

## 肿瘤细胞与血管内皮细胞相互作用及丹参干预作用

陶 丽<sup>1</sup>, 钱文慧<sup>1</sup>, 张 蕾<sup>1</sup>, 阮君山<sup>1</sup>, 王爱云<sup>1,2</sup>, 陆 茵<sup>1,2\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210046

**摘 要:** 肿瘤转移的复杂机制在于肿瘤细胞与各种宿主细胞之间发生的广泛作用, 而肿瘤能否建立转移则取决于肿瘤细胞诱导并利用宿主细胞协助自身发展的能力。其中肿瘤与血管内皮细胞间的相互作用在支持肿瘤血行转移中扮演了重要角色。研究表明活血化瘀药丹参对这一过程具有多成分、多环节的抑制作用, 为以肿瘤细胞与血管内皮细胞相互作用为靶点的抗肿瘤候选药物研发提供参考。

**关键词:** 肿瘤细胞; 血管内皮细胞; 细胞通讯; 丹参; 抗肿瘤

中图分类号: R286.91 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-1033-04

## Interactions between tumor cells and vascular endothelial cells and intervention by *Salviae Miltiorrhizae Radix*

TAO Li<sup>1</sup>, QIAN Wen-hui<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, RUAN Jun-shan<sup>1</sup>, WANG Ai-yun<sup>1,2</sup>, LU Yin<sup>1,2</sup>

1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Security Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210046, China

**Key words:** tumor cells; vascular endothelial cells; cell communication; *Salviae Miltiorrhizae Radix*; antitumor activity

研究发现, 肿瘤细胞具有诱导并利用宿主细胞协助自身发展的能力, 提示未考虑到肿瘤背景下宿主细胞性质改变可能是以往抗肿瘤治疗失败的重要原因。在一项多发性骨髓瘤的临床试验中发现, 同未定性单克隆免疫球蛋白血症(可恶化为多发性骨髓瘤)患者相比, 多发性骨髓瘤患者骨髓微环境中的内皮细胞发生了22种基因的显著变化, 与骨组织重塑、肿瘤细胞黏附、趋化、血管生成、凋亡抵抗及细胞周期调控等密切相关<sup>[1]</sup>。而肿瘤与宿主血管内皮细胞的相互作用作为肿瘤血行转移过程中的高频事件, 通过直接接触或自分泌、旁分泌及双向分泌(amphicrine)可溶性因子介导的生物信号而影响彼此, 决定了肿瘤转移效率及靶器官选择性等问题, 提示干涉肿瘤转移进程可以从肿瘤细胞与血管内皮细胞相互作用入手, 丹参作为活血化瘀中药的代表药, 被证明在该环节的抗肿瘤治疗中发挥积极作用。本文就肿瘤细胞与血管内皮细胞间的相互作用

进行全面概述, 同时分析了丹参活性成分群对该作用的影响, 以为临床选择安全有效的抗肿瘤中药提供依据。

### 1 肿瘤细胞对血管内皮的调控

#### 1.1 肿瘤细胞体外诱导血管生成

肿瘤细胞具有体外直接诱导血管生成的潜能。在被广泛采用的肿瘤细胞与人脐静脉内皮细胞株(Human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)共培养模型中发现, 肿瘤条件培养基中的内皮细胞与正常环境中的内皮细胞相比, 发生了诸多遗传学修饰, 特别是与血管生成相关的信号受体表达以及血管生成能力显著增强<sup>[2]</sup>。Al-Nedawi 等<sup>[3]</sup>发现HUVECs主动摄取肿瘤细胞分泌的包裹有表皮生长因子受体(EGFR)的微泡, 从而激活内皮细胞并陷入自分泌血管内皮生长因子(VEGF)循环中, 持续启动VEGF/VEGFR-2信号通路和血管生成。以上研究表明肿瘤分泌可溶性因子诱导血管内皮细

收稿日期: 2010-10-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772766); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2010085, BK2010562); 江苏省六大人才高峰课题A类(08-A-012); 江苏省教育厅重大专项(09KJA360002); 江苏省中医药局项目(LZ09022); 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室开放课题(P09013); 江苏省国际科技合作计划(BZ2009052); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 陶 丽(1986—), 女, 江苏省镇江市人, 硕士研究生, 研究方向为活血化瘀中药及其复方对肿瘤转移的影响。

Tel: 13182879310 E-mail: tl20082008@126.com

\*通讯作者 陆 茵 Tel: (025)86798154 E-mail: luyingreen@126.com

胞发生基因及表型改变。

## 1.2 肿瘤细胞黏附于血管内皮与跨血管内皮迁移

肿瘤细胞向血管渗出的动力学过程与白细胞趋化迁移类似,但白细胞仅短时间影响内皮完整性,肿瘤细胞对内皮造成的损伤是长时间且不可逆的<sup>[4]</sup>。目前认为肿瘤细胞可通过 3 种方式完成其跨内皮迁移过程,一是肿瘤细胞直接穿越内皮细胞胞体迁移;二是诱导内皮细胞凋亡后迁移;三是肿瘤细胞从内皮间隙中迁移<sup>[5]</sup>。肿瘤细胞能够破坏内皮细胞间的紧密连接,造成内皮渗透率增加,使内皮失去屏障能力从而有利于肿瘤细胞游出<sup>[6]</sup>。Najy 等<sup>[7]</sup>发现表达于前列腺癌表面的 ADAM15 属于解聚素-金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase, ADAM)家族的一员,能够通过切割内皮细胞连接发挥促肿瘤转移作用。以上研究说明肿瘤能直接干涉内皮稳态,打破内皮屏障而建立转移。

## 2 血管内皮细胞对肿瘤细胞的调控

### 2.1 血管内皮细胞协助肿瘤转移

肿瘤靶器官特异性转移由肿瘤细胞与血管内皮细胞相互作用决定,而非靶器官微血管物理性截获那么简单<sup>[8]</sup>。Gassmann 等<sup>[9]</sup>发现肝血窦内皮表达趋化因子配体(CXCL12)与肿瘤细胞表达的趋化因子受体(CXCR4)结合,介导了肿瘤的肝脏转移,且 CXCL12 还能上调肿瘤细胞运动迁移相关蛋白的表达而增强肿瘤渗出能力,同时并不削弱肿瘤细胞与内皮细胞间的黏附能力。

### 2.2 血管内皮细胞抑制肿瘤转移

研究发现某些内源性血管活性物质对肿瘤发展起到抑制作用。如内皮细胞分泌血管活性物质凝血酶敏感蛋白 1(thrombospondin 1)能够对抗 VEGFA/VEGFR2 信号通路激活产生的 NO 而发挥抗血管生成作用<sup>[10]</sup>。又如内皮源性活化蛋白 C(activated protein C, APC)能够加强 1-磷酸鞘氨醇受体-1(sphingosine-1-phosphate receptor-1, S1P1)对血管内皮稳定作用而限制肿瘤细胞渗出<sup>[11]</sup>。但肿瘤患者往往对肿瘤制约因素产生抵抗,因此在考虑提高宿主肿瘤细胞抑制因子水平的同时需要监测个体治疗易感性问题。

## 3 丹参活性成分群对肿瘤细胞-血管内皮细胞相互作用的影响

丹参作为活血化瘀中药的代表药,在治疗心血管疾病方面已显示出其独特疗效,而大量的实验研究也发现丹参活性成分具有较好的抗肿瘤活性<sup>[12-15]</sup>。特别

是在肿瘤细胞-内皮细胞相互作用的环节中,丹参活性成分显示出多成分、多靶点的作用优势,支持了丹参活性成分在肿瘤防治领域应用的设想。

### 3.1 抑制肿瘤血管生成

丹参中脂溶性成分丹参酮 I 能剂量依赖性抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )诱导的内皮细胞 VEGF 合成以及 VEGF 诱导的血管生成<sup>[16]</sup>;二氢丹参酮 I 能抑制内皮细胞增殖、迁移,小管形成和减少体内鸡胚绒毛尿囊膜微血管密度<sup>[17]</sup>;丹参酮 II<sub>A</sub> 则能抑制肝癌细胞株 EGF 和 EGFR 的表达<sup>[18]</sup>。笔者所在课题组发现丹参水溶性成分丹参素主要通过抑制肿瘤血管生成而降低了小鼠黑色素瘤肺转移能力<sup>[19]</sup>。

### 3.2 抑制肿瘤细胞与血管内皮细胞黏附

丹参酮 I、原儿茶醛能够剂量依赖性抑制 TNF- $\alpha$  激活的 HUVECs 黏附分子——血管黏附分子-1(ICAM-1)和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达,从而分别降低乳腺癌 MDA-MB-231、淋巴瘤 U937 与 HUVECs 的黏附能力,凝胶迁移泳动率分析试验结果显示原儿茶醛能够剂量依赖性抑制 TNF- $\alpha$  激活的核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)与转录因子 AP-1 及 DNA 结合活力<sup>[16,20]</sup>。丹参酮 II<sub>A</sub> 具有较强的抗黏附作用,能抑制内皮细胞膜上 E-selectin 与肿瘤细胞表面糖蛋白 sLeX、sLeA 及 CD44v6 的结合<sup>[21]</sup>。

### 3.3 抑制血管内皮细胞促肿瘤活性物质释放

二氢丹参酮 I 可抑制 TNF- $\alpha$  刺激状态 HUVECs 中血管生成因子内皮素-1(ET-1)的表达,与其抑制 NF- $\kappa$ B 转录活性有关<sup>[22]</sup>;丹酚酸 B 则通过抑制 NF- $\kappa$ B 和 ERK-AP-1 信号通路从而减少 TNF- $\alpha$  诱导的内皮细胞纤溶酶原激活物抑制剂 PAI-1 的 mRNA 和蛋白水平<sup>[23]</sup>。

### 3.4 保护内皮、增强血管内皮细胞屏障功能

丹参酮 II<sub>A</sub> 能减轻过氧化氢诱导的血管内皮氧化损伤<sup>[24]</sup>,丹酚酸 B 能抑制血管内皮 VEGF 表达及 ERK 磷酸化激活,并使得紊乱的 VE-Cadherin 重分布,从而增强了内皮的屏障功能<sup>[25]</sup>。

此外,课题组发现丹参活性成分群除了影响血管内皮细胞外,其脂溶性成分在抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡方面也有较明确的作用,如隐丹参酮抑制肿瘤 mTOR 信号通路,调控不同细胞周期相关蛋白的表达,从而对黑色素瘤转移细胞株产生不同的细胞周期阻滞作用<sup>[26]</sup>。因此丹参活性成分群能同时靶向血管内皮细胞和肿瘤细胞,极富开发前景。

## 4 展望

随着肿瘤生物学研究的不断深入,肿瘤在发生、发展过程中与宿主细胞的密切关系逐渐得到认识,而肿瘤与内皮(包括血管和淋巴管内皮)的相互作用在肿瘤发展进程中的重要性已是共识。由于三维共培养、分离式基板层流培养以及镶嵌肿瘤等模型<sup>[27-29]</sup>能够更好地模拟体内环境,因而使得肿瘤细胞与血管内皮细胞相互作用的研究更加深入。活血化瘀中药丹参能抑制肿瘤细胞-血管内皮细胞相互作用,重点在于抑制内皮黏附因子等的表达,恢复内皮结构和功能尤其是维持血管内皮屏障,显示出同时抑制肿瘤增殖和血管生成双重活性。但丹参单一活性成分的“破碎化”信息难以表征其科学内涵,本课题组拟以此为切入点,利用定量药理、定向剔除等技术以及体外肿瘤内皮三维共培养仿真模型研究丹参水溶性成分组或脂溶性成分多组分协同的整合作用,为丹参抗肿瘤临床应用提供支撑。

#### 参考文献

- [1] Najy A J, Day K C, Day M L. ADAM15 supports prostate cancer metastasis by modulating tumor cell-endothelial cell interaction [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(4): 1092-1099.
- [2] Khodarev N N, Yu J, Labay E, *et al.* Tumour-endothelium interactions in co-culture: coordinated changes of gene expression profiles and phenotypic properties of endothelial cells [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(6): 1013-1022.
- [3] Al-Nedawi K, Meehan B, Kerbel R S, *et al.* Endothelial expression of autocrine VEGF upon the uptake of tumor-derived microvesicles containing oncogenic EGFR [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(10): 3794-3799.
- [4] Mierke C T. Role of the endothelium during tumor cell metastasis: is the endothelium a barrier or a promoter for cell invasion and metastasis [J]. *J Biophys*, 2008, 18: 3516.
- [5] Strell C, Entschladen F. Extravasation of leukocytes in comparison to tumor cells [J]. *Cell Commun Signal*, 2008, 6: 10.
- [6] Martin T A, Jiang W G. Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1788(4): 872-891.
- [7] Ria R, Todoerti K, Berardi S, *et al.* Gene expression profiling of bone marrow endothelial cells in patients with multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17): 5369-5378.
- [8] Nguyen D X, Bos P D, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 274-284.
- [9] Gassmann P, Haier J, Schlüter K, *et al.* A CXCR4 regulates the early extravasation of metastatic tumor cells *in vivo* [J]. *Neoplasia*, 2009, 11(7): 651-661.
- [10] Isenberg J S, Martin-Manso G, Maxhimer J B, *et al.* Regulation of nitric oxide signalling by thrombospondin 1: implications for anti-angiogenic therapies [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(3): 182-194.
- [11] Van Sluis G L, Niers T M, Esmon C T, *et al.* Endogenous activated protein C limits cancer cell extravasation through sphingosine-1-phosphate receptor 1-mediated vascular endothelial barrier enhancement [J]. *Blood*, 2009, 114(9): 1968-1973.
- [12] 钱文慧, 陆茵, 陈磊, 等. 血小板活化介导的肿瘤转移及丹参治疗的前景展望 [J]. *中草药*, 2010, 41(2): 311-314.
- [13] 陈磊, 陆茵, 郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应 [J]. *中草药*, 2009, 40(3): 476-479.
- [14] 高洁, 白茹, 李长志, 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 对阿霉素抑制肿瘤细胞生长作用的影响 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(2): 91-94.
- [15] 赵广荣, 田莉莉, 王长松. 丹参素的抗癌活性研究 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(3): 180-182.
- [16] Nizamutdinova I T, Lee G W, Lee J S, *et al.* Tanshinone I suppresses growth and invasion of human breast cancer cells, MDA-MB-231, through regulation of adhesion molecules [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(10): 1885-1892.
- [17] Bian W, Chen F, Bai L, *et al.* Dihydrotanshinone I inhibits angiogenesis both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2008, 40(1): 1-6.
- [18] 翟学敏, 和水祥, 任牡丹, 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 对人肝癌 SMMC-7721 细胞 EGF 及其受体表达的影响 [J]. *浙江大学学报: 医学版*, 2009, 38 (2): 163-169.
- [19] Zhang L J, Chen L, Lu Y, *et al.* Danshensu has anti-tumor activity in B16F10 melanoma by inhibiting angiogenesis and tumor cell invasion [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 643 (2-3): 195-201.
- [20] Zhou Z, Liu Y, Miao A D, *et al.* Protocatechuic aldehyde suppresses TNF-alpha-induced ICAM-1 and VCAM-1 expression in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 513(1-2): 1-8.
- [21] 钱世鹄, 陈德, 李悦, 等. E-选择素及其配体表达对肝癌转移的临床意义 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2010(6): 440-444.
- [22] Zhou Z, Wang S Q, Liu Y, *et al.* Cryptotanshinone inhibits endothelin-1 expression and stimulates nitric oxide production in human vascular endothelial cells [J].

- Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760(1): 1-9.
- [23] Zhou Z, Liu Y, Miao A D, *et al.* Salvianolic acid B attenuates plasminogen activator inhibitor type 1 production in TNF-alpha treated human umbilical vein endothelial cells [J]. *J Cell Biochem*, 2005, 96(1): 109-116.
- [24] Lin R, Wang W R, Liu J T, *et al.* Protective effect of tanshinone IIA on human umbilical vein endothelial cell injured by hydrogen peroxide and its mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108(2): 217-222.
- [25] Liu C L, Xie L X, Li M, *et al.* Salvianolic acid B inhibits hydrogen peroxide-induced endothelial cell apoptosis through regulating PI3K/Akt signaling [J]. *PLoS One*, 2007, 2(12): 1321.
- [26] Chen W, Luo Y, Liu L, *et al.* Cryptotanshinone inhibits cancer cell proliferation by suppressing Mammalian target of rapamycin-mediated cyclin d1 expression and rb phosphorylation [J]. *Cancer Prev Res*, 2010, 3(8): 1015-1025.
- [27] Ingthorsson S, Sigurdsson V, Fridriksdottir A J, *et al.* Endothelial cells stimulate growth of normal and cancerous breast epithelial cells in 3D culture [J]. *BMC Res Notes*, 2010, 3(1): 184.
- [28] Kaji H, Yokoi T, Kawashima T, *et al.* Directing the flow of medium in controlled cocultures of HeLa cells and human umbilical vein endothelial cells with a microfluidic device [J]. *Lab Chip*, 2010, 10(18): 2374-2379.
- [29] Liu L Z, Zheng J Z, Wang X R, *et al.* Endothelial p70 S6 kinase 1 in regulating tumor angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(19): 8183-8188
- .....

## 《现代药物与临床》杂志征稿、征订启事

《现代药物与临床》杂志 (CN12-1407/R, ISSN 1674-5515) 是国家级医药科技期刊, 天津市一级期刊, 2009 年 1 月由《国外医药·植物药分册》更名为《现代药物与临床》, 并被美国《化学文摘》(CA)、波兰《哥白尼索引》(IC)、美国《乌里希期刊指南》(Ulrich's Periodicals Directory), CNKI 中国期刊全文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库等刊载。为了进一步提高期刊质量, 2010 年出版的《现代药物与临床》全新改版, 更加突出创新性 with 实用性, 紧跟国内外药学发展趋势, 适时追踪热点, 从栏目内容、文章质量, 到封面版式、装帧印刷都得到了全面的提升与改进。

**办刊宗旨:** 报道国内外药物研究的新进展与新技术, 以及药物在临床应用方面的最新动态, 为新药研发、生产人员以及临床医生与药剂师合理用药提供有益的参考。

**内容与栏目:** 涵盖药物的基础研究与临床研究各学科, 设置“专论与综述”、“实验研究”、“临床研究”、“未来药物”、“药事管理”、“知识产权”、“药物经济学”和“市场信息”等栏目。“专论与综述”栏目除报道植物药研究的最新进展外, 诚征有关药物与临床研究前沿的前瞻性文章。

**读者对象:** 药物研发、生产、监管人员, 以及临床医生与药剂师。

《现代药物与临床》双月刊, 国内外公开发行, 封面铜板彩色覆膜。为扩大信息量、缩短出版周期, 本刊由 64 页扩版为 80 页; 为惠顾广大读者, 改版不提价, 每期定价仍为 15 元, 全年 90 元。本刊自办发行, 请直接与编辑部联系订阅。

本刊网上在线投稿、审稿、查询系统正式开通, 欢迎投稿、欢迎订阅!

### 《现代药物与临床》编辑部

**地址:** 天津市南开区鞍山西道 308 号 (300193)

**网址:** www.中草药杂志社.中国

**开户银行:** 兴业银行天津南开支行

**账号:** 44114010010081504 **户名:** 天津中草药杂志社

**电话与传真:** (022) 23006823

**邮箱:** dc@tiprpress.com

**网址:** www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com