

青蒿素及其衍生物抗肿瘤分子机制的研究进展^Δ

李玉超^{1*}, 宋杰², 高强国^{3#} (1.第三军医大学学员旅15营, 重庆 400038; 2.第三军医大学学员旅18营, 重庆 400038; 3.第三军医大学基础部细胞生物学教研室, 重庆 400038)

中图分类号 R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1726-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.51

摘要 目的:为青蒿素类抗肿瘤药物的开发提供参考。方法:通过PubMed、中国知网检索2002—2014年国内外有关青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究文献,进行系统归纳、总结和综述。结果与结论:青蒿素及其衍生物通过对细胞周期的阻滞抑制肿瘤细胞的增殖;通过作用于Bcl-2家族和Caspase家族诱导细胞的凋亡;通过调控基质金属蛋白酶和整合蛋白的表达抑制肿瘤细胞的侵袭及转移;通过调控与血管形成相关的基因如血管内皮生长因子等抑制肿瘤血管形成。深入研究青蒿素及其衍生物的分子机制,对于寻找抗肿瘤药物新的作用靶点和开发相关新药具有重要意义。

关键词 青蒿素及其衍生物;抗肿瘤;分子机制

随着全球老龄化趋势加剧和与致癌性相关的行为活动的增加,癌症发病率持续升高。2014年世界卫生组织最新《世界癌症报告》显示,中国2012年新增307万癌症患者,并造成约220万人死亡,分别占全球总量的21.9%和26.8%^[1]。传统的肿瘤治疗方法包括手术、放化疗等,虽可去除大部分肿瘤,但也容易引起肿瘤细胞扩散、耐药以及副作用大等问题,因此迫切需要寻找高效、高特异性、抗肿瘤细胞耐药的药物。

青蒿素(Artemisinin)是由我国自主研制的抗疟药,从植物黄花蒿茎叶中提取,是一种含内过氧化基团的倍半萜内酯药物,其主要衍生物有青蒿琥酯(Artesunate)、双氢青蒿素(Dihydroartemisinin)、蒿乙醚(Arteether)、蒿甲醚(Artemether)等。青蒿素具疏水性,能穿过细胞膜进入细胞内发挥药效作用。近年来的相关研究表明,青蒿素除具有抗疟疾作用外,在心血管疾病、皮肤病、抗肿瘤、免疫调节等多方面具重要的药理作用和潜在的应用价值,而其抗肿瘤及抗免疫排斥作用正日益受到重视。本文通过PubMed、中国知网检索2002—2014年国内外有关青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究文献,拟就相关分子机制的研究进展进行综述。

1 青蒿素及其衍生物的抗肿瘤作用

在一系列体外和动物模型实验中,青蒿素及其衍生物都表现出良好的抗肿瘤作用,对白血病、大肠癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和肾癌细胞均具有明显的抑制和杀伤作用^[2]。关于青蒿素及其衍生物在抑制肿瘤细胞增殖、侵袭及转移,诱导细胞凋亡及抑制肿瘤血管形成等方面的研究发现,其不但能单独作用于肿瘤细胞,而且还可同顺铂、卡铂、吉西他滨、环磷酰胺、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)、酪氨酸激酶抑制剂等抗肿瘤药物联用,起到良好的增效作用,有效抑制肿瘤细胞耐药性的产生^[3-4]。并且,青蒿素类药物与一般的抗肿瘤药物(如阿

霉素、柔红霉素、吡柔比星)相比,毒副作用较小。青蒿素及其衍生物抗肿瘤的主要作用机制是调控与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭及转移和血管形成等方面相关的基因和蛋白的表达。

2 青蒿素及其衍生物的抗肿瘤分子机制

在肿瘤的形成及生长过程中,肿瘤细胞的增殖、凋亡、转移以及肿瘤血管形成是关键步骤,而青蒿素及其衍生物对此过程中的各个步骤均能发挥作用。

2.1 抑制肿瘤细胞增殖

在正常细胞中,通过细胞周期蛋白(Cyclin)、细胞周期蛋白依赖性激酶(Cyclin-dependent kinase, CDK)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CDK inhibitor, CKI)相互作用,控制着细胞的生长和分裂。而在肿瘤细胞中,因为突变导致的生长信号放大、检测点的调控失效以及不受生长抑制因子的控制,导致其具极强的增殖能力。而青蒿素及其衍生物可以使肿瘤细胞发生细胞周期阻滞,主要是通过干扰细胞周期动力学或阻断增殖相关的信号通路来发挥作用。实验表明,青蒿素及其衍生物具有抑制肿瘤细胞生长和对肿瘤细胞产生毒性的作用^[4-5]。青蒿素及其衍生物在肿瘤细胞的G₀/G₁~S期发挥抑制作用是最普遍的。例如,青蒿素对人白血病细胞株K562生长的抑制作用^[6];青蒿素通过视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)的去磷酸化,使前列腺癌LNCaP细胞株阻滞于G₁期而不能进入S期,也能破坏Sp1转录因子与CDK₄启动子的结合^[7]。骨肉瘤细胞、胰腺癌细胞、宫颈癌Hela细胞、人乳腺癌MCF-7细胞、白血病和卵巢癌细胞的G₂/M期容易被双氢青蒿素影响。同样,青蒿琥酯也可以干扰骨肉瘤、卵巢瘤和其他不同种类肿瘤细胞的G₂期而抑制肿瘤细胞增殖^[8-9]。青蒿素能抑制鼻咽癌细胞Cyclin D₁、Cyclin E、CDK₂、CDK₄和CDK₆的表达,上调p16和p27的表达;通过对细胞周期的控制,增加肿瘤细胞对药物的敏感性^[10];通过上调p53的表达,抑制胃癌细胞的增殖^[11]。目前认为,青蒿素及其衍生物抑制肿瘤细胞增殖的作用机制主要是通过抑制CDK的转录活性、抑制CDK启动子或增强CDK抑制剂的活性来实现的。因此,青蒿素及其衍生物能够通过抑制肿瘤细胞增殖过程中相关催化酶蛋白的活性,进而干扰肿瘤细胞的增殖周期,从而抑制肿瘤细胞的增殖。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31070792);大学生创新创业训练计划项目(No.201490035055)

* 本科在读。研究方向:肿瘤免疫学。E-mail:673369909@qq.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:肿瘤免疫学。电话:023-68752253。E-mail:qiangguogao@163.com

细胞凋亡在肿瘤治愈中起着至关重要的作用,凋亡过程的丧失或受抑制都有可能致肿瘤发生和肿瘤细胞耐药性产生,而诱导肿瘤细胞的凋亡也是抑制其增殖的有效途径。

细胞的凋亡途径,一方面通过既能促进凋亡又能抑制凋亡的B细胞淋巴瘤因子2(Bcl-2)进行,如促凋亡的Bad、Bax、Bak、Noxa,抑制凋亡的Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Mcl-1等;另一方面可通过含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(CysteinyI aspartate specific proteinase,简称Caspase)依赖性的途径进行,通过将无活性的原Caspase(Procaspase)切割成有活性的Caspase,再依次激活下游底物导致肿瘤细胞的凋亡^[12]。青蒿素可通过上述两种相互交叉的途径诱导肿瘤细胞的凋亡。研究表明,青蒿素通过激活Bax诱导细胞色素C的释放,诱导人结肠癌HT29细胞产生凋亡^[13];通过诱导细胞色素C的释放和Procaspase 3及9的切除,促进人前列腺癌DU145细胞的凋亡^[14]。青蒿素和青蒿琥酯能经线粒体信号途径,即ROS-依赖性机制杀死肿瘤细胞^[15]。例如,青蒿素对人胰腺癌RIN细胞有促凋亡作用^[16]。此外,其对非小细胞肺癌的作用机制同样如此^[17-18]。青蒿琥酯诱导人骨髓增生异常综合征SKM-1细胞的凋亡,是通过Caspase依赖性和非依赖性的线粒体途径实现的^[19]。目前认为,青蒿素抗肿瘤药理活性的分子机制还涉及复合物中亚铁血红素介导的内过氧化物桥(Endoperoxide bridges)的分解所导致的以碳为中心的自由基产物的形成^[20-21]。由于凋亡可以避免炎症的不良反应以及因为坏死引起的细胞损伤,而且青蒿素及其衍生物在诱导肿瘤细胞凋亡的同时对外周血中的淋巴细胞的生长无毒副作用,因此诱导凋亡是青蒿素类药物抗肿瘤作用的最佳方式之一。

2.3 抑制肿瘤细胞侵袭及转移

肿瘤转移是恶性肿瘤细胞从其原发灶迁移到机体其他部位的过程,此过程中需要降解细胞外基质,下调介导细胞黏附的E-钙黏蛋白(E-cadherin)、蛋白酶的释放等。肿瘤细胞的转移是肿瘤发生、发展和演进过程中最危险的阶段,也是恶性肿瘤最本质的特性。绝大多数癌症死亡是由肿瘤转移导致的。

青蒿素最重要的作用是对高侵袭性的肿瘤实体具抗转移的能力。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMP)、纤溶酶原激活抑制剂1(Plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)和基质金属蛋白酶抑制剂1(Tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP-1)与肿瘤的转移相关,青蒿素可通过降低MMP-2的产生和下调整合蛋白 α V β 3的表达抑制肿瘤细胞的转移。例如,青蒿素可使人黑色素A375M细胞的MMP-2的表达水平降低3倍,并阻断细胞的迁移^[22];也可使肝癌细胞的MMP-2减少、TIMP-2增多,从而抑制肝癌细胞的转移;在非小细胞肺癌中,通过降低MMP和核转录因子Kappa B(NF- κ B)活力达到抑制转移的目的^[23]。同时,青蒿素可通过增加E-钙黏蛋白的活性或激活Cdc42来增强细胞间的黏附作用而抑制肿瘤细胞转移。接种HepG2肿瘤细胞的BALB/c裸鼠,灌胃注入青蒿素可使肿瘤的转移率降低50%^[24]。由此可以看出,青蒿素类药物可以直接影响肿瘤细胞的侵袭及转移。

2.4 抑制肿瘤血管形成

实体肿瘤的生长与转移都依赖于肿瘤血管的生成,新生血管一方面为肿瘤生长提供营养成分;另一方面,通过形成的血管和血液循环,将原发灶的肿瘤细胞转移至靶器官。因此,抗血管生成已经成为肿瘤治疗的新策略之一。

在肿瘤生长过程中,随着肿瘤组织的增大,氧和营养成分

的缺乏会导致局部处于低氧状态,使低氧诱导因子1 α (Hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)和NF- κ B被激活,下游的血管内皮生长因子(VEGF)也依次活化。此外,肿瘤细胞还可促进生成血管的MMP等表达,抑制血管生成抑制剂如血管反应蛋白和TIMP的表达,从而促进血管的形成。Anfosso L等^[25]通过基因芯片研究表明,在60种人肿瘤细胞中,青蒿素及其衍生物的作用与其中30个调控血管形成的基因相关。青蒿素能降低小鼠胚胎干细胞来源的胚胎体的HIF-1 α 和VEGF的表达^[26]。在体外模型中,口服50 mg/(kg·d)青蒿素的小鼠Lewis肺癌模型,通过降低VEGF-C的表达,明显减少了淋巴管的形成^[27]。对于种植人卵巢癌细胞的裸鼠,皮下注射青蒿琥酯可降低VEGF及其受体激酶插入嵌合受体(KDR)/胎肝激酶1(fl k-1)的表达,并抑制肿瘤的生长^[28]。

体内外的试(实)验说明,青蒿素及其衍生物可通过抑制生成血管的因子,从而达到抑制肿瘤血管形成的目的。

青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用分子机制如图1所示^[12]。

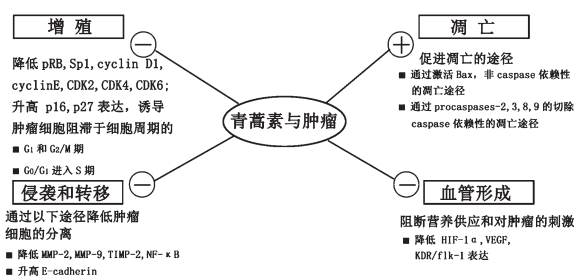


图1 青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用分子机制

3 青蒿素及其衍生物的作用特点

3.1 靶向性

与正常细胞相比,肿瘤细胞的表面通常表达有大量的转运铁蛋白受体,有利于细胞的内吸作用来吸收血液中的铁元素用于细胞增殖。而青蒿素可与铁反应生成活性自由基,再通过自由基的作用使肿瘤细胞的细胞膜结构被破坏,烷化生物大分子,进而诱导肿瘤细胞凋亡^[29-30]。青蒿素及其衍生物可选择性杀伤肿瘤细胞,而对正常细胞的毒副作用相对较小。

3.2 克服肿瘤细胞多药耐药性

多药耐药性(Multidrug resistance)是导致临床上肿瘤化疗失败的主要原因之一。青蒿素及其衍生物与传统的抗肿瘤药物作用机制不同,与其不产生交叉耐药,而且还可以逆转肿瘤细胞的多药耐药性^[31-32]。

4 结语

与其他药物相比,青蒿素及其衍生物在治疗肿瘤方面具有广谱抗癌、不良反应小、安全性高、无耐药性等优点,但仍存在许多未明机制。因此,进一步研究青蒿素及其衍生物对肿瘤细胞作用的信号通路,对寻找新的作用靶点、发掘青蒿素及其衍生物的临床新用途,进而开发青蒿素类抗肿瘤药物具有重要的科学意义。

参考文献

- [1] Stewart BW, Wild CP. *World Cancer Report 2014*[R]. [2014-02-01]. <http://www.iarc.fr/en/publications/books/wcr/index.php>.
- [2] Lai HC, Singh NP, Sasaki T. Development of artemisinin compounds for cancer treatment[J]. *Invest New Drugs*, 2013, 31(1):230.

- [3] 施佳杰,陆金健.联合应用青蒿素类化合物抗肿瘤研究进展[J].中国药房,2012,23(19):1 811.
- [4] Gravett AM, Liu WM, Krishna S, *et al*. In vitro study of the anti-cancer effects of artemisone alone or in combination with other chemotherapeutic agents[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*,2011,67(3):569.
- [5] Hou J, Wang D, Zhang R, *et al*. Experimental therapy of hepatoma with artemisinin and its derivatives: in vitro and in vivo activity, chemosensitization, and mechanisms of action[J]. *Clin Cancer Res*,2008,14(17):5 519.
- [6] Efferth T, Sauerbrey A, Olbrich A, *et al*. Molecular modes of action of artesunate in tumor cells lines[J]. *Mol Pharmacol*,2003,64(2):382.
- [7] Willoughby JA Sr, Sundar SN, Cheung M, *et al*. Artemisinin blocks prostate cancer growth and cell cycle progression by disrupting[J]. *J Biol Chem*,2009,284(4):2 203.
- [8] 姚丽,谢红,靳秋月,等.利用基因芯片分析二氢青蒿素的抗肿瘤作用机制[J].中国中药杂志,2008,33(13):1 583.
- [9] Jiao Y, Ge CM, Meng QH, *et al*. Dihydroartemisinin is an inhibitor of ovarian cancer cell growth [J]. *Acta Pharmacol Sin*,2007,28(7):1 045.
- [10] Luo J, Zhu W, Tang Y, *et al*. Artemisinin derivative artesunate induces radiosensitivity in cervical cancer cells in vitro and in vivo[J]. *Radiat Oncol*,2014,9(3):84.
- [11] Zhang HT, Wang YL, Zhang J, *et al*. Artemisinin inhibits gastric cancer cell proliferation through upregulation of p53[J]. *Tumour Biol*,2014,35(2):1 403.
- [12] Ho WE, Peh HY, Chan TK, *et al*. Artemisinins: pharmacological actions beyond anti-malarial[J]. *Pharmacol Ther*,2014,142(1):126
- [13] Riganti C, Doublier S, Viarisio D, *et al*. Artemisinin induces doxorubicin resistance in human colon cancer cells via calcium-dependent activation of HIF-1 α and P-glycoprotein overexpression[J]. *Br J Pharmacol*,2009,156(7):1 054.
- [14] Nakase I, Lai H, Singh NP, *et al*. Anticancer properties of artemisinin derivatives and their targeted delivery by transferrin conjugation[J]. *Int J Pharm*,2008,354(1/2):28.
- [15] Efferth T, Giaisi M, Merling A, *et al*. Artesunate induces ROS-mediated apoptosis in doxorubicin-resistant T leukemia cells [J]. *PLoS One*,2007,2(8):e693.
- [16] Noori S, Hassan ZM, Farsam V. Artemisinin as a chinese medicine, selectively induces apoptosis in pancreatic tumor cell line [J]. *Chin J Integr Med*,2014,20(8):618.
- [17] Xiao F, Gao W, Wang X, *et al*. Amplification activation loop between caspase-8 and -9 dominates artemisinin-induced apoptosis of ASTC-a-1 cells[J]. *Apoptosis*,2012,17(6):600.
- [18] Gao W, Xiao F, Wang X, *et al*. Artemisinin induces A549 cell apoptosis dominantly via a reactive oxygen species-mediated amplification activation loop among caspase-9, -8 and -3[J]. *Apoptosis*,2013,18(10):1 201.
- [19] Wang Y, Yang J, Chen L, *et al*. Artesunate induces apoptosis through caspase-dependent and-independent mitochondrial pathways in human myelodysplastic syndrome SKM-1 cells [J]. *Chem Biol Interact*,2014,219C:28.
- [20] Meshnick SR. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity[J]. *Int J Parasitol*,2002,32(13):1 655.
- [21] Li-Weber M. Targeting apoptosis pathways in cancer by Chinese medicine [J]. *Cancer Lett*,2013,332(2):304.
- [22] Buommino E, Baroni A, Canozo N, *et al*. Artemisinin reduces human melanoma cell migration by down-regulating α V β 3 integrin and reducing metalloproteinase 2 production[J]. *Invest New Drugs*,2009,27(5):412.
- [23] Rasheed SA, Efferth T, Asangani IA, *et al*. First evidence that the antimalarial drug artesunate inhibits invasion and in vivo metastasis in lung cancer by targeting essential extracellular proteases[J]. *Int J Cancer*,2010,127(6):1 475.
- [24] Weifeng T, Feng S, Xiangji L, *et al*. Artemisinin inhibits in vitro and in vivo invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Phytomedicine*,2011,18(2/3):158.
- [25] Anfosso L, Efferth T, Albin A, *et al*. Microarray expression profiles of angiogenesis-related genes predict tumor cell response to artemisinins[J]. *Pharmacogenomics J*,2006,6(4):269.
- [26] Wartenberg M, Wolf S, Budde P, *et al*. The antimalaria agent artemisinin exerts antiangiogenic effects in mouse embryonic stem cell-derived embryoid bodies[J]. *Lab Invest*,2003,83(11):1 647.
- [27] Wang J, Zhang B, Guo Y, *et al*. Artemisinin inhibits tumor lymphangiogenesis by suppression of vascular endothelial growth factor C [J]. *Pharmacology*,2008,82(2):148.
- [28] Chen HH, Zhou HJ, Wu GD, *et al*. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis and on expressions of vascular endothelial growth factor and VEGF receptor KDR/flk-1 [J]. *Pharmacology*,2004,71(1):1.
- [29] Efferth T, Benakis A, Romero MR, *et al*. Enhancement of cytotoxicity of artemisinins toward cancer cells by ferrous iron[J]. *Free Radic Biol Med*,2004,37(7):998.
- [30] Fafowora MV, Atanu F, Sanya O, *et al*. Effect of oral co-administration of artesunate with ferrous sulfate on rat liver mitochondrial membrane permeability transition[J]. *Drug Chem Toxicol*,2011,34(3):318.
- [31] Sertel S, Eichhorn T, Sieber S, *et al*. Factors determining sensitivity or resistance of tumor cell lines towards artesunate[J]. *Chem Biol Interact*,2010,185(1):42.
- [32] Efferth T. Molecular pharmacology and pharmacogenomics of artemisinin and its derivatives in cancer cells[J]. *Curr Drug Targets*,2006,7(4):407.

(收稿日期:2014-09-19 修回日期:2015-03-10)

(编辑:周 箐)