

# 黄酮类化合物对免疫相关信号通路的调控作用研究进展

王虹, 陈晓云, 宁静, 刘欣, 田春莲\*, 刘明春

(沈阳农业大学畜牧兽医学院, 辽宁沈阳 110866)

**摘要:**黄酮类化合物具有抗氧化、抗炎、保护心血管、降压、抗菌、抗病毒和抗肿瘤等多种生物活性和药理作用。近年来,黄酮类化合物的免疫调节作用也引起了相关研究人员的重视,论文就黄酮类化合物对免疫相关信号通路(NF- $\kappa$ B 信号通路、Toll 样受体和 JAK-STAT 信号通路等)的调控作用进行总结和归纳,以期揭示黄酮类化合物的免疫调节作用机制研究提供参考。

**关键词:**黄酮类化合物;NF- $\kappa$ B 信号通路;MAPK 信号通路;TGF- $\beta$  信号通路;Wnt 信号通路

DOI:10.16437/j.cnki.1007-5038.2019.12.021

中图分类号:S852.2

文献标识码:A

文章编号:1007-5038(2019)12-0102-04

20 世纪 70 年代末期,黄酮类化合物的相关研究引起国内外研究者的广泛关注。黄酮类化合物存在于多种蔬菜、水果、中草药和其他植物中,具有抗病毒、抗炎、抗氧化、降血糖、防止血管增生、抗癌等多种生物活性<sup>[1]</sup>。该类化合物主要通过介导细胞信号通路,调控相关免疫分子的基因和蛋白表达来实现对免疫细胞的调控作用。本文通过查阅国内外相关的科学文献,针对黄酮类化合物对免疫相关信号通路的调控作用进行总结和归纳,为全面揭示黄酮类化合物的免疫调节作用机制研究提供参考。

## 1 黄酮类化合物的免疫调节作用

黄酮类化合物有利于治疗多因素导致的疾病,如与慢性炎症和癌症相关的疾病。此外,黄酮类化合物具有双向免疫调节作用,既有免疫增强作用,也有免疫抑制作用。研究表明,天然黄酮类化合物可以通过调节 Th1/Th2 细胞因子平衡,发挥免疫调节作用。按照 20、60、100 mg/kg 饲喂奶牛苜蓿黄酮提取物(alfalfa flavonoids extract, AFE)的混合日粮,随着饲料中 AFE 的增加,淋巴细胞数量显著下降( $P < 0.05$ ),而中性粒细胞数量显著增加( $P < 0.05$ )<sup>[2]</sup>。异甘草素通过抑制环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和细胞色素 P450(CYP)4A 表达,减少细胞前列腺素 E2 的分泌,降低细胞内 PI3K、PDK 和 Akt 的磷酸化水平,从而抑制人乳腺癌细胞(MDA-MB-231 细胞和 BT-549 细胞)的迁移、侵袭和凋亡<sup>[3]</sup>。

## 2 黄酮类化合物对免疫相关信号通路的调控作用

### 2.1 对核因子- $\kappa$ B 信号通路的调控作用

核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)是指 1 组能形成同源和异源二聚体的转录因子(RelA, RelB, c-Rel, NF- $\kappa$ B1/p50 和 NF- $\kappa$ B2/p52),能够调控细胞因子、趋化因子、促凋亡因子和抗凋亡因子等多种基因的表达<sup>[4]</sup>。在研究橙皮苷对人非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡的影响时,发现橙皮苷对成纤维细胞生长因子(FGF)和 NF- $\kappa$ B 信号转导途径有影响,同时降低 I $\kappa$ B 的降解<sup>[5]</sup>。另有研究发现, NF- $\kappa$ B 在 RPMI8226(人类骨髓瘤细胞)和 XG-1(骨髓瘤患者的基质细胞)中被持续激活,Genistein(4',5,7-三羟基异黄酮)显著下调( $P < 0.05$ )NF- $\kappa$ B 的表达,并显著抑制( $P < 0.05$ )Akt 磷酸化,且显著下调( $P < 0.05$ )NF- $\kappa$ B 的调控基因 Bcl-2 和 IL-6 的表达,进而通过影响骨髓瘤的基质细胞生长而抑制骨髓瘤细胞的生长<sup>[6]</sup>。证明黄酮类化合物可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 活化和 I $\kappa$ B 降解来发挥免疫调节作用。

### 2.2 对丝裂原活化蛋白激酶信号通路的调控作用

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组能被细胞因子、神经递质、激素、细胞应激和细胞黏附等不同胞外刺激激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。MAPK 信号转导途径是由 3 级激酶构成的信号级联系统。正常状态下 MAPK 无活性,在外界刺激条件下,通过双位点磷酸化激活 MAPK,进而促使转录因子进入细胞核调控相关基因转录<sup>[7]</sup>。研究表明,橙皮苷和山奈酚对

收稿日期:2018-11-07

作者简介:王虹(1993-),女,新疆乌鲁木齐人,硕士研究生,主要从事兽医药理与毒理学研究。\*通讯作者

流感病毒具有相反的调节作用,橙皮苷上调 p38 和 JNK 的表达和磷酸化,从而增强细胞自主免疫;而山奈酚则显著下调( $P < 0.05$ )p38 和 JNK 的表达和磷酸化,从而抑制细胞自主免疫。主要是因为两者通过选择性调节 MAPK 激酶途径而诱导不同的细胞自主免疫应答<sup>[8]</sup>。新型的丙烯异戊烯基黄酮类化合物 daphnegiravone D,可以通过 p38/JNK MAPK 途径阻滞细胞周期中 G0/G1 期,从而促进人类肝癌细胞凋亡<sup>[9]</sup>。火炬姜总黄酮能降低总 ERK1/2 和 p38 的磷酸化水平,从而抑制黑色素瘤细胞 B16 的生长<sup>[10]</sup>。由此表明,黄酮类化合物可以通过降低 ERK、JNK 和 p38 的磷酸化水平来发挥免疫调节作用。

### 2.3 对 Toll 样受体的调控作用

Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)能够通过识别病原体,立即启动先天性免疫,并通过信号传导启动获得性免疫,在机体的免疫防御中起重要作用,其中 TLR4 在免疫反应中较为重要。TLR4 通过髓样分化因子 88(MyD88)和  $\beta$  干扰素 TIR 结构域衔接蛋白(TRIF)途径激活干扰素调节因子、转录因子并活化下游的 NF- $\kappa$ B 信号通路,从而促进趋化因子和 I 型干扰素的产生。研究表明,槲皮素提前 1 h 预处理氧化低密度脂蛋白(OxLDL)刺激的人类外周血单个核细胞(PBMCs),可以显著降低( $P < 0.05$ )TLR2 和 TLR4 蛋白的表达<sup>[11]</sup>。槲皮素显著降低( $P < 0.05$ )了 TLR7 诱导的 amJ2-C11 细胞(小鼠巨噬细胞)中 CD40<sup>+</sup>、TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达,从而发挥槲皮素对呼吸道病毒感染的治疗作用<sup>[12]</sup>。

### 2.4 对 JAK-STAT 信号通路的调控作用

JAK (Janus kinase)属于蛋白酪氨酸激酶(PTK)。细胞因子和生长因子等与其相应受体结合后激活 JAK,进而激活信号传导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)。JAK-STAT 信号通路参与机体细胞的增殖、分化、存活和凋亡,介导机体免疫失调和肿瘤生成等过程<sup>[13]</sup>。南非醉茄中提取的黄酮类化合物可以显著下调( $P < 0.05$ )前列腺癌患者的促炎细胞因子 IL-6、IL-1 $\beta$  和 IL-8 的分泌水平,同时显著降低( $P < 0.05$ )热休克蛋白 70(HSP70)和 STAT-2 蛋白的表达<sup>[14]</sup>。芹菜素可以通过抑制 26S 蛋白酶体活性和 I 型干扰素的降解来激活 JAK/STAT 信号通路,并增强 IFN- $\alpha$  的抗肿瘤作用<sup>[15]</sup>。因此,黄酮类化合物可以通过下调 STAT-2 蛋白的表达,抑制 Janus 激酶活化来发挥免疫调节作用。

### 2.5 对转化生长因子- $\beta$ 信号通路的调控作用

转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )是一种多功能的多肽类细胞因子,主要通过调节细胞的生长、迁移和凋亡等过程,参与介导组织和器官的生长与发育以及机体的免疫反应等。柚皮素通过抑制蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)的活性,阻断 TGF- $\beta$  向高尔基体内运输,从而减少小鼠乳腺癌细胞中 TGF- $\beta$  的分泌,并抑制癌细胞向肺转移。该发现表明柚皮素可以成为治疗 TGF- $\beta$  相关疾病的候选药物<sup>[16]</sup>。柚皮素可以通过降低体内纤维化 TGF- $\beta$  的产生和下调 IL-1 $\beta$  水平来改善 RILI(放射性肺损伤)<sup>[17]</sup>。研究发现,二氢杨梅素可以通过 p53 信号途径降低肝癌细胞中的 TGF- $\beta$  表达水平,抑制肝癌细胞的增殖,并诱导其凋亡<sup>[18]</sup>。综上所述,黄酮类化合物可以通过降低 TGF- $\beta$  的表达水平来发挥免疫调节作用。

### 2.6 对蛋白激酶 B 的调控作用

蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)的主要作用是作为磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)的下游底物,影响信号通路的传导和多种生长因子的分泌。活化的 PI3K 可以催化磷脂酰肌醇磷酸化,产生第 2 信使磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP3),PIP 与 Akt 结合后,后者会发生转位现象,Akt 从细胞质转移到细胞膜上,并促使其构象改变<sup>[19]</sup>。麻素(Maysin)黄酮可以通过激活 Akt、NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路激活巨噬细胞,显著提高( $P < 0.05$ )TNF- $\alpha$  的分泌并诱导诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达,进而增强早期先天性免疫<sup>[20]</sup>。视网膜母细胞瘤是一种罕见的癌症,发生在儿童时期,研究发现高良姜素可以降低 Akt 磷酸化水平,敲除抑癌基因 PTEN 后,高良姜素使 Akt 活性降低,细胞增殖降低,从而抑制人视网膜母细胞瘤在体内生长<sup>[21]</sup>。上述研究表明,黄酮类化合物既可以通过激活 Akt 发挥免疫增强效果,也可以通过降低 Akt 活性,降低 PIP3 和 PIP2 的表达发挥免疫抑制作用,具有双向免疫调节作用。

### 2.7 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的调控作用

Wnt 信号通路是调控机体胚胎及器官发育的重要信号通路之一,在细胞分化、极化、黏附和运动等生理过程中发挥重要作用,许多肿瘤的发生与经典 Wnt 通路的异常持续性激活有关<sup>[22]</sup>。Wnt 信号通路包括经典 Wnt 通路[ $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)依赖性通路]和非经典 Wnt 通路( $\beta$ -catenin 非依赖性通路),经典 Wnt 通路的激活需要  $\beta$ -catenin 由胞内转入核内<sup>[23]</sup>。芹菜素能显著抑制( $P < 0.05$ )氯化锂诱导的  $\beta$ -catenin 从胞内转入核内,进而显著抑制

( $P < 0.05$ ) Wnt 下游靶基因的表达,从而抑制大肠癌细胞的增殖、迁移、侵袭和器官样生长<sup>[24]</sup>。而槲皮素可以通过抑制典型的 Wnt/ $\beta$ -catenin 和 p38 MAPK 通路的激活及 DCs(树突状细胞)免疫功能障碍,从而发挥对糖尿病的治疗作用<sup>[25]</sup>。

## 2.8 对 Bcl-2/Bax 信号通路的调控作用

Bcl-2 家族是一个多基因家族,与凋亡关系最密切的是 Bcl-2 和 Bax。Bcl-2 通过调节线粒体外膜的通透性、减少细胞色素 C 及凋亡诱导因子的释放,抑制凋亡效应蛋白酶链 caspase-3 的激活而发挥抗凋亡作用。与 Bcl-2 相反,Bax 的过度表达可以加速细胞凋亡<sup>[26]</sup>。二氢槲皮素可以通过抑制 caspase-3、caspase-7 和 caspase-8 的活化,上调抗凋亡因子 Bcl-2 的表达,保护肝癌细胞免受 TNF- $\alpha$ /ActD 诱导的凋亡<sup>[27]</sup>。芹菜素可以通过降低 Bcl-2 表达、增强 Bax、caspase-9/-3 表达和多聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)的分裂,从而抑制胃癌细胞增殖,并诱导癌细胞凋亡<sup>[28]</sup>。

## 3 展望

近年来,国内外研究者从细胞、基因和蛋白水平对黄酮类化合物的免疫调节作用及其机制进行了深入研究,并取得了一定的研究成果。但由于黄酮类化合物结构复杂,药理作用靶点多等特点,其作用机制还有待进一步探讨和研究,而信号通路方面的研究也主要集中在 NF- $\kappa$ B、MAPK 和 Toll 样受体。相信随着科技水平的不断发展和研究手段的先进化,黄酮类化合物调控的免疫调节作用相关信号通路将会逐渐被揭示和明确,从而促进兽医临床新型免疫调节剂的研究和开发。

### 参考文献:

[1] Fedoros E, Orlov A, Zhrebek A, et al. Novel water-soluble lignin derivative BP-Cx-1: identification of components and screening of potential targets in silico and in vitro[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(26): 18578-18593.

[2] Zhan J, Wu C, Liu M, et al. Effects of alfalfa flavonoids on the production performance, immune system, and ruminal fermentation of dairy cows[J]. *Asian Australasian J Animal Sci*, 2017, 30(10): 1416-1424.

[3] Zheng H, Li Y, Wang Y, et al. Downregulation of COX-2 and CYP 4A signaling by isoliquiritigenin inhibits human breast cancer metastasis through preventing anoikis resistance, migration and invasion[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 280(1): 10-20.

[4] 张 鹏, 杨彩霞, 长泽辉, 等. 中药抗炎作用及机制研究概况[J]. *动物医学进展*, 2016, 37(8): 108-111.

[5] Cincin Z B, Unlu M, Kiran B, et al. Anti-proliferative, apoptotic and signal transduction effects of hesperidin in non-small cell

lung cancer cells[J]. *Cellular Oncol*, 2015, 38(3): 195-204.

[6] 何 晖. 4',5,7 三羟基异黄酮(Genistein)对人多发骨髓瘤细胞及骨髓基质细胞 NF- $\kappa$ B 激活的抑制[D]. 中国医科大学, 2008.

[7] Widmann C, Gibson S, Jarpe M B, et al. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human[J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(1): 143-180.

[8] Dong W, Wei X, Zhang F, et al. A dual character of flavonoids in influenza A virus replication and spread through modulating cell-autonomous immunity by MAPK signaling pathways[J]. *Sci Reports*, 2014, 4(3): 7237.

[9] Wang D, Sun Q, Wu J, et al. A new Prenylated flavonoid induces G0/G1 arrest and apoptosis through p38/JNK MAPK pathways in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Sci Reports*, 2017, 7(1): 5736.

[10] Krajaarn A, Chulasiri M, Watanapokasin R. *Etilingera elatior* extract promotes cell death in B16 melanoma cells via down-regulation of ERK and Akt signaling pathways[J]. *Bmc Complementary Alternative Med*, 2017, 17(1): 415.

[11] Yasui M, Matsushima M, Omura A, et al. The suppressive effect of quercetin on toll-like receptor 7-mediated activation in alveolar macrophages[J]. *Pharmacology*, 2016, 96(5-6): 201.

[12] Bhaskar S, Helen A. Quercetin modulates toll-like receptor-mediated protein kinase signaling pathways in oxLDL-challenged human PBMCs and regulates TLR-activated atherosclerotic inflammation in hypercholesterolemic rats[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 423(1-2): 1-13.

[13] 谷 蕾, 张丽军, 刘立芳, et al. JAK/STAT 信号通路抑制剂与肺癌[J]. *现代肿瘤医学*, 2018(2): 314-317.

[14] Aalinkel R, Hu Z, Nair B B, et al. Genomic analysis highlights the role of the JAK-STAT signaling in the anti-proliferative effects of dietary flavonoid ashwagandha in prostate cancer cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2010, 7(2): 177-187.

[15] 李 晟. 芹菜素促进 I 型干扰素介导的 JAK/STAT 信号通路传导的作用机制研究及新型蛋白质-蛋白质相互作用药物筛选体系的建立[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.

[16] Zhang F, Dong W, Zeng W, et al. Naringenin prevents TGF- $\beta$ 1 secretion from breast cancer and suppresses pulmonary metastasis by inhibiting PKC activation[J]. *Breast Cancer Res Bcr*, 2016, 18(1): 38.

[17] Zhang C, Zeng W, Yao Y, et al. Naringenin ameliorates radiation-induced lung injury by lowering IL-1 $\beta$  level[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018. doi: 10.1124/jpet.118.248807.

[18] Huang X, Lian T, Guan X, et al. Dihydromyricetin reduces TGF- $\beta$  via P53 activation-dependent mechanism in hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. *Protein Peptide Let*, 2017, 24: 999.

[19] Wolin E M. PI3K/Akt/mTOR pathway inhibitors in the therapy of pancreatic neuroendocrine tumors[J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 1-8.

[20] Lee J, Kim S L, Lee S, et al. Immunostimulating activity of maysin isolated from corn silk in murine RAW264. 7 macrophages[J]. *Bmb Reports*, 2013, 47(7): 382-387.

- [21] Zou W W, Xu S P. Galangin inhibits the cell progression and induces cell apoptosis through activating PTEN and Caspase-3 pathways in retinoblastoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018: 851-863. doi:10.1016/j.biopha.
- [22] Rao T P, Michael K hl. An updated overview on Wnt signaling pathways[J]. *Circulation Res*, 2010, 106(12): 1798-1806.
- [23] Zhang W, Wang S, Yin H, et al. Dihydromyricetin enhances the osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in vitro partially via the activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Fundamental Clin Pharmacol*, 2016, 30(6): 596-606.
- [24] Xu M, Wang S S, Song Y, et al. Apigenin suppresses colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion via inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2016: 3075-3080. doi:10.3892/ol.2016.4331.
- [25] Montani M S G, Granato M, Cuomo L, et al. High glucose and hyperglycemic sera from type 2 diabetic patients impair DC differentiation by inducing ROS and activating Wnt/ $\beta$ -catenin and p38 MAPK[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, 1862(4): 805-813.
- [26] Venkatesan R S, Sadiq A M. Effect of morin-5<sup>-</sup>-sulfonic acid sodium salt on the expression of apoptosis related proteins caspase 3, Bax and Bcl-2 due to the mercury induced oxidative stress in albino rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 85: 202.
- [27] Chen J, Sun X, Xia T, et al. Pretreatment with dihydroquercetin, a dietary flavonoid, protected against concanavalin A-induced immunological hepatic injury in mice and TNF- $\alpha$ /ActD-induced apoptosis in HepG2 cells[J]. *Food Function*, 2018. doi:10.1039/C7FO01073G.
- [28] Sun Q, Lu N N, Feng L. Apigenin inhibits gastric cancer progression through inducing apoptosis and regulating ROS-modulated S TAT3/JAK2 pathway[J]. *Biochem Biophys Res*, 2018, 498(1): 164-170.

## Progress on Regulation Effects of Flavonoids on Immune-related Signaling Pathways

WANG Hong, CHEN Xiao-yun, NING Jing, LIU Xin, TIAN Chun-lian, LIU Ming-chun

(College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning, 110866, China)

**Abstract:** Flavonoids have many biological activities and pharmacological effects, such as anti-oxidation, anti-inflammation, cardiovascular protection, blood pressure reduction, anti-bacteria, anti-virus and anti-tumor. In recent years, the immunoregulatory effect of flavonoids has also attracted the attention of relevant researchers. This review summarized the regulatory effects of flavonoids on immune-related signaling pathways (NF- $\kappa$ B signaling pathway, Toll-like receptor and JAK-STAT signaling pathway etc) by searching domestic and foreign relevant reference materials in order to provide ideas and methods for revealing the mechanism of immune regulation of flavonoids.

**Key words:** flavonoids; NF- $\kappa$ B signaling pathway; MAPK signaling pathway; TGF- $\beta$  signaling pathway; Wnt signaling pathway