

人参皂苷对 NF-κB 信号通路作用的研究进展

吴炉飞,许长江

关键词:人参皂苷;NF-κB;信号转导
中图分类号:R979. 1 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2009)10-0888-04

0 引言

核因子-κB (nuclear factor-kappa-binding, NF-κB)是一种细胞核内的转录因子,广泛存在于哺乳类动物细胞内,在多数疾病病理状态下异常活化,调节细胞因子、趋化因子、抗凋亡因子等的生成,参与机体炎症、肿瘤等疾病的发生发展,NF-κB 异常变化与多种疾病相关。人参皂苷作为天然植物提取物,越来越多的研究表明其抗炎、抗肿瘤、神经保护等生物学功能的实现与调节 NF-κB 活性有关,本文就人参皂苷如何通过调节 NF-κB 来实现其相应生物学功能作一综述。

1 人参皂苷概述

人参皂苷是人参、三七等五加科草本植物的主要提取物,最早在人参根中提取获得,后来在人参的茎叶、花蕾等部位也分离得到,人参皂苷的成分复杂,主要分类见表 1。

表 1 人参皂苷的分类
Table 1 Classification of ginsenosides

Types	Categories	Examples
Dammarane Type	20(S)-protopanaxadiol	Rg3, Rh2...
	20(S)- protopanaxatriol	Re, Rg2, Rh1...
Oleanolic Acid Type	Oleanolic Acid	Ro...

到目前为止,已经分离鉴定的人参皂苷达数十种,但每种人参皂苷的生理活性不尽相同,人参皂苷的生理作用主要表现在:增强免疫^[1]、提高记忆^[2]、抗肿瘤^[3-5]、抗衰老、降血糖和神经保护等方面。

2 NF-κB 介绍

2.1 NF-κB 家族

收稿日期:2008-07-23;修回日期:2008-08-29
基金项目:上海市科委浦江人才计划基金资助项目 (07pj14078)
作者单位:201203 上海中药创新研究中心
通信作者:许长江, E-mail: cjxu@sirc-tem. sh. cn
作者简介:吴炉飞(1984-),男,硕士在读,主要从事人参皂苷的药理作用机制研究

NF-κB 最早由 Sen 和 Baltimore 从成熟 B 淋巴细胞中提取获得^[6],因其能与免疫球蛋白 κ 轻链基因增强子 κB 序列...GGGACTTTCC...特异结合并调节 κ 轻链转录,故命名 NF-κB。NF-κB 是 Rel 蛋白家族中两个亚单位构成的二聚体,广泛存在于哺乳动物的多种组织细胞中,目前发现的 Rel/NF-κB 家族成员主要有 5 个:RelA(p65)、c-Rel、RelB、NF-κB₁(p50)、NF-κB₂(p52)^[7-8]。这些家族成员一个典型的特征就是在 N-末端有一个约由 300 个氨基酸组成的高度保守的 Rel 同源区(Rel - homology domain, RHD),该同源区内包括 DNA 结合域、二聚化结构域、核定位信号区(nuclear-localization sequence, NLS)。除含相同的同源区外,RelA(p65)、c-Rel、RelB 蛋白 C-端还含有一个或几个相同的转录活性区-反式激活功能域。Rel/NF-κB 成员间可形成同源或异源二聚体。其中, p65-p50 是 NF-κB 二聚体中最常见最主要的形式,广泛存在于各种组织细胞中。静息状态下, NF-κB 和胞质中的抑制蛋白 I-κB (inhibitor κB)聚合成三聚体存在于细胞质中,不进入细胞核内,不表达转录调控的活性。

2.2 NF-κB 的抑制蛋白 IκB 家族

IκB 是 NF-κB 的抑制分子,存在胞质中,而不是单一蛋白。目前已经发现 IκB-α、IκB-β、IκB-ε、IκB-γ、IκB-δ 和 Bcl-3 等 6 个家族成员,其主要作用是与 NF-κB 结合,对胞质中的 NF-κB 起活性调节作用。有研究认为,未经活化的细胞中 IκB 的锚定蛋白重复序列(ankyrin repeat domain, ARD)与 NF-κB 的 RHD 作用而隐藏了 NF-κB 的核定位序列,从而抑制 NF-κB 活化进入细胞核,不同的 IκB 家族成员对不同的 NF-κB 亲合力不同,即抑制活性不同,而不同的 NF-κB 与 DNA 亲合力也存在差异,因此,通过 IκB 水平上的差异调节就能调节不同基因的表达,除在胞质中 IκB 对 NF-κB 有抑制作用外, IκB 还能通过核膜在细胞核中与 DNA 竞争 NF-κB, 阻断激活的 NF-κB 与 DNA 结合,抑制相关基因表达,终止 NF-κB 的转录调节作用。IκB 对 NF-κB 的亲合作用是抑制 NF-κB 活性表达的重要原因。

2.3 I κ B 激酶(I κ B Kinase, IKK)对 NF- κ B 的调节

IKK 是磷酸化 I κ B 的激酶,由 IKK α 、IKK β 和 IKK γ 三个亚单位组成,分子量约为 700 000~900 000,但三个亚单位的功能作用存在差异,IKK α 和 IKK β 共同拥有一个与降解有关的区域和亮氨酸拉链,而 IKK γ 是与功能调节相关的亚单位,主要起活化 IKK α 和 IKK β 的作用。IKKS 是 NF- κ B 信号转导通路中的关键性激酶,如果 IKKS 表达缺失,NF- κ B 信号通路将被阻断。

在静息态细胞中,抑制蛋白 I κ B 与 NF- κ B 结合以三聚体的形式存在于胞质中,当受病毒、细菌、白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、活性自由基及紫外线等外界因素刺激下,IKKS 被激活,继而将 I κ B 磷酸化,磷酸化的 I κ B 氨基末端 21 和 22 位赖氨酸在 E3 泛素连接酶的作用下与泛素分子共价结合,被泛素化,泛素化的 I κ B 空间构象改变,从而使其被 26S 蛋白酶体复合物降解。I κ B 被蛋白酶水解,NF- κ B 的核定位序列暴露,在相应核定位蛋白分子牵引下进入细胞核内,作为核转录因子与特定的 DNA 序列结合,启动靶基因转录,调控多种细胞因子、趋化因子的基因表达。

降解后的 I κ B 能再合成,并进入细胞核与 DNA 竞争 NF- κ B,终止 NF- κ B 对基因的转录调控作用,I κ B-NF- κ B 复合体被转运到胞质中,恢复原来的静息态,I κ B 在 IKKS 调节下,对 NF- κ B 转录进行规律性调控,实现相应的生理病理功能。

2.4 NF- κ B 异常变化的生物学意义

生理状态下,机体 NF- κ B 能组成性表达;病理状态下,NF- κ B 受细胞因子等多种因素的刺激可异常变化,参与疾病的形成与发展。多数情况下,转录因子 NF- κ B 的异常激活具有明显的抗凋亡作用,是多种肿瘤发生的关键^[9-10]。其活化与肿瘤的发生发展以及转移关系密切,已被多个小鼠身上的实验证实^[11-12]。NF- κ B 对抗凋亡蛋白的调节机制尚未完全明了,但可以明确的是在 NF- κ B 激活下抗凋亡蛋白 c-IAP-1、c-IAP-2 和 XIAP 能明显表达升高^[13-14],肿瘤组织中^[15],NF- κ B 活化扮演着重要的角色,在致命的炎症性乳腺癌(Inflammatory Breast Cancer, IBC)中,NF- κ B 的活化似乎能决定 IBC 的表型及预后。NF- κ B 异常活化与炎症反应及神经细胞受损等疾病也有密切的关系,能促进炎症反应进程^[16-17]和神经细胞凋亡^[18-19]。NF- κ B 的组成性活性改变是多种疾病发生发展的基础。

3 人参皂苷与 NF- κ B

3.1 人参皂苷通过抑制 NF- κ B 活性调控肿瘤发展

人参皂苷 Rh2 抗肿瘤早已得到证实,但通过 NF- κ B 通路来探讨人参皂苷 Rh2 抗肿瘤机制的还不多, Kim SY 等进行了这方面的研究,证实人参皂苷 Rh2 能通过调节基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)来影响肿瘤的侵袭转移。MMPs 是一类结构中含 Zn²⁺ 和 Ca²⁺ 的蛋白水解酶类,主要参与细胞外基质的代谢^[20-21]。NF- κ B 作为 MMP 的转录调节因子,其与 MMP 启动子上游 -615、-600 位点的 κ B 序列结合后使 MMP 的分泌明显上调,试验中^[22] 佛波醇酯(PMA)诱导的 MMP-1、-3、-9、和-14 的 mRNA 转录都受到了人参皂苷 Rh2 的抑制,实验发现,人参皂苷 Rh2 能抑制 PMA 介导的人星形胶质细胞瘤 MMP-9 的表达与分泌,并表明该抑制作用是通过 NF- κ B 和 AP-1 实现的,因为 NF- κ B 和 AP-1 两者与 DNA 结合及他们转录子活性都受到了人参皂苷 Rh2 的抑制,即阻碍了 NF- κ B 与相应 DNA 序列的结合。该实验还发现,人参皂苷 Rh2 还能明显抑制 NF- κ B 和 AP-1 上游调节因子-PMA 介导的 MAPK、ERK 和 JNK 的活性。另据 Keum 等^[23]报道,人参皂苷 Rg3 也能通过下调 NF- κ B 和 AP-1 转录子活性来抵抗肿瘤的进一步发展。

3.2 人参皂苷抑制 NF- κ B 活性阻止炎症发生

机体的炎症反应与炎症因子 NO 及前列腺素 PGE 关系密切,NO 和 PGE 分别由诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶 2(COX-2)催化产生。在炎症反应进程中,NF- κ B 能被激活,激活的 NF- κ B 启动炎症 TNF- α 、iNOS、COX-2 等基因转录,促进炎症因子的产生^[24]。

Park 等研究报道:人参皂苷化合物 K(compound K)能抑制 iNOS 和 COX-2 的表达,虽然浓度为 25 μ M 的人参皂苷化合物 K 能诱导 COX-2 含量增加无法解释。化合物 K 通过抑制核因子 NF- κ B 活性,进而抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 RAW 264.7 细胞中 iNOS 和 COX-2 的基因表达,减少 NO 和 PDE2 的产生,先前的研究证实化合物 K 能治疗被动皮肤过敏反应和特应性疾病,而原人参三醇型的皂苷经体内代谢很容易转化成化合物 K。人参皂苷 Rb1 亦可以经过代谢转化成化合物 K,发挥治疗过敏性炎症疾病的作用。Oh 等^[25]也有类似的报道,原人参三醇(20(S)-Protopanaxatriol, PPT, 一种人参皂苷的代谢产物)能阻止 I κ B 的磷酸化降解,钝化 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞细胞质中的 NF- κ B 活性,从而阻碍 iNOS 和 COX-2 的表达。

3.3 人参皂苷调节 NF- κ B 活性保护神经细胞

已往的研究表明, NF- κ B 的适度激活能对神经元起保护作用,而在胶质细胞中 NF- κ B 过度活化又可导致炎症级联反应,损害神经系统^[18-19],陈云波等^[26]通过实验发现,人参皂苷 Rg1 对 A β_{25-35} 诱导的 SD 大鼠乳鼠的海马神经元细胞和星形胶质细胞阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)模型 NF- κ B 具有双向调节作用。2 μ mol/L 的低浓度人参皂苷 Rg1 能同时提高神经元的 NF- κ B 活性,减弱星形胶质细胞的 NF- κ B 活性,且保持 NF- κ B 活性与正常水平相近,针对一定活性范围 NF- κ B 对神经元和星形胶质细胞的不同效应,这两种细胞中 NF- κ B 的活化与否与细胞活力高低存在不同的线性关系,低浓度人参皂苷 Rg1 能够提高神经元细胞中的 NF- κ B 的活性,同时拮抗 NF- κ B 在星形胶质细胞中的激活,从而循不同途径共同保护神经细胞,在临床上可能达到减缓 AD 发病进程的效果。

越来越多的实验证实,人参皂苷及其代谢产物对一些炎症、肿瘤及神经退行性疾病中的 NF- κ B 活性异常变化具有良好的调节作用,其对 NF- κ B 活性的调节改善了这些疾病的预后,相信人参皂苷抗病机制的继续深入阐明,将会给相关疾病的临床治疗带来新的希望。

4 展望

NF- κ B 信号转导途径参与了机体炎症反应、肿瘤发生发展及神经退行性疾病等多种疾病的病理过程,其活性异常变化是多种疾病病理过程的重要机制。把活化的 NF- κ B 作为治疗一些难治性慢性病的新靶点,是近些年来科学家正在努力的方向。

近年来,科学家正把目光投向 NF- κ B 通路的各个环节,寻找 NF- κ B 活性抑制剂,比如 Xu 等^[27]报道在人前列腺癌 PC-3 细胞体外实验中,莱菔硫烷(sulforaphane, SFN)和苯乙基异硫氰酸酯(phenethyl isothiolanate, PEITC)能通过 I κ B α , IKK 途径抑制 NF- κ B 活化及其调节的相关基因的表达。目前,许多 NF- κ B 抑制剂正进入临床试验阶段,如 CHS82,肽类硼酸 PS-34 等,但目前 NF- κ B 抑制剂的特异性差,选择性低,副作用大,真正在临床上使用的特异性高疗效好的抑制剂屈指可数,无法满足治疗疾病的需要。人参皂苷单体作为天然的植物提取物,毒副作用小,随着其抗病分子机制的阐明,把人参皂苷单体及其代谢产物作为 NF- κ B 的抑制剂,并以有活性的单体为母体化合物,设计出特异性更高,疗效更明确的衍生化合物,或许是开发治疗肿瘤、慢性难治性炎症疾病及神经退行性疾病的有效途径。

参考文献:

- [1] Bae EA, Han MJ, Shin YW, et al. Inhibitory effects of Korean red ginseng and its genuine constituents ginsenosides Rg3, Rf, and Rh2 in mouse passive cutaneous anaphylaxis reaction and contact dermatitis models[J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(9): 1862-1867.
- [2] Chen F, Eckman EA, Eckman CB. Reductions in levels of the Alzheimer's amyloid beta peptide after oral administration of ginsenosides[J]. FASEB J, 2006, 20(8): 1269-1271.
- [3] Ham YM, Lim JH, Na HK, et al. Ginsenoside-Rh2-induced mitochondrial depolarization and apoptosis are associated with reactive oxygen species- and Ca²⁺-mediated c-Jun NH2-terminal kinase 1 activation in HeLa cells[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319(3): 1276-1285.
- [4] Xu TM, Xin Y, Cui MH, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 combined with cyclophosphamide on growth and angiogenesis of ovarian cancer[J]. Chin Med J, 2007, 120(7): 584-588.
- [5] 倪劲松, 辛颖, 王心蕊, 等. 20(s)-人参皂苷 Rg3 对 Lewis 肺癌生长及转移的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(5): 311-313.
- [6] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immuno-globulin enhancer sequence[J]. Cell, 1986, 46(5): 705-716.
- [7] Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF- κ B[J]. Genes Dev, 2004, 18(18): 2195-2224.
- [8] Malek S, Chen Y, Huxford T, et al. I κ B, but not I κ B functions as a classical cytoplasmic inhibitor of NF- κ B dimers by masking both NF- κ B nuclear localization sequences in resting cells[J]. J Biol Chem, 2001, 276(48): 45225-45235.
- [9] Karin M, Cao Y, Greten FR, et al. NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(4): 301-310.
- [10] Perkins ND. NF- κ B: tumor promoter or suppressor? [J]. Trends Cell Biol, 2004, 14(2): 64-69.
- [11] Luo JL, Maeda S, Hsu LC, et al. Inhibition of NF- κ B in cancer cells converts Inflammation-induced tumor growth mediated by TNF α to TRAIL-mediated tumor regression[J]. Cancer Cell, 2004, 6(3): 297-305.
- [12] Pikarsky E, Porat RM, Stein I, et al. NF- κ B functions as a tumor promoter in inflammation-associated cancer[J]. Nature, 2004, 431(7007): 461-466.
- [13] Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, et al. NF- κ B anti-apoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation[J]. Science, 1998, 281(5383): 1680-1683.
- [14] Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, et al. Biologic sequelae of nuclear factor-kappaB blockade in multiple myeloma: therapeutic applications[J]. Blood, 2002, 99(11): 4079-4086.
- [15] Lerebours F, Vacher S, Andrieu C, et al. NF-kappa B genes have a major role in Inflammatory Breast Cancer[J]. BMC Cancer, 2008, 8: 41.
- [16] Zhou HR, Islam Z, Pestka JJ. Kinetics of lipopolysaccharide-induced transcription factor activation/inactivation and relation to proinflammatory gene expression in the murine spleen[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2003, 187(3): 147-161.
- [17] Ambili R, Santhi WS, Janam P, et al. Expression of activated transcription factor nuclear factor-kappa B in periodontally diseased tissues[J]. J Periodontol, 2005, 76(7): 1148-1153.
- [18] Lezoualch F, Sagara Y, Holsboer, et al. High Constitutive NF-kappa B activity mediates resistance to oxidative stress in neu-

ronal cells[J]. J Neurosci, 1998, 18(9):3224-3232.

[19] Biales KR, Du Y, Dodel RC, et al. The NF- κ B/Rel family of proteins mediates Abeta-induced neurotoxicity and glial activation[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1998, 57(1):63-72.

[20] Kenny HA, Kaur S, Coussens LM, et al. The initial steps of ovarian cancer cell metastasis are mediated by MMP-2 cleavage of vitronectin and fibronectin[J]. J Clin Invest, 2008, 118(4):1367-1379.

[21] Holtkamp N, Atallah I, Okuducu AF, et al. MMP-13 and p53 in the progression of malignant peripheral nerve sheath tumors [J]. Neoplasia, 2007, 9(8):671-677.

[22] Kim SY, Kim DH, Han SJ, et al. Repression of matrix metalloproteinase gene expression by ginsenoside Rh2 in human astrogloma cells[J]. Biochem Pharmacol, 2007, 74(11):1642-1651.

[23] Keum YS, Han SS, Chun KS, et al. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappaB activation and tumor promotion[J]. Mutat Res, 2003, 523-524:75-85.

[24] Xie Q W, Kashiwabara Y, Nathan C. Role of transtcription factor NF- κ B/Rel in induction of nitric oxide synthase[J]. J Bio Chem, 1994, 269(7):4705-4708.

[25] Oh GS, Pae HO, Choi BM, et al. 20(S)-Protopanaxatriol, one of ginsenoside metabolites, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expressions through inactivation of nuclear factor-kappaB in RAW 264. 7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide[J]. Cancer Lett, 2004, 205(1):23-29.

[26] 陈云波, 张大鹏, 冯梅, 等. 人参皂苷 Rg1 对 A β_{25-35} 诱导的神经细胞核因子- κ B 活化的影响[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(5):612-617.

[27] Xu C, Shen G, Chen C, et al. Suppression of NF- κ B and NF- κ B-regulated gene expression by sulforaphane and PEITC through I κ B α , IKK pathway in human prostate cancer PC-3 cells[J]. Oncogene, 2005, 24(28):4486-4495.

[编辑:周永红;校对:刘红武]

(上接第 887 页)

出后重新分组,比较 MT 阳性与阴性表达患者的 3 年无病生存率与无远处转移生存率,发现阳性组患者均显著低于阴性组。本组研究结果提示 MT 对大肠癌患者预后的影响可能更多体现在对化疗耐药性方面,即 MT 阳性表达者可能对化疗相对不敏感,因而预后较差。

参考文献:

[1] Cherian MG, Jayasurya A, Bay BH. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis[J]. Mutat Res, 2003, 533(1-2):201-209.

[2] Hishikawa Y, Koji T, Dhar DK, et al. Metallothionein expression correlates with metastatic and proliferative potential in squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. Br J Cancer, 1999, 81(4):712-720.

[3] 江华,赵玉沛,陈革,等.金属硫蛋白与人胰腺癌细胞耐放射性的关系初步探讨[J].中华肝胆外科杂志,2006,12(11):754-756.

[4] Joseph MG, Banerjee D, Kocha W, et al. Metallothionein expression in patients with small cell carcinoma of the lung. Correlation with other molecular markers and clinical outcome[J].

Cancer, 2001, 92(4):836-842.

[5] Kelley SL, Basu A, Tercher BA, et al. Overexpression of metallothionein confers resistance of anticancer drugs[J]. Science, 1988, 241(4874):1813-1815.

[6] Meijer C, Timmer A, De Vries EG, et al. Role of metallothionein in cisplatin sensitivity of germ-cell tumors[J]. Int J Cancer, 2000, 85(6):777-781.

[7] Janssen AM, van Duijn W, Oostendorp-van de Ruit M, et al. Metallothionein in human gastrointestinal cancer[J]. J Pathol, 2000, 192(3):293-300.

[8] Hishikawa Y, Kohno H, Ueda S, et al. Expression of metallothionein in colorectal cancers and synchronous liver metastases[J]. Oncology, 2001, 61(2):162-167.

[9] Janssen AM, van Duijn W, Kubben FJ, et al. Prognostic significance of metallothionein in human gastrointestinal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(6):1889-1896.

[10] 李世拥,于波,安萍,等.金属硫蛋白和 FasL 在大肠癌组织中表达及临床意义的研究[J].中华外科杂志,2005,43(17):1118-1120.

[11] Dziegel P, Forgacz J, Suder E, et al. Prognostic significance of metallothionein expression in correlation with Ki-67 expression in adenocarcinomas of large intestine[J]. Histol Histopathol, 2003, 18(2):401-407.

[编辑:贺文;校对:周永红]