

- [J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(4): 487-490
- 9 郁相云, 钟建华, 张旭, 等. 中药三七对血液系统的药理活性研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(12): 249
- 10 张玉萍, 余琼. 三七素的止血活性及其神经毒作用实验研究[J]. 山东中医杂志, 2009, 29(1): 44
- 11 冯冰虹, 徐位良, 李娟好, 等. 复方三七浸膏对增强苯肾上腺素收缩大鼠的主动脉环和降低兔的血小板黏附性的作用机理[J]. 广东药学, 2005, 15, (4): 59-62
- 12 喻林华, 王元清, 曾献. 三七伤药片的抗凝血药理作用研究[J]. 中医导报, 2007, 13(9): 19-20
- 13 张志军, 江文, 万群. 人参皂苷 Rg1 扩张兔基底动脉作用及其机制[J]. 心脏杂志, 2003, 15(4): 313
- 14 冯陆冰, 潘西芬, 孙泽玲, 等. 三七的药理作用研究进展[J]. 中国药师, 2008, 11(10): 1185-1187
- 15 王芳, 刘育英, 刘涟伟, 等. 三七总皂苷、三七皂苷 R1、人参皂苷 Rb1、人参皂苷 Rg1 对光学反应诱导的大鼠肠系膜细静脉血栓的抑制作用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(3): 106-110
- 16 张壮, 闫彦芳, 韦颖, 等. 参麦注射液及人参皂苷 Rb1、Rg1 抗神经、血管内皮、星形胶质细胞缺氧、缺糖损伤的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(3): 27-30
- 17 詹合琴, 李平法, 杨锦南, 等. 三七皂苷 Rg1 对 t-PA 和 PAI-1 水平的影响[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(7): 869-872
- 18 华声瑜, 曲凤, 陈丽平, 等. 人参皂苷 Rg1 对血小板聚集及环磷腺苷的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(1): 31-33
- 19 马珂, 汤金土. 三七总甙的实验研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2002, 12(3): 197-199
- 20 项耀祖, 商洪才, 张伯礼. 抗血小板中药研究进展[J]. 中草药, 2008, 39(2): 290-294
- 21 韩淑燕, 李海霞, 文宗耀, 等. 三七总皂苷对急性血瘀大鼠血液流变学的改善作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(3): 183-187
- 22 刘丽萍. 三七总皂苷治疗高脂血症伴高血黏度临床观察[J]. 药物与临床, 2006, 14(1): 66-67
- (收稿日期: 2012-03-30)
- (修回日期: 2013-04-07)

藻蓝蛋白抗肿瘤及其作用机制研究进展

张晓平 李慧芬 黄润芸 田景振

藻蓝蛋白(phyococyanin, PC)从藻类中提取,是来自真核藻类的一种捕光色素蛋白,捕光效能高,属于藻胆蛋白的一种,在螺旋藻中含量较高,主要由 α 和 β 两种亚基组成,天然状态下多以杂聚体形式存在。研究表明,藻蓝蛋白在抗肿瘤、抗氧化、提高机体免疫力等方面有着很高的活性,有极大开发成为药物的潜力^[1,2]。近年来在海洋生物中寻找高效、低毒、不良反应小的抗肿瘤药物已引起了国内外研究者的重视。现对藻蓝蛋白的抗肿瘤作用及其相关机制做一综述,为天然药物新领域研发和新药开发提供相关依据。

一、诱导肿瘤细胞凋亡

研究表明肿瘤的发生更多是细胞凋亡受到抑制的结果,细胞凋亡是细胞受基因调控的程序性死亡,已报道^[3,4]有大量基因可促进或者抑制细胞凋亡发生,一类为促凋亡基因,如 p53 抑癌基因、促凋亡基因 Fas、核转录因子 NF- κ B 和 c-myc 癌基因等基因,另一类为抑制凋亡基因,如 Bcl-2 基因家族。

1. 通过活性氧自由基促凋亡: Bobbili 等^[5]研究

发现藻蓝蛋白介导的细胞凋亡是通过活性氧自由基的产生进行的,自由基消除剂能够抑制藻蓝蛋白介导的 AK-5 肿瘤细胞的凋亡。Bcl-2 转录的 AK-5 肿瘤细胞对于藻蓝蛋白介导的细胞凋亡有抑制作用, Bcl-2 过度表达能抑制藻蓝蛋白处理过的 AK-5 肿瘤细胞活性氧簇产量,这证明藻蓝蛋白参与介导 AK-5 细胞的细胞凋亡,它通过调节自由基表达进行抑制。因而天然藻蓝蛋白有可能通过对肿瘤细胞凋亡发挥作用成为抗肿瘤的一种手段。

2. 通过促进 CD59 基因表达促凋亡: CD59 为补体调节蛋白,与创伤、免疫和肿瘤的发生关系密切,能很好地保护血液细胞。李冰等^[6,7]发现不同剂量的藻蓝蛋白对含有 CD59 基因的 HeLa 细胞具有抗肿瘤作用,藻蓝蛋白能够促进 CD59 蛋白的表达并减慢 HeLa 癌细胞的再生,且作用效果与藻蓝蛋白的含量有关,二者呈正相关,这种作用对正常细胞几乎没有伤害,对肿瘤细胞抑制作用较好,可促进 HeLa 细胞表面 CD59 分子高效表达,抑制 HeLa 细胞增殖,藻蓝蛋白可能做为一种有丝分裂源,与肿瘤表面有丝分裂的受体相结合,经过受体的交联与蛋白激酶的活化促进细胞内的 CD59 基因转录表达,诱发死亡结构域活

作者单位: 250355 济南, 山东中医药大学药学院

通讯作者: 田景振, 教授, 博士生导师, 电子信箱: tianjingzhen@

163.com

化,抑制肿瘤细胞增殖,从而促进肿瘤细胞凋亡。藻蓝蛋白的 β 亚基具有抗癌作用^[8],能够通过增加细胞凋亡关键酶 caspase - 3 和 caspase - 8 活性来激活细胞凋亡信号,使细胞发生不可逆转的死亡。藻蓝蛋白对树突状细胞 (CBDC) 激活细胞因子诱导的杀伤细胞 (CIK) 杀伤肝癌细胞具有影响,可能通过促进 CSDC 表达 CD86 和 CD83 促其成熟,提高 CBDC - CIK 杀伤肝癌细胞的功能^[9]。

3. 通过抑制 COX - 2 促凋亡:环氧化物酶 - 2 (COX - 2) 在炎症和肿瘤细胞中表达较高,COX - 2 抑制剂可抑制肿瘤细胞的生长和肿瘤血管的生成,从而诱导细胞凋亡。研究表明^[10],藻蓝蛋白通过选择性抑制 COX - 2 活性达到促进肿瘤细胞凋亡的作用。藻蓝蛋白对脂多糖诱导的巨噬细胞的凋亡有一定作用,对接种 H₂₂ 细胞小鼠的肿瘤生长及 COX - 2、血管内皮生长因子 (VEGF)、增殖细胞核抗原 (PCNA) 表达的具有影响,藻蓝蛋白作用的细胞出现典型的细胞核缩合,且一定浓度的藻蓝蛋白也会使细胞表现出 DNA 浓缩的现象,应用藻蓝蛋白治疗的细胞在有关聚合酶断裂的研究中也有所表现,呈现出一定的裂解模式,藻蓝蛋白降低肿瘤细胞前列腺素 (PEG₂) 的水平,使 COX - 2 的含量降低从而引起细胞凋亡,且对脂多糖 (LPS) 诱导的吞噬细胞株增殖抑制作用与藻蓝蛋白的剂量有关,呈现剂量依赖性。

4. 通过影响细胞色素 C 促凋亡:Subhashini 等^[11]认为藻蓝蛋白能够诱导慢性白细胞系 K562 凋亡,使线粒体中的细胞色素 C 释放到细胞质中,DNA 修复酶 PARP 裂解,同时 Bcl - 2 表达下降从而诱导细胞凋亡。Miroslav 等^[12]发现藻蓝蛋白在人肝癌细胞介导的光动力疗法中可以有效抑制肝癌细胞 HepG₂ 增殖,微囊藻蓝蛋白定位于线粒体,可以诱导活性氧积聚,导致线粒体损伤,线粒体细胞色素 C 释放到细胞质中,活化 caspase - 3 并使细胞停留在 G₂/M 期,导致细胞凋亡,这种凋亡有可能与线粒体释放细胞色素 C 及 Bcl - 2 表达有关。采用 MTT 法检测藻蓝蛋白对 HeLa 细胞增殖影响,电镜观察细胞形态,凝胶电泳观察凋亡细胞 DNA 结构,结果显示凋亡细胞 DNA 断裂呈梯状,藻蓝蛋白能促进 HeLa 细胞内促凋亡基因 Fas、ICAM - 1 的表达,抑制抗凋亡基因 Bcl - 2 的表达,促进细胞凋亡信号的转导,同时能够激活 caspase 酶并可促进凋亡蛋白 - 细胞色素 C 由线粒体转至细胞质,通过促进凋亡信号在肿瘤细胞内的转导而杀死肿瘤^[13]。

二、抑制肿瘤细胞增殖

李冰等^[6]和王勇等^[14]用流式细胞技术对经藻蓝蛋白处理的 HeLa 细胞的细胞周期进行检测,发现藻蓝蛋白使 HeLa 细胞由 S、G₂、M 期向 G₁ 期转变、积聚,说明藻蓝蛋白使肿瘤细胞 DNA 合成逐步衰减,这可能是藻蓝蛋白抑制癌细胞增殖生长的机制。有研究发现,C - 藻蓝蛋白的 β 亚基可在大肠杆菌中表达,表达后发现重组体 C - 藻蓝蛋白 β 亚基具有一定的抗癌活性,使用一定浓度的重组体 C - 藻蓝蛋白 β 亚基作用后,不同癌细胞株的增殖情况均出现明显的抑制现象,同时细胞发生不同程度的凋亡,对照表明正常细胞反应较小^[15]。另外,重组体 C - 藻蓝蛋白 β 亚基能够使肿瘤细胞停止在 G₀ 和 G₁ 期,重组体 C - 藻蓝蛋白 β 亚基能够抑制癌细胞增殖,诱导细胞凋亡,其可能会成为一种有效预防和治疗癌症方法。藻蓝蛋白体内抗癌实验也有研究,基因重组别藻蓝蛋白腹腔注射或灌胃给药对小鼠 S180 实体瘤均具有抑制作用,可能与 TNF 和其他免疫分子、细胞因子间相互作用而呈现免疫调节和抑制肿瘤细胞生长的作用^[16]。钝顶螺旋藻藻蓝蛋白对百枯草染毒诱导大鼠肺纤维化具有一定抑制作用,可能与组织中转化生长因子 - β_1 (TGF - β_1) 核因子 - κ B 亚基 p65 (NF - κ B p65) 及肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 的表达有关^[17]。

光固定化藻蓝蛋白也具有一定的抗癌作用,光固定化藻蓝蛋白能避免被细胞内吞消耗,可以与细胞表面受体长时间接触,提高对癌细胞的抑制率,对肝癌细胞及人胰腺癌细胞均有抑制作用,在低浓度时对肝癌抑制效果较好,其抑癌作用并不与浓度呈正相关^[18]。藻蓝蛋白具有光敏作用,无不良反应,将人的大肠癌细胞株用藻蓝蛋白处理后,采用一定波长的铜激光辐照后检测癌细胞的成活率较低,表明藻蓝蛋白具有光敏抑癌作用,该作用可能与其分子结构有关。另外,藻蓝蛋白酶解物也具有抗肿瘤作用,且酶解产物的抗肿瘤活性较酶解前的藻蓝蛋白作用增强,同时从其酶解产物中分离的色素肽对小鼠 S180 实体瘤小鼠光动力疗法效果较好,可能与诱发细胞凋亡的途径有关,为藻蓝蛋白的进一步加工提供依据^[19]。

三、增强机体免疫力抑制肿瘤细胞

动物实验表明,藻胆蛋白能提高淋巴细胞的活性,通过淋巴系统增强免疫功能,全面增强机体的防病,抗病能力。藻蓝蛋白能够发挥免疫调节作用,Rauül 等^[20]研究发现藻蓝蛋白和藻红蛋白混合提取组分 (PF) 及纯化的藻蓝蛋白,藻红蛋白对大鼠原代

脾细胞,巨噬细胞,T细胞体外影响时发现藻蓝蛋白可以显著抑制促炎性因子的生成。藻蓝蛋白进入人体内后刺激T、B淋巴细胞,使其活化、增殖并分化成效应T细胞和浆细胞,Fas与配体FasL结合,一方面促使细胞凋亡,另一方面,产生更多的抗体,并经此增加机体细胞免疫与体液免疫功能,全面的增强机体免疫力。因为T细胞能分泌颗粒酶、穿孔素以及促进细胞的凋亡域形成,所以能杀伤肿瘤细胞。另外藻蓝蛋白能促使荷瘤小鼠分泌肿瘤坏死因子(TNF),其除了直接杀灭肿瘤细胞,还增强了其他淋巴细胞的活性、淋巴因子的分泌与免疫分子的形成。因此藻蓝蛋白可能是通过TNF和其他可溶性免疫分子、细胞因子之间相互诱导而形成的免疫网络来实现杀伤肿瘤细胞和免疫调节。

采用藻蓝蛋白介导的光动力疗法对小鼠HeLa细胞瘤及乳腺癌治疗的免疫和凋亡机制进行相关研究^[21,22],发现藻蓝蛋白介导的光动力疗法能增强小鼠机体免疫力,免疫细胞上的配体FasL与Fas结合,通过激活caspase启动HeLa细胞内的凋亡信号转导通路诱导细胞凋亡,从而抑制肿瘤生长,可以作为一种光敏剂启动乳腺癌细胞内的凋亡信号转导诱导细胞凋亡。周桃等^[23]制备的聚乙二醇(PEG)修饰的藻蓝蛋白亚基脂质体(PEG-PCS-lip)对乳腺癌细胞的生长具有抑制作用,PEG能够增强PCS在肿瘤细胞聚集的靶向性,提高光动力学疗效。

四、展 望

藻蓝蛋白具有明显抑制肿瘤生长的作用,无毒、高效,其抑制肿瘤的作用机制方面较为复杂,认识尚未充分,有待于进一步阐明。同时藻蓝蛋白属于藻胆蛋白的一类,藻蓝蛋白因其广泛的作用越来越受到重视,大量针对藻蓝蛋白及其生物活性的研究表明,天然藻蓝蛋白在抗肿瘤、抗氧化、消炎以及消除体内自由基保护机体等方面有着很高的活性,既可广泛应用于食品、染料、化妆品等行业,也可以做荧光试剂、探针或示踪物质应用于临床诊断、生物化学工程等领域中,但在功能性食品的开发中尚不多见,作为药品开发现代文献研究较少,有着极大的开发为药物的潜力。

虽然藻蓝蛋白用途广泛,但是含量较低,稳定性差,易失活。以天然藻蓝蛋白为对象进行药物开发存在着许多问题,比如成本高、杂质多、周期长,所含活性肽含量较低且提取纯化仍有一定难度,可对藻类蛋白进行相应酶解,提高利用率以增强其广泛的药理作

用。随着重组DNA技术的发展,胞内基因工程产物如人生长激素、白细胞介素及干扰素等的数量不断增加。新型基因重组藻蓝蛋白可通过基因工程表达出来,通过新的基因方法将藻蓝蛋白进一步广泛开发,实现天然药物更深层次地研究,以便充分体现其在药品、食品等各方面的价值,更好地为人类服务。

参考文献

- 1 陈新美,王晓华.螺旋藻藻蓝蛋白的稳定性及抗癌活性研究[J].氨基酸和生物资源,2006,28(1):59-62
- 2 赵艳景,胡虹,王颖.藻蓝蛋白生理活性及作用机制研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(11):6332-6333,6490
- 3 Choi SE, Sohn S, Cho JW, *et al.* 9-Hydroxypheophorbide α -induced apoptotic death of MCF-7 breast cancer cells is mediated by c-Jun N-terminal kinase activation[J]. J Photochem Photobiol B, 2004, 73(1-20):101-107
- 4 Cao B, Lei ZY, Chen HX, *et al.* YB-13, a novel synthetic microtubule inhibitor, induces apoptosis of HeLa cells and its mechanism[J]. Chin Pharmacol Bull, 2008, 24(1):123-127
- 5 Bobbili VV, Pardhasaradhi, Mubarak A, *et al.* Phycocyanin-mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2003, 2:1165-1170
- 6 李冰,张学成,高美华,等.藻蓝蛋白对HeLa细胞CD59基因表达调控作用的研究[J].高技术通讯,2006,16(2):196-200
- 7 李冰.钝顶螺旋藻/节旋藻藻蓝蛋白的提取纯化及抗肿瘤免疫效应研究[D].青岛:中国海洋大学,2006
- 8 Wang H, Liu YD, Gao X, *et al.* The recombinant β subunit of C-phycocyanin inhibits cell proliferation and induces apoptosis[J]. Cancer Letters, 2007, 247(1):150-158
- 9 朱必胜,曾波航,侯开连,等.藻蓝蛋白提高CBDC-CIK杀伤肝癌细胞功能的实验研究[J].实用肿瘤学杂志,2013,27(1):1-5
- 10 徐清燕,梁慧,秦松.重组别藻蓝蛋白对小鼠H₂₂肿瘤生长及COX-2、VEGF和PCNA表达的影响[J].青岛大学医学院学报,2010,46(1):22-25
- 11 Subhashini J, Mahipal SVK, Reddy MC, *et al.* Molecular mechanisms in C-phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line - K562[J]. Biochemical Pharmacology, 2004, 68:453-462
- 12 Miroslav G, Dragan S C, Sonja D C, *et al.* Isolation, characterization and antioxidative activity of C-phycocyanin from *Limnithrix sp.* strain 37-2-1[J]. Journal of Biotechnology, 2012, 159:21-26
- 13 李冰,褚现明,高美华,等.钝顶螺旋藻藻蓝蛋白诱导HeLa细胞凋亡的分子机制研究[J].中国药理学通报,2009,25(8):1045-1050
- 14 王勇,钱峰,钱凯先,等.藻蓝蛋白的抗癌活性研究[J].浙江大学学报,2001,35(60):672-675
- 15 Wang HZ, Liu YD, Gao XL, *et al.* The recombinant β subunit of C-phycocyanin inhibits cell proliferation and induces apoptosis[J]. Cancer Letters, 2007, 247(1):150-158

(下转第41页)