

天花粉蛋白抗肿瘤作用及其机制的研究进展

李 格， 孙雨沛， 黄益玲*
(三峡大学医学院肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室，湖北 宜昌 443002)

摘要：天花粉蛋白是从栝楼块根中提取出的一种 I 型核糖体灭活蛋白，临床上用于异位妊娠、葡萄胎等疾病的治疗。近年来，关于天花粉蛋白抗肿瘤作用的研究日益增多，并且发现它对肺癌、结肠癌、乳腺癌、宫颈癌等多种肿瘤细胞的生长有明显抑制作用。本文将对天花粉蛋白抗肿瘤作用及其机制进行概述。

关键词：天花粉蛋白；抗肿瘤作用；机制

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2018)09-2037-03

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.031

天花粉蛋白是上世纪 70 年代由中国科学院上海细胞研究所科研人员从葫芦科植物栝楼块根中提取出来的一种单链核糖体失活蛋白，分子量为 27 kD，由 247 个氨基酸残基组成，其化学结构及蛋白质晶体结构均已阐明，多年来在临床上被用于异位妊娠、葡萄胎等疾病的治疗^[1]。近年来研究表明，天花粉蛋白对肿瘤细胞（肺癌、结肠癌、乳腺癌、宫颈癌等）的生长有着明显抑制作用，而且具有肿瘤细胞选择性毒性，对人外周血淋巴细胞、羊膜细胞等正常体细胞的影响极小，这是其相对于一般化疗药物的显著优势^[2]。本文将对天花粉蛋白抗肿瘤作用及其机制进行概述。

1 抗肿瘤作用

庄静等^[3]将天花粉蛋白作用于人肺癌 A549 细胞，发现在 19.6 μg/mL 下能抑制细胞生长，并呈剂量依赖性；Liu 等^[4]报道，天花粉蛋白能体外抑制鼻咽癌细胞株 CNE2 的增殖，降低其克隆形成能力，并诱导 CNE2 细胞凋亡；Xu 等^[5]发现，天花粉蛋白对胃癌、结肠癌、肝癌等消化系统常见肿瘤的生长也有抑制作用；Fang 等^[6]报道，天花粉蛋白能明显抑制乳腺癌细胞的增殖。具体抗肿瘤作用谱见表 1。

2 作用机制

2.1 抑制肿瘤细胞增殖 细胞增殖过度是肿瘤发生的重要原因。天花粉蛋白是 I 型核糖体失活蛋白，其抑制肿瘤细胞增殖的作用与天花粉蛋白抑制蛋白质合成有关。Liu 等^[4]报道，天花粉蛋白下调 Notch 信号通路是其抑制鼻咽癌 NPC 细胞增殖的机制之一，Western blot 检测发现，经天花粉蛋白处理后 NPC 细胞胞内 NICD（Notch1 的活化形式）、Hes-1（Notch 信号传导的下游靶基因）表达随药物浓度增加而减少，而且 LRG5 和 Wnt/β-连环蛋白信号通路对多种肿瘤细胞增殖、分化有关键作用；Miao 等^[15]将天花

表 1 天花粉蛋白抗肿瘤作用谱

系统	肿瘤	细胞系	IC ₅₀
呼吸	肺癌	A549	—
	鼻咽癌	CNE1	17.75 μg/mL (48 h) ^[7]
消化	肝癌	HepG2	200 μg/mL (48 h) ^[8]
	胃癌	MKN-45	10.6 μg/mL (72 h) ^[9]
	胃癌	SGC-7901	28.6 μg/mL (72 h)
	结肠癌	SW-620	33.96 μg/mL (48 h) ^[10]
生殖	绒毛膜癌	JAR	—
	宫颈癌	Hela	101.34 mg/L ^[11]
	乳腺癌	MCF-7	25.7 μmol/L (48 h) ^[6]
	乳腺癌	MDA-MB-231	12.4 μmol/L (48 h)
	乳腺癌	BT-474	42.5 μmol/L (48 h)
血液	白血病	K562	26.2 μg/mL ^[12]
	B 细胞淋巴瘤	—	(14.04 ± 0.03) μg/mL ^[13]
其他	黑色素瘤	B16	—
	胶质瘤	U87	40 μmol/L (24 h) ^[14]
	胶质瘤	U251	51.6 μmol/L (24 h)

粉蛋白用于胶质瘤的治疗，发现经天花粉蛋白处理后，细胞内 Wnt/β-连环蛋白信号通路中 LRG5、关键蛋白表达降低，胶质瘤细胞的增殖受到抑制。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡 肿瘤发生与细胞凋亡受阻密切相关，许多抗癌药物都是通过诱导细胞凋亡来达到治疗目的。研究表明，天花粉蛋白可以激活不同凋亡通路来发挥其抗肿瘤效应。

2.2.1 激活 Caspase-3 凋亡通路 Caspase-3 是外源性及外源性凋亡通路的终端分子。刘巧等^[15]研究发现，天花粉蛋白作用于黑色素瘤细胞 A-375 后，能大幅度提高其中 Caspase-3 活性，从而诱导细胞凋亡；庄静等^[16]报道，天花粉蛋白能增加肺癌细胞 A549 中 Caspase-3 mRNA 水平表达，而且 Caspase-3 活化可能与 JNK 信号通路的激活有关；Zhu

收稿日期：2017-11-06

基金项目：湖北省教育厅自然科学研究重点项目（D20181201）

作者简介：李 格，女，硕士生，研究方向为基础医学。E-mail: 502153829@qq.com

* 通信作者：黄益玲，博士，副教授，研究方向为肿瘤发病机制及抗肿瘤药物筛选。E-mail: lotusyj@126.com.

等^[17]将天花粉蛋白用于治疗淋巴瘤,结果表明它能抑制淋巴瘤活性,其机制可能是通过内在和外在凋亡途径活化 Caspase-3,最终诱导淋巴瘤细胞发生凋亡。

2.2.2 诱导内质网应激 内质网应激诱导的细胞凋亡是一种新的凋亡诱导途径。GRP78 是内质网应激的标志分子之一,钙蛋白酶 calpain 活化后可切割内质网膜上的 caspase12,从而诱导细胞凋亡^[18-19]。Huang 等^[20]探讨内质网应激在天花粉蛋白诱导人宫颈癌 Hela 细胞凋亡中的作用,发现天花粉蛋白可在 mRNA 及蛋白水平增强 GRP78、calpain 表达,可能是通过内质网应激途径来诱导 Hela 细胞凋亡。

2.2.3 通过调控 Bcl-2 家族诱导凋亡 Bcl-2 家族是凋亡调控中的一个重要基因家族,其中 Bax、Bcl-2 比例被认为是发生凋亡的关键点。Kang 等^[21]以天花粉蛋白处理鼻咽癌,发现与对照组比较,天花粉蛋白干预后 Bax 表达明显增高,Bcl-2 比值下降,表明天花粉蛋白通过调节 Bcl-2 家族来诱导肿瘤凋亡;Zang 等^[22]将天花粉蛋白基因通过重组腺相关病毒载体转染至肝肿瘤细胞中,发现过表达天花粉蛋白的细胞增殖被抑制,其机制可能是激活 Bcl-PARP 信号通路,从而诱导肿瘤细胞凋亡。

2.3 对细胞周期的影响 研究表明,天花粉蛋白可明显将结肠癌细胞 SW-620 细胞阻滞于 S 期,使 SW-620 细胞的 DNA 不能在 S 期得到复制^[10]。Cyclin D1 是调控细胞周期 G1 期的关键蛋白,黄益玲等^[23]发现天花粉蛋白对前列腺细胞 PC3 的生长有明显的抑制作用,其作用机制可能与降低 Cyclin D1 表达,从而诱导细胞发生 G1 期阻滞有关;Zhang 等^[24]将天花粉蛋白应用于 HEp-2、AMC-HN-8 喉表皮样癌的治疗研究中,发现它能使细胞周期停滞,S 期细胞占比明显增加,G1 期占比明显低于对照组。通过 RT-PCR 检测细胞周期调节基因发现,经天花粉蛋白预处理 48 h 后,在肿瘤细胞内相关调节基因 *p27kip*、*p21Waf1/cip1* mRNA 表达水平显著上调。

2.4 改变细胞骨架 细胞骨架与细胞凋亡、分化、癌变等病理生理功能密切相关^[25]。庄静等^[26]将天花粉蛋白作用 A549 细胞,电镜下可见解聚样的微管结构,打破了原有解聚-聚合之间的动态平衡状态;Wang 等^[27]发现,天花粉蛋白处理 Hela 细胞可以引起细胞骨架构型的改变,激光共聚焦显微镜下可见解聚微丝在胞浆中的聚集,而且该变化与细胞骨架蛋白 actin、tubulin 表达下降有关。

2.5 抑制肿瘤血管形成 肿瘤血管形成是肿瘤生长、侵袭转移的基础,通过抑制其形成来治疗肿瘤已成为当今相关研究的热点。血管生成拟态是近年来在多种肿瘤中发现的一种全新的肿瘤内血管生成模式,韩冰冰等^[28]用天花粉蛋白处理黑色素瘤 B16 细胞,发现它能减少血管生成拟态形成的密度,而且 PI3K 蛋白的表达也明显降低,在处理荷瘤小鼠时也得到同样结论,表明天花粉蛋白可通过调控 PI3K 信号通路来抑制血管生成拟态形成;He 等^[29]报道,天花粉蛋白可降低人绒毛膜癌 (JAR) 细胞诱导的 H5V 小鼠心

脏毛细血管内皮细胞 (ECs) 伤口愈合和迁移,抑制肿瘤细胞诱导的细胞外信号,调节激酶介导的血管生成信号,从而抑制肿瘤血管生成能力,有助于其抗肿瘤活性。

2.6 诱导细胞自噬 细胞自噬是继细胞凋亡之后又一备受关注的细胞死亡现象,其紊乱与肿瘤的发生发展密切相关,靶向调节其水平可作为肿瘤治疗的新策略^[30]。Wei 等^[31]通过研究天花粉蛋白抑制胃癌 MKN-45 细胞生长的机制,发现天花粉蛋白能诱导 MKN-45 细胞自噬,此过程与自噬相关基因 5 (Atg5) 上调、自噬体标记蛋白从 LC3 I 到 LC3 II 转化有关。

2.7 去甲基化作用 研究表明,肿瘤发生发展与抑癌基因甲基化水平异常密切相关,故筛选去甲基化药物以逆转抑癌基因功能是新的抗肿瘤策略之一。Huang 等^[32]将天花粉蛋白作用于人宫颈 Hela、CasKi 细胞,发现它能有效去除抑癌基因 *APC*、*TSLC1* 启动子区甲基化,进一步研究发现,其去甲基化作用是通过抑制甲基转移酶 DNMT1 表达及酶活性来实现的;Cui^[33]等报道,天花粉蛋白能促进 Smac 去甲基化,使其 CpG 岛脱甲基,并能增加其在 Caski 细胞中的表达,从而抑制 Caski 细胞增殖。

3 结语

随着环境污染和工作生活压力的不断增加,肿瘤发病率越来越高,成为危害人类健康及生命的主要杀手,从天然中草药中筛选抗癌新药已成为近年来相关研究的热点。天花粉蛋白是从传统中药栝楼块根中提取出来的一种单链核糖体失活蛋白,属于 I 型核糖体失活蛋白,能攻击真核细胞的核糖体,使其 rRNA 的 N-糖苷酶活性失活,导致蛋白质合成受到抑制,最终使得真核细胞死亡。大量研究表明,天花粉蛋白能通过抑制肿瘤细胞增殖和血管形成、诱导肿瘤细胞凋亡和自噬、影响细胞周期、改变细胞骨架等途径来抑制肿瘤发生发展,同时还具有廉价易得的特点,并且具有生物学活性的重组天花粉蛋白也已研制成功。随着对天花粉蛋白抗肿瘤作用及其机制的深入研究,它有望作为一种新的抗肿瘤药物应用于临床。

参考文献:

- [1] 汪猷. 天花粉蛋白 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 14-15.
- [2] Sha O, Niu J, Ng T B, *et al.* Anti-tumor action of trichosanthin, a type I ribosome-inactivating protein, employed in traditional Chinese medicine: a mini review [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 71(6): 1387-1393.
- [3] 庄静, 孙伟国, 汪丛丛, 等. 天花粉蛋白对肺癌 A549 细胞 JNK、Bcl-2 蛋白表达的影响 [J]. 中医杂志, 2014, 55(21): 1864-1866.
- [4] Liu F Y, Wang B, Wang Z X, *et al.* Trichosanthin down-regulates Notch signaling and inhibits proliferation of the nasopharyngeal carcinoma cell line CNE2 *in vitro* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(5): 838-842.
- [5] Xu J, Gao D F, Yan G L, *et al.* Induced apoptotic action of re-

combinant trichosanthin in human stomach adenocarcinoma MCG803 cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(6): 1559-1564.

[6] Fang E F, Zhang C Z, Zhang L, *et al.* Trichosanthin inhibits breast cancer cell proliferation in both cell lines and nude mice by promotion of apoptosis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e41592.

[7] 王 冲, 李 萌, 李继承. 天花粉蛋白对人鼻咽癌细胞株 CNE-1 和 CNE-2 细胞增殖和细胞周期的影响 [C] // 细胞·生命·健康——第十一届中国细胞生物学学术大会暨2009 西安细胞生物学国际会议论文集. 西安: 中国细胞生物学学会, 2009.

[8] 李 萌. 地塞米松抑制 NF- κ B 活化促进天花粉蛋白诱导的人肝癌 HepG2 细胞凋亡的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.

[9] 涂水平, 江石湖, 乔敏敏, 等. 天花粉蛋白对胃癌多药耐药细胞的细胞毒和诱导凋亡作用[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(2): 150-152.

[10] 熊高淮, 楼建国. 天花粉蛋白对结肠癌 SW-620 细胞株增殖、黏附和迁移的实验研究[J]. 中成药, 2012, 34(3): 434-438.

[11] 何金峰, 李继承. 天花粉蛋白抑制 HeLa 细胞生长及诱导细胞凋亡之机制探讨 [J]. 解剖学报, 2006, 37(3): 309-314.

[12] 孔 梅, 柯一保, 周美云, 等. 天花粉蛋白诱发白血病细胞 K562 凋亡的研究 [J]. 实验生物学报, 1998, 31(3): 233-243.

[13] 代兴斌. 天花粉蛋白抗小鼠 B 细胞淋巴瘤的作用及机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.

[14] Miao J, Jiang Y, Wang D, *et al.* Trichosanthin suppresses the proliferation of glioma cells by inhibiting LGR5 expression and the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(6): 2845-2852.

[15] 刘 巧, 胡俊媛, 王 俭, 等. 中药天花粉对人恶性黑色素瘤细胞凋亡及 Caspase-3 活性的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 534-536.

[16] 庄 静, 汪丛丛, 吕庆亮, 等. 天花粉蛋白导入肺癌 A549 细胞 Caspase-3 表达及相关 JNK 信号通路的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(6): 826-828.

[17] Zhu Y, Sun Y, Cai Y, *et al.* Trichosanthin reduces the viability of SUDHL2 cells via the activation of the extrinsic and intrinsic apoptotic pathways[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1): 403-411.

[18] Li J, Ni M, Lee B, *et al.* The unfolded protein response regulator GRP78/BiP is required for endoplasmic reticulum integrity and stress-induced autophagy in mammalian cells [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(9): 1460-1471.

[19] Mandic A, Hansson J, Linder S, *et al.* Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus-independent apoptotic signaling[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(11): 9100-9106.

[20] 黄益玲, 黄利鸣, 尤程程, 等. 内质网应激途径在天花粉蛋白诱导的 HeLa 细胞凋亡中的作用 [J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(34): 5423-5425.

[21] Kang M, Ou H, Wang R, *et al.* Effect of trichosanthin on apoptosis and telomerase activity of nasopharyngeal carcinomas in nude mice[J]. *J BUON*, 2013, 18(3): 675-682.

[22] Zhang Y H, Wang Y, Yusufali A H, *et al.* Cytotoxic genes from traditional Chinese medicine inhibit tumor growth both *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Integr Med*, 2014, 12(6): 483-494.

[23] 黄益玲, 胡火军, 尤程程, 等. 天花粉蛋白通过下调 p-ERK 及 CyclinD1 表达抑制 PC3 细胞增殖 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(15): 4108-4109.

[24] Zhang D, Chen B, Zhou J, *et al.* Low concentrations of trichosanthin induce apoptosis and cell cycle arrest via c-Jun N-terminal protein kinase/mitogen-activated protein kinase activation [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 349-356.

[25] Jain V, Jain B, Tiwari P, *et al.* Nanosolvated microtubule-modulating chemotherapeutics: a case-to-case study [J]. *Anti Cancer Drugs*, 2013, 24(4): 327-336.

[26] 庄 静, 孙长岗, 汪丛丛, 等. 天花粉蛋白对肺癌 A549 细胞凋亡及细胞骨架微管结构改变的研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(11): 693-696.

[27] Wang P, Li J C. Trichosanthin-induced specific changes of cytoskeleton configuration were associated with the decreased expression level of actin and tubulin genes in apoptotic HeLa cells [J]. *Life Sci*, 2007, 81(14): 1130-1140.

[28] 韩冰冰, 李 洁. 天花粉蛋白对黑色素瘤细胞血管生成拟态及 PI3K 信号通路的影响 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(10): 1476-1477.

[29] He D, Jin J, Zheng Y, *et al.* Anti-angiogenesis effect of trichosanthin and the underlying mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 430(2): 735-740.

[30] 马 泰, 孙国平, 李家斌. 细胞自噬的研究方法 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2012, 39(3): 204-209.

[31] Wei B, Huang Q Y, Huang S R, *et al.* Trichosanthin-induced autophagy in gastric cancer cell MKN-45 is dependent on reactive oxygen species (ROS) and NF- κ B/p53 pathway[J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 131(2): 77-83.

[32] Huang Y, Song H, Hu H, *et al.* Trichosanthin inhibits DNA methyltransferase and restores methylation-silenced gene expression in human cervical cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(4): 872-878.

[33] Cui L, Song J, Wu L, *et al.* Smac is another pathway in the anti-tumour activity of trichosanthin and reverses trichosanthin resistance in CaSki cervical cancer cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 69: 119-124.