

· 综述 ·

桦木酸抗肿瘤作用及机制的研究进展

王雪振, 牟悦, 郝倩, 张亚楠, 夏雷*

(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 桦木酸是一种桦树皮、黄芪、白芍、大枣、地榆、杜仲、甘草、木香、酸枣仁等多种草本植物中提取的羽扇豆烷型五环三萜类天然活性成分,其以低毒、高效、多功能特点备受医者关注。研究发现,桦木酸具有显著的抗肿瘤生物活性,有望成为治疗恶性肿瘤的潜在药物。迄今多项研究表明,桦木酸可通过多种机制途径对恶性肿瘤产生促进凋亡、抑制增殖、转移及侵袭、诱导细胞周期停滞等作用,且在卵巢癌、乳腺癌、胃癌、肺癌、结直肠癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤中均观察到抗肿瘤功效,其抗肿瘤活性主要体现在通过调节抑癌基因 p53, p21 表达,触发活性氧(ROS)生成,下调核转录因子- κ B(NF- κ B)表达进而调节 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)家族引起肿瘤细胞产生凋亡,此外还可通过调节转录因子(Sp1/3/4)诱导细胞凋亡;其抗增殖活性主要体现在对周期蛋白(cyclin B, cyclin D),周期蛋白依赖性激酶(CDK, CDC)等蛋白的调节作用;其抑制转移侵袭功能主要通过调节基质金属蛋白酶(MMP),基质金属蛋白酶抑制物(TIMP),通过上调钙黏蛋白 E(E-cadherin),下调 N-钙黏蛋白(N-cadherin),阻断上皮-间质转化(EMT)进程等途径实现,此外桦木酸还可通过阻滞细胞周期、影响肿瘤代谢重编程、诱导肿瘤细胞自噬等发挥其抗肿瘤作用。虽桦木酸在抗肿瘤方面研究数量较多,功效作用强,但缺乏对桦木酸抗肿瘤作用的系统性综述,为此,该文基于桦木酸抗肿瘤作用机制途径进行文献综述,以期对研究者提供信息参考。

[关键词] 桦木酸; 肿瘤; 癌症; 机制; 研究进展

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)21-0223-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212026

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210820.1405.004.html>

[网络出版日期] 2021-08-20 20:17

Anti-tumor Effect and Mechanism of Betulinic Acid: A Review

WANG Xue-zhen, MU Yue, HAO Qian, ZHANG Ya-nan, XIA Lei*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] Betulinic acid (BA) is a lupane pentacyclic triterpene extracted from a variety of Chinese herbs such as *Betulae Platyphyllae Cortex*, *Astragali Radix*, *Paeoniae Radix Alba*, *Jujubae Fructus*, *Sanguisorbae Radix*, *Eucommiae Cortex*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Aucklandiae Radix*, and *Ziziphi Spinosae Semen*. It has attracted wide attention from doctors because of its low toxicity, high efficacy, and multiple functions. BA has been found to possess a significant anti-tumor biological activity, and it is expected to become a potential drug for the treatment of malignant tumors. So far, a number of studies have shown that BA is able to promote apoptosis, inhibit proliferation, metastasis and invasion, and induce cell cycle arrest via multiple mechanisms, thus resisting various malignant tumors such as ovarian cancer, breast cancer, gastric cancer, lung cancer, colorectal cancer, and prostate cancer. It exerts the anti-tumor effect by regulating the expression of cancer suppressor genes p53 and p21, triggering the generation of reactive oxygen species (ROS), down-regulating the expression of nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), adjusting the B

[收稿日期] 20210727(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81703839);山东省研究生教育优质课程项目(SDYKC20055)

[第一作者] 王雪振,在读硕士,从事中西医结合肿瘤的防治研究,E-mail:1242116582@qq.com

[通信作者] *夏雷,博士,副教授,从事中西医结合肿瘤的防治研究,E-mail:pathology001@sina.com

lymphocytoma-2 (Bcl-2) family to cause tumor cell apoptosis, and regulating transcription factor Sp1/3/4 to induce apoptosis. Its anti-proliferative activity is mainly achieved via the regulation of cyclin B, cyclin D and cyclin dependent kinases CDK and CDC. Its efficacy in inhibiting metastasis and invasion is mainly realized by regulating matrix metalloproteinase (MMP) and matrix metalloproteinase inhibitor (TIMP), up-regulating E-cadherin, down-regulating N-cadherin and blocking the epithelial-mesenchymal transformation (EMT). In addition, BA also induces cell cycle arrest, affects tumor metabolic reprogramming, and activates autophagy to inhibit tumor. Although there are a large number of studies on BA against tumors and its efficacy has been proved strong, the systematic review on its anti-tumor effect is still lacking. Therefore, this study reviewed the anti-tumor effect and mechanism of BA, in order to provide reference for its subsequent research.

[Keywords] betulinic acid (BA); tumor; cancer; mechanism; research progress

恶性肿瘤是全世界疾病死亡的主要原因,预计到2040年,全球将有2 840万例恶性肿瘤病例^[1]。恶性肿瘤已成为严重影响全球人民平均寿命的重要原因之一,为恶性肿瘤治疗提供合适的医学方案已成为全球医者的焦点。在20世纪90年代末,桦木酸从桦树皮中被成功提取^[2]。后发现在多种中药如白芍、大枣、地榆、杜仲、甘草、黄芪、木香、酸枣仁中含有BA。桦木酸属羽扇豆烷型五环三萜类天然活性成分,作为天然药物成分,以其疗效高、不良反应小,且具有抗癌、抗病毒、抗炎、抗菌等^[3]多重功效颇受广大科研人员及临床医者的关注,且桦木酸在多种疾病中均发挥着重要作用,例改善脑损伤^[4],缓解急性胰腺炎^[5],缓解脾脏氧化损伤^[6],治疗糖尿病^[7],减轻肺纤维化^[8]等。随桦木酸药理作用的不断深入,其抗肿瘤作用颇受关注,其抗肿瘤作用机制成为科研人员研究热点之一,近几年,桦木酸的研究数量呈上升趋势,特别是在肿瘤作用研究中所占比例较大,并被美国国立卫生研究院选为用于开发新型治疗药物快速干预计划(RAID)的候选者^[9]。随网络药理学、分子对接等技术的不断完善,为预测桦木酸抗肿瘤作用的分子途径提供了良好的方法,诸多科研人员借助此方式为桦木酸抗肿瘤作用寻找潜在机制及作用靶点,利用分子对接技术寻找其结合位点,在此基础之上进行实验研究。桦木酸具有良好的抗肿瘤作用及应用前景,且研究数量较多,但缺乏完整系统的文献综述,本文就桦木酸在恶性肿瘤中的作用进行探讨,以期临床恶性肿瘤的治疗提供参考。

1 诱导肿瘤细胞凋亡

1.1 B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)家族 Bcl-2家族蛋白在细胞凋亡过程中发挥着重要作用,桦木酸可通过上调Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达,下调Bcl-2表达激活线粒体依赖性和非依赖性途径半胱氨酸天冬

氨酸蛋白水解酶(Caspase)-9, Caspase-8, Caspase-3诱导肿瘤细胞产生凋亡^[10]。此外,桦木酸可通过上调Caspase-3, Caspase-9的表达水平对卵巢癌细胞产生抑制增殖促进凋亡的作用^[11]。桦木酸对正常人上皮FR2细胞的细胞不良反应较低,但对肺癌细胞H460具有较强的细胞不良反应作用,其促凋亡机制与调节Bcl-2/Bax信号通路有关,而且桦木酸可引起H460细胞停滞在G₂/M期^[12]。丁璐等^[13]研究发现经桦木酸干预的胃癌细胞线粒体膜电位显著降低,且通过上调Caspase-3和Bax蛋白表达,下调Bcl-2表达进而诱导胃癌细胞的凋亡。相关研究通过体内与体外实验均表明桦木酸以剂量依赖性方式抑制胰腺癌细胞,可引起PANC-1和SW1990细胞Bcl-2表达减少, Bax, Caspase-3, Caspase-8表达增加。同时磷酸化-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)下调,磷酸化-AMP依赖的蛋白激酶(p-AMPK)上调,提示其促凋亡机制可能与AMPK/mTOR信号途径有关^[14]。

此外,研究发现桦木酸对野生型p53,雄激素反应型NLCaP细胞和突变型p53,雄激素抵抗型DU145前列腺癌细胞治疗发现,桦木酸可引起2种蛋白Bax/Bcl-2改变进而引起细胞色素c释放,半胱天冬酶和聚(ADP)核糖聚合酶(PARP)活化,从而诱导细胞凋亡。桦木酸治疗后,NLCaP细胞p53蛋白Ser15磷酸化水平升高,但DU145细胞无明显变化,但2种细胞均出现细胞周期阻滞,可能与p21蛋白有关,说明无论p53细胞状态如何,桦木酸均能通过推动p21蛋白影响细胞周期。同时桦木酸降低了IκB激酶(IKK)α和IκBα的磷酸化,从而抑制了NF-κB/p65的核定位,引起NF-κB/p65在胞质中大量沉积,减少与细胞核成分的结合。因此,桦木酸诱导前列腺癌细胞凋亡可能与稳定p53以及下调NF-κB/p65途径有关^[15]。此外,相关研究表明桦木

酸可上调 Bax, p53, Caspase-3, Caspase-8 和 Caspase-9 的表达, 激活线粒体凋亡信号通路进而诱导鼻咽癌细胞的凋亡^[16]。

XU 等^[17] 研究结果表明桦木酸可下调 Bcl-2 基因, 上调 Bax 基因, 其促凋亡机制可能与内质网途径和活性氧(ROS)介导的线粒体途径来诱导宫颈癌细胞凋亡。WANG 等^[18] 研究结果显示桦木酸对肝癌细胞产生的凋亡作用与促凋亡蛋白 Bax, Caspase-3 表达上调和抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调相关, 且桦木酸降低了 ROS 水平, 此外桦木酸还通过调节转移相关蛋白基质金属蛋白酶(MMP)-2, MMP-9 和基质金属蛋白酶抑制剂-2(TIMP-2), 在体内显着抑制肝癌细胞生长并阻断肝癌细胞向肺的转移, 且无明显不良反应。桦木酸对肿瘤细胞氧化应激的调节可能还与硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1(SCD1)有关, 减少 SCD1 会增加线粒体氧化应激和内质网的应激。WANG 等^[19] 观察桦木酸对不同类型胆囊癌细胞的影响, 结果发现, 桦木酸对 NOZ 细胞的抑制作用最明显, 进一步分析发现, SCD1 在 NOZ 细胞中高表达, 而在其他胆囊癌细胞中低表达, 桦木酸可以浓度依赖方式抑制 SCD1 的表达。

1.2 转录因子 Sp1/3/4 转录因子 Sp 与肿瘤的发生发展与不良预后密切相关, 是极具潜力的早期肿瘤诊断标志物及关键治疗靶点。调节转录因子 Sp 对抗肿瘤而言具有重要的临床意义。桦木酸可抑制结肠癌细胞株 RKO 和 SW480 增殖, 并诱导其凋亡。同时可以抑制肿瘤细胞中的转录因子 Sp1, Sp3 和 Sp4 过表达, 继而减少 Sp 调节的基因如存活素(survivin), 血管内皮细胞生长因子(VEGF), p65, 表皮生长因子受体(EGFR), 细胞周期蛋白 D₁(cyclin D₁), 垂体肿瘤转化基因 1(PTTG1)的表达。针对不同的细胞, 桦木酸的作用机制有所不同, 如对 SW480 细胞和 RKO 细胞, 分别以依赖蛋白酶体的和不依赖于蛋白酶体的方式抑制 Sp1, Sp3 和 Sp4 的表达。同时, 在 RKO 细胞中, 抑制 Sp1, Sp3 和 Sp4 表达与自由基的产生有关, 桦木酸通过抑制 ROS 的生成从而抑制 miRNA-27a 表达, 进而促使 Sp 抑制含有锌指和 BTB 结构域蛋白 10(ZBTB10)表达^[20]。MERTENS-TALCOTT 等^[21] 研究桦木酸对不同类型乳腺癌细胞株 MDA-MB-231, MDA-MB-435, BT474, MDA-MB-468, MDA-MB-453, HS-578T, 均具有抑制作用, 其机制与 Sp1, Sp3 和 Sp4 表达减少有关, 研究发现其机制也与桦木酸抑制 microRNA-27a, 进而诱导 ZBTB10 基因表达有关。而且当桦木酸抑

制 microRNA-27a 后会上调 Myt-1 mRNA 的表达, 诱导乳腺癌细胞在 G₂/M 细胞周期停滞。相关研究发现桦木酸通过靶向降解高表达的 Sp 转录因子引起前列腺癌细胞凋亡。体内研究结果表明, 桦木酸抑制 LNCaP 细胞移植瘤裸鼠的肿瘤生长, 且降低了 Sp1, Sp3 和 Sp4 以及 VEGF 的表达水平, 诱导肿瘤细胞凋亡。此项研究结果表明, 桦木酸的抗肿瘤作用与许多肿瘤中过度表达的 Sp 转录因子的靶向降解有关, 这导致肿瘤中促凋亡和抗血管生成反应的激活, 从而导致肿瘤细胞凋亡达到抗肿瘤目的^[22]。LO 等^[23] 研究发现桦木酸可使 Sp1 呈低表达, 进而抑制双链 RNA 依赖的蛋白激酶样内质网激酶/C/EBP 同源蛋白(PERK/CHOP)信号通路, 诱导胶质母细胞瘤生长抑制产生凋亡。HSU 等^[24] 体内研究发现桦木酸处理阻断了 Sp1 的调节, 并且上调了 Caspase-3 诱导肺癌细胞凋亡; 体外研究发现桦木酸通过抑制 SENP1 降低 Sp 的表达水平, 诱导 Sp 磷酸化, 从而导致泛素介导的 Sp1 蛋白以蛋白酶体依赖的方式降解, 此外, Sp 水平的降低阻断了 cyclin A₂/Rb 信号通路, 导致细胞周期阻滞在 G₂/M 进而诱导肺癌细胞的凋亡。

1.3 两面神激酶/信号传导及转录激活蛋白 3(JAK/STAT3) JAK/STAT3 信号通路是众多细胞因子信号转导的共同途径, 广泛参与细胞增殖、分化、凋亡以及炎症等过程。研究发现桦木酸可抑制多发性骨髓瘤细胞中 STAT3, Src 激酶, JAK1 和 JAK2, 该机制与蛋白酪氨酸磷酸化酶(SHP-1)表达上调有关。当 SHP-1 基因沉默后, 桦木酸对肿瘤细胞 STAT3 途径的激活作用被消除, 同时, 桦木酸诱导细胞凋亡的作用也被抑制。当 STAT3 活化被抑制后, 可以调节 Bcl-xL, Bcl-2, cyclin D₁ 和存活素, 继而诱导细胞凋亡。抑制 STAT3 途径的激活以此促使多发性骨髓瘤细胞的凋亡^[25]。CAI 等^[26] 观察桦木酸对乳腺癌细胞株 MCF-7, MDA-MB-231 及正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 的干预作用, 结果显示, 桦木酸可明显诱导肿瘤细胞凋亡, 但对正常乳腺上皮细胞的不良反应作用很弱。其促肿瘤细胞凋亡作用可能是通过靶向葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)触发内质网应激(ERS)途径有关, 桦木酸可明显增强肿瘤细胞内 GRP78 表达, 同时激活下游蛋白激酶样内质网激酶(PERK), 真核细胞启动因子(p-eIF2 α), CHOP 和 Caspase-12, 从而介导乳腺癌细胞凋亡。

2 抑制肿瘤细胞增殖

细胞增殖是肿瘤细胞的特征之一, 对于肿瘤细胞

胞而言,抑制肿瘤细胞增殖是抗癌过程中不可或缺的一个重要环节。

2.1 cyclin 家族 cyclin为细胞周期运转的驱动力之一,其表达水平可影响细胞周期,细胞周期的变化又对细胞增殖产生影响。研究发现桦木酸通过下调cyclin B₁和cyclin D₁的表达将胃癌细胞阻滞于G₀/G₁期从而抑制胃癌细胞SGC-7901和MGC-803的生长增殖^[27-28]。桦木酸诱导膀胱癌细胞T-24, UMUC-3, 5637细胞株死亡,并伴随凋亡,坏死和细胞周期阻滞。桦木酸降低了细胞周期调节因子的表达,如cyclin B₁, cyclin A, CDK2, 细胞分裂周期(Cdc)2和Cdc25c。此外,桦木酸诱导的细胞凋亡与线粒体膜电位丧失导致的线粒体功能障碍有关,线粒体膜电位丧失导致线粒体介导的内在通路激活。研究发现,桦木酸可降低c-Myc, cyclin D₁, Bcl-2及JAK2/STAT3的表达,调高Bax表达水平进而抑制骨髓瘤细胞的生长增殖^[29]。

2.2 ATP结合盒转运蛋白G₁(ABCG₁) ABCG₁蛋白在抗肿瘤作用中同样发挥着重要作用,ZHAO等^[30]通过噻唑蓝(MTT)比色法测量桦木酸纳米颗粒在肺癌细胞中的增殖变化情况,结果显示HKULC2, H1299和H23肺癌细胞的增殖水平分别降低至33%, 28%, 24%,同时使用蛋白免疫印迹法检测HKULC2细胞蛋白表达情况,结果显示桦木酸纳米颗粒可上调p21和p53的表达,并下调CD133, 乙醛脱氢酶(ALDH), Bcl-2, 髓细胞白血病基因1(MCL1)和c-Myc的表达,特别对ABCG₁癌基因的表达有明显的下调作用,由此可知,桦木酸纳米颗粒通过下调ABCG₁癌基因的表达来抑制肺癌细胞的增殖,同时桦木酸纳米颗粒通过下调ABCG₁癌基因的表达来阻滞细胞周期从而抑制肺癌细胞的生长。

3 抑制肿瘤细胞转移及侵袭

迁移和侵袭是癌细胞转移级联反应的重要步骤^[31]。

3.1 阻断EMT进程 EMT是恶性上皮肿瘤发生的基础,可促进肿瘤细胞的转移及侵袭,阻断EMT进程对于抗肿瘤具有重要意义。研究者用桦木酸干预胃癌细胞株SNU-16和NCI-N87细胞,结果显示桦木酸可诱导SNU-16细胞凋亡。通过研究发现桦木酸可延缓胃癌向肺部的转移,同时体外研究结果表明桦木酸可上调E-cadherin,下调N-cadherin表达,说明桦木酸可通过阻断EMT进程抑制胃癌细胞的转移及侵袭^[32]。林晓英等^[33]人通过研究发现桦

木酸通过调节转化生长因子- β (TGF- β)/Smad信号通路对结肠癌细胞产生抑制转移的作用。此外,研究者发现桦木酸通过下调SRY盒-2(SRY-box 2),八聚体结合转录因子4(Oct4),干细胞转录因子(Nanog)的表达,阻断ENT途径,并通过激活AMPK信号传导进而抑制胰腺癌细胞的转移侵袭^[34]。LIAO等^[35]研究发现桦木酸可明显抑制卵巢癌细胞SKOV3和SW626细胞增殖,但对肾小管正常上皮293T细胞的抑制作用不明显。通过抑制ENT进程并呈时间,剂量依赖性方式抑制卵巢癌细胞的侵袭与转移。

3.2 MMP MMP主要调节肿瘤进展的早期阶段,其活性受组织型金属蛋白酶抑制物(TIMP)调控,他们在生理状态和癌症进展中的细胞外基质重塑过程中发挥重要作用。研究发现桦木酸可以抑制胃癌的转移以及侵袭^[36]。ZENG等^[31]通过研究表明桦木酸可使MMP-2, MMP-9呈低表达,升高TIMP-2表达水平,进而得出桦木酸可抑制结直肠癌的迁移、侵袭能力。此外,研究同时发现桦木酸对直肠癌细胞呈时间、剂量依赖性方式,通过上调Bax与Caspase-3的表达,下调Bcl-2表达,增加癌细胞活性氧的产生,降低线粒体膜电位诱导结直肠癌细胞凋亡。据报道,桦木酸可抑制4T1肿瘤细胞STAT3和FAK的激活,从而降低MMPs水平,升高TIMP-2的表达进而抑制乳腺癌细胞的转移。同时,动物实验显示桦木酸抑制了乳腺癌向肺的转移。组织学和免疫组织化学分析显示,使用桦木酸后MMP-9阳性细胞, MMP-2阳性细胞和Ki-67阳性细胞减少, Caspase-3阳性细胞增加。值得注意的是,桦木酸减少了肺部器官和乳腺癌肿瘤中髓源性抑制细胞MDSC的数量。且在研究者尾静脉模型中,桦木酸也明显抑制乳腺癌细胞向肺转移^[37]。桦木酸上调Bax, cleaved poly-ADP核糖聚合酶(PARP)的表达,随后激活Caspase-3, Caspase-8和Caspase-9。使用Caspase抑制剂预处理可明显抑制桦木酸诱导的细胞凋亡。但对细胞内ROS水平无影响,说明桦木酸诱导细胞凋亡与Caspase通路有关但不依赖ROS的产生桦木酸对细胞迁移的研究显示,降低T24和5637细胞中的Snail和Slug的表达,以及UMUC-3细胞中MMP-9的表达。表明桦木酸可广泛诱导膀胱癌细胞死亡和细胞周期阻滞,减少迁移和侵袭^[38]。

3.3 血管舒张剂激活磷蛋白(VASP) VASP是抗可溶性抗原(Ena)/VASP家族的重要成员之一,过表

达的 VASP 可促进多种肿瘤的转移与侵袭,为此,抑制 VASP 的表达对于抑制肿瘤的转移与侵袭至关重要。CHEN 等^[39]研究者通过 BGC-823 和 MNK45 胃癌细胞株发现,桦木酸对两种细胞也有明显的增殖抑制作用,同时还通过抑制 NF- κ B 转录因子减少 VASP 的表达,进而抑制胃癌细胞的迁移及增殖。

4 阻滞肿瘤细胞周期

细胞周期进程的调控是细胞生存的关键^[40-45],而细胞周期失控又是引起细胞的重要原因,因此,调控细胞周期对于抑制肿瘤细胞而言具有重要意义。研究发现,桦木酸通过抑制 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路将胰腺癌细胞阻滞于 G₀/G₁期,以达到促进胰腺癌细胞凋亡,抑制增殖之作用^[46]。闵雨^[47]通过体外研究发现桦木酸可上调肺癌细胞中 Caspase-3 的表达水平,将癌细胞阻滞于 G₀/G₁期发挥其作用;同时体内研究表明桦木酸可通过上调 Caspase-3 表达,下调 XIAP 的表达水平随肺癌细胞产生抑制作用。桦木酸还可通过上调 p53 蛋白的表达,将恶性肉瘤细胞阻滞于 G₀/G₁期诱导细胞凋亡发挥其抗肿瘤作用^[48]。

5 对肿瘤代谢重编程的作用

桦木酸可以通过代谢调节影响细胞的增殖与迁移,桦木酸可明显抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231, BT-549 增殖,但对正常乳腺上皮细胞 HBL-100 抑制作用不明显。桦木酸可明显抑制肿瘤细胞 MDA-MB-231, BT-549 的有氧糖酵解,表现为桦木酸以剂量依赖的方式抑制使糖酵解相关酶 LDHA 和 p-PDK1/PDK1 表达发生改变,同时诱导催化乳酸转化为丙酮酸的 LDHB 酶增加。细胞内乳酸和反应糖酵解的细胞外酸化速率 ECAR 明显降低。同时对桦木酸抗肿瘤转移机制进行研究显示,桦木酸治疗后与肿瘤转移相关的基因普遍下调,其中 β -catenin, c-Myc 下调最明显,证实桦木酸浓度依赖的方式抑制 β -catenin, c-Myc 表达。桦木酸抑制有氧糖酵解过程和抑制肿瘤转移机制与 GRP78 表达调节有关,当桦木酸处理后肿瘤细胞内 GRP78 表达明显增加,GRP78 敲低消除了桦木酸对糖酵解的抑制作用。已知过表达的 GRP78 可激活 PERK。随后 eIF2 α 磷酸化抑制 β -catenin 的表达,作者通过共免疫沉淀实验证实桦木酸阻断了 GRP78 与 PERK 之间的结合,从而启动对有氧糖酵解和肿瘤转移的抑制。动物模型也证实桦木酸对乳腺癌转移有明显抑制作用,并抑制有氧糖酵解相关蛋白的表达^[49]。该机制在另一项研究中也得到证实,但把桦木酸对

c-Myc, LDHA 和 p-PDK1/PDK1 等靶点抑制作用的机制关注在 Caveolin-1 靶点。桦木酸治疗后乳腺癌细胞(MCF-7 和 MDA-MB-231)中 Caveolin-1 表达明显上调,反之,当 Caveolin-1 沉默时,桦木酸对肿瘤细胞的抑制作用明显减弱,认为桦木酸可通过 Caveolin-1/NF- κ B/c-Myc 通路抑制肿瘤的有氧糖酵解过程^[50]。但内质网应激与 Caveolin-1 还需进一步研究。WANG 等^[51]研究发现桦木酸可下调糖酵解中的己糖激酶 2(HK2),磷酸果糖激酶-1(PFK-1),磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)和丙酮酸激酶 PK 同工酶 M2(PKM2)以及脂肪酸代谢中的乙酰辅酶 A 合成酶 1(ACSL1),肉毒碱棕榈酸转移酶 1A(CPT1A)和 PEP 等主要蛋白靶标的表达水平,从而减少糖酵解和脂肪酸代谢中间产物乳酸和丙酮酸的生成从而抑制结直肠癌细胞的增殖。ACSL1, CPT1A 在结直肠癌中往往是高表达,与结直肠癌预后有密切关系。在酸性环境下,结直肠癌细胞表现出较强的增殖能力,同时诱导肿瘤细胞化疗耐药性的产生。桦木酸通过调节糖酵解和脂肪酸代谢途径影响结直肠癌代谢重编程以及微环境变化等机制抑制结直肠癌细胞的增殖。

6 其他

6.1 增强化疗敏感性 研究发现,桦木酸不仅通过线粒体途径下调 Bcl-2 和 Bax 表达对结肠癌细胞产生凋亡作用,还可减弱结肠癌细胞对化疗药物的耐药性,提高癌细胞对化疗药物的敏感性,增强治疗效果,由此可证明使用桦木酸作为化疗增敏剂是提高化疗疗效的一种新策略^[52]。CHEN 等^[53]对食道癌细胞 TE11 的研究发现,桦木酸可以下调细胞增殖相关指标 Ki67, PCNA, 下调肿瘤干细胞标记物 SOX2, Oct4, 该标记物与肿瘤细胞的增殖,分化,侵袭转移等有关。同时代表细胞焦亡的标记物 ASC 和 Caspase-1 表达增加,同时还可以增强肿瘤细胞对顺铂的敏感度,削弱食管癌细胞对化疗药物的耐药性。吴海霞等^[54]研究者发现桦木酸通过抑制 STAT3 的活化增强胰腺癌细胞对化疗药物的敏感性。据报道,桦木酸通过下调 Sp1 表达,并结合抑癌基因人第 10 号染色体缺失磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)启动子,使 PTEN 启动子活性增强,上调 PTEN 的表达水平,进而增强对口腔癌放疗的敏感性^[55]。

6.2 诱导肿瘤细胞自噬 自噬作为细胞死亡的一种形式^[32],在促肿瘤细胞凋亡中发挥作用。LIU 等^[56]研究表明桦木酸不仅通过 Bax/Bcl-2, 和

Caspase-3诱导肝癌细胞凋亡,同时还可上调自噬相关指标微管相关蛋白1轻链3B II(LC3B II),Belin-1,下调p62表达,桦木酸诱导癌细胞自噬、凋亡过程均呈剂量依赖的方式发挥作用。使用自噬抑制剂3-MA后不仅抑制桦木酸促自噬作用,细胞凋亡过程也被抑制。说明桦木酸可通过促进自噬诱导肝癌细胞凋亡。桦木酸对肝癌细胞自噬和凋亡的作用可能与抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导自噬介导的凋亡,抑制肝癌细胞增殖。此外,桦木酸通过产生促炎细胞因子和激活巨噬细胞具有

免疫调节活性此外,还可通过自噬和凋亡途径诱导肝癌细胞PLC/PRF/5和MHCC97L死亡。桦木酸可下调凋亡蛋白抑制物IAPs表达,促使胞质型微管相关蛋白1A/1B-轻链3(MAP1LC3,LC3 I)转变为膜型LC3 II,以及p62增多,提示桦木酸可通过自噬途径诱导细胞死亡。而且,桦木酸可通过IAPs降解诱导肿瘤细胞通过自噬非依赖性的细胞凋亡。同时,桦木酸可降低lncRNA表达,其机制可能与lncRNA与miR-22-3p结合参与桦木酸诱导的IAPs的降解过程相关^[57]。桦木酸抗肿瘤作用机制见图1。

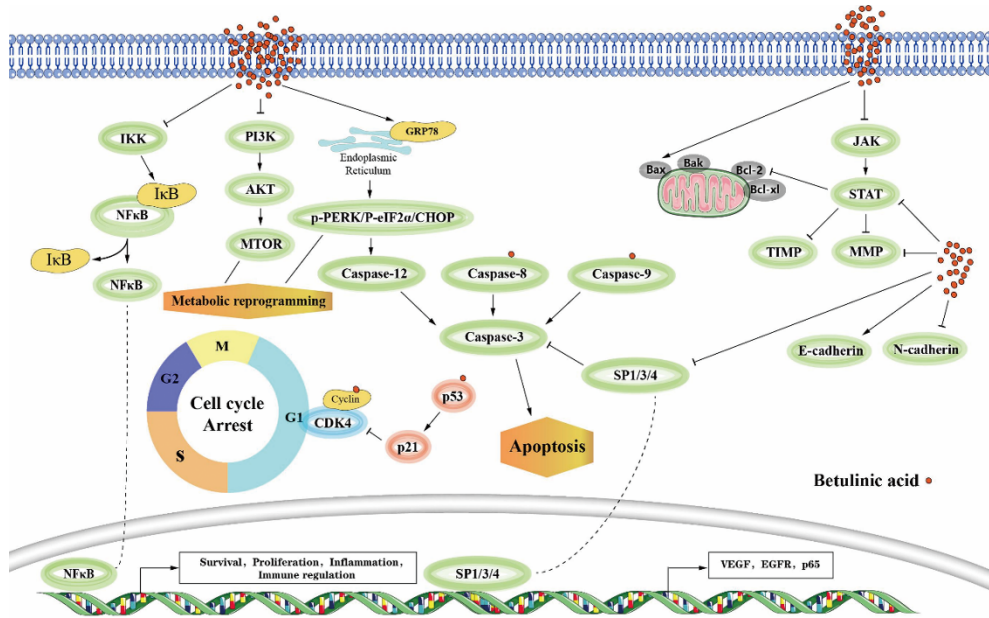


图1 桦木酸抗肿瘤作用机制

Fig. 1 Antitumor mechanism of betulinic acid

7 结语和展望

桦木酸是一种具有多重功效作用的中药活性成分,其功效作用及其抗肿瘤机制引起广大临床研究者和科研工作者的关注。目前临床治疗肿瘤的方式仍以放化疗居多,其毒副作用不利于肿瘤患者的预后,部分肿瘤患者对此类治疗方式产生抗拒,但桦木酸作为天然抗肿瘤成分,以其不良反应低等天然优势值得科研工作者对其进行更深层次的研究。抗肿瘤功效作为桦木酸特性之一,能够促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞的增殖、迁移以及侵袭,此外,还可对肿瘤细胞产生不良反应^[58-61],阻滞细胞周期^[62]、增强对化疗药物的敏感性等,但是目前关于桦木酸抗肿瘤的作用机制尚不明确,仍需广大科研工作者继续探索。同时,为证明桦木酸在临床治疗中的有效性,使其最高效化的服务于肿瘤患者,继续研究其抗肿瘤作用靶点以及其潜在机制成为

必不可少的一部分。随实验研究技术以及数据挖掘、分子对接、网络药理学技术等系统生物学和生信理论体系的不断完善和发展,桦木酸的药理学作用和机制将进一步得到探索和论证。桦木酸治疗靶点以及机制的不断被探索并在临床中得到应用,以付诸实践,为人类健康作出贡献。

桦木酸抗肿瘤具有选择性细胞不良反应的特点,其对正常细胞无细胞不良反应作用,甚至500 mg·kg⁻¹的用药浓度对正常细胞也没有明显的细胞不良反应^[63-64]。且已有临床研究报道将桦木酸的制备与桦木醇的提取采用一部合成法的方式^[65],避免了以往直接提取法中原料消耗大、成本高、杂质含量高等缺点。但桦木酸具有不溶于水的缺点,口服桦木酸抗肿瘤疗效具有不确定性,且桦木酸价格并不低廉,对于家庭负担重的患者具有一定压力。为此,科研工作者仍需对桦木酸作进一步研

究,为实现桦木酸从科研到临床应用的发展而努力。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71 (3) : 209-249.
- [2] KIM D, CHEN Z, TUYEN N, et al. A concise semi-synthetic approach to betulinic acid from betulin [J]. *Synthetic Communications*, 1997, 27 (9) : 1607-1612.
- [3] RÍOS J, MÁÑEZ S. New pharmacological opportunities for betulinic acid [J]. *Planta Med*, 2018, 84(1):8-19.
- [4] ZHAO Y, SHI X, WANG J Z, et al. Betulinic acid ameliorates cerebral injury in middle cerebral artery occlusion rats through regulating autophagy [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(15):2829-2837.
- [5] ZHOU Z, CHOI J W, SHIN J Y, et al. Betulinic acid ameliorates the severity of acute pancreatitis via inhibition of the NF- κ B signaling pathway in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13):68-71.
- [6] KONG L, ZHU L, YI X, et al. Betulinic acid alleviates spleen oxidative damage induced by acute intraperitoneal exposure to T-2 toxin by activating Nrf2 and inhibiting MAPK signaling pathways [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, doi: 10.3390/antiox10020158.
- [7] SONG T, PARK C, IN K, et al. Antidiabetic effects of betulinic acid mediated by the activation of the AMP-activated protein kinase pathway [J]. *PLoS One*, 2021, 16(4) : e0249109.
- [8] LI X, LIU X, DENG R, et al. Betulinic acid attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis by effectively intervening Wnt/ β -catenin signaling [J]. *PLoS One*, 2021, 16(4):e0249109.
- [9] UDEANI G, ZHAO G, GEUN S Y, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of betulinic acid in CD-1 mice [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1999, 20(8):379-383.
- [10] LEE D, LEE S, KANG K, et al. Betulinic acid suppresses ovarian cancer cell proliferation through induction of apoptosis [J]. *Biomolecules*, 2019, 9 (7):257.
- [11] 林怡君. 桦木酸诱导卵巢癌细胞CAOV3凋亡机制的研究[D]. 延吉:延边大学, 2015.
- [12] ZHAN X, LI J, ZHANG S, et al. Betulinic acid exerts potent antitumor effects on paclitaxel-resistant human lung carcinoma cells (H460) via G₂/M phase cell cycle arrest and induction of mitochondrial apoptosis [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3):3628-3634.
- [13] 丁璐, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对胃癌SGC-7901细胞凋亡的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, doi:10.12047/j.cjap.6091.2021.060.
- [14] GUO Y, ZHU H, WENG M, et al. Chemopreventive effect of Betulinic acid via mTOR -Caspases/Bcl2/Bax apoptotic signaling in pancreatic cancer [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1):178.
- [15] SHANKAR E, ZHANG A, FRANCO D, et al. Betulinic acid-mediated apoptosis in human prostate cancer cells involves p53 and nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathways [J]. *Molecules*, 2017, 22(2):264.
- [16] 马月仙. 桦木酸抗鼻咽癌作用及机制的研究 [Z]. 黑龙江省, 鉴定单位: 齐齐哈尔市科技局. 鉴定日期: 2015-06-30
- [17] XU T, PANG Q, ZHOU D, et al. Proteomic investigation into betulinic acid-induced apoptosis of human cervical cancer HeLa cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105768.
- [18] WANG W, WANG Y, LIU M, et al. Betulinic acid induces apoptosis and suppresses metastasis in hepatocellular carcinoma cell lines *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cell Mol Med*, 2019, 23(1):586-595.
- [19] WANG H, DONG F, WANG Y, et al. Betulinic acid induces apoptosis of gallbladder cancer cells via repressing SCD1 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(2):200-206.
- [20] CHINTHARLAPALLI S, PAPINENI S, LEI P, et al. Betulinic acid inhibits colon cancer cell and tumor growth and induces proteasome-dependent and -independent downregulation of specificity proteins (Sp) transcription factors [J]. *BMC Cancer*, 2011, doi:10.1186/1471-2407-11-371.
- [21] MERTENS-TALCOTT S, NORATTO G, LI X, et al. Betulinic acid decreases ER-negative breast cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*: role of Sp transcription factors and microRNA-27a: ZBTB10 [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(8):591-602.
- [22] CHINTHARLAPALLI S, PAPINENI S, RAMAIAH S K, et al. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (6) : 2816-2823.
- [23] LO W, HSU T, YANG W, et al. Betulinic acid-

- mediated tuning of PERK/CHOP signaling by Sp1 inhibition as a novel therapeutic strategy for glioblastoma [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, doi: 10.3390/cancers12040981.
- [24] HSU T, WANG M, CHEN S, et al. Betulinic acid decreases specificity protein 1 (Sp1) level via increasing the sumoylation of sp1 to inhibit lung cancer growth[J]. *Mol Pharmacol*, 2012, 82(6):1115-1128.
- [25] PANDEY M, SUNG B, AGGARWAL B. Betulinic acid suppresses STAT3 activation pathway through induction of protein tyrosine phosphatase SHP-1 in human multiple myeloma cells [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(2):282-292.
- [26] CAI Y, ZHENG Y, GU J, et al. Betulinic acid chemosensitizes breast cancer by triggering ER stress-mediated apoptosis by directly targeting GRP78 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6):636.
- [27] 刘久鹏, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对人胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, doi: 10.12047/j. cjap. 6066. 2021. 020.
- [28] 陈亚楠, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(6):628-632, 687.
- [29] 冯佳, 徐海婵, 温健, 等. 桦木酸通过调控 JAK2/STAT3 信号通路对骨髓瘤细胞增殖和凋亡的影响及其机制[J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2021, 47(3): 615-622.
- [30] ZHAO H, MU X, ZHANG X, et al. Lung cancer inhibition by betulinic acid nanoparticles via adenosine 5'-triphosphate (ATP)-binding cassette transporter gene downregulation[J]. *Med Sci Monit*, 2020, doi: 10.12659/MSM.922092
- [31] ZENG A, HUA H, LIU L, et al. Betulinic acid induces apoptosis and inhibits metastasis of human colorectal cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(12):2546-2552.
- [32] CHEN Y, WU X, LIU C, et al. Betulinic acid triggers apoptosis and inhibits migration and invasion of gastric cancer cells by impairing EMT progress[J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38(6):702-709.
- [33] 林晓英, 沈阿灵, 吴美珠等. 桦木酸通过调节 TGF- β /Smad 信号通路抑制结肠癌细胞转移的研究[J]. *康复学报*, 2020, 30(1):58-63.
- [34] SUN L, CAO J, CHEN K, et al. Betulinic acid inhibits stemness and EMT of pancreatic cancer cells via activation of AMPK signaling [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(1):98-110.
- [35] LIAO L, LIU C, XIE X, et al. Betulinic acid induces apoptosis and impairs migration and invasion in a mouse model of ovarian cancer[J]. *J Food Biochem*, 2020, 44(7):e13278.
- [36] 周怡乐. 桦木酸通过下调 S 期激酶相关蛋白 2 抑制胃癌细胞转移侵袭的机理研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [37] ZENG A, YU Y, YAO Y, et al. Betulinic acid impairs metastasis and reduces immunosuppressive cells in breast cancer models[J]. *Oncotarget*, 2017, 9(3):3794-3804.
- [38] KIM S, HWANGBO H, KIM M, et al. Betulinic acid restricts human bladder cancer cell proliferation *in vitro* by inducing Caspase-dependent cell death and cell cycle arrest, and decreasing metastatic potential [J]. *Molecules*, 2021, 26(5):1381.
- [39] CHEN X, YUAN X, ZHANG Z, et al. Betulinic acid inhibits cell proliferation and migration in gastric cancer by targeting the NF- κ B/VASP pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173493.
- [40] NIGG E. Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle[J]. *BioEssays*, 1995, 17(6):471-480.
- [41] VERMEULEN K, VAN BOCKSTAELE D, BERNEMAN Z. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer[J]. *Cell Prolif*, 2003, 36(3):131-149.
- [42] MALUMBRES M, BARBACID M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(3):153-166.
- [43] SKOTHEIM J, DI TALIA S, SIGGIA E, et al. Positive feedback of G₁ cyclins ensures coherent cell cycle entry[J]. *Nature*, 2008, 454(7202):291-296.
- [44] SATYANARAYANA A, KALDIS P. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins, and diverse compensatory mechanisms[J]. *Oncogene*, 2009, 28:2925-2939.
- [45] MORGAN D. Principles of CDK regulation [J]. *Nature*, 1995, 374:131-133.
- [46] 潘晶晶, 周含煜, 汪舸, 等. 桦木酸对胰腺癌细胞增殖影响及其机制探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2019, 26(6):385-388, 394.
- [47] 闵雨. 桦木酸对人肺癌细胞 A549 和 Lewis 肺癌小鼠的抗肿瘤作用[D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
- [48] 张秀娟, 马悦, 凌莉莉, 等. 桦木酸对 S₁(180) 荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡及细胞周期的影响[J]. *中药材*, 2008(2):276-279.

- [49] ZHENG Y, LIU P, WANG N, et al. Betulinic acid suppresses breast cancer metastasis by targeting GRP78-mediated glycolysis and ER stress apoptotic pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, doi: 10.1155/2019/8781690.
- [50] JIAO L, WANG S, ZHENG Y, et al. Betulinic acid suppresses breast cancer aerobic glycolysis via caveolin-1/NF- κ B/c-Myc pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019,161:149-162.
- [51] WANG G, YU Y, WANG Y, et al. Effects and mechanisms of fatty acid metabolism-mediated glycolysis regulated by betulinic acid-loaded nanoliposomes in colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2020,44(6):2595-2609.
- [52] JUNG G, KIM K, CHOI C, et al. Effect of betulinic acid on anticancer drug-resistant colon cancer cells [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2007, 101 (4) : 277-285.
- [53] CHEN J, PENG R, NIU Z, et al. Betulinic acid enhanced the chemical sensitivity of esophageal cancer cells to cisplatin by inducing cell pyroptosis and reducing cell stemness [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9 (4):1912-1920.
- [54] 吴海霞,艾克白尔·买买提,王帅,等. 桦木酸通过抑制 STAT3 的活化提高胰腺癌细胞对吉非替尼的敏感性 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26 (9) : 948-954.
- [55] 孟震,袁道英,许凯,等. 桦木酸诱导口腔癌放疗增敏机制的研究 [C]. 中华口腔医学会全科口腔医学专业委员会、中国国际科技交流中心. 中华口腔医学会第九次全科口腔医学学术会议论文汇编,上海:出版者不详,2018:1.
- [56] LIU W, LI S, QU Z, et al. Betulinic acid induces autophagy-mediated apoptosis through suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and inhibits hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(11):6952-6964.
- [57] CHEN F, ZHONG Z, TAN H, et al. Suppression of lncRNA MALAT1 by betulinic acid inhibits hepatocellular carcinoma progression by targeting IAPs via miR-22-3p [J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10 (6):e190.
- [58] WOLFRAM R K, HELLER L, CSUK R. Targeting mitochondria: esters of rhodamine B with triterpenoids are mitocanic triggers of apoptosis [J]. *Eur J Med Chem*, 2018,152:21-30.
- [59] WIEMANN J, HELLER L, PERL V, et al. Betulinic acid derived hydroxamates and betulin derived carbamates are interesting scaffolds for the synthesis of novel cytotoxic compounds [J]. *Eur J Med Chem*, 2015,106:194-210.
- [60] GÉRY A, DUBREULE C, ANDRÉ V, et al. Chaga (*Inonotus obliquus*), a future potential medicinal fungus in oncology? A chemical study and a comparison of the cytotoxicity against human lung adenocarcinoma cells (A549) and human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) [J]. *Integr Cancer Ther*, 2018,17(3):832-843.
- [61] KAHNT M, FISCHER NÉE HELLER L, ALHARRASI A, et al. Ethylenediamine derived carboxamides of betulinic and ursolic acid as potential cytotoxic agents [J]. *Molecules*, 2018;23(10):2558.
- [62] 倪明宇,马莉,吴英良,等. 桦木酸的抗肿瘤作用及其诱导 KB 细胞凋亡的研究 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2006,23(1):38-42.
- [63] 李丹,周金培,吴晓明. 白桦酸及其衍生物的研究进展 [J]. *药学进展*, 2004,44(3):120-125.
- [64] 段旭光,周崇文,陈科,等. 改进 RP-HPLC 法测定大鼠血浆淫羊藿苷浓度 [J]. *湖南农业大学学报:自然科学版*, 2009,35(3):309-313.
- [65] 易金娥,文立新,袁莉芸,等. 白桦树中桦木醇的提取与桦木酸合成研究 [J]. *湖南农业大学学报:自然科学版*, 2010,36(5):574-580.

[责任编辑 张丰丰]