

• 综 述 •

原花青素对肿瘤抑制作用的研究进展^{*}

方 莉^{1,2}综述,黄光成^{1,2}审校

(1. 川北医学院医学检验系,四川南充 637000; 2. 川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000)

关键词:原花青素类; 肿瘤抑制; 研究

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 19. 023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)19-2215-04

近年来,肿瘤的发病率逐年增高,其死亡率在众多疾病中居首位,特别是恶性肿瘤目前的治疗手段多为手术切除并放、化疗,这种治疗方式副作用大,患者生存质量差,而且大部分患者治疗效果都较差,患者往往在发病后 3~5 年内死亡,所以人们迫切需要找到一种新的肿瘤治疗手段。而近几年来相关的研究发现,原花青素,尤其是葡萄籽中提取的原花青素抗癌效果良好。

1 原花青素概述

1.1 原花青素的来源 1961 年,德国的 Karl 等从英国新鲜山植的乙醇提取物中首次分离出 2 种多酚聚合物;1967 年,美国的 Joslly 等又从葡萄皮和葡萄籽中分离出 4 种多酚聚合物。由于这些多酚聚合物在酸性溶液中均可加热生成花青素,故称为原花青素。原花青素在葡萄、山楂、松树皮、银杏、花生、野生刺梨、番荔枝、野草莓、可可豆、贯叶金丝桃、白桦树等植物中含量丰富。研究发现,葡萄籽与松树皮提取物中原花青素的含量最高。葡萄籽原花青素提取物含有 80%~85% 的原花青素。目前国内外对原花青素的提取主要采用多级溶剂萃取法和吸附层析法。前者虽然简便省时,但有机溶剂用量较大,对环境的污染较严重。而后者虽然提取纯度高,但用于吸附原花青素的树脂本身的化学结构和洗脱剂对原花青素的分离有一定影响,所以目前对原花青素的分离纯化还在寻找更好的方法。

1.2 原花青素的化学结构 最简单的原花青素是儿茶素、表儿茶素或儿茶素与表儿茶素形成的二聚体,此外还有三聚体、四聚体直至十聚体。按聚合度的大小,通常将二至四聚体称为寡聚体(procyanidolic oligomers, OPC's),将五聚体以上的称为高聚体(polymers procyanidolic, PPC's)。根据缩合键位不同,又可将原花青素聚合物分为 A、B、C、T 和 D 等几类。目前已鉴定出 20 余种不同的原花青素,其中二聚体抗氧化性最强,是最重要的一类原花青素。二聚体中,因两个单体的构象或缩合键位的不同有多种异构体,已分离鉴定的 8 种异构体命名为 B1~B8,其中 B1~B4 由 C4~C8 键合, B5~B8 由 C4~C6 键合。而三聚体 C1 在自然界中含量最为丰富。原花青素分子结构中有多个羟基,8 个酚羟基(儿茶素)与双键共轭,为氢原子的供体,且芳环上的共轭双键使电子在分子中稳定,2 个脂肪族羟基使其具有良好水溶性,正是这些分子结构特点使其具有良好的清除自由基和抗氧化的活性。

1.3 原花青素的生物活性 经过大量的研究证实,原花青素具有极强的清除自由基和抗氧化活性、抗疲劳、抗辐射损伤、延缓衰老、心血管保护作用及抗高血糖、抗肿瘤、抗诱变等作用^[1]。它是目前公认的抗氧化能力最强的天然抗氧化剂,据相关的实验证明,在同等条件下原花青素的氧自由基清除能力是

维生素 C(VC)的 5~6 倍。通过建立生物膜模型检测原花青素和维生素 E 的抗氧化能力时,发现原花青素较维生素 E 能有效延长羟基自由基诱导的卵磷脂脂质体过氧化作用,而当原花青素和维生素 E 联合使用时,发现二者具有明显的协同作用,可以大大加强抗氧化作用。原花青素的清除自由基和抗氧化能力是目前被应用得最多的方面,其作用主要表现在:(1)有效地清除超氧阴离子自由基和羟基自由基等,也可中断自由基链式反应;(2)参与磷脂、花生四烯酸的新陈代谢和蛋白质磷酸化,保护脂质不发生过氧化损伤;(3)为强有力的金属螯合剂,可螯合金属离子,在体内形成惰性化合物;(4)保护和稳定 VC,并有助于 VC 的吸收。

2 原花青素肿瘤抑制作用

国内外有许多关于原花青素抗癌作用方面的相关报道。大量研究结果表明,原花青素主要是通过清除自由基抗氧化作用,抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡^[2],阻滞细胞周期^[3],调节核因子 NF- κ B 的活性及其目标基因的表达^[4]等,达到其抗癌作用。以下就人体各系统肿瘤疾病中原花青素的肿瘤抑制作用的相关研究进行概述。

2.1 消化系统肿瘤 人体消化系统肿瘤多发于肝、胃以及结肠,其中以肝癌发病率居首。梁惠敏等^[5]以不同剂量原花青素与肝癌细胞 SMMC27721 共同培养,MTT 法检测增殖抑制效果,发现当原花青素浓度在 20~60 μ g/mL 范围内可抑制细胞增殖,且抑制率随浓度增加而增高。采用 RT-PCR 检测细胞甲胎蛋白 mRNA 表达,发现 40 μ g/mL 和 60 μ g/mL 的原花青素均使甲胎蛋白 mRNA 表达下降,而细胞的碱性磷酸酶活性明显升高,表明原花青素对肝癌细胞 SMMC27721 具有抑制增殖和促进分化作用,并且通过对细胞内超氧化物歧化酶(SOD)活力、丙二醛(MDA)、活性氧簇(ROS)的测定结果分析发现,原花青素对 SMMC27721 细胞的作用机制可能与清除 ROS、提高 SOD 的活性、降低脂质过氧化反应等有关。杜宏等^[6]发现莲房原花青素(LSPC)可诱导 HePG2 细胞凋亡,抑制其生长且有浓度依赖性,当 LSPC 浓度达 80 mg/L 时凋亡达高峰。通过对 HePG2 细胞周期比率分析显示,随 LSPC 浓度增加,S 期比率下降,G2/M 期细胞比率上升,即 LSPC 具有抑制 HePG2 细胞 DNA 合成,阻滞其增殖的作用。通过对凋亡的 3 个相关基因(GADD34、GADD45 β 、GADD153)的表达水平的监测发现,其表达水平随着 LSPC 浓度升高而升高,在 80 mg/L 时达高峰。

已有大量证据证明,半胱氨酶(caspase)是哺乳动物体内最主要的凋亡效应因子,而 caspase-3 则是最终引起凋亡的关键因子,原花青素可激活瘤细胞内的 caspase-3 和 caspase-9,

^{*} 基金项目:四川省卫生厅科研课题(090145)。

并增加线粒体膜通透性,使细胞色素 C 释放增加,最终诱导瘤细胞凋亡^[7]。何佳声和黄学峰^[8]以葡萄籽提取物原花青素处理人结肠癌细胞株 SW620 发现,原花青素 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 的实验组观察细胞凋亡率分别为 6.9%、18.0%、22.0%,而对照组凋亡率为 1.0%。通过对 caspase-3 酶活性的检测结果分析发现,含原花青素的实验组细胞的 caspase-3 酶活性显著增高,即原花青素对 SW620 细胞有明显的诱导凋亡作用。Engelbrecht 等^[9]分别用浓度为 0、10、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 的原花青素处理结肠癌 CaCo 细胞和正常的上皮细胞 NCM460,培养 24 h 后观察细胞生长情况,结果显示 NCM460 细胞的实验组和空白组的细胞生长无明显差异,而 CaCo 细胞的实验组和空白组细胞生长存在明显改变,随原花青素浓度增大(0~100 $\mu\text{g/mL}$),细胞生长抑制率越大,且不管是低浓度组还是高浓度组原花青素均诱导出现细胞形态改变和细胞凋亡的生物学特征。并通过免疫印迹检测到原花青素使 PI3-K 的催化亚基(P110)和调节亚基(P85)出现明显的衰减,进而显著减弱了 PKB-SER473 的磷酸化,这使肿瘤细胞的抗凋亡能力明显减弱,使细胞出现程序性死亡。

2.2 呼吸系统肿瘤 高爱霞等^[10]将 NCI-H460 细胞于含不同浓度原花青素的培养液中培养一定时间后,用台盼蓝拒染法检测细胞成活情况,发现 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度原花青素的实验组活细胞数明显低于对照组。通过对各组细胞的生长情况进行监测结果显示,培养 72 h 后 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 组的细胞生长抑制率分别为 38.1%、50.6%、59.1%,DNA 凝胶电泳于 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 组能检测到呈梯形的 DNA 降解带,而对照组和 25 $\mu\text{g/mL}$ 组未见凋亡带。以裸鼠建立的肺癌模型,分别以低、中、高剂量花青素为实验组,CTX 为阳性对照,生理盐水组为实验组,生理盐水组裸鼠第 3 天发瘤,范青素低剂量组第 5 天,中、高剂量组及 CTX 组均第 7 天出现肉眼可见的瘤块,第 9 天后,中、高剂量组瘤块生长速度明显低于对照组及低剂量组,而接近 CTX 组,第 38 天生理盐水组裸鼠死亡,其余组裸鼠只见消瘦,无死亡。

卢婷婷和梁统^[11]以白介素-1 β (IL-1 β)诱导的人肺癌细胞 A549 为模型,研究原花青素对环氧合酶-2(COX-2)启动子活性的影响。环氧合酶(COX)含 COX-1 和 COX-2 两种亚型,其中 COX-2 与炎症和肿瘤的发生关系密切,此试验中用含完整的和 NF- κ B 结合位点突变的 COX-2 启动子的荧光素酶表达载体 PGL3 质粒转染 A549 细胞。实验组加原花青素(20 $\mu\text{g/mL}$)培养,对照组加 0.1% DMSO。结果显示未加原花青素的含完整 COX-2 启动子的 A549 细胞 COX-2 启动子活性经 IL-1 β 诱导后活性明显增高,而 NF- κ B 结合位点突变的 COX-2 启动子活性很低,且经 IL-1 β 诱导后活性无明显变化。20 $\mu\text{g/mL}$ 原花青素作用下 IL-1 β 诱导产生的完整 COX-2 活性较未经原花青素组有显著降低。即原花青素对 COX-2 的启动子活性有明显抑制作用。

2.3 泌尿生殖系统肿瘤 caspase-3 是 caspase 家族中的重要成员,在细胞凋亡过程中,caspase 通过以下两个途径参与细胞的凋亡作用^[12]:(1)作为启动物,接受凋亡信号,发生细胞内的级联反应;(2)作为效应物,水解各种成分,使细胞解体,形成凋亡小体。在细胞的凋亡过程中发挥重要作用,大多数触发细胞凋亡的因素,最终均需要通过 caspase-3 介导的信号传递途径导致细胞凋亡。而 survivin 是凋亡蛋白(IAP)家族中重要的抑制细胞凋亡的抑制剂,survivin 会结合相应的端粒细胞死亡酶 caspase-3 和 caspase-7 抑制其活性,从而阻断各种刺激诱导的

细胞凋亡。而新近发现的抗凋亡作用基因 livin,其表达的蛋白被称为 livin 蛋白,其抗凋亡作用略强于 survivin,它主要是通过介导细胞凋亡的下游效应 caspase,即激活形式的 caspase-3 和 caspase-7 结合,并抑制其活性来发挥其抗凋亡效应。Liu 等^[13]分别以 12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 葡萄籽中提取的原花青素处理人膀胱癌 BIU87 细胞作为实验组,并以未加原花青素组为对照组。培养 24 h 后经 MTT 法检测各组细胞的生长活率,结果呈一种递减趋势,由 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 时细胞生长抑制明显。对各组细胞进行 Annexin V and PI 双染色后使用流式细胞仪进行细胞凋亡率检测,结果得到 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 组细胞的凋亡较明显,凋亡率分别为 8.7%、28.2%、40.6%,呈明显的剂量依赖性。同时采用 PCR 半定量和 Western blotting 检测了与细胞凋亡密切相关的两个物质 caspase-3 和 survivin。PCR 半定量检测 caspase-3 的 mRNA 表达水平随各实验组原花青素浓度增加而递增,而 survivin 的 mRNA 表达水平则逐渐降低。所以原花青素诱导的 BIU87 细胞凋亡与 caspase-3 的表达上调以及 survivin 的表达下调有关。这可能将对膀胱癌的辅助治疗提供极大帮助。黄雪坤和李光仪^[14]通过对不同浓度原花青素(0~600 $\mu\text{mol/L}$)处理的宫颈癌 Hela 细胞的细胞存活率和凋亡率的检测发现,随原花青素浓度的不断增加,细胞的存活率呈剂量依赖性降低,而凋亡率则升高。使用 RT-PCR 检测 livin 基因和 caspase-3 基因 mRNA 的表达,分别用终浓度为 0、150、300、600 $\mu\text{mol/L}$ 原花青素处理宫颈癌 Hela 细胞 24 h,livin mRNA 条带逐渐变细,caspase-3mRNA 条带逐渐变粗,即随着原花青素浓度的增加,livin mRNA 表达减少,而对 caspase-3 活性的检测结果表明,从 75 $\mu\text{mol/L}$ 原花青素起,caspase-3 相对活性明显增加,600 $\mu\text{mol/L}$ 时酶活性达最大值,达对照的 2.39 倍。由此可以得出原花青素可能是通过迅速下调抗凋亡蛋白 livin 表达,同时上调 caspase-3 的表达,并激活 caspase-3,导致蛋白酶级联切割放大,最终引起宫颈癌 Hela 细胞凋亡。

Maldonado 等^[15]通过苹果原花青素诱导人转移性直肠癌细胞 SW620 实验证明,原花青素通过 NF- κ B 和 p53 上调细胞凋亡相关受体 TRAIL-DR4/-DR5 表达与其诱导的癌细胞凋亡具有一定关联,而 TRAIL-DR4/-DR5 之间的比例是激活 TRAIL 死亡受体介导的细胞凋亡的关键因子。

前列腺癌是西方国家男性最常见的恶性肿瘤疾病,虽然目前针对它的治疗方法不断更新,但其死亡率仍很高。大量的研究都证明,前列腺癌患者的前列腺细胞膜上雄激素受体位点的表达明显高于正常前列腺细胞。Kampa 等^[16]以新型的低聚原花青素(B1~B4)处理人体前列腺癌细胞发现,原花青素通过降低癌细胞膜表面雄激素受体对雄激素的敏感性和使癌细胞发生雄激素抵抗,从而达到诱导癌细胞凋亡的效果。其中以 B2 实验效果最强,有望成为治疗晚期前列腺癌的新型药物。

CyclinD1 和 CDK4 是调控细胞 G₁ 期的关键因子,CyclinD1-CDK4-prb 通路在细胞由 G₁ 期跃迁至 S 期起关键作用,与肿瘤的发生和发展有重要关系。刘洁等^[17]的研究结果显示葡萄籽提取物原花青素在一定浓度范围内呈剂量依赖性,阻滞膀胱癌细胞于 G₁ 期,并下调 G₁ 期相关因子 CyclinD1 和 CDK4 mRNA 及蛋白表达水平。Agarwal 等^[18]在前列腺癌的研究中发现葡萄籽提取物可呈剂量依赖性,阻滞人前列腺癌 Du14 细胞于 G₁ 期,增加 Cipl/p21 表达,减少 CDK4、CDK2 和 CyclinE 表达。

2.4 乳腺癌 大量的实验已证实雌激素在乳腺癌的增生中起

着重要的作用。而芳香化酶是雄激素转化为雌激素的关键酶,这种酶在乳腺癌组织中的表达程度远远高于正常组织。Elizabet 等^[19]通过紫外吸收分析,高效液相色谱分析,准确的质量、质谱和纳流喷雾串联质谱法等方法分析得出结果,从葡萄籽中提取的原花青素二聚体能够有效地抑制芳香化酶的活性。通过抑制动力学分析发现,原花青素二聚体通过竞争性结合芳香化酶上的雄激素结合位点抑制雌激素的生成。而在 MCF-7 乳腺癌移植瘤模型上进行的实验表明,原花青素二聚体可以通过抑制雌激素的产生而明显抑制肿瘤的生长。

很多肿瘤细胞从瘤体上脱落下来后并不发生凋亡,尤其是容易发生转移的恶性肿瘤细胞可以迁徙到其他部位生长,即抗脱落凋亡现象。而在女性肿瘤患者中发病率最高的乳腺癌,其癌细胞是否发生转移与其治疗结果和预后有重大关联。所以减少癌细胞的抗脱落凋亡和发生转移性肿瘤的治疗具有重大的意义。Hantena 等^[20]在研究葡萄籽中提取物原花青素对转移性乳腺癌诱导凋亡和增殖抑制效果的实验中,采用了 4T1、MCF-7 和 MDA-MB-468 共 3 种乳腺癌细胞,分别对 3 种细胞用 0、10、20、40、60、80 $\mu\text{g/mL}$ 原花青素处理,培养 24、48、72 h 后检测其增殖抑制率,结果显示细胞的增殖受到抑制,这种抑制程度呈剂量和时间依赖性,其中 4T1 细胞的抑制率在 24、48、72 h 分别为 10%~60%、20%~75%、37%~90%,其他两组细胞的增殖同样也受到抑制。流式细胞仪检测细胞的凋亡情况,结果显示原花青素处理过的细胞组相对未加原花青素的对照组,凋亡率明显呈升高趋势,呈明显剂量依赖性,在 80 $\mu\text{g/mL}$ 达最大。通过 Western blotting 检测到经原花青素处理的 4T1 细胞 Bax 表达增加,Bcl-2 表达下调,诱导细胞色素 C 释放和 Apaf-1 的表达,在体外建立的小鼠 4T1 肿瘤模型上也得出了同样的结果。抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 同属一大家族,Bcl-2 和 Bax 通过控制线粒体膜的通透性来调节凋亡激活物释放而影响细胞的状态。原花青素可能是通过上调 Bax 的表达,降低 Bcl-2 的表达,增加 Bax/Bcl-2 的比例,最终致使 caspase-3 裂解增加,诱导细胞凋亡。

2.5 白血病 白血病不同于其他肿瘤疾病,它发生于人体血液系统,由造血干细胞恶性克隆增殖引起,其发病年龄分布于各个年龄阶段,以儿童、35 岁以下成人发病率最高。对于白血病目前广泛采用化疗,少部分患者有机会进行骨髓移植,但治疗效果都不理想,目前寻找到一种能特异性针对肿瘤细胞杀伤的药物,对白血病的治疗将是一项重大的突破。Feng 等^[21]在以花青素诱导氧化应激杀伤白血病细胞的实验中,以细胞双染色发现,当花青素浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$,培养 18 h 后,HL-60 细胞凋亡率达到 50%;当浓度为 120 $\mu\text{g/mL}$ 或更高时,HL-60 细胞的凋亡率几乎为 100%,认为原花青素可能是通过使肿瘤细胞内过氧化物堆积,激活应激酶 JNK/p38 MAP,随后激活 bcl-2 蛋白家族和线粒体相关途径,致使细胞发生凋亡。Hu 和 Qiu^[22]以花青素诱导人白血病细胞 14.3D10 细胞凋亡,发现低剂量的花青素能诱导 14.3D10 细胞凋亡,并证明诱导凋亡与线粒体和半胱天冬酶有关。

2.6 其他肿瘤 杜晓芬等^[23]用莲房原花青素作用口腔癌 KB 细胞,发现 24 h 时 0.1~100 $\mu\text{g/mL}$ 的原花青素对 KB 细胞具有显著的增殖抑制作用。观察细胞形态变化发现,胞内出现大量的空泡,染色质边集,断裂等细胞凋亡的特征。Zhang 等^[24]通过研究低聚原花青素(F2)对胶质瘤细胞 U87 和 C6 的细胞毒性时发现,低聚原花青素诱导胶质瘤细胞产生活性氧,并降低其线粒体膜表面电位,瘤细胞胞质内产生空泡,诱导瘤细胞

的凋亡增加。

3 结 语

恶性肿瘤严重威胁人类的生命和健康,人们不仅需要积极探索研发更有效的治疗方法,也应该重视对肿瘤的预防和早期诊断^[25],降低肿瘤的发病率,有效地降低肿瘤对人类的危害。而国内外大量的研究结果对原花青素的抗肿瘤作用都作出了肯定,且相对于现在常用的放、化疗治疗,其对人体正常细胞并无毒副作用,这就为原花青素在肿瘤的预防和治疗中的应用打下了基础。但是目前对原花青素的研究还仅局限于体外实验或动物实验,对其在人体上的抗肿瘤作用还少见相关研究报道,所以对原花青素在人体的抗肿瘤应用还需要进一步研究。但是就目前关于原花青素的研究成果而言,它将是很有潜力的抗肿瘤药物。

参考文献

- [1] 陈美珩,梁统,周克元.原花青素的抗炎作用及其作用机制探讨[J].国际检验医学杂志,2008,29(12):1080-1082.
- [2] Actis-Goretta L, Romanczyk LJ, Rodriguez CA, et al. Cytotoxic effects of digalloyl dimer procyanidins in human cancer cell lines[J]. J Nutr Biochem, 2008, 19(12):797-808.
- [3] Kim M, Wu X, Song I, et al. Selective cytotoxicity of synthesized procyanidin 3-O-galloylprocatechin-4b, 8-3-O-galloylprocatechin to human cancer cells[J]. Cell Cycle. 2008, 7(11):1648-1657.
- [4] Mackenzie GG, Delfino JM, Keen CL, et al. Dimeric procyanidins are inhibitors of NF-kappaB-DNA binding[J]. Biochem Pharmacol, 2009, 78(9):1252-1262.
- [5] 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,2010,5(21):13-20.
- [6] 杜宏,张娜,高霞,等.连房原花青素对人肝癌细胞 HepG2 生长及凋亡的作用[J].实用医学杂志,2008,24(6):891-893.
- [7] Miura T, Chiba M, Kasai K, et al. Apple procyanidins induce tumor cell apoptosis through mitochondrial pathway activation of caspase-3[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(3):585-593.
- [8] 何佳声,黄学锋.原花青素对人结肠癌细胞 SW620 增殖和凋亡的影响[J].中国中西医结合外科杂志,2010,16(4):439-442.
- [9] Engelbrecht AM, Mattheyse M, Ellis B, et al. Proanthocyanidin from grape seeds inactivates the PI3-kinase/PKB pathway and induces apoptosis in a colon cancer cell line[J]. Cancer Lett, 2007, 258(1):144-153.
- [10] 高爱霞,罗巨东,吴庆婷,等.花青素对肺癌细胞 NCI-H460 的体内外抗肿瘤效应[J].实验动物与比较医学,2008,28(2):85-89.
- [11] 卢婷婷,梁统.原花青素对 IL-1 β 诱导的 A549 细胞环氧化酶-2 启动子活性的影响[J].郑州牧业工程高等专科学校学报,2010,30(2):1-7.
- [12] Golstein P. Controlling cell death [J]. Science, 1997, 275:1081-1082.
- [13] Liu J, Zhuang QY, Zhang WY, et al. Role of survivin in apoptosis induced by grape seed procyanidin extract in human bladder cancer BIU87 cells[J]. Chinese-German J Clin Oncology, 2009, 8(7):420-425.
- [14] 黄雪坤,李光仪.原花青素对宫颈癌 Hela 细胞 livin 和 caspase-3 基因表达的影响[J].中国现代医学杂志,2007,17(19):2349-2353.
- [15] Maldonado ME, Bousserouel S, Gossé F, et al. Implication of NF- κ B and p53 in the expression of TRAIL-death receptors and apoptosis by apple procyanidins in human metastatic SW620 cells[J]. Biomedica, 2010, 30(4):577-586.

[16] Kampa M, Theodoropoulou K, Mavromati F, et al. Novel oligomeric proanthocyan -idin derivatives interact with membrane androgen sites and induce regression of hormone-in-dependent prostate cancer[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 337(1): 24-32.

[17] 刘洁, 庄乾元, 张维怡. 葡萄籽提取物原花青素对人膀胱癌 BIU87 细胞周期的影响及其机制研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(17): 1661-1663.

[18] Agarwal C, Sharma Y, Agarwal R. Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis [J]. Mol Carcinog, 2000, 28(3): 129-138.

[19] Elizabeth ET, Ye J, Williams D, et al. Suppression of Estrogen Biosynthesis by Procyanidin Dimers in Red Wine and Grape Seeds [J]. Cancer Res, 2003, 63(23): 8516-8522.

[20] Mantena SK, Baliga MS, Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(8): 1682-1691.

[21] Feng R, Ni HM, Wang SY, et al. Cyanidin-3-rutinoside, a natural polyphenol antioxidant, selectively kills leukemic cells by induction of oxidative stress[J]. J Bio Chem, 2007, 282(18): 13468-13476.

[22] Hu H, Qin YM. Grape seed proanthocyanidin extract induced mitochondria-associated apoptosis in human acute myeloid leukaemia 14. 3D10 cells [J]. Chin Med J, 2006, 119(5): 417-421.

[23] 杜晓芬, 谢笔钧, 张玲珍, 等. 莲房原花青素对人口腔表皮样癌 (KB) 细胞生长及形态的影响[J]. 现代口腔医学杂志, 2005, 19(4): 384-386.

[24] Zhang FJ, Yang JY, Mou YH, et al. Oligomeric procyanidins induce generation of reactive oxygen species and collapse of mitochondrial membrane potential in glioblastoma cell lines[J]. Chin Herbal Med, 2009, 1(1): 45-52.

[25] 谢跃文, 王强, 夏洁. 肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 107-109.

(收稿日期: 2011-05-29)

• 综 述 •

抗磷脂综合征与纤溶减弱

程 峰¹综述, 武爱敏²审校

(1. 黑龙江省绥化市人民医院检验科 152000; 2. 哈尔滨医科大学第一临床学院 150001)

关键词: 抗磷脂综合征; 纤溶; β_2 -糖蛋白 I; 膜联蛋白 A2
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 19. 024 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2011)19-2218-03

抗磷脂综合征 (antiphospholipid syndrome, APS) 是患者体内抗磷脂抗体 (antiphospholipid antibodies, APL) 阳性, 反复发生小动、静脉血栓及流产的非炎性自身免疫性疾病^[1]。APL 是 APS 患者血栓形成的最普遍原因, 并与因血栓而导致的心血管死亡密切相关^[2]。APL 包括狼疮抗凝物 (lupus anticoagulant, LA)、抗心磷脂抗体 (anticardiolipin antibody, ACL)。LA 是一种作用于凝血酶原复合物以及 Tenase 复合体的免疫球蛋白, 在体外能延长磷脂依赖的凝血试验的时间。 β_2 -Glycoprotein I (β_2 -GPI) 是磷脂结合蛋白, 是心磷脂中发挥作用的物质。ACL 在与含阴性电荷的磷脂抗原反应时必须有助因子 β_2 -GPI 存在, 故又称为磷脂依赖性抗 β_2 -GPI 抗体。

APL 介导血栓形成的病理过程涉及许多病理机制, 如血管内皮细胞、单核细胞、血小板的激活, 以及这些细胞释放的血栓形成微粒的作用^[3]。其他机制包括补体系统的激活、降解血栓纤溶系统的减弱等。目前已有研究报道, 发生 APS 时抗凝活性会明显减弱, 现就导致纤溶减弱的可能性因素进行综述。

1 纤溶系统的组成

纤溶过程主要是指富含纤维蛋白的血栓的修饰和降解的过程。纤溶酶原在纤溶酶原激活物的作用下转换成纤溶酶, 纤溶酶降解纤维蛋白导致纤维蛋白降解产物的释放, 包括 D-二聚体等。纤溶酶原激活物主要包括组织型纤溶酶原激活物 (tissue plasminogen activator, tPA) 和尿激酶型纤溶酶原激活物 (urokinase plasminogen activator, uPA)。tPA 由血管内皮细胞和巨噬细胞合成, 在维持血管壁的纤溶活性和溶栓过程中发挥着重要的作用。与 tPA 相比, uPA 则主要在细胞的侵袭和迁移过程中发挥作用^[4]。

纤溶酶可通过外激活途径和内激活途径而激活。外激活途径是通过活化的 tPA 和 uPA 激活纤溶酶, 内激活途径是内源性凝血系统的凝血因子Ⅻ、激肽释放酶 K 和凝血酶裂解纤溶酶还原形成纤溶酶^[5]。血浆中 tPA 的水平通常很低, 但是当身体处于运动状态和应激状态时可以升高。tPA 的活性主要由丝氨酸蛋白酶抑制剂和纤溶酶原激活抑制物-1 (PAI-1) 调节, 纤溶酶原激活物-2 也发挥着一定的作用。纤维蛋白含有 tPA 的结合位点, 体内纤维蛋白水平较高时可以促进 tPA 激活纤溶酶。纤维蛋白-纤溶酶复合物产生后, 就会被血浆纤溶抑制物 α_2 -巨球蛋白和 α_2 -纤溶抑制物等保护。因此, 在生理情况下, 纤溶系统在纤溶酶的激活物和抑制物的调解下以及纤溶酶原和纤溶酶的转换下保持着动态平衡, 防止体内血栓的形成^[6]。当任何一种平衡被破坏时, 就会导致血栓的形成。APS 患者纤溶酶原和纤溶酶的转换处于失衡状态, 这也可能是 APS 患者纤溶减弱的重要机制。

2 APS 与纤溶

目前, 已有若干研究探讨 APL 在纤溶过程中的作用, APL 引起纤溶系统的紊乱可以导致血栓的形成^[7]。Jurado 等^[8]发现, 静脉闭塞的 APS 患者与健康人群相比 PAI-1 的活性较强。Ames 等^[9]等报道, APS 患者静脉闭塞后 PAI-1 水平升高且 tPA 的生成会减少。这些研究均表明 APS 患者纤溶系统处于紊乱状态。

Atsumi 等^[10]发现了 APS 患者纤溶系统紊乱活性减弱的另一个机制即 APS 患者血浆含有高水平的脂蛋白 a [lipoprotein a, Lp(a)]。Lp(a) 是纤溶酶原的同源蛋白, 两者在结构上极为相似。Lp(a) 可以对纤溶酶原和纤维蛋白及细胞表面的