

parison of migration behavior between single and dual lag screw implants for intertrochanteric fracture fixation[J]. J Orthop Surg Res, 2009, 4; 16.

- [23] Gadegone WM, Salphale YS. Proximal femoral nail an analysis of 100 cases of proximal femoral fractures with an average follow up of 1 year[J]. Int Orthop, 2007, 31(3): 403-408.
- [24] Uzun M, Ertürer E, Öztürk I, et al. Long-term radiographic complications following treatment of unstable intertrochanteric femoral fractures with the proximal femoral nail and effects on functional results[J]. Acta Orthop Traumatol Turc, 2009, 43(6): 457-463.
- [25] Hohendorff B, Meyer P, Menezes D, et al. Treatment results and complications after PFN osteosynthesis[J]. Unfallchirurg, 2005, 108(11): 938-946.
- [26] Mereddy P, Kamath S, Ramakrishnan M, et al. The AO/ASIF proximal femoral nail Antirotation(PFNA): a new design for the treatment of unstable proximal femoral fractures[J]. Injury, 2009, 40(4): 428-432.
- [27] Lenich A, Bachmeier S, Dendorfer S, et al. Development of a test system to analyze different hipfracture osteosyntheses under simulated walking [J]. Biomed Tech (Berl), 2012, 57(2): 113-119.
- [28] Pires RE, Santana EO Jr, Santos LE, et al. Failure of fixation of trochanteric femur fractures; Clinical recommendations for avoiding Z-effect and reverse Z-effect type complications[J]. Patient Saf Surg, 2011, 5(1): 17.
- [29] Hwang JH, Oh JK, Han SH, et al. Mismatch between

PFNA and medullary canal causing difficulty in nailing of the pertrochanteric fractures[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2008, 128(12): 1443-1446.

- [30] Macheras GA, Koutsostathis SD, Galanakos S, et al. Does PFNA II avoid lateral cortex impingement for unstable peritrochanteric fractures [J]. Clin Orthop Relat Res, 2012, 470(11): 3067-3076.
- [31] Hohendorff B, Meyer P, Menezes D, et al. Treatment results and complications after PFN osteosynthesis[J]. Unfallchirurg, 2005, 108(11): 938, 940-946.
- [32] Ruecker AH, Rupprecht M, Gruber M, et al. The treatment of intertrochanteric fractures; results using an intramedullary nail with integrated cephalocervical screws and linear compression[J]. J Orthop Trauma, 2009, 23(1): 22-30.
- [33] Rupprecht M, Grossterlinden L, Ruecker AH, et al. A comparative biomechanical analysis of fixation devices for unstable femoral neck fractures; the Intertan versus cannulated screws or a dynamic hip screw [J]. J Trauma, 2011, 71(3): 625-634.
- [34] 费青, 吕南千, 马俊峰, 等. 股骨近端髓内钉 INTERTAN 治疗老年股骨转子间骨折[J]. 中国矫形外科杂志, 2011, 19(20): 1749-1750.
- [35] 茅泳涛, 徐炜, 谢宗刚, 等. 髓内钉 InterTan 与锁定钢板置入固定股骨转子间骨折的随访[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(9): 1564-1567.

(收稿日期: 2012-10-08 修回日期: 2012-12-22)

· 综 述 ·

大蒜素抗癌作用与信号传导通路

孔春芳, 丁江华 综述, 陈国安[△] 审校

(南昌大学第一附属医院血液科, 江西南昌 330006)

关键词: 大蒜素; 抗癌作用; 信号传导通路

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2013. 10. 038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)10-1175-03

大蒜素(Allicin)是百合科葱属指望大蒜最重要的有效成分。作为多种烯丙基有机硫化物复合体, 主要成分包括20%~50%二烯丙基二硫化物(DADS, 也称大蒜辣素)和50%~80%二烯丙基三硫化物(DATS, 也称大蒜新素)。大量研究表明, 大蒜素具有抗菌、抗病毒、降血脂、降血压、降血糖、抗血栓及调节免疫等多种活性, 还有良好的抗癌、防癌效应^[1]。流行病学调查和实验研究均发现, 大蒜素对实体肿瘤和血液系统肿瘤均有明显的抑制作用^[2-3]。关于大蒜素的抗癌作用, 目前认为包括抗氧化、诱导肿瘤细胞凋亡、影响细胞周期、免疫调节、阻断致癌物合成、增强肿瘤细胞对抗癌药物的敏感性等^[4]。近年来研究发现大蒜素的抗癌效应还与细胞信号传导通路密切相关, 现综述如下。

1 核转录因子 kappa-B(NF-κB)信号通路

NF-κB 是 1986 年 Sen 和 Baltimore 首先发现的转录因子

家族中的新成员, 是一种广泛分布而且十分重要的核转录因子。哺乳动物 NF-κB 家族包括 5 种成员: p65(RelA)、RelB、c-Rel、p50/p105(NF-κB1)和 p52/p100(NF-κB2)。NF-κB 在未受刺激时以同源或异源二聚体形式与抑制性蛋白 IκB 相结合形成无活性的三聚体, 存在于胞浆内。细胞内外刺激直接激活 IκB 激酶(IκK), 诱使 IκB 发生磷酸化, 使 IκB 的三维结构发生改变, 发生泛素化后 IκB 蛋白迅速被水解释放, 解除了 IκB 抑制作用的 NF-κB 二聚体在核定位信号的介导下转位入核, 与多种基因启动区的特异的 DNA 结合序列结合, 诱导靶基因 mRNA 的合成, 参与感染、炎症、免疫反应、肿瘤发生和发展的调节^[5]。

现已发现在人类实体肿瘤(如肝癌^[6]、结直肠癌^[7]、乳腺癌等^[8])及血液系统肿瘤^[9](多发性骨髓瘤、白血病、淋巴瘤等)中存在持续活化的 NF-κB。实验研究表明抑制 NF-κB 活性, 可

诱导细胞凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖。

扈启宽等^[10]将大蒜素作用人胃癌细胞系 BGC-823 细胞后,发现肿瘤细胞增殖明显减慢,进一步研究发现大蒜素可使 NF- κ B 与 DNA 的结合活性显著降低,使 NF- κ B 通路受到抑制,抑制胃癌细胞增殖。吴星等^[11]发现 5、10、15 mg/L 大蒜素均能抑制 Jurkat 白血病细胞增殖,其抑制作用呈时间-浓度依赖性,大蒜素处理后 NF- κ B 的 DNA 结合活性显著降低。Keiss 等^[12]发现大蒜素还可通过减少脂多糖诱导的促炎因子如白介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF- α)因子的水平,间接抑制 NF- κ B 的活性。Ide 等^[13]也发现大蒜素可抑制 H₂O₂ 与 TNF- α 诱导的 NF- κ B 的激活,从而保护内皮细胞免受 Ox-LDL(氧化的低密度脂蛋白)的损害,起到了抗动脉粥样硬化的效应。

2 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路

MAPK 是细胞内的一种丝/苏氨酸蛋白激酶。MAPK 活化前位于胞浆内,受物理应激、炎性细胞因子、生长因子、细菌复合物等所刺激磷酸化而活化,后进入核内激活靶基因,参与细胞增殖、分化、转化及凋亡的调节,并与炎症、肿瘤等多种疾病的发生密切相关。MAPK 家族的信号通路主要包括 c-Jun N 端激酶(JNK)/应激激活的蛋白激酶(SAPK)、细胞外信号调控的蛋白激酶(ERK)、P38MAPK 及 ERK5/BMK1 4 条途径。MAPK 信号转导通路是多级蛋白激酶的级联反应,典型的 MAPK 信号通路包括 3 个连续的酶促反应,即 MAPK 激酶的激酶(MAPK kinase kinase, MAPKKK)-MAPK 激酶(MAPK kinase, MAPKK)-MAPK^[14]。

2.1 JNK 信号通路

c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)家族也被称为应激活化蛋白激酶(stress-activated MAPkinase, SAPK),是 1990 年发现的相对分子质量为 46×10^3 和 54×10^3 的 MAPK 家族的主要成员之一。目前在哺乳动物细胞中发现的编码 JNK 的基因包括 jnk1、jnk2 和 jnk3,其相应的编码产物 JNK1 和 JNK2 表达广泛, JNK3 则仅限表达于大脑、心脏、睾丸等组织^[15]。JNK 是 MAPK、MAPKK、MAPKKK 3 个激酶模块中的一部分。JNK 信号通路可被细胞因子、生长因子、应激等多种因素激活,参与细胞增殖与分化、细胞形态维持、细胞骨架构建、细胞凋亡和细胞恶变等多种生物学反应^[16]。关于 JNK 与肿瘤发生的关系,目前尚存在争议。尽管有实验发现 JNK 与抑制肿瘤有关系,但大多研究发现 JNK 的活性在肿瘤中增高^[17-18]。

电离辐射被广泛应用于癌症的治疗,但它也可通过上调内皮细胞表面黏附分子的表达,产生损害性效应如炎症反应^[19]。Son 等^[20]发现预先用(0.01~1.00 μ g/mL)大蒜素处理脐静脉内皮细胞 20 h,然后将内皮细胞暴露在 8 Gy 的辐射环境中,大蒜素可抑制辐射诱导的细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及 ICAM-mRNA 的表达,且呈浓度依赖性。而且大蒜素预处理后减少了辐射诱导的活化蛋白转录因子-1(activator protein transcription factor-1, AP-1)的活化和 JNK 磷酸化。表明大蒜素可通过抑制 AP-1 的活性及 JNK 信号转导通路下调辐射诱导的 ICAM-1 的表达。Liu 等^[21]发现大蒜素能阻断活性氧依赖的 JNK1/2 信号转导通路的激活。

2.2 MER1/2-ERK1/2 信号通路

细胞外调节蛋白激酶(extra cellular regulated protein kinases, ERK)信号转导通路是 MAPK 超家族中最早鉴定出且研究较为透彻的亚通路,是一系列的磷酸化级联反应,其主要途径是 Ras/Raf/MEK/ERK

通路。外界刺激物与受体结合形成复合物后再与 Ras-GDP 结合,促使 GTP 取代 Ras 上的 GDP 而活化 Ras,活化的 Ras 作为衔接蛋白与 Raf(即 MAPKKK)结合,可使 MEK1/2(MAPKK)磷酸化并激活,随后经双磷酸化使 ERK1/2 激活,最终参与调节细胞生长、增殖、分化、侵袭及肿瘤的发生、发展、转移。

ERK 信号转导通路在肿瘤细胞生长、恶变和肿瘤浸润转移中起重要作用,与肿瘤的发生、发展密切相关。研究表明,ERK 在许多恶性肿瘤中如实体瘤及血液系统肿瘤均呈现过表达^[22-23],抑制 ERK 通路可以明显抑制多种肿瘤细胞的增殖。

Liu 等^[21]首次证明了在体内外大蒜素的心肌保护作用是通过减少活性氧的产生及抑制活性氧依赖的蛋白激酶 B(AKT)、ERK1/2、JNK1/2、NF- κ B 等信号转导通路^[21]。Cha 等^[24]通过实验发现,大蒜素能够抑制人类恶性胶质瘤细胞株 U87MG 的生长,诱导细胞凋亡,并呈时间及浓度依赖性,其诱导凋亡的机制也与抑制 MAPK/ERK 信号转导有关。

2.3 p38MAPK 信号通路

p38MAPK(p38 mitogen activated protein kinases, p38MAPK)是于 1993 年发现一种由 360 个氨基酸组成的相对分子质量为 38×10^3 的酪氨酸磷酸化蛋白激酶。p38MAPK 通路也是通过 3 级激酶的级联反应把细胞外信号向细胞内传递。通路模式为一些促炎因子、应激刺激、脂多糖和革兰阳性细菌细胞壁成分通过某种中间环节,激活 MAPKKK,MAPKKK 磷酸化激活 MAPKK,再由 MAPKK 对 MAPK 双位点磷酸化,从而激活 p38MAPK,激活的 p38 可进入细胞核或转移到其他部位,主要参与细胞应激反应和炎症反应。越来越多的研究发现,p38MAPK 主要在细胞凋亡过程中起重要作用^[25]。

廖洋等^[26]在实验中证明大蒜素可诱导急性单核细胞白血病细胞株 THP-1 凋亡,并呈时间-剂量依赖性,免疫细胞化学法检测大蒜素处理后 p38MAPK 表达增加,主要分布于细胞核与细胞质,而对照组仅弱表达。Western blotting 结果分析 p38MAPK、Fas 蛋白表达量随大蒜素浓度的增加而增加,呈剂量依赖性。据此认为大蒜素对 THP-1 细胞的促凋亡作用可能是通过激活 p38MAPK/Fas 途径实现的。

3 血管内皮细胞生长因子

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)家族包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 等,其生物学特性表现在 VEGF 与血管内皮细胞受体特异性结合,可强烈促使血管内皮细胞生长,增加血管通透性,最后形成新的血管。VEGF 是目前已知的促进肿瘤血管生成最强的细胞因子,对于新生血管是必要的。VEGF-C、VEGF-D 还可促进淋巴管形成,在肿瘤扩散过程中发挥作用^[27]。研究表明,乳腺癌,结肠癌,肺癌,前列腺癌、黑色素瘤、多发性骨髓瘤中过表达 VEGF。通过阻断 VEGF 信号转导通路,抑制 VEGF 表达,可作为肿瘤的治疗靶标^[28]。

VEGF 在大蒜素抗肿瘤作用机制中也有重要的作用。高艳景等^[29]发现大蒜素明显抑制人肝癌细胞 VEGF-mRNA 表达,与对照组相比,其 VEGF mRNA 表达水平降低了约 66.36%($P < 0.05$)。徐兴华等^[30]也发现 20 mg/L 的大蒜素可显著抑制对人乳腺癌高转移细胞株 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力,侵袭抑制率为 33.27%,此作用与降低肿瘤细胞的基质金属蛋白酶 29(matrix metalloproteinases 29, MMP29)和 VEGF 表达有关。Gao 等^[31]表明大蒜素能够通过下调 VEGF mRNA 的表达抑制结肠癌细胞的浸润和转移。上述研究表明大蒜素可下调 VEGF 的表达,达到抑制肿瘤的效应。

4 小 结

现已证实 NF- κ B、JNK、ERK1/2、p38MAPK 及 VEGF 等信号传导通路在多种实体瘤及血液系统肿瘤中均异常活化,通过影响这些信号传导通路可以抑制肿瘤细胞增殖及诱导凋亡。大蒜素作为一种高效低毒的天然化合物,其抗癌机制目前认为与抗氧化、诱导肿瘤细胞凋亡,影响细胞周期,免疫调节,阻断致癌物合成,增强肿瘤细胞对抗癌药物的敏感性等有关。近年来实验发现大蒜素还可通过调控信号传导通路发挥抗癌效应。与其他化疗药物相比,大蒜素无骨髓抑制等不良反应,有望成为高龄患者及不能耐受化疗药物不良反应的新选择。

参考文献:

[1] 杨艳梅,高彦辉.大蒜抗癌作用研究进展[J].国外医学中医中药分册,2000,22(2):67-71.

[2] Fleischauer AT, Arab L. Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature[J]. J Nutr, 2001, 131(3):1032-1040.

[3] Padilla-Camberos E, Zaitseva G, Padilla C, et al. Antitumoral activity of allicin in murine lymphoma L5178Y[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2010, 11(5):1241-1244.

[4] 孙萍,于维萍,段云霞.大蒜提取物抗肿瘤作用研究进展[J].齐鲁药事,2005,23(3):159-161.

[5] Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives[J]. Oncogene, 2006, 25(51):6680-6684.

[6] Qiao L, Zhang H, Yu J, et al. Constitutive activation of NF-kappaB in human hepatocellular carcinoma: evidence of a cytoprotective role[J]. Hum Gene Ther, 2006, 17(3):280-290.

[7] Puvvada SD, Funkhouser WK, Greene K, et al. NF-kappaB and Bcl-3 activation are prognostic in metastatic colorectal cancer[J]. Oncology, 2010, 78(3/4):181-188.

[8] Gershtein ES, Scherbakov AM, Platova AM, et al. The expression and DNA-binding activity of NF-kappaB nuclear transcription factor in the tumors of patients with breast cancer[J]. Bull Exp Biol Med, 2010, 150(1):71-74.

[9] 陈聪,陈莉. NF- κ B 在造血系统肿瘤中作用的研究进展[J].中国实验血液学杂志,2008,15(4):954-959.

[10] 扈启宽,李文梅,赵喜荣,等.大蒜素对胃癌细胞 NF- κ B 活性的影响[J].解放军药化学报,2002,17(1):7-10.

[11] 吴星,朱凤娜,徐之良.大蒜素对人白血病 Jurkat 细胞生长和凋亡的影响[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2011,15(1):26-29.

[12] Keiss HP, Dirsch VM, Hartung T, et al. Garlic (*Allium sativum* L) modulates cytokine expression in lipopolysaccharide-activated human blood thereby inhibiting NF-kappaB activity[J]. J Nutr, 2003, 133(7):2171-2175.

[13] Ide N, Lau BH. Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor-kappa b activation[J]. J Nutr, 2001, 131(3):1020-1026.

[14] Widmann C, Gibson S, Jarpe MB, et al. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human[J]. Physiol Rev, 1999, 79(1):143-180.

[15] Liu J, Lin A. Role of JNK activation in apoptosis: a double-edged sword[J]. Cell Res, 2005, 15(1):36-42.

[16] Weston CR, Davis RJ. The JNK signal transduction pathway[J]. Curr Opin Cell Biol, 2007, 19(2):142-149.

[17] Heasley LE, Han SY. JNK regulation of oncogenesis[J]. Mol Cells, 2006, 21(2):167-173.

[18] Winn RA, Marek L, Han SY, et al. Restoration of Wnt-7a expression reverses non-small cell lung cancer cellular transformation through frizzled-9-mediated growth inhibition and promotion of cell differentiation[J]. J Biol Chem, 2005, 280(20):19625-19634.

[19] Quarmby S, Kumar P, Kumar S. Radiation-induced normal tissue injury: role of adhesion molecules in leukocyte-endothelial cell interactions [J]. Int J Cancer, 1999, 82(3):385-395.

[20] Son EW, Mo SJ, Rhee DK, et al. Inhibition of ICAM-1 expression by garlic component, allicin, in gamma-irradiated human vascular endothelial cells via downregulation of the JNK signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6(12):1788-1795.

[21] Liu C, Cao F, Tang QZ, et al. Allicin protects against cardiac hypertrophy and fibrosis via attenuating reactive oxygen species-dependent signaling pathways [J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(12):1238-1250.

[22] Ebisuya M, Kondoh K, Nishida E. The duration, magnitude and compartmentalization of ERK MAP kinase activity: mechanisms for providing signaling specificity [J]. J Cell Sci, 2005, 118(Pt 14):2997-3002.

[23] Chung E, Kondo M. Role of Ras/Raf/MEK/ERK signaling in physiological hematopoiesis and leukemia development [J]. Immunol Res, 2011, 49(1/3):248-268.

[24] Cha JH, Choi YJ, Cha SH, et al. Allicin inhibits cell growth and induces apoptosis in U87MG human glioblastoma cells through an ERK-dependent pathway [J]. Oncol Rep, 2012, 28(1):41-48.

[25] Ono K, Han J. The p38 signal transduction pathway: activation and function [J]. Cell Signal, 2000, 12(1):1-13.

[26] 廖洋,陈建斌,汤为学,等. P38MAPK 信号转导通路在大蒜素诱导 THP-1 细胞凋亡中的作用 [J]. 中国中药杂志, 2009, 54(11):1439-1443.

[27] Pradeep CR, Sunila ES, Kuttan G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in tumor angiogenesis and malignancies [J]. Integr Cancer Ther, 2005, 4(4):315-321.

[28] 刘臻臻,罗琪. 肿瘤血管靶向治疗策略的新进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 17(27):2889-2893.

[29] 高艳景,辛华. 大蒜素抑制人肝癌细胞中 VEGF mRNA 表达的研究 [J]. 中国药理学通报, 2001, 16(5):531-533.

[30] 徐兴华,王建礼. 大蒜素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 侵袭作用的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(8):1771-1773.

[31] Gao Y, Liu YQ, Cao WK, et al. Effects of allicin on invasion and metastasis of colon cancer LoVo cell line in vitro [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2009, 89(20):1382-1386.