

膳食中植物雌激素与前列腺癌的关系

曹 锋 综述; 金泰虞 审校

关键词: 植物雌激素; 前列腺癌; 机制

Exploring the Relationship between Dietary Phytoestrogens and Prostate Cancer CAO Feng, JIN Tai-yi
(School of Public Health, Fudan University, Shanghai, 200032, China)

Key Words: phytoestrogens; prostate cancer; mechanism

在人类的食物中含有数量可观的植物雌激素,主要有异黄酮(isoflavones)、类黄酮(flavonoids)和木脂素(lignans)3类,来源于大豆、谷类、水果和蔬菜等。它们的结构与17 β 雌二醇相似,但活性只有17 β 雌二醇的10⁻⁶~10⁻³,是一种弱雌激素。目前研究主要集中在异黄酮上,类黄酮也有所研究。大豆中含有较多的异黄酮,在大豆加工、微生物发酵或体外酸水解作用下,能释放出异黄酮甙元,染料木黄酮(genistein)、大豆甙元(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)3种,此即为它的活性物质。

前列腺癌是西方国家常见的男性恶性肿瘤。而且,全球每年的患病率呈2%~3%的增长。前列腺癌在经过常规治疗无效,转化为非激素依赖性前列腺癌后,没有有效的治疗方法。因此,寻找新的预防和治疗的药物尤为重要。研究发现,在食用较多豆制品的亚洲人群中前列腺癌发病率明显低于西方国家。较多的流行病学调查表明:前列腺癌发生率和大豆及异黄酮的摄入量呈负相关。同时,动物实验和细胞培养研究亦证实,大豆异黄酮、类黄酮等具有抑制前列腺癌细胞的生长、增殖作用。本文拟就植物雌激素与前列腺癌研究的流行病学调查、动物实验、体外实验及作用机制等方面作一综述。

1 流行病学调查研究

流行病学调查研究表明,西方发达国家的临床前列腺癌死亡率明显高于亚洲人群。虽然过多的动物脂肪摄入可能与前列腺癌的发病相关,但Adlercreutz等^[1]对日本、芬兰、美国三个国家进行的调查表明,芬兰居民尽管与美国相比也有高的脂肪摄入,但是它的前列腺癌的发病率低于美国,高于日本。检测三个国家居民尿中的植物雌激素总的浓度表明,日本居民高于芬兰,芬兰居民高于美国。这与Griffiths等^[2]的调查相似。具有传统饮食习惯的日本男性摄入约20 mg/d异黄酮,而西方的男性只有不到1 mg/d。与日本男性血浆中高浓度染料木黄酮(180 ng/ml)同西方男性血浆中低浓度的染料木黄酮(<10 ng/ml)相一致。Strom等^[3]利用83名白人病例与107名正常人对照,进行病例对照研究,在调整了年龄、前列腺癌家族史、酒精和总热量的摄入后进行多变量分析,发现对照组摄入较多的染料木黄酮、大豆甙元,表现为大豆甙元的摄入量同前列腺癌的发病危

险率呈负相关($P=0.07$),染料木黄酮表现为轻微的保护作用。有学者对生活在美国夏威夷的日裔男性进行了膳食与前列腺癌的前瞻性调查研究,结果显示日裔男性的前列腺癌的发病率显著低于美国男性。这一个结果可能是因为日裔男性的膳食习惯与传统的日本人相似,即大豆摄入量较高的缘故。Jacobsen等^[4]对California 12 395名男性进行了前瞻性研究,结果表明:经常摄入大豆奶(每周超过一次)有减少70%患前列腺癌的可能性($RR=0.3, P=0.03$)。上述研究表明,植物雌激素可能是降低前列腺癌的发病率的因素。

2 动物实验研究

关于植物雌激素抗前列腺癌作用的动物实验研究有大量的报道,结果表明植物雌激素能降低前列腺癌的发生率和抑制前列腺癌的生长、转移等作用。近几年来,动物模型中关于植物雌激素对前列腺癌作用的分子机制也有较多研究。Schleicher等^[5]利用雄性Lobund-Wistar大鼠模型研究发现:染料木黄酮对前列腺癌的生长有明显的抑制作用。而且同对照组比较,使用染料木黄酮治疗的大鼠较少发展为侵袭性肿瘤(11%对应44%)或者是淋巴结转移(44%和89%)、肺转移(0和44%)。Zhou等^[6]利用小鼠皮下接种LNCaP细胞建立动物模型,肿瘤的组织学检查表明摄入大豆制品明显抑制肿瘤细胞增殖、增加凋亡。同时发现新血管形成的蛋白(胰岛素样生长因子-1)减少。结果说明:饮食中大豆制品能抑制肿瘤生长是通过对肿瘤细胞直接的抑制作用和间接影响肿瘤血管形成的作用。Lamartiniere等^[7]利用动物模型对前列腺癌进行研究,发现饮食中染料木黄酮呈剂量依赖性抑制前列腺癌的侵袭性发展和降低癌细胞低分化的发生率。

大多数研究认为大豆饮食具有较好的抗癌作用,但也有研究表明大豆全蛋白没有抗癌作用。Pollard^[8]等利用Lobund-Wistar大鼠进行了全大豆和大豆异黄酮对前列腺-生殖腺癌(P-SV)的发病率、发病时间以及转化延迟时间作用的研究,发现喂食含大豆异黄酮组中有3%发展为P-SV癌,而喂食含全大豆饮食组有30%发展为P-SV癌。喂食含全大豆组未能有效的预防P-SV癌的形成,表明大豆中可能存在某种(多种)因子拮抗植物雌激素的抗癌效应。Pollard还研究发现大豆异黄酮组能使癌细胞转化延迟,而全大豆饮食组没有这种作用。对于全大豆是否具有抗前列腺癌的效应,需要做进一步的流行病学调查和动物试验。

动物实验表明植物雌激素确有抗前列腺癌的作用,但对于其药代动力学和生物利用度等问题需要进一步明确。

3 组织培养研究

现有的植物雌激素抗癌的组织培养研究并不多,但也发现染料木黄酮能抑制前列腺癌组织的生长。Geller^[9]等对外科手术切下的前列腺癌标本进行培养,在培养中给予不同剂量的染料木黄酮,结果表明:染料木黄酮在剂量 1.25 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 呈剂量依赖性抑制前列腺癌组织的生长。

4 细胞培养研究

关于前列腺癌细胞培养的实验较多,研究中发现,植物雌激素能抑制前列腺癌的细胞增殖、诱导细胞凋亡、干扰细胞内有丝分裂信号的传递、抗活性氧自由基等作用。Suzuki等^[10]对外体培养的前列腺癌细胞(LNCaP和PC-3)进行染料木黄酮处理,发现染料木黄酮呈剂量依赖性抑制这两种细胞的增殖,同时发现DNA拓扑异构酶II、活性细胞分裂蛋白激酶6等表达降低,谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)-1基因表达增加。Mitchell等^[11]利用LNCaP和PC-3研究了植物雌激素(染料木黄酮和大豆甾元)对细胞生长和DNA损伤的影响。结果表明在生理浓度时引起细胞生长抑制。染料木黄酮在 $< 10 \mu\text{mol}$ 引起DNA损伤。体外细胞培养实验进一步提示,植物雌激素具有抗前列腺癌作用。

5 前列腺癌的作用机制研究

5.1 对雄激素调节的机制 植物雌激素类化合物的阻断和降低雄激素的效应已经有所评价。由于前列腺细胞的分裂受雄激素的控制,因此雄激素被降低和阻断,对于前列腺癌的控制来讲,具有重要作用。

5.1.1 降低雄激素的作用 植物雌激素能直接降低雄激素的水平。Weber等^[12]将成年Sprague-Dawley大鼠分成两组,发现喂食含有异黄酮组的血浆睾酮激素水平明显低于不含异黄酮组。这可能与增加UDP-葡萄糖基转移酶(UDPCT)的活性有关。UDPCT能使睾酮转化为具有极性的衍生物,使睾酮灭活从而排除。实验发现,类黄酮类可增加前列腺癌细胞(LNCaP)中UDPCT的活性。Sun等^[13]研究发现随着暴露于类黄酮时间的增加UDPCT的特异性活性呈线性增加,其中鹰嘴豆素A的效应最强,鹰嘴豆素A处理组睾酮激素转化为睾酮激素-葡萄糖苷酸的速度是对照组的两倍。

5.1.2 降低雄激素受体的表达 植物雌激素也可抑制雄激素受体表达,Lamartiniere等^[7]发现染料木黄酮降低了雄激素受体的mRNA的表达。Fritz等在正常的大鼠中有类似的发现。

直接降低雄激素水平和调控雄激素受体的低表达可能是植物雌激素抑制前列腺癌的一个重要机制。

5.2 抑制上皮细胞生长因子受体(EGFR)

上皮细胞生长因子受体(EGFR)是一种跨膜糖蛋白,EGFR同它的配体结合后,引起自身磷酸化,通过一系列反应将信号传递到核内,影响相关基因的功能,与肿瘤的发生、发展及预后有密切关系,可作为肿瘤治疗的靶位点。实验证实,植物雌激素具有抑制上皮细胞生长因子受体(EGFR)的作用。Dalu等^[14]利用Lobund-Wistar大鼠研究发现,染料木黄酮能抑制EGFR和ErbB2/Neu受体表达,同时也抑制了酪氨酸磷酸化酶。

鉴于染料木黄酮抑制了酪氨酸磷酸化酶,因此,染料木黄酮可能是通过抑制EGFR的磷酸化而达到抗前列腺癌的目的。但是,Peterson等^[15]验证这种假设时,却发现染料木黄酮不能阻止前列腺癌细胞EGFR的自动磷酸化及其以后的激活。即使染料木黄酮的浓度已显著抑制EGF刺激的癌细胞生长时,仍不能降低EGFR酪氨酸的磷酸化过程。这种结果提示,染料木黄酮可能并不抑制前列腺癌细胞EGFR的激活,而是抑制了信号传递中下游的某个靶部位。

5.3 诱导癌细胞的凋亡

对肿瘤最有效的化学药物治疗是诱导肿瘤细胞的凋亡,而对细胞周期的干扰和抑制DNA合成的作用可能是诱导凋亡的一个重要原因。Davis等^[16]研究表明染料木黄酮呈剂量依赖性抑制前列腺癌细胞生长,伴随细胞在G₂/M期停滞。细胞生长抑制同时有细胞周期蛋白B的低表达和凋亡诱导。Onozawa等^[17]研究表明染料木黄酮有效的抑制了LNCaP的生长伴随DNA合成的抑制和凋亡的诱导。Shen等^[18]也证实染料木黄酮通过诱导使细胞停滞在G₁期而产生抗增殖效应。除了干扰细胞周期,使细胞停滞在一定的细胞周期,从而诱导细胞凋亡外,其他关于染料木黄酮诱导细胞凋亡机制的研究已经开展,在其中可能具有重要的作用。如Kum-Diaka等^[19]在研究中发现,染料木黄酮在两种细胞中诱导特异性凋亡蛋白-3(CPP32)活性增强,表达增加;而染料木黄酮诱导凋亡和增加CPP32活性能被CPP32抑制因子所抑制,因此证实了CPP32在染料木黄酮诱导凋亡途径中的作用。表明染料木黄酮可能通过CPP32诱导细胞凋亡。

5.4 对胰岛素样生长因子-1的抑制作用

胰岛素样生长因子-1(IGF-1)是一种新血管形成蛋白,对维持细胞的正常生长和肿瘤的发生、发展具有重要的作用。Zhou等^[6]利用小鼠的前列腺癌模型发现,喂食大豆浓缩植物化学物(脱脂大豆粉再去碳水化合物所保留的物质)组大鼠血中IGF-1减少,间接造成肿瘤血管形成的抑制。Lamartiniere等^[7]也有同样的发现,这可能也是其抗前列腺癌的一个重要原因。

5.5 抗氧化作用

活性氧自由基在癌变的发生过程中起着重要的作用,能引起细胞DNA、RNA、蛋白质等生物大分子的氧化损伤,导致细胞突变和癌变。有研究报道染料木黄酮能直接抑制8-OH-dG的生成,保护DNA分子免受氧化攻击。染料木黄酮不仅自身具有抗氧化作用,还可诱导抗氧化酶的活性或表达增加。Suzuki等^[10]对外体培养的前列腺癌细胞进行染料木黄酮处理,发现谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)-1基因表达增加。染料木黄酮自身的抗氧化作用及其诱导抗氧化酶活性增高,可能是染料木黄酮抗前列腺癌效应的重要因素。

5.6 对前列腺癌细胞的周期信号(抑制有丝分裂信号)和调节因子的调节

雄激素受体的功能丧失以及生长因子受体和相关配体的表达增强被认为是前列腺癌演化的基因机制。这些基因的改变导致了一种外在机制:细胞膜受体(例如:erbB1)和相关配体(例如: α 转化生长因子)形成自分泌反馈环导致了细胞外信号调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)活性增强,这种酶是非激素依赖性前列腺癌生长的一种重要的成分。Bhatia等^[20]发现,在DU145细胞中,植物雌激素明显引起细胞膜受体erbB1活化,而引起 α 转

化生长因子完全抑制,接着抑制细胞质下游信号靶 Shc 的活性,但它们的蛋白表达没有改变。ERK1/2 的活性也受到抑制,表明这些物质影响了 DU145 细胞的 erbB1-Shc-ERK1/2 的信号活性。

5.7 增加病灶粘附激酶(FAK)的活性

染料木黄酮增强了病灶粘附激酶(FAK)的活性可能是染料木黄酮抑制前列腺癌发生和转移的另一种机制。Bergan 等^[21]对染料木黄酮是否是由于加强了细胞粘附而具有抗转移性的功能进行了研究。形态学分析表明染料木黄酮在 PC3-M 等细胞株中引起细胞整平(flattening)效应,伴随着细胞粘附的增加。研究证实 FAK 在细胞附件区域积聚,这种积聚只是在染料木黄酮处理后细胞的形态学改变活跃的细胞中发生。表明染料木黄酮有增加 FAK 活性的作用。

5.8 对 DNA 拓扑异构酶 I 和 II、芳香化酶的抑制

拓扑异构酶 II 参与了 DNA 的复制过程,该酶受到抑制可能会影响细胞的分裂增殖。Suzuki 等^[10]对前列腺癌细胞进行染料木黄酮处理,发现 DNA 拓扑异构酶 II 表达降低。Griffiths 等^[2]认为,类黄酮除了是拓扑异构酶 I 和 II 的抑制剂外,还是芳香酶、5 α -还原酶和 17 β 羟类固醇脱氢酶的抑制剂。

5.9 增加细胞周期负性调节因子的活性

p21 (WAF1/CIP1)是细胞周期的负性调节因子。Choi 等^[22]发现染料木黄酮诱导 p21 的表达, p21 然后抑制了 Cdk2 初始激酶的活性并同细胞周期蛋白联合,引起细胞周期在 G2/M 的停滞。Shen 等^[18]研究了染料木黄酮对 LNCaP 的抑制增殖和诱导凋亡的作用中发现生理浓度染料木黄酮增加 p27(KIP1) 和 p21 (WAF1)mRNA 和蛋白质的表达。

总之,关于植物雌激素的抗癌机制,流行病学、动物实验、体外组织培养和细胞培养的结果均表明植物雌激素具有抗癌作用,虽然对它的抗前列腺癌机制的研究很多:对雄激素的调节、对上皮生长因子受体的抑制、诱导细胞凋亡、抗氧化作用、因子细胞内的信号传递、对相关蛋白和酶的抑制等,但仍不能完全阐明其机制,因此进一步深入开展植物雌激素的动物实验及人群试验很有必要,也应该是下一步工作的重点。

参考文献:

- [1] Adlercreutz H, Mazur W, Bartels P, et al. Phytoestrogens and Prostate Disease[J]. Journal of Nutrition, 2000,130S:658-659.
- [2] Griffiths K, Morton MS, Denis L. Certain aspects of molecular endocrinology that relate to the influence of dietary factors on the pathogenesis of prostate cancer[J]. Eur Urol, 1999,35(5-6):443-455.
- [3] Strom SS, Yamamura Y, Duphorne CM, et al. Phytoestrogen intake and prostate cancer: a case-control study using a new database[J]. Nutr Cancer, 1999,33(1):20-25.
- [4] Jacobsen BK, Knutsen SF, Fraser GE. Does high soy milk intake reduce prostate cancer incidence? The Adventist Health Study[J]. Cancer Causes Control, 1998,9(6):553-557.
- [5] Schleicher RL, Lamartiniere CA, Zheng M, et al. The inhibitory effect of genistein on the growth and metastasis of a transplantable rat accessory sex gland carcinoma. Cancer Lett, 1999, 136(2):195-201.
- [6] Zhou JR, Gugger ET, Tanaka T, et al. Soybean phytochemicals inhibit the growth of transplantable human prostate carcinoma and tumor angiogenesis in mice[J]. J Nutr, 1999, 129(9):1628-1635.

- [7] Lamartiniere CA, Cotroneo MS, Frits WA, et al. Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate[J]. J Nutr, 2002, 132(3S):552-558.
- [8] Pollard M, Wolter W. Prevention of spontaneous prostate-related cancer in Lobund-Wistar rats by a soy protein isolate/ isoflavone diet [J]. Prostate, 2000,45(2):101-105.
- [9] Geller J, Siont L, Partido C, et al. Genistein inhibits the growth of human-patient BPH and prostate cancer in histoculture[J]. Prostate, 1998, 34(2):75-79.
- [10] Suzuki K, Koike H, Matsui H, et al. Genistein, a soy isoflavone, induces glutathione peroxidase in the human prostate cancer cell lines LNCaP and PC-3[J]. Int J Cancer, 2002, 99(6):846-852.
- [11] Mitchell JH, Duthie SJ, Collins AR. Effects of phytoestrogens on growth and DNA integrity in human prostate tumor cell lines: PC-3 and LNCaP[J]. Nutr Cancer, 2000,38(2):223-228.
- [12] Weber KS, Setchell KD, Stocco DM, et al. Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5 α -reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague-Dawley rats[J]. J Endocrinol, 2001,170(3):591-599.
- [13] Sun XY, Plouzek CA, Henry JP, et al. Increased UDP-glucuronosyltransferase activity and decreased prostate specific antigen production by biochanin A in prostate cancer cells[J]. Cancer Res, 1998,58(11):2379-2384.
- [14] Dalu A, Haskell JF, Coward L, et al. Genistein, a component of soy, inhibits the expression of the EGF and ErbB2/Neu receptors in the rat dorsolateral prostate[J]. Prostate, 1998, 37(1):36-43.
- [15] Peterson G, Barnes S. Genistein and biochanin A inhibit the growth of human prostate cancer cells but not epidermal growth factor receptor tyrosine autophosphorylation[J]. Prostate, 1993,22(4):335-345.
- [16] Davis JN, Singh B, Bhuiyan M, et al. Genistein-induced upregulation of p21WAF1, downregulation of cyclin B, and induction of apoptosis in prostate cancer cells[J]. Nutr Cancer, 1998,32(3):123-131.
- [17] Onozawa M, Fukuda K, Ohtani M, et al. Effects of soybean isoflavones on cell growth and apoptosis of the human prostatic cancer cell line LNCaP[J]. Jpn J Clin Oncol, 1998, 28(6):360-363.
- [18] Shen JC, Klein RD, Wei Q, et al. Low-dose genistein induces cyclin-dependent kinase inhibitors and G(1) cell-cycle arrest in human prostate cancer cells[J]. Mol Carcinog, 2000,29(2):92-102.
- [20] Kumi-Diaka J, Sanderson NA, Hall A. The mediating role of caspase-3 protease in the intracellular mechanism of genistein-induced apoptosis in human prostatic carcinoma cell lines, DU145 and LNCaP[J]. Biol Cell, 2000, 92(8-9):595-604.
- [21] Bhatia N, Agarwal R. Detrimental effect of cancer preventive phytochemicals silymarin, genistein and epigallocatechin 3-gallate on epigenetic events in human prostate carcinoma DU145 cells[J]. Prostate, 2001,46(2):98-107.
- [22] Bergan R, Kyle E, Nguyen P, et al. Genistein-stimulated adherence of prostate cancer cells is associated with the binding of focal adhesion kinase to beta-1-integrin[J]. Clin Exp Metastasis, 1996,14(4):389-398.
- [23] Choi YH, Lee WH, Park KY, et al. p53-independent induction of p21 (WAF1/CIP1), reduction of cyclin B1 and G2/M arrest by the isoflavone genistein in human prostate carcinoma cells[J]. Jpn J Cancer Res, 2000, 91(2):164-173.

(收稿日期:2002-11-12;修回日期:2003-02-19)

(校对:折震萍)