

小檗碱诱导肿瘤细胞凋亡分子机制研究进展^{*}牟凤林¹, 郝 坡¹, 肖忠华¹综述, 舒 金^{2△}审校

(1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404020; 2. 重庆市中医院南桥寺院区肾病科, 重庆 400021)

摘 要:小檗碱是从天然中药材中提取出的的异喹啉类生物碱, 对多种恶性肿瘤均具有抗肿瘤活性, 其主要通过抑制内质网应激相关蛋白表达、抑制介导作用信号通路、影响蛋白激酶通路、激活半胱氨酸蛋白酶(caspase)家族等途径诱导肿瘤细胞凋亡。

关键词:小檗碱; 肿瘤细胞凋亡; 机制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.030

文章编号:1673-4130(2018)23-2964-03

中图法分类号:R285.1

文献标识码:A

细胞凋亡也称为程序性细胞死亡(PCD), 较多文献证明细胞凋亡受抑制或缺陷可能是肿瘤发生的机制之一, 干预细胞凋亡程序已成为目前国内外治疗肿瘤的研究热点。细胞凋亡的信号途径主要有内质网信号通路、线粒体介导内源性通路、死亡受体介导的外源性通路等。

小檗碱也称为黄连素, 是从常见中药中提取的一种异喹啉类生物碱, 其分子式为 $C_{20}H_{18}NO_4$ 。一些研究表明, 小檗碱对治疗微生物所致肠道感染^[1]、控制血糖、调节血脂、抗心律失常等均有较好作用^[2-4]。小檗碱对血液系统恶性肿瘤细胞和多种实体肿瘤细胞都有不同程度的抑制作用^[5-6], 其抗肿瘤活性及机制是研究热点, 目前大部分研究认为小檗碱主要是通过抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞转移、诱导肿瘤细胞凋亡、诱导细胞分化等机制来实现其抗肿瘤活性。现笔者将近几年关于小檗碱诱导肿瘤细胞凋亡分子机制的相关研究进行综述如下。

1 抑制内质网应激相关蛋白表达

已知一些外部刺激能破坏细胞内质网稳态平衡, 出现内质网应激, 内质网应激与肿瘤有密切相关性, 内质网应激能诱导葡萄糖调节蛋白 GRP78、GRP94 等表达明显提高^[7], 葡萄糖调节蛋白主要作用是参与蛋白质合成, 并作为分子伴侣参与蛋白质的折叠和转运。研究发现在结肠癌、前列腺癌、乳腺癌等癌组织中, GRP78 的表达呈现逐渐增高的趋势^[8-10], GRP78 可与其相应受体结合而激活 PI3K 信号通路, 继而活化 Wnt 信号及细胞周期 G₁ 期的关键蛋白, 从而促进肿瘤细胞增殖和存活^[11]。贡晨雪等^[12]证明了黄连素通过抑制 GRP78 表达明显促进结肠癌细胞 SW480 凋亡, 但目前尚无小檗碱是否通过影响 GRP94 表达

从而促进肿瘤细胞凋亡的相关报道。

2 抑制介导作用信号通路 JAK2/STAT3

信号通路 JAK2/STAT3 是表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶被激活后, 从而活化的细胞信号介导通路。目前研究发现, JAK2/STAT3 信号通路可调节肿瘤细胞增殖、分化及凋亡, 其持续激活且与多种癌症的发生有密切联系, 目前已经证明在白血病、乳腺癌等恶性肿瘤中, JAK2/STAT3 信号通路处于激活状态^[13-14]。潘莉萍等^[15]用小檗碱作用于人白血病 K562 细胞后, 发现 JAK2 和 STAT3 活化明显受到抑制, 从而线粒体凋亡蛋白 Bax 表达明显增高, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达明显降低, 证明小檗碱可抑制 JAK2/STAT3 信号通路从而促进 K562 细胞凋亡。张亚军^[16]发现, 小檗碱抑制 JAK2/STAT3 信号通路后, 降低了 MCF-7 的 Bcl-2 表达, 同时增加 Bax 的表达, 上调 Bax/Bcl-2 的比例, 促进 caspase-3 的表达, 从而抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖, 诱导其凋亡。但小檗碱促进肿瘤细胞凋亡机制是直接作用于 JAK2 信号分子还是通过调节其上游激酶和信号分子而间接发挥作用仍不清楚, 尚需进行更深入的研究。

3 影响蛋白激酶通路

3.1 活化腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)通路

AMPK 是细胞能量代谢的调节器, 参与维持细胞能量代谢稳态^[17]。研究表明, AMPK 激活后可促进肿瘤细胞凋亡^[18], 柯昌康等^[19]发现, 小檗碱可以显著提高 p-AMPK 在肺腺癌 A549 细胞中的表达, 通过上调 p-AMPK 分子, 激活肺腺癌细胞氧化应激反应, 从而发挥诱导肺腺癌细胞凋亡的作用。但小檗碱在抗肺腺癌中的具体作用机制尚未完全明确, 仍需进一步研究。

^{*} 基金项目: 重庆市教育科学规划资助项目(2015-ZJ-016); 重庆市高等教育科学研究资助项目(CQJ15406C); 重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJ131804)。

[△] 通信作者, E-mail: 442109398@qq.com。

本文引用格式: 牟凤林, 郝坡, 肖忠华, 等. 小檗碱诱导肿瘤细胞凋亡分子机制研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2964-2966.

3.2 激活丝氨酸/酪氨酸激酶信号通路 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族是细胞中广泛表达的丝氨酸/酪氨酸激酶,该信号的激活在哺乳动物的生命活动中起着重要的作用。MAPKs 有 3 个主要家族:ERK、JNK 和 p38。其中 p38 信号通路是 MAPK 通路重要的分支之一。p38 通路的激活参与了多种刺激引起的信号级联反应^[20],p38 通路跟细胞凋亡有重要的关系。KAMEL 等^[20-22]研究表明,p38 可通过增加 c-myc 表达、磷酸化 p-53、激活 c-jun 等多条途径调控细胞凋亡。周军挺等^[23]用 p38 特异性抑制剂 SB203580,阻止 p38 途径的激活,显著减弱了小檗碱对 HCT-15 细胞的增殖抑制作用,同时在 SB203580 抑制 p38 途径的激活后,可以明显地阻滞小檗碱诱导的细胞自噬和凋亡,证明了小檗碱能诱导 p38 途径的活化,表明 p38 途径的激活是小檗碱发挥抗肿瘤作用的机制之一。

3.3 抑制丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)信号通路 丝氨酸/苏氨酸激酶的基因序列与致小鼠白血病的病毒癌基因 V-AKT 高度同源,Akt 信号通路活化后可使 GSK3 β Ser9 位点发生磷酸化,而使其失去活性;近年来发现 GSK3 β 在凋亡信号转导通路中发挥着重要的调控作用,其能促进 caspase 家族的蛋白酶激活,从而诱导细胞凋亡。何旭春等^[24]研究发现,经小檗碱处理后的人红白血病 HEL 细胞,P-Akt、P-GSK3 β 和 HSP70 的表达下调,因此推测小檗碱可能通过抑制 Akt 信号通路,解除其对 GSK3 β 的抑制作用,使 GSK3 β 激活而诱导细胞凋亡。

4 激活 caspase 家族

caspase 家族是导致细胞凋亡的蛋白酶系统,处于细胞凋亡级联调控的下游,在细胞凋亡机制网络中有重要作用,通常有细胞内途径和细胞外途径两种方式激活。

4.1 线粒体介导的细胞内途径 由线粒体介导的细胞内途径是细胞凋亡主要途径。有研究者证实,小檗碱能诱导线粒体跨膜电位降低,增加线粒体膜通透性,活化有关蛋白酶和核酸酶,致使线粒体出现损伤后释放出 CytoC 和凋亡诱导因子到细胞质中,从而激活 caspase 级联反应,尤其是激活 caspase 级联反应中关键的效应酶 caspase-3,使细胞选择坏死通路,最终导致细胞凋亡^[2,25]。陈奇彪等^[26]表明,小檗碱可使线粒体通过调节 Bcl-2 家族表达变化介导 caspase 家族级联反应,从而诱导膀胱癌 T24 细胞凋亡。

4.2 细胞表面死亡受体介导的细胞外途径 由细胞表面死亡受体介导的细胞外途径是目前研究热点,细胞表面死亡受体(DR)属于肿瘤坏死因子受体超家族,包括 Fas、TNRF1、DR3、DR4、DR5 等,配体有 FasL、TNF、Apo-3L、Apo-2L 等。KIM 等^[27]发现,小檗碱能显著上调口腔癌细胞死亡受体配体 FasL 的表达,继而引发 caspase-8、caspase-9 前体激活,诱导

肿瘤细胞凋亡。

5 结 语

从天然药物中提取的小檗碱可以通过激活凋亡基因、活化凋亡途径等方式诱导肿瘤细胞的凋亡而发挥抗肿瘤作用,同时具有易提取、价格低廉、对人体毒性反应小等优势,并且已发现小檗碱与吴茱萸碱、塔斯品碱等药物联合应用能增强其抗肿瘤活性,已成为中药抗肿瘤研究方向热点。但是目前文献报道均为小檗碱对体外细胞凋亡研究,肿瘤发生、发展与体内环境以及肿瘤基因有密切关系,所以小檗碱体内抗肿瘤机制仍有较大研究空间。

参考文献

- [1] 方波,周成合,周向东.小檗碱类抗微生物化合物研究进展[J].国际药学研究杂志,2010,37(2):105-109.
- [2] LU N,TONG Z,ZHANG M,et al. Effect and mechanism of EGFR expression in macrophages on the anti-cancer effect of berberine on colorectal cancer[J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi,2015,37(5):342-346.
- [3] BARZEGAR E,FOULADDEL S,MOVAHHED T K,et al. Effects of berberine on proliferation,cell cycle distribution and apoptosis of human breast cancer T47D and MCF7 cell lines[J]. Iran J Basic Med Sci,2015,18(4):334-342.
- [4] LIU J,ZHANG X,LIU A,et al. Berberine induces apoptosis in p53-null leukemia cells by down-regulating XIAP at the post-transcriptional level[J]. Cell Physiol Biochem,2013,32(5):1213-1224.
- [5] PARK K S,KIM J B,BAE J,et al. Berberine inhibited the growth of thyroid cancer cell line 8505c and TPcl[J]. Yonsei Med J,2012,53(2):346-351.
- [6] LI J,GU L,ZHANG H,et al. Berberine represses DAXX gene transcription and induces cancer cell apoptosis[J]. Lab Invest,2013,93(3):354-364.
- [7] 刘卿,汪俊涛,秦娟,等.内质网应激蛋白 GRP78 在宫颈癌组织中的表达及意义[J]. 贵州医科大学学报,2017,42(7):763-766.
- [8] 周臣敏,董浦江,付小利. GRP78 蛋白在结肠癌组织中的表达与意义[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(10):1234-1235.
- [9] WANG R C,HUANG C Y,PAN T L,et al. Proteomic characterization of Annexin I(ANX1)and heat shock protein 27(HSP27)as biomarkers for invasive hepatocellular carcinoma cells[Z],2015:e0139232.
- [10] YERUSHALMI R,RAITER A,NALBANDYAN K,et al. Cell surface GRP78:A potential marker of good prognosis and response to chemotherapy in breast cancer[J]. Oncol Lett,2015,10(4):2149-2155.
- [11] 付荣. 自分泌型 GRP78 对肠癌细胞增殖影响及机制研究[D]. 太原:山西大学,2013.
- [12] 贡晨雪,宗磊,杨金焕,黄连素调控 GRP78 诱导结肠癌细胞凋亡的研究[J]. 中药材,2013,39(10):2735-2738.

- [13] KANDALA P K, SRIVASTAVA S K. DOMming ovarian cancer growth[J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 13: 1869-1875.
- [14] CHEN X, YING Z, LIN X, et al. Acylglycerol Kinase augments JAK2/STAT3 signaling in esophageal squamous cells[J]. *J Clin invest*, 2013, 123(6): 2576-2589.
- [15] 潘莉萍, 袁伟. 黄连素对 K562 细胞增殖和凋亡的影响[J]. *临床血液学杂志*, 2015, 28(5): 795-798.
- [16] 张亚军. 黄连素对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡的影响[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2015: 1-42.
- [17] HARDIE D G, SCHAFFER B E, BRUNET A. AMPK: an Energy-Sensing pathway with multiple inputs and outputs[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 190-201.
- [18] CHEN S, ZHU X, LAI X, et al. Combined cancer therapy with non-conventional drugs; all roads Lead to AMPK[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2014, 14(8): 642-654.
- [19] 柯昌康, 刘毓英, 倪云峰. 腺苷酸活化蛋白激酶在黄连素诱导人肺癌细胞凋亡中的作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(9): 3977-3980.
- [20] KAMEL W A, SUGIHARA E, YAMAGUCHI S I, et al. Statins induce apoptosis in osteosarcoma cells by activation of Ampk and p38-MAPK via suppression of mevalonate pathway[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(14): 4182.
- [21] LIU B, YUAN B, ZHANG L, et al. ROS/p38/p53/puma signaling pathway is involved in emodin-induced apoptosis of human colorectal cancer cells[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 15413-15422.
- [22] 姜恩平, 李贺, 于春艳, 等. 五味子乙素通过 p38MAPK 信号通路对结肠癌 SW480 细胞凋亡和侵袭的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2015, 41(4): 675-679.
- [23] 周军挺, 王丽, 吴婷, 等. 小檗碱抗人结直肠腺癌的作用及其机制[J]. *中草药*, 2017, 48(3): 519-525.
- [24] 何旭春, 胡建达. 大黄素对人红白血病细胞株 HEL 作用的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(5): 1121-1124.
- [25] CHIDAMBARA MURTHY K N, JAYAPRAKASHA G K, PATIL B S. The natural alkaloid berberine targets multiple pathways to induce cell death in cultured human colon cancer cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 688(1/2/3): 14-21.
- [26] 陈奇彪, 詹雄宇, 吕秀秀. 小檗碱增强阿霉素诱导的膀胱癌 T24 细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(5): 847-851.
- [27] KIM J S, OH D, YIM M J, et al. Berberine induces FasL-related apoptosis through p38 activation in KB human oral cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(4): 1775-1782.

(收稿日期: 2018-04-12 修回日期: 2018-06-28)

• 综 述 •

质谱成像技术及其在肿瘤蛋白质组学中的研究进展

王娜娜^{1,2}, 张 婷^{1,3} 综述, 胡成进^{1△} 审校

(1. 济南军区总医院实验诊断科, 济南 250031; 2. 泰山医学院, 山东泰安 271016;
3. 潍坊医学院医学检验学系, 山东潍坊 261053)

摘 要: 质谱成像(MSI)作为蛋白质组学前沿技术, 近年来受到国内外学者的关注。该技术具有无标记、高通量、大数据、可视化等特点, 可检测多种生物分子的空间分布信息, 在组织或细胞水平上对肿瘤的准确诊断及研究应用潜力巨大。该文介绍了 MSI 像的优势、原理、样品制备及其在肿瘤蛋白质组学方面的研究进展。

关键词: 质谱成像; 蛋白质组学; 肿瘤; 诊断

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2018. 23. 031

文章编号: 1673-4130(2018)23-2966-05

中图法分类号: R730. 21

文献标识码: A

质谱成像(MSI)是目前用来研究生物组织蛋白质组学的关键技术。在 1997 年, 德国 CAPRIOLI 教授首次提出了基质辅助激光解吸电离质谱分子成像技术(MALDI-MSI)^[1], 随后该团队经过近 10 年的研发, 2016 年 CAPRIOLI 教授又提出了全新的质谱成像策略^[2], 将该技术形象地称为“分子显微镜”。该技术能将组织和细胞的生物分子定位, 可视化测量蛋白质、脂质和其他生物分子在表达水平上的分布、空间重排和变更, 同时对分子群体进行分析用于研究及分子诊断。目前, 该前沿技术已引起国内学者的关注,

但尚在起步阶段, 相关报道较少见。

1 MSI 的优势

MSI 作为一种非常灵敏的分子成像技术, 在研究及应用上具有独特的优势: (1) MSI 具有快速检测能力及高空间分辨率, 图像采集速率 > 25 像素/s, 可以产生百万像素分子图像, 小至 50 μm 的结构在空间上得到分辨^[2]; (2) MSI 将质谱的灵敏度和选择性与经典组织学的空间描述特征相结合, 可以在组织切片、细胞表面直接鉴定和定位各种分子; (3) MSI 可以对未标记的样品进行分析, 不需要事先知晓分析物信

△ 通信作者, E-mail: hcj6289@163. com。

本文引用格式: 王娜娜, 张婷, 胡成进. 质谱成像技术及其在肿瘤蛋白质组学中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2966-2970.