

天然产物活性成分抗肝癌分子机制的研究进展

王为兰,刘晓颖,刘福君,李金耀*

新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室,乌鲁木齐 830046

摘要:肝癌作为高发病率和高死亡率的恶性肿瘤之一,存在术后复发率高、癌细胞易转移、多药耐药、机体免疫力低下、治疗预后不佳等问题;当前缺乏行之有效的治疗手段,因此迫切寻找安全、高效低毒的新型抗肝癌药物。天然产物富含多类活性成分,如多糖、黄酮、皂苷、生物碱等,具有优先杀伤或抑制癌细胞、毒副作用小、不易产生耐药性、增强机体免疫的作用,且为多靶点、环节效应的特征,是探索新型抗肿瘤药物的重要资源库。目前,从天然产物中提取活性成分,并探究其抗肝癌作用机制是筛选肝癌治疗药物及作用靶点的重要途径和研究热点。本文将从天然产物活性成分抑制肝癌细胞增殖的作用机制进行综述,揭示诱导肝癌细胞凋亡的作用途径,以期为抗肝癌药物的研发与利用提供理论依据。

关键词:天然产物;活性成分;肝癌;分子机制;研究进展

中图分类号:R96

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)9-1606-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.9.020

Review on molecular mechanism of active components from natural products against hepatocellular carcinoma

WANG Wei-lan, LIU Xiao-ying, LIU Fu-jun, LI Jin-yao*

College of Life Science and Technology, Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

Abstract: Hepatocellular carcinoma is one of the malignant tumors with high morbidity and mortality, which has some problems, such as high postoperative recurrence rate, easy metastasis, multidrug resistance, low immunity, poor prognosis and so on. Currently, there is a lack of effective treatment, so it is extremely urgent to look for new drugs for anti-hepatocellular carcinoma with safety, high efficiency and low toxicity. Natural products are rich in many kinds of active components, such as polysaccharides, flavonoids, saponins, alkaloids, etc., which have the advantages of giving priority to killing or inhibiting cancer cells, less toxic and side effects, not easy to produce drug resistance, enhance immunity, and have the characteristics of multi-target and link effect. It is an important resource bank for exploring new anti-tumor drugs. At present, extracting active components from natural products and exploring their anti-liver cancer mechanism is an important way and research focus to screen therapeutic drugs and targets for hepatocellular carcinoma. The article will review the mechanism of the inhibitory effect of active components of natural products on the proliferation of liver cancer cells, and reveal the pathway of inducing apoptosis of liver cancer cells, in order to provide a theoretical basis for the research and development and utilization of anti-liver cancer drugs.

Key words: medicinal plants; active components; hepatocellular carcinoma; molecular mechanism; reviews

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤,发病率和死亡率高,严重威胁人类健康和生命。据世界卫生组织统计资料

显示,2018年全球约有841 080新增病例,占全球癌症发病的4.7%,有781 631死亡病例,占全球癌症死亡的8.2%,是全球第七大恶性肿瘤;也是全球第二大癌症相关死亡原因^[1]。根据我国2015年癌症数据统计报告,肝癌是国内第四最常见的恶性肿瘤,也是第三大死因^[2],近年来肝癌发病率和死亡率逐年上升,且新发患者呈现年轻化趋势。肝癌已经成

为威胁人类健康,妨碍社会发展的重大疾病之一,因此肝癌的预防与治疗已成为研究热点之一。

随着现代科学技术的不断发展,肝癌的预防和诊断方面取得了较大的进展。在肝癌早期,化疗、手术切除、肝移植、局部消融等治疗方法提高了患者的生存率;但5年复发率高^[3],复发率高达80%~90%^[4,5],且80% HCC患者被诊断为晚期肝癌,中位生存期仅6~8个月^[6],有效的治疗方案很少,索拉非尼和瑞格拉非尼是当前FDA批准的标准治疗晚期肝癌的药物。索拉非尼可用于晚期肝癌的标准一线系统治疗,但中位生存期仅为3个月^[7]。瑞格拉非尼是一种二线系统治疗药物,中位生存期仅为10.6个月^[8]。尽管索拉非尼和瑞格拉非尼能够提高肝癌患者的整体生存率,但时效短、易产生耐药性、预后仍然很差、患者抗肿瘤免疫无能或低下、易复发;尤其是晚期肝癌患者对于化疗药物的不敏感、肿瘤细胞易对化疗产生耐受成为亟待解决的问题,因此寻找安全、高效低毒且逆转耐药的新型抗肝癌药物迫在眉睫。

越来越多的研究证明天然产物通过多种分子机制克服肿瘤细胞耐药性,涉及抑制介导耐药的分子对药物的外排作用、诱导细胞DNA损伤和凋亡等,如苦参碱^[9,10]、浙贝母^[11]、槲皮素^[12]和姜黄素^[13]等。天然产物活性成分具有优先杀伤癌细胞、毒副作用小、不易产生耐药性、调节机体免疫的作用,且为多靶点、环节效应的特征,是探索新型抗肝癌药物研究热点,本文就其抗肝癌作用的分子机制进行综述。

1 天然产物活性成分抑制肝癌细胞增殖的分子机制

肝癌的发生、发展过程是一个由多基因、多途径调控的过程。癌细胞的增殖失控、细胞凋亡机制的失活,是导致肝癌发展的主要因素。因此,抑制肝癌细胞的生长、诱导细胞凋亡是肝癌治疗的主要目标之一。细胞凋亡是机体维持组织自身稳态的一种基本生理机制,在稳定肝脏的体积和细胞数量、发育和再生过程中起着重要的作用^[14]。细胞凋亡的调控过程主要Bcl-2、Bax、Caspase、ROS等^[15,16]多种凋亡相关分子及其相互作用介导不同信号途径而触发,涉及线粒体和细胞色素c释放的内源性途径、依赖死亡受体介导的外源性信号传导途径以及内质网应激途径。靶向细胞凋亡是当前肝癌治疗中有前景的治疗策略。研究报道多数抗肝癌治疗中都会触及细

胞凋亡的诱导及相关细胞死亡网络,从而消除肿瘤细胞。如在肝癌化疗药物耐药性研究中发现,抗凋亡蛋白的过表达,是造成肝癌细胞对化疗药物低敏感的因素之一^[15,17]。

研究发现,天然产物活性成分能够显著诱导肝癌细胞的凋亡。Gao等^[18]发现桑皮素对人肝癌细胞具有较强的促凋亡活性,显著诱导肝癌细胞凋亡和抑制血管的生成。Huang等^[19]研究表明,苦杏苷通过介导P53信号通路抑制肝癌细胞 HepG2、SMMC-772的增殖,诱导肿瘤细胞发生凋亡,且不影响人正常肝细胞LO2的生长活性。因此,探寻天然产物活性成分抗肿瘤作用机制是筛选肿瘤治疗药物作用靶点的一个重要途径。

1.1 天然产物活性成分通过内源性\外源性途径抑制肝癌细胞增殖

1.1.1 内源性线粒体途径

细胞凋亡的内源性途径由线粒体介导,并受到Bcl-2家族蛋白的严格调控^[20]。Bcl-2蛋白家族主要由抗凋亡成员和促凋亡成员组成。按照结构和功能分为Bcl-2亚家族、Bax亚家族、BH3-only亚家族。Bcl-2亚家族主要包括Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1等,发挥抗凋亡作用,多分布在细胞质和细胞内膜(如内质网表面、线粒体外膜、核膜等);Bax亚家族包括Bax和Bak,具有促凋亡作用;BH3-only亚家族只有一个BH3结构域,与家族促存活蛋白结合,导致细胞发生程序性死亡,如BH3-only凋亡执行蛋白(Bid、Bim、Puma)通过直接结合的方式激活促凋亡蛋白Bax和Bak^[20,23]。

当线粒体受到外界刺激后,Bax调控线粒体外膜通透性,促使线粒体外膜透化^[24,25],导致线粒体膜腔隙内的细胞色素c与三磷酸脱氧腺苷(dATP)、凋亡蛋白酶激活因子(APAF1)形成凋亡多聚体复合物,释放至胞浆,招募半胱氨酸蛋白酶9前体(pro-Caspase 9),引起Caspase 9活化,启动半胱天冬酶信号级联反应,最终,激活效应器Caspase 3并诱导细胞凋亡^[26,27]。在肝癌治疗中,抗凋亡蛋白(如Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1)表达水平升高,促使肝癌细胞发生凋亡逃逸,细胞增殖失控,最终导致治疗抵抗和肿瘤复发^[26];但当Bcl-2家族抑制剂ABT-263(Navitoclax)抑制Bcl-xL、Bcl-2的表达,化疗药物索拉非尼可通过Caspase依赖的线粒体途径增强其诱导肝癌细胞凋亡的活性。

研究表明,Bcl-xL、Bcl-2表达水平的升高与肝癌

的生长和耐药性有关^[28,29],因此,Bcl-2 蛋白家族成员的表达调控已成为研究肝癌细胞凋亡和耐药性的作用靶点之一。Oroxylin A 是一种从黄芩根中提取的天然单黄酮类化合物,可介导线粒体凋亡通路,显著抑制 Bcl-2 和 pro-Caspase3 的蛋白表达,阻滞细胞周期于 G2/M 期,有效诱导了肝癌细胞的程序性死亡^[30]。Liao 等^[31]从牛蒡中分离得到一种多糖-蛋白复合物 BEPS-IA,发现其上调 P53、P21、Bax 的表达,下调 Bcl-2 的表达,从而抑制肝癌 HepG2 细胞的生长。Chen 等^[32]从软珊瑚中提取的一种活性物质 sinulariolide 诱导肝癌 HA22T 细胞 Bax、Bad 和 AIF 表达上调,Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1 和 p-Bad 的表达下调,导致线粒体膜电位丧失,细胞色素 c 释放,PARP 活化,Caspase 9 和 Caspase 3 同时被激活;同时加入 Caspase 抑制剂 Z-VAD-FMK 和 Z-DEVD-FMK,发现两种抑制剂明显阻断 sinulariolide 诱导的细胞凋亡;表明 sinulariolide 诱导的肝癌细胞毒性涉及内源性线粒体通路。以上研究证实线粒体途径与抗肝癌作用机制密切相关。

1.1.2 外源性途径(死亡受体途径)

细胞凋亡的外源性途径主要是通过特定的跨膜受体(也称为死亡受体)与同源配体结合而触发的。死亡受体包括 Fas(CD95)、肿瘤坏死因子受体 TN-FR1、肿瘤坏死因子凋亡诱导受体 DR4、DR5,它们在肝脏中广泛表达^[33,34]。DR4、DR5 与肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 TRAIL 结合可引起细胞凋亡。Fas 胞质区均含一个死亡结构域(DD),它对死亡受体介导的凋亡过程也是必需的。在受体激活过程中,Fas 与其配体 FasL 结合发生三聚化,活化的 Fas 与衔接蛋白 FADD 的 DD 区聚合^[35,36],FADD 招募 pro-Caspase 8,形成死亡诱导信号复合体(DISC)^[37,38]。DISC 介导自催化,将 pro-Caspase 8 激活为 Caspase 8,从而启动信号级联反应,导致末端效应器 Caspase 3 或 Caspase 7 的自动活化,最终诱发细胞凋亡信号^[39,40]。同时,Caspase 8 能够裂解促凋亡分子 Bid,形成 tBid,激活线粒体凋亡途径,放大死亡信号^[41,42],因此,tBid 被认为是内外源凋亡途径的结合点。有学者^[43]从柑橘种子提取物中分离获得橙皮苷化合物,能够呈剂量依赖性降低线粒体膜电位,激活 Caspase 9、Caspase 8、Caspase 3 的表达,下调 Bcl-xL、上调 Bax、Bak 和 tBid 的表达水平,表明橙皮苷介导线粒体途径和死亡受体途径诱导 HepG2 细胞的凋亡;柑橘种子黄酮类化合物可作为

抗癌药物或食品补充剂进行开发。

多项研究表明 Fas/Fas 配体(FasL)与肝癌的复发密切相关,Fas 可能是介导肝癌细胞凋亡敏感的作用靶点之一。肝癌细胞中 Fas 及下游分子(FADD 或 Caspase 8)表达降低,NF-κB、Bcl-2 或 Bcl-xL 等抗凋亡分子上调或过度激活,均可能导致肝癌细胞对 Fas 失去反应^[44,45]。科瑞拉金 corilagin 是一种半乳糖肽,为许多天然产物的主要活性成分之一。Deng 等发现 corilagin 阻滞肝癌细胞周期于 G2/M 期,降低线粒体膜电位,增加细胞色素 c 的释放速率,下调 Bcl-2 和 Survivin 的表达,激活 Fas、FasL、Caspase 9、Caspase 8、Caspase 3、PARP 的表达水平,引发细胞凋亡^[46];表明 corilagin 主要通过线粒体凋亡途径和死亡受体途径显著诱导肝癌细胞的凋亡,是一种潜在的抗肝癌药物。Huang 等发现苦参碱能够通过上调 Fas/FasL 信号途径,活化 Caspase 8,进而抑制小鼠肉瘤组织生长,促进肉瘤细胞凋亡^[47]。

另一个死亡受体信号调节因子-细胞型 FLICE 抑制蛋白(cFLIP),其亚型 cFLIP_L 与 Caspase 8 具有结构同源性^[48,49],被认为是死亡受体介导的细胞凋亡抑制剂,cFLIP_L 在肝癌组织中表达水平高于非肿瘤性肝组织,并与死亡受体介导的凋亡抵抗密切相关^[50]。如绿茶中的没食子儿茶素-3-没食子酸酯(EGCG)通过下调 COX-2 和 Bcl-2 的表达,活化 Caspase 9 和 Caspase 3,诱导肝癌细胞凋亡,从而抑制肝癌细胞的增殖^[51];还可通过上调 Caspase 3、DR4、DR5 的表达,抑制 Bcl-2、cFLIP 蛋白表达水平,增强 FasL、TRAIL 诱导的细胞凋亡敏感性^[52]。槲皮素为一种黄酮醇化合物,大量存在洋葱、葡萄、浆果、苹果、西兰花以及谷物中,可作为膳食营养补充剂和茶、葡萄酒和啤酒等饮料成分。研究报道槲皮素调控人肝癌 HepG2 细胞的增殖和死亡相关因子 AKT、ERK、Caspase 3、P38、Bcl-2 的表达;还可通过上调 DR5 和下调 c-FLIPs 从而修复肝癌细胞中 TRAIL 活性^[30]。

cFLIP_L 通过阻止死亡受体诱导的 Caspase 8 异二聚体,激活 NF-κB 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径发挥抗凋亡作用^[53]。另外,肿瘤坏死因子相关死亡结构域(TRADD)结合受体相互作用蛋白(RIP)、连接因子(TRAF2),也能够激活 NF-κB、JNK 信号途径^[23]。研究发现槲皮素还可诱导 NF-κB 的失活、激活 AP-1/JNK 的途径诱导细胞凋亡^[54]。Jin 等^[55]也报道了染料木素通过抑制

Hep3B 细胞中 p38 MAPK 信号通路增强 TRAIL 诱导的凋亡;此外,染料木素抑制肝癌细胞侵袭转移的活性也是通过抑制 MAPK、I_KB、PI3K/Akt 信号通路中 NF- κ B/AP-1 转录因子的活性实现的。

1.2 天然产物活性成分通过内质网应激途径抑制肝癌细胞增殖

内质网(ER)应激(ER stress)是指细胞内外多种压力因素导致的一种亚细胞器的病理状态,表现为细胞内质网生理功能紊乱,钙稳态失衡,未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网腔聚集。研究发现,内质网应激反应具有适应性和凋亡的双重作用,与肝癌的发生发展关系密切。肝癌细胞长期处于病毒感染、炎症刺激等各种不良刺激下,加上增殖失控引起的缺血缺氧微环境,易处于内质网应激状态。当内质网应激持续存在时,它会过度氧化内质网,导致内质网中 Ca²⁺泄漏,增加线粒体钙激活酶活性,引起钙超载,使线粒体内膜去极化,导致线粒体活性氧(ROS)的生成^[56];随之,BH3 家族蛋白(Bak、Bax)进入线粒体外膜,增加膜通透性,导致细胞色素 c 释放^[57]。Caspase 9、Caspase 3、凋亡诱导因子(AIF)和核酸内切酶 G(Endog)被激活,触发凋亡信号^[58,59]。胡椒碱(Piperine)是胡椒(*Piper nigrum L.*)中的一种生物碱成分,Piperine 能够选择性地杀伤肝癌细胞,但对正常肝细胞 LO2 无毒副作用,IC₅₀ 为 10~20 μ M;同时诱导 ROS 的产生,增加细胞质自由 Ca²⁺浓度,促使 PERK 磷酸化,上调 I_{RE1} α 、Grp78、CHOP 的表达;证实了 PL 通过内质网应激反应诱导肝癌细胞的凋亡^[60]。

研究表明,在肝癌发生初期,ROS 或氧化应激反应主要通过激活原癌基因或 MAPKs 等信号通路促进肝癌的发生或发展^[61]。随着肝癌的进展,ROS 过度产生或持续的氧化应激反应可能导致肝癌细胞死亡^[62]。因此,ROS 的增加使肿瘤细胞更容易受到内质网应激的影响。同时,多种钙结合蛋白通过 Ca²⁺/CaM 信号途径也参与肝癌细胞的增殖和转移。Ca²⁺的释放可参与线粒体途径,是在细胞凋亡中连接内质网途径和线粒体途径的桥梁,内质网释放的 Ca²⁺进入细胞质,细胞质中高浓度 Ca²⁺促使线粒体膜上 Bax 激活,这有助于内质网应激介导的细胞凋亡^[63]。Park 等^[64]发现隐丹参酮介导 ER 应激促使 HepG2 细胞中 ELF2 α 、CHOP、JNK、MAPK 的表达升高,但加入 ROS 抑制剂 NAC,能够降低隐丹参酮的凋亡作用。结果表明,隐丹参酮通过 ER 应激

介导的细胞凋亡依赖于 ROS 的生成。

内质网中未折叠蛋白的积累及其细胞应激反应已证实与细胞凋亡有关。内质网应激启动未折叠蛋白反应(UPR),以重新建立内质网稳态作为癌症的适应途径。然而时间过长或程度过强的内质网应激则会激活下游凋亡信号通路并最终引发细胞凋亡^[65]。介导 UPR 的主要信号分子有肌醇需要蛋白 1 α (IRE1 α)、激活转录因子 6 α (ATF-6 α)和蛋白激酶 RNA 样 ER 激酶(PERK)。在长时间的内质网应激状态下,活化的 PERK 促使真核细胞翻译起始因子 2 α (eIF2 α)磷酸化,激活 ATF4;ATF4 转录激活 C/EBP 同源蛋白(CHOP)^[66,67]。CHOP 激活 Caspase 12 参与由内质网途径引起的凋亡,活化的 Caspase 12 转运到细胞质中与 Caspase 9 介导的凋亡过程相结合,活化 Caspase 3,参与内源性凋亡途径,完成凋亡反应。同时,CHOP 也可介导凋亡蛋白 Bim 和 DR5 的上调表达,激活 Caspase 8,下调 Bcl-2 表达,参与外源性途径,从而切割 Bid(tBid)并将其转运到线粒体。因此,阻断内质网应激的适应途径或促进凋亡途径可能是一种有效的抗肝癌策略。研究表明内质网应激导致肝癌 HepG2 细胞 COX-2 表达增加,Akt 失活,促凋亡转录因子 CHOP 上调^[68];肝细胞特异性 CHOP 缺失引起小鼠肝癌模型的肿瘤生长^[69];CHOP 表达上调可能是抗肝癌治疗的一个有吸引力的靶点。从肉豆蔻、胡椒等中提取的 7-二甲氧基黄酮(DMF)上调 Hep3B 细胞中 ATF4、CHOP、DR5 的表达,促使 Caspase 3、Caspase 8、Caspase 9 发生裂解;这一结果表明,内源性和外源性凋亡途径都与 DMF 诱导的 ER 应激有关^[70]。Choi 等^[71]从胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata Batalin*)中提取的甘草醇 A(glycyrrhizic acid A)能够升高 HepG2 细胞中 GRP78/BiP、ATF6、IRE1 α 、Caspase 4 和 CHOP 蛋白表达,导致 Caspase 3、Caspase 9 裂解。然而,ER 应激介导的细胞凋亡被 ROS 抑制剂 NAC 抑制,表明 ROS 参与了甘草醇 A 诱导的 ER 应激。从印度没药树脂(myrrh)中提取的没药甾酮(gugerstrom)通过内质网应激途径提高 Hep3B 细胞中 GRP78/BiP、PERK、CHOP、JNK、DR5 的表达水平,诱导 eIF α 磷酸化及 ROS 的产生;siRNA 敲除 CHOP 后,DR5 表达和 TRAIL 敏感性降低;此外,ROS 抑制剂 NAC 抑制了 GGS 诱导内质网应激反应^[72]。从菡萏(*Nelumbo nucifera Gaertn*)分离的甲基莲心碱(neferine)上调了 Hep3B 细胞中的 GRP78/BiP、

PDI、Caspase 3 及 BH-3 家族蛋白 Bim、Bid 的表达,表明 neferine 诱导了内质网应激和线粒体介导的凋亡^[73]。白藜芦醇中的白芍醇能够促使 HepG2 细胞中 GRP78/BiP、Caspase 3 的活化,减弱 ER 应激诱导的 HepG2 对化疗药物阿霉素的耐药性^[74]。

1.3 天然产物活性成分介导免疫增强作用抑制肝癌细胞增殖

肝癌的发生发展依赖于其肿瘤微环境。免疫细胞是肝癌微环境中的关键角色,并与癌细胞表现出复杂的串扰。肝癌微环境中的其他分子,如脂肪酸和葡萄糖,能够调节免疫细胞的新陈代谢、表型和功能。免疫细胞是肝癌进展的关键分子,其招募和功能深受微环境的影响^[75]。随着肝癌的发生发展,肝癌细胞特异性表达的肿瘤相关抗原,如甲胎蛋白(AFP)、GpC3 和黑色素瘤相关基因-A1(MAGE-A1),可以被抗原提呈细胞摄取并呈递给 T 细胞,从而产生细胞毒反应来消除癌细胞。然而,免疫抑制因子和免疫抑制检查点可抑制抗肿瘤反应,并创造特殊的微环境以促进肝癌进展。几乎所有类型的免疫细胞都深度参与肝癌微环境,包括巨噬细胞、中性粒细胞、T 细胞、B 细胞、固有淋巴样细胞(ILCs)、树突状细胞(DC)、自然杀伤细胞(NK)、自然杀伤 T 细胞(NKT)和髓系来源的抑制细胞(MDSCs)等^[76]。

Annie 等^[77]研究发现肝癌细胞中 NK 细胞的失调促进免疫抑制状态,进而肿瘤能够逃脱免疫监视。Chen 等^[78]发现柿叶总黄酮提取物(PLX)显著提高 H22 肝癌小鼠的胸腺和脾脏指数、IL-18 的水平以及单核/巨噬细胞吞噬功能、血清溶血素水平和 NK 细胞的活性,增强了小鼠的免疫功能,有效地抑制体内肝癌的生长,且与环磷酰胺(CTX)的严重副作用相比,PLX 对小鼠体重和摄食量均无明显影响。 $\gamma\delta$ T 细胞是一个独特的 T 细胞亚群,含有 T 细胞受体(TCR) γ 和 TCR δ 链,具有不同的结构和功能异质性。 $\gamma\delta$ T 细胞作为先天免疫系统和获得性免疫系统之间的桥梁,参与肿瘤进展过程中的各种免疫反应^[79]。由于 $\gamma\delta$ T 细胞具有直接/间接的抗肿瘤细胞毒作用和较强的细胞因子生产能力,近十年来其在肿瘤免疫治疗中的应用受到广泛关注。Qian 等^[80]分别用青蒿琥酯处理共培养的人 $\gamma\delta$ T 细胞和 HepG2 细胞,发现能够提高 $\gamma\delta$ T 细胞中 RAP、GrA 的表达,降低 HepG2 细胞上清液中 TGF- β 1 的分泌,增加 Fas 的表达,进而增强对 HepG2 细胞的杀伤作用。

研究报道,多种天然活性成分能够通过促进免

疫细胞增殖,加速巨噬细胞吞噬,调节细胞因子来增强机体的免疫功能,同时抑制肿瘤的生长。Li 等^[81]制备轮叶党参蒸制品(SCL),发现其不仅能上调肿瘤组织中 Bax 的表达,降低 Bcl-2 和血管内皮生长因子(VEGF)的表达,还可升高血清细胞因子干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-2(IL-2)水平,从而抑制 H22 肝癌小鼠肿瘤的生长,延长荷癌小鼠的生存时间。不同来源的多糖如玉米丝多糖、乌头多糖、丹参多糖也具有抑制肿瘤生长和增强免疫的能力,可通过增加肝癌荷癌小鼠 IL-2、IL-6 和 TNF- α 的表达水平,抑制肝癌的生长,延长小鼠的生存时间^[82]。松茸多糖可以激活小鼠脾淋巴细胞的增殖;松茸多糖、香菇多糖与化疗药物 5-FU 联用显著增加 H22 肝癌小鼠细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)和 NK 细胞的活性,提高脾脏中 CD4 $^{+}$ 和 CD8 $^{+}$ T 细胞的比例及血清 TNF- α 、IL-2 和 IFN- γ 水平,从而抑制肝癌的生长^[83]。

2 结论

综上所述,天然产物种类繁多,活性成分丰富且抗肿瘤作用强,是寻找新型抗肿瘤药物的资源宝库。本文综述了天然产物活性成分抑制肝癌细胞增殖的部分作用机理,揭示诱导肝癌细胞凋亡的作用途径,以及作为免疫增强组分联合抗肝癌的治疗策略,为从天然产物中筛选新型安全、高效低毒的抗肝癌药物提供科学依据,同时为更好合理利用与开发天然产物提供新思路。

参考文献

- Bray F, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 1-31.
- Chen W, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- Xia F, et al. Adjuvant sorafenib after hepatectomy for Barcelona Clinic Liver Cancer-stage C hepatocellular carcinoma patients[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(22): 5384-5392.
- Chuma M, et al. New molecularly targeted therapies against advanced hepatocellular carcinoma: from molecular pathogenesis to clinical trials and future directions[J]. Hepatol Res, 2015, 45(10): E1-E11.
- Llovet JM, et al. Advances in targeted therapies for hepatocellular carcinoma in the genomicera[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12: 408-424.

- 6 Gosalia AJ, et al. Advances and future directions in the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterol Hepatol (NY)*, 2017, 13:398-410.
- 7 Shen X, et al. Liver computed tomographic perfusion for monitoring the early therapeutic response to sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma patients [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14:1556-1562.
- 8 Bruix J, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 389:56-66.
- 9 Wei R, et al. Matrine promotes liver cancer cell apoptosis by inhibiting mitophagy and PINK1/Parkin pathways [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23(6):1295-1309.
- 10 Li Q, et al. Matrine inhibits the proliferation, invasion and migration of castration-resistant prostate cancer cells through regulation of the NF- κ B signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1):375-381.
- 11 Li H, et al. F. Thunbergii Bulbus: traditional uses, phytochemistry, pharmacodynamics, pharmacokinetics and toxicity [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7):1667.
- 12 Wang G, et al. Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against liver cancer through p53/Bcl-xL [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e51764.
- 13 Zhao X, et al. Codelivery of doxorubicin and curcumin with lipid nanoparticles results in improved efficacy of chemotherapy in liver cancer [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10:257-270.
- 14 Moreno-Cáceres J, et al. Apoptosis in liver carcinogenesis and chemotherapy [J]. *Hepat Oncol*, 2015, 2:381-397.
- 15 Tutusaus A, et al. Antiapoptotic BCL-2 proteins determine sorafenib/regorafenib resistance and BH3-mimetic efficacy in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9: 16701-16717.
- 16 Liu M, et al. The genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma: a recent update [J]. *Protein Cell*, 2014, 5(9):673-691.
- 17 Punnoose EA, et al. Expression profile of Bcl-2, Bcl-XL, and Mcl-1 predicts pharmacological response to the Bcl-2 selective antagonist venetoclax in multiple myeloma models [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15:1132-1144.
- 18 Gao L, et al. Morusin shows potent antitumor activity for human hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo* through apoptosis induction and angiogenesis inhibition [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11:1789-1802.
- 19 Huang C, et al. Amarogentin induces apoptosis of liver cancer cells via upregulation of p53 and downregulation of human telomerase reverse transcriptase in mice [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2017, 16:546-558.
- 20 Opferman JT, et al. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1):37-45.
- 21 Soderquist RS, et al. Systematic mapping of Bcl-2 gene dependencies in cancer reveals molecular determinants of BH3 mimetic sensitivity [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):3513.
- 22 Bhola PD, et al. Mitochondria-judges and executioners of cell death sentences [J]. *Mol Cell*, 2016, 61:695-704.
- 23 Chen HC, et al. An interconnected hierarchical model of cell death regulation by the BCL-2 family [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17:1270-1281.
- 24 Safarzadeh E, et al. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment [J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(Suppl 1): 421-427.
- 25 Rathore R, et al. Overcoming chemotherapy drug resistance by targeting inhibitors of apoptosis proteins (IAPs) [J]. *Apoptosis*, 2017, 22:898-919.
- 26 Lopez J, et al. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112:957-962.
- 27 Indran IR, et al. Recent advances in apoptosis, mitochondria and drug resistance in cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta Bioenerget*, 2011, 1807:735-745.
- 28 Wang B, et al. The Bcl-2/xL inhibitor ABT-263 increases the stability of Mcl-1 mRNA and protein in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13:98.
- 29 Ni Z, et al. HCC cells with high levels of Bcl-2 are resistant to ABT-737 via activation of the ROS-JNK-autophagy pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 70:194-203.
- 30 Liao CY, et al. Novel investigations of flavonoids as chemopreventive agents for hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:840542.
- 31 Liao NB, et al. A novel polysaccharide conjugate from *Bullacta exarata* induces G1-phase arrest and apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Molecules*, 2017, 22(3):384.
- 32 Chen YL, et al. Sinulariolide induced hepatocellular carcinoma apoptosis through activation of mitochondrial-related apoptotic and PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway [J]. *Molecules*, 2013, 18:10146-10161.
- 33 Von Karstedt S, et al. Exploring the TRAILs less travelled: TRAIL in cancer biology and therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17:352-366.
- 34 Fleten KG, et al. hvTRA, a novel TRAIL receptor agonist, induces apoptosis and sustained growth retardation in melanoma [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 2:16081.
- 35 Scott FL, et al. The Fas-FADD death domain complex struc-

- ture unravels signalling by receptor clustering [J]. *Nature*, 2008, 457:1019-1022.
- 36 Fu Q, et al. Structural basis and functional role of intramembrane trimerization of the Fas/CD95 death receptor [J]. *Mol Cell*, 2016, 61:602-613.
- 37 Kischkel FC, et al. Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and caspase-8 to death receptors 4 and 5 [J]. *Immunity*, 2000, 12:611-620.
- 38 Lavrik I, et al. Death receptor signaling [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118:265-267.
- 39 Rathore R, et al. Overcoming chemotherapy drug resistance by targeting inhibitors of apoptosis proteins (IAPs) [J]. *Apoptosis*, 2017, 22:898-919.
- 40 Fu TM, et al. Cryo-EM structure of caspase-8 tandem DED filament reveals assembly and regulation mechanisms of the death-inducing signaling complex [J]. *Mol Cell*, 2016, 64: 236-250.
- 41 Huang K, et al. Cleavage by caspase 8 and mitochondrial membrane association activate the BH3-only protein Bid during TRAIL-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 11843-11851.
- 42 Guicciardi ME, et al. Apoptosis and necrosis in the liver [J]. *Compre Physiol*, 2013, 3:977-1010.
- 43 Banjerpongchai R, et al. Hesperidin from citrus seed induces human hepatocellular carcinoma HepG2 cell apoptosis via both mitochondrial and death receptor pathways [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1):227-237.
- 44 Ito Y, et al. The status of Fas and Fas ligand expression can predict recurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer Suppl*, 2000, 82:1211-1217.
- 45 Wang MD, et al. Dysregulated fatty acid metabolism in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepat Oncol*, 2016, 3 (4): 241-251.
- 46 Deng Y, et al. Corilagin induces the apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through the mitochondrial apoptotic and death receptor pathways [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39: 2545-2552.
- 47 Huang GX, et al. Effects of matrine on apoptosis and FAS/FASL signaling pathway on mouse S₁₈₀ sarcoma [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2020, 32:1045-1050.
- 48 Yeh WC, et al. Requirement for casper(c-FLIP) in regulation of death receptor-induced apoptosis and embryonic development [J]. *Immunity*, 2000, 12:633-642.
- 49 Hughes M, et al. Co-operative and hierarchical binding of c-FLIP and caspase-8: a unified model defines how c-FLIP isoforms differentially control cell fate [J]. *Mol Cell*, 2016, 61: 834-849.
- 50 Liang DY, et al. ShDcR3 sensitizes TRAIL-resistant HCC cells by inducing caspase-dependent apoptosis while suppressing NF-κB dependent cFLIPL expression [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2):e0191545.
- 51 Chen K, et al. Baicalein inhibits the invasion and metastatic capabilities of hepatocellular carcinoma cells via down-regulation of the ERK pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e72927.
- 52 Abou El Naga RN, et al. Sensitization of TRAIL-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells by phytochemicals [J]. *Life Sci*, 2013, 92:555-561.
- 53 You Z, et al. Nuclear factor-κB-inducible death effector domain-containing protein suppresses tumor necrosis factor-mediated apoptosis by inhibiting caspase-8 activity [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276:26398-26404.
- 54 Granado-Serrano AB, et al. Quercetin modulates NF-kappa B and AP-1/JNK pathways to induce cell death in human hepatoma cells [J]. *Nutr Cancer*, 2010, 62:390-401.
- 55 Jin CY, et al. Genistein enhances TRAIL-induced apoptosis through inhibition of p38 MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma Hep3B cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 180(2):143-150.
- 56 Wang Y, et al. Triptolide induces Sertoli cell apoptosis in mice via ROS/JNK-dependent activation of the mitochondrial pathway and inhibition of Nrf2-mediated antioxidant response [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39:311-327.
- 57 Kuwana T, et al. BH3 domains of BH3-only proteins differentially regulate Bax-mediated mitochondrial membrane permeabilization both directly and indirectly [J]. *Mol Cell*, 2005, 17:525-535.
- 58 Li LY, et al. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria [J]. *Nature*, 2001, 412 (6842): 95-99.
- 59 Wang ZX, et al. Baicalein induces apoptosis and autophagy via endoplasmic reticulum stress in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014;1-13.
- 60 Chen Y, et al. Piperlongumine selectively kills hepatocellular carcinoma cells and preferentially inhibits their invasion via ROS-ER-MAPKs-CHOP [J]. *Oncotarget*, 2015, 6: 6406-6421.
- 61 Hao Z, et al. Specific ablation of the apoptotic functions of cytochrome c reveals a differential requirement for cytochrome c and apaf-1 in apoptosis [J]. *Cell*, 2005, 121:579-591.
- 62 Zhou Y, et al. Ampelopsin induces cell growth inhibition and apoptosis in breast cancer cells through ROS generation and endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9

- (2):e89021.
- 63 Changmin K, et al. Anti-cancer natural products and their bioactive compounds inducing ER stress-mediated apoptosis: a review [J]. *Nutrients*, 2018, 10(8):1021.
- 64 Park IJ, et al. Cryptotanshinone induces ER stress-mediated apoptosis in HepG2 and MCF7 cells [J]. *Apoptosis*, 2012, 17(3):248-257.
- 65 Ariyasu D, et al. Endoplasmic reticulum (ER) stress and endocrine disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2):382.
- 66 Logue SE, et al. New directions in ER stress-induced cell death [J]. *Apoptosis*, 2013, 18:537-546.
- 67 Cubillos-Ruiz JR, et al. Tumorigenic and immunosuppressive effects of endoplasmic reticulum stress in cancer [J]. *Cell*, 2017, 168:692-706.
- 68 Fan L, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced resistance to doxorubicin is reversed by paeonol treatment in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62627.
- 69 DeZwaan-McCabe D, et al. The stress-regulated transcription factor CHOP promotes hepatic inflammatory gene expression, fibrosis, and oncogenesis [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(12):e1003937.
- 70 Yang JF, et al. 5,7-Dimethoxyflavone sensitizes TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(1):195-206.
- 71 Choi AY, et al. Licochalcone A induces apoptosis through endoplasmic reticulum stress via a phospholipase C γ 1-, Ca $(2+)$ -, and reactive oxygen species-dependent pathway in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Apoptosis*, 2014, 19:682-697.
- 72 Moon DO, et al. Guggulsterone sensitizes hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis through the induction of CHOP-dependent DR5: involvement of ROS-dependent ER-stress [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82:1641-1650.
- 73 Yoon JS, et al. Neferine isolated from *N. nucifera* enhances anti-cancer activities in Hep3B cells: molecular mechanisms of cell cycle arrest, ER stress induced apoptosis and anti-angiogenic response [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20:1013-1022.
- 74 Fan L, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced resistance to doxorubicin is reversed by paeonol treatment in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62627.
- 75 Zhang Q, et al. Immunometabolism: A novel perspective of liver cancer microenvironment and its influence on tumor progression [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24:3500-3512.
- 76 Yang YM, et al. Inflammation and liver cancer: molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. *Semin Liver Dis*, 2019, 39(1):26-42.
- 77 Tosello-Trampont A, et al. Immunoregulatory role of NK cells in tissue inflammation and regeneration [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:301.
- 78 Chen L, et al. Antitumor and immunomodulatory activities of total flavonoids extract from persimmon leaves in H22 liver tumor-bearing mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8:10523.
- 79 Zhao Y, et al. Gamma-delta ($\gamma\delta$) T cells: friend or foe in cancer development? [J]. *J Transl Med*, 2018, 16:3.
- 80 Qian P, et al. Artesunate enhances $\gamma\delta$ T-cell-mediated antitumor activity through augmenting $\gamma\delta$ T-cell function and reversing immune escape of HepG2 cells [J]. *Immunopharmacol Immunot*, 2018, 40(2):107-116.
- 81 Li W, et al. Anti-tumor effect of steamed *Codonopsis lanceolata* in H22 tumor-bearing mice and its possible mechanism [J]. *Nutrients*, 2015, 7:8294-8307.
- 82 Liu L, et al. Studies on immunoregulatory and anti-tumor activities of a polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(1):479-483.
- 83 Ren M, et al. Polysaccharides from *Tricholoma matsutake* and *Lentinus edodes* enhance 5-fluorouracil-mediated H22 cell growth inhibition [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34:309-316.