

· 综 述 ·

原花青素抗肿瘤作用及机制研究进展

张峰源¹综述,赵先英²,张定林²,季卫刚²,刘毅敏^{2△}审校

(1. 第三军医大学学员旅十五队,重庆 400038;2. 第三军医大学药学院化学教研室,重庆 400038)

关键词:原花青素;抗肿瘤;进展

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.27.041

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)27-2887-03

原花青素(proanthocyanidins,PC)是植物王国中广泛存在的一类多酚化合物的总称,是一种有着特殊分子结构的生物类黄酮,占葡萄籽提取物的85%。低聚PC的生物适应性好,生物利用度高,毒性低。近年来的研究表明,PC能抑制多种肿瘤细胞生长,促进肿瘤细胞凋亡^[1],而且还能拮抗化疗药物对正常细胞的毒性^[2],具有较好的防癌、抗癌功效^[3-4]。PC的抗癌细胞增殖和诱导其凋亡作用及其机制已成为近年来天然抗肿瘤药物的研究热点之一。本文就PC抗肿瘤作用及机制的研究进展进行综述。

1 PC抗前列腺癌

PC具有抗前列腺癌细胞增殖的作用。有研究显示,PC对前列腺癌PC-3细胞的生长有显著的抑制作用,并呈明显的量效和时效关系^[5]。研究还发现,PC将PC-3细胞周期阻滞在G₀/G₁期,通过caspase途径诱导细胞凋亡。孙怡等^[6]用细胞线粒体膜电位的变化来研究PC诱导前列腺癌PC-3细胞凋亡的机制,研究发现PC诱导PC-3细胞凋亡的机制与降低线粒体膜电位有关。用100、200、300 μg/mL PC分别作用于PC-3细胞24 h后,细胞线粒体膜电位强度下降。随着PC作用浓度的增加,弱荧光细胞显著增多,300 μg/mL PC作用24 h后,弱荧光的细胞增加到87.3%。100 μg/mL PC作用细胞24 h,5.64%的细胞出现早期凋亡,84.7%的PC-3细胞呈现线粒体膜电位降低;300 μg/mL PC处理后,PC-3细胞凋亡率和坏死率分别为44.86%、50.81%。研究表明PC可在体外诱导PC-3细胞凋亡,其机制与降低线粒体膜电位有关。利用PC作用于大鼠的肾细胞,发现PC对肾细胞的毒性较小,从而为临床应用PC预防和治疗前列腺癌提供了依据。

PC不仅仅对前列腺癌PC-3细胞起抑制作用。有研究发现,利用PC处理人雄激素依赖性前列腺癌细胞株LNCaP细胞后,发现PC也可引起体外前列腺癌LNCaP细胞形态的明显改变^[7]。用不同浓度100、200、300 μg/mL的PC对LNCaP细胞作用后,发现细胞增殖抑制率分别为27.1%、72.1%、86.4%。经检测证实300 μg/mL PC处理LNCaP细胞72 h可引起36.5%的凋亡率,通过利用不同浓度的PC,不同的时间作用于前列腺癌LNCaP细胞,发现细胞增殖抑制率随PC浓度和作用时间的延长而增强,结果表明PC可在体外抑制前列腺癌LNCaP细胞增殖,并促进其凋亡且有时间剂量效应。

2 PC抗卵巢癌

PC对卵巢癌的预防和治疗也有很好的疗效。有研究报道PC对卵巢癌细胞的生长抑制及诱导凋亡的作用^[8]。用不同浓度的PC不同时间处理卵巢癌顺铂耐药细胞COC1/DDP,检测处理后细胞的细胞周期及其细胞的凋亡情况,发现PC可引起

COC1/DDP细胞形态明显的凋亡,对COC1/DDP具有明显的增殖抑制的作用,当超过一定浓度也会诱导卵巢癌细胞的凋亡,并且随着药物浓度的增加,凋亡率显著增加,呈剂量-时间依赖性。

研究发现,PC可以在体外抑制COC1/DDP细胞的增殖并诱导其凋亡,其作用机制可能与COC1/DDP细胞上的caspase-3蛋白表达有关。同时也用caspase-3蛋白的表达活性来研究PC诱导卵巢癌顺铂耐药细胞凋亡的机制,用不同浓度的PC处理COC1/DDP细胞,经检测发现经过PC处理后细胞内有caspase-3蛋白的表达,并且随着药物浓度增加,caspase-3蛋白表达也随之增加,也呈现出剂量-时间依赖性^[8]。为了深入了解PC对卵巢癌顺铂耐药细胞中caspase-3蛋白的作用机制,Roy等^[9]在研究卵巢JB6 C141细胞时,发现PC可以通过增大Bax/Bcl的比例,最终激活caspase-3蛋白的表达,促使肿瘤细胞凋亡^[10]。在PC对卵巢癌SKOV3细胞增殖和凋亡的影响研究中发现PC也可通过降低survivin的表达,间接抑制caspase-3的活性从而促进细胞的凋亡^[11]。

3 PC抗乳腺癌

PC具有诱导乳腺癌细胞凋亡的作用。当用PC处理体外悬浮培养的乳腺癌MCF-7细胞时,发现乳腺癌MCF-7细胞有自身脱落凋亡的作用^[12],但是当在悬浮培养的乳腺癌MCF-7细胞中加入PC后,却发现当PC的浓度为0.1 mmol/L时,导致悬浮培养的细胞失去聚集成团的能力,由此对乳腺癌MCF-7细胞的生长起到抑制和诱导其凋亡的作用。李丽等^[13]用PC分别在体外处理人乳腺癌MCF-7细胞及其耐药株MCF-7/ADR细胞,研究PC对多药耐药的逆转作用,以及PC对GSTπ、Topo II α等多药耐药相关蛋白表达状况。经实验研究发现PC可使MCF-7/ADR细胞GSTπ表达下降,但对Topo II α表达无相关影响。此实验证实PC具有多药耐药逆转作用,其机制可能与降低肿瘤细胞内GSTπ的表达有关。有关PC耐药性机制的研究,许多研究者做了大量的实验。经实验发现,PC是通过抑制Pgp的表达,使得耐药株MCF-7/ADR细胞具有耐药性,从而诱导肿瘤细胞的凋亡^[14]。

4 PC抗膀胱癌

PC对膀胱癌有预防和治疗的功效。刘洁等^[15]报道了PC对人膀胱癌细胞株BIU87细胞增殖和凋亡的影响,用BIU87细胞与50、100、200 μg/mL的PC共同孵育24 h后,分别检测PC对膀胱癌细胞株BIU87细胞的增殖抑制率以及细胞凋亡的情况,结果发现不同浓度(50、100、200 μg/mL)的PC对BIU87细胞的增殖抑制率分别为(13.0±1.5)%、(31.8±2.1)%、(48.6±1.8)%;凋亡率分别为(8.7±0.7)%、28.2±

1.6%)、(48.5±0.7)%;细胞增殖抑制率和凋亡率均随 PC 浓度的升高而增高,呈浓度依赖性。研究还发现,低浓度的丝裂霉素 C(MMC)与 PC 联合应用,可以对膀胱癌细胞株 BIU87 细胞起到更好的效果。如果二者的浓度过高,反而会起到拮抗的作用。为了使 PC 对膀胱癌的作用发挥出最好的效果,有学者对 MMC 和 PC 两种药物在不同浓度下单独及联合应用时的作用效果进行了大量实验,希望可以得到二者协同发挥最好效果时的最佳浓度,从而利用二者起最大协同作用时的浓度有效的诱导膀胱癌细胞凋亡^[16]。研究发现,当 MMC、PC 单独应用时,BIU87 细胞生长的抑制作用随药物浓度的增加而增加,呈现浓度依赖性,中效浓度分别为 15.422、195.865 g/mL。当 MMC 与 PC 联合应用时,其作用效果表现为在低浓度(0%~<37%)时呈协同作用(CI<1),高浓度(37%~<100%)时呈拮抗作用(CI>1),中效浓度为 109.496 g/mL。

5 PC 对其他肿瘤的作用

近年来报道,PC 不仅仅局限于对以上肿瘤细胞有明显的治疗效果,而且对其他肿瘤细胞也有着较明显的治疗效果。为了研究 PC 是否可以诱导胃癌细胞的脱落和凋亡,利用细胞形态学观察、细胞染色实验和流式细胞仪检测方法观察 PC 对悬浮培养的胃癌细胞生长状态和细胞周期的影响以及诱导脱落凋亡作用的方法进行了大量的实验研究^[17]。通过对实验结果分析,发现 0.11 mmol/L PC 可抑制抗脱落凋亡的胃癌细胞聚集成分,0.15 mmol/L PC 可阻滞悬浮培养的不同胃癌细胞于不同的细胞周期,并诱导胃癌细胞发生脱落凋亡。

有研究用 PC 处理促癌剂 TPA 诱导过的小鼠皮肤肿瘤细胞,结果发现,经 PC 处理过的小鼠,皮肤癌的发病率远远低于对照组^[18]。利用富含 PC 的松树皮提取物(PMBE)处理肝癌 BEL-7402 细胞发现,PMBE 可能通过下调 bcl-2 基因的表达抑制 BEL-7402 细胞的生长,并诱导其凋亡^[19]。研究报道 PC 可以诱导口腔内鳞癌细胞 HSC-2 及涎腺癌细胞增殖抑制基因(HSG)的凋亡^[20],其作用机制可能是通过激活 caspase,使细胞角蛋白 18 (cytokeratin18)发生降解从而促进细胞的凋亡,同时对正常牙龈成纤维细胞的肝细胞生长因子(HGF)也起到了保护作用。Yamagishi 等^[21]发现 CLPr 对 PhIP 诱导的大鼠胰腺癌细胞的活性有明显的抑制作用。有研究利用 PC 处理经氧化偶氮甲烷诱导后的大鼠结肠癌细胞,结果发现当喂小鼠以 0.1%~1.0%的 PC 时,结肠癌的发病率降低了 72%~88%,且鸟氨酸脱羧酶(ODC)活性降低了 20%~56%^[22]。Meeran 等^[23]发现 PC 可能通过 caspase-3 蛋白激活的凋亡通路诱导人上皮细胞癌细胞株 A431 的凋亡。Sato 等^[24]研究发现葡萄籽提取物 PC 可以促进缺血-再灌注后心脏收缩功能的恢复,心肌梗死范围明显减小,并且通过荧光显示,PC 能够直接清除过氧自由基。梁慧敏等^[25]发现 PC 作用于人肝 SMMC-27721 细胞使细胞甲胎蛋白 mRNA 表达量明显下降,碱性磷酸酶活性明显升高,对肝 SMMC-27721 细胞起到抗增殖和促分化作用。

6 结 语

综上所述,PC 诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞生长的作用明显,具有耐受性好,无致畸、致突变,基本无毒副作用等特性,而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,PC 有望成为一种高效低毒的抗肿瘤新药。当然,这些作用都还处于研究阶段,其机制及药理作用的靶点都还不是特别清楚,还有待于进一步

深入研究。

参考文献:

- [1] Sharma G, Tyagi AK, Singh RP, et al. Synergistic anti-cancer effects of grape seed extract and conventional cytotoxic agent doxorubicin against human breast carcinoma cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2004, 85(1): 1-12.
- [2] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, et al. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002(957): 260-270.
- [3] Ye X, Krohn RL, Liu W, et al. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 1999, 196(1/2): 99-108.
- [4] Kaur M, Singh RP, Gu M, et al. Grape seed extract inhibits in vitro and in vivo growth of human colorectal carcinoma cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 Pt 1): 6194-6202.
- [5] 黄婷婷, 商学军, 姚根宏, 等. 葡萄籽提取物对前列腺癌 PC-3 细胞的生长抑制作用 [J]. *中华男科学杂志*, 2008, 14(4): 331-333.
- [6] 孙怡, 商学军, 葛京平, 等. 原花青素对前列腺癌 PC-3 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *山东医药*, 2006, 46(6): 12-14.
- [7] 吴自劬, 黄浩, 丁雪梅, 等. 原花青素对前列腺癌 LNCaP 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(4): 449-504.
- [8] 胡琴琴, 钟玲, 徐蕾, 等. 葡萄籽原花青素对人卵巢癌耐药细胞 COC1/DDP 在体外的增殖抑制作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(21): 2124-2127.
- [9] Roy AM, Baliga MS, Elmets CA, et al. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis through p53, Bax, and caspase 3 pathways [J]. *Neoplasia*, 2005, 7(1): 24-36.
- [10] Ruvolo PP, Deng X, May WS. Phosphorylation of Bcl2 and regulation of apoptosis [J]. *Leukemia*, 2001, 15(4): 515-522.
- [11] 池余刚, 钟玲, 伍霞, 等. 原花青素对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(23): 2203-2206.
- [12] 韩炯, 李莹, 刘新平, 等. 葡萄籽提取物原花青素诱导乳腺癌 MCF-7 细胞脱落凋亡 [J]. *中草药*, 2003, 34(8): 722-725.
- [13] 李丽, 周庚寅, 张翠娟, 等. 葡萄籽多酚逆转人乳腺癌多药耐药性及其机制的研究 [J]. *中华普通外科杂志*, 2004, 19(8): 488-490.
- [14] 张翠娟, 马丽丽, 高鹏, 等. 葡萄籽多酚对人乳腺癌细胞 MCF-7/ADR 在裸鼠体内的多药耐药逆转作用 [J]. *中华外科杂志*, 2004, 42(13): 795-798.
- [15] 刘洁, 庄乾元, 张维怡, 等. 葡萄籽提取物原花青素对人膀胱癌 BIU87 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(18): 3000-3001.
- [16] 庄乾元, 张维怡, 刘洁, 等. 丝裂霉素 C 联合原花青素对人膀胱癌 BIU87 细胞的生长抑制作用 [J]. *医药导报*, 2009, 28(12): 1556-1558.

- [17] 李莹,王立峰,韩月恒,等. 葡萄籽提取物原花青素诱导胃癌细胞脱落凋亡[J]. 中国药理学通报,2008,20(7):761-764.
- [18] Bomser JA, Singletary KW, Wallig MA, et al. Inhibition of TPA₂induced tumor promotion in CD21 mouse epidermis by apolyphenolic fraction from grape seeds[J]. Cancer Lett,1999,135(2):151-157.
- [19] Cui YY,Xie H,Qi KB,et al. Effects of Pinus massoniana bark extract on cell proliferation and apoptosis of human hepatoma BEL-7402 cells [J]. World J Gastroenterol, 2005,11(34):5277-82.
- [20] Ito H, Kobayashi E, Takamatsu Y, et al. Polyphenols from Eriobotrya japonica and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines[J]. Chem Pharm Bull,2000,48(5):687-693.
- [21] Yamagishi M, Natsume M, Osakabe N, et al. Chemoprevention of lung carcinogenesis by cacao liquor proanthocyanidins in a male rat multi-Organ carcinogenesis model[J]. Cancer Lett,2003,191(1):49-57.
- [22] Singletary KW, Meline B. Effect of grape seed proanthocyanidins on colon aberrant crypts and breast tumors in a rat dual-organ tumor model [J]. Nutr Cancer, 2001, 39(2):252-258.
- [23] Meeran SM, Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidins promote apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells through alterations in Cdk1-Cdk-cyclin cascade, and caspase-3 activation via loss of mitochondrial membrane potential [J]. Exp Dermatol,2007,16(5):405-415.
- [24] Sato M, Maulik G, Ray PS, et al. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury [J]. J Mol Cell Cardiology,1999,31(6):1289-1297.
- [25] 梁慧敏,时小燕,梁志刚,等. 原花青素对人肝癌细胞 SMMC-7721 的诱导分化作用[J]. 中国医疗前沿,2010,21(5):13-14.

(收稿日期:2012-02-09 修回日期:2012-05-12)

· 综 述 ·

先天性巨结肠手术进展

赵 录 综述,金先庆 审校

(重庆医科大学附属儿童医院普外科 400014)

关键词:巨结肠;外科手术;临床方案

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.27.042

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)27-2889-03

先天性巨结肠(Hirschsprung's disease, HD),又称肠道无神经节细胞症,其病因是外胚层神经嵴细胞迁移发育过程停顿^[1];组织学改变为远端病变肠管肌层间神经丛和黏膜下神经丛中神经节细胞缺如,使病变肠段呈持续性痉挛狭窄状态,导致近端肠管内容物淤滞,肠管代偿性扩张、肥厚,形成巨结肠。临床主要表现为胎粪性便秘、呕吐、腹胀等为主的不完全性功能性肠梗阻。其发病率约为 1/2 000~1/5 000,以男性多见,男与女之比约为 4:1^[1-2]。手术治疗是目前根治 HD 的惟一方法,手术方式主要分为经腹会阴联合手术、经肛门根治术及腹腔镜辅助下巨结肠根治术。本文主要对经肛门 I 期根治术的不同术式进行综述。

1 经腹会阴联合手术及腹腔镜辅助下巨结肠根治术

经典的手术方法有结肠切除、盆腔内低直肠结肠吻合术(Rehbein 手术),拖出型直肠、乙状结肠切除术(Swenson 手术),结肠切除、直肠后结肠拖出术(Duhamel 手术),直肠黏膜剥离、结肠于直肠肌鞘内拖出切除术(Soave 手术),直肠后结肠拖出、结直肠“Z”型吻合术(Ikeda 手术)。Rehbein 手术于 20 世纪 40 年代早期出现,该术式基本不分离盆腔,并保留了短段的无神经节细胞肠管,故术后便秘复发率高,约为 12.3%^[1],术后坚持长期强力扩肛是其基本要求。Swenson 证明 HD 的基本病理改变是痉挛段神经节细胞缺乏,故 Swenson 手术针对 Rehbein 手术的不足,彻底切除了病变肠段,降低了便秘复发率,但其在盆腔内广泛游离直肠,损伤大、出血多、易损伤神

经,故术后污粪、吻合口瘘、盆腔腹腔感染、切口感染等并发症多。Duhamel 手术则不进行广泛的直肠盆腔分离,并保留了直肠前壁,避免了损伤直肠前方的神经,保护了排尿功能、性功能及排便反射区,有效地降低了术后排便障碍、吻合口狭窄、吻合口漏的发生率,其术后吻合口狭窄和吻合漏的发生率分别为 4%~6%和 3%~8%^[3],但若术后直肠残端保留过长,则易形成“盲袋综合征”。Soave 手术操作简单,不损伤盆腔神经、肛门括约肌,故术后小便潴留及大便失禁的发生率减低^[4];但术中剥离直肠黏膜、保留直肠肌鞘,易致感染、结肠收缩狭窄、便秘,其小肠结肠炎发生率为 5%~12%,结肠收缩狭窄发生率为 7%~12%,便秘发生率为 8%~12%^[5],且术后需长时间扩肛。Ikeda 手术总结了上述 4 种手术的优缺点,在保留了 Duhamel 优点的同时,彻底消除了直肠盲袋及闸门,是目前公认的经腹腔 HD 根治手术的最佳手术。腹腔镜辅助下巨结肠根治术最早报道于 1994 年,现在其技术也日趋发展完善,但随着时间、经验积累,发现腹腔镜的作用仅限于方便分离肠系膜、取样活检和了解结肠在吻合后有无扭转,这些在经肛门术式亦基本可以完成^[6]。

2 经肛门拖出巨结肠根治术

2.1 Torre 手术 Torre 手术体现了 21 世纪微创外科的特点,最早报道于 1998 年,该手术主要操作如下:(1)取截石位;(2)暴露齿状线;(3)于齿状线上 1 cm 环状切开黏膜一周,向近端分离直肠黏膜、黏膜下层至腹膜返折水平,切开直肠肌鞘进