

人参皂苷抗白血病的实验研究进展

陈颖莹¹ 林圣云²

(1.浙江中医药大学第一临床医学院,浙江杭州 310053; 2.浙江省中医院,浙江杭州 310006)

摘 要 白血病是血液系统疾病中最常见的恶性肿瘤,中药因其增效减毒作用在白血病的治疗中具有一定的优势。其中,人参皂苷具有抑制白血病细胞增殖、诱导白血病细胞分化、逆转白血病细胞耐药及提高机体免疫力等作用。但目前研究基本集中在体外或动物实验研究,缺乏临床观测数据,在临床观测中是否成立,尚需进一步研究。

关键词 人参皂苷 白血病 综述

中图分类号 R733.7 **文献标识码** A **文章编号** 1672-397X(2014)11-0084-02

白血病(leukemia)是一类起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病。当前白血病的治疗方法主要是化疗、造血干细胞移植和免疫治疗,但费用及毒副作用大,临床应用受限。中药因毒副作用小且疗效肯定等优势逐渐受到重视。近年来,大多数学者发现人参有效成分具有抗白血病细胞的作用。人参的主要有效成分为人参皂苷,可分为三类:一为人参皂苷二醇型,包括人参皂苷 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Rh2;二为人参皂苷三醇型,包括人参皂苷 Re、Rf、Rg1、Rg2、Rh1;三为齐墩果酸型,包括人参皂苷 Ro、Rh3、Ri^①。现将人参皂苷抗白血病的机制研究进展概述如下。

1 抑制白血病细胞增殖

1.1 促进凋亡 刘笑梦等^②研究表明人参皂苷可以诱发人早幼粒白血病细胞(HL-60细胞)caspase-9和caspase-3裂解带的产生,但不能诱发caspase-8的裂解,提示人参皂苷通过线粒体途径诱发HL-60细胞凋亡,这与Xia等^③发现一致。Chen等^④研究发现人参皂苷可抑制儿童急性髓系白血病的增殖,作用呈时间剂量依赖性,其机制是通过裂解DNA双链,激活PARP和caspase-3表达,使细胞停滞在G1期,从而促进细胞凋亡。Li等^⑤研究发现人参皂苷Rg1也能使人红白血病细胞(TF-1细胞)的EPOR蛋白、EPOR mRNA表达下降而抑制JAK2/STAT5磷酸化,进而抑制白血病细胞增殖,同时还能下调Bcl-2,上调Bax,增加Caspase-3和C-PARP(激活型)的表达而促进白血病细胞凋亡。王红宁^⑥研究表明Rb1作用后急性髓系白血病(KG1a细胞)的p38、JNK磷酸化表达增加,提示Rb1可能通过增加JNK1/2和p38 MAPK磷酸化,激活caspase-3,-8,和-9诱导白血病细胞凋亡^⑦。

1.2 诱导衰老 游智梅等^⑧研究提示人参皂苷Rh2可上调KG1-α细胞P53和P21及下调细胞周期蛋白cyclinD的表达,从而激活caspase-3,而使细胞停滞在G0/G1期。Liu等^⑨研究发现Rg1作用K562细胞后,细胞内线粒体和溶酶体体积变大,核膜内陷,染色质凝聚、固缩,提示细胞进入衰老过程,其机制可能是通过上调细胞衰老相关基因p16和p21而抑制周期蛋白依赖性激酶(CDK)2/Cyclin E及CDK4/cyclin D等细胞周期调节

因子的活性,使细胞阻滞在G2/M期^⑩,从而诱导细胞衰老。Chung等^⑪研究表明Rh2可以上调HL-60细胞p21Cip1/WAF1和p27kip1及其mRNA的表达,进而减少CDK2、CDK4和CDK6的表达,下调Rb高磷酸化而抑制转录因子E2F1活性,使HL-60细胞停滞在G1期,从而诱导细胞衰老^⑫。

2 诱导白血病细胞分化

柯大智等^⑬用Rb1作用K562细胞后进行Wright染色,光镜下观察细胞形态,发现经Rb1作用24h后,K562细胞体积及细胞核直径减小,细胞核染色质浓缩,胞浆丰富,细胞核和胞浆比例降低;Rb1作用48h后,K562细胞直径和体积出现进一步变小的趋势,细胞向成熟方向分化趋势更明显;Rb1作用72h后,K562细胞内可见中晚期粒细胞及红细胞;而空白对照组K562细胞及细胞核大而明显,且核浆比例大,胞浆呈强嗜碱性,无特殊颗粒,这些均说明Rb1能诱导白血病细胞向成熟方向分化。Chung等^⑭发现Rh2能使HL-60细胞表面CD11b、CD64、CD14、CD66b表达增加,提示Rh2能诱导HL-60细胞分化为单核/巨噬细胞和中性粒细胞,并进一步说明Rh2可能通过增加转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)mRNA的表达,从而激活Smad/FoxO3a通路,促进细胞分化。易永林等^⑮通过分析,发现人参皂苷可能通过增加细胞内cAMP的量及诱导干扰素的产生,促使人急性非淋巴细胞白血病细胞分化,且M4、M5效果最明显,M1、M2次之,M3效果最差。姚云等^⑯发现人参皂苷Rh2干预HL60细胞后,其表面CD15的表达增加,提示Rh2能促进HL60细胞向粒细胞方向分化。

3 逆转白血病细胞耐药

徐晓军等^⑰发现耐药细胞株K562/VCR对柔红霉素(DNR)的摄取明显降低,但其与Rh2共培养时对DNR的摄取明显提高,证实Rh2可以逆转耐药。Kitagawa等^⑱证实人参皂苷代谢产物可以通过抑制P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)ATP酶的活性,从而抑制P-gp对柔红霉素的外排功能,使人多重耐药癌细胞KB-C2细胞内柔红霉素含量增加,从而逆

基金项目:浙江省中医药科学研究基金计划(2012ZB055)

转耐药。Zhang 等^[18]进一步探讨多药耐药性(MDR)的作用机制,发现 20(S)-Rh2 可下调 MCF-7/ADR 细胞膜或其线粒体膜上的 P-gp 表达,从而逆转其对阿霉素的耐药。Kwon 等^[19]研究表明人参皂苷 Rg3 可以特异性地降低 MDR 细胞膜的流动性,抑制药物外排,其作用机制可能与 Rg3 具有亲脂性有关。

4 增强机体免疫

Son 等^[20]研究表明人参皂苷能抑制 IFN- γ 的自噬,增强 CD4(+)T 细胞活性,提高机体免疫力。Kim 等^[21]研究表明,人参皂苷通过增强 Th1 介导的细胞免疫应答,从而控制白色念珠菌的感染。Choi 等^[22]研究发现人参皂苷 Rh1 可下调急性单核细胞白血病细胞株 THP-1 细胞表面单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、CC 趋化因子受体 2(CCR2)及整合素 β 1 的表达,而抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,进一步抑制一氧化氮(NO)、炎症因子及炎症蛋白^[23],从而抑制炎症反应。Xu 等^[24]实验发现环磷酸胺能显著增加小鼠骨髓钙感受体(CaSR)mRNA 的表达,使骨髓和外周血的 Lin(-)Sca-1(+)-kit(+)细胞和 CD3(+)明显减少,导致骨髓抑制,而 Rg1 可降低 CaSR mRNA 的表达,提高骨髓及外周血造血干细胞数量,提示 Rg1 能改善环磷酸胺诱导的骨髓抑制,促进造血干细胞的增殖,改善血象。

5 结语

人参皂苷抗白血病的药理研究日趋活跃,目前已取得一定进展,尤其对人参皂苷 Rh1、Rh2、Rb1、Rg1 等单体研究较多。人参皂苷抗白血病细胞的分子机制总结起来主要是通过促进白血病细胞凋亡、衰老及分化或逆转白血病细胞耐药等途径发挥抗白血病细胞作用。但目前的研究局限于体外和动物实验研究,缺乏临床观测数据,体外和动物实验验证的结论在临床观测中是否也成立,尚需进一步研究。

6 参考文献

- [1] 罗辉.人参皂甙的生物特性及其临床应用的研究.井冈山学院学报(自然科学),2006,27(8):79
- [2] 刘笑梦,曹姣玲,臧玉柱.人参皂甙对大白白血病-60 细胞凋亡的影响.中国当代儿科杂志,2012,14(10):792
- [3] Xia T, Wang JC, Xu W, et al. 20S-Ginsenoside Rh2 induces apoptosis in human Leukaemia Reh cells through mitochondrial signaling pathways. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(2):248
- [4] Chen Y, Xu Y, Zhu Y et al. Anti-cancer effects of ginsenoside compound k on pediatric acute myeloid leukemia cells. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1):24
- [5] Jing Li, Qiang Wei, Guo-Wei Zuo, et al. Ginsenoside Rg1 induces apoptosis through inhibition of the EpoR-mediated JAK2/STAT5 signalling pathway in the TF-1/ Epo human leukemia cell line. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(6):2453
- [6] 王红宁.人参皂苷 Rb1、Rg1、Re 对 K562 细胞、KG1 α 细胞增殖影响及信号转导分子机制研究.重庆:重庆医科大学,2010
- [7] Huang HL, Hsieh MJ, Chen MH, et al. Glabridin Mediate Caspases Activation and Induces Apoptosis through JNK1/2 and p38 MAPK Pathway in Human Promyelocytic Leukemia Cells. *PLoS One*, 2014, 9(6):e98943
- [8] 游智梅,陈地龙,魏强.人参皂苷单体 Rh2 抑制人白血病 KG1- α 细胞增殖并促进其凋亡.细胞与分子免疫学杂志,2014,30(6):565
- [9] Liu J, Cai SZ, Zhou Y, Zhang XP, et al. Senescence as a consequence of ginsenoside Rg1 response on k562 human leukemia cell line. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(12):6191
- [10] Ohtni N, Yamakoshi K, Takahashi A, et al. The p16INK4a-RB pathway: molecular link between cellular senescence and tumor suppression. *J Med Invest*, 2004, 51(3/4):146
- [11] Chung KS, Cho SH, Shin JS, et al. Ginsenoside Rh2 induces cell cycle arrest and differentiation in human leukemia cells by upregulating TGF- β expression. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2):331
- [12] García-Fernández RA, García-Palencia P, Suarez C, et al. Cooperative role between p21cip1/waf1 and p27kip1 in premature senescence in glandular proliferative lesions in mice. *Histol Histopathol*, 2014, 29(3):397
- [13] 柯大智,王建伟,王红宁,等.人参皂苷单体 Rb1 对人慢性粒白血病细胞 K562 增殖和分化的影响及其信号转导机制.中国生物制品学杂志,2013,26(12):1785
- [14] 易永林,李薇,郝智秀.人参茎叶总皂苷对 58 例急性非淋巴细胞白血病细胞的诱导分化作用.中国中西医结合杂志,1993,13(12):722
- [15] 姚云,陈雪松,赵英侠,等.人参皂苷 Rh2 调节白血病细胞增殖分化的作用.解剖学杂志,2011,34(4):469
- [16] 徐晓军,石淑文,汤永民,等.人参皂苷 Rh2 抗白血病多药耐药细胞 K562/VCR 作用研究.中草药,2010,41(7):1131
- [17] Kitagawa S1, Takahashi T, Nabekura T, et al. Inhibitory effects of ginsenosides and their hydrolyzed metabolites on daunorubicin transport in KB-C2 cells. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(10):1979
- [18] Jingwei Zhang, Fang Zhou, Xiaolan Wu, et al. Cellular pharmacokinetic mechanisms of adriamycin resistance and its modulation by 20(S)-ginsenoside Rh2 in MCF-7/Adr cells. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(1):120
- [19] Kwon HY1, Kim EH, Kim SW, et al. Selective Toxicity of Ginsenoside Rg 3 on Multidrug Resistant Cells by Membrane Fluidity Modulation. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(2):171
- [20] Son YM1, Kwak CW, Lee YJ, et al. Ginsenoside Re enhances survival of human CD4+ T cells through regulation of autophagy. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(5):626
- [21] Kim J, Han BJ, Kim H, et al. Th1 immunity induction by ginsenoside Re involves in protection of mice against disseminated candidiasis due to *Candida albicans*. *Int Immunopharmacol*, 2012, 14(4):481
- [22] Choi YJ, Yoon JH, Cha SW, et al. Ginsenoside Rh1 inhibits the invasion and migration of THP-1 acute monocytic leukemia cells via inactivation of the MAPK signaling pathway. *Fitoterapia*, 2011, 82(6):911
- [23] Oh YC, Jeong YH, Cho WK, et al. Inhibitory Effects of Palmultang on Inflammatory Mediator Production Related to Suppression of NF- κ B and MAPK Pathways and Induction of HO-1 Expression in Macrophages. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5):8443
- [24] Xu SF, Yu LM, Fan ZH, et al. Improvement of ginsenoside Rg1 on hematopoietic function in cyclophosphamide-induced myelosuppression mice. *Eur J Pharmacol*, 2012, 695(1-3):7

第一作者:陈颖莹(1989-),女,硕士研究生,内科血液病专业。

通讯作者:林圣云, lsyww2012@163.com

收稿日期:2014-08-25

编辑:傅如海