿瘤免疫力

机体内肿瘤免疫以细胞免疫为主。动物实验表明,给荷人卵巢癌细胞(HRA)的裸鼠每天口服人参皂苷 Rh₂[120 μmol/(L·d)],可抑制肿瘤细胞的增殖,延长裸鼠的生存时间(对照组 124 d, Rh-2 组 198 d)。这是由于 Rh-2 可以使 NK 细胞活性明显增加。人参皂苷 Rc, Rd, Rh₂ 可促进 T 细胞的增殖,增加 NK 细胞的活性。经脂肪酸酯化后的 20-(S)-原人参萜三醇(EM4),也可明显刺激机体 NK 细胞的活性从而杀伤肿瘤细胞。Rh₂ 经肠道细菌代谢的人参萜二醇^[18] 20-O-β-D-Glucopyranosyl-20(s)-人参萜二醇可通过诱导机体的免疫调节机制阻断肿瘤细胞向细胞外基质和基底膜转移^[19],明显抑制接种肺 Lewis 细胞(LLC)的 C57BL/6 小鼠的肺转移,与 5-FU 有相同的抗转移效果。

6 人参皂苷抑制肿瘤生长和转移的其它作用

肿瘤细胞与细胞外基质和基底膜成分纤维连接蛋白 FN、层黏连蛋白 LN 的黏附作用在肿瘤细胞转移过程中起重要的作用。这种交感黏附作用使肿瘤细胞得以生长和浸润。实验证实, Rg₃ 可以通过抑制肿瘤细胞对 FN 和 LN 的黏附作用而抑制肿瘤的转移。Iishi 等人^[20]用蛙皮素造成肠癌及转移模型,而 Rg₃ 可以通过减少细胞内[Ca²⁺]水平抑制其转移。

7 结论

总之,人参皂苷治疗肿瘤成为肿瘤治疗中新的热点,大量可行性试验已经证明,人参皂苷可以通过不同的途径对多种肿瘤细胞发挥杀伤作用,而对身体正常细胞基本无害。其中,人参皂苷 Rg₃ 的 II 期临床研究也收到了满意的治疗效果。但因人参皂苷抑瘤机制复杂,真正广泛用于临床尚有一段距离:不同种类的人参皂苷、不同的给药途径、不同的给药量以及针对不同的肿瘤细胞系、不同的时期荷瘤动物个体,在治疗机理以及治疗效果上都有很大差异。因此,对人参总皂苷及各皂苷单体的药理作用进一步研究有重要的意义。可以预言,随着对人参皂苷深入系统的研究,其多方面的生物学效应会逐渐被揭示出来,人参皂苷应用于临床肿瘤治疗指日可待。

[参考文献]

- [1] Liu WK, Xu SX, Che CT. Anti-proliferative effect of ginseng saponins on human prostate cancer cell line[J]. Life Sci, 2000, 67(11): 1297-1306.
- [2] Wakabayashi C, Murakami K, Hasegawa H, et al. An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxadiol saponins has the ability to induce apoptosis in tumor cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 246(3): 725-730.
- [3] Hasegawa H, Suzuki R, Nagaoka T, et al. Prevention of growth and metastasis of muine melanoma through enhanced natural-killer cytotoxicity by fatty acid-conjugate of protopanaxatriol[J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(7): 861-866.
- [4] Lee SJ, Ko WG, Kim JH, et al. Induction of apoptosis by a novel intestinal metabolite of ginseng saponin via cytochrome c-mediated

- activation of caspase-3 protease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60(5): 677-685.
- [5] Hasegawa H, Uchiyama M. Antimetastatic efficacy of orally administered ginsenoside Rb1 in dependence on intestinal bacterial hydrolyzing potential and significance of treatment with an active bacterial metabolite[J]. *Planta Med*, 1998, 64(8): 696-700.
- [6] Park IH, Piao LZ, Kwon SW, *et al.* Cytotoxic dammarane glycosides from processed ginseng[J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(4): 538-540.
- [7] Lee KY, Lee SK. Ginsenoside-Rg5 suppresses cyclin E-dependent protein kinase activity via up-regulation of p21^{Waf1} with concomitant down-regulation of cdc25A in SK-HEP-1 cells[J]. *Anticancer Res*, 1997, 17(2): 1067-1072.
- [8] Kim SE, Lee YH, Park JH, *et al.* Ginsenoside-Rs4, a new type of ginseng saponin concurrently induces apoptosis and selectively elevates protein levels of p53 and p21WAF1 in human hepatoma SK-HEP-1 cells[J]. *Eur J Cancer*, 1999, 35(3): 507-511.
- [9] Han HJ, Yoon BC, Lee SH, *et al.* Ginsenosides inhibit EGF-induced proliferation of renal proximal tubule cells via decrease of c-fos and c-jun gene expression *in vitro*[J]. *Planta Med*, 2002, 68(11): 971-974.
- [10] 雷铁池, 朱文元, 夏明玉. 人参皂苷 Rg1 对外培养鼠黑色素瘤细胞系的化疗增敏作用[J]. *中华皮肤科杂志*, 2000, 33(5): 338-341.
- [11] Lee YN, Lee YM, Chung HY, *et al.* Involvement of glucocorticoid receptor in the induction of differentiation by ginsenoside in F9 teratocarcinoma cells[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1998, 67(2): 105-111.
- [12] Okazaki T, Kato Y, Mochizuki T, *et al.* Staurosporine, a novel protein kinase inhibitor, Enhances HL-60-cell differentiation induced by various compounds[J]. *Exp Hematol*, 1998, 16: 42-44.
- [13] Li Y, Wang M. The role of transcription factor GATA-2 in early hematopoiesis[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2000, 8(1): 66-70.
- [14] 高瑞兰, 金锦梅, 牛泱平, 等. 人参皂苷增加白血病细胞对化疗药物的敏感性[J]. *中国中西医结合杂志*, 1999, 19(1): 17-19.
- [15] 郭新, 李玉林. 周细胞在肿瘤血管生成中的作用[J]. *肿瘤*, 2002, 22(6): 519-552.
- [16] Sato K, Mochizuki M, Saiki I, *et al.* Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of Panax ginseng, ginsenoside-Rb2 [J]. *Biol Pharm Bull*, 1994, 17(5): 635-639.
- [17] 高勇, 王杰军, 许青, 等. 人参皂苷 Rg3 抑制肿瘤新生血管形成的研究[J]. *第二军医大学学报*, 2001, 22(1): 40-42.
- [18] Nakata H, Kikuchi Y, Tode T, *et al.* Inhibitory effects of ginsenoside Rh-2 on tumor growth in nude mice bearing human ovarian cancer cell[J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89: 733-740.
- [19] Akabayashi C, Hasegawa H, Murata J, *et al.* *in vivo* antimetastatic action of ginseng protopanaxadiol saponins is based on their intestinal bacterial metabolites after oral administration[J]. *Oncology Res*, 1997, 9: 411-417.
- [20] Iishi H, Tatsuta M, Baba M, *et al.* Inhibition by ginsenoside Rg3 of bombesin-enhanced peritoneal metastasis of intestinal adenocarcinomas induced by azoxymethane in Wistar rats[J]. *Clin Exp Metastasis*, 1997, 15: 603-611.

[收稿日期] 2003 - 06 - 03

[修回日期] 2003 - 09 - 25

· 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2004)01-0063-01

检测 sIL-2R 水平探讨老年人肺癌免疫治疗的意义

田 辉, 彭书华, 王善政 (山东大学齐鲁医院胸外科, 济南 250012)

白细胞介素 2 (IL-2) 具有多种生物学活性, 在机体抗肿瘤免疫中起着重要作用。IL-2 通过作用于表达白介素-2 受体 (IL-2R) 的细胞而发挥其生物学功能, IL-2R 的胞外段脱落形成可溶性白介素-2 受体 (sIL-2R), 二者与肿瘤病情严重程度密切相关。我们采用双抗体夹心 ELISA 法和免疫组化法, 分别对 40 例老年人肺癌患者的血清及癌组织中 sIL-2R 的水平进行了检测, 以探讨肺癌免疫治疗的可行性。

本组 40 例肺癌患者中, 男 30 例, 女 10 例, 年龄 60 ~ 76 岁, 平均 65.4 岁。所有病例均经组织病理学检查确诊, 其中鳞癌 24 例, 腺癌 16 例。按 UICC 1997 年 TNM 的分期: I 期 4 例, II 期 9 例, III 期 21 例, IV 期 6 例。正常对照组 25 例, 均为本院正常健康献血者, 男 18 例, 女 7 例, 年龄 32 ~ 58 岁, 平均 46.5 岁。采用双抗体夹心 ELISA 法进行血清 sIL-2R 水平的检测, 采用免疫组化 (SABC) 法进行癌组织 sIL-2R 水平的检测, 检测结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

本研究结果发现, 肺癌患者血清 sIL-2R 水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$), 肺癌组织中 sIL-2R 水平也显著高于正

常肺组织 ($P < 0.05$)。结果提示肺癌患者体内由于 sIL-2R 水平升高, 与细胞膜 IL-2R 竞争 IL-2, 而使 IL-2 介导的免疫反应降低, 抑制了淋巴细胞的增殖及其活化功能, 从而削弱了机体的抗肿瘤免疫功能, 为老年人肺癌患者免疫治疗的可行性提供了一定的实验依据。研究结果还发现, 肺鳞癌与腺癌血清及癌组织中 sIL-2R 水平无显著性差异 ($P > 0.05$), 提示 sIL-2R 水平升高使 IL-2 介导的免疫反应降低, 在肺癌各类型中具有普遍意义。III ~ IV 期肺癌血清及癌组织中 sIL-2R 水平显著高于 I ~ II 期 ($P < 0.05$), 提示随着肿瘤的发展, 机体的免疫功能进一步削弱。因此我们认为, sIL-2R 检测对老年人肺癌病情变化、预后评价及免疫治疗的可行性具有一定的临床指导意义。

[关键词] 肺癌; 双抗体夹心 ELISA; 免疫组化染色; 可溶性白细胞介素 II 受体

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] D

[收稿日期] 2003 - 11 - 03

[修回日期] 2003 - 12 - 20