

# 维生素 E 琥珀酸酯诱导肿瘤细胞凋亡作用机制的研究进展\*

## Research Progress about the Mechanisms of Vitamin E Succinate-induced Apoptosis of Cancer Cells

姚东方, 李杰恩

YAO Dong-fang, LI Jie-en

(广西医科大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 广西南宁 530021)

(Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**摘要:** 维生素 E 琥珀酸酯是维生素 E 的衍生物。维生素 E 琥珀酸酯对肿瘤细胞有显著的凋亡杀伤作用, 而对正常细胞没有明显的毒性反应。维生素 E 琥珀酸酯诱导肿瘤细胞凋亡的机制主要有线粒体途径、脂肪酸合成酶信号系统、MAPK 途径、蛋白激酶 C 等途径。这些机制的研究发现可以为开发出新型与 VES 抗肿瘤作用同一靶分子的抗肿瘤药物开辟新途径。

**关键词:** 维生素 E 琥珀酸酯 肿瘤细胞 凋亡

中图分类号: R979.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2010)02-0146-04

**Abstract:** Vitamin E Succinate (VES) is the derivate of vitamin E. VES can effectively inhibit many kinds of tumors without toxic effects on normal cells and tissues. There are many aspects about the mechanism of VES-induced apoptosis of cancer cells: Mitochondria pathway, Fas pathway TGF-pathway, MAPK pathway and PKC pathway. These discoveries may contribute to develop a new kind of antineoplastic drug that shares the same target molecule with VES.

**Key words:** Vitamin E Succinate, cancer cell, apoptosis

1972年澳大利亚学者 Kerr 等<sup>[1]</sup>从形态学的角度描述细胞的生理死亡, 并将这种细胞死亡命名为细胞凋亡。1992年英国科学家 Hickman 等<sup>[2]</sup>首次提出诱导肿瘤细胞凋亡可以作为肿瘤治疗研究中的主要目标和手段。治疗性细胞凋亡干预作为一种发展中的疾病治疗手段, 到20世纪末已经逐渐成为国内外肿瘤治疗研究的一个热点。目前药物的抗肿瘤作用机制研究主要集中在抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡两方面, 其中诱导肿瘤细胞凋亡是生命科学研究的重大课题, 也是当前国内外研究的热点。

维生素 E 琥珀酸酯 (Vitamin E succinate, VES) 是天然维生素 E 的衍生物。1995年, Turley 等<sup>[3]</sup>首

次报道 VES 具有诱导人 B 淋巴瘤细胞凋亡的作用。随后相关学者对 VES 作用进行了大量研究。本文综述国内外 VES 诱导肿瘤细胞凋亡作用机制的研究进展, 以期对 VES 的抗肿瘤作用机制研究起到促进作用。

### 1 维生素 E 琥珀酸酯的化学结构及抗肿瘤作用

#### 1.1 化学结构

维生素 E 是苯并二氢呋喃的衍生物, 具有  $\beta$ -色酮环和一个侧链, 依侧链结构的不同分为生育酚和生育三烯醇两类, 每一类又根据色酮环上甲基位置不同各分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\delta$ , 4 种, 因此维生素 E 是一组生育酚和生育三烯醇衍生物的总称, 具有多种异构体形式<sup>[4]</sup>。维生素 E 琥珀酸酯是天然维生素 E 的衍生物, 是维生素 E 的第6位羟基被琥珀酸取代, 同时

收稿日期: 2010-03-21

作者简介: 姚东方(1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事鼻咽癌及变应性鼻炎研究。

\* 广西自然科学基金项目(编号: 桂科基0779029)资助。

脱去1个 H<sub>2</sub>O 分子而形成的酯类化合物<sup>[5]</sup>。

## 1.2 维生素 E 琥珀酸酯的抗肿瘤作用

自 1995 年首次报 VES 能诱导人淋巴瘤细胞凋亡以来, 随后的大量研究证实 VES 对前列腺癌细胞<sup>[6]</sup>、结肠癌细胞<sup>[7]</sup>、乳腺癌细胞(MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435)、白血病细胞(Raji、Ramos)、子宫内膜癌细胞(RL-95-2)、人口腔鳞癌(Tca-8113)<sup>[8]</sup>等人类恶性肿瘤细胞的生长有抑制作用。

## 1.3 VES 诱导肿瘤细胞凋亡的作用特点

2001年 Neuzil<sup>[9]</sup>等报道了 VES 作用于支气管癌细胞(BEAS-2B)、肺腺癌细胞(A549)及各型白血病细胞(HL-60、Jurkat、Raji、J774等)、乳腺癌细胞(MCF-7)、以及结肠癌细胞(DKO-1、DKS-5等)12h, 浓度为50mg/L, 各种肿瘤细胞的凋亡率与对照组相比差异明显; 用 VES 50mg/L 分别作用于正常人外周血单核细胞、巨噬细胞、皮肤成纤维细胞、脐静脉上皮细胞及鼠肠上皮细胞、平滑肌细胞、新生心肌细胞、肝细胞12h, 细胞的凋亡率与对照组相比均无显著差异。VES 具有选择性诱导肿瘤细胞凋亡作用, 但是对正常细胞没有明显的杀伤作用。目前对 VES 能够选择诱导肿瘤细胞凋亡的具体原因尚不清楚。有学者认为, 这与 VES 本身的化学性质有关, VES 是一种弱酸性试剂, pK<sub>a</sub> 为 5.64, 而肿瘤细胞间质呈酸性, 酸性条件有利于 VES 杀伤肿瘤细胞; 而正常细胞间质呈中性, VES 作用较弱<sup>[10]</sup>。

## 2 VES 诱导肿瘤细胞凋亡作用机制

### 2.1 通过线粒体途径诱导肿瘤细胞凋亡

线粒体跨膜电位在维持线粒体膜的完整性和功能方面具有重要作用。近年来的研究发现, 线粒体不仅在细胞存活而且在细胞凋亡中具有重要地位, 并在细胞凋亡通路中起着核心作用, 细胞凋亡过程中线粒体形态和功能均可发生显著变化<sup>[11]</sup>。VES 作用于肿瘤细胞后, 细胞受到凋亡信号刺激后, 位于线粒体内外膜之间的线粒体通透性转换孔(MPTP)开放, H<sup>+</sup>梯度消失造成线粒体跨膜电位降低, 线粒体膜间隙中的 Cytc、凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)以及其他凋亡因子释放至细胞质中, 细胞质超氧阴离子增加, 最终导致线粒体功能发生致命性变化从而启动细胞凋亡<sup>[12]</sup>。细胞色素 C 自线粒体至胞浆的移位触发半胱氨酸天门冬氨酸蛋白酶级联反应激活, 使细胞进入凋亡阶段<sup>[11]</sup>。

定位于线粒体内膜、内质网膜及核膜上的 Bcl-2

蛋白是一种重要的细胞凋亡抑制蛋白。Bcl-2蛋白可与 Bax 蛋白形成异源二聚体, 阻断 Bcl-2抑制凋亡的功能, Bax 表达增加, 细胞凋亡增加, 反之则细胞存活, Bcl-2/Bax 的相对比率是调节细胞凋亡的关键因素<sup>[13]</sup>。VES 作用后, 白血病细胞 Raji 的 Bcl-2蛋白表达下降, 而 Bax 蛋白的表达量明显增加<sup>[14]</sup>。

Bid (BH3 interacting domain death agonist) 是 Bcl-2家族的一员, 在调控线粒体通透性中发挥重要作用。在研究在 VES 诱导 SGC-7901细胞凋亡中发现: Bid 活化, 能够促使线粒体膜电位降低, 促进细胞色素 C 释放, 细胞凋亡增加, 提示在 VES 诱导的 SGC-7901细胞凋亡中, Bid 发挥重要作用<sup>[15]</sup>。

### 2.2 通过 TGF-β 信号转导途径诱导肿瘤细胞凋亡

转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF-β) 是一种多肽类细胞因子, 对肿瘤的作用是多方面的。在肿瘤发生早期 TGF-β 可做为抑癌基因抑制细胞的增值和分化, 在肿瘤进展期可抑制免疫功能、增加血管生成、诱导细胞外基质的产生促进肿瘤的侵袭和转移<sup>[16]</sup>。Charpentier A 等<sup>[17]</sup>报道 VES 抑制人前列腺癌细胞增值可能与 TGF-β 有关。Yu W 等<sup>[18]</sup>通过 VES 对人乳腺癌细胞系 MDA-MB-435的诱导凋亡研究, 首次表明 TGF-β 在 VES 诱导的肿瘤细胞的凋亡过程中起着不可或缺的作用。Wu K<sup>[19]</sup>等在 VES 处理的胃癌细胞系 SGC-7901中, 活化的及总的 TGF-β 表达都明显的增加, 提示 VES 能诱导活化的 TGF-β 的激活而且可能诱导潜在的 TGF-β 的激活。

### 2.3 通过 Fas/APO-1/CD95 信号系统诱导肿瘤细胞凋亡

脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 又称 Apo-1、CD95。Fas 是目前识别的5种死亡受体之一, 也是一种细胞凋亡信号受体。当 Fas 与其配体结合时可发生寡聚化反应, 然后通过衔接蛋白 FADD (FAS associated death domain protein) 将传递细胞凋亡信号的 Fas 蛋白与其效应器 caspase-8连接起来, 激活半胱氨酸天门冬氨酸蛋白酶级联反应, 诱导细胞凋亡<sup>[20]</sup>。目前研究认为肿瘤细胞可以通过 FAS/FASL 系统抵抗 FAS 介导的凋亡并反击免疫细胞使 T 细胞凋亡, 调节 Fas 蛋白表达是诱导细胞凋亡最重要的机制之一。Turley<sup>[21]</sup>等人通过 Fas/Fasl 信号途径在 VES 诱导的人乳腺癌细胞系 MDA-MB-435凋亡作用的研究, 首次证实了 VES 能够提高肿瘤细胞表面 Mr43,000FAS 表达, Fas 中和抗体以及 FasL 的反义寡核苷酸能够阻止 VES 诱



导的肿瘤细胞的凋亡。Yu W<sup>[22]</sup>等人研究 VES 对乳腺癌细胞的凋亡诱导作用,发现 VES 能将 Fas 不敏感细胞系 MDA-MB-435、MCF-7 转变为 Fas 敏感型细胞系, VES 和竞争性抗 Fas 抗体在诱导 Fas 不敏感细胞系的凋亡过程中具有协同效应。Yu W<sup>[23]</sup>等人报道 VES 诱导卵巢癌细胞的凋亡可能通过 Fas 凋亡信号途径。

#### 2.4 通过有丝分裂原激活的蛋白激酶途径诱导肿瘤细胞凋亡

有丝分裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是细胞内的一类富含丝/苏氨酸残基的蛋白激酶家族,是近年来研究的热点之一。激活的 MAPKs 可以磷酸化多种转录因子,在将细胞外刺激信号转导至细胞及其核内,在多种受体信号传递途径中具有关键作用。C-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和 ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase)是 MAPKs 家族的成员,被证实与 VES 诱导细胞有关。

JNK 通过调节 Bcl-2 的磷酸化及 Bax 自细胞浆至线粒体的迁移发挥作用。Kline<sup>[24]</sup>研究指出 VES 活化 TGF- $\beta$ 、Fas 后可能都是通过激活 JNK 信号途径引起细胞凋亡。VES 诱导的细胞凋亡中, JNK 调节 Bcl-2 的磷酸化和 Bax 自细胞浆至线粒体的迁移,从而产生诱导凋亡效应。JNK 使 Bcl-2 磷酸化而降低其促凋亡活性,而且在 Bax 从细胞浆至线粒体的移位中发挥重要作用。JNK 的激活引起 Bim 磷酸化,磷酸化的 Bim 促使 Bax 的构象发生改变并移位到线粒体中; JNK 的激活还能直接改变 Bax 的构象并促使 Bax 从胞浆迁移到线粒体内,导致线粒体膜的通透性增强<sup>[25]</sup>。Yu W<sup>[26]</sup>等通过研究 VES 抑制人乳腺癌细胞增殖也证实 JNK 信号通路在发挥重要的作用。

细胞外信号调节激酶(ERK1/2)在以往的研究中认为主要参与细胞增值和分化,近年来发现其对细胞凋亡的调节也有重要作用。赵艳等<sup>[27]</sup>研究 ERK1/2 在 VES 诱导胃癌细胞凋亡中作用发现: ERK1/2 表达在 VES 处理 SGC-7901 细胞后瞬时即被激活,但是至 2h 时又降至对照水平,随后又被激活,表达升高,至 24h 时降回基础水平,说明 ERK1/2 途径参与了 VES 诱导 SGC-7901 细胞凋亡的过程,但是与剂量和时间有关。

#### 2.5 通过蛋白激酶 C 途径诱导肿瘤细胞凋亡

蛋白激酶 C 与恶性肿瘤细胞增值和凋亡关系密切。有研究表明 VES 可以通过与 PKC 的 C-端催

化反应区反应还可以激活蛋白磷酸酶 A<sub>2</sub> 导致 PKC 去磷酸化,从而诱导细胞凋亡<sup>[28]</sup>。Neuzil 等研究也证实了 VES 诱导肿瘤细胞凋亡与 PKC 信号传导通路有关<sup>[29,30]</sup>。

### 3 结束语

VES 诱导肿瘤细胞凋亡是多途径的,究竟是哪种机制为主或者是多种机制协同作用,尚需进一步研究。随着分子生物学的不断发展,特别是基因芯片和蛋白芯片的发展,必将为 VES 的抗肿瘤机制研究起到巨大的推动作用,而针对这些机制的研究定会开发出新型与 VES 抗肿瘤作用同一靶分子的抗肿瘤药物,为肿瘤治疗开辟新途径。

#### 参考文献:

- [1] Kerr J F, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. Br J Cancer, 1972, 26 (4): 239-257.
- [2] Hickman J A. Apoptosis induced by anticancer drugs [J]. Cancer Metastasis Rev, 1992, 11 (2): 121-139.
- [3] Turley J M, Funakoshi S, Ruscetti F W, et al. Growth inhibition and apoptosis of RL human B lymphoma cells by vitamin E succinate and retinoic acid: role for transforming growth factor beta [J]. Cell Growth Differ, 1995, 6 (6): 655-663.
- [4] Kline K, Lawson K A, Yu W, et al. Vitamin E and breast cancer prevention: current status and future potential [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2003, 8 (1): 91-102.
- [5] Kline K, Yu W, Sanders B G. Vitamin E and breast cancer [J]. J Nutr, 2004, 134 (12 Suppl): 3458-3462.
- [6] Chang E, Ni J, Yin Y, et al. Alpha-vitamin E derivative, RRR-alpha-tocopheryloxybutyric acid inhibits the proliferation of prostate cancer cells [J]. Asian J Androl, 2007, 9 (1): 31-39.
- [7] Lim S J, Lee Y J, Park D H, et al. Alpha-tocopheryl succinate sensitizes human colon cancer cells to exisulind-induced apoptosis [J]. Apoptosis, 2007, 12 (2): 423-431.
- [8] 宋晓冬, 刘凤, 谭秀华, 等. VES 诱导的人口腔鳞癌 Tca 8113 细胞凋亡作用机制的初步研究 [J]. 肿瘤, 2007, 27 (7): 542-544.
- [9] Neuzil J, Weber T, Gellert N, et al. Selective cancer cell killing by alpha-tocopheryl succinate [J]. Br J Cancer, 2001, 84 (1): 87-89.
- [10] Kozin S V, Shkarin P, Gerweck L E. The cell tran-

- smembrane pH gradient in tumors enhances cytotoxicity of specific weak acid chemotherapeutics [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12):4740-4743.
- [11] Weber T, Dalen H, Andera L, et al. Mitochondria play a central role in apoptosis induced by alpha-tocopheryl succinate, an agent with antineoplastic activity: comparison with receptor-mediated pro-apoptotic signaling [J]. *Biochemistry*, 2003, 42(14):4277-4291.
- [12] Yu W, Sanders B G, Kline K. RRR-alpha-tocopheryl succinate-induced apoptosis of human breast cancer cells involves Bax translocation to mitochondria [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(10):2483-2491.
- [13] Karyu A, Susan E, Dan Iel. Upregulation of anti-apoptotic protein Bcl-2 may be an early event in neutodegeneration [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, 240:84-87.
- [14] 肖浩文, 叶建锋, 高宁, 等. VES 抑制 Raji 细胞增殖中对 CDK2 和 Bcl-2/Bax 蛋白表达的影响 [J]. *中国公共卫生*, 2003, 19(1):1-3.
- [15] 鲁玉霞, 赵艳, 苑林宏, 等. Bid 在维生素 E 琥珀酸酯诱导 SGC-7901 细胞凋亡中的作用 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2008, 20(4):258-261.
- [16] 王旭东, 战忠利. TGF- $\beta$  及其受体与肿瘤的研究进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2005, 32(17):1016-1020.
- [17] Charpentier A, Simmons-Menchaca M, Yu W, et al. RRR-alpha-tocopheryl succinate enhances TGF-beta 1, -beta 2, and -beta 3 and TGF-beta R-II expression by human MDA-MB-435 breast cancer cells [J]. *Nutr Cancer*, 1996, 26(2):237-250.
- [18] Yu W, Sanders B G, Kline K. RRR-alpha-tocopheryl succinate inhibits EL4 thymic lymphoma cell growth by inducing apoptosis and DNA synthesis arrest [J]. *Nutr Cancer*, 1997, 27(1):92-101.
- [19] Wu K, Liu B H, Zhao D Y, et al. Effect of vitamin E succinate on expression of TGF-beta 1, c-Jun and JNK1 in human gastric cancer SGC-7901 cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2001, 7(1):83-87.
- [20] Creagh E M, Conroy H, Martin S J. Caspase-activation pathways in apoptosis and immunity [J]. *Immunol Rev*, 2003, 193:10-21.
- [21] Turley J M, Fu T, Ruscetti F W, et al. Vitamin E succinate induces Fas-mediated apoptosis in estrogen receptor-negative human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(5):881-890.
- [22] Yu W, Israel K, Liao Q Y, et al. Vitamin E succinate (VES) induces Fas sensitivity in human breast cancer cells: role for Mr 43, 000 Fas in VES-triggered apoptosis [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(4):953-961.
- [23] Yu W, Shun M C, Anderson K, et al. Alpha-TEA inhibits survival and enhances death pathways in cisplatin sensitive and resistant human ovarian cancer cells [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(10):1813-1823.
- [24] Kline K, Yu W, Sanders B G. Vitamin E: mechanisms of action as tumor cell growth inhibitors [J]. *J Nutr*, 2001, 131(1):161-163.
- [25] Zu K, Hawthorn L, Ip C. Up-regulation of c-Jun-NH<sub>2</sub>-kinase pathway contributes to the induction of mitochondria-mediated apoptosis by alpha-tocopheryl succinate in human prostate cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(1):43-50.
- [26] Yu W, Liao Q Y, Hantash F M, et al. Activation of extracellular signal-regulated kinase and c-Jun-NH (2)-terminal kinase but not p38 mitogen-activated protein kinases is required for RRR-alpha-tocopheryl succinate-induced apoptosis of human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(17):6569-6576.
- [27] 赵艳, 吴坤, 于颖惠, 等. ERK1/2 在维生素 E 琥珀酸酯诱导人胃癌细胞凋亡中的作用 [J]. *卫生研究*, 2003, 32(6):573-575.
- [28] Ricciarelli R, Tasinato A, Clement S, et al. Alpha-Tocopherol specifically inactivates cellular protein kinase C alpha by changing its phosphorylation state [J]. *Biochem J*, 1998, 334 ( Pt 1):243-249.
- [29] Neuzil J, Schroder A, Von Hundelshausen P, et al. Inhibition of inflammatory endothelial responses by a pathway involving caspase activation and p65 cleavage [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(15):4686-4692.
- [30] Neuzil J, Weber T, Schroder A, et al. Induction of cancer cell apoptosis by alpha-tocopheryl succinate: molecular pathways and structural requirements [J]. *FASEB J*, 2001, 15(2):403-415.

(责任编辑:邓大玉)