

· 综述 ·

抗癌中药单体对肿瘤细胞自噬的调控

焦延娜, 韩淑燕*

(北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所, 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室, 北京 100142)

[摘要] 自噬是细胞内能量代谢和自我更新的机制,参与细胞诸多生理病理过程,维持机体内稳态。近年来研究发现,自噬与肿瘤的发生发展密切相关,参与调控肿瘤的形成、增殖、转移以及能量代谢等诸多方面。自噬对肿瘤的调控是一个复杂的动态过程,自噬能抑制早期肿瘤的生成,促进晚期肿瘤的发展。目前自噬已成为肿瘤研究领域的新热点,越来越多的研究表明,中草药及其有效成分具有调控肿瘤细胞自噬水平的作用。相对应于自噬在肿瘤发生发展中的复杂角色,抗癌中药有效成分的作用亦具有多面性,或诱导肿瘤细胞发生自噬引起细胞死亡、抑制肿瘤转移;或抑制自噬,增强肿瘤对药物的敏感性;甚至可能在不同肿瘤类型中表现出截然相反的自噬性死亡或保护性自噬作用。目前调控肿瘤自噬水平的中药有效成分研究主要集中在具有抗肿瘤作用的皂苷、生物碱、多酚、黄酮和内酯类化合物,既可以通过诱导细胞自噬达到抗肿瘤的效果,也可以通过抑制细胞自噬发挥抑瘤作用。因此,本文对抗癌中药单体在调节肿瘤细胞自噬方面的研究进展做一综述,有助于研制以自噬为靶点的抗肿瘤药物,为抗肿瘤药物研发提供新方向。

[关键词] 抗癌中药单体; 肿瘤细胞自噬; 自噬诱导; 自噬抑制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)07-0206-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017070206

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170109.1344.044.html>

[网络出版时间] 2017-01-09 13:44

Effect of Anti-cancer Traditional Chinese Medicine Monomer in Modulating Autophagy of Cancer Cells

JIAO Yan-na, HAN Shu-yan*

(Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research Under Ministry of Education, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing 100142, China)

[Abstract] Autophagy is an energy metabolism and self-update mechanism for maintaining the intracellular homeostasis. It is involved in many physiological and pathological processes in cells. The recent studies showed that autophagy is closely related to tumorigenesis and development. It participates in the regulation of tumor formation, proliferation, metastasis and energy metabolism. Autophagy's regulatory effect on tumors is a complex dynamic process. Autophagy can impede early cancer development, while promoting advanced tumor progress. In recent years, autophagy has become a new hotspot in the field of cancer research. At present, more and more studies showed that Chinese herbal medicines and their effective components could regulate autophagy in cancer cells. In response to the complex role of autophagy in cancer development, traditional Chinese medicines and their derived anti-cancer compounds also have multiple effects in autophagy regulation. Some of them can cause autophagic cell

[收稿日期] 20161206(018)

[基金项目] 北京市自然科学基金面上项目(7152034)

[第一作者] 焦延娜, 硕士, 从事生化和分子生物学研究, Tel:010-88196706, E-mail: jiaojinw@163.com

[通讯作者] * 韩淑燕, 副教授, 从事中药抗肿瘤的活性物质基础及作用机制研究, Tel:010-88196706, E-mail: shuyanhan@bjmu.edu.cn

death, while others may inhibit autophagy metastasis or enhance tumor sensitivity to anti-cancer drugs by restraining autophagy process. They may show distinct effects in autophagic death or protective autophagy in different types of tumor. At present, studies on anticancer compounds with regulatory effect on tumor autophagy mainly focus on saponins, alkaloids, polyphenols, flavone and lactone. Their antitumor effects can be achieved by inducing autophagic death or autophagy suppression. In this paper, the effect and mechanisms of anti-cancer herbal medicines in regulating tumor cell autophagy were reviewed to help develop antitumor herbal drugs targeting autophagy and provide a new direction for anticancer drug development.

[Key words] anti-cancer traditional Chinese medicine monomer; tumor cell autophagy; autophagy induction; autophagy inhibition

细胞自噬 (autophagy) 是细胞内一种高度保守的自我降解过程,通过溶酶体降解细胞内受损的细胞器或大分子物质,维持细胞内稳态。正常生理情况下,自噬对于维持细胞的自我稳定,防御病原微生物的侵袭,维持细胞的生存生长具有重要的作用。根据内容物运送到溶酶体内的方式不同,将自噬分为 3 种类型:巨自噬 (macroautophagy),微自噬 (microautophagy),分子伴侣介导自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)^[1]。巨自噬是双层膜包裹细胞器或大分子物质形成自噬体,自噬体与溶酶体结合形成自噬溶酶体,最后经过溶酶体内的水解蛋白降解内容物;微自噬是通过溶酶体内陷,直接包裹细胞器或多余蛋白,内容物被溶酶体酶降解;分子伴侣介导的自噬是自噬体双层膜上的蛋白与溶酶体膜上的受体即分子伴侣结合,被转运到溶酶体中,从而被降解^[2]。

自噬水平的异常可能会打破细胞原有的平衡状态,从而导致疾病的发生。研究发现自噬在包括肿瘤在内的多种疾病中发挥了重要作用。肿瘤细胞中存在自噬异常现象,这表明细胞自噬水平异常与肿瘤的发生发展密切相关。对于正常细胞,自噬能防止有毒或致癌的损伤蛋白质和细胞器的累积,抑制细胞癌变;肿瘤一旦形成,自噬可为癌细胞提供营养,促进肿瘤生长,并通过自噬逃避凋亡^[3]。自噬溶酶体降解途径是肿瘤发生的动态调控器,能抑制早期肿瘤的发展,而促进晚期肿瘤的恶化^[4]。因此,在肿瘤发生发展的不同阶段,细胞自噬显示出了两面性的作用。“pro death”功能可自发地杀死肿瘤细胞,“pro survival”功能则帮助肿瘤细胞在营养缺乏的环境中生存^[5]。细胞自噬水平异常贯穿于肿瘤发生发展的全过程,因此,自噬成为当前肿瘤研究的新热点,将为肿瘤的治疗提供新的方向。

中医药在肿瘤治疗方面有悠久的历史。前人从中药中发现了不少疗效显著的抗肿瘤药物,如

紫杉醇和长春新碱等,已被广泛用来治疗肿瘤^[6-8]。中药治疗肿瘤的一种重要作用机制是诱导细胞死亡,包括细胞凋亡、细胞自噬、细胞坏死等^[9]。目前,越来越多的研究表明,中草药及其有效成分具有调控肿瘤细胞自噬水平的作用。相对应于自噬在肿瘤发生发展中的复杂角色,抗癌中药有效成分的作用亦具有多面性,或诱导肿瘤细胞发生自噬引起细胞死亡、抑制肿瘤转移,或抑制自噬增强肿瘤对药物的敏感性^[10],甚至在不同肿瘤细胞上呈现出完全相反的作用。目前调控肿瘤自噬水平的中药有效成分研究主要集中在具有抗肿瘤作用的皂苷,生物碱,黄酮,多酚,内酯类化合物,如雷公藤甲素,蟾蜍灵,藤黄酮 K,麦冬皂苷 B,桔梗皂苷 D,靛玉红, β -榄香烯,冬凌草甲素,汉黄芩苷,苦参碱,20(S)-人参皂苷 Rg₃,穿心莲内酯和没食子-3-O-儿茶素等。随着肿瘤自噬机制研究的逐渐深入,对具有调控肿瘤细胞自噬作用的抗肿瘤中药成分进行归纳概括,将有助于研制以自噬为靶点的抗肿瘤药物,为抗肿瘤药物研发提供新方向。

1 细胞自噬与肿瘤

研究发现一些肿瘤疾病的发生发展与自噬有密切关系(表 1),在许多肿瘤细胞中存在自噬活性的改变。自噬能够抑制细胞器和染色体的损伤以及蛋白质的聚集,所以通过诱导自噬可能会阻止这些损伤的发生并最终抑制肿瘤的发生发展。在对胰腺癌的研究中发现,胰腺癌形成前期,自噬活性增加,胰腺癌向胰癌转化过程中自噬活性明显降低,提示自噬活性降低与肿瘤细胞的恶性程度相关^[11]。肝癌发生与发展过程中伴随着自噬现象进行性减少,癌前病变期肝细胞自噬活动降低到正常时的 50%,在肝癌细胞中自噬更是降到正常水平的 20%^[12]。

自噬的“pro death”功能为抑制肿瘤的形成和发展。在肿瘤细胞的形成过程中,自噬功能的缺失会导致细胞能量代谢失衡,细胞内蛋白和细胞器代谢质量

表 1 细胞自噬与肿瘤的关系^[10]

Table 1 Relationship between autophagy and cancer

肿瘤发生时期	自噬与肿瘤发生的关系	参考文献
起始阶段	自噬调控免疫监视,并在抗癌中发挥作用	[13]
	在自噬缺陷的情况下,代谢应激、线粒体功能障碍和 DNA 损伤都能导致癌症的发生	[14]
	活化的雷帕霉素靶蛋白(m-TOR)激活磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路,进而导致自噬功能降低	[15]
	过表达 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),与 Bcl-2 同源结构域蛋白(Beclin-1)相互作用,抑制自噬的发生,进而抑制癌细胞凋亡	[16]
	在应激条件下,活化的 p53 导致自噬,进而激活肿瘤抑制功能	[17]
	通过激活自噬,Beclin-1 蛋白发挥肿瘤抑制功能	[18]
发展阶段	在癌细胞中,由于高增殖率和足够的营养需求,自噬有利于细胞生存	[19]
	自噬帮助癌细胞休眠和抵制失巢凋亡,这有利于肿瘤细胞远离原发病灶、细胞侵袭和转移	[20]
	RAS 蛋白转换的癌细胞中,诱发的自噬能加速细胞增长和侵袭	[21]

下降,从而引起细胞损伤。DNA 损伤和基因组不稳定表达是肿瘤发生发展的原因之一。在人类恶性肿瘤疾病中发现存在自噬相关基因的缺失^[22]。磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K),蛋白激酶 B(Akt)等癌基因的激活可以抑制自噬的发生^[23-24]。在小鼠模型中发现,Beclin-1,自噬相关 5 同源物(Atg5)等自噬相关基因失活会诱导肿瘤发生,而上调这些基因的表达会抑制肿瘤的形成^[25-26]。

自噬的“pro survival”功能是指在内外界环境压力下,有助于肿瘤细胞的生存生长。肿瘤能诱导细胞自噬的产生,发生代谢应激反应。最近的研究揭示了一些自噬促进肿瘤生长和进展的功能,包括保护肿瘤侵袭性生长的多条重要代谢途径,促进未折叠蛋白质应答下游的肿瘤细胞存活,并且自噬的发生有助于癌细胞失巢凋亡抵抗和侵袭。此外,自噬吞噬受体对选择性自噬是至关重要的,它们位于多条促癌信号通路的上游,对自噬如何影响肿瘤的发展有深远的影响^[5]。

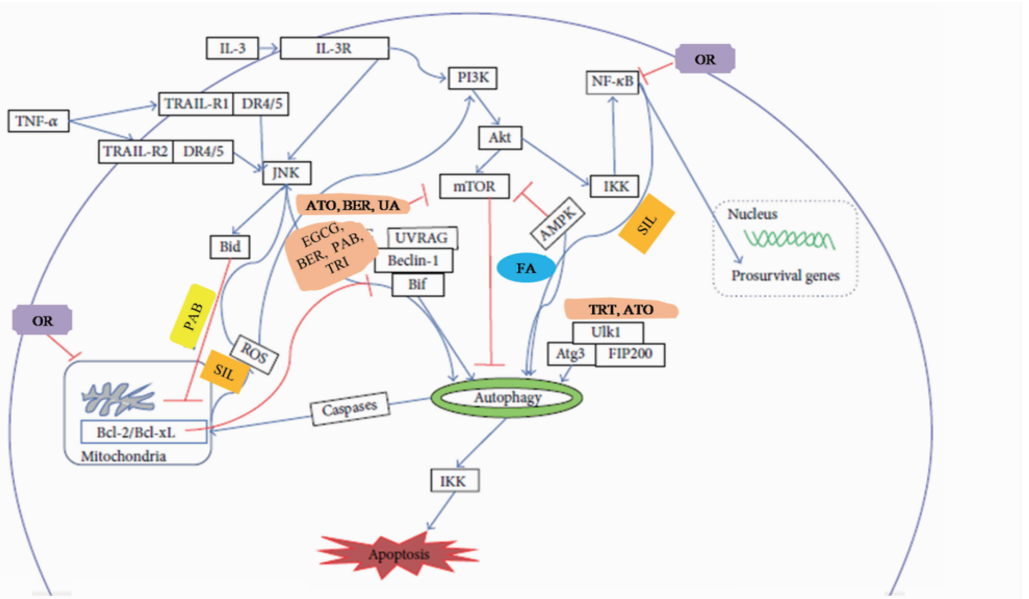
Beclin-1,肿瘤抑制基因 UVRAG, Bcl-2, PI3K, mTOR 等是自噬发生网络过程中的关键性分子。Beclin-1 是一种保守的自噬相关基因及抑癌基因,其表达缺失使细胞活性降低从而导致肿瘤细胞异常生长。在乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌及脑癌中通常可以发现 Beclin-1 基因位点(17q21)的缺失^[27-29]。DING 等^[30]研究发现肝癌组织中 Beclin-1 的表达明显低于周围正常组织,且 Beclin-1 表达水平与肝癌的恶性程度相关,在肿瘤细胞中同样证明 Beclin-1 的表达明显低于正常细胞,且与肿瘤细胞的侵袭和转移能力相关。Akt-mTOR-P70S6K 途径参与调控细胞自噬,4E-BP1 和 P70S6K 是 mTOR 通路的两个特征性靶标,4E 结合蛋白 1(4E-BP1)/PHAS 可以

抑制转录起始,p70S6K 激酶能促进 40S 核糖体蛋白 S6 磷酸化并增强 mRNAs 的翻译能力^[31]。此外,大鼠肉瘤(Ras)-Raf-ERK 信号通路在自噬发生过程中也发挥重要作用^[32]。一旦细胞受体激活,膜结合 Ras 募集一种 Raf 激酶(A-Raf, B-Raf 或 C-Raf)形成复合物,使 MEK1/2 发生磷酸化,接着激活 ERK1/2 导致自噬发生^[33]。高度保守的丝氨酸/酪氨酸激酶 Akt 是一种肿瘤中最常见的蛋白激酶,能活化 Bcl-2 家族抗凋亡因子(Bad),糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)或 mTOR 等多种下游信号分子^[34]。在饥饿环境中,细胞内活性氧簇(ROS)水平特别是 H₂O₂ 显著升高,调控激活 ATG4 基因,诱导细胞发生自噬。这些氧化条件是自噬发生所必需的,所以使用抗氧化剂能抑制自噬溶酶体的形成及随后的蛋白质降解^[35-36]。

2 抗癌中药单体诱导肿瘤细胞发生自噬性死亡

中药在治疗肿瘤方面有悠久的历史。近年来,越来越多的研究证实一些抗肿瘤中药及其有效成分具有诱导肿瘤细胞自噬的作用。大多数学者认为促进肿瘤细胞自噬活性、诱导自噬性细胞死亡是一条潜在的治疗肿瘤途径(图 1)。

雷公藤甲素(triptolide)是一种从中草药中提取的三萜类化合物,具有抗肿瘤作用。Mujumdar 等^[37]研究结果表明,雷公藤内酯处理胰腺癌细胞 S2-013, S2-VP10 和 Hs766T,呈现时间和剂量依赖性的细胞增殖抑制和细胞周期阻滞,LC3-II 表达水平增加,抑制 PI3K-Akt-mTOR 通路和激活 ERK1/2 通路,诱导胰腺癌细胞发生自噬性死亡。LI 等^[38]发现南蛇藤醇(celastral)可通过 ROC-c-Jun 氨基末端酶(JNK)途径激活骨肉瘤细胞 HOS, MG-63, U-2OS 和 Saos-2 发生自噬和凋亡,增强微管相关蛋白轻链



AE. 芦荟大黄素; ATO. 三氧化二砷; BER. 黄连素; EGCG. 表没食子儿茶素没食子酸酯和多酚; FA. 汉防己甲素; OR. 冬凌草素; PAB. 土槿皮酸; BSIL. 水飞蓟素; TRI. 雷公藤甲素; UA. 熊果酸

图 1 部分抗癌中药诱导自噬性死亡^[36]

Fig.1 Schematic diagram of mechanisms of some anti-cancer traditional Chinese medicines for cancer autophagy death

3(LC3)-II 蛋白的表达和自噬体的累积。南蛇藤醇与自噬抑制剂 (3-MA) 和凋亡抑制剂 (z-VAD-fmk) 共处理能显著增加引起的细胞死亡, 但 3-MA 和 z-VAD-fmk 联合处理则抵消了引起细胞死亡的作用。

蟾毒灵 (bufalin) 是中药蟾酥中的主要成分。蟾毒灵可诱导多种肝癌细胞, 如 HepG2, SK-HEP-1, Huh7, Hep3B 和 HA22T 等发生自噬^[39-41]。XIE 等^[42]研究发现在人大肠癌细胞 HT-29 和 Caco-2 中, 蟾毒灵上调 LC3-II, Beclin1, Atg5 蛋白表达量, 刺激 ROS 的生成; 应用抗氧化剂抑制 ROS, 采用 JNK 的抑制剂 SP600125 和干扰 JNK2 后, 蟾毒灵诱导自噬的能力被削弱, 提示蟾毒灵诱导结肠癌细胞自噬性死亡的机制可能与 ROS 的产生和 JNK 的激活相关。

藤黄酮 K (guttiferone K), 是从藤黄属植物中提取的有效成分, 具有抗癌、抗炎、神经保护的功能。研究发现藤黄酮 K 处理 Hela 细胞后, LC3-II 蛋白表达上调, p62 蛋白表达下调, 这表明藤黄酮 K 可诱导 Hela 细胞自噬。进一步研究发现, 细胞饥饿状态下, 藤黄酮 K 通过抑制 Akt 磷酸化从而抑制 mTOR 通路, 自噬抑制剂氯喹可明显抑制藤黄酮 K 诱导的细胞死亡。这表明藤黄酮 K 诱导的 Hela 细胞死亡是通过 Akt/mTOR 依赖的细胞自噬过程^[43]。

麦冬皂苷 B (ophiopogonin B) 是麦冬的有效活性成分。非小细胞肺癌细胞 NCI-H157 和 NCI-H460

经麦冬皂苷 B 处理后, 可观察到很多细胞质空泡, 透射电子显微镜下可见自噬特征性的形态学改变, 同时 LC3-II 的表达增加, Akt 蛋白和 P70S6K 蛋白的磷酸化受到抑制, 表明麦冬皂苷 B 可通过抑制 PI3K-Akt-mTOR 通路引起 NCI-H157 和 NCI-H460 细胞自噬^[44]。另外, 非小细胞肺癌 A549 细胞经麦冬皂苷 B 处理后同样发生了自噬, 而用自噬抑制剂氯喹或者降低 Beclin-1 蛋白均能减弱细胞活性, 这表明引起细胞死亡的主要原因是细胞自噬的发生^[45]。

桔梗皂苷 D (platycodinD) 是从桔梗属植物根部提取的三萜皂苷。研究发现桔梗皂苷 D 通过上调 Atg-3, Atg-7 和 Beclin-1 蛋白, 能诱导人非小细胞肺癌 NCI-H460 和 A549 细胞发生自噬, 表现在 LC3-II 的蛋白和 RNA 表达水平均上调, 并且在自噬发生时抑制 PI3K-Akt-mTOR 途径并激活 JNK 和 p38MAPK 通路^[46]。

靛玉红 (indirubin) 是当归龙荟丸的活性成分, 用于治疗慢性髓细胞性白血病。有研究发现靛玉红-3'-单肟 (indirubin-3'-monoxime) 能够促进人急性髓细胞性白血病细胞 JM1 和人慢性髓细胞性白血病细胞 K562 的自噬性及凋亡性细胞死亡, 主要表现为细胞活性呈剂量依赖性降低, G₂/M 细胞周期受到抑制, 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 (Caspase)-3 凋亡途径被激活, LC3-II 蛋白表达剂量

依赖性升高^[47]。

其他中药单体也被证实能够诱导肿瘤细胞自噬性死亡,如白藜芦醇^[48],泽泻醇 B^[49],木蝴蝶素 A^[50],芦荟大黄素,三氧化二砷,黄连素,表没食子儿茶素没食子酸酯,汉防己甲素,土槿皮酸,水飞蓟素,雷公藤甲素和熊果酸等^[36]。

3 抗癌中药单体诱导肿瘤细胞发生保护性自噬

中药及其有效成分可以诱导肿瘤细胞发生保护性自噬效应,提示中药诱导肿瘤细胞自噬的作用是多方面的,应予以区别对待。

β -榄香烯,是一种从传统中草药莪术根茎中提取的抗肿瘤药物,临床用于肺癌、结直肠癌、恶性胶质瘤等肿瘤的治疗^[51-54]。在肝癌细胞 HepG2 中, β -榄香烯诱导 LC3-II 蛋白表达升高,表明 β -榄香烯能够诱导 HepG2 细胞发生自噬,进一步机制研究发现,通过自噬抑制剂氯喹抑制细胞自噬的发生,能增强 β -榄香烯诱导的细胞凋亡作用,说明 β -榄香烯诱导肿瘤细胞发生的是保护性自噬^[55]。在胃癌细胞 MGC803 和 SGC7901 中, β -榄香烯亦能引起细胞发生自噬,上调 LC3-II 蛋白表达水平,同时上调 Atg5-Atg12 结合蛋白表达水平,抑制 PI3K-Akt-mTOR-p70S6K1 通路,抑制细胞自噬则能明显增强 β -榄香烯的抗肿瘤效应^[56]。另外,在非小细胞肺癌细胞 A549 中, β -榄香烯也具有相同的细胞保护性细胞自噬作用^[57]。经 β -榄香烯处理肾癌细胞 786-O 后,细胞质中的自噬泡累积,LC3 蛋白表达上调,抑制 PI3K-Akt-mTOR 通路, β -榄香烯与自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)或氯喹(CQ)共同作用后,细胞的抗肿瘤效果明显增强,也证明 β -榄香烯诱导的是肿瘤细胞保护性自噬^[58]。

冬凌草甲素(oridonin)是一种从冬凌草中提取的双萜化合物,已经作为抗肿瘤药物被广泛地用于肿瘤的治疗。LI 等^[59]研究发现,经冬凌草甲素处理人前列腺癌细胞 PC-3 后,细胞增殖和 G₂/M 细胞周期均受到抑制,自噬体大量积累,LC3-II 蛋白表达增多,并在自噬体膜上聚集,而自噬抑制剂 3-MA 能抑制酸性自噬泡的形成及 LC3-I 向 LC3-II 的转化,这表明冬凌草甲素处理产生了细胞自噬。营养剥夺所诱导的自噬能促进经冬凌草甲素处理的前列腺癌细胞活力,而自噬抑制剂 3-MA 能减弱冬凌草甲素导致的细胞死亡,这表明冬凌草甲素诱导 PC-3 细胞发生了保护性自噬。YU 等^[60]研究发现,冬凌草甲素亦诱导人皮肤鳞癌细胞 A431 发生了保护性自噬。

白藜芦醇(resveratrol)是具有抗肿瘤活性的

天然多酚类化合物,通过诱导凋亡能抑制黑色素瘤细胞的生长。此外,白藜芦醇通过神经酰胺的积累和抑制 Akt-mTOR 通路,诱导 B16 细胞发生了自噬,而自噬抑制剂 3-MA 或干扰 Beclin-1 则能增强白藜芦醇的细胞毒性和细胞凋亡作用,表明白藜芦醇诱导黑色素瘤细胞 B16 发生了保护性自噬^[61]。

雷公藤甲素(triptolide)处理能使前列腺癌细胞 PC-3, LNCaP 和 C4-2 发生保护性自噬。雷公藤内酯通过刺激内质网(ER)应激反应介导游离钙的细胞内积累,激活钙调素依赖蛋白激酶激酶(CaMKK) β -AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)信号通路,继而抑制 mTOR 并活化 ULK1 和 Beclin-1,最终导致自噬。联合自噬抑制剂 3-MA 和氯喹(CQ)能增强雷公藤甲素诱导前列腺癌细胞死亡和生长抑制作用。PC-3 异种移植小鼠模型亦表明自噬抑制剂 CQ 促进了雷公藤甲素的体内抑瘤作用。总体而言,雷公藤内酯通过 CaMKK β -AMPK 通路在前列腺癌细胞中诱导保护性自噬,提示雷公藤甲素联合自噬抑制剂可能是前列腺癌的有效治疗策略^[62]。

汉黄芩苷(wogonin)是一种从中药黄芩中提取的黄酮类化合物。Chow 等^[63]发现在人鼻咽癌细胞 NPC-TW076 和 NPCTW039 中,汉黄芩苷诱导细胞自噬,LC3-II 蛋白表达上调,p-mTOR 和 p-P70S6K 蛋白表达下降,这表明 mTOR-P70S6K 途径参与了汉黄芩苷诱导的细胞自噬。研究发现汉黄芩苷通过细胞自噬过程能够减弱细胞凋亡诱导作用,而自噬抑制剂 3-MA 或巴弗洛霉素 A 则增加汉黄芩苷的细胞凋亡效应,这表明汉黄芩苷诱导人鼻咽癌细胞发生了保护性细胞自噬。

4 抗癌中药单体抑制肿瘤细胞自噬

许多中药来源的单体及其衍生物具有明显的自噬调节作用,但研究多集中在其诱导自噬方面,而对自噬抑制作用方面的探究相对较少。研究表明,抑制细胞自噬将成为肿瘤治疗的新策略。

苦参碱(matrine)是传统中药苦参中的单体化合物。WANG 等^[64]报道苦参碱是一种新的自噬抑制剂,参与调控溶酶体蛋白酶的成熟过程。在人胃癌 SGC7901 细胞中,苦参碱明显抑制溶酶体中组织蛋白酶 D 的活性,降低溶酶体活性,抑制细胞自噬。

20(S)-人参皂苷 Rg₃[20(S)-Ginsenoside Rg₃],是二醇类四环三萜皂苷,能有效抑制肺癌、肝癌、胃癌、肠癌、乳腺癌生长,明显改善患者临床症状、提高生存质量。20(S)-人参皂苷 Rg₃ 通过损坏溶酶体的功能,从而抑制肿瘤细胞中的自噬,提高阿霉素抗

肝癌的效果^[65]。

穿心莲内酯(andrographolide)是穿心莲的重要组成部分之一。穿心莲内酯通过抑制自噬体的成熟抑制自噬,从而显著提高化疗药物顺铂对肿瘤细胞的杀伤能力^[66]。莲心碱(liensinine)是一种重要的异喹啉生物碱,在乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中通过抑制自噬体-溶酶体融合,抑制线粒体自噬,从而增强阿霉素介导的细胞凋亡^[67]。

没食子-3-*O*-儿茶素(epigallocatechin-3-*O*-gallate)是绿茶中含量最高的儿茶素。在肝癌细胞 Hep3B 中,没食子-3-*O*-儿茶素可以明显降低细胞的自噬活性,抑制细胞增殖,从而提高阿霉素的抗肝癌细胞效果^[68]。

黄芪甲苷(astragaloside II)是中药黄芪中分离得到的主要皂苷类化合物,能增加 LC3-II, p62 的蛋白水平和 GFP-LC3 斑点的积累,但也能降低溶酶体组织蛋白酶的表达并影响溶酶体酸化,从而抑制顺铂通过 PI3K-Akt-mTOR 途径诱导多药耐药肝癌细胞 Bel-7402 5-FU 的保护性自噬,并逆转其多药耐药^[69]。

5 讨论与展望

自噬的发生是一种高动态的复杂过程。研究发现自噬体的增加并不能从本质上反映自噬的水平,仅仅能够反映自噬的诱导。因此准确全面地评估自噬不仅包括自噬体的检测,还包括动态观察整个自噬流的过程是否通畅。自噬流(autophagy flux)是一个由多个步骤组成的动态过程,自噬流的活化或受阻往往可以造成截然不同的生物学效应。在目前的研究中,主要通过检测 LC3-I/LC3-II 蛋白转化, p62 蛋白表达, mRFP/mCherry-GFP-LC3 串联荧光蛋白等分子确定自噬流是否通畅,最终确定是发生了自噬诱导,还是自噬抑制作用。

近年来的大量研究表明自噬与肿瘤密切相关。自噬可以调节肿瘤的形成、增殖、转移以及能量代谢等诸多方面。自噬具有抑制肿瘤和促进肿瘤的双重功能,因此自噬与肿瘤的关系仍然是让学者们争议和值得深入研究的命题。对于细胞自噬的研究不仅具有理论价值,而且还具有重要的应用价值。目前,以调节自噬活性为理论依据的抗肿瘤药物研究越来越多,通过调节自噬活性治疗肿瘤已经成为肿瘤治疗的新思路。

中药来源的小分子化合物具有结构丰富、毒副作用低等优点,一直是药物研发的重要来源。针对自噬调节药物的开发主要可分为两大部分,一是

自噬诱导剂的开发;二是自噬抑制剂的研究。因为肿瘤的治疗是很复杂的过程,所以尽管许多抗肿瘤中药单体化合物都具有明显的自噬调节剂作用,但是它们对于自噬的诱导或抑制作用目前尚未完全清楚。同一种抗肿瘤药物在不同的细胞株中可能显示出截然相反的自噬调节作用,如雷公藤甲素能诱导胰腺癌细胞发生自噬性死亡,但在前列腺癌中却发挥了保护性自噬作用;白藜芦醇在卵巢癌中通过自噬能促进细胞死亡,但在黑色素瘤中却出现了保护性自噬。因而,明确抗肿瘤中药单体的自噬调节作用机制,寻找具有明确自噬调节作用的抗肿瘤中药,联合临床的化疗或靶向治疗,有望提高药物对肿瘤细胞的抑制作用,解决肿瘤细胞耐药性,从而为肿瘤治疗提供新的策略和思路。

[参考文献]

- [1] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues [J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741.
- [2] YANG Z, Klionsky D J. An overview of the molecular mechanism of autophagy [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2009, doi: 10. 1007/978-3-642-00302-8_1.
- [3] Roy S, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis [J]. Semin Immunopathol, 2010, 32(4): 383-396.
- [4] Kenific C M, Debnath J. Cellular and metabolic functions for autophagy in cancer cells [J]. Trends Cell Biol, 2014, 25(1): 37-45.
- [5] XU D W, ZHANG G Q, WANG Z W, et al. Autophagy in tumorigenesis and cancer treatment [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(6): 2167-2175.
- [6] LU J J, DANG Y Y, HUANG M, et al. Anti-cancer properties of terpenoids isolated from *Rhizoma Curcuma*-a review [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 143(2): 406-411.
- [7] LU J J, BAO J L, WU G S, et al. Quinones derived from plants econdary metabolites as anti-cancer agents [J]. Anti-Cancer Agents Med Chem, 2013, 13(3): 456-463.
- [8] LU J J, BAO J L, CHEN X P, et al. Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents [J]. Evid Based Complement Altern Med, 2012, doi: 10. 1155/2012/485042.
- [9] WANG X B, FENG Y B, WANG N, et al. Chinese medicines induce cell death; the molecular and cellular mechanisms for cancer therapy [J]. Biomed Res Int, 2014, doi: 10. 1155/2014/530342.
- [10] WANG S F, WU M Y, CAI C Z, et al. Autophagy modulators from traditional Chinese medicine: mechanisms and therapeutic potentials for cancer and neurodegenerative diseases [J]. J Ethnopharmacol,

- 2016, doi: 10.1016/j.jep.2016.10.069.
- [11] Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism [J]. *Oncogene*, 2004, 23(16):2891-2906.
- [12] Lee W S, Yoo W H, Chae H J. ER stress and autophagy [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(8):735-745.
- [13] Viry E, Paggetti J, Baginska J, et al. Autophagy: an adaptive metabolic response to stress shaping the antitumor immunity [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 92(1):31-42.
- [14] Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Assessing metabolic stress and autophagy status in epithelial tumors [J]. *Methods Enzym*, 2009, doi: 10.1016/S0076-6879(08)04004-4.
- [15] Guertin D A, Sabatini D M. Defining the role of mTOR in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(1):9-22.
- [16] Maiuri M C, Le Toumelin G, Criollo A, et al. Functional and physical interaction between Bcl-XL and a BH3-like domain in Beclin-1 [J]. *Embo J*, 2007, 26(10):2527-2539.
- [17] Tasdemir E, Maiuri M C, Galluzzi L, et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53 [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(6):676-687.
- [18] LIANG X H, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1 [J]. *Nature*, 1999, 402(6762):672-676.
- [19] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis [J]. *Cancer Cell*, 2006, 10(1):51-64.
- [20] Fung C, Lock R, GAO S, et al. Induction of autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3):797-806.
- [21] GUO J Y, CHEN H Y, Mathew R, et al. Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis [J]. *Gene*, 2011, 25(5):460-470.
- [22] SHI Z, LI C Y, ZHAO S, et al. A systems biology analysis of autophagy in cancer therapy [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):149-160.
- [23] Ahn C H, Jeong E G, Lee J W, et al. Expression of beclin-1, an autophagy-related protein, in gastric and colorectal cancers [J]. *Apmis*, 2007, 115(12):1344-1349.
- [24] Maiuri M C, Tasdemir E, Criollo A, et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1):87-93.
- [25] Yorimitsu T, Klionsky D J. Autophagy: molecular machinery for self-eating [J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(2):1542-1552.
- [26] Rosenfeldt M T, Ryan K M. The multiple roles of autophagy in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(7):955-963.
- [27] Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in breast cancer [J]. *Autophagy*, 2007, 3(6):610-613.
- [28] DiPaola R S, Dvorzhinski D, Thalasila A, et al. Therapeutic starvation and autophagy in prostate cancer: a new paradigm for targeting metabolism in cancer therapy [J]. *Prostate*, 2008, 68(16):1743-1752.
- [29] SHEN Y, LI D D, WANG L L, et al. Decreased expression of autophagy-related proteins in malignant epithelial ovarian cancer [J]. *Autophagy*, 2008, 4(8):1067-1068.
- [30] DING Z B, SHI Y H, ZHOU J, et al. Association of autophagy defect with a malignant phenotype and poor prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22):9167-9175.
- [31] Schmelzle T, Hall M N. TOR, a central controller of cell growth [J]. *Cell*, 2000, 103(2):253-262.
- [32] Chappell W H, Steelman L S, Long J M, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR inhibitors: Rationale and importance to inhibiting these pathways in human health [J]. *Oncotarget*, 2011, 2(3):135-164.
- [33] Cagnol S, Chambard J C. ERK and cell death: Mechanisms of ERK-induced cell death-apoptosis, autophagy and senescence [J]. *Febs J*, 2010, 277(1):2-21.
- [34] Hay N. The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer [J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(3):179-183.
- [35] Scherz-Shouval R, Shvets E, Fass E, et al. Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4 [J]. *Embo J*, 2007, 26(7):1749-1760.
- [36] WANG X, FENG Y, WANG N, et al. Chinese medicines induce cell death: the molecular and cellular mechanisms for cancer therapy [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:530342.
- [37] Mujumdar N, Mackenzie T N, Dudeja V, et al. Triptolide induces cell death in pancreatic cancer cells by apoptotic and autophagic pathways [J]. *Gastroenterol*, 2010, 139(2):598-608.
- [38] LI H Y, ZHANG J, SUN L L, et al. Celastrol induces apoptosis and autophagy via the ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma cells: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(12):e1604.
- [39] MIAO Q, BI L L, LI X, et al. Anticancer effects of bufalin on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells:

- Roles of apoptosis and autophagy [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(1):1370-1382.
- [40] Tsai S C, YANG J S, PENG S F, et al. Bufalin increases sensitivity to Akt/mTOR-induced autophagic cell death in SK-HEP-1 human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(4):1431-1442.
- [41] Hsu C M, Tsai Y, WAN L, et al. Bufalin induces G₂/M phase arrest and triggers autophagy via the TNF, JNK, BECN-1 and ATG8 pathway in human hepatoma cells [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(1):338-348.
- [42] XIE C M, CHAN W Y, YU S, et al. Bufalin induces autophagy-mediated cell death in human colon cancer cells through reactive oxygen species generation and JNK activation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(7):1365-1375.
- [43] WU M, LAO Y, XU N, et al. Guttiferone K induces autophagy and sensitizes cancer cells to nutrient stress-induced cell death [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(10):902-910.
- [44] CHEN M, DU Y, QUI M, et al. Ophiopogonin B-induced autophagy in non-small cell lung cancer cells via inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(2):430-436.
- [45] CHEN M, GUO Y, ZHAO R, et al. Ophiopogonin B induces apoptosis, mitotic catastrophe and autophagy in A549 cells [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(1):316-324.
- [46] ZHAO R, CHEN M, JIANG Z, et al. Platycodin-D induced autophagy in non-small cell Lung cancer cells via PI3K/Akt/mTOR and MAPK signaling pathways [J]. *J Cancer*, 2015, 6(7):623-631.
- [47] Lee M Y, LIU Y W, CHEN M H, et al. Indirubin-3'-monoxime promotes autophagic and apoptotic death in JM1 human acute lymphoblastic leukemia cells and K562 human chronic myelogenous leukemia cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(5):2072-2078.
- [48] Opipari A W Jr, TAN L, Boitano A E, et al. Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(2):696-703.
- [49] Law B Y, WANG M, MA D L, et al. Alisol B, a novel inhibitor of the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump, induces autophagy, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis [J]. *Cancer Ther*, 2010, 9(3):718-730.
- [50] ZOU M, LU N, HU C, et al. Beclin 1-mediated autophagy in hepatocellular carcinoma cells: Implication in anticancer efficiency of oroxylin A via inhibition of mTOR signaling [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(8):1722-1732.
- [51] LI Q Q, WANG G, ZHANG M, et al. beta-Elementene, a novel plant-derived antineoplastic agent, increases cisplatin chemosensitivity of lung tumor cells by triggering apoptosis [J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(1):161-170.
- [52] WANG G, LI X, HUANG F, et al. Antitumor effect of beta-elementene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62(7/8):881-893.
- [53] XIE C Y, YANG W, LI M, et al. Cell apoptosis induced by delta-elementene in colorectal adenocarcinoma cells via a mitochondrial-mediated pathway [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2009, 129(11):1403-1413.
- [54] YAO Y Q, DING X, JIA Y C, et al. Anti-tumor effect of beta-elementene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation [J]. *Cancer Lett*, 2008, 264(1):127-134.
- [55] LIN Y, WANG K, HU C, et al. Elementene injection induced autophagy protects human hepatoma cancer cells from starvation and undergoing apoptosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014:637528.
- [56] LIU J, ZHANG Y, QU J, et al. beta-Elementene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis [J]. *BMC Cancer*, 2011, doi:10.1186/1472-2407-11-183.
- [57] LIU J, HU X J, JIN B, et al. beta-Elementene induces apoptosis as well as protective autophagy in human non-small-cell lung cancer A549 cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(1):146-153.
- [58] ZHAN Y H, LIU J, QU X J, et al. beta-Elementene induces apoptosis in human renal-cell carcinoma 786-0 cells through inhibition of MAPK/ERK and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(6):2739-2744.
- [59] LI X, LI X, WANG J X, et al. Oridonin p-regulates expression of P21 and induces autophagy and apoptosis in human prostate cancer cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(6):901-912.
- [60] YU Y, FAN S M, SONG J K, et al. Hydroxyl radical(·OH) played a pivotal role in oridonin-induced apoptosis and autophagy in human epidermoid carcinoma A431 Cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(12):2148-2159.
- [61] WANG M, YU T, ZHU C, et al. Resveratrol triggers protective autophagy through the ceramide/Akt/mTOR pathway in melanoma B16 cells [J]. *Nutr Cancer*, 2014, 66(3):435-440.
- [62] ZHAO F, HUANG W, ZHANG Z, et al. Triptolide

- induces protective autophagy through activation of the CaMKK β -AMPK signaling pathway in prostate cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5):5366-5382.
- [63] CHOW S E, CHEN Y W, LIANG C A, et al. Wogonin induces cross-regulation between autophagy and apoptosis via a variety of Akt pathway in human nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(11):3476-3485.
- [64] WANG Z, ZHANG J, WANG Y, et al. Matrine, a novel autophagy inhibitor, blocks trafficking and the proteolytic activation of lysosomal proteases [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(1):128-138.
- [65] KIM D G, JUNG K H, LEE D G, et al. 20(S)-Ginsenoside Rg₃ is a novel inhibitor of autophagy and sensitizes hepatocellular carcinoma to doxorubicin [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(12):4438-4451.
- [66] ZHOU J, HU S E, TAN S H, et al. Andrographolide sensitizes cisplatin-induced apoptosis via suppression of autophagosome-lysosome fusion in human cancer cells [J]. *Autophagy*, 2012, 8(3):338-349.
- [67] CHEN L, YE H L, ZHANG G, et al. Autophagy inhibition contributes to the synergistic interaction between EGCG and doxorubicin to kill the hepatoma Hep3B cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e85771.
- [68] ZHOU J, LI G, ZHENG Y, et al. A novel autophagy/mitophagy inhibitor liensinine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy through DNMI1L-mediated mitochondrial fission [J]. *Autophagy*, 2015, 11(8):1259-1279.
- [69] YANG C, WU C, XU D, et al. Astragaloside II inhibits autophagic flux and enhance chemosensitivity of cisplatin in human cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, doi: 10.1016/j.biopha.2016.03.025.

[责任编辑 张丰丰]

欢迎订阅《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管, 中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月, 主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、科技核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊; 并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊, 16 开本, 234 页, 标准刊号 ISSN1005-9903; CN11-3495/R。每期定价 35 元, 全年 840 元。国内外公开发行, 国内由北京市报刊发行局办理总发行, 邮发代号 2-417; 国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行, 代号 SM4655, 欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购, 地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 收件人: 《中国实验方剂学杂志》编辑部, 邮编 100700, Tel: (010)84076882, E-mail: syfjx_2010@188.com, 网址: www.syfjxzz.com。