

# 中药挥发油诱导肿瘤细胞凋亡作用机制的研究进展<sup>△</sup>

王芳\*,徐勤<sup>#</sup>(桂林医学院药学院,广西桂林 541004)

中图分类号 R285.5;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)15-1424-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.15.27

**摘要** 目的:为进一步研究中中药挥发油诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制提供参考。方法:查阅近年相关文献,对中药挥发油诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制进行归纳、总结。结果:中药挥发油诱导细胞凋亡的主要作用机制有:阻滞肿瘤细胞增殖周期、调节凋亡信号传导、影响癌基因和抑癌基因的表达以及抑制端粒酶的活性等。结论:应将传统中医药与现代分子生物学结合起来,对中药抗肿瘤的作用机制进行微观的、更加深入的研究。

**关键词** 中药;挥发油;抗肿瘤;细胞凋亡;作用机制

1992年,英国科学家Hickman等首次提出可以将诱导肿瘤细胞凋亡作为以后肿瘤治疗研究的主要目标和手段,使诱导肿瘤细胞凋亡逐渐成为国际肿瘤研究的一个热点。化疗是治疗肿瘤的重要手段之一,但大多数化疗药物毒副作用较大,而中药的副作用相对较少,且中药的结构具有多样性和复杂性,在生物活性方面有明显优势,故在中药中寻找抗癌新药并加以研究开发越来越受到重视。近年的研究表明,许多中药的有效成分,尤其是挥发油,具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用。现就中药挥发油诱导肿瘤细胞凋亡及相关的的作用机制作一综述。

## 1 阻滞肿瘤细胞增殖周期

在一个完整的细胞周期中,有多个影响各时期过渡的限制点,他们分别处在由G<sub>1</sub>期到M期和M期到G<sub>1</sub>期的过渡阶段中。由于不同肿瘤细胞的增殖周期时间不同,主要表现在G<sub>1</sub>期持续时间的差异,而G<sub>1</sub>期的启动是细胞周期的关键,因此G<sub>1</sub>/S期的调控尤为重要。G<sub>1</sub>期阻滞使肿瘤细胞生长周期延长,细胞的恶性增生相应减慢。S期即DNA合成期,可反映细胞的增生情况。若S期细胞占细胞周期的比例高,则提示DNA合成活跃,即细胞增生活跃。因此,若中药挥发油的有效成分能够作用于细胞周期的这些环节,就能使细胞增殖周期受阻,诱导其发生凋亡。

在研究花椒挥发油抗宫颈癌及肺癌细胞作用时发现,4 mg/ml花椒挥发油处理宫颈癌细胞及肺癌细胞72 h可显著地抑制其增殖,1 mg/ml花椒挥发油处理Cask、A549 72 h即可导致亚凋亡峰的出现,且在Caski中G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞增多,S期和G<sub>2</sub>/M期细胞减少。花椒挥发油可有效抑制肿瘤细胞周期的正常转换,从而阻止细胞的有丝分裂,抑制细胞生长,这种抑制作用具有明显的时效和量效关系<sup>[1-2]</sup>。麻艳芳等<sup>[3]</sup>发现,低、中浓度的佛手挥发油能将MDA-MB-435癌细胞周期阻滞在S期和G<sub>2</sub>/M期,进而引起肿瘤细胞发生凋亡,而高浓度的佛手挥发油可直接引起细胞坏死。榄香烯是从姜科植物温郁金的挥发油中分离出来的主要成分,可呈剂量依赖性抑制HCa-P/L6和HCa-P细胞生长,并且使其群体倍增时间延长、细胞周期重新分布,使两种细胞系均阻滞于S期,有丝分裂期也会被抑制<sup>[4]</sup>。

马赛<sup>[5]</sup>研究发现,束骨姜黄醇能够显著影响舌癌Tca8113细胞的细胞周期,使细胞周期阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,并能影响B细胞淋巴瘤/白血病基因-2(Bcl-2)蛋白表达,从而达到抗肿瘤的目的。席与斌等<sup>[6]</sup>报道,四君子汤挥发油部位、萜类部位、黄酮部位具有协同配伍作用,并能将SGC-7901细胞阻滞于G<sub>2</sub>/M期。李美<sup>[7]</sup>研究发现,野胡萝卜挥发油作用于Heal细胞时,通过损伤DNA的合成,低浓度时能将细胞阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期而引起细胞凋亡,高浓度时则将其阻滞在G<sub>2</sub>/M期直接引起细胞坏死。胃祺饮方中挥发油是以剂量和时间依赖性抑制胃癌细胞AGS的增殖,通过采用PI染色后FCM检测处理过的AGS的周期细胞数比例的变化,发现高剂量时将其阻滞在G<sub>2</sub>/M期(28.7%),低剂量时阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期(60.4%),并能够诱导AGS细胞的凋亡和坏死<sup>[8]</sup>。乳香精油能上调膀胱癌J82细胞DDIT3、IL8和CDKN1A基因的表达,同时下调H2AFX和HDAC4基因表达,引起DNA修复损伤,阻滞细胞周期,进而引起细胞的凋亡。但是,这种作用对正常的尿路上皮细胞并不发挥作用<sup>[9]</sup>。Itani WS等<sup>[10]</sup>报道,鼠尾草挥发油能诱导结肠癌HCT-116细胞发生凋亡,选择性裂解PARP,激活P53的表达使细胞阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期。但是,这种作用在正常肠上皮细胞FHs74Int表现并不明显。

## 2 影响癌基因和抑癌基因的表达

肿瘤的发生发展是一个多基因、多步骤、多阶段的复杂过程,在这一过程中,细胞凋亡主要起了负调控的作用。其中的某些基因发生缺失,突变或过度表达,均可导致细胞增殖失控或凋亡受阻。因此,如何调控凋亡相关基因或其相应产物,提高肿瘤细胞对药物的敏感性,并诱导细胞进入凋亡是肿瘤治疗取得成功的关键。

野生型P53蛋白能够调节Bcl-2家族蛋白的表达状态,通过激活Bax基因的启动子,上调B细胞淋巴瘤/白血病基因伴随蛋白X(Bax)的表达,形成Bax/Bax同源二聚体,从而使细胞增殖周期停滞、诱导细胞凋亡<sup>[11]</sup>。右旋柠檬烯是广泛存在于芸香科柠檬、柑桔精油的一种单萜烯类化合物,蛋白免疫印迹提示实验组细胞中P53、Bax表达均增加,Bcl-2表达减少;对照组Bcl-2表达较高,P53、Bax表达较低。其机制可能是通过提升肿瘤细胞内P53/Bax基因表达,降低凋亡抑制基因Bcl-2的表达来实现的<sup>[12]</sup>。胡灿红等<sup>[13]</sup>研究表明,复方菝葜颗粒能将A549大部分阻滞在G<sub>1</sub>期,延缓细胞生长速度;能够上调抑癌基因P53 mRNA表达,这可能是复方菝葜颗粒治疗非小细胞肺癌的作用机制之一。

Bcl-2/Bax是迄今研究得最深入、最广泛的凋亡调控基因,

<sup>△</sup> 基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(No.桂科重12118005-2-3);广西高等学校重大科研资助项目(No.201202ZD067)

\* 硕士研究生。研究方向:肿瘤病理、生理学。E-mail: glwafa@126.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:肿瘤病理生理学与药理学。电话:0773-5898939。E-mail: xuqincpu@126.com

其中 Bcl-2 被称为“凋亡抑制基因”,高表达能阻抑多种凋亡诱导因素所引发的细胞凋亡,而 Bax 能促进由线粒体通路引起的细胞凋亡,被命名为“凋亡促进基因”。Yue GG 等<sup>[14]</sup>报道,姜黄素能激活 HepG2、MCF-7、MDA-MB-231 细胞中的前体半胱氨酸蛋白酶(Caspases)-3 和 Caspases-8,进而激活凋亡的枢纽 Caspases-9,下调 Bcl-2 基因的表达,诱导细胞发生凋亡。关永格等<sup>[15]</sup>报道,化痰止痛方中挥发油组作用最强,不同浓度的化痰止痛方醇提物、水提醇沉物及挥发油均能显著降低子宫腺肌病病灶细胞的增殖活力及 Bcl-2 表达,提高 Bax 表达来诱导细胞凋亡,继而使病灶自然缩小或消退,这可能是化痰止痛方治疗的主要机制之一。

原癌基因 Bcl-2、c-myc 是主要的凋亡调控基因。Bcl-2 能抑制细胞凋亡,Bcl-2 受抑制被认为可能是细胞凋亡的共同通道<sup>[16]</sup>。Pal D 等<sup>[17]</sup>采用 RT-PCR、Western blot 检测到丁香酚能下调皮肤癌细胞中 c-Myc、H-ras 和 Bcl-2 基因的表达。因此,挥发油诱导肿瘤细胞凋亡的机制可能与一些癌基因和抑癌基因的表达改变有关,但其中可能的具体机制仍需进一步研究。

### 3 抑制端粒酶活性

正常人体细胞每分裂 1 次,端粒丢失约 50~200 个核苷酸,随着细胞分裂增殖,端粒却逐渐缩短,端粒的缩短限制了细胞的增殖能力。端粒酶以两种亚单位的四聚体形式存在,即两个 hTERT。其中,TERT 亚单位为端粒酶活性的最主要单位,对端粒酶活性的研究也多是以 TERT 为基础的<sup>[18]</sup>。端粒酶以自身为模板,合成补充端粒序列,使端粒结构保持稳定,逃避复制衰老,继续增殖,另外它还参与了细胞周期的调控,并可抑制肿瘤细胞凋亡与分化。

从根本上说,正常细胞通过端粒酶发生癌变的具体机制都是在基因水平上失去了对细胞增殖的控制,使细胞发生了永生(immortalization)。大体过程如下:慢性损伤使端粒缩短→hTERT 基因激活→端粒酶表达→端粒酶发挥相应作用使细胞永生。TERT 基因主要受转录水平调控,致癌因素与转录因子发生作用,增强某些癌基因的活性,上调 c-Myc 基因,进一步直接启动 hTERT 基因的激活<sup>[19]</sup>。端粒酶可能是目前已知的最广谱的恶性肿瘤分子标记物,并且与细胞周期和肿瘤凋亡基因表达关系密切。因此,鉴于端粒酶在肿瘤发生和发展中所扮演的重要角色,抑制端粒酶活性可能是某些抗癌药物发挥作用的机制。

芪灵益肝煎中的灵芝、莪术等药物含有挥发油成分,可下调 TERT 的表达,进而使端粒酶表达下降,使细胞在细胞周期的 G<sub>2</sub>M 期中受阻,从而抑制细胞的有丝分裂,引起肝癌细胞的死亡<sup>[20]</sup>。天力克及莪术油可显著下调端粒酶活性表达,从而诱导 HepG-2 细胞发生早期凋亡<sup>[21]</sup>。榄香烯是从中药莪术中分离出来的萜烯类化合物,魏为<sup>[22]</sup>报道其可以明显下调 Survivin、NF-κB 基因及蛋白表达,以及 hTERT 基因的表达,从而降低端粒酶活性,抑制 HXO-RB44 细胞生长,诱导其发生凋亡。魏凤香等<sup>[23]</sup>研究发现,松针油诱导肝癌 HepG-2 细胞凋亡,并能抑制端粒酶活性,Bcl-2 参与了松针油诱导的 HepG-2 凋亡过程中端粒酶活性的调控。目前,多数研究认为,这些药物可能是通过抑制肿瘤细胞端粒酶活性而诱导肿瘤细胞发生凋亡。

### 4 影响细胞凋亡信号传导

Caspase 家族成员,均能特异性切割天冬氨酸位点,是细胞凋亡的主要执行者,细胞内 Caspase 家族的激活是细胞凋亡最典型的特征。Caspase 蛋白通常以酶原的形式存在,各种介导

凋亡途径均能导致 Caspase-9 的激活,继而引发下游 Caspase 家族的级联反应,引起细胞发生凋亡。

花梨木(REO)精油能引发人体表皮癌细胞株 A431 细胞中活性氧产生增加,使线粒体膜去极化,通过线粒体途径激活 Caspase-8、Caspase-9,进一步激活 Caspase-3 诱导细胞凋亡<sup>[24]</sup>。山苍子挥发油通过上调 Akt、P53、P21 和 Cyclin D1 蛋白表达,增加 Akt 的磷酸化,激活 Cyclin D1,从而使 A549 细胞阻滞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期(83.5%),这有可能是山苍子挥发油诱导 A549 细胞发生凋亡的作用机制之一<sup>[25]</sup>。

在独活草精油抑制口腔鳞状细胞癌(OSCC)增殖的研究中,Sertel S 等<sup>[26]</sup>利用 mRNA 微阵列检测信号传导分析软件从 186 个传导途径中筛选出 3 个最明显的途径:细胞外信号调节激酶 5(ERK5)信号、整合素连接激酶(ILK)信号、通过病毒进入内吞途径和 p53 信号。红参挥发油通过作用于体外肝癌及体内 CCl<sub>4</sub> 诱导的小鼠肝癌模型,阻止 MAPKs 的磷酸化,而不影响 Akt 的磷酸化,通过 MAPKs 途径参与上游信号的传导途径而发挥其抗肿瘤保肝作用<sup>[27]</sup>。乳香精油对乳腺癌 MCF10-2A、MCF-7、T47D 具有剂量依赖性促凋亡作用,其通过激活 caspases 家族而发挥作用;通过减少磷酸化的 Akt 及 ERK1/2 参与 MAPKs 信号途径的传导,通过影响下调 cyclinD1 表达的阻滞细胞周期而发挥作用<sup>[28]</sup>。赤松叶挥发油可作用于口腔癌,通过产生活性氧、激活 caspases-9、下调 Bcl-2 表达、诱导 YD-8 细胞凋亡、磷酸化 ERK1/2 及 JNK-1/2 增加,以及通过 MAPKs 信号途径激动 P38 而发挥作用<sup>[29]</sup>。

### 5 结语

随着医学研究的不断深入,细胞凋亡的研究为肿瘤治疗提供了新的思路和靶点。人们已经认识到诱导肿瘤细胞凋亡很可能作为肿瘤治疗的一个新策略。但是,在中医药与细胞凋亡关系研究领域里,相关中医基础理论研究明显滞后于中药作用机制研究。因此,将传统中医基础理论与现代分子生物学有机地结合,开展“中医分子生物学”的研究,对中医药现代化研究具有十分重要的意义。

### 参考文献

- [1] 袁太宁,肖长义,汪黎植.花椒抗宫颈癌 Caski 细胞作用及其机制的初步研究[J].时珍国医国药,2009,20(5):1 119.
- [2] 袁太宁,汪黎植.花椒抗肺癌 A549 细胞作用及其机制的研究[J].内蒙古中医药,2009(4):59.
- [3] 麻艳芳,邵邻相,张均平,等.佛手挥发油对 MDA-MB-435 人乳腺癌细胞体外增殖的影响[J].中国药理学杂志,2010,45(22):1 737.
- [4] 朱文婷.榄香烯对小鼠肝癌高、低淋巴道转移系 HCa-P/L6 和 HCa-P 生物学特性影响的比较研究[D].大连:大连医科大学,2010.
- [5] 马赛.束骨姜黄醇对舌癌 Tca8113 细胞系增殖、凋亡的影响及其相关机制研究[D].石家庄:河北医科大学,2011.
- [6] 席与斌,吴允孚,陈刚.四君子汤抗胃癌活性部位配伍作用及其对细胞周期的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2012,20(1):26.
- [7] 李美.野胡萝卜挥发油对 HeLa 细胞凋亡与坏死的影响[D].金华:浙江师范大学,2012.
- [8] Tan B, Shi HL, Ji G, et al. Antiproliferative effects of essential oil of a compound Chinese herbal medicine Weiqi Decoction on AGS cells[J]. ZhongXiYiJieHeXueBao, 2011,

# 咖啡酸苯乙酯对缺血-再灌注氧化应激损伤保护作用的研究进展<sup>△</sup>

何小燕\*,郝春芝(西南大学药学院,重庆 400715)

中图分类号 R285;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)15-1426-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.15.28

**摘要** 目的:为咖啡酸苯乙酯(CAPE)用于缺血-再灌注氧化应激损伤的预防与治疗提供依据。方法:查阅近年来国内、外相关文献,总结CAPE在心肌、大脑、骨骼肌以及皮瓣、肾、肠、卵巢、睾丸及视网膜等器官的缺血-再灌注方面的研究结果,概述其在缺血-再灌注氧化应激损伤中的保护作用及其机制。结果:CAPE作为抗氧化剂,通过影响抗氧化酶、氧自由基、NO水平等发挥保护组织器官缺血-再灌注损伤的作用。结论:CAPE已被证实具有较强的保护缺血-再灌注损伤作用,它确切的作用机制以及在人体内的药动学及药物效应动力学需要更进一步的研究。

**关键词** 咖啡酸苯乙酯;缺血-再灌注;氧化应激;抗氧化;综述

- 9(5):558.
- [9] Frank MB, Yang Q, Osban J, *et al.* Frankincense oil derived from *Boswellia carteri* induces tumor cell specific cytotoxicity[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2009, 9:6.
- [10] Itani WS, El-Banna SH, Hassan SB, *et al.* Anti colon cancer components from Lebanese sage (*Salvia libanotica*) essential oil: Mechanistic basis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(11):1 765.
- [11] Lane DP. Cancer, a death in the life of p53[J]. *Nature*, 1993, 362(29):786.
- [12] 路晓光.右旋柠檬烯对人胃癌生长及转移抑制作用的实验研究[D].大连:大连医科大学, 2003.
- [13] 胡灿红,李广诚,董克礼.复方菝葜颗粒对非小细胞肺癌A549细胞P53基因、细胞周期的影响[J].中国现代医学杂志, 2009, 19(7):1 025.
- [14] Yue GG, Chan BC, Hon PM, *et al.* Evaluation of in vitro anti-proliferative and immunomodulatory activities of compounds isolated from *Curcuma longa*[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8/9):2 011.
- [15] 关永格,李坤寅,曾诚,等.化痰止痛方有效部位对子宫腺肌病细胞增殖及Bcl-2、Bax表达的影响[J].中药新药与临床药理, 2011, 22(1):29.
- [16] 段小嫻.Bcl-2基因家族对细胞凋亡的调控[J].中国医学文摘:肿瘤学, 2001, 15(1):80.
- [17] Pal D, Banerjee S, Mukherjee S, *et al.* Eugenol restricts DMBA croton oil induced skin carcinogenesis in mice: downregulation of c-Myc and H-ras, and activation of p53 dependent apoptotic pathway[J]. *J Dermatol Sci*, 2010, 59(1):31.
- [18] Arai K, Masutomi K, Khurts S, *et al.* Two independent regions of human telomerase reverse transcriptase are important for its oligomerization and telomerase activity[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(10):8 538.
- [19] Wang J, Xie LY, Allan S, *et al.* Myc activates telomerase [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(12):1 769.
- [20] 郑颖.芪灵益肝煎及其CO<sub>2</sub>超临界萃取液对肝癌细胞株H22端粒酶表达的影响[D].大连:大连医科大学, 2005.
- [21] 魏书堂.天力克和莪术油对肝癌细胞株HepG-2抗肿瘤机制的比较研究[D].兰州:兰州大学, 2007.
- [22] 魏为.榄香烯对视网膜母细胞瘤HXO-RB44细胞Survivin、NF-κB基因表达和端粒酶活性的影响[D].长沙:中南大学, 2007.
- [23] 魏凤香,李美玉,宋宇宏,等.松针油诱导肝癌HepG2细胞凋亡及对端粒酶活性的影响[J].中药材, 2008, 31(8):1 197.
- [24] Soeur J, Marrot L, Perez P, *et al.* Selective cytotoxicity of *Aniba rosaeodora* essential oil towards epidermoid cancer cells through induction of apoptosis[J]. *Mutat Res*, 2011, 718(1/2):24.
- [25] Seal S, Chatterjee P, Bhattacharya S, *et al.* Vapor of volatile oils from *Litsea cubeba* seed induces apoptosis and causes cell cycle arrest in lung cancer cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47 014.
- [26] Sertel S, Eichhorn T, Plinkert PK, *et al.* Chemical Composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Levisticum officinale*, against UMSCC1 head and neck squamous carcinoma cells[J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(1):185.
- [27] Bak MJ, Jun M, Jeong WS. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of the Red Ginseng Essential Oil in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Treated HepG2 Cells and CCl<sub>4</sub>-Treated Mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2):2 314.
- [28] Suhail MM, Wu W, Cao A, *et al.* *Boswellia sacra* essential oil induces tumor cell-specific apoptosis and suppresses tumor aggressiveness in cultured human breast cancer cells[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2011, 11:129.
- [29] Jo JR, Park JS, Park YK, *et al.* *Pinus densiflora* leaf essential oil induces apoptosis via ROS generation and activation of caspases in YD-8 human oral cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(4):1 238.

<sup>△</sup> 基金项目:西南大学基本科研业务费专项资金项目;西南大学本科科技创新基金项目

\* 实验师,硕士。研究方向:天然药物药理。电话:023-68251036。  
E-mail: hxy0626@163.com

(收稿日期:2013-09-09 修回日期:2013-11-20)