

# 通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然黄酮和生物碱类化学成分研究进展

杨 珞<sup>1,2</sup>, 陈康柳<sup>1</sup>, 冯 洁<sup>1\*</sup>, 莫书荣<sup>2</sup>

<sup>1</sup>广西医科大学药学院; <sup>2</sup>广西医科大学基础医学院, 南宁 530021

**摘要:**天然药物因其作用广、疗效好、毒副作用小等特点及现代人回归自然的心态而成为抗肿瘤药物研究的热点。早期的化学家或天然药物研究人员对化学或天然产物的研究多半局限在普通的药理活性筛选, 随着科学技术的进步, 学科之间的交叉渗透发展, 对天然抗肿瘤药物或天然活性成分抗肿瘤作用机理的研究不断深入, 许多抗肿瘤药物或活性化学成分的作用靶点、作用通路等得以阐述, 其中 Fas 及其配体 FasL 是近年来研究最为深入的有关细胞凋亡的膜表面分子。大量研究发现许多天然药物可增加肿瘤细胞 Fas 的表达, 启动 Fas/FasL 途径, 从而起到诱导肿瘤细胞凋亡的作用。黄酮和生物碱类为天然产物中分布广泛、研究深入和生物活性显著的两类类型化合物, 为了更深入地研究这两种类型的化合物, 现将通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然黄酮和生物碱类化学成分作一文献综述, 旨在为这两类成分的抗肿瘤活性及其机理的深入研究提供参考。

**关键词:**细胞凋亡; Fas/FasL; 黄酮; 生物碱; 新药研发

中图分类号: R-1

文献标识码: A

## Advances in Research on Fas/FasL Cell Signal Transduction Pathway Inducing Tumor Cell Apoptosis by Natural Flavonoids and Alkaloids Chemical Constituents

YANG Luo<sup>1,2</sup>, CHEN Kang-liu<sup>1</sup>, FENG Jie<sup>1\*</sup>, MO Shu-rong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Medical University College of Pharmacy; <sup>2</sup>Guangxi Medical University College of Basic Medicine, Guangxi 530021, China

**Abstract:** Natural medicine becomes the research hotspot of antitumor drugs for the characteristics of extensive effects, good curative effects and small toxic and side effects, and modernists' psychology of returning to nature. In the early time, most of the research of which on chemical or natural products by chemists or natural medicine researchers were limited to the normal pharmacological activity screening. With the advance of science and technology, there is development crossed and permeated among different subjects, and research on the anti-tumor action mechanism of natural anti-tumor drugs and natural activity anti-tumor effect can be further explored constantly, the action target spot and pathways on a lot of anti-tumor drugs or activity chemical compositions can be elaborated. Besides, Fas and Ligand FasL are membrane molecules related to cell apoptosis which are studied very intensively in recent years. It's found through a lot of studies that a number of natural medicines can strengthen Fas expression of tumor cells and start Fas/FasL pathways so as to have the effect of inducing tumor cell apoptosis. Flavone and alkaloids are chemical compounds are extensively distributed, studied deeply and have significant biological activity in natural products. In order to further study these two chemical compounds, natural flavone and alkaloids are used to induce tumor cell apoptosis through Fas/FasL pathway as the literature review, the purpose of which is to offer reference for the further study on the antitumor activity and mechanisms of these two compositions.

**Key words:** cell apoptosis; Fas/FasL; flavones; alkaloid; drug discovery

1992 年英国科学家 Hickman 等首次提出诱导肿瘤细胞凋亡可作为肿瘤治疗研究中的主要目标和

手段<sup>[1]</sup>, 此后, 诱导肿瘤细胞凋亡治疗逐渐成为国际研究肿瘤治疗的一个焦点, 诱导肿瘤细胞凋亡也成为筛选抗肿瘤药物的新方法。从天然产物中分离纯化化学成分, 应用高通量筛选以获得先导化合物, 运用计算机辅助设计对天然活性化学成分进行结构修饰, 成为较长一段时间以来抗肿瘤药物研究的热

收稿日期: 2013-12-30 接受日期: 2014-04-22

基金项目: 广西自然科学基金(2010GXNSFA013187)

\* 通讯作者 Tel: 86-771-5360143; E-mail: ezjiefeng@hotmail.com

点。在这一研究过程中,先前的活性研究往往局限在普通的药理活性筛选,随着学科的交叉发展,科学研究人员试图对天然抗肿瘤活性物质在作用机理方面有更深入的了解和阐述。文献中<sup>[2]</sup>,天然诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制主要有如下几个方面:①阻滞肿瘤细胞的增殖周期;②影响癌基因及抑癌基因的表达;③提高机体免疫功能;④对端粒酶活性的影响;⑤对凋亡信号传导通路的影响;⑥通过调节体内激素水平诱导凋亡。其中,第⑤受到许多学者的重视,成为研究天然药物有效抗肿瘤分子机制的热点,而 Fas/FasL 途径属于细胞外源性凋亡信号传导途径之一。大量研究表明,许多天然活性化学成分是通过增加细胞 Fas 的表达,激活 Fas/FasL 途径来诱导肿瘤细胞凋亡,从而达到有效预防和治疗肿瘤的目的。Fas/FasL 属于肿瘤坏死因子/神经生长因子(TNF/NGF)受体家族,Fas 分子是一个凋亡信号受体,它与配体 FasL 结合后,可以诱导 Fas 分子所在细胞的凋亡<sup>[3]</sup>。本文对近年来通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然来源的黄酮和生物碱类化学成分作一综述,希望能为同仁提供参考。

## 1 通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然来源的生物碱类化合物

生物碱(alkaloid)是存在于生物体(主要为植物)中的一类含氮的碱性有机化合物,是中草药的重要有效成分之一,特别是抗肿瘤方面,生物碱表现出良好的生物活性,更有部分天然来源的生物碱已成功研制上市成为优秀的抗肿瘤药物,如紫杉醇、喜树碱、长春碱(新碱)。随着对天然来源的生物碱抗肿瘤活性及作用机理研究的深入,近年来的研究发现,通过 Fas/FaL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的单体生物碱类化合物及其作用的细胞或肿瘤部位主要如下。

苦参碱在作用于胃腺癌 SGC-7901 细胞及淋巴瘤 Raji 细胞时是通过上调 Fas/FasL 的表达,激活 caspase-3 酶而诱导细胞凋亡<sup>[46]</sup>;当苦参碱作用于 MG-63, U-2OS, Saos-2, and MNNG/HOS 四种人骨肉瘤体外细胞实验时,可增量调节 Fas/FasL 的表达,当用苦参碱作用于用 MNNG/HOS 诱导的雌性 BALB/c 裸鼠移植瘤模型时,同样增量调节 Fas/FasL 的表达<sup>[7]</sup>;给予腹水型 S<sub>180</sub> 模型小鼠苦参碱和粉防己碱 4 周后,发现苦参碱、粉防己碱能明显诱导肿瘤凋亡基因 Fas 表达率增高,促进耐药肿瘤细胞

的凋亡<sup>[8]</sup>;当苦参碱作用于 Hep G2 细胞时,用免疫组化和原位杂交法检测 Fas 等凋亡相关基因的表达,结果显示苦参碱在 1.5~3.0 d/L 的剂量范围内可使凋亡相关基因 Fas 表达上调<sup>[9]</sup>,说明苦参碱体内、外肿瘤模型均有良好的抗肿瘤活性,其机理主要是通过上调 Fas/FasL 的表达。当粉防己碱作用于人源肝癌 Hep G2 细胞时,通过增加 Fas/FasL 和 P53 的表达促使细胞发生凋亡<sup>[10]</sup>,另有研究发现粉防己碱能降低肿瘤细胞耐药基因表达产物 P<sub>170</sub> 的过表达,增加 Fas 和 Trail 的表达率,促进耐药株腹水瘤 S180 细胞的凋亡<sup>[11]</sup>;从古城玫瑰树中分离得到的玫瑰树碱可有效抑制肝癌细胞 HepG2 和乳腺癌 MCF-7 生长,增量调节 Fas, FasL, sFasL, mFasL 以及下游的 caspase-8 的表达<sup>[12,13]</sup>,千金藤碱能有效促进人外周血白血病 T 细胞 Jurkat 细胞和人源非淋巴细胞性白血病细胞如 K562 慢性髓细胞性白血病细胞的凋亡,并且是通过 Fas 途径起效的<sup>[14]</sup>。文献[15]的研究说明九里香碱可通过 Fas/FasL 通路诱导白血病细胞凋亡,金鸡纳碱(也称奎宁)联合阿霉素可通过增加 Fas 的表达量来诱导耐阿霉素白血病细胞凋亡<sup>[16]</sup>,吐根碱不管作为一种单方药物,还是和铂类抗肿瘤药物组成复方,对白血病细胞都有明显的诱导凋亡作用,通过 PCR 实验证明,吐根碱可增加 Fas/FasL 通路中 caspase 家族中上游信号分子 caspase-8 的表达量从而诱导细胞凋亡<sup>[17]</sup>,小檗碱可使 caspase-8 表达量增加,可能是通过 Fas/FasL 途径使 C6 小鼠胶质瘤细胞凋亡<sup>[18]</sup>,吴茱萸碱可增加 FasL 的表达诱导黑色素瘤细胞凋亡<sup>[19]</sup>;另外还有去氢骆驼蓬碱也是通过 Fas 途径诱导人胃腺癌 SGC-7901 细胞凋亡<sup>[20]</sup>。以上是近 10 年来文献报道的通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然来源的单体生物碱类成分,它们的结构式如图 1 所示。

## 2 通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然来源的黄酮类化合物

黄酮类化合物广泛存在于植物界,是天然产物化学品库的主要成分之一。在植物体内部分与糖结合成苷,部分以游离形式存在。黄酮具有多方面的生理活性,如降血脂、扩张冠状动脉、止血、镇咳、祛痰、降低血管脆性等,近年来对黄酮类化合物的抗肿瘤作用研究已受到广泛关注,文献中主要通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的单体黄酮类化合物及其作用的细胞或其它药理模型主要有如下多种。

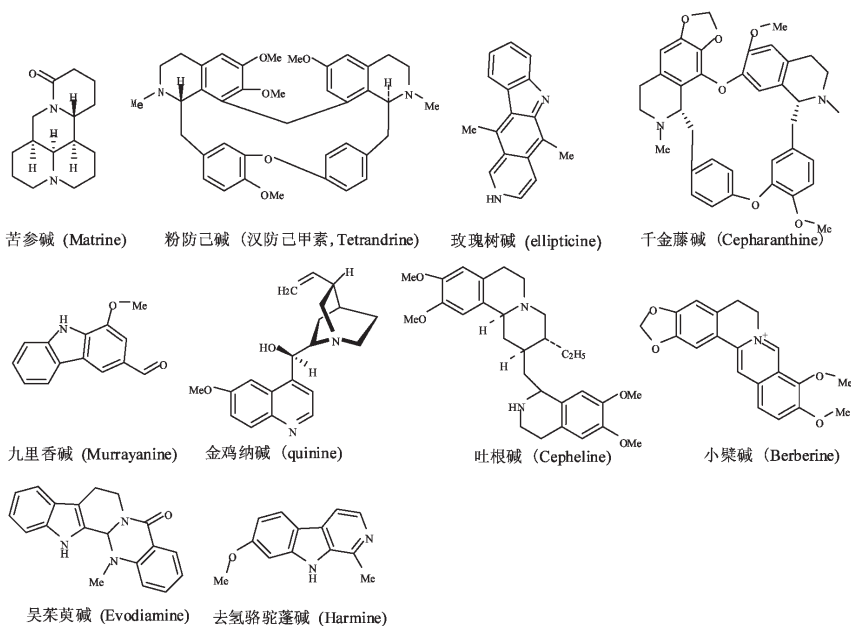


图 1 单体生物碱类的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of alkaloids

用不同浓度的黄芩苷作用于前列腺癌细胞 DU145 后,用免疫组织化学染色检测凋亡相关蛋白的表达,发现 Fas 表达上调,证明黄芩苷诱导前列腺癌细胞凋亡是通过 Fas 基因表达上调并明显抑制癌细胞增殖,具有直接抗肿瘤作用<sup>[21]</sup>。木犀草(黄)素能协同增效诱导 HepG2 细胞凋亡<sup>[22]</sup>;柚皮素通过上调 Fas/FasL 的表达促使宫颈癌 CaSki 和 SiHa 细胞凋亡<sup>[23]</sup>;染料木素作用于 SK-Hep-1 人源肝癌细胞时,其 IC<sub>50</sub> 值为 16.23 mM,其诱导凋亡途径是通过 Fas 和线粒体通路<sup>[24]</sup>;金合欢素促使非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡时,Fas 基因表达增加,并阻滞细胞于 G1 期阶段<sup>[25]</sup>,当它诱导胃癌细胞 AGS 凋亡时,增量调节 Fas and FasL 的表达,同时 Bax 和 p53 的表达量也上升,但降低 Bcl-2 的量和分裂 Bad<sup>[26]</sup>;香叶木素治疗 U14 荷瘤小鼠时,能有效抑制小鼠体内肿瘤生长,可能是通过 Fas/FasL 途径起作用<sup>[27]</sup>;从甘草中分离得到的甘草醇能阻滞人源 Jurkat T 淋巴细胞于 S 期,同时 Fas/FasL 表达明显上升,说明甘草醇是通过 Fas/FasL 途径诱导人源 Jurkat T 淋巴细胞凋亡的<sup>[28]</sup>;槲皮素在白血病细胞 HL-60 中可以有效诱导 FasL 相关凋亡基因过表达,其作用是通过反式激活 c-jun/AP-1 和促进组蛋白 H3 乙酰化实现的<sup>[29]</sup>;漆树黄酮联合顺铂作用于胚胎癌性 NT2/D1 细胞,比单独应用顺铂作用于同样细胞株时,可以减少 4 倍剂量,增加 FasL 的表达,同时激活 caspases-

8, caspase-3, caspases-9, caspase-7 四种半胱天冬蛋白酶,当漆树黄酮联合顺铂同样作用于 NT2/D1 异种接种的小鼠模型时,可以显著地减小肿瘤的体积,说明两者联合用药可以激活细胞死亡受体和线粒体途径<sup>[30]</sup>;硫黄菊素 Sulfuretin 诱导 HL-60 细胞凋亡的作用机理是增加 Fas 和 FasL 的表达量,激活 caspase-8,活化的 caspase-8 分裂促凋亡蛋白 Bid,并且证明硫黄菊素能阻断 NOK-1 单克隆抗体对 Fas/FasL 途径的阻滞作用,进而继续发挥诱导细胞凋亡作用<sup>[31]</sup>;文献[32]通过流式细胞术证明藏药金腰草中半齿泽兰素能抑制人白血病细胞株 K562 增殖,并呈现典型的凋亡形态改变,细胞周期分析表明 S 期细胞数明显增多,出现 S 期阻滞,其机理与 Fas 表达增高有关。近 10 年来对黄酮抗肿瘤的药理活性及作用机理比较活跃,上述文献报道的通过 Fas/FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡的天然来源的黄酮类成分,它们的结构式如图 2 所示。

### 3 展望

抗肿瘤药正从传统的细胞毒性药向针对多环节作用的新型抗肿瘤药物发展。当前国内外关注的抗肿瘤新靶点和相应的新型抗肿瘤药物包括生物反应调节剂或增强放疗化疗作用的肿瘤治疗增敏剂。天然药物历来被称为“绿色药物”,已越来越受到国内外学者和病人的重视,再加上它作用范围广、毒副作用

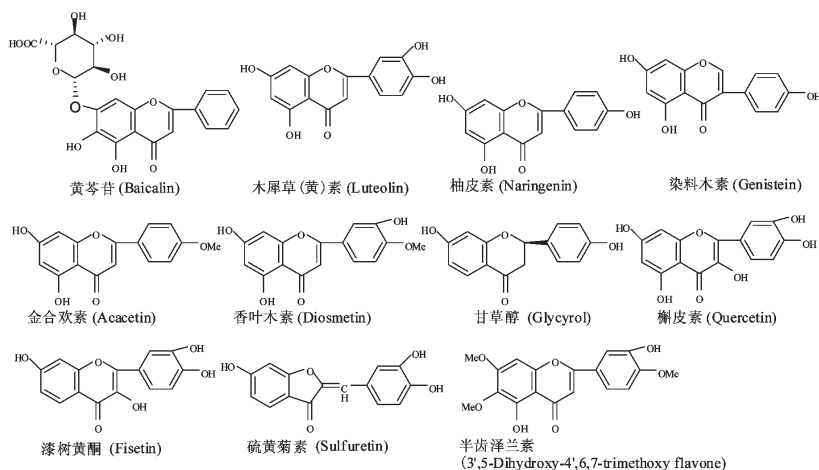


图2 黄酮类化合物的化学结构

Fig.2 The chemical structures of flavonoids

小等优点,使不少学者近年来对天然产物特别是黄酮和生物碱类成分在抗肿瘤活性、作用机理及临床应用方面的研究,投入了大量的时间和精力,也取得了显著的成绩,对推进肿瘤药物的研究和临床治疗起着重要的作用。Fas/FasL 细胞凋亡途径作为介导肿瘤细胞凋亡的一条重要的外部途径,近几年来成为抗肿瘤药物研究的新靶点。目前天然药物学家已开始重视对天然活性化学成分抗肿瘤作用的分子机制研究,希望对这些抗肿瘤活性成分的机理从分子水平上得以阐述。但天然产物在通过 Fas/FasL 途径介导肿瘤细胞凋亡系统的作用目前大多只停留在表面,其分子机制水平的研究尚有待深入,如天然产物中的两种重要的、分布量大的黄酮和生物碱类成分,它们的抗肿瘤作用机理均有待深入。另外,Fas/FasL 介导细胞凋亡系统本身的分子机制目前也未能十分透彻地阐明,因此天然药物作用于 Fas/FasL 介导肿瘤细胞凋亡系统作用机制以及 Fas/FasL 介导细胞凋亡系统本身的分子机制的深入研究将是我们面临的大难题之一。

#### 参考文献

- Hickman JA. Apoptosis induced by anticancer drugs. *Cancer and Metastasis Reviews*, 1992, 2; 121-139.
- Yan HC(闫华超), Li LW(李林尉). The research progress of anticancer drug induced apoptosis. *Journal of liaocheng university, Nat Sci* (聊城大学学报, 自科版), 2009, 22(3): 42-46.
- Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell*, 1995, 88; 355-365.
- Dai ZJ(代志军), et al. Matrine induces apoptosis in gastric

- carcinoma cells via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 123: 91-96.
- Liu ZS(刘占术), et al. Effect and mechanism of matrine on apoptosis of raji cells. *J Chin Med Mater* (中药材), 2011, 34: 576-579.
- Dai ZJ, et al. Apoptotic mechanism of gastric carcinoma cells induced by matrine injection. *Chin J Gastrointestinal Surgery* (中华胃肠外科杂志), 2008, 11; 261-265.
- Liang CZ, et al. Matrine induces caspase-dependent apoptosis in human osteosarcoma cells in vitro and in vivo through the upregulation of Bax and Fas/FasL and downregulation of Bcl-2. *Cancer Chem Pharm*, 2012, 69; 317-331.
- Li GH(李贵海), et al. The interference in correlated molecular mechanism obtained multi-drug resistance of mouse S180's tumour cell for different alkaloid. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30; 1844-1848.
- Si WK(司维柯), et al. Study on apoptosis of human hepatoma cell line HepG2 induced by matrine. *Acta academiae medicinae militaris tertiae* (第三军医大学学报), 2001, 23; 816-820.
- Kuo PL, Lin CC. Tetrandrine-induced cell cycle arrest and apoptosis in Hep G2 cells. *Life Sci*, 2003, 73; 243-252.
- Sun FJ(孙付军), et al. The study of tetrandrine on reversion of P170 and apoptosis of obtained multi-drug resistance of mice S180's tumour cell. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30; 280-282.
- Kuo YC, et al. Ellipticine induces apoptosis through p53-dependent pathway in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Life Sci*, 2006, 78; 2550-2557.
- Kuo PL, et al. The mechanism of ellipticine-induced apoptosis and cell cycle arrest in human breast MCF-7 cancer

- cells. *Cancer letters*, 2005, 223:293-301.
- 14 Wu J, *et al.* Cepharanthine activates caspases and induces apoptosis in Jurkat and K562 human leukemia cell lines. *Journal of cellular biochemistry*, 2001, 82:200-214.
  - 15 Bhattacharya K, *et al.* Apoptotic effects of mahanine on human leukemic cells are mediated through crosstalk between Apo-1/Fas signaling and the Bid protein and via mitochondrial pathways. *Biochem Pharm*, 2010, 79:361-372.
  - 16 Furusawa S, *et al.* Apoptosis induced by doxorubicin and cinchonine in P388 multidrug-resistant cells. *Journal of Pharmacology and Pharmacology*, 2001, 53:1029-1039.
  - 17 Möller M, *et al.* The alkaloid emetine as a promising agent for the induction an enhancement of drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Oncology Reports*, 2007, 18:737-744.
  - 18 Chen TC, *et al.* Involvement of reactive oxygen species and caspase-dependent pathway in berberine-induced cell cycle arrest and apoptosis in C6 rat glioma cells. *Int J Oncology*, 2009, 34:1681-1690.
  - 19 Wang C, *et al.* Evodiamine-induced human melanoma A375-S2 cell death was mediated by PI3K/Akt/caspase and FasL/NF- $\kappa$ B signaling pathways and augmented by ubiquitin-proteasome inhibition. *Toxicology in Vitro*, 2010, 24: 898-904.
  - 20 Song ZY(宋震亚), *et al.* Harmine Induces Apoptosis in Human SGC-7901 Cells. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29:571-573.
  - 21 Gu ZQ(顾正勤), *et al.* Study of baicalin in inducing prostate cancer cell line DU145 apoptosis *in vitro*. *China J Chin Mate Med* (中国中药杂志), 2005, 30:63-66.
  - 22 Lu CY, *et al.* Luteolin sensitizes Fas/FasL-induced apoptosis in HepG2 cells through inhibiting Akt activation and promoting XIAP degradation. *J Carcinogenesis & Mutagenesis*, 2011, 2:121.
  - 23 Kim JH, *et al.* The apoptotic effects of the flavonoid N101-2 in human cervical cancer cells. *Toxicology In Vitro*, 2012, 26:67-73.
  - 24 Fang SC, *et al.* Anticancer Effects of Flavonoid Derivatives Isolated from *Millettia reticulata* Benth in SK-Hep-1 Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *J Agric Food Chem*, 2010, 58:814-820.
  - 25 Hsu YL, *et al.* Acacetin-induced cell cycle arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Cancer Letters*, 2004, 212:53-60.
  - 26 Pan MH, *et al.* Acacetin Induces Apoptosis in Human Gastric Carcinoma Cells Accompanied by Activation of Caspase Cascades and Production of Reactive Oxygen Species. *J Agric Food Chem*, 2005, 53:620-630.
  - 27 Zhao R, *et al.* Protective effects of diosmetin extracted from *Galium verum* L. on the thymus of U14-bearing mice. *Canadian J Phys Pharm*, 2011, 89:665-73.
  - 28 Shin EM, *et al.* Glycyrol induces apoptosis in human Jurkat T cell lymphocytes via the Fas-FasL/caspase-8 pathway. *Planta medica*, 2011, 77:242-247.
  - 29 Lee WJ, *et al.* Quercetin induces FasL-related apoptosis, in part, through promotion of histone H3 acetylation in human leukemia HL-60 cells. *Oncology Reports*, 2011, 25:583-591.
  - 30 Rakshamani T, *et al.* Anticancer Activity of a Combination of Cisplatin and Fisetin in Embryonal Carcinoma Cells and Xenograft Tumors. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2011, 10: 255-268.
  - 31 Lee KW, *et al.* Sulfuretin from heartwood of *Rhus verniciflua* triggers apoptosis through activation of Fas, Caspase-8, and the mitochondrial death pathway in HL-60 human leukemia cells. *Journal of cellular biochemistry*, 2012, 113:2835-2844.
  - 32 Wang YP(王玉平), *et al.* K562 Apoptosis Induced by Flavone from Tibetan Medicine *Chrysosplenium Nudicaule* Bunge and its Molecular Mechanism. *The Prac J Cancer* (实用癌症杂志), 2005, 20:374-376.
- 
- (上接第 316 页)
- 2 Guo ML(郭美丽), Zhang ZY(张芝玉), Zhang HM(张汉明), *et al.* The tissue feature and chemical components contents of various organs in different cultivated populations of safflower. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 1999, 20:441-444.
  - 3 Yao SX(姚世响), Gu LL(谷丽丽), Zhang X(张霞), *et al.* Methods for high-quality total RNA extraction from *Chenopodium glaucum* and its application in cDNA library construction. *Technique and Methods* (生物技术), 2008, 18(6):38-41.
  - 4 Yao DL(姚冬琳), Liu WN(刘伟娜), Yang MJ(杨明嘉), *et al.* The establishment and optimization of RNA isolation in *Acacia crassicarpa*. *Life Sci Res* (生命科学研究), 2012, 16: 301-306.