

丁酸钠抗肿瘤作用分子机制研究进展

沈蓉 综述, 于东红 审校

[关键词] 抗肿瘤药; 丁酸钠; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 979.1 [文献标识码] A

丁酸钠 (sodium butyrate, NaB)是由结肠共生菌发酵食物纤维产生的一种短链脂肪酸 (short chain fatty acid, SCFA),其生理浓度可引起多种生物效应,国内外报道 NaB可抑制结肠癌、前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌、食管癌、白血病等多种肿瘤细胞的生长,促进其分化,使肿瘤细胞出现类似正常细胞的表现,并诱导细胞凋亡,抑制肿瘤的侵袭和浸润^[1,2]。但其作用的分子机制目前尚未完全阐明,国内外学者对此作了进一步的研究,本文就此作一综述。

1 NaB的生理代谢

NaB由厌氧菌分解发酵结肠中未经小肠消化的食物中的碳水化合物 (主要是纤维)和蛋白产生,是结肠上皮细胞主要的能量来源,并能刺激结肠肽或生长因子的释放,调节结肠黏膜血供,促进上皮细胞的增殖^[3]。但 NaB对肿瘤细胞还有抑制增殖、诱导分化、促进凋亡的作用。Camareo等^[4]认为 NaB本身有抑制细胞生长的作用,它通过诱导线粒体 HMG-CoA合成酶的表达,使 HMG-CoA合成酶浓度上升,导致乙酰-CoA和 β 氧化中间产物蓄积,抑制酰基-CoA脱氢酶作用,从而抑制细胞增殖。但正常的结肠上皮细胞能有效的分解代谢 NaB,为自身提供能量,从而降低抑制细胞生长的能力。由于结肠癌细胞代谢 NaB的能力丧失,使 NaB得以在结肠癌细胞中发挥抗肿瘤的作用。

2 NaB抑制肿瘤细胞生长、诱导分化、促进凋亡的机制

2.1 组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDAC)活性的抑制 HDAC在转录抑制中有重要作用,通过使核小体组蛋白去乙酰化,导致染色体结构凝聚从而抑制基因转录。NaB是最重要的 HDAC抑制剂,这种抑制作用是非竞争性的、可逆的。组蛋白乙酰化状态取决于组蛋白乙酰酶 (histone acetyltransferases, HAT)和 HDAC之间的活性竞争。NaB抑制 HDAC活性,增强 HAT的活性,导致组蛋白 (非 H₁组蛋白 H₃, H₄)高乙酰化,使组蛋白与相邻 DNA的接触受抑制,改变了染色质的紧密结合,有利于转录因子激活特异性的基因,细胞分裂周期被阻滞于 G₁期,而达到 NaB抗肿瘤的作用。NaB使非 H₁组蛋白高乙酰化后,染色质结构发生变化,各种恶性肿瘤相关基因转录也随之发生变化。但只有 2%的哺乳动物基因表达受到影响。

2.2 相关基因改变

2.2.1 P21^{Waf/Cip1} 许多实验均证实,NaB在结肠癌、乳腺

癌、前列腺癌、肺癌、白血病中,均有 P21^{Waf/Cip1}表达的显著上升^[5,6]。P21^{Waf/Cip1}是 NaB抑制肿瘤细胞生长关键的效应因子。NaB在 mRNA水平和蛋白水平均能刺激 P21^{Waf/Cip1}表达, P21^{Waf/Cip1}抑制 CyclinD1-CDK4和 CyclinE-CDK2的活性,使细胞周期停滞在 G₁期。此外, P21^{Waf/Cip1}还可与 CyclinA-CDK2结合,在 G₂-M期发挥负调节作用。NaB诱导 P21^{Waf/Cip1}的表达是非依赖 P53途径的, P21^{Waf/Cip1}表达多数与 P53突变无关。这对于肿瘤的治疗是有意义的,因为体内肿瘤组织多有 P53基因的改变。

2.2.2 P16 P16基因是近来被发现的肿瘤抑制基因,在细胞增殖的调控中, P16与周期素 D1竞争性结合 CDK4,发挥负性调节作用。膀胱癌中常有 P16基因启动子的点突变、缺失, Lee等^[7]用 Western blot法证实, NaB可以上调膀胱癌中高甲基化失表达的 P16基因的表达,从而抑制 CDK4活性。Schwartz等^[8]用高灵敏的核酸核糖酶保护法 (RPA)检测到结肠癌中经 NaB处理 24 h后 P16 mRNA转录水平上升,同时伴 Rb去磷酸化,将细胞抑制在 G₁/S期。但是,也有学者^[9]认为单用 NaB并不能诱导肿瘤细胞中高甲基化失表达的 P16基因重新表达,提示组蛋白去乙酰化水平及染色质结构改变并不能使高甲基化的基因重新表达。但在去甲基化制剂诱导 P16高表达的过程中,丁酸钠作为 HDAC抑制剂可以起到协同促进作用。

2.2.3 bcl-2家族 bcl-2家族是在细胞凋亡中起重要作用的一类蛋白质,分为抑制凋亡和促进凋亡蛋白两大类。抑制凋亡蛋白包括 bcl-2, bcl-XL, 促进凋亡蛋白有 bak, bax, bad, Casp等^[10]。在 NaB作用恶性间皮瘤细胞实验中发现,间皮瘤细胞高表达 bcl-XL, bax和 bak而低表达 bcl-2, NaB作用后明显抑制 bcl-XL表达,而 bcl-2, bax, bak无改变。Rummeny等^[11]认为 NaB是通过下调 bcl-XL,上调 bak的表达而促进结肠癌细胞凋亡。而在脑胶质瘤细胞中, NaB却只上调 bad表达,而 bcl-2, bcl-XL, bak, bax却无明显变化。说明 NaB在不同肿瘤细胞中对 bcl-2家族成员有不同的影响作用。

2.3 增加肿瘤细胞对 Fas凋亡的敏感性 Fas与 Fas配体 (FasL)系统是细胞凋亡中最重要的途径之一, Bonnotte等^[12]证实在溶解状态的 FasL和 NaB共有的培养液中,结肠癌细胞发生大面积凋亡,而在只有 NaB的培养液中只发生少数凋亡,说明 NaB能增加肿瘤细胞对 Fas凋亡的敏感性, NaB可能是下调一种与 FADD相互作用的 FLIP (Flice-Inhibitory Protein)蛋白,或通过抑制 HDAC诱导 caspase-3前体转变为有催化效应酶活性水解酶,使 caspase-3表达上调,诱导细胞凋亡。Ogawa等^[13]也认为 NaB能增加肝癌细胞对 Fas介导的凋亡敏感性, NaB不上调 Fas表达,而是改变 Fas信号传导途径中

[收稿日期] 2006-01-22

[作者单位] 蚌埠医学院 病理学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 沈蓉 (1978-),女,硕士,助教 (现工作于江苏大学病理学教研室,江苏 镇江 212000)。

mRNA表达,如上调促凋亡蛋白 Bak、Bad等。

3 NaB抑制肿瘤细胞侵袭、浸润的机制

3.1 抑制血管生长相关蛋白表达 Pellizzaro等^[14]用 Western blot、RT-PCR等方法检测血管内皮生长因子(VEGF)-165蛋白后证实 NaB能下调其水平,且为剂量依赖性,蛋白水平的下调和 mRNA的下调并不同步,提示是一种转录后调节机制,而对低氧诱导因子 HIF-1 α (VEGF主要的转录激活剂)蛋白水平的调节是先下降后上升,并伴随 mRNA的上升。NaB通过下调 VEGF-165和 HIF-1 α 蛋白表达,抑制肿瘤血管生成,削弱肿瘤细胞的免疫抑制作用,从而加强 NaB诱导细胞凋亡的功能,并有效的抑制肿瘤的侵袭、浸润。

3.2 NaB下调抑制整合素 β_4 的表达 整合素是一类介导细胞与细胞外基质及细胞与细胞间黏附的细胞黏附分子受体,与肿瘤的浸润、转移密不可分。其中 β_4 整合素使肿瘤细胞黏附到内皮下基底膜成分如层粘连蛋白、IV型、V型胶原上,在肿瘤转移过程中发挥重要作用。Farrow等^[15]用 Western blot和免疫荧光技术检测到 NaB降低胰腺癌 ASPC-1细胞 β_4 整合素表达,并下降细胞表面的 β_4 表达,而下降 ASPC-1细胞的侵袭性。

4 其它对 NaB抗肿瘤作用的影响

4.1 抑制磷脂酰肌醇-3激酶(Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3k)增强 NaB的分化调节作用 PI3k是酪氨酸激酶受体信号转导途径中的一种脂激酶。许多肿瘤如结肠癌细胞上 PI3k活性大大增加。PI3k的激活,可下调 Ras信号传导,并能使人胃癌和结肠癌细胞表型更为恶性,细胞越趋向低分化。Wang等^[16]证实抑制 PI3k的活性可以增强 NaB介导的结肠癌细胞的分化,并能诱导其凋亡。其相关机制可能是激活了 caspase-9和 caspase-3。

4.2 Resveratrol增强 NaB分化作用 Resveratrol是在红酒和花生中发现的植物多酚,其自身可抑制结肠癌 Caco2细胞的增殖,使肿瘤细胞阻滞于 S期,并诱导凋亡。Wolter等^[17]用 Resveratrol和 NaB一起作用 Caco2细胞,发现 Resveratrol能增强 NaB对 P21的表达,还能增强 NaB作用的分化标志物 AP活性及上皮钙黏素 E-Cadherin的表达,NaB却不能增强 Resveratrol抑制细胞增殖的作用,此实验结果为 Resveratrol与 NaB联合用药而作为一种化疗方案提供了可能。

4.3 胰岛素相关生长因子-II(insulin like growth factor-II, IGF-II)对 NaB的抑制作用 IGF-II是有效的抗凋亡制剂,是结肠癌细胞分泌生长因子,许多肿瘤也高表达 IGF-II mRNA。Leng等^[18]将 Lin-2405结肠癌细胞培养于 NaB和 IGF共存溶液中,发现 IGF-II几乎完全消除了 NaB对肿瘤细胞的诱导凋亡作用,贴壁细胞百分数从对照组的 69%上升到 95%左右。

5 NaB的临床应用

NaB作用的低毒性和抑制肿瘤细胞生长、诱导分化、促进凋亡等作用使国内外学者不断探讨其有效的治疗应用。Novogrodsky等^[19]用 NaB 500 mg·kg⁻¹·d⁻¹持续静滴诱导 1例单核细胞白血病患者获得部分缓解,而无明显肝、肾功能损害及凝血功能异常。1998年 Warrel等^[20]用 NaB联合维 A酸治疗 1例第 3次复发的急性早幼粒细胞白血病患者,一

个疗程后患者骨髓中原始细胞消失,两个疗程后达分子学缓解,并持续 6个月。另外,NaB已被临床用于基因靶向抗肿瘤治疗实验,最近 NaB用于病毒性恶性肿瘤如 EBV感染相关的淋巴瘤的治疗数据也给人以鼓舞。然而,NaB的不足之处是相对低效能(作用浓度为 mmol),体内药物浓度不能维持生物浓度,血浆清除过快($t_{1/2}=6$ min)及有害的气味等,使得 NaB的临床应用受到限制。然而,NaB及其衍生物已显示了明确的抗肿瘤疗法的应用前景。三甲基乙酰氧化甲基丁酸(Pivaloyloxymethyl butyrate, AN-9)就是 NaB前体代谢物,已证实在前临床研究中比 NaB有更有效的抗肿瘤效果,AN-9有高脂溶性,能有效快速地被转运到细胞内,经脂酶水解为 NaB发挥生物效应,临床实验收到很好的效果^[21]。随着今后更低毒性及特异性不断提高的衍生物的发展,NaB及其衍生物将会有更广泛的临床应用价值。

[参考文献]

- [1] Chen JS, Fallier DV, Spanjaard RA. Short chain fatty acid inhibitors of histone deacetylase: Promising anticancer therapeutics [J]. *Curr Cancer Drug Targets* 2003 3(3): 219-236
- [2] 沈蓉,陶仪声. 丁酸钠对食管癌 Eca-109细胞增殖和凋亡的作用 [J]. 蚌埠医学院学报, 2006 31(4): 336-338
- [3] Böttcher HM, Buecher B, Galmiche JP, et al. Molecular analysis of the effect of short chain fatty acids on intestinal cell proliferation [J]. *Proc Nutr Soc* 2003 62(1): 101-106
- [4] Camarero N, Nadal A, Barreiro MJ, et al. Histone deacetylase inhibitors stimulate mitochondrial HMG-CoA synthase gene expression via a promoter proximal Sp1 site [J]. *Nucleic Acid Res* 2003 31(6): 1693-1703
- [5] Blegoskomy MV, Robey R, Sackett DL, et al. Histone deacetylase inhibitors all induce p21 but differentially cause tubulin acetylation, mitotic arrest, and cytotoxicity [J]. *Mol Cancer Ther* 2002 1(11): 937-941
- [6] Kuefer R, Hofer MD, Altweg V, et al. Sodium butyrate and tributyrin induce in vivo growth inhibition and apoptosis in human prostate cancer [J]. *Br J Cancer* 2004 90(2): 535-541
- [7] Lee CT, Seo JY, Park KH, et al. Differential effects of adenovirus p16 on bladder cancer cell lines can be overcome by the addition of butyrate [J]. *Clin Cancer Res* 2001 7(1): 210-214
- [8] Schwartz B, Avivi Green C, Polak-Charon S. Sodium butyrate induces retinoblastoma protein dephosphorylation, p16 expression and growth arrest of colon cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem* 1998 88(1-2): 21-30
- [9] Cameron EE, Bachman KE, Mychalen S, et al. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the re-expression of genes silenced in cancer [J]. *Nat Genet* 1999, 21(1): 103-107
- [10] Cao XX, Mchuidin J, Ece F, et al. Histone deacetylase inhibitor downregulation of bcl-xl gene expression leads to apoptotic cell death in mesothelioma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001 25(5): 562-568
- [11] Rummel E, Schwartz S, Seidman EG, et al. Butyrate induced Caco2 cell apoptosis is mediated via the mitochondrial pathway [J]. *Gut* 2003, 52(1): 94-100
- [12] Bonnotte B, Favre N, Reveneau S, et al. Cancer cell sensitization to Fas-mediated apoptosis by sodium butyrate [J]. *Cell Death Differ* 1998 5(6): 480-487
- [13] Ogawa K, Yasumura S, Atarashi Y, et al. Sodium butyrate

- enhances Fas-mediated apoptosis of human hepatoma cells J. *J Hepatol* 2004 40(2): 278-284
- [14] Pellizzaro C, Coradini D, Daidone MG. Modulation of angiogenesis-related proteins synthesis by sodium butyrate in colon cancer cell line HT29 J. *Carcinogenesis* 2002 23(5): 735-740
- [15] Farrow B, Rychoahou FO, Cannon KL, et al. Butyrate inhibits pancreatic cancer invasion J. *J Gastrointest Surg* 2003, 7(7): 864-870
- [16] Wang Q, Li N, Wang X, et al. Augmentation of sodium butyrate-induced apoptosis by phosphatidylinositol 3'-kinase inhibition in the KM20 human colon cancer cell line J. *Clin Cancer Res* 2002 8(6): 1940-1947.
- [17] Wolter F, Stein J. Resveratrol enhances the differentiation induced by butyrate in caco2 colon cancer cells J. *J Nut* 2002 132(7): 2082-2086
- [18] Leng SL, Leeding KS, Gibson PR, et al. Insulin-like growth factor II renders LM 2405 human colon cancer cells resistant to butyrate-induced apoptosis: A potential mechanism for colon cancer cell survival in vivo J. *Carcinogenesis* 2001, 22(10): 1625-1631
- [19] Novogrodskiy A, Dvir A, Ravid A, et al. Effect of polar organic compounds on leukemic cells: Butyrate-induced partial remission of acute myelogenous leukemia in a child J. *Cancer* 1983, 51(1): 9-14
- [20] Warrell RP, He LZ, Richon V, et al. Therapeutic targeting of transcription in acute promyelocytic leukemia by use of an inhibitor of histone deacetylase J. *J Natl Cancer Inst* 1998 90(21): 1621-1625.
- [21] Pataik A, Rowinsky EK, VillalonaMA, et al. A Phase I study of Pivaloyloxymethyl butyrate, a prodrug of the differentiating agent butyric acid, in patients with advanced solid malignancies J. *Clin Cancer Res* 2002, 8(7): 2142-2148

[文章编号] 1000-2200(2007)02-0239-03

·综述·

指(趾)甲变色

张汝芝¹ 综述, 朱文元² 审校

[关键词] 指(趾)甲疾病; 变色; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 758.72 [文献标识码] A

指(趾)甲的颜色取决于甲板的透明性、甲板和其下组织的连接情况, 同时还受皮肤血管状态的影响。部分甲变色是系统性疾病征象, 本文对引起甲变色的原因、临床表现作一综述。

1 甲变色原因

(1)外部染色: 抽烟、植物性染发剂、局部外用药物(如葱林、雷琐辛、高锰酸钾等); (2)甲形成异常: 严重的银屑病最常见甲呈黄色或褐色; (3)甲形成后发生退行性变: 黄甲综合征、先天性外胚叶缺陷和老年人甲, 均由于甲生长极度缓慢所致, 甲呈黄色或淡绿色; (4)甲形成后部分破坏: 真菌和念珠菌感染可使甲呈褐色, 偶或白色。慢性甲沟炎甲的边缘可呈褐色或黑色; (5)色素在甲形成时掺入: 长期服用四环素可使甲黄染; (6)其他: 交界痣、Addison病、皮下出血、Kinnier-Wilson病等也引起甲变色。

2 黑甲(melanonychia)

甲变成黑色或灰黑色, 可呈带状、全部或部分变黑, 单发或多发。有纵形带状或线状色素沉着者称为纵向黑甲。可因甲母质、甲床黑素细胞产生黑素过多所致, 如甲母质内的良性色素痣、恶性黑素瘤^[1]。此外, 照射治疗^[2]、奇异变形杆菌感染和重金属沉着均可引起。

甲板变成黑色, 最多见的为纵向黑甲(longitudinal melanonychia)^[3,4], 以从甲护皮延伸到甲板远端边缘的纵向

褐色色素带为特征, 甲板上单个或多个纵向黑线。可发生于任何年龄, 但常见于成年人, 无性别差异, 可累及单个或几个甲。色素沉着均匀或不均匀, 颜色从浅褐色到黑色不等, 色素带的宽度变化较大, 多为2~4 mm, 边缘清晰或模糊。

偶尔色素沉着出现在透明护皮, 显示为假哈钦森征(pseudo-Hutchinson sign), 有别于预示甲黑素瘤扩散的真正的哈钦森征。产生假哈钦森征的因素有Addison病、艾滋病^[5]、鲍恩病、药物^[6,7]、放射治疗、血肿等。

纵向黑甲带的出现原因推测为: (1)灶性黑素细胞活跃: 可以是特发性, 也可能与甲病或系统性疾病^[8]有关。(2)药物和辐射^[9]: 表现为甲板水平或纵形黑色带, 以及弥漫性甲变黑, 指(趾)甲均可受累, 与之相连的是皮肤也可有色素沉着。报道引起黑甲的药物有环磷酰胺、阿霉素、硫酸博来霉素、甲氨蝶呤、氮芥、氟尿嘧啶、羟基脲、抗疟药、金盐、酮康唑、酚噻嗪、苯妥英钠、补骨脂素、磺胺类、布洛芬、齐多夫定。恶性肿瘤患者在接受放疗和化疗后也常出现黑甲, 在肤色浅的个体上更常见, 色素沉着也更深, 多在开始化疗后的1~2个月后, 联合化疗比用一种药化疗更易出现黑甲。(3)内分泌性: 黑甲是Addison病一个常见特征, 与皮肤黏膜的色素沉着相关。黑甲有时在库欣综合征中出现, 如肾上腺切除术、甲状腺功能亢进、肢端肥大症和妊娠。纵形色带常是多条, 指(趾)甲都可累及。(4)真菌性^[10]: 甲真菌病也常出现黑甲, 可能是炎症引起甲母质黑素细胞活化, 也可能是真菌直接产生黑素。(5)与HM感染有关: HM感染者可在手掌、足底和黏膜上出现色素沉着斑, 甲上多条纵形黑带。病程变化很大, 大多数报道在黑甲出现后数月, 患者死于AIDS。(6)Laugier-Hunziker综合征: 甲色素沉着表现为1~2 mm宽的单

[收稿日期] 2006-01-23

[作者单位] 1 蚌埠医学院附属医院 皮肤科, 安徽 蚌埠 233004; 2 南京医科大学第一附属医院 皮肤科, 江苏 南京 210029

[作者简介] 张汝芝(1969-), 女, 博士, 副主任医师。