

六磷酸肌醇的抗癌作用

第一军医大学南方医院 (510515) 陈宏毛 华综述 张振书 周殿元审校

摘要 自然界中广泛存在着六磷酸肌醇 (IP₆)。本文对 IP₆ 的抗癌作用, 包括对动物模型中的癌化学预防和治疗作用以及对体外肿瘤细胞系的作用及其抗癌机制进行综述。

关键词 六磷酸肌醇 癌化学预防 癌化学治疗

六磷酸肌醇 (inositol hexaphosphate, IP₆) 广泛存在于自然界。业已证明, 土壤中以混合物的形式存在 IP₆ 的不同异构体, 即 neo-IP₆、chiro-IP₆、scyllo-IP₆, 而植物中存在 myo-IP₆, 尤其在谷物和豆类中, 其浓度为 4~64mg/ml, 故称为植酸。植物中, IP₆ 以一价和

二价阳离子盐 (Ca²⁺、Mg²⁺、K⁺ 离子) 形式存在。不同磷酸化程度的磷酸肌醇 (IP₁₋₆) 则可存在于哺乳动物细胞内, 如 1, 4, 5-IP₃ 作为第二信使分子在细胞内产生许多生理作用, 包括激活细胞内 Ca²⁺ 通道、参与有丝分裂过程^[1]。磷酸化程度较高的 IP₅ 和 IP₆ 在哺乳

动物的 Lewis 肺癌、T241 纤维素瘤及 B16F10 黑色素瘤, 均明显降低瘤体大小, 停药后待瘤体增大继续用药, 抑瘤曲线不受影响, 且上述 3 种类型肿瘤分别在 6、4、2 个周期后瘤体不再生, 肉眼仅见 2mm³ 以内的皮下小结, 显微镜下微小肿瘤组织的细胞有广泛浸润并有坏死, Lewis 肺癌小鼠肺部非原发肿瘤部位未见转移灶^[6]。endostatin 能对移植的鼠实体肿瘤具有明显的治疗作用, 其机制在于它特异性抑制内皮细胞增殖, 抑制新生血管生成, 实体肿瘤无法获得充足的营养而受阻滞, 细胞凋亡率大大提高, 肿瘤进入特殊的休眠状态, 这时停用 endostatin, 其体积也仅维持在无血管恰能生存的很小范围内。

如上所述, 可由 EOMA 瘤细胞产生的 endostatin 是胶原蛋白 18 的活性片段, 在机体内能发挥强效的抗肿瘤作用。这就引发了一个问题: 为什么需要血管供应营养、内皮细胞大量生成的肿瘤组织血管周围竟然存在自己的隐性炸弹——胶原蛋白 18 和肿瘤细胞产生的 endostatin。可能的解释是胶原蛋白 18 在胚胎以后的生长阶段本身并非作为血管生成的负性调控因素, 而是由机体某种细胞分泌的酶使胶原蛋白 18 酶解, 产生少量抗血管生长物质, 发挥阻碍血管生长的作用, 一旦细胞发生癌变, 开启了血管生成的基因信息, 这种抑制因子的产生更会减少, 从而血管生成与抗生成物质失衡, 肿瘤血管生成。与 endostatin 相似, 一些其它的血管抑制因子也都是通过相应的前体蛋白经酶解后生成, 这同样可以用来解释一些蛋白酶之所以发

挥抗血管生成作用, 根本原因可能正在于此^[7]。

强烈的抗血管生成因子——endostatin 的发现与研究结果很可能预示了新的抗肿瘤时代的到来, 不过这之前还有很多工作要做。首先, endostatin 是一种细胞蛋白质因子, 虽然其活性比其他抑制因子强得多, 但具体到有效治疗剂量上, 长期治疗将会有何副作用、endostatin 在患者体内是否会被某种尚不知晓的酶降解而失活、长期治疗会否产生耐药性等都需弄清楚。尽管 endostatin 还是一个新发现的细胞因子, 人们对它的了解还很局限, 但它的发现为恶性肿瘤的治疗提供了一条可靠和有希望的途径。将来, 采用 endostatin 等细胞因子的抗血管生成疗法配合常规的外科手术、化疗、放疗和免疫疗法, 必定大大提高抗实体瘤的疗效。因而, 在征服恶性肿瘤这种长期困扰人类的恶魔的过程中, endostatin 提供了一条新的令人振奋的治疗思路。

参考文献

- 1 Sunassee K, Vile R. *Curr Biol*, 1997; 7 (5): R282
- 2 李健, 刘丽君译. 国外医学情报, 1998; 19 (3): 12
- 3 Standker L, Schrader M, Kanse SM, et al. *FEBS Lett*, 1997; 420 (2~3): 129
- 4 徐根兴, 任敏东, 许琳. 发明专利公告, 1998; 14 (12), 45. CN1177005
- 5 Kerbel RS. *Nature*, 1997; 390(6658): 335
- 6 Boehm T, Folkman J, Browder T, et al. *Nature*, 1997; 390: 404
- 7 Ono M, Kuwano M. *Gan Kagaku Ryoho*, 1997; 24 (11): 1585

细胞内的浓度 (10~1 000 μ mol/L) 比其他磷酸肌醇 (IP) 要高得多。80 年代末, 人们发现 IP₆ 是一种具有独特抗肿瘤作用的天然化合物。流行病学研究表明富含 IP₆ 的谷类和豆类饮食与结肠癌、乳腺癌的发生呈负相关。美国人的结肠癌发生率为中国上海人的 4 倍, 前列腺癌和绝经后的乳腺癌发生率比中国人分别高出 26 倍和 10 倍, 而美国人谷物的消耗则要比中国人少 2.6 倍。亦有人报道西班牙乳腺癌的发生与谷物和富含纤维素食品的消耗之间呈负相关。无论体外培养肿瘤细胞还是动物诱癌实验, IP₆ 均可抑制肿瘤细胞的生长。本文对近年来 IP₆ 抗肿瘤作用的研究进展综述如下。

一、IP₆ 的癌化学预防和治疗作用

Shamsuddin 及其同事用氧化偶氮甲烷 (AOM) 诱导大鼠结肠癌模型, 在始发前阶段 (pre-initiation phase, 始发前的 1~2 周) 给予 Na-IP₆ 饮水处理, 实验开始 6 个月后, 观察肿瘤情况。发现 IP₆ 处理组动物比对照组肿瘤少, 而且肿瘤体积仅为对照组的 1/3, 说明 IP₆ 对结肠癌的始发前阶段有抑制作用。进一步研究发现, IP₆ 对结肠癌发生的抑制作用呈剂量依赖关系。早期研究发现, IP₆ 处理组非肿瘤结肠上皮的细胞分裂指数与正常组相似, 即 IP₆ 可使致癌物诱导的有丝分裂指数增加呈正常化, 并认为 IP₆ 可能是通过影响细胞分裂进而抑制肿瘤生长的。一般认为, 在结肠癌模型中, 经 AOM 处理后 5 个月内大多数动物可发生肿瘤。有人在 AOM 处理 5 个月 (始发后阶段, post-initiation phase) 后开始给大鼠饮用 IP₆, 3 个月后观察到 IP₆ 处理组只有 10% 的动物患结肠癌, 而对照组则为 43%, 说明在始发阶段后给予 IP₆ 仍可明显降低肿瘤数量及体积, 换言之 IP₆ 也具有抗促发作用。但在小鼠皮肤癌形成的始发/促发模型研究中, 有人报道 IP₆ 在癌始发阶段对皮肤乳头状瘤的形成有预防作用, 而在促发阶段无效, 其原因不明。

IP₆ 抗癌作用不仅局限于结肠, 对用 7, 12-二甲苯并蒽 (DMBA) 诱导的 Sprague-Dawley 大鼠乳腺癌的发生同样有抑制作用^[2]。体内外研究表明 IP₆ 亦可抑制肝、肺、前列腺和其他脏器肿瘤的发生。另外, 在小鼠移植瘤模型中, 每天腹腔内或静脉内注射 IP₆ 可使皮下接种鼠纤维肉瘤 FSA-1 细胞所致的小鼠移植瘤较对照组明显缩小, 肿瘤肺转移结节数量显著降低, 生存时间延长^[3]。

由于 IP₆ 可与各种蛋白质和其他大分子物质形成不溶性复合物, 因此 IP₆ 加入到食物中将不容易被生物体或细胞吸收、代谢活化及利用。而给予纯的 IP₆, 将保证被生物体或细胞较快地摄取及发挥生物效能。

据报道, 隔日注射 1ml 2.5mg/ml Na-IP₆ 溶液, 其肿瘤抑制作用^[3]与另一实验报道的 120mg/ml 五钾二镁-IP₆ 混合于餐中的作用相同。另报道, 4mg/ml 纯 IP₆ 饮用比糠食物提供的等数量的 IP₆ 更具有明显的抑制 DMBA 诱导大鼠乳腺癌的作用^[4]。IP₆ 对结肠癌形成的化学预防作用比硒强得多。虽然 IP₆ 可从肌醇 (inositol, Ins) 合成得到, 但研究发现单纯使用 Ins 对肿瘤的抑制作用很弱, 如加入到 IP₆ 中共同给药, 则可增强 IP₆ 的抗癌作用。

二、IP₆ 对体外肿瘤细胞系的作用

用³H-TdR 掺入法测定人源及鼠源肿瘤细胞 (其中包括雌激素受体阳性 MCF-7、雌激素受体阴性 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞) 的 DNA 合成, 发现 IP₆ 可抑制癌细胞的增殖, 并呈剂量依赖性^[5]。

进一步研究发现, IP₆ 亦可促进肿瘤细胞分化, 使细胞表型向正常细胞转化。K-562 人红白血病细胞用低剂量的 IP₆ (75 μ mol/L) 处理后, 细胞体积变大, 血红蛋白积累, 与成熟的红细胞相似^[6]。在人结肠癌 HT-29 细胞株中亦观察到了 IP₆ 使癌细胞表型向正常转化的现象^[7]。双糖肿瘤标志物 D-半乳糖- β -[1 \rightarrow 3]-N-乙酰基-D-半乳糖胺在结肠癌细胞或其他恶性上皮细胞中表达, 而在正常细胞中无表达。IP₆ 处理后, 不仅肿瘤细胞增殖率明显降低, 而且肿瘤双糖标志物的表达亦受到明显抑制, 大多数细胞出现不表达, 说明 IP₆ 抑制了肿瘤细胞的恶性表型, 使肿瘤细胞能合成正常粘蛋白, 因而具备了向正常细胞转化的潜力。

有人研究了 IP₆ 对不同来源肿瘤细胞系的 IC₅₀, 发现造血细胞系如 K-562、YAC-1 及 HL-60 较为敏感, 上皮和间质肿瘤细胞系则对 IP₆ 不太敏感。值得一提的是, 由于 Ins 是细胞体外生长所必需的营养因子, 因此 Ins 在体外对细胞生长无抑制作用。

三、IP₆ 抗肿瘤机制

研究表明, IP₆ 被细胞吸收后很快向 Ins 和 IP₁₋₅ 转化。因此, 给予 IP₆ 处理可导致细胞磷酸肌醇池发生变化。由于 IP₆ 是一种高度可调控的分子, 曾推测它在细胞内不可能被转运。然而, 现已肯定细胞内有以盐形式存在的 IP₆, 并存在转运 IP₆ 通过细胞膜的各种机制, 如胞饮作用、细胞摄粒作用及包裹囊泡 (coated vesicle) 等。Sakamoto 等^[8]用³H-IP₆ 给大鼠胃内灌注后 1 小时, 发现³H-IP₆ 很快由胃和上段小肠吸收, 并分布到各个器官。此时胃上皮细胞中可分离出放射性 Ins 及 IP₁₋₆, 在血浆和尿中均检测到了放射性 Ins 及 IP₁, 说明 IP₆ 吸收后在体内很快被代谢。胃上皮细胞内存在 IP₁₋₆ 提示 IP₆ 是以完整分子在细胞内被转运, 但在

细胞内很快发生去磷酸化,形成其它形式的磷酸肌醇(IP₁₋₅)。最近, Barker 等^[9]进一步证明了这点,其研究表明大鼠乳腺上皮细胞 WRK-1 中 IP₆ 向肌醇-1,2,3-三磷酸(1,2,3-IP₃)的代谢转化。IP₆ 可去磷酸化转变为 IP₁₋₅, 其中 IP₃ 是细胞内信号传导并在细胞内产生功能的重要物质。有人用 IP₆ 处理 K-562 人红白血病细胞,细胞内 IP₃ 增加了 41%, 据此认为 IP₆ 抗癌作用可能是通过去磷酸化作用产生低磷酸化 IP, 进而影响细胞内磷酸肌醇池的稳定而发挥作用的。

Vucenik 等^[10]研究体外肿瘤细胞吸收 IP₆ 时,发现细胞可瞬间开始进行细胞内的 IP₆ 蓄积。细胞类型不同,蓄积率亦不同。细胞内 IP₆ 去磷酸化形成,各种 IP 的能力也随细胞类型的不同而发生改变。实验发现 YAC-1、K-562 细胞仅含少量 IP₆, 而人结肠癌细胞 HT-29 却含 Ins 和 IP₆。有趣的是,这些细胞的正常生长率也不同,HT-29 生长缓慢,而其他两种细胞则很快。因此,细胞内的各种 IP 的转换(turnover)与细胞生长紧密相关。各种 IP 之间的瞬间互相转化及这种短暂过程是如何影响癌细胞生长的,目前尚不清楚。

由于磷酸酶的去磷酸化作用程度呈时间依赖性,加入碱性磷酸酶到 IP₆ 中共同作用 PC-3 人前列腺癌细胞,时间、剂量依赖去磷酸化实验表明对细胞生长无明显改变,提示 IP₆ 引起的细胞生长抑制作用与其去磷酸化作用无关^[11],故亦可推测肌醇六磷酸酶对 IP₆ 抗癌功能的发挥无作用。有人根据细胞吸收 IP₆ 后可很快在磷酸酶的作用下发生去磷酸化,形成低磷酸化 IP 的设想,采用 F⁻ 抑制细胞内磷酸酶以减慢 IP₆ 去磷酸化作用,发现细胞经外源性³H-IP₆ 处理 5 分钟后,细胞内的 Ins、IP₁、IP₂ 均下降了 84%~98%, IP₃、IP₄ 及 IP₅ 分别下降了 39%、21%及 13%,而细胞内 IP₆ 则增加了 24.6%^[11]。进一步实验证明,F⁻ 抑制磷酸酶的活性并不改变细胞对 IP₆ 的摄入率及其对细胞生长的抑制作用,认为细胞内磷酸酶对 IP₆ 的抗癌活性并无影响。此结论提示 IP₆ 的抗癌作用与 IP₆ 去磷酸化产生 IP 无关,与上述结论相反。

既往研究认为金属蛋白在细胞基因调控中具有重要作用,故有人推测 IP₆ 可能是通过螯合阳离子发挥其抗癌作用的。体内吸收实验显示,胃内给予 IP₆ 后,血浆中最主要的形式是 Ins 和 IP₁。除胃癌、结肠癌以外的肿瘤组织,如乳腺、肝等癌组织模型中,IP₆ 的肿瘤抑制作用可能与这些组织吸收循环中的 Ins 和 IP₁ 有关。因 Ins 和 IP₁ 不可能与阳离子螯合,有人推测 IP₆ 在上述肿瘤组织的抗癌作用机制可能是这些肿瘤组织吸收了循环中的 Ins 和 IP₁ 后,在细胞内再磷酸化为

IP₆, 然后 IP₆ 与关键的阳离子螯合进而发挥其抗癌作用。显然这种作用机制比较复杂且效率低。

研究显示,细胞经 IP₆ 处理 3 小时后,细胞内的 Ca²⁺ 浓度增加了 57%^[6]。目前认为,细胞内 Ca²⁺ 浓度的增加不仅可促进细胞有丝分裂,而且也可抑制细胞分裂。对这种独特的细胞内 Ca²⁺ 浓度的升高和继发的生物学事件之间的关系,目前尚无满意的解释。由于细胞内 Ca²⁺ 浓度的增加是细胞凋亡的早期事件,因此 IP₆ 的抗癌作用是否通过诱导细胞凋亡来实现,有待进一步的实验证实。

目前研究认为,细胞表面受体有两大家族参与细胞的生长调控,一是跨膜区结合 PI 特异的磷脂酶 C 受体(PI-PLC-coupled receptor);二是胞浆中的酪氨酸激酶受体(tyrosine kinase receptor)。同位素示踪研究发现 IP₆ 可能作用于细胞膜上的结合 PI 特异的 PLC 受体和胞浆中的酪氨酸激酶受体,从而起到干扰细胞生长的作用。有研究表明,胰岛素样生长因子 II 受体(IGF-II R)亦称为阳离子依赖的 6-磷酸甘露醇受体,从结构上分析,它属于结合 PI 特异的 PLC 受体,而不具备酪氨酸激酶的活性。肿瘤组织中 IGF-II 基因呈过度表达,自分泌的 IGF-II 与肿瘤细胞表面的 IGF-II R 结合对维持肿瘤细胞本身的生长具有非常重要的作用。60%空、回肠切除后,观察到大鼠空肠、回肠绒毛和隐窝的 IGF-II R 增加,说明 IGF-II R 在细胞增殖早期是很重要的。采用放射自显影的研究结果表明,IP₆ 可竞争存在于 IGF-II R 上的结合位点^[12],因此 IP₆ 可能通过与 IGF-II 竞争细胞 IGF-II R 结合位点,使细胞自分泌 IGF-II 环发生短路,从而降低细胞增殖。

参考文献

- 1 Menniti FS, Oliver KG, Putney JWJ, et al. Trends Biochem Sci, 1993; 18: 53~56
- 2 Vucenik I, Yang GY, Shamsuddin AM. Carcinogenesis, 1995; 16: 1055~1058
- 3 Vucenik I, Tomazic VJ, Fabian D, et al. Cancer Lett, 1992; 65: 9~13
- 4 Vucenik I, Yang GY, Shamsuddin AM. FASEB J, 1995; 9: A728
- 5 Shamsuddin AM, Yang GY, Vucenik I. Anticancer Res, 1996; 16: 3287~3292
- 6 Shamsuddin AM, Baten A, Lalwani ND. Cancer Lett, 1992; 64: 195~202
- 7 Sakamoto K, Venkatraman G, Shamsuddin AM. Carcinogenesis, 1993; 14: 1815~1819
- 8 Sakamoto K, Vucenik I, Shamsuddin AM. J Nutr, 1993; 123: 713~720

衰老与癌症

山东省肿瘤防治研究院 (250117) 于雨华 尹 勇综述 于金明 陈延条审校

摘要 癌症发病率随年龄增长而增加,尽管人们对致癌基因和衰老的分子基础的了解逐渐加深,但在一定程度上癌症和衰老之间的相互关联还需广泛深入地研究。近来有关年龄对肿瘤的发生、发展、播散和预后的影响又有了较深入的认识。本文对衰老和癌症的关系作一简要综述。

关键词 衰老 肿瘤

一定程度上可以说,癌症是一种老年性疾病,衰老带来的生理上和临床上的变化对癌症的治疗产生了重要影响。人口统计资料表明我们的社会人口在老化,而高龄人群易患癌症,对高龄癌症患者处理上尚存在许多棘手的问题。流行病学调查显示,美国癌症的中位年龄70岁,所有癌症死亡率的69%是占全美人口13%的65岁以上的老人。本文简述了与衰老有关的癌症生物学和临床肿瘤学方面的进展。

一、分子和细胞的衰退与癌症

衰老的机理是极为复杂的,生命过程极为有限,不同种属个体之间存在着千差万别,但同一生命个体又是相似的。就平均寿命来说,小鼠2.5年,猴30年,人大约80年。相对来说较大的动物较小动物寿命长,但同一种属内小的寿命长于大的。

这些现象揭示基因对生命长短存在影响,已经明确有些特定基因决定寿命,至少在低级动物是这样,但类似的基因是否也与衰老有关尚不清楚,如转基因果蝇具有超出正常水平的自由基清除酶——过氧化物歧化酶和过氧化氢酶存贮,与非转基因果蝇相比寿命长1/3^[1]。在基本未进化的种属如酵母和线虫,已确定某些特异基因影响其寿命^[2]。这一发现便于在高等生物中找出类似基因,对衰老过程进行更深入的研究。

在人类可能亦有一些与衰老和寿命有关的重要基因。一些临床症状提示早衰是某些基因的调节失常引起,如 Hutchinson-Gilford 综合征(青少年期开始的早衰); Werner's 综合征(成年期开始的早衰)和 Down's 综合征。上述综合征的基因缺陷为我们提供了其衰老过程的分子机制,如 Werner's 综合征是由一种人体

号染色体编码的类螺旋蛋白单基因突变引起的^[3],这类蛋白功能方面的特殊性毫无疑问会增加我们对衰老过程的认识。

细胞分裂端粒变短这样一个内在过程与细胞衰变和癌症有关,对于有机体的衰老和寿命亦是重要的。每一次分裂,染色体顶端(端粒)有一次缩短,直至一个标准点,即细胞不再分裂。有些细胞可能是一些干细胞,长寿命细胞(如T淋巴细胞)和转化细胞最终表达一种端粒酶,后者贮存着端粒长度和具有很大复制潜能的信息。老人的成纤维细胞或淋巴细胞的端粒长度短于年青人同类细胞的端粒长度,提示端粒的缩短与寿命有关。

现在已明确一些与细胞衰老和有机体寿命有关的分子或细胞因子与致瘤性和肿瘤生长有关。产生衰老的主要基因被命名为肿瘤抑制基因和自由基。DNA 修复和端粒是肿瘤学和老年医学的中心议题,凋亡是在胚胎学、感染、创伤愈合、免疫、肿瘤转化中起调节作用的因素,可能是衰老和癌症间又一条联系的纽带,衰退细胞对凋亡性刺激因子具有更大的抗拒力^[4],这种对凋亡的抗拒最终导致转化。

(一) 细胞的衰老

正常体细胞在达到一定的分裂次数后将进入一个不可逆的生长停滞期,这一过程叫“复制性衰老”,培养基中人体细胞复制空间的丧失是细胞的内在过程而与环境因素或培养条件无关,除非转化发生,细胞每分裂一次即衰老一步,其分裂的次数比分裂所需时间的长短更重要,在重新进入复制循环后,细胞处于静止状态数月将和那些没有停止期的细胞一样能继续分裂近

9 Barker CJ, Wright J, Kirk CJ, et al. *Biochem Soc Trans*, 1995; 23: 169s

10 Vucenic I, Shamsuddin AM. *J Nutr*, 1994; 124: 861~868

11 Shamsuddin AM, Yang GY. *Carcinogenesis*, 1995; 16: 1975~1979

12 Kar S, Quirion R, Parent A. *Neuroreport*, 1994; 5: 625~628