

丹皮酚抗肿瘤作用及其机制研究 *

陈岳涛¹ 曹蔚¹ 王四旺^{1△} 叶青雅²

(1 第四军医大学药理学系天然药物学教研室 陕西 西安 710032 2 解放军第九八医院药械科 浙江 湖州 313005)

摘要 丹皮酚主要通过杀伤肿瘤细胞、诱导凋亡、影响肿瘤血管生成、促进 IL-2 及 TNF- α 生成,下调 COX-2 表达发挥抗肿瘤作用;但我们研究证实丹皮酚对体外神经胶质瘤 U251 细胞及肝癌 HepG2 细胞无明显抑制作用。丹皮酚作为抗肿瘤有效中药分子开发新药尚需深入的体内外实验研究与探讨。

关键词 丹皮酚 抗肿瘤 作用机制 凋亡

中图分类号 R730.5 R285.5 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)21-4163-03

The Progress in the Antitumor Effect and Mechanism of Paeonol*

CHEN Yue-tao¹, CAO Wei¹, WANG Si-wang^{1△}, YE Qing-ya²

(1 Institute of Material Medical, School of Pharmacy, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032;

2 Material Medical 98th Hospital, Huzhou, Zhejiang 313005)

ABSTRACT: To summarize the progress in the antitumor effect and mechanism of Paeonol. Sum up the progress of studies on anti-tumor effect of Paeonol and its molecular mechanisms after a wide range of data collection. Paeonol can exert its anti-tumor effect by killing tumor cells, inducing apoptosis of tumour cell, inhibiting tumor angiogenesis, stimulating secretion of IL-2 and TNF- α and down-regulating expression of COX-2. Our research suggests that Paeonol has no significant effect on inhibiting proliferation of U251 cells and HepG2 cells. It needs deep discussion and study to develop Paeonol into an new anti-tumor drug as an effective Molecule of Chinese hebral drug.

Key words: Paeonol; Antitumor; Mechanism; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R730.5, R285.5 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)21-4163-03

引言

丹皮酚(Paeonol, Pae)又称牡丹酚,是毛茛科植物牡丹根皮和芍药科植物长须长卿干燥根或全草的主要成分。丹皮酚具有镇痛、抗炎、解热、抑制变态反应、抗菌、抗氧化、降血压等药理作用^[1]。近年来的研究表明丹皮酚可通过多种机制发挥抗肿瘤作用。

1 丹皮酚对肿瘤细胞的作用

孙国平等^[2]采用 MTT 法证实丹皮酚在 7.81-250 mg·L⁻¹ 剂量下对白血病细胞系 K562、乳腺癌细胞系 T6-17、肝癌细胞系 Bel-7404 及宫颈癌细胞系 HeLa 的增殖均有抑制作用, IC50 值分别为 30.83、13.44、69.89 及 93.91 mg·L⁻¹, 并呈明显剂量时间效应关系。计春燕等^[3]用丹皮酚对人大肠癌 HT-29 细胞进行干预,发现 7.81-250 mg·L⁻¹ 丹皮酚作用后细胞生长明显抑制,呈显著剂量时间依赖效应。

2 丹皮酚抗肿瘤作用机制

2.1 诱导肿瘤细胞凋亡

2.1.1 影响凋亡相关基因 Sun GP 等^[4]采用吖啶橙染色法及流式细胞术分析显示,丹皮酚对 SEG-1 和 Eca-109 具有诱导凋亡

的作用,并阻滞在 S 期;免疫组化染色显示,丹皮酚治疗组中 Bcl-2 的表达降低同时 Bax 表达升高,相应的 Bcl-2/Bax 比率降低。

计春燕等^[5]发现,经丹皮酚处理大肠癌 HT-29 细胞后出现典型的凋亡形态,DNA 末端原位标记染色结果显示,丹皮酚处理 48 h,大肠癌细胞株 HT-29 的凋亡指数均显著高于对照组,且凋亡指数与丹皮酚浓度呈正相关;免疫组织化学染色后,P53 蛋白表达阳性细胞核染成深棕色,并与药物浓度呈反比;对照组细胞 Bcl-2 蛋白表达水平最高,胞浆着色细胞数最多且呈深棕色,丹皮酚组细胞 Bcl-2 表达均下降,阳性细胞减少,染色明显变浅。另有研究^[6-8]表明 Bcl-2 与 P53 共表达可延缓 P53 诱导的生长停滞。丹皮酚同时下调 P53 及 Bcl-2 蛋白的表达,可能是其诱导 HT-29 细胞凋亡的机制之一。

刘长青等^[9]发现丹皮酚对大肠癌 HT-29 细胞有抑制作用,呈现明显剂量依赖效应;细胞免疫组化显示 Fas/FasL 表达上调。提示丹皮酚可能通过上调 Fas/FasL 表达而诱导 HT-29 细胞凋亡。

李钢琴等^[10]发现 HT-29 细胞经丹皮酚干预后,在透射电镜下出现典型的细胞凋亡形态;免疫细胞化学证实经丹皮酚作用后,HT-29 细胞 Fas/FasL、caspase-8 蛋白表达明显升高,Bcl-2

* 基金项目 陕西省"13115"科技创新工程资助项目(2010ZDGC-19)

作者简介 陈岳涛(1986-),男,硕士研究生。研究方向:分子中药药理学 Email: xianyu.fansheng@163.com

△通讯作者 王四旺,男(1958-)教授,博士生导师。研究方向:中药药理 Email: wangsiw@fmmu.edu.cn

(收稿日期 2011-12-06 接受日期 2011-12-30)

蛋白表达显著降低, bax 蛋白表达无显著改变。因此, 丹皮酚诱导 HT-29 细胞凋亡可能是通过上调肿瘤细胞膜表面的 Fas/FasL 蛋白的表达, 从而使 caspase-8 水解活化, 活化的 caspase-8 启动两条通路, 汇合于靶 caspase-3, 由靶 caspase-3 催化诸多与凋亡形成有关的靶分子分解, 最终导致细胞凋亡^[11]。

2.1.2 影响磷酸酰肌醇 3- 激酶 /Akt 通路 Chunhu Z 等^[12]发现丹皮酚能诱导 BEL-7404、SMMC-7721 和 MHCC97-H 三种肝癌细胞凋亡, q-RT-PCR 和 Western Blotting 检测发现肝癌细胞经丹皮酚处理后, PTEN 表达上升, AKT 表达降低, 二者呈明显的负相关, 表明由于 PTEN 水平的上调, 导致其有效的抑制磷酸酰肌醇 3- 激酶 /Akt 途径的异常活化, 从而诱导肝癌细胞凋亡、抑制增殖, 这可能是丹皮酚诱导这三种肝癌细胞凋亡、抑制其增殖的机制之一。

2.2 调节细胞周期

Li N, Fan LL 等^[13]采用流式细胞术和末端标记染色法发现, 丹皮酚干预鼠胃癌(MFC)细胞及人胃癌(SGC-7901)细胞后, G₀/G₁ 细胞比例减少, 细胞周期在 S 期发生阻滞。张旃等^[14]发现丹皮酚在 31.25-250 mg·L⁻¹ 浓度范围内对人脑胶质瘤 U251 细胞的增殖明显抑制并诱导细胞凋亡, 该作用明显呈剂量-效应关系, 流式细胞仪分析显示, U251 细胞经丹皮酚作用后在 G₀/G₁ 峰前出现 DNA 含量减少的亚二倍体峰即凋亡峰; 同时, U251 细胞的 S 期细胞比例上升, G₀/G₁ 期细胞和 G₂/M 期细胞比例下降, 表明细胞周期在 S 期发生阻滞, 有丝分裂减少, 从而导致细胞增殖活性降低。

2.3 影响肿瘤血管生成

Lee HJ 等^[15]用丹皮酚亚硝基衍生物(PO)干预 HT-1080 纤维肉瘤细胞及 bFGF 诱导的人脐静脉血管再生(包括肿瘤血管再生), 发现 12.5 mg·L⁻¹ PO 降低 HT-1080 纤维肉瘤细胞的细胞内与细胞外 AKT 磷酸化水平和血管内皮生长因子(VEGF)的表达, 免疫荧光图像分析也显示 PO 减弱了 HT-1080 细胞中 AKT 磷酸化, 显著抑制 bFGF 诱导的血管再生, 并呈现剂量效应相关性。25 mg·L⁻¹ PO 能降低 HT-1080 纤维肉瘤细胞的生存力, 但对人脐静脉细胞的生存能力无影响。由此, 提示丹皮酚可能通过抑制肿瘤血管再生而发挥抗肿瘤作用。

2.4 促进机体 IL-2 及 TNF-α 生成

IL-2 可通过调节机体的免疫系统发挥抗肿瘤效应, 而 TNF-α 则具有直接抑制和杀伤肿瘤细胞的功能, 且可诱导肿瘤细胞凋亡, 二者具有协同抗肿瘤作用^[16]。

Sun GP 等^[17]发现丹皮酚在 100、200、400mg·kg⁻¹ 剂量下对小鼠移植性肝癌 HepA 的生长即有明显抑制作用, 同时使荷瘤小鼠血清中 IL-2 及 TNF-α 含量明显提高; 使脾细胞诱导 IL-2 及腹腔巨噬细胞诱导 TNF-α 的能力增强, 并呈一定剂量效应关系, 表明丹皮酚通过促进机体 IL-2 及 TNF-α 生成发挥抗肿瘤作用。

2.5 其他抗肿瘤机制

丹皮酚除了通过以上途径外, 还可能通过下调 COX-2 的表达、抑制 Bcl-2 和 Survivin 的表达发挥抗肿瘤作用^[18]。此外, 丹皮酚还可能通过影响 DNA 合成的关键酶即 DNA 多聚酶(POL)而发挥抗肿瘤作用^[19], 通过影响肿瘤细胞膜功能, 逆转肿

瘤多药耐药发挥抗肿瘤作用^[20]。

3 丹皮酚与其他药物协同抗肿瘤作用

Wan XA 等^[21]采用 MTT 法发现 7.81-250 mg·L⁻¹ 丹皮酚和 0.078-5 mg·L⁻¹ 顺铂均对人食管癌 Eca-109 细胞有抑制作用; 应用药物相互作用指数(CDI)联合用药分析发现, 丹皮酚能明显提高顺铂对 Eca-109 细胞的增殖抑制作用。提示丹皮酚与顺铂联合应用具有明显的协同抗食管癌 Eca-109 细胞增殖活性。

4 我们的实验结果

采用 MTT 法研究发现 0.3-300mg·L⁻¹ 丹皮酚对人神经胶质瘤 U251 细胞及肝癌 HepG2 细胞均无明显抑制作用。丹皮酚对不同肿瘤的作用及其机制尚待进一步研究。

5 结语

近年来, 不少学者对丹皮酚的抗肿瘤作用及其机制进行了较深入的研究与探讨。作为临床常用中药牡丹皮的主要成分即丹皮酚对多种肿瘤具有抑制作用, 其机制主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡, 改变肿瘤细胞周期, 影响肿瘤血管生成等发挥抗肿瘤作用。然而, 丹皮酚是否真正具有抗肿瘤药理活性, 特别是证实对荷瘤动物的在体肿瘤疗效作用, 是开发低毒高效、多靶点、廉价实用的抗肿瘤新药重要标志。深入探讨和研究丹皮酚在体抗肿瘤作用及其机制意义重大, 但道路艰辛而又漫长。

参考文献(References)

- [1] 李骅, 王四旺, 张邦乐. 丹皮酚的药理活性和药物动力学研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(2): 110-112
Li Hua, Wang Si-wang, Zhang Bang-le. Pharmacological Action and Pharmacokinetics of Paeonol [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2010, 6(2): 110-112
- [2] 孙国平, 王华, 沈玉先, 等. 丹皮酚在体外对 4 种肿瘤细胞株的增殖抑制作用 [J]. 安徽医药, 2004, 8(2): 85-86
Sun Guo-ping, Wang Hua, Shen Yu-xian, et al. Inhibitory effects of paeonol on the proliferation of four tumor cell line [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2004, 8(2): 85-86
- [3] 计春燕, 谭诗云, 刘长青. 丹皮酚对人大肠癌 HT-29 细胞增殖、凋亡的影响及其分子机制 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(1): 33-38
Ji Chun-yan, Tan Shi-yun, Li Chang-qing. Effects of paeonol on apoptosis and proliferation of HT-29 cells and its molecular mechanism [J]. World Journal of Gastroenterology, 2008, 16(1): 33-38
- [4] Sun GP, Wan X, Xu SP, et al. Antiproliferation and apoptosis induction of paeonol in human esophageal cancer cell lines [J]. Dis Esophagus, 2008, 21(8): 723-729
- [5] 计春燕, 谭诗云, 汪毅, 等. Bcl-2 和 p53 在丹皮酚诱导人结肠癌 HT-29 细胞凋亡中的作用及其机制 [J]. 中国全科医学, 2007, 10(5): 364-366
Ji Chun-yan, Tan Shi-yun, Wang Yi, et al. Effects of Bcl-2 and p53 in paeonol induced apoptosis of human colorectal cancer cell Line HT-29 and the Mechanism [J]. Chinese General Practice, 2007, 10(5): 364-366
- [6] Mosnier JF, Perret AG, Vindimian M, et al. An immunohistochemical study of the simultaneous expression of bcl-2 and p53 oncoproteins in epithelial tumor of the colon and rectum [J]. Arch Pathol lab Med,

- 1996, 120:654
- [7] Smith DR, Ji CY, Gob HS. Pmgnostic significance of p53 over expression and mutation in colorectal adenocarcinomas [J]. Br J Cancer, 1996, 74:216
- [8] Basolo F, PoHina L, Fontenini G, et al. Apoptosis and proliferation in thyroid carcinoma: correlation with bcl-2 and p53 protein expression and p53 protein expression [J]. Br J Cancer, 1997, 75:537-541
- [9] 刘长青, 谭诗云, 计春燕, 等. 丹皮酚对大肠癌 HT-29 细胞的增殖抑制作用及其机制的探讨 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21(10): 1251-1254
- Liu Chang-qing, Tan Shi-yun, Ji Chun-yan, et al. The effects of paeonol on inhibiting the proliferation of human colorectal cancer cell line HT-29 and its molecule mechanism [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2005, 21(10):1251-1254
- [10] 李钢琴, 谭诗云, 刘长青, 等. Fas/FasL、bcl-2、caspase-8 在丹皮酚诱导大肠癌细胞凋亡中的相互作用及机制[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2006, 15(2):194-196
- Li Gang-qin, Tan Shi-yun, Liu Chang-qing, et al. The correlation of Fas/FasL, bcl-2, caspase-8 in paeonol inducing colorectal cancer cell line HT-29 apoptosis and molecule mechanism [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2006, 15(2):194-196
- [11] Bratton SB, Cohen GM. Apoptotic death sensor: an organell's alter ego [J]. Trends in Pharmacol Sci, 2001, 22(6):306-315
- [12] Chunhu Z, Suiyu H, Meiqun C, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of paeonol on human hepatocellular carcinoma cells [J]. Anti-cancer Drugs, 2008, 19(4):401-409
- [13] Li N, Fan LL, Sun GP. Paeonol inhibits tumor growth in gastric cancer in vitro and in vivo [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(35): 4483-4490
- [14] 张旃, 李明昌, 谭炳炎, 等. 丹皮酚抑制 GLC-82 细胞增殖的体外实验研究[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(6):638-640
- Zhang Zhan, Li Ming-chang, Tan Bing-yan, et al. In Vitro Study of the Anti-proliferative and Apoptotic Effects of Paeonol on the GLC-82 Cells[J]. Journal of Tropical Medicine, 2006, 6(6):638-640
- [15] Lee HJ, Kim SA, Lee HJ, et al. Paeonol oxime inhibits bFGF-induced angiogenesis and reduces VEGF levels in fibrosarcoma cells[J]. PLoS One, 2010, 5(8):e12358
- [16] 栗毅, 吴亚梅. 肿瘤坏死因子与白介素 协同抑制肺腺癌细胞的研究[J]. 癌症, 2000, 19(8):779-781
- Su Yi, Wu Ya-mei. The study of synergistic cytotoxicity of tumor necrosis factor and Interleukin-2 against lung adenocarcinoma cell[J]. Tumor, 2000, 19(8):779-781
- [17] Sun GP, Wang H, Xu SP. Anti-tumor effects of paeonol in a Hep-A-hepatoma bearing mouse model via induction of tumor cell apoptosis and stimulation of IL-2 and TNF-alpha production [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 584(2-3):246-252
- [18] 刘思涵, 孙国平, 杨震, 等. 丹皮酚诱导人食管癌 Eca-109 裸鼠移植瘤凋亡的机制探讨[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(4):457-460
- Liu Si-han, Sun Guo-ping, Yang Zhen, et al. Chinese Pharmacological Bulletin, 2008, 24(4):457-460
- [19] 洗励坚, 梁永能, 张启威, 等. 小檗碱等 20 个植物对肿瘤细胞 DNA 多聚酶及细胞生长的影响[J]. 肿瘤, 2000, 20(1):1-3
- Xian Li-jian, Liang Yong-neng, Zhang Qi-wei, et al. The effect of berberine and some plant drugs on DNA polymerase and growth of tumor cells[J]. Tumor, 2000, 20(1):1-3
- [20] 孙慧君, 王晓琦, 于丽敏, 等. 丹皮酚对 MDR 逆转作用的研究[J]. 解剖科学进展, 2000, 6(1):59-62
- Sun Hui-jun, Wang Xiao-qi, Yu Li-min, et al. The study of Paeonol for MDR's reverse action [J]. Progress of Anatomical Sciences, 2000, 6(1):59-62
- [21] Wan XA, Sun GP, Wang H, et al. Synergistic effect of paeonol and cisplatin on oesophageal cancer cell lines [J]. Dig Liver Dis, 2008, 40(7):531-539

(上接第 4139 页)

- Huang Ying. The influence on parenting style to adolescents' mental health[J]. Common Education, 2011(2):48-49
- [18] Smith J R, Brooks-gunn J, Klebanov PK. Consequences of living in poverty for young children cognitive and verbal ability and early school achievement [A]. In Duncan G, Brooks-Gunn J (eds.) Consequences of Growing Up Poor [M]. New York: Russell Sage Foundation, 1997: 132-189
- [19] 李慧民. 青少年心理健康状况与个性及父母养育方式的关系[J]. 中国健康心理学杂志, 2002, 10(6): 417-418
- Li Hui-min. The relations among mental health, individual character and parenting style of adolescents [J]. China Journal of Health Psychology, 2002, 10(6): 417-418
- [20] 方晓义, 徐洁, 孙莉, 等. 家庭功能: 理论、影响因素及其与青少年社会适应的关系[J]. 心理科学进展, 2004, 12(4): 544-553
- Fang Xiao-yi, Xu Jie, Sun Li, et al. Family function: The theory, influence factors and relationship with social adaptation of adolescents [J]. Advances in Psychological Science, 2004, 12(4): 544-553