

- loid-induced neurotoxicity by inhibition of tau protein hyperphosphorylation in PC12 cells [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 59 (6): 542-550.
- [25] Price SA, Held B, Pearson HA. Amyloid beta protein increases Ca^{2+} currents in rat cerebellar granule neurones [J]. *Neuroreport*, 1998, 9(3): 539-545.
- [26] Li L, Tsai HJ, Li L, et al. Icaritin inhibits the increased inward calcium currents induced by amyloid-beta (25-35) peptide in CA1 pyramidal neurons of neonatal rat hippocampal slice [J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(1): 113-125.
- [27] Zhang L, Huang S, Chen Y, et al. Icaritin inhibits hydrogen peroxide-mediated cytotoxicity by up-regulating sirtuin type 1-dependent catalase and peroxiredoxin [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2010, 107(5): 899-905.
- [28] Chen SR, Xu XZ, Wang YH, et al. Icaritin derivative inhibits inflammation through suppression of p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B pathways [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(8): 1307-1313.

(收稿日期:2013-11-11)

(本文编辑:秦楠)

人参皂苷 Rg3 抗宫颈癌作用机制的研究进展

邹萍 陈万瑛 张婷 陈道桢

【摘要】 宫颈癌是妇科最常见的恶性肿瘤,目前临床使用的治疗方法均有副作用。随着医药学的发展,天然药物在宫颈癌疗效、治疗靶点方面的优势越来越受到研究者的重视。国内外实验研究以及流行病学调查均表明传统的滋补养生名贵中草药人参的主要活性成分人参皂苷 Rg3 在抗宫颈癌方面有有效的作用,也有研究发现其能使化疗增敏。为进一步系统的了解人参皂苷 Rg3 在治疗宫颈癌方面的作用,本文从促进宫颈癌细胞凋亡,抑制宫颈癌细胞增殖,抑制宫颈癌新生血管形成以及提高免疫力等几个方面对人参皂苷 Rg3 抗宫颈癌作用机制进行综述。

【关键词】 人参皂苷; 宫颈癌; 作用机制

【中图分类号】 R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.04.019

Research progress on mechanism of ginsenosides Rg3 against cervical cancer ZOU Ping, CHEN Wan-ying, ZHANG Ting, et al. *Wuxi maternal and Child Health Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214002, China*

Corresponding author: CHEN Dao-zhen, E-mail: chendaozhen@163.com

【Abstract】 Cervical cancer is the most common malignant gynecological tumor in Gynecology. Current clinical treatment methods all have worrying side effects. With the rapid development of biomedicine and pharmacy, the advantages of natural medicine in the treatment of cervical cancer therapeutic target has been attached more and more importance by researchers. Ginseng is a traditional Chinese tonic herb which is rare and luxury. At present, domestic/ overseas experimental research and epidemiological investigation all show that the main active ingredients named Rg3 has an effective role in anti cervical cancer. There are also some other studies that show that Ginsenoside Rg3 can play the role of chemotherapy sensitization. For further understanding of ginsenoside Rg3 in the treatment of cervical cancer, this paper, reviews the mechanism of Ginsenoside Rg3 against cervical cancer as follows: Ginsenoside Rg3 can promote the apoptosis of cervical cancer cells, inhibit the proliferation of cervical cancer cells, promote the inhibition of cervical

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81202043);江苏省“科教兴卫工程”专项经费资助项目(RC2011033);江苏省中医药局科技项目(LB11048);新疆克州科技项目(2013-13-27)

作者单位:214002 无锡,南京医科大学附属无锡妇幼保健院检验科(邹萍、张婷、陈道桢);新疆阿合奇县人民医院检验科(陈万瑛)

作者简介:邹萍(1987-),女,硕士,初级检验师。研究方向:妇科肿瘤。E-mail:yezihenhaohenhaode@126.com

通信作者:陈道桢(1971-),博士,副教授,副主任技师,硕士生导师。研究方向:妇科肿瘤生物治疗。E-mail:chendaozhen@163.com

carcinoma angiogenesis, and improve the immunity of patients and so on.

【Key words】 Ginsenosides; Cervical cancer; Mechanism

随着人类疾病谱的改变,肿瘤对人类的威胁日益突出。宫颈癌已然成为妇科最常见的恶性肿瘤,大约占女性生殖系统恶性肿瘤的半数。宫颈癌起源于宫颈鳞-柱上皮交界部位,中国是宫颈癌的高发地区。目前,手术切割和放疗、化疗是治疗该类病变的主要手段,早期宫颈癌通过放疗可完全治愈,但对晚期宫颈癌而言,需要相对较大放射剂量和较长放射周期,这会导致放疗并发症增多,反而使治疗效果大打折扣。因此,需要研制出一种新的治疗方法,在增强肿瘤细胞放射敏感性的同时也能降低其对周围正常组织的损伤。随着生物医学和药学的快速发展,天然药物在宫颈癌治疗中的优势愈来愈引人关注^[1-2]。人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根,是中国传统中草药中的滋补养生名药,自古就有补元气、生津生血、安神益智的功能。现代研究已充分表明人参皂苷具有抗疲劳、抗肿瘤、增强免疫力等作用,Rh2、Rg3 是人参中的稀有皂苷,也是目前研究发现抗肿瘤活性最强的成分^[3-4]。有研究表明人参皂苷 Rh2 的(S)型对宫颈癌的抑制活性优于 20(R)型,这对人参皂苷各亚型用于治疗相关肿瘤疾病时生产工艺的确定具有一定的参考价值^[5]。目前国内外实验研究以及流行病学调查均表明人参皂苷 Rg3 具有促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞增殖以及抑制肿瘤新生血管形成的作用,也有研究发现其能起到化疗增敏的作用。本文对人参皂苷 Rg3 抗宫颈癌作用机制进行综述如下。

1 诱导肿瘤细胞凋亡

成功诱导肿瘤细胞的凋亡对原发肿瘤的治疗及其复发和转移的治疗有积极意义。细胞凋亡是受基因调控的,bax 基因可直接激活死亡效应因子 caspases 或改变细胞膜通透性来释放细胞色素 C 并使某些离子和小分子物质通过细胞膜从而促进细胞凋亡^[6-8],而 Bcl-2 基因是目前研究最深最广的抑制凋亡的基因之一,其可以通过增强线粒体膜电位来抑制线粒体钙离子的释放,使核酸内切酶失活^[9]。众多研究表明,人参皂苷 Rg3 可下调 HeLa 细胞 Bcl-2 基因的表达,并上调 bax 基因的表达,从而诱导人宫颈癌 HeLa 细胞发生凋亡^[10-11]。牛珂等^[12]培养人宫颈癌 HeLa 细胞,并使用 10、20、40、80 μg/ml 人

参皂苷 Rg3 处理 48 小时,通过 HE 染色观察细胞形态学改变,使用 CCK-8 法、流式细胞仪检测细胞的凋亡。结果发现 Rg3 作用后 HeLa 细胞出现了典型的凋亡形态学变化,包括细胞皱缩、细胞核内染色体浓缩;不同浓度人参皂苷 Rg3 处理后 HeLa 细胞的平均生存率依浓度下降,证实了人参皂苷 Rg3 以浓度依赖性和时间依赖性的方式诱导 HeLa 细胞凋亡。Liu 等^[13]通过荧光显微镜、流式细胞仪和逆转录-聚合酶链反应等方法在前列腺癌细胞中的研究发现人参皂苷 Rg3 能通过 Caspase3 来抑制癌细胞增殖,还可激活细胞周期抑制基因 p21 和 p27 的表达,并使细胞停滞于 G1 期。然而学者 Jagan 等^[14]认为皂苷诱导细胞凋亡并未依赖 Caspase。姜浩等^[15]则认为皂苷诱导凋亡的机制之一是激活巨噬细胞产生 NO。

所有这些研究都表明皂苷能在分子水平上通过不同途径诱导肿瘤细胞的凋亡,但具体是不是由依赖 Caspase3 的途径介导,目前还没有定论。而凋亡细胞在产生特征性 DNA 降解和形态学改变之前,都有不可逆的线粒体膜的改变,包括线粒体皱缩,膜通透性改变以及线粒体内活性蛋白酶的释放等,这一点为进一步探索其引起细胞凋亡的途径提供了一个研究方向。

2 抑制肿瘤细胞增殖

恶性肿瘤的本质是细胞周期失控导致的细胞无限制的分裂和增殖。凋亡和增殖总是密切相关的,细胞周期的调节既能影响细胞分裂又能影响细胞凋亡,因此通过细胞周期阻滞来诱导凋亡已然成为抗肿瘤新药的一个新靶点。李丽静等^[16]在体外肿瘤实验中通过电镜观察肿瘤细胞形态,Western blot 免疫印迹法检测皂苷对 HeLa 细胞的细胞周期相关蛋白表达的影响。发现不同浓度皂苷对 HeLa 细胞的增殖均有抑制作用,其作用机制可能与促进肿瘤细胞的凋亡、诱导其凋亡使细胞停滞于 G2/M 期密切相关,并影响相关蛋白 cyclin 及其激酶(CDK1、CDK2 等)的表达,进而诱导凋亡,从而完成抑制 HeLa 细胞分裂增殖进而杀死宫颈癌细胞的全过程。张秀玲等^[17]在研究皂苷与顺铂的联合应用时也发现了类似的现象。而张文秀^[18]用不同浓度皂苷处理 HeLa 细胞株 24、48、72 小时后分别检测细

胞周期,用 Western Blot 检测细胞周期蛋白,发现皂苷引起 G0/G1 期细胞阻滞,减少 S 期细胞,降低 Cyclin D1 蛋白表达。邓雪云^[19]在研究 LewisY 抗体联合 Rg3 抑制细胞增殖时发现细胞周期停滞于 G1 期。那么,皂苷抑制宫颈癌细胞增殖到底是阻滞 G2/M 期还是 G0/G1 期,具体是通过什么途径,还需进一步的实验证实,当然,或许两个周期点都可能是皂苷的作用点也未可知。

3 提高免疫力

从某种程度来说,肿瘤的发生是免疫监视功能丧失的结果。免疫力低下时,机体对肿瘤细胞的免疫监视功能减弱,免疫功能低下的肿瘤患者预后也差。一直以来人参就作为一种免疫增强剂用于提高患者免疫力,增加食欲和增强身体素质,人参皂苷作为其主要活性成分自然也有着提高免疫力的作用。王庭富等^[20]发现人参皂苷 Rg3 可以提高小鼠碳粒廓清速率、免疫器官重量、脾淋巴细胞转化以及自然杀伤细胞的活性。柴玮杰等^[21]进行了类似的实验,发现人参皂苷在细胞免疫、体液免疫和自然杀伤细胞活性三个方面检测结果阳性,判定其具有增强免疫力功能作用。吴皓等^[22]发现人参皂苷 Rg3 能明显改善肿瘤小鼠化疗后肠道黏膜损伤的程度,增强肠道黏膜免疫功能。张仲苗等^[23]通过分离纯化肿瘤放疗患者外周血淋巴细胞,发现人参皂苷 Rg3 能使淋巴细胞 HLA-DR 和 HLA-ABC 表达增高,提示其可能通过增强患者淋巴细胞的抗原递呈能力来提高其细胞免疫能力。Zhang 等^[24]研究发现,人参皂苷 Rg3 可通过增加过氧化物歧化酶活性来明显抑制化疗药物诱导的骨髓细胞及外周淋巴细胞 DNA 的损伤,减少骨髓细胞凋亡,并提高淋巴细胞功能。由此不难看出,人参皂苷 Rg3 可提高放疗肿瘤患者的免疫力。

4 抑制肿瘤新生血管形成

恶性肿瘤的侵袭和转移必须依靠新生血管提供足够的营养,另外肿瘤细胞也可沿新生血管所开启的胶原裂隙侵袭,这为肿瘤转移创造了条件。因此抑制肿瘤新生血管形成可降低肿瘤转移的发生^[25]。国内已有很多学者在黑色素瘤、肝癌淋巴道转移以及肺癌模型中进行了相关研究,并发现人参皂苷 Rg3 有抑制肿瘤血管形成的作用^[26-27]。段迎春等^[28]通过人宫颈癌裸鼠模型探讨了人参皂苷

Rg3 对肿瘤的生长及其血管生成的影响。他们采用对裸鼠使用浓度为 5 mg/kg 人参皂苷 Rg3 进行灌胃,用药 5 周,动态监测肿瘤的重量和体积,肿瘤组织免疫组化染色,计数瘤内微血管密度(MVD)。结果发现裸鼠生存质量好,抑瘤效果持久而稳定,肿瘤生长缓慢,肿瘤组织 CD31 表达明显下降,MVD 明显降低,证实 Rg3 能抑制宫颈癌肿瘤血管生成。

5 影响肿瘤相关蛋白和基因的表达

肿瘤的发生发展与肿瘤基因激活和(或)抑癌基因失活相关,其基因产物涉及生长因子,转录因子,信号传导分子,细胞周期调节因子等。有国外学者发现,使用人参皂苷 Rg3 预处理 ICR 小鼠的背部皮肤可以显著抑制核转录因子- κ B 的激活及绒毛状瘤的形成;此外人参皂苷 Rg3 还能抑制 AP-1 的激活,而这种蛋白与致癌转活有关^[29]。由于人体各种基因、蛋白的作用及调控机制相当复杂,目前如何选取合适的指标进行检测还存在着一定难度,基因芯片技术为这方面的研究提供了有力工具。现已有学者分别在肺腺癌细胞及大肠癌细胞上采用这种技术进行研究,均发现了一些表达改变的基因和蛋白^[30-31],由此可见人参皂苷 Rg3 抗肿瘤作用机制的复杂性,提示在抗宫颈癌方面可能通过多靶点多种机制发挥作用,应该对于变化显著基因及蛋白进行深入研究。

6 总结

综上所述,人参皂苷 Rg3 作为一种中药单体成分,具有明显的抗宫颈癌作用,并已经在体外动物实验及临床研究中得到证实,它可下调宫颈癌细胞 Bcl-2 基因并上调 bax 基因,从而诱导人宫颈癌细胞发生凋亡。它可能通过 Caspase3 来抑制细胞增殖,引起细胞停滞于 G2/M 期或者 G1 期。另外,人参皂苷 Rg3 还能通过提高淋巴细胞及自然杀伤细胞等免疫细胞的功能来增强肿瘤患者的免疫力等。当然,大部分的研究还仅限于抑制癌细胞增殖和促进癌细胞凋亡,还需进一步探索并明确其主要的作用机制,从而为临床治疗宫颈癌提供确切依据;人参皂苷 Rg3 有很大的临床应用价值,符合现代肿瘤治疗的新策略,且性价比高,相信随着分子生物学技术的不断进步,人们对人参皂苷的研究也会不断深入,促使这一传统中药能更好地发挥作用,造福人类。

参 考 文 献

[1] 孙倩. 人参皂苷 Rh1 诱导 HeLa 和 K562 细胞凋亡[J]. 肿瘤药
学, 2011, 1(5):434-438.

[2] Napolitano U, Imperato F, Mossa B, et al. The role of neoadju-
vant chemotherapy for squamous cell cervical cancer (Ib-IIIb): a
long-term randomized trial[J]. *European journal of gynaecologi-
cal oncology*, 2003, 24(1):51.

[3] 陈声武, 王岩, 王毅, 等. 人参皂苷 Rg1 和 Rh2 抗肿瘤作用的
研究[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2003, 29(1):25-28.

[4] Yun T K, Lee Y S, Lee Y H, et al. Anticarcinogenic effect of
Panax ginseng CA Meyer and identification of active compounds
[J]. *Journal of Korean medical science*, 2001, 16 (SUPP):
S6-S18.

[5] 张兰兰, 高文远, 马晓慧, 等. 人参皂苷 Rh2 对宫颈癌 U14 荷
瘤小鼠的治疗作用研究[J]. 中成药, 2013, 35(2):215-219.

[6] Dogu Y, Díaz J. Mathematical model of a network of interaction
between p53 and Bcl-2 during genotoxic-induced apoptosis[J].
Biophysical chemistry, 2009, 143(1):44-54.

[7] 刘凤仙, 宋扬. 刺参酸性黏多糖对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及
Bax, Bcl-2 基因表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2010, 26
(12):2089-2091.

[8] Chwilkowska A, Kulbacka J, Saczko J. Death of tumor cells. Pho-
todynamic reaction in apoptosis induction in cancer cells[J]. *Pol-
ski merkuriusz lekarski*, 2011, 30(175):45.

[9] He H, Yim M, Liu K H, et al. Involvement of G proteins of the
Rho family in the regulation of Bcl-2-like protein expression and
caspase 3 activation by Gastrins[J]. *Cellular signalling*, 2008, 20
(1):83-93.

[10] 熊明华. 人参皂苷 Rg3 对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bcl-2/
bax 基因 mRNA 表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2012,
22(3):34-36.

[11] 罗涛, 石孟琼, 刘雄, 等. 薤白总皂苷对人宫颈癌 HeLa 细胞
增殖与凋亡作用的影响[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(10):
762-765.

[12] 牛珂, 鲁永鲜, 李宁, 等. 人参皂苷 Rg3 对人宫颈癌 HeLa 细胞
的诱导凋亡作用[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(7):
1345-1347.

[13] Liu W K, Xu S X, Che C T. Anti-proliferative effect of ginseng
saponins on human prostate cancer cell line[J]. *Life sciences*,
2000, 67(11):1297-1306.

[14] Patlolla J M R, Raju J, Swamy M V, et al. β -Escin inhibits co-
lonic aberrant crypt foci formation in rats and regulates the cell
cycle growth by inducing p21waf1/cip1 in colon cancer cells
[J]. *Molecular cancer therapeutics*, 2006, 5(6):1459-1466.

[15] 姜浩, 樊光华, 李全忠, 等. 人参皂甙激活恶性胸水中的 TILs
及其与吉西他滨协同抗癌作用的实验研究[J]. 南华大学学
报(医学版), 2002, 30(1):7210.

[16] 李丽静, 张亚杰, 刘佳, 等. 人参总皂苷对人宫颈癌 HeLa 细
胞抗肿瘤作用及机制的研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28
(5):69-71.

[17] 张秀玲, 曲群, 王桂贤, 等. 顺铂联合土贝母皂苷甲对宫颈癌
HeLa 细胞的增殖抑制作用研究[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18
(10):1909-1912.

[18] 张文秀. 薯蓣皂苷元对人宫颈癌细胞增殖的影响[J]. 中国
现代医生, 2011, 49(26):5-7.

[19] 邓雪云. LewisY 抗体联合人参皂苷 Rg3 对 A431 细胞增殖抑
制作用的实验研究[D]. 大连: 大连医科大学, 2009.

[20] 王庭富, 孟正木. 人参皂甙 Rg3 对免疫功能的影响[J]. 中国
药科大学学报, 1999, 30(2):133-135.

[21] 柴玮杰, 赵博, 王瑞琳, 等. 人参精口服液增强免疫力功能的
探讨[J]. 医药前沿, 2012, 19(24):92-93.

[22] 吴皓, 林洪生, 裴迎霞, 等. 人参皂甙 Rg3 对荷瘤及环磷酰胺
化疗小鼠黏膜免疫力影响[J]. 中国肿瘤, 2006, 15(6):
369-371.

[23] 张仲苗, 江波, 郑筱祥. 人参皂苷 Rg3 对肿瘤放疗患者外周
血淋巴细胞的体外免疫增强作用[J]. 中国药学杂志, 2004,
39(4):261-264.

[24] Zhang Q H, Wu C F, Duan L, et al. Protective effects of ginsen-
oside Rg3 against cyclophosphamide-induced DNA damage and
cell apoptosis in mice [J]. *Archives of toxicology*, 2008, 82
(2):117-123.

[25] 辛颖, 倪劲松, 王心蕊, 等. 20(S)-人参皂苷 Rg3 抗 B16 黑色
素瘤转移的作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2004, 30
(4):5402.

[26] 王兵, 高勇, 许青, 等. 人参皂苷 Rg3 对肺癌诱导血管内皮细
胞增殖的抑制作用[J]. 中国新药杂志, 2002, 11(9):
700-702.

[27] 陈大富, 赵扬冰, 白绍槐. 人参皂甙 Rg3 与化疗药物联合应
用对裸鼠原位种植人乳腺癌的影响[J]. 中国普外基础与临
床杂志, 2002, 9(5):300-302.

[28] 段迎春, 胡平, 范丽, 等. 人参皂甙 Rg3 对荷宫颈癌裸鼠血管
生成的抑制作用[J]. 郟阳医学院学报, 2007, 26(1):25-27.

[29] Keum Y S, Han S S, Chun K S, et al. Inhibitory effects of the
ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 ex-
pression, NF- κ B activation and tumor promotion [J]. *Mutation
Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*,
2003, 523:75-85.

[30] Chen M W, Yang L, Ni L, et al. The effect of 20(R)-ginsen-
oside Rg3 on the differential expression of cell signaling genes
and other related genes in human lung adenocarcinoma cell line
A549[J]. *Chinese journal of tuberculosis and respiratory disea-
ses*, 2005, 28(1):37.

[31] Luo X, Wang C Z, Chen J, et al. Characterization of gene ex-
pression regulated by American ginseng and ginsenoside Rg3 in
human colorectal cancer cells[J]. *International journal of on-
cology*, 2008, 32(5):975.

(收稿日期:2013-09-21)

(本文编辑:秦楠)