

熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤作用的研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201422

摘要: 熊果酸和齐墩果酸广泛存在于蔬菜、水果和中草药里, 并被广泛研究。二者不仅同属五环三萜酸类化合物, 又是同分异构体, 药理作用几乎相同, 都具有抗炎、抗变态反应、抗微生物、降血糖、调血脂、减肥、抗动脉粥样硬化、抗骨质疏松、保肝和免疫调节以及抗焦虑、抗抑郁、改善学习记忆等作用。熊果酸和齐墩果酸还具有广谱抗肿瘤作用, 包括呼吸系肿瘤、消化系肿瘤、性器官肿瘤、皮肤癌和白血病等。综述熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤作用及其机制的研究进展, 为新药研发提供依据。

关键词: 熊果酸; 齐墩果酸; 脑瘤; 神经胶质瘤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2016) 01-0132-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.01.025

Research progress on effects of ursolic acid and oleanolic acid against brain neoplasms

ZHANG Ming-fa, SHEN Ya-qin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201422, China

Abstract: Ursolic acid and oleanolic acid, both belonging to pentacyclic triterpene carboxylic acid, exist in many plants (vegetable, fruit, and herb), are extensively researched, and are isomers yet. Their pharmacologic effects are fully alike. Ursolic acid and oleanolic acid have the pharmacologic effects of anti-inflammation, anti-allergy, anti-microbe, hypoglycemia, lipidemic regulation, antiobesity, atherosclerosis, anti-osteoporosis, hepatoprotection, immunomodulation, anti-anxiety, antidepressant, and improvement of study and memory. Ursolic acid and oleanolic acid yet have broad antitumor effects, inclusive of leukemia, skin cancer, sexual organ carcinoma, digestive systemic tumor, and respiratory systemic tumor. In this paper, research advances in the effects and mechanisms of ursolic acid and oleanolic acid against brain neoplasms are reviewed.

Key words: ursolic acid; oleanolic acid; brain neoplasms; glioma

熊果酸和齐墩果酸广泛存在于多种蔬菜、水果和中草药里, 并被广泛研究与应用。二者不仅同属五环三萜酸类化合物, 又是同分异构体, 药理作用几乎相同, 都具有广泛而温和的抗炎、抗变态反应、抗微生物、降血糖、调血脂、抗肥胖、抗动脉粥样硬化、抗骨质疏松、保肝和免疫调节等药理作用^[1-4]。齐墩果酸作为注册的保肝药已在我国临床应用了将近 40 年。近年来脑瘤发病及病死率呈上升的趋势, 2011 年的统计数据排在第 7 位, 由于其他恶性肿瘤最终会有 20%~30% 发生脑转移, 使脑转移肿瘤发病率迅速上升, 甚至超过原发脑瘤^[5]。可是目前可供临床选择的治疗脑瘤有效且毒副作用小的药物几乎没有。已有大量动物实验证明熊果酸和齐墩果酸还具有广谱抗肿瘤作用^[6-8]。由于熊果酸

和齐墩果酸是脂溶性的, 容易通过血脑屏障, 在脑内产生药理作用如抗焦虑、抗抑郁、改善学习记忆等神经精神药理作用^[9], 因此近年来将其抗肿瘤谱研究扩大到了脑瘤。综述熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤药理作用及其机制的研究进展, 以期为新药研发提供依据。

1 抗脑瘤药理作用

1.1 脑胶质瘤

脑胶质瘤又称神经胶质瘤, 是中枢神经系统中最常见的恶性肿瘤, 大约占颅内肿瘤的 50%, 病死率和致残率极高^[10]。寻找新的有效药物治疗神经胶质瘤已经成为当前神经外科学界的重点和难点。因此神经胶质瘤细胞成为抗脑瘤药物研究中最常见的对象。

收稿日期: 2015-11-26

作者简介: 张明发 (1946—), 研究员, 研究方向为中药药理。Tel: (021)68928846 E-mail: zhmf_my@126.com

孙亦明等^[11]报道熊果酸质量浓度在 10~80 $\mu\text{mol/L}$ 时浓度和时间相关的抑制人神经胶质瘤 A172 细胞增殖,使细胞周期滞留在 G0/G1 期, S 期和 G2/M 期细胞数减少,凋亡细胞峰和凋亡率逐渐增高。熊果酸也显著降低多态型人神经胶质瘤 DBTRG-05MG 细胞的存活率和降低瘤细胞对抗癌药替莫唑胺的耐药性^[12]。刘琼等^[13]报道给已皮下移植大鼠神经胶质瘤 C6 细胞 12 d 的裸鼠, ip 熊果酸 50 mg/kg, 连续给药 20 d 可使移植瘤缓慢生长, 肿瘤体积和质量(瘤细胞多呈梭形、间质微血管明显减少)明显低于对照组。熊果酸在不抑制 C6 细胞增殖的无细胞毒浓度时能抑制白介素-1 β 或肿瘤坏死因子- α 引起 C6 细胞侵袭^[14]。Zhang 等^[15]报道齐墩果酸对荷 C6 细胞大鼠的放疗有增敏作用。

袁辉胜等^[16]、操廉等^[17-19]采用 MMT 比色法、克隆形成实验和流式细胞术进行研究,熊果酸 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 均呈现浓度和时间相关地抑制人神经胶质瘤 U251 细胞增殖,并诱导细胞凋亡。熊果酸连续作用 6 d 的 U251 细胞增殖抑制率分别为 10.64%、23.13%、31.91%。细胞周期滞留在 G0/G1 期,进入 DNA 合成期的细胞数减少,细胞核浓缩或碎裂、DNA 梯状降解明显,呈典型的凋亡改变。熊果酸还浓度和时间相关的抑制人神经胶质瘤 U87MG 细胞增殖,使细胞周期滞留在 G1 期并诱导其自噬(促进自噬标志物 LC3-II 和自噬溶酶体累积以及酸性束状细胞器形成)。熊果酸也促进 U87MG 细胞分化^[20-21]。齐墩果酸也抑制人神经胶质瘤细胞(U87MG 细胞和 U373 细胞)增殖、血管形成、侵袭和迁移^[22-23]。

1.2 其他脑瘤

邢莉莉等^[24]报道熊果酸在 4、8、12 $\mu\text{mol/L}$ 时呈浓度和时间相关地抑制人神经母细胞瘤 SH-SY-5Y 细胞增殖并促进瘤细胞凋亡。Gong 等^[25]报道熊果酸 10~80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度相关的抑制小鼠垂体促肾上腺皮质激素瘤 AtT20 细胞增殖,诱导瘤细胞凋亡并减少促肾上腺皮质激素分泌。

2 抗脑瘤作用机制

2.1 抑制丝裂原活化的蛋白激酶/细胞外信号调节激酶信号通路

熊果酸和齐墩果酸是通过抑制丝裂原活化的蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(MAPK/ERK)信号通路诱导肿瘤细胞凋亡的^[6, 22]。神经胶质瘤细胞增殖与细胞外信号调节激酶(ERK)的高水平表达

有关。熊果酸通过抑制移植瘤 C6 细胞的 ERK 表达,阻断 ERK 通路的信号转导,使 ERK 通路的下游靶基因 C-Jun、C-Myc、细胞周期蛋白 D1 表达受阻而遏止细胞增殖^[13]。熊果酸还通过抑制 ERK 磷酸化,即阻滞 ERK 的激活,在质量浓度为 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 时对 ERK 磷酸化的抑制率分别为 9.26%、25.33%、56.78%,从而促进细胞周期抑制因子 p21waf/cipl 表达和抑制细胞周期蛋白 D1 表达,使神经胶质瘤细胞滞留在 G0/G1 期^[16]。

2.2 下调凋亡抑制蛋白生存素、Bcl-2 表达和促进 Bcl-2 降解

熊果酸和齐墩果酸下调凋亡抑制蛋白生存素(survivin)、Bcl-2 表达^[6-8, 17-18, 25]。从而激活下游的半胱天冬酶活性,引起脑瘤细胞凋亡。操廉等^[15]认为熊果酸不影响促凋亡蛋白 Bax 表达,是通过浓度相关的抑制神经胶质瘤细胞表达环氧化酶-2,减少前列腺素 E₂ 合成,下调 Bcl-2 的表达。熊果酸还可激活 c-Jun 氨基末端激酶(JNK),使脑瘤细胞中的 Bcl-2 磷酸化并降解^[7, 20, 25]。其中 Gong 等^[25]认为熊果酸促进 Bcl-2 降解后诱导线粒体释放细胞色素 C,从而激活半胱天冬酶的线粒体凋亡途径,引起垂体促肾上腺皮质激素瘤细胞凋亡。而 Shen 等^[20]认为熊果酸是通过诱导活性氧生成,升高细胞内钙水平,激活 CaMKK-AMPK-mTOR 激酶信号转导,引起内质网应激,激活的内质网核信号转导蛋白 1 α 使 JNK 活化, Bcl-2 降解,从而增加自噬标志物 LC3-II 和自噬溶酶体累积以及酸性束状细胞器形成,触发神经胶质瘤 U87MG 细胞自噬。

2.3 其他机制

Lu 等^[12]报道熊果酸不促进人神经胶质瘤 DBTRD-05MG 细胞凋亡和自噬,认为是通过产生活性氧和耗竭还原型谷胱甘肽,打开线粒体通透性转换孔和减少三磷酸腺苷(ATP),引起线粒体功能障碍,致脑瘤细胞坏死。

Wang 等^[19]认为熊果酸抑制 TGF- β 1/Smads 信号转导,降低微小 RNA-21 表达量,从而促进程序性细胞死亡 4 蛋白表达而激活半胱天冬酶-3,引起神经胶质瘤细胞凋亡。邢莉莉等^[24]报道熊果酸浓度相关的抑制原癌基因 MYCN mRNA 的表达,在浓度为 4、8、12 $\mu\text{mol/L}$ 时对基因表达的抑制率分别为 19.88%、47.51%、52.37%,阻滞神经胶质瘤细胞增殖并促进凋亡。熊果酸还可抑制肿瘤细胞中的逆转录酶,使神经胶质瘤细胞增殖受阻并发生分化^[21]。

张玉莲等^[26]报道齐墩果酸 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 能对抗 β 淀粉样肽破坏小鼠胚胎神经干细胞的球状形态和抑制神经干细胞的自我更新, 并促进其向神经元方向分化, 提示齐墩果酸也可能有促进脑瘤细胞分化作用。Fujiwara 等^[23]报道齐墩果酸通过抑制信号转导与转录激活因子-3 (STAT3) 的激活, 抑制神经胶质瘤细胞增殖。

齐墩果酸通过使 MAPK/ERK 信号转导通路失活, 抑制神经胶质瘤细胞的上皮-间充质细胞转分化, 阻滞脑瘤细胞侵袭和迁移^[22]。Huang 等^[14]报道熊果酸浓度相关的抑制基质金属蛋白酶表达和活性, 抑制白介素-1 β 或肿瘤坏死因子- α 引起的神经胶质瘤细胞侵袭, 提示熊果酸和齐墩果酸有可能抑制脑瘤细胞侵袭和转移。

3 结语

熊果酸和齐墩果酸对包括多种神经胶质瘤细胞在内的脑瘤细胞增殖有抑制作用, 且抑制浓度都在 $\mu\text{mol/L}$ 级。熊果酸和齐墩果酸抗脑瘤机制复杂多样, 其中探讨较多的有: 抑制 MAPK/ERK 信号通路, 使脑瘤细胞的细胞周期滞留在 G0/G1 期; 下调凋亡抑制蛋白生存素、Bcl-2 表达和促进 Bcl-2 降解, 诱导脑瘤细胞凋亡。至今还很少见到抗脑瘤整体动物实验报道。刘琼等^[13]发现熊果酸抑制胶质瘤裸鼠移植瘤生长, 也仅仅是皮下移植, 皮下的生长环境毕竟不同于脑内, 建议采用脑内移植(如脑室内注射)神经胶质瘤细胞的模型, 观察熊果酸和齐墩果酸灌胃抗脑瘤效应, 如仍然有效, 那么熊果酸和齐墩果酸更有可能成为临床抗脑瘤新药。

熊果酸和齐墩果酸也有增强机体抗肿瘤的免疫功能, 如提高机体外周血白细胞数, 刺激脾细胞增殖, 提高吞噬细胞吞噬功能, 促进吞噬细胞释放白介素-1 β 、 γ -干扰素、肿瘤坏死因子- α 和一氧化氮等细胞因子, 从而抑杀机体内的肿瘤细胞^[6]。熊果酸和齐墩果酸还可抑制与肿瘤相关的 T 细胞, 产生抗肿瘤作用。Xu 等^[27]报道熊果酸可选择性抑制 ROR γ t 蛋白的功能, 显著阻滞 Th17 细胞分化和表达白介素-17, 产生抗肿瘤作用。齐墩果酸通过抑制 STAT3 的激活, 阻滞肿瘤相关的巨噬细胞分化成 M2 表型巨噬细胞而抑制肿瘤细胞增殖^[23]。可见熊果酸和齐墩果酸对肿瘤既有直接抑制作用, 也可通过调控机体的免疫功能产生间接抗肿瘤效能。

由于熊果酸和齐墩果酸是广泛存在于天然植物中的有效成分, 毒副作用低微, 齐墩果酸在我国

临床应用已有约 40 年历史, 每日口服剂量为 20~80 mg, 3 次/d, 说明书中不良反应仅为少数患者有口干、腹泻、上腹部不适, 对症处理可消失, 个别患者出现血小板轻度减少, 停药后可恢复。未见严重不良反应报道。熊果酸尚在我国新药注册审批过程中。赵翠翠等^[28]研究了熊果酸纳米脂质体 I 期临床单次耐受性试验, 结果显示熊果酸纳米脂质体单次静滴的最大耐受量为 98 mg/m^2 , 剂量限制性毒性为肝脏毒性、腹泻。其他不良反应包括腹胀、恶心、血脂异常、血钠升高, 镜下血尿, 皮肤过敏和血管刺激性。给肿瘤患者连续静滴 14 d 熊果酸纳米脂质体 56、74、98 mg/m^2 , 耐受性较好, 未发生药物蓄积, 主要不良反应为肝功能指标异常(血清转氨酶升高)和胃肠道不良反应(腹泻、腹胀、恶心), 严重程度多为 1~2 级, 停药后可自行缓解。部分肿瘤患者用药 14 d, 病灶缩小, 临床症状减轻, 生活质量明显改善^[29]。熊果酸和齐墩果酸的衍生物甘草酸同样具有广泛、温和的药理作用(包括抗肿瘤、抗炎、抗变态反应、抗微生物、降糖、调脂、抗肥胖、抗动脉粥样硬化、保肝和免疫调节等^[30-34]), 在临床上也未见到广泛的副作用, 因此可将熊果酸和齐墩果酸作为肿瘤治疗药物来进一步开发研究。

参考文献

- [1] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸调血脂抗肥胖药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 58(1): 90-97.
- [2] 张明发, 沈雅琴. 女贞子及其活性成分抗骨质疏松症的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(6): 566-571.
- [3] 张明发, 沈雅琴. 女贞子抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5): 536-542.
- [4] 顾锦华, 黄 华, 薛 华, 等. 齐墩果酸对糖尿病小鼠胰岛损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1865-1870.
- [5] 陈万青, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 2011 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2015, 24(1): 1-10.
- [6] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的抗消化系肿瘤作用 [J]. 上海医药, 2011, 32(12): 606-611.
- [7] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗性器官和呼吸系肿瘤作用 [J]. 中国性科学, 2011, 20(12): 15-18, 28.
- [8] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸抗皮肤癌与白血病药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2012, 9(3): 177-181.
- [9] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的神经精神药理

- 作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(5): 570-576.
- [10] 赵伟镭, 申 忱, 韩明阳, 等. 颅内植入药物治疗脑胶质瘤的研究进展 [J]. 中国药房, 2015, 26(32): 4591-4593.
- [11] 孙亦明, 李剑敏. 熊果酸诱导 A172 脑胶质瘤细胞凋亡的初步研究 [J]. 当代医学, 2011, 17(16): 43-44.
- [12] Lu C C, Huang B R, Liao P J, *et al.* Ursolic acid triggers nonprogrammed death(necrosis) in human glioblastoma multiforme DBTRG-05MG cells through MPT pore opening and ATP decline [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(11): 2146-2156.
- [13] 刘 琼, 叶秀峰, 张 徽. 熊果酸抑制胶质瘤裸鼠移植瘤生长及其机制的初步探讨 [J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(11): 1041-1044.
- [14] Huang H C, Huang C Y, Lin-Shiau S Y, *et al.* Ursolic acid inhibits IL-1beta or TNF-alpha-induced C6 glioma invasion through suppressing the association ZIP/p62 with PKC-zeta and downregulating the MMP-9 expression [J]. *Mol Carcinog*, 2009, 48(6): 517-531.
- [15] Zhang Y, Xu H, Wang H, *et al.* Fluorine-18-deoxyglucose positron emission tomography/computed tomography with Ki67 and GLUT-1 immunohistochemistry for evaluation of the radiosensitization effect of oleanolic acid on C6 rat gliomas [J]. *Nucl Med Commun*, 2015, 36(1): 21-27.
- [16] 袁辉胜, 王 鹏. 熊果酸对脑胶质瘤 U251 细胞株增殖的影响 [J]. 医药导报, 2008, 27(12): 1440-1442.
- [17] 操 廉, 李庆阳, 王林风, 等. 熊果酸诱导脑胶质瘤 U251 细胞株凋亡及其机制 [J]. 实用医学杂志, 2008, 24(23): 4006-4008.
- [18] 操 廉, 王林风, 李庆阳, 等. 熊果酸对脑胶质瘤细胞株 U251 凋亡及 survivin 和 caspase-3 表达的影响 [J]. 医药导报, 2009, 28(10): 1271-1273.
- [19] Wang J, Li Y, Wang X, *et al.* Ursolic acid inhibits proliferation and induced apoptosis in human glioblastoma cell lines U251 by suppressing TGF- β 1/miR-21/PDCD4 pathway [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2012, 111(2): 106-112.
- [20] Shen S, Zhang Y, Zhang R, *et al.* Ursolic acid induces autophagy in U87MG cells via ROS-dependent endoplasmic reticulum stress [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 218C: 28-41.
- [21] Bonaccorsi I, Altieri F, Sciamanna I, *et al.* Endogenous reverse transcriptase as a mediator of ursolic acid's anti-proliferative and differentiating effects in human cancer cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2008, 263(1): 130-139.
- [22] Guo G, Yao W, Zhang Q, *et al.* Oleanolic acid suppresses migration and invasion of malignant glioma cells by inactivating MAPK/ERK signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72079.
- [23] Fujiwara Y, Komohara Y, Kuda R, *et al.* Oleanolic acid inhibits macrophage differentiation into the M2 phenotype and glioblastoma cell proliferation by suppressing the activation of STAT3 [J]. *Oncol Res*, 2011, 26(6): 1533-1537.
- [24] 邢莉莉, 吴晔明, 张 弛. 熊果酸对神经母细胞瘤细胞增殖凋亡及 MYCN 表达的影响 [J]. 临床小儿外科杂志, 2013, 12(3): 196-200.
- [25] Gong Y Y, Liu Y Y, Yu S, *et al.* Ursolic acid suppresses growth and adrenocorticotrophic hormone secretion in AtT20 cells as a potential agent targeting adrenocorticotrophic hormone-producing pituitary adenoma [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(6): 2533-2539.
- [26] 张玉莲, 张琳琳, 宋宛珊, 等. 三种补肾中药有效成分对 AD 小鼠胚胎神经干细胞自我更新及神经元样分化作用研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(10): 1245-1249.
- [27] Xu T, Wang X, Zhong B, *et al.* Ursolic acid suppresses interleukin-17 (IL-17) production by selectively antagonizing the function of RORgamma t protein [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(26): 22707-22710.
- [28] 赵翠翠, 钱正子, 王华庆, 等. 熊果酸纳米脂质体 I 期临床单次耐受性试验研究 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(2): 148-151.
- [29] 阎 昭. 天然抗肿瘤药物熊果酸脂质体早期临床研究 [D]. 天津: 天津大学, 2012.
- [30] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸的抗肿瘤作用 [J]. 上海医药, 2010, 31(11): 492-495.
- [31] 张明发, 沈雅琴. 甘草酸治疗肝病的临床再评价 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(2): 82-87.
- [32] 张明发, 金玉洁, 沈雅琴. 甘草酸保护脑损伤及改善学习记忆功能的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(1): 59-63.
- [33] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分对生殖系统药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(4): 367-374.
- [34] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其有效成分抗脂肪肝和抗肥胖的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 439-447.