

ry antibodies to HER-2/ErbB-2 may act by recruiting c-Cbl and enhancing ubiquitination of HER-2[J]. Cancer Res, 2000, 60(13): 3384-3388.

c-ErbB2/Neu[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(20): 12847-12852.

[28] Xu W, Marcu M, Yuan X, et al. Chaperone-dependent E3 ubiquitin ligase CHIP mediates a degradative pathway for

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-06-11)

· 综 述 ·

熊果酸抗肿瘤作用及其机制研究进展

刘毅敏, 张定林, 肖 湘, 刘海红 综述, 赵先英[△] 审校
(第三军医大学药学院化学教研室, 重庆 400038)

关键词: 熊果酸; 抗肿瘤; 机制

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)04-0398-03

熊果酸(ursolic acid, UA)又名乌索酸、乌苏酸, 属五环三萜类化合物, 广泛存在于天然植物如枇杷叶、夏枯草、车前草、熊果、女贞子、山楂、白花蛇舌草等中, 以游离或与糖结合成苷形式存在。研究表明, 熊果酸具有多种药理活性, 尤其是抗肿瘤活性, 它不仅对多种致癌、促癌物有抵抗作用, 而且对多种恶性肿瘤有抑制和细胞毒作用^[1-2]。近年来, 熊果酸抗肿瘤活性及其机制研究是其药理活性中最受关注的研究内容。

1 抗肿瘤作用

熊果酸对肺癌具有抗增殖和诱导凋亡的作用^[3-5]。刘茜等^[6]报道, 熊果酸能明显抑制体外人肺癌 A549 细胞的生长, 并呈时间和浓度依赖。熊果酸作用 24、48 h 后, A549 细胞阻滞在 G₀/G₁ 期, 随后细胞呈现典型的凋亡核固缩表现, 细胞核呈致密浓染的颗粒状或块状荧光。细胞质检测到活性激活环氧酶(cyclo-oxygenase, Caspase-3)蛋白的表达增强, 并呈时间依赖, 同时, 核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)表达随时间延长而减弱。研究表明, 熊果酸在体外对人肺癌 A549 细胞具有抗增殖和诱导凋亡的作用, 其诱导凋亡机制可能是通过抑制 NF-κB 活性, 激活 Caspase-3, 从而诱导细胞的凋亡。

通过人肺癌 A549 细胞裸鼠移植瘤探讨了熊果酸的体内抗肿瘤作用^[7]。结果显示, 熊果酸明显降低移植瘤的生长速度, 治疗结束时, 瘤质量及瘤体积明显减小, 抑瘤率为 51.35%, 表明熊果酸可以抑制肺癌移植瘤的生长。并且实验组裸鼠心、肝、肾、肺、脑组织苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色切片显示组织结构正常, 未见异常病灶, 也未发现裸鼠的其他药物不良反应, 表明熊果酸抗肿瘤作用时对机体无明显的毒副作用。还检测了两组移植瘤组织内的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)蛋白表达、微血管密度计数以及癌细胞的凋亡指数, 结果表明用熊果酸治疗的裸鼠 VEGF 表达和微血管密度(microvessel density, MVD)均明显降低。提示, 熊果酸抗肿瘤机制可能与降低移植瘤促血管生成因子 VEGF 的表达、抑制新生血管的形成和促进肿瘤细胞凋亡有关。

2 抗乳腺癌作用

熊果酸可以抑制乳腺癌细胞增殖并诱导其凋亡^[8]。Her-2 是乳腺癌中一个重要的预后生物学因子, Her-2 过度表达与淋巴结转移、激素受体状态密切相关。SK-BR-3 细胞株是一种过度表达 Her-2/c-erb-2 基因产物的乳腺癌细胞株, 研究表明, 熊果酸明显抑制 SK-BR-3 细胞的增殖, 并呈时间和浓度依赖性。经熊果酸处理后的细胞呈现典型的凋亡核固缩表现, 细胞核呈

致密的颗粒状或块状。熊果酸作用 48 h 后, SK-BR-3 细胞阻滞在 G₀/G₁ 期, DNA 大片段断裂, 说明熊果酸在体外对 SK-BR-3 细胞具有抗增殖和诱导凋亡的作用。

熊果酸有诱导 MCF-7 人乳腺癌细胞的凋亡作用^[9], 其机制涉及到 Bax/Bcl-2 比值升高引起线粒体释放 cytochrome c 所依赖的凋亡调节信号通路。也有研究表明熊果酸诱导 MCF-7 细胞凋亡可能是依赖于细胞内 Ca²⁺ 水平上调^[10]。

3 抗胃癌作用

熊果酸能够抗胃癌细胞增殖和诱导其凋亡。研究显示熊果酸可以抑制人胃癌 SGC-7901 细胞、胃癌 BGC-823 细胞的增殖^[11-13]。对胃癌细胞 BGC-823 增殖的抑制机制可能与下调 Bcl-2 基因和上调 Bax 基因表达、Caspase-3 及 Caspase-8 有关, 而熊果酸抑制 SGC-7901 细胞系的作用与 COX-2 途径有关。COX 是花生四烯酸生物合成前列腺素的限速酶, 包括 COX-1 和 COX-2。其中 COX-2 在正常组织中一般不表达, 但在细胞因子、肿瘤刺激物等诱导下迅速合成, COX-2 的高表达与肿瘤形成、复发、转移和浸润过程密切相关。研究表明, 熊果酸在抑制 SGC-7901 细胞增殖的同时, 可降低细胞的 COX-2 蛋白表达水平。

熊果酸可以导致胃癌细胞 BGC-823、SGC-7901 的凋亡^[11-14]。Mcl-1 与肿瘤的发生密切相关, 在多种肿瘤组织均有过度表达。有学者研究了熊果酸对体外胃癌细胞凋亡相关基因 Mcl-1 表达的影响^[11, 15], 结果显示, 熊果酸导致细胞凋亡的同时, 也能降低胃癌细胞 Mcl-1 基因的表达, 这可能是熊果酸抑制胃癌细胞的重要机制之一。但下调 Mcl-1 水平可增加肿瘤细胞对各种化疗药物的敏感性, 采用反义技术抑制 Mcl-1 基因的表达也可直接促进肿瘤细胞的凋亡^[16-17], 这提示可利用抑制 Mcl-1 基因表达的方法治疗胃癌。

4 抗结肠癌作用

熊果酸对结肠癌有较强的细胞毒和诱导细胞凋亡作用^[18-19]。用熊果酸对人结肠癌 HCT-15、HT-29 细胞进行处理, 结果显示, 细胞周期阻滞于 G₀ 和 G₁ 期, S 期细胞下降, 出现核固缩、碎裂、亚二倍体细胞, 表现出显著的细胞凋亡征象。在 HT-29 细胞凋亡过程中, 凋亡相关基因 Caspase-9 的表达增强, Bcl-2 的表达减弱。提示熊果酸诱导结肠癌 HT-29 细胞凋亡主要与促进 Caspase-9 的活化、下调 Bcl-2 的表达有关, 凋亡是熊果酸杀伤肿瘤细胞的机制之一。研究中还发现, 用 30 μmol/L 熊果酸作用 24 h 后, 检测到 HT-29 细胞碎片, 这一结果表明, 细胞毒性导致的细胞坏死可能也是熊果酸杀伤肿瘤

[△] 通讯作者, Tel: 13618380938.

细胞的机制之一。

5 抗白血病作用

熊果酸可以诱导人白血病细胞凋亡^[20]。熊果酸作用于不同类型的人急性白血病 U937、Jurkat、HL60 细胞后^[21],引起 Caspase-3、Caspase-9 的降解/活化的增加,并引起凋亡作用底物聚腺甘二磷酸核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 的降解增加,导致细胞凋亡的发生,提示熊果酸可能是通过线粒体依赖性途径而导致急性白血病细胞发生凋亡。Mcl-1 的下调可能在熊果酸诱导急性白血病细胞凋亡中起着重要的作用,其作用机制可能为熊果酸引起 Mcl-1 的下调,随后引起凋亡相关蛋白 Caspase-3、Caspase-9 的降解/活化及 PARP 的降解,最终促进细胞凋亡发生。

有研究证明,熊果酸在体外能诱导人单核细胞白血病 THP-1 细胞、人红白血病 K562 细胞凋亡^[22-23]。试验显示,40 $\mu\text{mol/L}$ 的熊果酸作用 48 h 后,THP-1 细胞和 K562 细胞核体积变小、皱缩,染色体 DNA 呈浓染的团块状、颗粒状分布,并出现凋亡小体。经细胞周期检测,THP-1 细胞的 G₁ 期细胞数减少,细胞主要阻滞在 S 期。

在 K562 细胞凋亡的同时,细胞内 Bcl-2 表达下降,Bax 表达升高,Caspase-3 被激活,磷酸化酪氨酸表达下降,提示提高 Bax 的表达、诱导 Caspase-3 活化及降低 Bcl-2/Ab1 融合基因 (Bcr/Ab1 fusion gene,BCRPABL) 的酪氨酸激酶活性可能是其作用机制之一。

6 抗肝癌作用

熊果酸能够抑制人肝癌细胞的增殖和诱导其凋亡^[24-25]。有学者研究熊果酸对人肝癌细胞 BEL-7404 细胞、Hep G2 的作用,用不同浓度的熊果酸在体外作用于 BEL-7404 细胞,结果显示,熊果酸对 BEL-7404 细胞增殖具有抑制作用,且呈现浓度和时间依赖性。用 50 $\mu\text{mol/L}$ 的熊果酸作用 48 h 后,BEL-7404 细胞凋亡率约为 16.10%,且 procaspase-3、survivin 蛋白表达降低,Caspase-9 蛋白表达升高。survivin 是被克隆出的一种凋亡抑制蛋白,是迄今发现最强的凋亡抑制因子,Caspase 是细胞凋亡的核心环节。研究结果表明,熊果酸对 BEL-7404 细胞具有明显的增殖抑制与诱导凋亡作用,其作用机制与 procaspase-3、survivin 蛋白表达降低及 Caspase-9 蛋白表达升高有关。熊果酸对肝癌 Hep G2 细胞的增殖抑制和诱导凋亡的机制,可能是 COX-2 及其产物人前列腺素 E2 (PGE₂) 减少,使抗凋亡基因 Bcl-2 的表达减弱,同时使 Fas 表达增强而发挥作用。

7 抗脑胶质瘤作用

熊果酸能够诱导脑胶质瘤细胞凋亡^[26]。研究表明,熊果酸能明显抑制胶质瘤裸鼠移植瘤的生长^[27]。细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases,ERK) 信号通路是多种信号的交汇点或共同通路,在细胞的增殖和分化调控中发挥重要作用,ERK 通路的过度激活与肿瘤的发生、发展密切相关^[28]。熊果酸处理后,脑胶质瘤裸鼠移植瘤中 ERK1、C-Jun、C-Myc、CyclinD1 的表达明显降低,提示熊果酸抑制恶性胶质瘤裸鼠移植瘤生长的机制可能与下调 ERK1、C-Jun、C-Myc、CyclinD1 表达有关,可能是通过抑制 ERK 信号通路的活性,从而抑制恶性胶质瘤裸鼠移植瘤的生长。

据操廉等^[29]报道,熊果酸明显诱导脑胶质瘤细胞株 U251 凋亡,细胞核 DNA 呈梯状降解。研究还发现,熊果酸可剂量依赖性抑制 survivin 表达,同时上调 Caspase-3 表达,提示熊果酸诱导 U251 细胞凋亡与其抑制 survivin 表达、同时上调 Caspase-3 表达有关。

8 结 语

目前,癌症是导致人类死亡的主要疾病,多种癌症仍不可治愈,研发抗癌药物是许多科学家努力的事业。许多研究表明,熊果酸抗肿瘤作用明显,具有毒副作用小、多方面和全方位等特点,且在自然界中分布广泛,资源丰富,因此,具有广阔的开发应用前景。通过深入研究和不断开发,熊果酸有望成为一种高效低毒的抗肿瘤新药。

参考文献:

- [1] Furtado RA, Rodrigue EP, Araujo FR, et al. Ursolic acid and oleanolic acid suppress preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in rat colon[J]. Toxicol Pathol, 2008,36(4):576-580.
- [2] Achiwa Y, Hasegawa K, Udagawa Y. Regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt and thymidine-activated protein kinase pathways by ursolic acid in human endometrial cancer cells [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2007,71(1):31-37.
- [3] Lai MY, Leung HW, Yang WH, et al. Up-regulation of matrixmetalloproteinase family gene involvement in ursolic acid-induced human lung non-small carcinoma cell apoptosis[J]. Anticancer Res, 2007,27(1A):145-153.
- [4] Reid P, Qin ZH, Yan CH, et al. Contributions of autophagic and apoptotic mechanisms to CrTX-induced death of K562 cells[J]. Toxicon, 2006,47(3):521-530.
- [5] Hsu YL, Kuo PL, Lin CC, et al. Proliferative inhibition, cell cycle dysregulation, and induction of apoptosis by ursolic acid in human non-small cell lung cancer A549 cell [J]. Life Sci, 2004,75(19):2303-2310.
- [6] 刘茜,刁路明,吕秀红.熊果酸对 A549 细胞增殖、凋亡的影响及其机制[J]. 肿瘤防治研究, 2006,33(11):802-804.
- [7] 李希波,孙雪飞,尹秋伟,等.熊果酸体内抗肿瘤作用机制探讨[J]. 山东大学学报:医学版, 2007,45(2):188-191
- [8] 徐新伟,郭玲,顾振纶,等.熊果酸对乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 苏州大学学报:医学版, 2009,29(1):68-73.
- [9] 张贵平,黎银燕,吕嘉春,等.熊果酸通过影响 Bax 和 Bcl-2 的表达诱导 MCF-7 人乳腺癌细胞凋亡[J]. 第四军医大学学报, 2005,26(20):1877-1880.
- [10] 吴其年,黄炜,黄敏珊.熊果酸对人乳腺癌细胞增殖抑制、凋亡和细胞内游离 Ca²⁺ 的影响[J]. 肿瘤学杂志, 2004,19(3):145-147.
- [11] 胡志芳,邓涛,张奕颖,等.熊果酸抑制人胃腺癌 SGC-7901 细胞系 COX-2 的表达[J]. 基础医学与临床, 2007,27(5):557-560.
- [12] Sun WH, Zhu F, Chen GS, et al. Blockade of cholecystikinin-2 receptor and cyclooxygenase-2 synergistically induces cell apoptosis, and inhibits the proliferation of human gastric cancer cells in vitro[J]. Cancer Lett, 2008,263(2):302-311.
- [13] 陈会敏,张静,胡志芳.熊果酸诱导胃癌细胞 BGC-823 凋亡机制的研究[J]. 武汉大学学报:医学版, 2006,27(3):209-302.
- [14] 詹刚,许可.熊果酸对体外胃癌细胞 Mcl-1 基因表达的影响[J]. 西南国防医药, 2009,19(3):278-280.
- [15] Pepper C, Lin TT, Pratt G, et al. Mcl-1 expression has in

vitro and in vivo significance in chronic lymphocytic leukemia and is associated with other poor prognostic markers[J]. *Blood*, 2008, 112(9): 3807-3817.

- [16] Skoda C, Erovic BM, Wachek V, et al. Down-regulation of Mcl-1 with antisense technology alters the effect of various cytotoxic agents used in treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Oncol Rep*, 2008, 19(6): 1499-1503.
- [17] Wachek V, Cejka D, Sieghart W, et al. Mcl-1 is a relevant molecular target for antisense oligonucleotide strategies in gastric cancer cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(10): 1348-1354.
- [18] Li J, Guo WJ, Yang QY. Effects of ursolic acid and oleanolic acid on human colon carcinoma cell line HCT15[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(3): 493-495.
- [19] 谭洁, 沈志祥, 耿伟. 熊果酸诱导结肠癌 HT-29 细胞凋亡的实验研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2006, 28(2): 99.
- [20] Liu XS, Jiang J. Induction of apoptosis and regulation of the MAPK pathway by ursolic acid in human leukemia K562 cells[J]. *Planta Med*, 2007, 73(11): 1192-1194.
- [21] 王晓芹, 曹波, 高宁. 熊果酸诱导人急性白血病细胞凋亡及其作用机制[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(2): 105-108.
- [22] 陈金荣, 刘丽, 袁文丹, 等. 熊果酸对单核细胞白血病细胞作用机制的初步研究[J]. *中国微循环*, 2006, 10(3): 185-187.

- [23] 张秋萍, 谢璐琨, 邓涛, 等. 熊果酸促进 K562 细胞凋亡[J]. *基础医学与临床*, 2004, 24(4): 414-417.
- [24] 王辉, 方全华, 李海军. 熊果酸诱导人肝癌 BEL-7404 细胞凋亡的作用及其机制[J]. *肿瘤基础与临床*, 2010, 23(2): 93-95.
- [25] Tian Z, Lin G, Zheng RX, et al. Anti-hepatoma activity and mechanism of ursolic acid and its derivatives isolated from *Aralia decaisneana*[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(6): 874-879.
- [26] Bonaccorsi I, Altieri F, Sciamanna I, et al. Endogenous reverse transcriptase as a mediator of ursolic acid's anti-proliferative and differentiating effects in human cancer cell lines[J]. *Cancer Lett*, 2008, 263(1): 130-139.
- [27] 刘琼, 叶秀峰, 张徽. 熊果酸抑制胶质瘤裸鼠移植瘤生长及其机制的初步探讨[J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(11): 1041-1044.
- [28] Bhaskara VK, Sundaram C, Babu PP. pERK, pAkt and pBad: a possible role in cell proliferation and sustained cellular survival during tumorigenesis and tumor progression in ENU induced transplacental glioma rat model[J]. *Neurochem Res*, 2006, 31(9): 1163-1170.
- [29] 操廉, 王林风, 李庆阳. 熊果酸对脑胶质瘤细胞株 U251 凋亡及 survivin 和 Caspase-3 表达的影响[J]. *医药导报*, 2009, 28(10): 1271-1273.

(收稿日期: 2011-02-19 修回日期: 2011-05-22)

(上接第 384 页)

3 讨论

消化内镜已成为诊断和治疗上消化道疾病的一个重要方法, 内镜下视野的清晰度可保证检查的准确性和可靠性, 缩短检查时间, 顺利完成活检。但往往由于患者自身的紧张和镜身的刺激作用, 患者会吞入和分泌大量口水和唾液, 从而使消化道黏膜覆盖大量泡沫和液体, 导致内镜下视野模糊, 严重影响了医师的观察和操作, 并由于反复抽吸和盐水冲洗而延长了检查时间, 也给患者带来了额外的痛苦。

二甲硅油散是一种安全无毒的祛泡剂, 主要成分为二甲硅油和二氧化硅, 可用于婴幼儿及孕妇。其主要作用是通过降低消化道内泡沫表面的张力, 促使泡沫破裂, 而释放出的气体随胃肠蠕动排出体外^[3]。目前国内外的研究已多次证实, 在胃镜或肠镜检查前口服二甲硅油散无明显不良反应, 且可明显提高内镜下视野的清晰度, 有利于医师发现微小病灶, 并缩短检查时间, 减少患者的痛苦^[4-7]。而本研究结果也同样表明, 与未服用二甲硅油散的对照组相比较, 二甲硅油散可显著提高胃镜下黏膜视野的清晰度, 提高检查的诊断率, 减少漏诊及误诊率。

综上所述, 胃镜检查前口服二甲硅油散有较好的祛泡效果, 可清除消化道黏膜表面的泡沫和黏液, 增加内镜下视野的清晰度, 有利于医师的观察和操作, 从而提高病变(尤其是微小病变的检出率)。此外, 二甲硅油散使用方便、价格低廉、安全可靠的优点可广泛应用于内镜的检查前准备, 应在临床实践中加以推广。

参考文献:

- [1] 张海, 余力群, 方春华, 等. 二甲硅油散在结肠镜检查术前

准备中的作用研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2011, 20(3): 260-262.

- [2] 葛勤力, 万顺梅, 李玉霞. 二甲硅油散在胃镜检查中的应用价值[J]. *西北国防医学杂志*, 2010, 31(6): 419-421.
- [3] 辛磊, 李兆申. 二甲硅油在消化内镜诊治中的应用[J]. *中华消化内镜杂志*, 2009, 26(8): 445-448.
- [4] 武育卫, 冯霞, 彭贵勇, 等. 二甲硅油散在上消化道内镜检查中的作用[J]. *中华消化内镜杂志*, 2009, 26(2): 95-96.
- [5] American Society of Colon and Rectal Surgeons (ASCRS), American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE), Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons (SAGES), et al. A consensus document on bowel preparation before colonoscopy: prepared by a task force from the American Society of Colon and Rectal Surgeons (ASCRS), the American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE), and the Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons (SAGES)[J]. *Surg Endosc*, 2006, 20(3): 1161-1163.
- [6] Albert J, Gbel CM, Lesske J, et al. Simethicone for small bowel preparation for capsule endoscopy: a systematic, single-blinded, controlled study [J]. *Gastroenterol Endosc*, 2004, 59(19): 487-491.
- [7] Ge ZZ, Chen HY, Gao YJ, et al. The role of simethicone in small-bowel preparation for capsule endoscopy[J]. *Endoscopy*, 2006, 38(8): 836-840.

(收稿日期: 2011-01-09 修回日期: 2011-05-22)