

人参皂甙肠道细菌代谢物 Compound K 抗肿瘤研究进展

胡春综述, 宋刚, 胡天惠审校

关键词: Compound K; 肿瘤; 机制; 进展

中图分类号: R730.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2011)02-0221-03

0 引言

Compound K (2-O-beta-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol, CK), 又称为 IH-901 或 M1, 是二醇型人参皂甙如 Rb1、Rb2、Rc 等在肠道细菌作用下的最终代谢产物^[1]。研究证实, 口服人参皂甙后, 在血液中发现的是一种仅在 C-20 保留一个葡萄糖的次生皂甙, 这就是 CK^[2]。近年来, 国内外学者对 CK 进行了一系列的相关研究, 发现它在抗肿瘤、抗炎、抗衰老和保肝等方面均表现出较高活性。与此相关的研究正活跃在神经系统疾病^[3]、皮肤病^[4]、内分泌疾病^[5]及消化系统疾病^[6]等领域。其中, CK 在抗肿瘤方面所具有的药理价值尤其引人注目, 它在抗肿瘤药物的研发中显示出极大潜力。

1 CK 的抗肿瘤作用

大量研究证实, CK 具有广泛的抗肿瘤作用。Wakabayashi 等^[7]发现 CK 对小鼠黑色素瘤细胞 B16-BL6 的增殖抑制效应呈时间-剂量依赖关系。Lee 等^[8]用 CK 处理人早幼粒细胞白血病细胞 HL-60 后发现, CK 对该细胞的 IC_{50} 为 24.3 μ M, 且当处理时间达到 96h 时, 表现出明显的细胞毒效应。Choi 等^[9]的研究结果证实了 CK 对八种人骨髓瘤细胞具有增殖抑制效应。Ming 等^[10]同样发现 CK 对人肝细胞癌细胞 SMMC7721 表现出时间-剂量依赖关系的抑制作用。此外, CK 还对肺癌^[11]、大肠癌^[12]、神经胶质瘤^[13]等肿瘤细胞表现出明显的抑制作用。

2 CK 的抗肿瘤机制

2.1 CK 诱导肿瘤细胞凋亡

诱导肿瘤细胞凋亡, 是目前很多抗肿瘤药物的重要作用机制。研究证实, CK 可以有效的诱导多种肿瘤细胞凋亡。Wakabayashi 等^[7]发现当 CK 浓度达到 40 μ M 时, 能够在 24h 内引起 B16-BL6 细胞发生凋亡。Lee 等^[8]观察经 CK 处理后荧光染色的 HL-60 细胞, 发现细胞呈现染色质凝聚、细胞皱缩及核断裂等典型的细胞凋亡形态学改变, 酶免疫测定法和流式细胞术检测结果进一步证实了凋亡的存在。Choi 等^[9]证实 CK 具有诱导人骨髓瘤细胞凋亡的能力。Ming 等^[10]也发现 CK 可以诱导 SMMC7721 细胞凋亡。Park 等^[14]的研究同样显示, CK 能够有效诱导 SV-40 转染的大鼠星状肝细胞发生凋亡。

在 CK 诱导肿瘤细胞凋亡的分子机制方面, Wakabayashi 等^[7]发现, 在 B16-BL6 细胞中, CK 可以迅速地上调 p27 kip1, 而下调 σ Myc 和 cyclin D1 的表达水平。Lee 等^[8]认为 CK 是通过激活 Caspase 3 蛋白酶而引起细胞线粒体细胞色素 C 的释放来诱导 HL-60 细胞凋亡的。Oh 等^[15]对 CK 诱导肝癌细胞凋亡的分子机制进行了较为全面的研究。他们发现, 用 CK 处理肝癌细胞 HepG2 后, 线粒体膜电位下降和细胞色素 C 释放到细胞质, Caspase 3、Caspase 8 和 Caspase 9 被激活, p53 和 Bax 的表达水平升高, PARP 水解作用增强。CK 还引起 Bid 被 Caspase 8 剪切, 剪切后所形成的 tBid 被转运到线粒体内进一步促进细胞色素 C 的释放。他们还发现, 用 CK 处理 HepG2 细胞 18h 后, 胞内 Fas/Fas L 的 mRNA 和蛋白水平明显下降, 而在细胞培养液中则检测出可溶性 Fas L 水平升高。Cho 等^[16]对 CK 诱导人早幼粒细胞白血病细胞株 HL-60 凋亡的研究证实, Caspase-8 在其直接激活 Caspase 3 或间接通过 Bid 剪切、细胞色素 C 释放及 Caspase 9 激活的途径参与凋亡调节中, 起着关键性

收稿日期: 2010-01-11; 修回日期: 2010-03-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30971524)

作者单位: 361005 福建厦门, 厦门大学医学院抗癌研究中心

通信作者: 胡天惠, E-mail: thu@xmu.edu.cn; 宋刚, E-mail: gongsongsd@hotmail.com

作者简介: 胡春 (1982), 男, 硕士在读, 主要从事消化系统肿瘤诊断与治疗的研究

的作用。Choi 等^[17]对人星形细胞瘤的研究证实了 CK 可以通过调节各种不同的信号通路来提高 Fas 介导的细胞凋亡水平。Kim 等^[18]还发现, CAMK-IV/AMPK 通路参与调节了 CK 诱导大肠癌细胞 HT-29 的凋亡过程。另外, Yim 等^[19]的研究则表明, COX-2 能够抑制 CK 诱导的肿瘤细胞凋亡。

2.2 CK 抑制肿瘤细胞的侵袭转移

肿瘤细胞的侵袭转移性是其区别于正常细胞的一个重要特征。抑制肿瘤细胞的侵袭转移已成为抗肿瘤研究的热点。Wakabayashi 等^[20]的研究结果表明, CK 能在小鼠体内抑制黑色素瘤细胞 B16-BL6 肺转移和在体外抑制肿瘤细胞的侵袭与转移。Hasegawa 等^[21]研究发现, CK 可以抑制人纤维肉瘤细胞 HT1080 侵袭基底膜生长。他们将 Lewis 肺癌细胞注射到同源 C57BL/6 小鼠皮下, 以此建立自发性肺转移模型, 并同时给予 CK 和 5-Fu 进行对比治疗。结果发现, CK(10mg/kg) 不能有效地抑制肿瘤形成, 却表现出明显的抑制肿瘤转移作用, 与 5-Fu 治疗组 56% 的转移率相比, CK 显示出较好的抑制肿瘤转移效果。Jung 等^[13]对人额叶星型胶质瘤细胞 U87MG 的研究发现, CK 能够显著地抑制由 PMA 诱导的 U87MG 在体外的侵袭性。Choo 等^[12]还发现, CK 可以抑制 TNF- α 介导的小鼠结肠癌转移。

关于 CK 抑制肿瘤细胞侵袭转移的分子机制, Hasegawa 等^[21]发现 CK 抑制了 HT1080 细胞分泌 IV 型胶原酶和血小板凝集作用。Jung 等^[13]的研究表明, CK 抑制了 MMP-9 基因的启动子活性, 从而降低 MMP-9 mRNA 水平, 以此达到降低 PMA 诱导的 MMP-9 表达与分泌的目的。Choo 等^[12]的研究发现, CK 通过抑制 TNF- α 介导的 MMP-9 mRNA 的表达, 而对 TNF- α 介导的 MMP-2 mRNA 表达水平则无显著影响。这些结果说明, CK 能够通过下调 NF- κ B 信号通路的激活而选择性地抑制 MMP-9。

2.3 CK 抑制肿瘤血管生成

抑制肿瘤血管生成可以有效地抑制肿瘤细胞生长和转移。Suda 等^[22]的研究表明, CK 通过抑制血管生成, 从而对转移至肝脏的结肠癌细胞 26-L5 生长具有显著的抑制作用。他们发现, 26-L5 细胞的条件培养基 CM-L5 在体外能够通过 VEGF 诱导肝窦内皮(HSE)细胞的管腔形成, 这被认为是肝内肿瘤血管生成的重要步骤。无毒剂量的 CK 即能抑制 CM-L5 的该活性, 阻碍 HSE 细胞的增殖与管腔形成, 以此抑制肿瘤血管的生成, 达到抑制肿瘤生长和转移的目的。

2.4 CK 引起肿瘤细胞周期阻滞

细胞周期调控机制和肿瘤发生、发展的研究使人们已经清楚地意识到肿瘤是一类细胞周期疾病。针对这个结论, 利用各种手段使肿瘤细胞发生细胞周期阻滞, 正成为一种新的肿瘤治疗策略。Kang 等^[23]研究发现, 经 CK 处理后的 U937 细胞显示出 p21 表达增多, 从而抑制 cyclin D、cdk4 和 cyclin E 的活化, 并诱导 JNK 和转录因子 AP-1 的激活, 使 U937 细胞在 G₁ 期发生阻滞。Yim 等^[19]的研究结果也指出, 用 CK(40 μ M) 处理 48h, 可以使 Hsp3B、MDA-MB-231、Hs578T 和 MKN28 等细胞发生 G₁ 期阻滞。另外, Ming 等^[10]也发现, CK 可以致使 SMMC7721 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期。

2.5 CK 逆转肿瘤细胞耐药性

化疗作为目前肿瘤临床治疗的重要手段之一, 常因肿瘤细胞产生耐药性而失败。研究表明, CK 可以有效地逆转肿瘤细胞耐药性。Hasegawa 等^[24]发现, 道诺霉素和长春碱分别与 CK 联用后, 能不同程度地增强两者对耐阿霉素白血病细胞 P338 的细胞毒性, 其效果分别为单用的 4~46 倍和 2~37 倍。Lee 等^[11]的研究显示, CK 对人肺癌细胞 PC-14 的 IC₅₀ 为 25.9 μ M, 这个值显著地高于 CDDP 对 PC-14 的 IC₅₀。而对人肺癌细胞株耐顺铂亚系 PC/DDP, CK 与 CDDP 的 IC₅₀ 则分别为 20.3 μ M 和 60.8 μ M。这个结果表明, CK 对 CDDP 耐受型肺癌细胞具有明显的抑制作用, 而且不与 CDDP 发生交叉耐药性。

2.6 CK 诱导 DNA 损伤修复

DNA 损伤是正常细胞发生恶变从而导致肿瘤发生的一个重要机制。Cai 等^[25]研究证实, CK 对经 UVB 辐照诱导凋亡的 HaCaT 细胞具有保护效应。他们发现, HaCaT 细胞在暴露于 UVB 环境 12h 后, 随着 CK 处理浓度的增加, 环丁烷嘧啶二聚体的表达量逐渐减少。作为核苷酸切除修复的两个代表蛋白, XPC 和 ERCC1 的表达量则随着 CK 浓度的增加而增加。这些结果充分说明了, CK 能够通过诱导 DNA 损伤修复来抑制紫外辐照诱导的细胞凋亡。

2.7 CK 的放射增敏效应

肿瘤的综合治疗是现代肿瘤学临床治疗的新突破, 实践已证明, 它是目前行之有效的治疗策略, 并将成为今后一个时期肿瘤临床治疗的发展方向。Chae 等^[26]用 CK 预处理人肺癌细胞 NCFH460 后, 发现 γ 射线诱导的细胞凋亡水平被显著提高。同时, 他们还建立了裸鼠皮下移植瘤的动物模型, 体内实验的结果与体外研究的结论一致。这一研究结果提示, CK 很可能具有放射增敏剂的研发价值。

3 问题与展望

综上所述, CK 可以通过一系列的机制来发挥其抗肿瘤作用。这些机制既独立存在又相互联系, 例如, CK 诱导肿瘤细胞凋亡常伴随着引起细胞周期阻滞^[10]; CK 抑制肿瘤血管生成可以达到抑制肿瘤细胞侵袭转移的目的^[22]。目前, 对于 CK 的抗肿瘤研究仍然有限, 大多数的研究仅仅揭示了 CK 具有抗肿瘤的药理作用, 对于其机制的研究更多地停留于细胞学水平, 且进行的体内研究偏少, 这十分不利于全面阐明 CK 的抗肿瘤作用机制。另一方面, 我们欣喜地看到, 随着对 CK 研究的不断深入, 它的一些抗肿瘤新机制正在涌现, 如 CK 诱导 DNA 损伤修复^[25], CK 的放射增敏效应^[29]。特别是近年来, 一些研究人员致力于寻求抗肿瘤药物的分子靶点, 这将极大的推动 CK 作为抗肿瘤药物的研发进程。

参考文献:

[1] A kao T, Kida H, Kanaoka M, et al. Intestinal bacterial hydrolysis is required for the appearance of compound K in rat plasma after oral administration of ginsenoside Rb1 from Panax ginseng[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1998, 50(10): 1155-1160.

[2] Lee J, Lee E, Kim D, et al. Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(1): 143-148.

[3] Choi K, Kim M, Ryu J, et al. Ginsenosides compound K and Rh(2) inhibit tumor necrosis factor alpha induced activation of the NF kappaB and JNK pathways in human astroglial cells[J]. *Neurosci Lett*, 2007, 421(1): 37-41.

[4] Shin YW, Bae EA, Kim SS, et al. Effect of ginsenoside Rb1 and compound K in chronic oxazolone induced mouse dermatitis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(7-8): 1183-1191.

[5] Yoon SH, Han EJ, Sung JH, et al. Anti-diabetic effects of compound K versus metformin versus compound K+metformin combination therapy in diabetic db/db mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(11): 2196-2200.

[6] Kim do Y, Yuan HD, Chung IK, et al. Compound K, intestinal metabolite of ginsenoside, attenuates hepatic lipid accumulation via AMPK activation in human hepatoma cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(4): 1532-1537.

[7] Wakabayashi C, Murakami K, Hasegawa H, et al. An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxadiol saponins has the ability to induce apoptosis in tumor cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246(3): 725-730.

[8] Lee SJ, Ko WG, Kim JH, et al. Induction of apoptosis by novel intestinal metabolite of ginseng saponin via cytochrome c mediated activation of caspase 3 protease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60(5): 677-685.

[9] Choi HH, Jong HS, Park JH, et al. A novel ginseng saponin metabolite induces apoptosis and down regulates fibroblast growth factor receptor 3 in myeloma cells[J]. *Int J Oncol*, 2003, 23(4): 1087-1093.

[10] Ming YL, Song G, Chen LH, et al. Anti-proliferation and apoptosis induced by a novel intestinal metabolite of ginseng saponin in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31(10): 1265-1273.

[11] Lee SJ, Sung JH, Lee SJ, et al. Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcino-

ma cells resistant to cisplatin[J]. *Cancer Lett*, 1999, 144(1): 39-43.

[12] Choo MK, Sakurai H, Kim DH, et al. A ginseng saponin metabolite suppresses tumor necrosis factor alpha promoted metastasis by suppressing nuclear factor kappaB signaling in murine colon cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2008, 19(3): 595-600.

[13] Jung SH, Woo MS, Kim SY, et al. Ginseng saponin metabolite suppresses phorbol ester induced matrix metalloproteinase 9 expression through inhibition of activator protein 1 and mitogen activated protein kinase signaling pathways in human astrogloma cells[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(2): 490-497.

[14] Park EJ, Zhao YZ, Kim J, et al. A ginsenoside metabolite, 20-O-beta-D-glucopyranosyl 20(S)-protopanaxadiol, triggers apoptosis in activated rat hepatic stellate cells via caspase 3 activation[J]. *Planta Med*, 2006, 72(13): 1250-1253.

[15] Oh SH, Lee BH. A ginseng saponin metabolite induced apoptosis in HepG2 cells involves a mitochondria mediated pathway and its downstream caspase 8 activation and Bid cleavage[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2004, 194(3): 221-229.

[16] Cho SH, Chung KS, Choi JH, et al. Compound K, a metabolite of ginseng saponin, induces apoptosis via caspase 8 dependent pathway in HL-60 human leukemia cells[J]. *BMJ Cancer*, 2009, 9: 499.

[17] Choi K, Choi C. Proapoptotic Ginsenosides Compound K and Rh Enhance Fas-induced Cell Death of Human Astrocytoma Cells Through Distinct Apoptotic Signaling Pathways[J]. *Cancer Res Treat*, 2009, 41(1): 36-44.

[18] Kim do Y, Park MW, Yuan HD, et al. Compound K induces apoptosis via CAMK-IV/AMPK pathways in HT-29 colon cancer cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(22): 10573-10578.

[19] Yim HW, Jong HS, Kim TY, et al. Cyclooxygenase 2 inhibits novel ginseng metabolite mediated apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(5): 1952-1960.

[20] Wakabayashi C, Hasegawa H, Murata J, et al. In vivo anti-metastatic action of ginseng protopanaxadiol saponins is based on their intestinal bacterial metabolites after oral administration[J]. *Oncol Res*, 1997, 9(8): 411-417.

[21] Hasegawa H, Sung JH, Huh JH, et al. Ginseng intestinal bacterial metabolite IH901 as a new anti-metastatic agent[J]. *Arch Pharm Res*, 1997, 20(6): 539-544.

[22] SUDA K, MURAKAMI K, MURATA J, et al. An intestinal bacterial metabolite (M1) of ginseng protopanaxadiol saponins inhibits tumor induced neovascularization[J]. *J Trad Med*, 2000, 17(4): 144-150.

[23] Kang KA, Kim YW, Kim SU, et al. G1 phase arrest of the cell cycle by a ginseng metabolite, compound K, in U937 human monocytic leukemia cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(6): 685-690.

[24] Hasegawa H, Sung JH, Matsumiya S, et al. Reversal of daunomycin and vinblastine resistance in multidrug-resistant P388 leukemia in vitro through enhanced cytotoxicity by triterpenoids[J]. *Planta Med*, 1995, 61(5): 409-413.

[25] Cai BX, Luo D, Lin XF, et al. Compound K suppresses ultraviolet radiation induced apoptosis by inducing DNA repair in human keratinocytes[J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(11): 1483-1488.

[26] Chae S, Kang KA, Chang WY, et al. Effect of compound K, a metabolite of ginseng saponin, combined with gamma ray radiation in human lung cancer cells in vitro and in vivo[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(13): 5777-5782.

[编辑:刘红武;校对:周永红]