

糖原合成激酶-3 及其天然药物抑制剂研究进展

刘谦¹, 唐圆圆¹, 张国海¹, 张景红^{1,2*}

(1. 华侨大学分子药理学研究所, 福建 泉州 362021;

2. 分子药物教育部工程研究中心, 福建 泉州 362021)

[摘要] 糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 可通过调节糖原合成酶、p27^{Kip1} 和 c-Myc 等蛋白因子, 以及参与胞内经典的 NF- κ B 信号通路等方式, 调控癌细胞的分化、增殖与凋亡, 通过参与单胺神经受体的行为调控作用在神经精神类疾病的发病机制中起到重要作用, 同时还能通过 Wnt 通路以外的其他因子和通路介导神经退行性疾病的发生, 因此, GSK-3 成为各种重大疾病治疗中炙手可热的抑制靶点。国内科研工作者借我国在传统中药的优势在开发 GSK-3 天然药物抑制剂的研究方面做了很多工作, 并取得不错的成果, 而开发各种 GSK-3 靶点抑制剂, 以此调控多种蛋白因子或信号通路已成为治疗各种重大疾病的一种新的思路。

[关键词] 糖原合成酶; 天然抑制剂; 癌症; 神经精神类疾病; 神经退行性疾病

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)09-0223-07

Progress in Research of Glycogen Synthase Kinase-3 and Its Inhibitors from Natural Medicines

LIU Qian¹, TANG Yuan-yuan¹, ZHANG Guo-hai¹, ZHANG Jing-hong^{1,2*}

(1. Institute of Molecular Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. Engineering Research Center of Molecular Medicine, Ministry of Education, Quanzhou 362021, China)

[Abstract] Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) can be applied in the regulation of cellular differentiation, proliferation and apoptosis of cancer cells by means of moderating NF- κ B signaling pathway and other protein factors. Meanwhile, it plays an important role in the pathogenesis of neuropsychiatric conditions by involvement with the behavioral control of monoamine neurotransmitter. Moreover, GSK-3 mediates the development of neurodegenerative disease by affecting pathways other than Wnt. Consequently, GSK-3 is rapidly becoming a powerful target in the treatment of many critical illnesses. National researchers have made lots of efforts in the research and development of GSK-3 inhibitors, and attained great accomplishments. Therefore, development of various GSK-3 inhibitors to regulate protein factors and signaling pathways is a new strategy for treatment of main diseases.

[Key words] glycogen synthase kinase; natural inhibitors; cancer; neuropsychiatric conditions; neurodegenerative disease

[收稿日期] 20100310(007)

[基金项目] 福建省重点资助项目(2008Y0055); 福建省自然科学基金项目(2008J0102); 泉州市科技资助项目(2008Z76); 泉州市基金项目(2008Z12); 华侨大学人才引进启动项目(BS105)

[第一作者] 刘谦, 研究方向: 中药生物工程药物研究, Tel: 13055679938, E-mail: liuqian1206wind@126.com

[通讯作者] * 张景红, 副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 中药生物工程和肿瘤免疫学, Tel: 13506922986, Fax: 0595-22691829, E-mail: zjh@hqu.edu.cn

糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 是一种在进化上非常保守的丝氨酸/苏氨酸激酶, 普遍存在于哺乳动物真核细胞中, 除去最早发现的调控糖原合成酶 (glycogen synthase, GS) 的活性外, GSK-3 还能作用于众多信号蛋白、结构蛋白和转录因子, 调节细胞的分化、增殖、存活和凋亡。在癌症、神经退行性疾病、神经精神类疾病等多种重大疾病的研究中, 选择其作为治疗靶点, 受到越来越多研究者的重视。本文就 GSK-3 在癌症、精神类疾病和神经退行性疾病中的作用机制及其天然抑制剂的研究进展综述如下。

1 GSK-3 的生物学特性

GSK-3 最早在兔骨骼肌的分次提取物中被分离出来, 主要有两种亚型, 即 GSK-3 α 和 GSK-3 β , 二者在催化区域具有 98% 的同源性, 于 N-和 C-末端略有不同, 结构区别主要在于 GSK-3 α 的 N-末端多出一条富含 Gly 的长链, 反映在相对分子质量上则为 GSK-3 α 为 51 kD, GSK-3 β 为 47 kD。GSK-3 由 β -平板组成的 N-末端小叶和主要由 α -螺旋组成的 C-末端共同构成^[1] (图 1)。GSK-3 是参与肝糖代谢的关键酶, 通过磷酸化 GS 抑制其活性, 降低肝糖的合成, 使体内血糖浓度升高, 在胰岛素信号通路中受控于胰岛素, 参与肝糖的合成代谢。同时, GSK-3 通过影响血液中葡萄糖的浓度, 还可调控 Bax/HKII 的比例, 进而影响线粒体渗透性及细胞色素 C 的释放, 参与细胞凋亡的调控。研究表明^[3-4]: 基因结合核因子 (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和原癌基因 c-myc 编码蛋白 (c-Myc) 是 2 个参与细胞存活、增殖及凋亡信号通路的重要转录因子, 而 GSK-3 在 NF- κ B 和 c-Myc 的上游, 它可以对 NF- κ B 和 c-Myc 下游通路中多种与细胞存活、凋亡相关的靶基因: Bcl-2, XIAP, cyclinD, DR4, DR5, TRAIL 和 Bim 等起到一定的调控作用, 从而在细胞存活、增殖以及凋亡中起到重要作用。GSK-3 对细胞存活和凋亡的重要调节作用已经受到越来越多研究者的关注, 并应用于癌症、神经退行性疾病和神经精神类疾病等的基础研究和治疗中, 成为多种重大疾病研究及治疗的重要靶点。

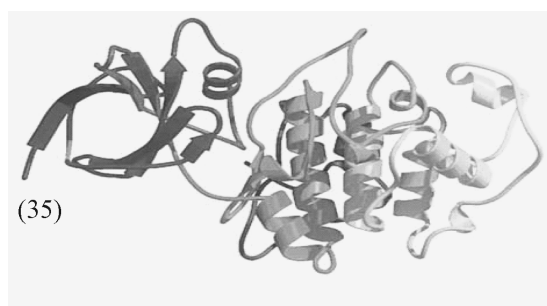


图 1 人 GSK-3 的结构^[2]

2 GSK-3 与癌症的关系

事实上, 早期涉及 GSK-3 的研究主要集中在糖尿病和神经退行性疾病方面, 近年研究显示, GSK-3 与白血病、胰腺癌、前列腺癌、肾癌、结肠癌、卵巢癌、甲状腺癌和脑部癌症等多种癌症^[4-9] 的发病机制密切相关, 而且其在癌细胞生长和凋亡信号通路中的重要作用已成为当前基础研究的热点之一。多项研究资料表明 GSK-3 主要通过影响多种蛋白因

子如 p27^{Kip1}, p53 和转录因子如 β -连环蛋白 (β -catenin)、Myc 和 NF- κ B 等的活性, 调节、促进多种癌细胞的存活、浸润或者抗凋亡基因的表达, 介导癌细胞的增殖、分化、凋亡、转移等^[4-9]。抑制 GSK-3 进行抗癌的主要机制如下。

2.1 抑制 GSK-3 的活性, 阻滞 NF- κ B 信号通路, 抑制癌细胞药物抗性 NF- κ B 信号通路是促进细胞存活和增殖的经典通路, 大量研究显示 GSK-3 可激活 NF- κ B 途径, 介导多种癌细胞的存活、增殖和抗药性^[3,8], 而抑制 GSK-3 有效靶点活性, 有可能抑制癌细胞的活性。在慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、肾癌 (91.89%)、胰腺癌 (51%) 等^[3] 抗药性细胞株的细胞核中都存在活性 GSK-3 的异常积累, 而 GSK-3 敲除小鼠的胚胎成纤维细胞不具有 NF- κ B 的活性, 这些现象提示 GSK-3 对 NF- κ B 的调节具有重要作用^[10], 但调节机制一直未有定论。Toni^[11] 等的研究表明, NF- κ B 的活性对白血病细胞的抗药性非常重要, 但 GSK-3 并不通过 NF- κ B 抑制蛋白 (inhibitor of nuclear factor- κ B, I κ B) 对其进行抑制。Bilim 等^[3] 发现, 在肾癌细胞和 CLL B 细胞中, GSK-3 虽然不能诱导 NF- κ B 向细胞核转移及在核内积累, 但是能够通过后生性机制, 促进 NF- κ B p65/p50 亚基与靶基因抗凋亡蛋白 XIAP, Bcl-2 的启动子相结合, 提高其转录活性, 从而介导两种癌细胞的存活及抗药性。资料显示, 癌细胞还可能通过细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) 增强其抗药性^[12], GSK-3 能增加卵巢癌细胞中 cyclin D1 的表达, 抑制 GSK-3 对癌细胞的抗药性起到一定抑制作用^[3]。就 GSK-3 与癌症的关系而言, 研究者的早期关注点主要集中于 NF- κ B 通路, 在多种癌细胞中都发现了 GSK-3 对 NF- κ B 通路的调节作用, 但是随着研究的深入, GSK-3 在癌症中的其他作用机制也逐渐被发现。

2.2 抑制 GSK-3 活性、激活多种凋亡相关信号通路, 促进癌细胞凋亡 Kotliarova 等^[4] 的研究表明 GSK-3 可作为抗神经胶质瘤的靶点, 通过外源性死亡受体途径和内源性线粒体途径诱导神经胶质瘤细胞的凋亡, 从而揭示了 GSK-3 可能和抑制 NF- κ B 通路以外的抗癌机制密切相关。如图 2 所示, Enzastaurin (美国礼来公司的一种抗肿瘤新药) 抑制 GSK-3, 一方面可磷酸化激活促凋亡因子 c-Myc, 上调 TRAIL 死亡受体通路相关分子 DR4/DR5/TRAIL/Bim 的表达, 介导神经胶质瘤细胞的凋亡; 而另一方面, 可活化糖原合成酶, 降低胞内葡萄糖水平, 进而影响 Bax/HK 的比率, 增加线粒体渗透性, 促进细胞色素 C 释放, 引发线粒体凋亡途径, 促进癌细

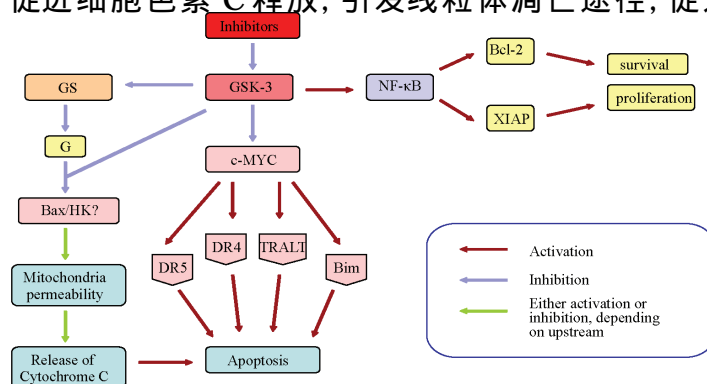


图 2 通过 GSK-3 靶点诱导细胞凋亡的途径

胞凋亡。GSK-3 的活性与多种癌细胞的凋亡途径密切相关。

2.3 抑制 GSK-3 活性、促进多种细胞因子的表达, 调控癌细胞的存活和凋亡 p27^{Kip1} 是细胞周期依赖性激酶 (cyclin dependent kinase, CDK) 的抑制剂, 而 CDK 在癌症研究中作为常用的抗癌靶点受到广泛的重视, GSK-3 能够破坏 p27^{Kip1} 的稳定性, 因此, 抑制 GSK-3 的活性, 可能通过双靶点抑制作用起到双重抑制癌细胞的效果。Wang 等^[5] 发现, 转染恶性成淋巴细胞性淋巴瘤白血病 MLL 致癌基因的小鼠骨髓祖细胞依赖 GSK-3 维持其增殖和转化后的表型。加入 GSK-3 抑制剂后, 随着作用时间的延长, 转基因 MLL 细胞的细胞周期可分别被阻滞在 G₁/S 期 (24 h) 和亚 G₀/G₁ 期 (6

d), 进而引发细胞的死亡。进一步研究表明, 抑制 GSK-3 并不能增强 p27^{Kip1} 基因的转录活性, 而是通过抑制 p27^{Kip1} 降解, 维持其稳定性, 从而上调 p27^{Kip1} 的水平, 提示 p27^{Kip1} 是 GSK-3 下游的一个因子, 抑制 GSK-3 以直接或间接方式上调 p27^{Kip1} 的水平, 进而抑制 CDK, 阻滞细胞周期, 最终促进癌细胞的死亡。但是 GSK-3 在癌症发生中的作用并不局限于上述几点, 表 1 具体阐述了 GSK-3 与各种癌症的关系, 例如 GSK-3 还可通过影响 CDK6-Rb, Raf-1 等通路, FoxO, p53-21 等转录因子以及雄激素受体 (androgen receptor, AR) 等促进癌细胞的存活、增殖和分化等, 全面了解 GSK-3 与癌症的多靶点和多样性关系将有助于癌症机制的研究, 而 GSK-3 抑制剂的研究, 有望成为抗癌药物研发的新的选择点。

表 1 GSK-3 与各种癌症的关系

类型	抑制剂	方式	GSK-3 的作用机制	文献
卵巢癌	LiCl	体外	上调 cyclinD1, 促进卵巢癌细胞增殖	[4]
肾细胞癌*	AR-A014418, siRNA	体外	抑制 NF- B 靶基因 Bcl-2、XIAP, 增强肾癌细胞凋亡	[3]
食管癌*	LiCl	体外	诱导 G2/M 期停滞, 降低食管癌细胞增殖	[13]
肝癌	AR-A014418, SB216763, siRNA	体外	促进肝癌细胞存活与增殖	[13]
胰腺癌*	AR-A014418, SB216763, siRNA	体外	促进 p53 和 c-Myc 促凋亡通路, 衰减胰腺癌细胞化疗抗性	[13]
胰腺癌	AR-A014418, SB216763, siRNA	体外	激活 NF- B, 促进胰腺癌细胞存活与增殖	[3, 13]
胃癌*	AR-A014418, SB216763, siRNA	体外	促进胃癌细胞存活与增殖	[13]
前列腺癌	SB216763, SB415286, siRNA	体外	维持 AR 活性, 促进前列腺癌细胞增殖	[6]
前列腺癌	LiCl, SB216763, siRNA	体外	促进前列腺癌细胞抵制 TRAIL 诱导凋亡	[13]
结肠癌*	LiCl, siRNA	体外	干扰 FBW7 识别 MYC, 促进 MYC 稳定, 上调 DR5, 促进结肠癌细胞凋亡	[13]
结肠癌	LiCl, TDZD-8, SB216763, siRNA	体外	抑制结肠癌细 p53 依赖性凋亡通路激活	[13]
结肠癌	LiCl, SB216763, SB415286, LY2119301	体外	通过 Bax 介导线粒体通路抑制 p53 依赖性的凋亡	[13]
结直肠癌*	AR-A014418, SB216763, shRNA, siRNA	体外	降低 hTERT 表达和端粒酶活性, 诱导细胞敏感, 促进结直肠癌细胞存活增殖	[8, 13]
神经胶质瘤	LiCl, kenpaullone, LY2064827, 705701, 708244, 709125, shRNA	体外	抑制 c-MYC 依赖性凋亡, 抑制 NF- B, 改变胞内葡萄糖代谢, 促进神经胶质瘤细胞存活与集落生成	[7]
嗜铬细胞瘤*	LiCl	体外	降低癌细胞的增殖能力	[13]
多形性胶质母细胞瘤*	AR-A014418, SB216763, siRNA	体外	激活 p53-p21, CDK6-Rb 抑癌基因通路, 衰减胶质瘤母细胞存活与增殖能力	[13]
神经胶质瘤*	LiCl, SB415286, AR-A014418, siRNA	体内外	降低神经胶质瘤细胞的转移能力	[13]
多发性骨髓瘤	TDZD-8	体外	磷酸化抑制 FOXO 促凋亡转录因子, 促进骨髓瘤细胞生长	[13]
白血病 (MLL)	LiCl, SB216763, shRNA	体外	下调 p27 ^{Kip1} , 选择性维持白血病细胞存与活增殖	[5]
白血病 (CLL)*	AR-A014418	体内	阻碍 NF- B 与靶基因启动子结合, 增强白血病细胞凋亡	[3]
白血病 (AML)	LiCl, SB216763, TDZD-8, 3-(3-carboxy-4-chloroanilino)-4-(3-nitrophenyl) maleimide	体外	激活 NF- B, 使白血病细胞药物抗性增加	[11]
甲状腺髓样癌症	LiCl, SB216763	体外	经 raf-1 通路调节, 促进甲状腺髓样癌细胞增殖	[9, 13]
白血病*	BIO	体内外	下调 survivin 表达, 诱导白血病细胞凋亡	[13]
黑素瘤	LiCl, SB216763, DW1, DW2, DW1/2	体外	抑制黑素瘤细胞 p53 依赖性凋亡	[13]

注: 带* 表示抑制 GSK-3 的作用。

3 GSK-3 与神经精神类疾病的关系^[14]

精神治疗类药物主要通过作用于单胺神经递质如多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)等,对精神分裂症、抑郁症、双向型情感障碍、图雷特综合征、小儿多动症等神经精神类疾病起到治疗作用。Akt/GSK-3 信号通路在 DA,5-HT 调控通路的下游,直接影响其对行为的调控(图 3),同时还可作为靶点介导抗抑郁药物、抗精神病类药物、锂及其他情绪稳定剂药理作用的发挥,因此备受关注。研究者发现 DA 和 5-HT 通过不同的方式作用于 GSK-3 靶点,介导对行为的调控作用。DA 受体主要通过刺激 G 蛋白依赖性信号通路的传导,产生环化腺苷一磷酸(cAMP),激活蛋白激酶 A(PKA)介导的各种生物效应。但是小鼠纹状体中 cAMP 水平的变化并不影响 Akt 或者 GSK-3 的活性,提示 cAMP 对此激酶并不一定起到直接调节作用;而行为及生化试验发现,G 蛋白偶联受体(GPCR)有可能通过激活骨架蛋白-抑制蛋白 2(β -Arrestin2),介导 GPCR 脱敏,调控 D2 受体对 Akt/GSK-3 通路的调节作用。其机制主要为 DA 受体被激活后,引发 GPCR 激酶(GRKs)对 GPCR 的磷酸化,使之从 G 蛋白上分离并募集到骨架蛋白 β -Arrestin2 上。GPCR 与 β -Arrestin2 结合后,一方面与蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)和 Akt 结合成信号复合体,通过 PP2A 抑制 Akt 活性,激活下游 GSK-3 介导的通路;另一方面与脂肪酸结合蛋白(AP2)、网格蛋白(clathrin)及其他中间体构成胞吞复合物,引发抑制蛋白依赖性的受体内化(主要在网格蛋白小窝),激活 GSK-3 的活性。GSK-3 则可通过对 β -catenin、谷氨酸受体及生物钟基因等的调控作用,影响突触的形态学特征、AMPA-NMDA 离子型谷氨酸受体传输状态的改变及昼夜周期调节基因的表达,在精神类药物的作用机制及精神分裂症、季节性抑郁等精神疾病的发病机理中发挥一定作用。

除 DA 外,GSK-3 还参与大脑神经递质 5-HT 的行为调控功能,但 5-HT 对 GSK-3 的调控方式与 DA 不同,用选择性 5-HT 再吸收抑制剂(SSRIs)处理正常小鼠,在大脑不同区域并未检测到 Akt 活性的增强,提示 5-HT 对 GSK-3 的调控可能与 Akt 无关,而是由 5-HT_{1A} 和 5-HT_{2A} 两个 5-HT 受体对 GSK-3 的活性进行拮抗调控,即 5-HT 可通过激活 5-HT_{1A} 受体抑制 GSK-3,通过激活 5-HT_{2A} 受体激活 GSK-3,调控多巴胺依赖性生物行为。

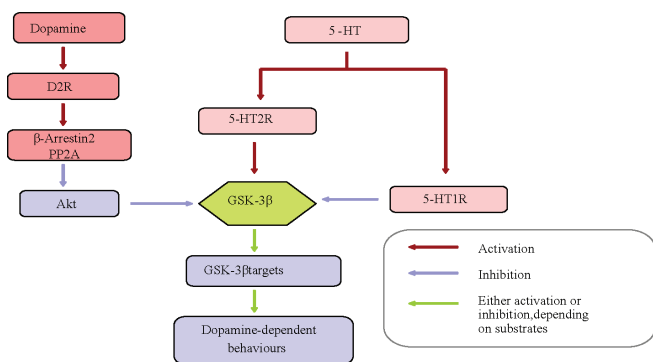


图 3 GSK-3 介导 DA 和 5-HT 对 DA 依赖性生物行为的调控作用

4 GSK-3 与神经退行性疾病的关系

GSK-3 与神经元凋亡及神经退行性疾病如阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等的发病机制密切相关。早期研究大多将 GSK-3 放在经典 Wnt/ β -catenin 通路中研究其与神经退行性疾病的关系,近年研究提示 GSK-3 还可能通过以下机制参与神经退行性疾病的发生。

4.1 GSK-3 在 PD 中的作用机制 PD 的主要特点是黑质致密带大量 DA 能神经元变性,纹状体内 DA 能纤维严重丢失以及 DA 含量降低,存活的 DA 能神经元中出现 Lewy 体等。最新研究表明,在神经毒性诱导的帕金森病小鼠模型中,1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)可通过活化 GSK-3 诱导 DA 能神经元凋亡;而抑制 GSK-3 不仅可以保护 DA 能神经元免受 MPTP 诱导的凋亡,还能恢复 MPTP 导致的 DA 消耗,减轻 MPTP 产生的行为障碍^[15]。由此提示 GSK-3 可能是介导帕金森病的关键因子,而通过抑制 GSK-3 活性,影响 DA 前体的分化,增加 DA 细胞数量的策略,极有希望发展成为一种可以替代性治疗帕金森病的有效方法。

4.2 GSK-3 在 AD 中的作用机制 AD 的两大主要病理改变即大量沉积的 β -淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, A β)构成的神经炎性斑块(neuritic plaques, NP)和过度磷酸化的 tau 蛋白导致的神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)。在 AD 的发生过程中,GSK-3 可被跨膜蛋白(APP)的分解产物 CTFs 激活,APP 的胞内结构 AICD 也可从 mRNA 和蛋白水平上调 GSK-3 的水平,进而促进 tau 蛋白的磷酸化,增强 A β 的毒性作用。Terwel 等^[16]的研究表明,GSK-3 促进 tau 蛋白磷酸化后会引发抗体的攻击,成为造成 AD 病理变化的主要因素之一。同时 GSK-3 还能将 tau 蛋白的构型由 4R 转化为 3R,致使 tau 蛋白与微管蛋白亲和力下降。但是 Timm 等^[17]则提出了颇为相悖的观点,认为 GSK-3 通过诱导微管亲和调节激酶(MARK)Ser 212 的磷酸化降低其对 tau 蛋白的磷酸化。虽然 GSK-3 确实参与了 AD 的发生和发展,但其确切作用机制仍需进一步的研究和确认。

5 GSK-3 的天然药物抑制剂

早先研究中,GSK-3 抑制剂多为上市化学药物,如 SB216763,AR-A014418,SB415286 等。近年来研究表明,siRNA、shRNA 等靶向沉默的基因抑制剂(表 1)和天然药物抑制剂被广泛重视,并应用到与 GSK-3 这一靶点密切相关的各种疾病的研究中。而这其中,来自中国传统药物的天然药物不仅对 GSK-3 具有很好的抑制作用,同时还能调整机体的免疫功能,改善患者的症状与体征,减轻放化疗对癌症患者造成的毒副作用,具有不可比拟的优势。Dorothea 等^[18]用酶放射性分析检测了 84 种中药(traditional Chinese medicine, TCM)的二氯甲烷/乙醇/水提物对 GSK-3 的抑制作用,发现其中 20 种植物提取物不仅对 COS7 细胞(一种非洲绿猴肾细胞株)具有较低的 EC₅₀ 值,对 GSK-3 有突出的抑制作用,而且其抑制作用明显优于其他同类抑制剂,这无疑

预示了天然化合物作为 GSK-3 抑制剂的广泛而长远的前景。虽然目前对 GSK-3 天然药物抑制剂的研究才刚刚起步,但是不难预见,天然药物抑制剂相对于化学和基因抑制剂有着莫大的优势,值得深入研究和开发。下面就近年来发现的 GSK-3 的天然药物抑制剂做一总结。

5.1 单体抑制剂

5.1.1 生物碱类(图 4)

5.1.1.1 靛玉红(indirubin) 属于西 类生物碱,是中药青黛的主要有效成分,具有极强的抑癌作用。Wu^[19] 研究小组通过对 P450 酶的突变和化学修饰,得到 3 种代谢产物:5,5'-二羧基-3'-胍-靛玉红(1)、5-甲酸甲酯-5'-羧基-靛玉红(2)和 5,5'-二腈基-3'-胍-靛玉红(3),对 GSK-3 具有较高的抑制活性。Holmes 等^[20] 也发现 6-溴-3'-胍-靛玉红(4, BIO) 能够抑制 GSK-3, 下调 survivin 的表达,诱导白血病细胞的凋亡。Wang 等^[15] 发现 3'-胍-靛玉红(5, BM), 特异性抑制 GSK-3 活性,保护 DA 能神经元免受 MPTP 诱导的凋亡,恢复 MPTP 导致的 DA 消耗,减轻 MPTP 产生的行为障碍。同时,5-硝基-3'-胍-靛玉红(6, 5-NIO) 和 BIO^[21] 也同样可以抑制 GSK-3 成为稳定 β -catenin 的 Wnt 激活剂,对神经退行性疾病具有良好的治疗前景。

5.1.1.2 去氢吴茱萸碱(dehydroevodiamine) 是从吴茱萸未成熟果实中提取的吲哚类生物碱。去氢吴茱萸碱可增加 GSK-3 Ser9 磷酸化水平,缓解 WT/GFX 诱导的大鼠海马及野生型鼠成神经瘤(N2a)细胞中 GSK-3 的过度激活,从而降低 tau 蛋白的磷酸化。同时去氢吴茱萸碱还能激活 GSK-3 的上游激酶 Akt,表明其抑制 GSK-3 可能是通过激活 Akt 来实现的^[22]。因此,去氢吴茱萸碱通过抑制 GSK-3 的活性对 AD 具有良好的治疗前景。

5.1.2 萜类(图 4)

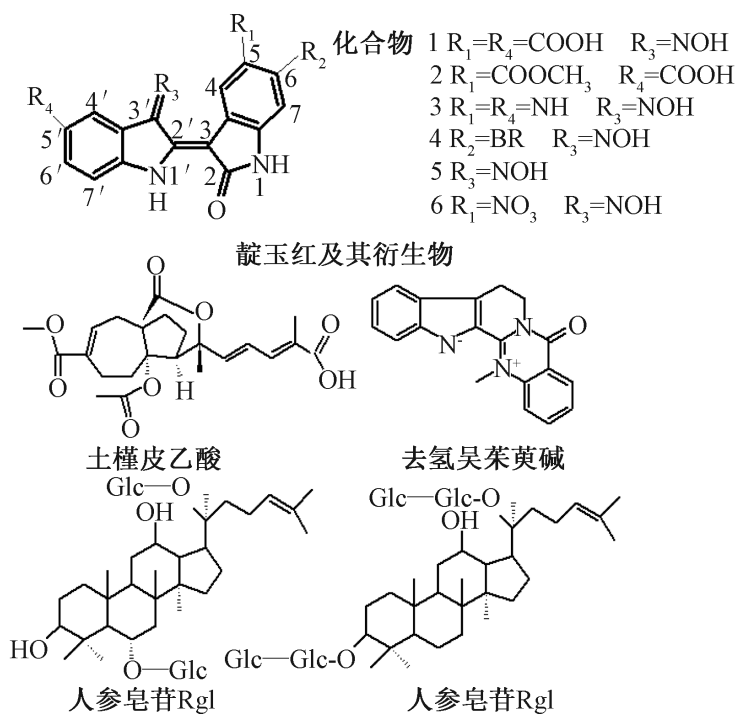


图 4 生物碱类及萜类抑制剂

5.1.2.1 人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁ 是人参中的达玛烷型三萜皂苷类活性成分,它们可通过抑制内源性 GSK-3 的激活和外源性 GSK 的高表达减轻 A₂₅₋₃₅ 诱导的胎鼠皮层神经元 tau

蛋白的过度磷酸化,提高细胞微管蛋白乙酰化程度,稳定细胞微管结构,从而减轻 AD 的病理改变^[23],对 AD 疾病具有良好的药理作用。

5.1.2.2 土槿皮乙酸(Pseudolaric acid B) 是从松科植物金钱松的根皮(土槿皮)中分离出的新型二萜酸化合物,近年研究表明土槿皮乙酸对黑色素瘤、纤维肉瘤、乳腺癌、宫颈癌等多种细胞株均具有明显的抑制作用。任姿等^[24] 的研究表明土槿皮乙酸可通过 PI3K/Akt 途径显著降低 GSK-3 的表达水平和活性,增大凋亡因子家族 Bax/Bcl-2 的比率,诱导 HeLa 的凋亡。土槿皮乙酸可能通过 GSK-3 的抑制作用,抑制多种癌症的凋亡。

5.1.3 其他天然抑制剂

5.1.3.1 姜黄素(Curcumin) 是姜科植物姜黄、莪术等块根或块茎中含有的一种天然酚类抗氧化剂(见图 5),具有抗炎、抗氧化和抗癌作用^[25]。姜黄素可选择性的抑制 GSK-3 的表达并促进其 Ser9 磷酸化,促进 β -catenin 及其下游 cyclinD1 表达上调,通过 Wnt/ β -catenin 通路介导人骨髓神经母细胞瘤 SHSY5Y 细胞的神经保护作用,为防治 AD 提供新的思路和途径^[26]。

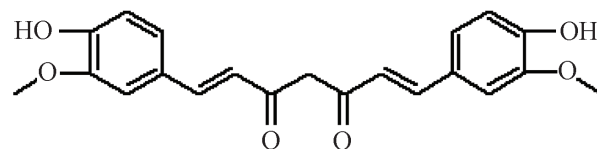


图 5 姜黄素

5.1.3.2 葛根素(Puerarin) 是从豆科植物野葛根或干葛藤根中提取的一种活性异黄酮酮化合物^[27](图 6)。葛根素处理胰岛素抵抗模型小鼠后,不仅可促进 Akt 的表达,下调 GSK-3 的水平(26.54%),还可使小鼠肝脏中 GSK-3 的表达下降 14.6%,提高胰岛素敏感性,降低血脂指标并减轻高胰岛素血症和高血糖症。其机制可能是 GSK-3 表达下降,促进底物糖原合成酶的活化,减少胰岛素受体底物-1(IRS-1)的磷酸化,促进糖原合成并增强胰岛素信号的转导,提示葛根素可能通过抑制 GSK-3 新机制治疗胰岛素抵抗^[28-29]。

5.1.3.3 红景天苷(salidroside) 是从藏药红景天中分离出来的一种苯乙醇类化合物(图 6),红景天苷处理后可促进 PD 模型小鼠脑组织中 Akt 的激活,抑制 GSK-3,进而抑制 GSK-3 激活介导的胶质源性神经营养因子(GDNF)引起的神经元凋亡,同时还能降低 caspase-3 的活化,上调 Bcl-2/Bax 比值^[30]。提示红景天苷可作为 GSK-3 的抑制剂,通过 PI3K/Akt 途径作用于 caspase-3 和 Bax, Bcl-2 等位点介导其对神经元的保护作用,具有开发为 PD 治疗药的潜力。

5.2 复方抑制剂

5.2.1 脑灵汤 为人参、何首乌、红景天和石菖蒲等中药配伍方剂,刘超群^[31] 的研究表明,脑灵汤可抑制 AD 大鼠海马 CA3 区 GSK-3 的水平,提高活性磷酸化转录因子环磷酸腺苷反应单元结合蛋白(camp responsive element binding protein, CREB) p-CREB 的表达,对 AD 起到一定治疗作用。

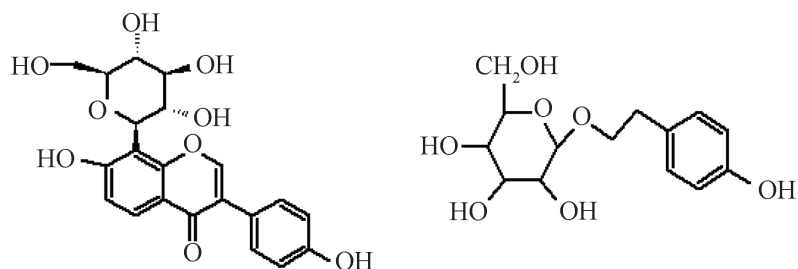


图 6 葛根素和红景天苷

5.2.2 地黄益知浸膏是由熟地黄、山茱萸、石菖蒲、远志、巴戟天等 8 味中药经水煮醇提法制成的中药流浸膏, 试验证明, 其能显著提高 AD 大鼠模型(右侧海马注射 淀粉肽(A)₂₅₋₃₅ 制备)中 GSK-3 Ser9 的磷酸化, 抑制其活化还能上调 p-CREB 水平, 明显改善 AD 大鼠的认知功能障碍^[32]。

6 展望

GSK-3, 在癌症、精神类疾病、神经退行性疾病等的发生、发展机制的研究已经相当广泛, 以其作为一种治疗靶点, 筛选各种抑制剂, 已成为目前新药研究的一个热点方向, 与此同时, 也为癌症、精神类疾病、神经退行性疾病等的治疗提供了新的途径, 具有极大的开发前景, 而这其中天然药物抑制剂研究活跃, 具有副作用小, 来源广泛, 多靶点作用的特点。尽管一些天然药物已被发现, 并在上述疾病的研究中取得了一定的进展, 但鉴于其在疾病中的复杂作用机制, 仍需进行更深入、更广泛、更细致的机制研究, 为其进一步开发奠定基础。

[参考文献]

[1] Kockeritz L, Doble B, Patel S, et al. Glycogen synthase kinase-3-an overview of an over-achieving protein kinase [J] . *Curr Drug Targets*, 2006, 7(11) : 1377.

[2] Dajani R, Fraser E, Roe S M, et al. Crystal Structure of Glycogen Synthase Kinase 3 : Structural Basis for Phosphate-Primed Substrate Specificity and Autoinhibition[J] . *Cell*, 2001, 105(6) : 721.

[3] Bilim V, Ougolkov A, Yuuki K, et al. Glycogen synthase kinase-3: a new therapeutic target in renal cell carcinoma[J] . *Br J Cancer*, 2009, 101(12) : 2005.

[4] Cao Q, Lu X, Feng Y J. Glycogen synthase kinase-3beta positively regulates the proliferation of human ovarian cancer cells[J] . *Cell Res*, 2006, 16(7) : 671.

[5] Wang Z, Smith K S, Murphy M, et al. Glycogen synthase kinase 3 in MLL leukaemia maintenance and targeted therapy[J] . *Nature*, 2008, 455(7217) : 1205.

[6] Mazar M, Kawano Y, Zhu H, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 represses androgen receptor activity and prostate cancer cell growth[J] . *Oncogene*, 2004, 23(47) : 7882.

[7] Kotliarova S, Pastorino S, Kovell L C, et al. Glycogen synthase kinase-3 inhibition induces glioma cell death

through c-MYC, nuclear factor-kappaB, and glucose regulation[J] . *Cancer Res*, 2008, 68(16) : 6643.

[8] Shakoori A, Ougolkov A, Yu Z W, et al. Deregulated GSK3beta activity in colorectal cancer: its association with tumor cell survival and proliferation[J] . *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(4) : 1365.

[9] Kunnimalaiyaan M, Vaccaro A M, Ndiaye M A, et al. Inactivation of glycogen synthase kinase-3beta, a downstream target of the raf-1 pathway, is associated with growth suppression in medullary thyroid cancer cells[J] . *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(3) : 1151.

[10] Steinbrecher K A, Wilson W 3rd, Cogswell P C, et al. Glycogen synthase kinase 3beta functions to specify gene-specific, NF-kappaB-dependent transcription[J] . *Mol Cell Biol*, 2005, 25(19) : 8444.

[11] De Toni F, Racaud-Sultan C, Chicanne G, et al. A crosstalk between the Wnt and the adhesion-dependent signaling pathways governs the chemosensitivity of acute myeloid leukemia [J] . *Oncogene*, 2006, 25 (22) : 3113.

[12] Biliran H Jr, Wang Y, Banerjee S, et al. Overexpression of cyclin D1 promotes tumor cell growth and confers resistance to cisplatin-mediated apoptosis in an elastase-myc transgene-expressing pancreatic tumor cell line[J] . *Clin Cancer Res*, 2005, 11(16) : 6075.

[13] Katsuyoshi M, Mitsutoshi N, Abbas S, et al. An emerging strategy for cancer treatment targeting aberrant glycogen synthase kinase 3beta[J] . *Anticancer Agents Med Chem*, 2009, 9(10) : 1114.

[14] Beaulieu J M, Gainetdinov R R, Caron M G. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs[Z] . *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2009, 49: 327.

[15] Wang W, Yang Y, Ying C, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 beta protects dopaminergic neurons from MPTP toxicity[J] . *Neuropharmacology*, 2007, 52 (8) : 1678.

[16] Terwel D, Mylllaert D, Dewachter I, et al. Amyloid activates GSK-3beta to aggravate neuronal tauopathy in bigenic mice[J] . *Am J Pathol*, 2008, 172(3) : 786.

[17] Timm T, Balusamy K, Li X, et al. Glycogen synthase kinase (GSK) 3beta directly phosphorylates Serine 212 in the regulatory loop and inhibits microtubule affinity-regulating kinase (MARK) 2[J] . *J Biol Chem*, 2008, 283(27) : 18873.

[18] Dorothea K, Michael W. Effects of extracts from traditional chinese medical plants on glycogen synthase kinase 3 activity and COS7 cells [J] . *Alzheimers*

- Dement, 2009, 5(4): 332.
- [19] Wu ZL, Aryal P, Lozach O, et al. Biosynthesis of new indigoid inhibitors of protein kinases using recombinant cytochrome P450 2A6 [J]. Chem Biodivers, 2005, 2(1): 51.
- [20] Holmes T, O'Brien TA, Knight R, et al. Glycogen synthase kinase-3beta inhibition preserves hematopoietic stem cell activity and inhibits leukemic cell growth [J]. Stem Cells, 2008, 26(5): 1288.
- [21] Park EJ, Choi SJ, Kim YC, et al. Novel small molecule activators of beta-catenin-mediated signaling pathway: structure-activity relationships of indirubins [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(8): 2282.
- [22] 彭均华. 去氢吴茱萸碱在 Alzheimer 样 tau 蛋白过度磷酸化中的保护作用及其机制 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2007.
- [23] 曾育琦, 陈晓春, 黄春, 等. 人参皂苷 Rg₁ 通过调节 GSK-3 /PP2A 活性减轻皮层神经元 tau 蛋白过度磷酸化 [J]. 解剖学报, 2007, 38(6): 665.
- [24] 任姿, 方莉, 沈宏伟, 等. 土槿皮乙酸作用 PI₃K/AKT 通路诱导 Hela 细胞凋亡 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2008, 29(6): 659.
- [25] 钟益宁, 甄汉深, 滕建北, 等. 姜黄素衍生物的合成、表征及其体外抗菌活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(2): 46.
- [26] 张雄, 李昱. 姜黄素通过抑制 GSK-3 的活性防治 AD 的体外研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(11): 1507.
- [27] 陈冰, 李毅, 商悦. 葛根素对缺氧损伤的大鼠脑微血管内皮细胞凋亡和功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 72.
- [28] 陈丹, 毕会民, 苏杭. 葛根素对胰岛素抵抗大鼠骨骼肌中 GSK-3 表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(4): 233.
- [29] 洪畋, 毕会民, 毕欣. 葛根素对胰岛素抵抗大鼠肝脏中 GSK-3 表达的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(2): 207.
- [30] 张宇红, 叶民, 汪锡金, 等. 红景天甙对帕金森病模型小鼠 PI3K/蛋白激酶 B 信号转导途径的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2008, 21(2): 133.
- [31] 刘超群. 脑灵汤对阿尔茨海默病模型大鼠海马 CA3 区域 GSK-3 与 P-CREB 表达的影响 [D]. 长沙: 中南大学, 2008.
- [32] 李强, 胡长林, 王景周. 地黄益知浸膏对老年性痴呆大鼠海马磷酸化 CREB、GSK-3 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(6): 539.

[责任编辑 蔡仲德]