

雷公藤单体抑制神经胶质瘤的研究进展

李建斌, 祝新根, 程祖珏*

(南昌大学第二附属医院神经外科, 南昌 330006)

[摘要] 雷公藤单体是从传统中草药雷公藤中分离出的化学单体成分, 主要包括二萜、三萜、倍半萜、生物碱等, 具有免疫抑制、抗炎、抗肿瘤等活性。近年来的文献报道雷公藤单体中雷公藤甲素和雷公藤红素以剂量-效应方式抑制颅内恶性肿瘤神经胶质瘤生长。其作用与调控抗凋亡蛋白 Bcl-2, 促凋亡蛋白 Bax、核因子 NF- κ B 的表达及下调 Ras/Akt 和 Ras/ERK 信号转导通道诱导肿瘤细胞凋亡; 降低 RNA 聚合酶转录活性, 抑制肿瘤细胞的增殖分化; 抑制血管内皮细胞 (EC) 的血管内皮生长因子 (VEGF) 受体降低 EC 的增殖、迁移及小管的形成能力抑制肿瘤血管生成等机制相关。深入研究雷公藤单体的生物学效应及其分子机制将有助于阐明其药理机制。寻找高效低毒的单体将是今后研究的重点。

[关键词] 神经胶质瘤; 雷公藤; 雷公藤甲素; 雷公藤红素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0325-04

Research Progress in Researches on Inhibition of Glioma by Monomers Isolated from Tripterygium Wilfordii

LI Jian-bin, ZHU Xin-gen, CHENG Zhu-jue*

(Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[Abstract] Monomers isolated from Tripterygium Wilfordii are mainly chemical compositions including two terpene, three terpene, half terpene, alkaloids, etc. The monomers show effectiveness in suppression of autoimmune diseases as well as anti-inflammatory and antitumor activity. Recent reports in the literatures show that triptolide and celastrol isolated from Tripterygium Wilfordii could inhibit glioma growth by ways of tumor cell apoptosis, inhibition to tumor cell proliferation and differentiation and refraining tumor angiogenesis in a dose-effect manner. The mechanism involves regulating expression of Bcl-2, Bax, NF-kappa B and down-regulating Ras/Akt and Ras/ERK signal pathways. They could reduce the RNA polymerase transcription and lower the vascular endothelial cells (EC) proliferation, transference, and the ability for forming small tube by inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor. The studies on bio-responses and the related molecular mechanism of the monomers will certainly help to illustrate the pharmacologic mechanism of actions. The future emphases will be the development of new monomers with high efficacy and low toxicity.

[Key words] glioma; Tripterygium Wilfordii; triptolide; celastrol

神经胶质瘤又称胶质细胞瘤, 是发生于神经外胚层的肿瘤, 故又称为神经外胚层肿瘤或神经上皮肿瘤, 约占颅内肿

瘤的 44.6%^[1-2]。该肿瘤具有侵袭性生长、手术中难以全部切除、术后复发率高、难以治愈等特性。目前临床上对神经

[收稿日期] 20120412(288)

[基金项目] 江西省教育厅项目(EF130)

[第一作者] 李建斌, 在读硕士研究生, 从事神经胶质瘤的诊断及治疗研究, Tel:13870615432, E-mail:windysonger120@sina.com

[通讯作者] *程祖珏, 主任医师、硕士生导师, 从事神经胶质瘤的发生发展分子机制及其诊治研究, Tel:13870876167, E-mail:juejue@126.com

胶质瘤采取手术、放疗、化疗、免疫等手段进行综合治疗,但其预后仍然很差。近年来众多学者不断地探求更为有效的治疗方法和药物。1972 年 Kupchan 等^[3]报道雷公藤具有抗肿瘤活性,此后的研究陆续发现其在诱导肿瘤细胞凋亡时还能抑制肿瘤血管生成。与此同时雷公藤单体对神经胶质瘤的治疗作用及相关机制也展开了系列研究,并取得了一定的进展。

雷公藤 (*Tripterygium Wilfordii*) 属木质藤本植物,系卫矛科,又名黄藤、断肠草,味苦、辛凉,花、叶、根、果均可入药,主要用于驱风通络、消炎止痛、杀虫解毒,但有很强的毒性。其化学成分主要是二萜、三萜、倍半萜、生物碱及糖等,目前从雷公藤中分离出的活性化学单体不下 70 种,例如二萜类的雷公藤甲素,雷公藤乙素、丙素,三萜类的雷公藤红素和雷公藤内酯甲,生物碱类雷公藤次碱等。随着生物技术水平的提高,新的单体成分还在不断被报道。各种化学单体成分作用活性不尽相同,其中二萜类及生物碱类为主要活性成分,具有与雷公藤相似的抗炎和免疫调节、改善微循环等功效,但毒性较之降低。雷公藤单体的使用可提高药效,减低毒副作用。随着新剂型、制剂的出现及给药途径的改变,生物技术的改进,进一步实现了增效减毒,增加了临床使用的安全性^[4-6]。

随着现代医学的发展,雷公藤临床应用的范围逐渐扩大。雷公藤不仅是疗效良好的免疫抑制剂,可用于治疗人自身免疫性疾病^[7],而且雷公藤单体具有较强抗炎、抗菌、抗肿瘤等作用^[8-10],逐渐运用于肿瘤治疗领域。近年来有关雷公藤单体与神经胶质瘤关系的研究引人注目。目前体内和体外研究显示,雷公藤甲素和雷公藤红素对神经胶质瘤具有明显的抑制作用。

1 雷公藤单体对神经胶质瘤抑制作用

1.1 雷公藤甲素抑制作用 雷公藤甲素作为雷公藤中最主要的活性成分之一,已被发现对人的肺癌、胃癌、结肠癌、肝癌、白血病等多种肿瘤抑制作用显著^[11-15],同时具有高效的抗神经胶质瘤作用^[16]。雷公藤甲素对胶质瘤细胞的增殖抑制实验显示:雷公藤甲素对 SHG44, U251, C6 等胶质瘤细胞株 IC_{50} 在 $0.079 \sim 0.152 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 胶质瘤细胞增殖能显著地被雷公藤甲素抑制^[17]。雷公藤甲素以剂量-效应方式抑制胶质瘤细胞的增殖^[18-19], 胶质瘤细胞活细胞数随着雷公藤甲素浓度的增加而明显减少,细胞集落形成数也相应的降低,凋亡细胞增多。这些研究表明雷公藤甲素在抑制胶质瘤细胞增生时还能诱导细胞凋亡。

1.2 雷公藤红素的抑制作用 雷公藤红素自 Kobayashi^[20] 等发现其有抗癌作用后,抑制胶质瘤细胞增殖的作用也通过多项研究得到证实,但抑制作用明显较雷公藤甲素弱^[17]。其作用于胶质瘤细胞株 SHG44, U251, C6 的 IC_{50} 为 $1.038 \sim 0.841 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, IC_{50} 较雷公藤甲素明显增高,抑制作用约为雷公藤甲素的 1/10。黄煜伦^[21] 等通过小鼠胶质瘤移植瘤模型体内实验发现雷公藤红素能明显抑制 SHG44 裸鼠移植瘤生长,而且存在剂量依赖性。1, 2, 4 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 种剂量的抑瘤

率分别为 12.8% , 26.9% , 35%。可见雷公藤红素也以剂量-效应方式抑制胶质瘤细胞增殖。TUNEL 法检测发现雷公藤红素组肿瘤细胞凋亡指数约为正常对照组的 2 倍^[22], 说明雷公藤红素可诱导细胞凋亡。

2 雷公藤单体对神经胶质瘤作用机制

神经胶质瘤的生长与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡及肿瘤血管的生成密切相关。抑制肿瘤细胞的增殖、分化,诱导肿瘤细胞的凋亡,抗肿瘤血管生成是肿瘤治疗的公认方法^[23]。神经胶质瘤细胞的凋亡涉及一系列基因的激活、表达以及调控等。B 细胞淋巴瘤基因-2 (B cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族基因编码的蛋白是一组重要的细胞凋亡调控蛋白,包括抗凋亡蛋白如 Bcl-2 和促凋亡蛋白如 Bax 等。凋亡诱发因子通过与抗凋亡蛋白 B 结合的方式抑制抗凋亡蛋白的表达,使其抑制凋亡作用减弱;同时某些凋亡诱发因子与促凋亡蛋白结合,能加速细胞凋亡^[24-26], 因此当凋亡信号刺激细胞时,细胞是否凋亡与 Bcl-2/Bax 的表达比率直接相关。具有丰富新生血管是神经胶质瘤的间质特点,血管密度与其恶性程度及预后呈正相关^[27]。人为干预肿瘤血管生成的起始 (initiation)、浸润和增生 (invasion and proliferation) 以及成熟和分化 (maturation and differentiation) 3 个阶段^[28] 可抑制血管的生成。目前相关研究表明雷公藤单体在神经胶质瘤细胞的增殖、分化、凋亡以及血管生成的肿瘤生长的各个阶段都可起作用。

2.1 雷公藤甲素作用机制 雷公藤甲素能在基因水平发挥调控肿瘤的增殖。McCallum^[29] 等认为雷公藤甲素作用于肿瘤细胞后,降低细胞总 RNA 和 mRNA 水平。同时徐晓昱^[30] 等也证实雷公藤甲素的普遍转录抑制效应。雷公藤甲素能降低 RNA 聚合酶转录活性,干扰 mRNA 合成、加工等转录过程,抑制肿瘤的增殖。Vispé^[11] 等发现雷公藤甲素是 RNA 聚合酶活性的初始药物抑制剂,不直接与 RNA 聚合酶 II 作用或对 DNA 造成损伤,而是快速消耗转录因子及细胞周期调控因子等短寿 mRNA。同时雷公藤甲素调节胶质瘤细胞的 Bcl-2/Bax 的表达比率,诱导细胞凋亡^[17]。雷公藤甲素能促进胶质瘤细胞促凋亡 Bax 蛋白的表达增加,而降低抗凋亡 Bcl-2 蛋白的表达,降低肿瘤细胞逃避凋亡能力。雷公藤甲素自身诱导肿瘤细胞凋亡的同时可与肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 协同作用于核因子 κB (NF- κB)^[8]。NF- κB 作为可诱导转录因子,普遍存在于哺乳动物细胞,对众多基因发挥中心性转录调节作用,在细胞的生存、增殖分化和凋亡等方面起到重要的作用。NF- κB 可通过对相应基因的转录调节,促进肿瘤的发生、肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。Tang^[31] 等证实胶质瘤中 NF- κB 也发挥此类作用。NF- κB 能诱导多种凋亡抑制因子如 c-IAP1, c-IAP2 等表达。雷公藤甲素能抑制肿瘤细胞诱导的核因子 κB (NF- κB) 表达上调,增强 TNF- α 对肿瘤细胞杀伤作用,同时能下调 NF- κB 诱导的 c-IAP1, c-IAP2 的水平,二者共同促进肿瘤细胞凋亡。Ras、PI(3)K 和 mTOR 通路是众所周知肿瘤抑制信号通路,蛋白激酶 B (Akt) 是其关键的组分之一。雷公藤甲素能明显影响 Ras 的

活性,同时可以下调 Ras 下游的 ERK1, ERK2 和 Akt 的磷酸化水平,但不影响细胞外调节蛋白激酶(ERK)^[32]。雷公藤甲素通过下调 Ras/Akt 和 Ras/ERK 信号转导通路促进胶质瘤细胞的凋亡。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)高度保守且在细胞存活中起着重要的作用。HSP-70 作为一个细胞存活信号,广泛存在于各种肿瘤组织细胞中,可通过抑制细胞凋亡蛋白酶使肿瘤细胞逃避凋亡。雷公藤甲素能下调 HSP-70 mRNA 表达,干扰转录使其合成减少,诱导细胞凋亡^[33]。同时雷公藤甲素能从多个方面实现对血管生成的抑制。雷公藤甲素可抑制血管内皮细胞的增殖、迁移活性^[34]。降低血管内皮细胞表达尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA) mRNA,导致 u-PA 蛋白合成受阻,血管基底膜降解减弱,内皮细胞穿出受阻,影响毛细血管管腔形成,抑制血管生成,且该作用与雷公藤甲素的作用时间和浓度成正比。

2.2 雷公藤红素作用机制 黄煜伦^[21]等发现雷公藤红素于细胞分裂周期起作用。降低胶质瘤细胞的细胞周期正性调节蛋白的周期蛋白 D1 表达,使肿瘤细胞由 G₁ 向 S 期分化增殖受阻。同时抑制增殖细胞核抗原(PCNA)蛋白表达,使 DNA 聚合酶延伸 DNA 的能力下降,干扰肿瘤细胞 S 期的 DNA 合成,S 期细胞数量增加,而 G₂ 期细胞数减少,通过调控 G₁/S 期,干扰肿瘤细胞分裂周期,使细胞分裂受阻而减缓肿瘤细胞增殖。雷公藤红素与雷公藤甲素有相同的诱导凋亡细胞途径^[17]。雷公藤红素促进胶质瘤细胞凋亡的作用也是通过增加 Bax 蛋白的表达、下调 Bcl-2 蛋白的表达,降低 Bcl-2/Bax 的表达比率实现的。雷公藤红素具有明显的抑制血管内皮细胞(EC)增殖、分化,起抑制血管生成的作用。雷公藤红素通过阻碍细胞 DNA 合成、细胞毒作用及抑制 EC 的血管内皮生长因子(VEGF)受体而对 EC 的增殖抑制作用^[35]。血管内皮细胞的 VEGF 受体被抑制后,VEGF 因子对其调控作用明显减弱导致 EC 的增殖、迁移及小管的形成能力下降。雷公藤红素不仅抑制 EC 的增殖、迁移及小管的形成能力,同时减少微血管(ECV)的增殖,抑制 ECV 的迁移和小管形成^[23],使肿瘤血管生成减少。通过对肿瘤血管生成的多个步骤进行干预实现对血管生成的抑制作用。雷公藤红素抑制血管内皮细胞增生具有剂量-浓度和剂量-时间依赖性^[36],血管内皮细胞抑制率与浓度和作用时间呈正性相关。

3 展望

雷公藤单体是一类具有高效抗肿瘤等多种生物活性的雷公藤提取物,目前国内外研究已证实雷公藤单体可有效抑制神经胶质瘤细胞增殖,促进细胞的凋亡,抑制肿瘤的血管增生,在神经胶质瘤生长的各个阶段对肿瘤的生长起抑制作用。雷公藤单体既是肿瘤抑制剂,又是良好的血管抑制剂,是一类有前景的抗肿瘤药物,其在神经胶质瘤治疗中的应用及其作用机制有进一步深入研究的价值,可为临床治疗脑胶质瘤、改善病人预后提供新的理论依据和方法。当前研究面临的挑战是如何进一步从分子机制方面阐明雷公藤单体抗癌活性,明确其作用靶点。雷公藤单体对神经胶质瘤的作用

可能存在多个直接作用靶点,涉及对 Ras, NF- κ B 等多条生物学途径影响,深入研究其生物学效应与分子机制等关键问题,将有助于阐明其药理机制。雷公藤单体的毒性限制了其临床应用,笔者认为优化雷公藤单体结构、寻找高效低毒的单体,提高临床使用安全性是研究的重点发展方向。

[参考文献]

- [1] 薛庆澄. 神经外科学[M]. 天津:天津科学技术出版社,1990:242.
- [2] 吴承远,刘玉光. 临床神经外科学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社,2007:178.
- [3] Kupchan S M, William A C, Richard G D, et al. Triptolide and triptolide, novel antileukemic diterpenoidtrienes from *Tripterygium wilfordii*[J]. J Am Chem Soc, 1972, 94(20):7194.
- [4] 李锦燕,方晓,熊爱珍,等. 复方雷公藤口腔缓释膜的制备[J]. 实用临床医学,2006,7(11):11.
- [5] 李红茹,李淑芬,段宏泉. 雷公藤复杂提取物脂质体的制备及稳定性研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(20):2128.
- [6] 唐圆圆,刘谦,张景红. 生物技术在雷公藤减毒增效中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):214.
- [7] 张雪梅,陈悦,侯敏敏. 雷公藤内酯醇的抗肿瘤作用及机制[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版)2008,4(5):64.
- [8] Lee K Y, Chang W, Qiu D, et al. PG490 (triptolide) cooperates with tumor necrosis factor alpha to induce apoptosis in tumor cells [J]. J Biol Chem, 1999, 274(19):13451.
- [9] Chan E, Cheng S C, Sin F W, et al. Triptolide induced cytotoxic effects on human promyelocytic leukemia T cell lymphoma and human hepatocellular carcinoma cell lines [J]. Toxicol Lett, 2001,122:81.
- [10] Liu Q, Chen T, Chen G, et al. Immunosuppressant triptolide inhibits dendritic cell-mediated chemoattraction of neutrophils and T cells through inhibiting Stat3 phosphorylation and NF-kappaB activation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 345:1122.
- [11] Vispé S, DeVries L, Créancier L, et al. Triptolide is an inhibitor of RNA polymerase I and II-dependent transcription leading predominantly to down-regulation of short-lived mRNA [J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(10):2780.
- [12] Shamon L A, Pezzuto J M, Graves J M, et al. Evaluation of the mutagenic, cytotoxic, and antitumor potential of triptolide, a highly oxygenated diterpene

- isolated from *Tripterygium wilfordii* [J]. *Cancer Lett*, 1997, 112(1):113.
- [13] Tong X M, Zheng S E, Jin J, et al. Triptolide inhibits Cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in human colon cancer and leukemia cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2007, 39(2):89.
- [14] Wang Z P, Jin H F, Xu R D, et al. Triptolide downregulates Rac1 and the JAK/STAT3 pathway and inhibits colitis-related colon cancer progression [J]. *Exp Mol Med*, 2009, 41(10):717.
- [15] Panichakul T, Intachote P, Wongkajorsilp A, et al. Triptolide sensitizes resistant cholangiocarcinoma cells to trail-induced apoptosis [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1A):259.
- [16] 李良. 雷公藤单体对胶质瘤细胞及血管内皮细胞的体外作用的实验研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2009, 11(2):169.
- [17] 周幽心, 黄煜伦, 许期年, 等. 雷公藤单体体外抑制胶质瘤细胞的实验研究[J]. *癌症*, 2002, 21: 1106.
- [18] Lin J, Chen L Y, Lin Z X, et al. The effect of triptolide on apoptosis of glioblastoma multiforme (GBM) cells [J]. *J Int Med Res*, 2007, 35(5):637.
- [19] 林健, 陈凌云, 林志新, 等. 雷公藤甲素对多发性神经胶质母细胞瘤(GBM)的体外抑制作用[C]. 第五届全国雷公藤学术会议论文汇编. 2008:197.
- [20] Kobayashi Y, Shen J, Li S H, et al. Suppressive effects of a plant-origin polyol, dulcitol on collagen-induced arthritis in mice [J]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1997, 110 (suppl 1):132.
- [21] 黄煜伦, 周幽心, 姜华, 等. 雷公藤红素抑制可移植性人脑胶质瘤生长相关分子[J]. *江苏医药*, 2007, 33(1):37.
- [22] 王冠, 周洁, 冯珂珂, 等. 腺相关病毒介导重组血管抑素联合雷公藤红素对大鼠颅内 C6 胶质瘤的抗血管生成作用[J]. *肿瘤*, 2011, 30(10):875.
- [23] 黄煜伦, 周幽心, 周岱, 等. 雷公藤红素抑制血管生成的实验研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2003, 25(5):429.
- [24] Youle R J, Strasser A. The Bcl-2 protein family: opposing activities that mediate cell death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 47.
- [25] Shmueli A, Oren M. Life, death, and ubiquitin: taming the mule[J]. *Cell*, 2005, 121: 963.
- [26] Kanzler S, Galle P R. Apoptosis and the liver [J]. *Semin Cancer Biol*, 2000, 10: 173.
- [27] 叶明, 周岱, 周幽心, 等. 血管内皮生长因子在胶质瘤中的表达[J]. *肿瘤*, 2002, 22(6):489.
- [28] Brooks P C. Cell adhesion molecules in angiogenesis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1996, 15(12):187.
- [29] McCallum C, Kwon S, Leavitt P, et al. Triptolide binds covalently to a 90 kDa nuclear protein. Role of epoxides in binding and activity[J]. *Immunobiology*, 2007, 212(7):549.
- [30] 徐晓昱, 郑伟娟, 华子春. 雷公藤内酯醇抗肿瘤作用机理研究进展[J]. *中国医药生物技术*, 2009, 4(5):367.
- [31] 唐万忠, 夏玉军. 人脑胶质瘤与人脑转移瘤 NF- κ B P65 的表达及意义[J]. *第一军医大学学报*, 2004, 24(1):75.
- [32] Lin J, Chen L, Lin Z, et al. Inhibitory effect of triptolide on glioblastoma multiforme *in vitro* [J]. *J Int Med Res*, 2007, 35(4):490.
- [33] Westerheide S D, Kawahara T L, Orton K, et al. Triptolide, an inhibitor of the human heat shock response that enhances stress-induced cell death[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(14):9616.
- [34] 丁怡, 张建成, 侯立军, 等. 雷公藤甲素对血管生成的抑制作用[J]. *生物医学工程学杂志*, 2005, 22(4):778.
- [35] 周幽心, 孙成法, 许期年, 等. 雷公藤红素抑制血管内皮细胞株增殖的体外研究[J]. *实用癌症杂志*, 2004, 19(6):564.
- [36] 杨杰, 彭辉灿, 陈倩, 等. 雷公藤红素对大鼠视网膜血管内皮细胞增生和凋亡的影响[J]. *眼科新进展*, 2009, 29(2):98.

[责任编辑 何伟]