

芹菜素抑制肿瘤细胞增殖机制研究进展

陈宁 叶丽红

【摘要】 本文通过参考近年来对芹菜素抑制肿瘤细胞增殖作用的研究的相关文献,于芹菜素对肿瘤细胞的增殖抑制作用机制做了归纳和探讨。研究发现,芹菜素对多种癌细胞都有抑制其生长和促使其凋亡的作用,其对各种癌细胞作用的机理研究已经深入到细胞和分子水平,包括对细胞凋亡和周期相关基因的调控,对细胞周期 G0/G1, S 及 G2/M 期的阻滞,对与凋亡相关的线粒体途径和非线粒体途径的各种酶和蛋白表达的影响,抑制肿瘤细胞血管生成以及增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性等。芹菜素抑制肿瘤细胞增殖机理值得我们深入探索,其作为一种自然界广泛存在的抗癌化合物具有广阔的应用前景。

【关键词】 芹菜素; 癌细胞; 抑制增殖; 机制

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.02.023

Mechanism of apigenin's inhibition of cancer cell proliferation : Review of Progress CHEN Ning, YE Li-hong. Nanjing university of traditional Chinese medicine, Nanjing 210046, China
Corresponding author: YE Li-hong, E-mail: cocolihongye@126.com

【Abstract】 In this paper, the mechanism of apigenin's inhibition of cancer cell proliferation was summarized and discussed with the reference of relevant literatures of inhibition in recent years. The research showed that apigenin had the effects of inhibition of proliferation and cell apoptosis induction on various kinds of cancer cells and the mechanism was further concentrated on the cellular and molecular levels such as regulating cell gene related to cell cycle and apoptosis, blocking cell cycle of G0/G1, S and G2/M stage, influencing the expression of protein and kidney related to mitochondrial or non-mitochondrial control of apoptosis, inhibiting tumor angiogenesis and increasing the sensitivity of tumor cells to chemotherapy drugs. The mechanism of apigenin's inhibition of cancer cell proliferation is worth our further exploration. Apigenin has broad application prospects as an anticancer compound widely distributed in nature.

【Key words】 Apigenin; Cancer cells; Inhibition of proliferation; Mechanism

芹菜素 (apigenin, API) 又称芹黄素, 是一种天然的黄酮类化合物, 广泛存在于自然界中, 以植物黄色素的形式在茶叶、蔬菜、水果和香料中广泛分布, 中药如地钱、西藏雪莲花、车前子、络石藤等中也有很高的含量, 近年来通过对芹菜素的研究发

现, 芹菜素在抗肿瘤方面作用显著, 对乳腺癌, 前列腺癌, 膀胱癌, 卵巢癌, 胃癌, 肺癌, 胰腺癌等均有一定的抑制作用, 现就近年来芹菜素在抑制肿瘤细胞增殖机制方面的研究新进展作一综述。

1 调控凋亡基因

1.1 周期相关基因

杜俊瑶等^[1]用芹菜素处理卵巢癌细胞 CAOV3, 发现存活素 (survivin) mRNA 的表达下调, p21 mRNA 的表达上调, 细胞周期在 G2/M 期停滞。Zhang 等^[2]发现芹菜素作用 KYSE-510 细胞后, p21waf1 基因上调表达, 与 G2/M 期细胞周期停滞有关的细胞周期素 (cyclin) B1 基因下调表达, p21waf1 可能通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶^[3] (cyclin-dependent

基金项目: 科技部“十一五”国家科技支撑计划 (2006BAI11B08-01); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

作者单位: 210046, 南京中医药大学第一临床医学院 [陈宁 (硕士研究生)、叶丽红]

作者简介: 陈宁 (1989-), 女, 2007 级七年制在读硕士研究生。研究方向: 中医学 (中西医结合肿瘤内科)。E-mail: 835569624@qq.com

通讯作者: 叶丽红 (1967-), 女, 博士, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师。研究方向: 内科杂病及肿瘤的中医药防治。E-mail: cocolihongye@126.com

kinase, CDK) 1 促进 KYSE-510 细胞发生 G2/M 期细胞周期停滞。而芹菜素作用 OE33 细胞后, GADD45 β , 14-3-3 σ 基因上调表达, cyclin B1 基因下调表达, GADD45 β 能破坏 cyclin B/CDK1 结合状态^[4], 14-3-3 σ 则能通过 Weel 磷酸化 CDK1, 或使 Cdc25c 去磷酸化, 促进 cyclin B/CDK1 向细胞核外的转运^[5], 并控制细胞进入有丝分裂期^[6], 从而引起 OE33 细胞发生 G2/M 期细胞周期停滞。APC 是一种与大肠直肠癌发生有关的肿瘤抑制基因, 它的功能失调对于芹菜素诱导细胞周期停滞有关键作用。Chung C S 等^[7]发现在人直肠癌细胞中, 芹菜素使 APC 的表达上调, 促使了癌细胞死亡。

1.2 凋亡相关基因

在对膀胱癌 BIU-87 细胞的研究中, 姚善华等^[8]研究发现芹菜素能通过下调 survivin mRNA 和 survivin 蛋白表达, 上调半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteinyI aspartate specific proteinase, Caspase) - 3 蛋白表达, 明显抑制细胞的生长, 并促进细胞发生凋亡。Slusarz A 等^[9]发现芹菜素还可通过抑制 Gli1 mRNA 聚合, 阻滞 Hedgehog 信号转导通路, 抑制人前列腺癌细胞增殖。

1.3 能量摄取、血管形成相关基因

Melstrom 等^[10]等发现芹菜素可通过下调葡萄糖转运蛋白(GLUT-1) mRNA 表达和蛋白质的表达显著抑制两种胰腺癌细胞系 CD18 和 S2-013 对葡萄糖的摄取, 从而抑制胰腺癌细胞的生长; 还可通过低氧诱导因子 1 α 下调 GLUT-1 表达, 以及阻碍血管内皮生长因子的表达, 抑制在低氧状态下的胰腺癌细胞 CD-18 和 S2-013 的增殖。

2 调控细胞周期

2.1 G0/G1 期阻滞

Gupta 等^[11]发现芹菜素可下调人前列腺癌细胞 cyclin D1、cyclin D2 和 cyclin E 以及通过 p53 途径上调 CDK 抑制剂 WAF1/p21 and KIP1/p27 表达, 从而抑制了 CDK2、CDK4、CDK6 活性, 将细胞阻滞在 G0/G1 期。Shukla S 等^[12]还发现经芹菜素处理的前列腺癌细胞和 PC-3 细胞中与 p38 和 PI3K-Akt 的磷酸化减少相关的 cyclin D1 的表达减少, cyclin D2、E 以及结合的 CDK 2、4 和 6 的明显抑制, 使细胞阻滞于 G0-G1 期。

2.2 G1/S 期阻滞

Zheng 等^[13]发现芹菜素通过 P53 途径的 p21/WAF1 表达增加使人宫颈癌细胞 G1 期阻滞。Bektic

等^[14]发现芹菜素可使 cyclin D1 表达减少而 p21/WAF1 表达增加来使细胞发生 G1/S 期阻滞。Shukla S 等^[15]认为芹菜素通过使 WAF1/p21、KIP1/p27、INK4a/p16 和 INK4c/p18 的表达增加, cyclins D1、D2、E 和 CDK2、CDK4 和 CDK6 表达下降, 降低 Rb 在 serine780 的磷酸化, 稳定 p53 serine15 的磷酸化, 使芹菜素在前列腺癌移植裸鼠的肿瘤组织中阻滞细胞周期, 从而抑制肿瘤的生长。

2.3 G2/M 期阻滞

Kobayashi 等^[16]发现芹菜素可以通过 P53 依赖的途径诱导 P21 产生, 进一步抑制 CDK1 使细胞周期阻滞于 G2/M 期从而发挥对前列腺癌细胞的生长抑制作用。Casagrande F 等^[17]研究发现芹菜素在黑色素瘤细胞中可以通过抑制 CDK1 (cdc2) 的 Tyr15 残基的磷酸化而抑制 CDK1 (cdc2) 活性, 使肿瘤细胞被阻滞在 G2/M 期。Wang W 等^[18]认为芹菜素通过抑制 cyclin B1 结合的 CDK1 编码蛋白激酶的活性, 减少 cyclin B1 及 p34 (cdc2) 激酶的积聚将结肠癌细胞 SW480, HT-29 和 Caco-2 阻滞在 G2/M 期。Yin F 等^[19]则认为芹菜素抑制 cyclin B1 和 CDK1 蛋白的表达, 导致 CDK1 激酶活性的抑制, 伴有 CDK4, cyclin D1 和 cyclin A 蛋白水平的下调, 使 MCF-7 和 MDA-MB-468 细胞被阻滞在 G2/M 期。Ujiki MB 等^[20]发现芹菜素通过下调 cyclin A、cyclin B 表达, 以及减少 cdc2、cdc25 磷酸化诱导胰腺癌细胞 G2/M 期阻滞。Choi EJ 等^[21]用芹菜素处理乳腺癌细胞 SK-BR-3, 细胞周期在 G2/M 期停滞, CDK1 和 cyclin A、B 含量下降, p53 的积累增加, p21 水平提高。

3 调节参与凋亡的酶和蛋白的表达

3.1 线粒体途径

Choi EJ 等^[21]认为芹菜素通过抑制 CDK1 和积累 P53, 促进下游 Bax 和细胞色素 C 表达, 进而增加 p21 (Cip1) 水平, 诱导乳腺癌细胞 SK-BR-3 凋亡。Gupta 等^[11]发现将人激素易感性前列腺癌细胞加入芹菜素共同培养后, 观察到 DNA 呈片断化, Bax/Bcl-2 比值增加, 细胞发生凋亡。I-KI Wang 等^[22]认为芹菜素通过提高细胞内活性氧水平, 改变线粒体跨膜电位促使细胞色素 C 释放到胞浆并激活 Caspase-9 的作用, 进而导致细胞内 Caspase-3 蛋白酶活化, 引起细胞凋亡。Lu 等^[23]认为芹菜素通过上调细胞色素 C、AIF 和 Endo G 水平, 调节 Bax/Bcl-2 比

率,引起 Caspase-9 和 Caspase-3 活化,从而引发人肺癌 A549 细胞凋亡,而对于人肺癌 H460 细胞,芹菜素通过下调 Bid, Bcl-2, procaspase-8; 上调 Bax, caspase-3, AIF, 细胞色素 C, GRP78 和 GADD153 的表达;降低线粒体膜电位以及增加 ROS 和 Ca^{2+} 来抑制增殖的^[24]。Hussain 等^[25]研究芹菜素对淋巴瘤细胞系的影响,发现淋巴瘤细胞用芹菜素处理引起 p-Bad 蛋白去磷酸化,抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白和细胞凋亡蛋白抑制剂(IAPs)下调,Bax/Bcl2 比率增加,同时 Bax 蛋白构象改变,从细胞质移位到线粒体,引起线粒体膜电位下降,随后细胞色素 C 释放,激活 Caspase-9 和 Caspase-3。

3.2 非线粒体途径

Tzong-Der Way 等^[26-27]研究发现芹菜素能够诱导 HER2/neu 过度表达的乳腺癌细胞发生凋亡,是通过减少 HER2/neu 蛋白的表达,从而抑制 HER2/HER3-PI3K/Akt 通路的信号转导,诱导细胞色素 C 及 Caspase-3 的激活而产生的。Lee 等^[28]认为芹菜素通过抑制肝细胞生长因子(HGF)诱导的 AKT 磷酸化和 PI3K 途径的 beta4 整合蛋白来抑制 MDA-MB-231 细胞增殖。Bektic 等^[14]发现芹菜素可使 ERK1, ERK2 的磷酸化减少,介导 MAPK 通路抑制前列腺间质细胞的增殖。Shukla S 等^[15]认为芹菜素抑制前列腺癌和 PC-3 细胞总 RB 蛋白和位于 Ser780 和 Ser807/811 位点 RB 蛋白的磷酸化,促进 ERK1/2 和 JNK1/2 的磷酸化,从而抑制了 ELK-1 的磷酸化及原癌基因 c-fos 的表达,抑制肿瘤细胞的存活。在其它研究中 Shukla S 等^[29]发现芹菜素通过对胰岛素样生长因子(IGF)-I 诱导的 IGF-IR 的抑制和对 p-Akt 的抑制导致 GSK-3beta 磷酸化和 cyclin D1 表达下降, p27/kip1 表达增强,通过 IGF/IGF-IR 和 PI3K/Akt 途径诱导前列腺肿瘤细胞 DU145 凋亡。Liang Y C 等^[30]发现芹菜素可以通过抑制 NF- κ B 抑制因子激酶活性,减少 NF- κ B 抑制因子降解,下调 NF- κ B 活性促使肿瘤细胞凋亡。Seo HS 等^[31]发现芹菜素能上调 p53, phospho-p53 和 p21 水平,抑制磷酸化 c-Jun 氨基端激酶-1 (JNK-1) 和磷酸化 STAT3 的表达和活性,降低胞质内的 κ B 抑制因子 α 的磷酸化水平,抑制 p65 入核,阻断核因子- κ B (NF- κ B)通路的活化,诱导 HER2 过表达的乳腺癌细胞 MCF-7 vec 和 MCF-7 HER2 的凋亡。

4 抑制肿瘤血管生成及增强对化疗药物的敏感性

LIU 等^[32]发现芹菜素通过抑制人肺癌 A549 细

胞 AKT 和 p70S6K1 活性,致 HIF-1 和血管内皮生长因子表达下降,从而抑制肿瘤血管生成和细胞增殖。Choi 等^[33]发现芹菜素能下调 Akt 和 ErbB2 的表达来增加过度表达 ErbB2 的乳腺癌 MDA-MB-453 细胞对 5-氟脲嘧啶的敏感性,促使细胞凋亡。Kachadourian 等^[34]报道,在 A549 细胞和人类前列腺癌 PC-3 细胞中,芹菜素可以显著降低谷胱甘肽水平,而谷胱甘肽水平的降低可能与细胞对抗肿瘤药物的敏感度增强相关。

5 结语与展望

芹菜素通过调控凋亡相关基因,调控细胞周期,调节参与细胞凋亡的蛋白和酶的表达,化疗药物的增敏等多种途径抑制肿瘤细胞增殖,发挥抗肿瘤作用,并且作为一种天然、低毒、高效的广泛存在于自然界的天然黄酮类化合物日益受到人们的重视,但是芹菜素具体抑制各种肿瘤细胞增殖的具体机理仍未探究清楚,值得深入研究,包括凋亡基因的表达与蛋白表达的一致性,芹菜素对其表达的量效关系,导致凋亡或周期阻滞的完整信号传导通路以及通路之间的选择性及相关性等。总之,芹菜素高效低毒,其抑制肿瘤细胞增殖的机制值得继续深入探究,并有望据此研发新型抗肿瘤药物。

参 考 文 献

- [1] 杜俊瑶,辛彦. 芹菜素对人卵巢癌细胞系 CAOV3 细胞增殖周期的影响[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2008, 24(6): 456-458.
- [2] Zhang Qiang, Zhao Xin-Huai, Wang Zhu-Jun. Flavones and flavonols exert cytotoxic effects on a human oesophageal adenocarcinoma cell line (OE33) by causing G2/M arrest and inducing apoptosis[J]. Food and chemical toxicology, 2008, 46(6): 2042-2053.
- [3] Vidal A, Koff A. Cell-cycle inhibitors: three families united by a common cause[J]. Gene, 2000, 247(1-2): 1-15.
- [4] Schwartz GK, Shah MA. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy[J]. Journal of clinical oncology, 2005, 23(36): 9408-9421.
- [5] Haupt S, Berger M, Goldberg Z, et al. Apoptosis-the p53 network[J]. Journal of cell science, 2003, 116(20): 4077-4085.
- [6] Chan T A, Hermeking H, Lengauer C, et al. 14-3-3 Sigma is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage[J]. Nature, 1999, 401(6753): 616-620.
- [7] Chung C S, Jiang Y, Cheng D. Impact of Adenomatous Polyposis Coli (APC) tumor suppressor gene in human colon cancer cell lines on cell cycle arrest by apigenin[J]. Molecular carcinogenesis, 2007, 46(9): 773-782.

- [8] 姚善华,胡自力,邓新军. 芹菜素诱导膀胱癌细胞株 BIU-87 凋亡及机制的研究[J]. 重庆医科大学学报,2010,35(8): 1194-1197.
- [9] Slusarz Anna, Shenouda Nader S, Sakla Mary S, et al. Common botanical compounds inhibit the hedgehog signaling pathway in prostate cancer[J]. Cancer research, 2010, 70(8): 3382-3390.
- [10] Melstrom L G, Salabat M R, Ding Xian-Zhong, et al. Apigenin Inhibits the GLUT-1 Glucose Transporter and the Phosphoinositide 3-Kinase/Akt Pathway in Human Pancreatic Cancer Cells [J]. Pancreas, 2008, 37(4): 426-431.
- [11] Gupta S, Afaq F, Mukhtar H. Involvement of nuclear factor-kappa B, Bax and Bcl-2 in induction of cell cycle arrest and apoptosis by apigenin in human prostate carcinoma cells[J]. Oncogene. 2002, 21(23): 3727-3238.
- [12] Shukla S, Gupta S. Molecular targets for apigenin-induced cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cell xenograft [J]. Molecular cancer therapeutics, 2006, 5(4): 843-852.
- [13] Zheng PW, Chiang LC, Lin CC. Apigenin induced apoptosis through p53-dependent pathway in human cervical carcinoma cells[J]. Life sciences, 2005, 76(12): 1367-1379.
- [14] Bektic Jasmin, Guggenberger Roman, Spengler Barbara, et al. The flavonoid apigenin inhibits the proliferation of prostatic stromal cells via the MAPK-pathway and cell-cycle arrest in G1/S [J]. Maturitas, 2006, 55(1): S37-S46.
- [15] Shukla Sanjeev, Gupta Sanjay. Apigenin-induced cell cycle arrest is mediated by modulation of MAPK, PI3K-Akt, and loss of cyclin D1 associated retinoblastoma dephosphorylation in human prostate cancer cells[J]. Cell cycle, 2007, 6(9): 1102-1114.
- [16] Kobayashi T, Nakata T, Kuzumaki T. Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells [J]. Cancer letters, 2002, 176(1): 17-23.
- [17] Casagrande F, Darbon JM. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1 [J]. Biochemical pharmacology, 2001, 61(10): 1205-1215.
- [18] Wang W, Heideman L, Chung C S. Cell cycle arrest at G2/M and growth inhibition by apigenin in human colon carcinoma cell lines [J]. Molecular carcinogenesis, 2000, 28(2): 102-110.
- [19] Yin F, Giuliano AE, Law RE, et al. Apigenin inhibits growth and induces G2/M arrest by modulating cyclin-CDK regulators and ERK MAP kinase activation in breast carcinoma cells [J]. Anti-cancer research, 2001, 21(1A): 413-420.
- [20] Ujiki Michael B, Ding Xian-Zhong, Salabat M, et al. Apigenin inhibits pancreatic cancer cell proliferation through G2/M cell cycle arrest [J]. Molecular cancer, 2006, 5: 76.
- [21] Choi Eun Jeong, Gun-Hee Kim. Apigenin causes G2 /M arrest associated with the modulation of p21 and Cdc2 and activates p53-dependent apoptosis pathway in human breast cancer SK-BR-3 cells [J]. Journal of nutritional biochemistry, 2009, 20(4): 285-290.
- [22] Wang I K, Lin-Shiau S Y, Lin J K. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells [J]. European journal of cancer, 1990, 35(10): 1517-1525.
- [23] Lu Hsu-Peng, Chie Yu-Jie, Yang Ming-Sung, et al. Apigenin induces caspase-dependent apoptosis in human lung cancer A549 cells through Bax-and Bcl-2-triggered mitochondrial pathway [J]. International journal of oncology, 2010, 36(6): 1477-1484.
- [24] Lu Hsu-Feng, Chie Yu-Jie, Yang Ming-Sung, et al. Apigenin induces apoptosis in human lung cancer H460 cells through caspase-and mitochondria-dependent pathways [J]. Human & experimental toxicology, 2011, 30(8): 1053-1061.
- [25] Hussain A R, Khan A S, Ahmed S O, et al. Apigenin induces apoptosis via downregulation of S-phase kinase-associated protein 2-mediated induction of p27Kip1 in primary effusion lymphoma cells [J]. Cell proliferation, 2010, 43(2): 170-183.
- [26] Way TD, Kao MC, Lin JK. Apigenin induces apoptosis through proteasomal degradation of HER2/neu in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway [J]. Journal of biological chemistry, 2004, 279(6): 4479-4489.
- [27] Way TD, Kao MC, Lin JK. Degradation of HER2/neu by apigenin induces apoptosis through cytochrome c release and caspase-3 activation in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells [J]. Febs letters, 2005, 579(1): 145-152.
- [28] Lee WJ, Chen WK, Wang CJ, et al. Apigenin inhibits HGF-promoted invasive growth and metastasis involving blocking PI3K/Akt pathway and beta 4 integrin function in MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Toxicology and applied pharmacology, 2008, 226(2): 178-191.
- [29] Shukla S, Gupta S. Apigenin suppresses insulin-like growth factor I receptor signaling in human prostate cancer: an in vitro and in vivo study [J]. Molecular carcinogenesis, 2009, 48(3): 243-252.
- [30] Liang Y C, Huang Y T, Tsai S H, et al. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages [J]. Carcinogenesis, 1999, 20(10): 1945-52.
- [31] Seo Hye-Sook, Choi Han-Seok, Kim Soon-Re, et al. Apigenin induces apoptosis via extrinsic pathway, inducing p53 and inhibiting STAT3 and NF kappa B signaling in HER2-overexpressing breast cancer cells [J]. Molecular and cellular biochemistry, 2012, 366(1-2): 319-334.
- [32] LIU L Z, FANG J, ZHOU Q, et al. Apigenin inhibits expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in human lung cancer cells: implication of chemoprevention of lung cancer [J]. Molecular pharmacology, 2005, 68(3): 635-643.
- [33] Choi E J, Kim G H. 5-Fluorouracil combined with apigenin enhances anticancer activity through induction of apoptosis in human breast cancer MDA-MB-453 cells [J]. Oncology reports, 2009, 22(6): 1533-1537.
- [34] Kachadourian Remy, Day Brian J. Flavonoid-induced glutathione depletion: potential implications for cancer treatment [J]. Free radical biology and medicine, 2006, 41(1): 65-76.

(收稿日期:2013-12-06)

(本文编辑:蒲晓田)