

· 综述 ·

丹参酮的抗肿瘤作用机制及抗乳腺癌的研究现状

张蒲蓉 吕青

丹参为唇形科鼠尾草属植物(*salvia miltiorrhiza bunge*)的干燥根部。其具有活血化瘀功效,入药历史悠久。丹参酮(tanshinone, Tan)为丹参根部的乙醚或乙醇提取物,是丹参的主要有效成分。按其不同的化学结构分为丹参酮 I (I)、丹参酮 II A (II)、丹参酮 II B (III)、隐丹参酮(IV)等 15 种成分^[1]。大量研究显示丹参酮 II A 对多种肿瘤细胞具有杀伤作用、诱导分化和凋亡作用^[2]。丹参酮的抗肿瘤作用目前在白血病、肝癌、胃癌等临床治疗中已有应用^[3],且表现出较好的疗效。丹参酮是否亦能运用到乳腺癌的临床治疗尚有待大量的实验研究及临床试验探索和证实。本文就丹参酮抗肿瘤作用机制的研究进展和抗乳腺癌的研究现状综述如下。

1 丹参酮的抗肿瘤作用机制

近年的研究表明,天然中药成分丹参酮 II A 可以通过对肿瘤细胞的直接杀伤、诱导分化和凋亡、抑制侵袭和转移的机制发挥抗肿瘤作用,特别是其具有诱导肿瘤细胞分化的作用^[2]。

1.1 丹参酮的细胞毒作用

Ryu 等^[4]从丹参根部提取物中分离出 18 种含丹参酮的活性成分进行细胞毒性研究,发现这些成分对非小细胞肺癌(A549)、卵巢癌(KOV-3)、结肠癌(HCT-15)、黑色素瘤(SK. MEL-2)、中枢神经系统肿瘤(XF498)等人肿瘤细胞系均有细胞毒作用;Wu 等^[5]采用 MTT 法检测 15 种丹参酮衍生物对人鼻咽癌 KB 细胞株、人宫颈癌 Hela 细胞株、人结肠癌 Colo-205 细胞株和人肝癌 HepG2 细胞株的细胞毒作用。结果表明,多种丹参酮衍生物在 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度下对肿瘤细胞有不同程度的杀伤作用。Wang^[6]等的体外实验研究结果显示,0.25 ~ 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 丹参酮 II A 对多种肿瘤细胞(人早幼粒白血病 NB₄、红白血病 K562、肝癌肿瘤细胞系 SMC-7721、鼻咽癌 CNE-1、肺腺癌 SPC-A-1、非小细胞肺癌 A549 等)均具有增殖抑制和细胞毒作用。

1.2 丹参酮的抑制细胞增殖作用

作者单位:610041 成都,四川大学华西医院乳腺外科

通讯作者:吕青, E-mail: lqlq1963@163.com

肿瘤细胞具有持续的增殖能力,因此抗增殖能力是抗肿瘤药物的另一作用途径。多种试验证实丹参酮能使肿瘤细胞的倍增时间延长,倍增倍数减少, G_0/G_1 期细胞增多,S 期细胞减少。

Yuan^[2]体外实验运用丹参酮ⅡA 分别处理人早幼粒白血病(NB4)、维甲酸耐药的 NB4 (MR2)、红白血病(K562)、肿瘤细胞系肝癌(SMMC-7721)、鼻咽癌(CNE-1)、肺腺癌(SPC-A-1)等人肿瘤细胞,以研究丹参酮ⅡA 对不同肿瘤细胞生长的影响。结果显示:经丹参酮ⅡA 处理后,肿瘤细胞生长和增殖明显被抑制,对 NB4 细胞的生长抑制作用更明显;部分肿瘤细胞发生凋亡的细胞形态改变,凋亡百分率均高于对照组,且细胞明显被阻止于 G_0/G_1 期,而 S 期细胞明显减少。He^[7]体外实验观察丹参酮ⅡA 对人肺腺癌细胞(SPC-A-1)的增殖抑制作用。结果显示,SPC-A-1 细胞经丹参酮ⅡA 处理后细胞生长明显减慢,集落形成率显著降低,且 G_0/G_1 期细胞明显增多,S 期细胞减少。丹参酮ⅡA 可使肿瘤细胞 P53、P21 表达显著增高,而 CDKN2 明显降低。Yuan^[8]用人肝癌细胞株(SMMC-7721)和人白血病细胞株试验丹参酮对癌细胞增殖的影响,发现人肝癌细胞被丹参酮处理后抑制癌细胞增殖的机制可能是抑制细胞 DNA 合成、增殖细胞核抗原(PCNA)表达和 DNA 多聚酶活性,从而使肿瘤细胞进入 S 期的比例减少,增殖活性降低。郑燕彬等^[9]也有类似报道。他们用丹参酮ⅡA 处理人成骨肉瘤 MG63 细胞后,细胞增殖活动受到抑制,细胞倍增时间延长,细胞发生 G_0/G_1 期阻滞,S 期细胞比例下降,并出现细胞形态规则、大小趋于一致、细胞体积增大、核质比例减小等变化;MG63 细胞增殖分化调控相关的癌基因 c-fos 和 c-myc 表达活性降低。

因此,丹参酮ⅡA 对体外培养的多种肿瘤细胞具有明显的抑制作用,对其敏感的肿瘤细胞是人早幼粒白血病细胞,对实体的腺癌也有明显的抑制作用。

1.3 丹参酮诱导肿瘤细胞分化的作用

分化受阻是肿瘤细胞的一个显著特点。诱导分化成为恶性肿瘤治疗的新途径。其与传统化学治疗的根本区别在于诱导分化治疗不杀伤肿瘤细胞,而是通过药物诱导肿瘤细胞向正常细胞转化,同时对正常细胞无杀伤作用,且少有骨髓抑制等副作用,故诱导分化治疗因其较大优越性而得到了医学界的广泛关注。1986 年,全反式维甲酸(ATRA)诱导分化治疗急性早幼粒细胞白血病(APL)的成功,大大推动了诱导分化治疗恶性肿瘤的基础和临床研究的进展,但维甲酸相关综合征及快速发生的耐药性限制了该药的临床应用。因此,迫切需要寻找新的高效、低毒的分化诱导剂来完善肿瘤的诱导分化治疗。

近年有学者研究表明,丹参酮ⅡA 有可能成为新的高效、低毒的分化诱导剂。1995 年 Huang^[10]报道,0.5 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮ⅡA 在体外能够明显诱导宫颈

癌细胞形态趋向良性分化,抑制细胞生长;体内实验中丹参酮 II A 能使裸鼠成瘤时间延长、成瘤能力降低;经统计学处理,丹参酮 II A 组与全反式维甲酸对宫颈癌细胞株均具有良好的诱导分化作用,两者差异无统计学意义($P > 0.05$)。Liang^[11]等研究了丹参酮 II A 对 SMMC-7721、HL-60、NB4、K562、早幼粒细胞白血病患者外周血 APL 细胞的体外诱导分化作用。结果显示,丹参酮 II A 对上述肿瘤细胞均具有较好的诱导分化作用,表现在细胞增殖抑制、形态分化、分化相关基因表达等,APL 细胞生长抑制率平均为 39.7%,诱导分化率平均为 82.5%。此外,袁淑兰等^[12]在丹参酮 II A 对 HL-60 细胞系体外诱导分化作用的研究中,从细胞形态和细胞增殖动力学进行研究发现 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 II A 可诱导 58% 的 HL-60 细胞向中性粒细胞分化,细胞生长被明显抑制,与维甲酸组相比差异无统计学意义;且细胞增殖指数降低,c-myc 癌基因蛋白表达降低,c-fos 癌基因蛋白表达明显增加。这些结果显示,丹参酮可能通过抑制 DNA 多聚酶的活性影响癌基因的表达来抑制细胞的增殖和诱导细胞的分化。

Liang^[11]在丹参酮 II A 诱导原代培养人急性早幼粒细胞白血病细胞分化的研究中,将 5 例 APL 患者白血病细胞分别与 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 丹参酮 II A 在体外共同培养 7 d 后发现,丹参酮可诱导大多数 APL 细胞向终末细胞分化,并使细胞的生长受到明显的抑制,四氮唑蓝(NBT)还原能力显著增强,CD33 表达降低,CD11b 表达升高,与全反式维甲酸作用的差异无统计学意义($P > 0.05$);在此基础上,2004 年刘志刚等^[13]还报道 Tan II A 联合 ATRA 可协同诱导 NB4 细胞分化和凋亡。在此项研究中,Tan II A 和 ATRA 联合作用组第 5 天细胞生长抑制率均超过 80%,90% 左右的 NB4 细胞分化,其中杆状和分叶核细胞比例超过 65%,NBT 还原能力显著升高,提示 Tan II A 联合 ATRA 对 NB4 细胞诱导分化和凋亡有协同作用,在 ATRA 一定浓度范围内,这种协同作用无 ATRA 剂量依赖性。此为临床急性早幼粒细胞白血病的治疗提供了新的思路和途径。

1.4 丹参酮诱导肿瘤细胞凋亡的作用

细胞凋亡(apoptosis)是基因控制下的细胞程序性死亡,以保持正常细胞的增殖、分化、死亡的平衡。许多抗肿瘤药物均是通过抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞分化和/或凋亡发挥抗肿瘤的作用。袁淑兰等^[14]报道,0.5 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 II A 可明显抑制人鼻咽癌细胞(CNE1)、人肺癌细胞(SPC-A-1)、人白血病细胞(NB、K562)增殖,使细胞形态发生改变,细胞凋亡分数增高,且凋亡相关基因 P53、fas、bax 表达明显升高,而凋亡抑制基因 bcl-2 基因表达则明显降低。

唐忠志等^[15]在丹参酮 II A 对人肝癌细胞系 BEL-7402 的生长抑制及凋亡

诱导作用研究中得出了类似的结论,即在体外丹参酮ⅡA 能诱导人肝癌细胞系 BEL-7402 凋亡,这可能是丹参酮ⅡA 抑制其生长的重要机制之一。He 等^[7]用人肺癌细胞株 (SPC-A-1) 研究丹参酮ⅡA 的凋亡诱导作用,并以全反式维甲酸和顺铂为对照组,SPC-A-1 经过无毒剂量的丹参酮ⅡA (0.5 mg/L) 处理 5 d 后,电镜观察见大量凋亡细胞,且丹参酮组凋亡指数显著高于顺铂组及对照组,而与维甲酸组的差异无统计学意义;丹参酮组促凋亡基因 *P53*、*fas*、*bax* 表达明显升高,而凋亡抑制基因 *bcl-2* 的表达水平则明显降低。这说明丹参酮确实促进了肿瘤细胞凋亡的发生,而这一机制可能在于凋亡抑制基因的抑制及促凋亡基因的上调。

研究表明,核糖聚合酶 (caspase) 在细胞凋亡中具有非常重要的作用。Sung 等^[16]检测了丹参酮ⅡA 对 HL-60 和 K562 细胞的作用。在两种细胞中,丹参酮诱导了时间和剂量依赖的 DNA 片断化和特殊的 ADP-核糖聚合酶。经过丹参酮ⅡA 处理过的细胞具有亚二倍体 DNA 标志的凋亡细胞增加,且核糖聚合酶-3 活性明显增加。因此丹参酮ⅡA 诱导的细胞凋亡伴随着特殊的 ADP-核糖聚合酶-3 的活性表达,可能在丹参酮的凋亡诱导过程中发挥了重要的作用。

2 丹参酮抗肿瘤作用的临床研究

从以往研究可以看出,体内外研究和部分临床实验都表明,丹参酮的抗肿瘤作用在于促进肿瘤细胞分化,抑制细胞增殖,细胞毒作用,抑制侵袭和转移等。目前的实验研究和临床应用表明,丹参单味水煎或与其他抗癌药组成复方药剂具有抗癌作用,应用于白血病、原发性肝癌、胃癌等恶性肿瘤的治疗,可使病情改善,肿块缩小,生存期延长,特别是白血病的临床应用显示出了理想的疗效。2006 年,羊裔明等^[17]报道 1 例耐全反式维甲酸 (ATRA) 的急性早幼粒细胞白血病患者采用丹参酮ⅡA 治疗后缓解的病例。虽然目前丹参酮应用于临床的报道较少,但现有各项基础研究及临床应用均显示出其在肿瘤治疗领域广阔的临床应用前景。

3 丹参酮抗乳腺癌的治疗研究

目前国内外的各项基础研究及临床应用均显示丹参酮对多种恶性肿瘤良好的治疗及应用前景,但关于丹参酮对乳腺癌的作用,国内外均鲜有报道。

乳腺癌作为女性最常见的恶性肿瘤之一,在欧美国家,其发病率居于女性恶性肿瘤首位,在中国,其发病率逐年上升,有跃居女性恶性肿瘤首位的趋势。目前肿瘤外科界所公认的乳腺癌的治疗是采取以外科手术治疗为主,放化疗、内分泌治疗、生物治疗兼并的综合治疗,但目前临床上雌激素受体阴性患者在

放化疗治疗外,继续治疗途径大受局限。

2005 年 Wang 等^[18]研究结果显示,丹参酮 II A 对雌激素受体(ER)阳性乳腺癌有明显抑制作用。丹参酮 II A 处理后的 ER 阳性乳腺癌 MCF-7 细胞的基因芯片分析结果显示:有 1.22% 的基因水平上调,0.71% 的基因水平下调;这些上调基因与细胞的增殖、凋亡、信号传导、转录调节有关;下调基因主要与凋亡和细胞外基质/黏附分子有关。Wang 等^[18]还应用丹参酮 II A 作用于雌激素受体阴性乳腺癌的裸鼠模型,结果显示较对照组瘤体体积平均缩小 44%。2006 年, Jin^[19]报道丹参酮 II A 对人 ER 阴性乳腺癌细胞具有生长抑制、凋亡诱导和多耐药逆转作用,其作用机制可能与抑制 DNA 合成、细胞周期阻滞、上调凋亡相关基因 ADPRTL 1、CYP1A1 及下调多耐药相关基因 BCRP/ABCG2 表达有关。因此,丹参酮 II A 的作用机制还有待进一步的探索和研究,希望应用到乳腺癌的临床治疗中。

综上所述,丹参酮作为天然中药可通过抑制肿瘤细胞增殖和 DNA 合成、诱导肿瘤细胞分化和凋亡、影响肿瘤细胞基因表达及端粒酶活性、影响 caspase 蛋白和膜表面蛋白等机制,对肿瘤细胞产生杀伤、诱导分化和凋亡、抑制侵袭和转移等作用。特别是丹参酮具有的诱导肿瘤细胞分化作用,有望使其成为一种高效、低毒的新型抗肿瘤药物应用于临床,从而为乳腺癌的治疗开辟了新的途径。

【关键词】 丹参酮; 乳腺癌

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Luo H W, Sun X R, Masatake N. Diterpenoids from *Salvia paramihiorrhiza*. *Heterocycles*, 1994, 38, 2473 - 2479.
- [2] Yuan S L, Song Y, Wang X J. The inhibiting effect of tanshinone II A on the growth of tumor cell lines in vitro. *West China J pharmaceutica*, 2003, 18, 327 - 329.
- [3] 张民庆, 龚惠明. 抗肿瘤中药的临床应用. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 256 - 258.
- [4] Ryu S Y. *In vitro* cytotoxicity of tanshinones from *Salvia mihiorrhiza*. *Planta Medical*, 1997, 63, 339 - 342.
- [5] Wu W L, Change W L, Chen C F. Cytotoxic activities of tanshinones against human carcinoma cell lines. *Am J Chin Med*, 1991, 19, 207 - 216.
- [6] Wang X J, Yuan S L, Huang R M. Effect of tanshinone on proliferation of cancer cells labeled by Brdu and PCNA. *J WCUMS*, 1996, 27, 388 - 391.
- [7] He J T, Zhou Q H, Yuan S L, *et al.* Apoptosis of lung cancer cell line induced by tanshinone II A and its molecular mechanism. *J Chin Lung Cancer*, 2002, 5, 257 - 259.
- [8] Yuan S L, Huang R M, Wang X J. Reversing effect of tanshinone on malignant phenotypes of human hepatocarcinoma cell line. *World J Gastroenterol*, 1998, 4, 317 - 319.
- [9] 郑燕彬, 王国红, 洪琛, 等. 丹参酮 II A 对人成骨肉瘤 MG-63 细胞增殖的抑制作用. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2006, 45, 1 - 3.
- [10] Huang G Q, Yuan S L, Zhou H Y. Tanshinone induces the differentiation of human cervical cancer ME180 cells. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 1996, 10, 285 - 289.

- [11] Liang Y, Yang Y M, Liu X. Terminal differentiation of human acute promyelocytic leukemia(APL) cells induced by tanshinone II A in primary culture. J WCUMS, 2000, 31: 207 - 210.
- [12] 袁淑兰, 黄韧敏, 宋毅, 等. 丹参酮 II A 对 HL-60 细胞系体外诱导分化作用的研究. 实用肿瘤杂志, 1997, 12: 253 - 255.
- [13] 刘志刚, 羊裔明, 孟文彤, 等. 丹参酮 II A 与全反式维甲酸协同诱导急性早幼粒细胞白血病细胞株的分化和凋亡. 四川大学学报(医学版), 2004, 35: 788 - 791.
- [14] 袁淑兰, 王艳萍, 陈晓禾, 等. 丹参酮 II A 诱导人鼻咽癌细胞凋亡及其分子机制的体外实验研究. 华西医科大学学报, 2002, 33: 84 - 86.
- [15] 唐忠志, 付立波, 唐瑛. 丹参酮 II A 抑制人肝癌细胞的生长及诱导其凋亡的实验研究. 第三军医大学学报, 2003, 25: 774 - 777.
- [16] Sung H J, Choi S M, Yoon Y, *et al.* Tanshinone IIA, an ingredient of *Sahia miltiorrhiza* BUNGE, induces apoptosis in human leukemia cell lines through the activation of caspase-3. Exp Mol Med, 1999, 31: 174 - 178.
- [17] 羊裔明, 刘霆. 丹参酮 II A 治疗耐全反式维甲酸的急性早幼粒细胞白血病 1 例报道. 四川大学学报(医学版), 2006, 37: 965 - 967.
- [18] Wang X J, Wei U Q. Potential anticancer activity of tanshinone IIA against human breast cancer. Int. J. Cancer, 2005, 116: 799 - 807.
- [19] Jin J, Wang X J. Growth inhibition and multi-drug resistance-reversing effect of tanshinone II A on human breast cancer cell with estrogen receptor negative. J Sichuan Univ (Med Sci Edi), 2007, 38: 391 - 395.

(收稿日期: 2007-11-22)

(本文编辑: 周艳)

张蒲容, 吕青. 丹参酮的抗肿瘤作用机制及抗乳腺癌的研究现状[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(4): 464 - 469.