

乌苯美司抗癌作用的研究进展

胡承波^{1*},傅亚²,孙向卫^{1#}(1.重庆文理学院材料与化工学院,重庆永川 402160;2.重庆科技学院化学化工学院,重庆 401331)

中图分类号 R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)32-3061-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.32.28

摘要 目的:为客观、全面认识乌苯美司的抗癌作用提供参考。方法:检索、分析、归纳和总结国内、外的相关文献,对乌苯美司的抗癌作用机制及其治疗各种癌症的临床前及临床研究进行综述。结果与结论:乌苯美司可通过CD13途径诱导肿瘤细胞凋亡,并可增强机体免疫力。目前,乌苯美司抗癌作用的研究主要涉及白血病、肝癌、肺癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、鼻咽癌等,如何提高其靶向治疗作用以及减少对机体正常细胞的毒副作用将是今后研究的主要方向。

关键词 乌苯美司;CD13;肿瘤细胞;凋亡;免疫

乌苯美司(Ubenimex)又名*N*-[(2*S*,3*R*)-3-氨基-2-羟基-4-苯丁酰]-*L*-亮氨酸,是日本学者1976年从橄榄网状链霉菌培养液中分离所得的氨基酸酶抑制剂。有研究表明,乌苯美司有明显的抗肿瘤作用和免疫调节功能,对急性白血病、肝癌、肺癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌、鼻咽癌等有着明显的治疗作用。因此,本文将对乌苯美司的抗癌作用机制和对各种癌症的具体作用的相关研究进展作一综述。

1 乌苯美司抗癌作用机制

CD13即氨基酶N(Aminopeptidase N, APN),是一种分子质量约为150 kD的具有金属蛋白酶活性的跨膜糖蛋白。近年来研究^[1-3]表明,CD13与肿瘤血管、肿瘤细胞及肿瘤干细胞之间关系密切,其在肿瘤新生血管内皮细胞中特异表达与肿瘤血管的形成密切相关,在肿瘤细胞的增殖、黏附以及肿瘤血管生长等过程中起着重要的作用,是肿瘤抗血管治疗的重要靶点。氨基酶抑制剂在体内能够发挥多重抗肿瘤效应,具有良好的应用前景。作为一种小分子二肽化合物的乌苯美司系氨基酶抑制剂,CD13是其作用的主要靶点^[4]。乌苯美司通过抑制CD13的活性,从而干扰肿瘤细胞的代谢,直接抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭,诱导肿瘤细胞凋亡。

此外,乌苯美司还可作为一种免疫调节剂,通过增强T、B淋巴细胞的功能,使其DNA合成增加,增强自然杀伤细胞(NK)的杀伤活力;同时,其还可使集落刺激因子合成增加,刺激骨髓细胞的再生及分化,起到调节、增强、兴奋和恢复机体的免疫功能的作用^[5]。

2 乌苯美司抗癌作用的研究

2.1 对白血病的作用研究

乌苯美司对白血病细胞具有抑制增殖、促进凋亡的作用。Mishima Y等^[6]报道,乌苯美司对人急性粒细胞性白血病细胞(HL60)和人急性红白血病细胞(K562)等白血病细胞株的生长有抑制作用。并且,其与羟基脲等化疗药物联用时,不

仅可使慢性骨髓性白血病(CML)血液学的完全缓解率得到显著提高,与对照组相比,还缩短了CML患者达完全缓解的时间,降低了急变率。

Wickström M等^[7]报道,氨基酶抑制剂对组织细胞淋巴瘤细胞(U937)和K562细胞的抑制增殖作用主要与细胞表面的CD13有关。而钙拮抗药(如维拉帕米)与乌苯美司联用时,可显著提高乌苯美司对K562细胞的增殖抑制活性,其原因是此时乌苯美司在U937和K562细胞内的浓度可通过细胞内的P-糖蛋白加以调节。另有研究^[8]表明,氨基酶抑制剂可以增强全反式维甲酸(ATRA)对急性早幼粒细胞白血病细胞(NB4)的诱导分化作用,这种增强作用与其降低CD13对诱导分化剂的敏感性的作用相关,进而表现出较好的抗白血病作用,同时亦可能与其抑制p38MAPK的磷酸化及对原癌基因*c-Myc*表达的调控有关。

何静松等^[9]研究了野生型p53基因蛋白在乌苯美司诱导下对HL60和K562细胞的抗癌作用。结果发现,野生型p53基因蛋白能促进HL60细胞的DNA断裂和K562细胞线粒体跨膜电位($\Delta\psi_m$)下降,诱导HL60和K562细胞凋亡。俞静等^[10]研究了乌苯美司对树突状细胞免疫表型的影响,采用rhGM-CSF、白介素(IL)4、细菌脂多糖(LPS)组合在体外诱导人外周血单核细胞向树突状细胞(DC)分化,用流式细胞仪检测DC细胞特异性的表面分子表达。结果表明,乌苯美司能够使DC细胞部分抗原递呈相关的分子表达上调,从而可以通过增强DC细胞的抗原递呈功能而促进T细胞的激活,增强抗肿瘤免疫功能。

Fujii H等^[11]报道了乌苯美司对耐化疗药物的K562细胞有生长抑制作用,当其与柔红霉素(DNR)、阿糖胞苷(Ara-C)、6-巯嘌呤(6-MP)、鬼臼乙叉苷(VP-16)等联合应用时可增强抑制能力。Sekine K等^[12]报道,乌苯美司可诱导人白血病细胞株凋亡,对急性髓性白血病(AML)细胞株P39/TSU、HL60和CML细胞株K562以及U937和单核细胞株THP1均能抑制生长。

Kawe K等^[13]报道了儿童急性淋巴细胞白血病患者化疗后缓解期辅以乌苯美司治疗,并以云芝多糖为对照。结果,试验组31例13个月内仅有4例复发;对照组20例13个月内有6例

* 讲师,博士。研究方向:纳米医药载体及可视化检测生物材料。电话:023-61162741。E-mail: bch1002@126.com

通信作者:讲师,博士。研究方向:生物医学工程。电话:023-61162741。E-mail: sunxiangwei@126.com

复发,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。提示乌苯美司可有效阻止急性淋巴细胞白血病的复发。

Bierman PJ等^[14]报道了乌苯美司对淋巴瘤患者在大剂量化疗(HDT)和骨髓移植(BMT)后的免疫重建功能,对35例非霍奇金淋巴瘤(NHL)在经HDT和BMT治疗后发现T细胞CD4/CD8比值降低及有丝分裂活性降低,而应用乌苯美司治疗后均有显著改善。

2.2 对肝癌的作用研究

有研究^[15-16]显示,CD13不仅是氨肽酶抑制剂,也是肝脏肿瘤血管靶向治疗的重要靶点。郑艳波等^[17]探讨了乌苯美司对肿瘤细胞侵袭及凋亡的影响。结果发现,高浓度的乌苯美司可抑制人纤维肉瘤细胞(HT-1080)的增殖,诱导HT-1080细胞凋亡,使细胞周期阻滞于G1期;低浓度的乌苯美司可显著抑制HT-1080细胞的CD13活性,从而抑制肿瘤细胞的侵袭。这为乌苯美司在临床用于治疗肝癌提供了参考。

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,导管肝动脉化疗栓塞术(TACE)是目前治疗原发性肝癌的一种重要方法。赵广生等^[18]应用乌苯美司胶囊联合TACE治疗原发性肝癌的临床研究表明,乌苯美司胶囊辅助治疗TACE术后肝癌患者取得了较好的临床疗效,试验组和对照组的获益率分别为96%和75%。同时还发现,应用乌苯美司组患者行TACE次数少于未应用组,这可能与乌苯美司能够抑制肿瘤新生血管形成、促进肿瘤细胞凋亡、提高机体免疫力有关。

2.3 对肺癌的作用研究

近年来研究^[19]表明,CD13不仅广泛存在于肝肿瘤血管上,也广泛存在于肺癌细胞膜上,而肺癌已成为恶性肿瘤致死的重要原因,其中非小细胞肺癌(NSCLC)约占80%。王志红等^[20]对Ⅲ~Ⅳ期NSCLC患者采用乌苯美司胶囊联合顺铂(DP)方案治疗后发现,服用乌苯美司后较对照组外周血T细胞的CD4/CD8比值显著提高。可见,NSCLC经DP方案化疗患者服用乌苯美司后可显著提高机体免疫功能,与单用化疗组比较,试验组骨髓抑制的发生率显著降低。这与乌苯美司能促进集落刺激因子合成、刺激骨髓细胞的再生及分化有关。因此,乌苯美司是有效的化疗辅助用药。

李平等^[21]将56例未手术肺鳞癌患者按照3:2的比例随机分成试验组(34例)和对照组(22例)进行化疗,评价了乌苯美司对肺鳞癌化疗患者免疫功能的影响。结果显示,治疗后3、6个月,试验组OKT4/T8比值、NK细胞活性及血清IL-2水平均较治疗前显著提高($P<0.05$),但前两项指标与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),而后一项差异则有统计学意义($P<0.05$);治疗后3、6个月,试验组血清sIL-2R水平均较治疗前显著降低($P<0.05$),但组间比较差异无统计学意义。提示乌苯美司对肺鳞癌化疗患者OKT4/T8比值、NK细胞活性、血清IL-2水平和sIL-2R水平有一定程度的改善作用。

2.4 对胃癌的作用研究

胃癌侵袭及转移是相关患者死亡的主要原因,临床上为了防止肿瘤的转移和复发,提高患者的生存质量并延长寿命,还必须给胃癌患者术后辅以放疗、化疗以及免疫治疗等。

乌苯美司作为一种新型的抗肿瘤药物,对胃癌术后患者辅助治疗的疗效观察国外报道较少,目前也仅有几例的国内

报道。方勇等^[22]考察乌苯美司对胃癌患者术后免疫功能及复发转移的影响,试验将Ⅲ期和Ⅳ期胃癌患者随机分成三组,A、B两组分别加服6、12个月乌苯美司,对照组C组不服乌苯美司,观察三组的CD4/CD8比值、NK细胞的活性以及无病生存期、中位生存时间。结果发现,胃癌术后辅助化疗患者服用乌苯美司可显著改善CD4/CD8比值、NK细胞活性,延长无病生存期和中位生存时间,抑制肿瘤的复发及远处转移。

吴雪元等^[23]研究了乌苯美司联合OLF(奥沙利铂+甲酰四氢叶酸钙+氟尿嘧啶)治疗晚期胃癌近期疗效、毒性反应及改善患者生存质量方面的作用。试验将患者随机分成治疗组和对照组,结果发现治疗后两组有效率分别为61.2%和54.8%,两组比较差异无统计学意义。对照组的白细胞减少发生率高于治疗组,治疗组Karnofsky功能状态评分稳定率为63.0%,高于对照组的38.0%($P<0.05$);治疗组的体质量稳定率为69.0%,亦高于对照组的32.0%($P<0.05$)。可见,乌苯美司联合OLF方案治疗晚期胃癌疗效肯定,提高了患者的机体免疫功能,减轻了毒副反应。

徐建伟等^[24]将胃癌患者随机分成治疗组和对照组,所有患者均给予DCF方案化疗2个周期(多西他赛40 mg/m²静脉滴注,顺铂15 mg/m²静脉滴注,替加氟600 mg/m²静脉滴注)。研究结果显示,治疗组化疗后血白细胞、血红蛋白、血小板降低程度小于对照组;治疗组T淋巴细胞(CD3+)、诱导淋巴细胞(CD4+)、NK细胞(CD16+、CD56+)的免疫功能水平均较化疗前有所提高,而对照组细胞的免疫功能水平均较化疗前下降,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。这进一步证明乌苯美司确有提高胃癌患者免疫功能的作用。

2.5 对其他癌症的作用研究

乌苯美司除对白血病、肝癌、肺癌和胃癌具有抗癌作用外,对卵巢癌、乳腺癌、鼻咽癌等也具有抗癌作用。

黄冬梅等^[25]用MTT法研究了不同浓度的乌苯美司对人绒毛膜癌JAR细胞、卵巢癌3AO细胞和SKOV3细胞的生长抑制作用。结果表明,乌苯美司能抑制JAR细胞、3AO细胞和SKOV3细胞的生长,且对JAR和SKOV3细胞的抑制作用呈时效和量效关系。5 g/L乌苯美司与上述细胞作用48 h后在荧光显微镜下可见细胞染色质凝聚、细胞核碎裂等凋亡改变,说明乌苯美司通过细胞凋亡途径可抑制绒毛膜癌和卵巢癌细胞的生长。

徐文通等^[26]选择60例乳腺癌患者随机分成三组进行临床对照试验,每组20例,均行手术及术后常规治疗,A、B两组分别为加服3个月和6个月的乌苯美司,对照组不服乌苯美司,以评价乌苯美司用于乳腺癌辅助治疗的疗效。结果表明,A、B两组OKT4/T8比值、NK细胞活性及IL-2水平均较治疗前显著提高($P<0.05$),sIL-2R水平均较治疗前显著降低($P<0.05$);但A、B组间OKT4/T8比值、NK细胞活性比较差异无统计学意义($P>0.05$),而IL-2差异有统计学意义($P<0.05$)。而对照组除治疗后6个月sIL-2R水平较治疗前显著降低外($P<0.05$),其余各项指标与治疗前比较均无显著变化。说明乌苯美司可提高患者免疫功能,对乳腺癌有辅助治疗作用。

唐新生等^[27]考察了乌苯美司对采用放射治疗的鼻咽癌患者的辅助治疗作用,将接受放射治疗的85例病例以3:2的比例随机分为两组,采取试验组放疗加口服乌苯美司胶囊、对照

组单纯放疗的方式考察。结果发现,试验组 IL-2 水平、sIL-2R 水平、NK 细胞活力、OKT4/T8 比值等免疫指标改善较对照组显著,表明乌苯美司对采用放射治疗的鼻咽癌患者有明显辅助治疗作用。

Aozuka Y 等^[28]研究了乌苯美司对 B16-BL6 黑色素瘤细胞和人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的抑制作用,结果发现乌苯美司对 CD13 活性、黑色素瘤的肿瘤血管形成以及 HUVECs 的生长均有抑制作用。这对探索抑制肿瘤早期形成具有重要的意义。

3 结语

乌苯美司作为氨肽酶抑制剂,可诱导肿瘤细胞凋亡和增强机体免疫力,临床上对其研究主要集中于对各种癌症的作用研究以及联合其他药物的辅助治疗。但是,目前关于增强乌苯美司对机体肿瘤细胞的敏感性,减少对正常机体细胞毒副作用的报道较少,且其确切的有效性和安全性也有待于进一步考察。可见,提高乌苯美司对肿瘤细胞的靶向治疗作用以及减少对正常细胞的毒副作用具有重要的临床价值。因此,研制针对性更强、效率更高、不良反应更少的乌苯美司靶向制剂是当前研究的主要方向。

参考文献

[1] Wang X, Jing F, Zhu H, *et al.* Activity screening and structure-activity relationship of the hit compounds targeting APN/CD13[J]. *Fundamental Clin Pharmacol*, 2011, 25(2):217.

[2] Bhagwat SV, Lahdenranta J, Giordano R, *et al.* CD13/APN is inactivated by angiogenic signals and is essential for capillary tube formation[J]. *Blood*, 2001, 97(3):652.

[3] Haraguchi N, Ishii H, Mimori K, *et al.* CD13 is a therapeutic target in human liver cancer stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(9):3 326.

[4] Su J, Wang Q, Feng J, *et al.* Engineered thermoplasma acidophilum factor F3 mimics human aminopeptidase N (APN) as a target for anticancer drug development[J]. *Bioorganic Med Chem*, 2011, 19(9):2 991.

[5] 张晓芬,周丽.乌苯美司对白血病细胞作用的研究进展[J].泰山医学院学报,2012,33(1):78.

[6] Mishima Y, Terui Y, Sugimura N, *et al.* Continuous treatment of bestatin induces anti-angiogenic property in endothelial cells[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(3):364.

[7] Wickström M, Larsson R, Nygren P, *et al.* Aminopeptidase N (CD13) as a target for cancer chemotherapy[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(3):501.

[8] 钱习军,林茂芳. APN/CD13 对乌苯美司增强全反式维甲酸诱导急性早幼粒白血病细胞株 NB4 细胞分化的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(5):1 125.

[9] 何静松,林茂芳,蔡真,等.野生型 p53 基因蛋白在氨肽酶抑制剂诱导人白血病细胞株 K562 细胞凋亡的实验研究[J]. 实用肿瘤杂志,2005,20(3):204.

[10] 俞静,林茂芳.乌苯美司对树突状细胞免疫表型影响的体外研究[J]. 实用肿瘤杂志,2006,21(1):28.

[11] Fujii H, Yosizawa k, Maruyama S, *et al.* Growth inhibi-

tory effects of ubenimex on leukemic cell lines resistant to chemotherapeutic agents[J]. *Japanese J Antibiotics*, 1996, 49(12):1 109.

[12] Sekine K, Fujii H, Abe F. Induction of apoptosis by bestatin (ubenimex) in human leukemic cell lines[J]. *Leukemia*, 1999, 13(5):729.

[13] Kawe K, Konishi S, Tsujino G, *et al.* Effects of biological response modifiers on childhood ALL being in remission after chemotherapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 1991, 45(2/3):113.

[14] Bierman PJ, Abe F, Buyukberber S, *et al.* Partial review of immunotherapeutic pharmacology in stem cell transplantation[J]. *In Vivo*, 2000, 14(1):221.

[15] Wickström M, Larsson R, Nygren P. Aminopeptidase N (CD13) as a target for cancer chemotherapy[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(3):501.

[16] Ezawa K, Minato K, Dobashi K. Induction of apoptosis by ubenimex (Bestatin) in human non-small-cell lung cancer cell lines[J]. *Biomed Pharmacother*, 1996, 50(6/7):283.

[17] 郑艳波,弓建华,李毅,等.乌苯美司抑制肿瘤细胞侵袭与诱导凋亡的研究[J]. 药学学报,2012,47(12):1 593.

[18] 赵广生,唐顺雄,刘影,等.明胶海绵微粒 TACE 联合乌苯美司胶囊治疗肝癌的临床研究[J]. 山东医药,2012,52(8):85.

[19] Keller SM. Adjuvant therapy for locally advanced non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2003, 42(1):29.

[20] 王志红,李威,陈晓军.乌苯美司胶囊联合 DP 方案治疗非小细胞肺癌临床观察[J]. 癌症进展,2010,8(5):514.

[21] 李平,徐泳,任莉,等.乌苯美司对肺鳞癌化疗患者免疫功能的影响[J]. 中国癌症杂志,2001,4(5):364.

[22] 方勇,潘宏铭,曹厚军,等.乌苯美司抑制胃癌患者术后复发转移临床研究[J]. 癌症进展,2007,5(4):398.

[23] 吴雪元.乌苯美司联合 OLF 方案治疗晚期胃癌临床观察[J]. 右江医学,2009,37(5):535.

[24] 徐建伟,黄新恩,霍介格.乌苯美司胶囊对晚期胃癌化疗患者影响的临床研究[J]. 癌症进展,2010,8(6):626.

[25] 黄冬梅,崔金全,陶银贵.乌苯美司对 JAR, SKOV3 和 3AO 细胞体外生长的抑制作用[J]. 郑州大学学报:医学版,2005,40(4):641.

[26] 徐文通,李荣,田谊红.乌苯美司辅助治疗对乳腺癌患者免疫功能的影响[J]. 第二军医大学学报,2004,25(5):26.

[27] 唐新生,徐晓薇,段恒英,等.乌苯美司对放射治疗鼻咽癌的辅助治疗[J]. 现代医药卫生,2002,18(4):277.

[28] Aozuka Y, Koizumi K, Saitoh Y, *et al.* Anti-tumor angiogenesis effect of aminopeptidase inhibitor bestatin against B16-BL6 melanoma cells orthotopically implanted into syngeneic mice[J]. *Cancer Letters*, 2004, 216(1):35.

(收稿日期:2013-06-19 修回日期:2013-07-12)