

普鲁卡因在癌症治疗中的应用及作用机制的研究进展^Δ

高彦宇*,李文慧,寇楠,沈芳玲,李冀*(黑龙江中医药大学基础医学院,哈尔滨 150040)

中图分类号 R965;R969 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)16-2285-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.16.24

摘要 目的:为普鲁卡因在癌症治疗中的应用提供参考。方法:以“普鲁卡因”“肿瘤”“癌症”“应用”“Procaine”“Cancer”“Application”等为关键词,在中国知网、万方、PubMed、Medline等数据库中组合查询2000年1月—2019年3月发表的相关文献,对普鲁卡因在癌症治疗中的临床应用和体内外试验研究进展进行综述。结果:共检索到相关文献115篇,其中有效文献35篇。普鲁卡因在肺癌、肝癌、胃癌、乳腺癌、白血病、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、骨肉瘤等治疗中取得一定的疗效。其可能机制一方面是普鲁卡因可以终止细胞的有丝分裂,从而抑制肿瘤细胞的生长;另一方面,其可通过与DNA的CpG岛密集区紧密结合,使超甲基化的CpG岛去甲基化,从而使沉默的抑癌基因重新表达,达到治疗肿瘤的目的。因此,抑癌基因的表现遗传学变异不仅可以作为诊断标志物,还有可能成为治疗的靶点,这将为普鲁卡因应用于肿瘤的临床靶向治疗提供理论基础。但是目前普鲁卡因的抗肿瘤作用多见于体外研究,临床观察报道仅见其用于治疗晚期肺癌出现的癌性疼痛和咯血,提示今后可开展相关体内研究,以深入挖掘普鲁卡因在癌症治疗中的临床价值。

关键词 普鲁卡因;临床应用;癌症;研究进展

普鲁卡因作为一种脂溶性局部麻醉药物(以下简称“局麻药”),具有麻醉效果好、药物毒性低、价格便宜等优点,已广泛应用于临床麻醉中。其通过阻断钠离子通道,使细胞膜不被除极化而产生局麻作用^[1]。有研究发现,普鲁卡因除具有麻醉作用外,在肿瘤治疗领域也有一定作用^[1]。例如,在肿瘤放射治疗领域,普鲁卡因具有放射增敏作用,可以改善肿瘤组织因生长过快造成的局部组织缺氧问题,而肿瘤细胞在缺氧环境中其侵袭力会有所增强^[2];同时,其还能提高细胞的高温杀伤力,从侧面增强了放射对肿瘤治疗的效果^[3-4]。从表观遗传学来看,普鲁卡因作为一种DNA去甲基化剂,可以使高甲基化CpG岛的DNA去甲基化,激活先前沉默的肿瘤抑制因子,从而具有抗肿瘤的药理活性作用,因此普鲁卡因将有可能成为治疗癌症的候选药物之一^[5]。目前可以对肿瘤细胞进行DNA去甲基化的药物主要分为两类,一种是核苷类似物,如地西他滨等;另一种是非核苷类似物,如普鲁卡因等^[6]。核苷类似物的最大限制是有很强的毒副作用,特别是对骨髓的毒性,所以毒副作用较小的非核苷类似物逐渐成为目前研究的重点^[7]。有研究指出,普鲁卡因能增强几种常用抗癌药物的抗肿瘤活性,如顺铂、丝裂霉素C、博来霉素、培洛霉素、阿霉素等,同时还可减轻化疗带来的肝肾毒性^[8-9]。本研究以“普鲁卡因”“肿瘤”“癌症”“应用”“Procaine”“Cancer”“Applica-

tion”等为关键词,在中国知网、万方、PubMed、Medline等数据库中组合查询2000年1月—2019年3月发表的相关文献,共检索到相关文献115篇,其中有效文献35篇。现就普鲁卡因用于癌症治疗的临床应用以及体内外研究进展进行综述,旨在为探讨其相关临床应用和作用机制提供理论依据。

1 肺癌

普鲁卡因对肺癌有一定的辅助治疗作用。晚期肺癌患者常出现癌性疼痛和咯血等并发症,临床研究表明,60%~80%的晚期肺癌患者会出现癌性疼痛,同时并发咯血,其中咯血系肿瘤向管腔内生长或者表面糜烂严重侵蚀大血管所致^[10]。研究发现,普鲁卡因对肺小动脉的运动中枢具有抑制作用,能兴奋迷走神经,从而扩张肺血管,降低肺动脉的压力;与此同时,这种作用不仅仅局限于肺部,而且对全身循环血管阻力的下降也有一定影响,进而减少回心血量,增加四肢循环的血流,导致肺动脉血压、支气管动脉的血压降低,避免血液外流^[11],以此来减少因肺动脉高压引起的大咯血。此外,普鲁卡因作为局麻药也具有一定的镇静作用,可以对患者刺激性咳嗽起到缓解作用,还能稳定患者情绪,有效控制大咯血的发生^[12]。对于癌症疼痛管理,临床通常采用“癌症三阶梯”方案,所用药物包括非阿片类(非甾体类抗炎药)、弱阿片类+非甾体类抗炎药、强阿片类+非甾体类抗炎药,但这些药物存在疗效欠佳、副作用多、老年患者使用受限等缺点。有研究发现,在给予常规止痛药物的基础上静脉滴注普鲁卡因后,能明显缓解患者癌性疼痛、减少咯血发生,并且应用普鲁卡因(局麻药)镇痛符合平衡镇痛与多模式镇痛的观念,可为缓解癌性疼痛提供新

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81874426);黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(No.2018yjxsc013)

* 副研究员,博士。研究方向:方剂药效物质基础及作用机理研究。电话:0451-82193458。E-mail:yanyu985@sina.com

通信作者:教授,博士。研究方向:方剂配伍、方剂药效物质基础。电话:0451-82193631

的镇痛理念^[13]。同时,该研究还发现,在体外,较低剂量(100 nmol)的普鲁卡因可抑制非小细胞肺癌(NSCLC)细胞株A549和NCI-H1975的增殖;在动物体内,通过普鲁卡因治疗后,细胞增殖标志物增殖细胞核抗原(PCNA)也有所下调。此外,低剂量普鲁卡因可选择性抑制A549细胞中NSCLC关键靶细胞表皮生长因子受体(EGFR)mRNA的表达,但在另一细胞系NCI-H1975中未见此作用效果,表明普鲁卡因在不同细胞类型中可能存在特异性的信号转导作用^[14]。同时有研究发现,Wnt信号通路抑制因子1(WIF-1)启动子异常甲基化是人类癌症表观遗传沉默的基本机制之一,而普鲁卡因能够激活肺癌细胞中的WIF-1,并下调Wnt信号通路^[15],这进一步表明普鲁卡因可能具有预防肺癌发展的潜在用途。

2 肝癌

研究发现,普鲁卡因在体内外对人肝癌细胞均具有抑制生长和去甲基化作用^[16]。朱晨宇等^[17]以不同浓度普鲁卡因处理肝癌HepG2细胞后发现,HepG2细胞呈现缩小、空泡、脱壁形成碎片等形态学特征;MTT法检测结果显示,普鲁卡因能显著抑制HepG2细胞增殖,其抑制率随着药物浓度及时间的上升或延长有上升的趋势;流式细胞术(FCM)结果显示,普鲁卡因可以使HepG2细胞的G₀/G₁期延长,S期缩短,从而显著抑制其增殖。同时研究发现,普鲁卡因不光能抑制人肝癌细胞增殖,还可使被DNA高甲基化抑制的4种基因经普鲁卡因处理后去甲基化并激活,并且显著缩小肿瘤体积^[16]。因此,普鲁卡因有望成为具有临床应用前景的新型抗肝癌药物,或将为肝癌的靶向治疗提供新的理论依据。

3 胃癌

有研究指出,普鲁卡因能抑制DNA甲基化水平并促进胃癌细胞的增殖停滞及其凋亡。CpG岛的DNA甲基化由一系列DNA甲基转移酶(DNMTs)催化,包括DNMT1、DNMT3a和DNMT3b^[18]。相关研究结果显示,普鲁卡因可抑制DNMT1/DNMT3A基因的活性,但不抑制其表达。进一步证明普鲁卡因可通过阻止DNMT1/DNMT3A基因与多重肿瘤抑制基因(CDKN2A)和RARβ基因启动子区域的结合来降低DNA甲基化的水平,但DNMT1/DNMT3A基因的过表达不会逆转这种结合;此外,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和荧光素酶报告测定指出,普鲁卡因可通过对基因启动子的激活而上调CDKN2A和RARβ基因的表达^[19]。但普鲁卡因对DNA甲基化调节以及对胃癌生物学功能的影响仍然未知。可见,上述研究不仅揭示了普鲁卡因对DNA甲基化的调节机制,而且还提示普鲁卡因对胃癌特异性的抗肿瘤潜力,这可能为胃癌提供新的治疗策略。

4 乳腺癌

在人乳腺癌MCF-7细胞的试验中,普鲁卡因作为一种DNA去甲基化剂,可经高效毛细管电泳或总DNA酶消化等使5-甲基胞嘧啶DNA含量降低40%;同时研究显示,其对乳腺癌细胞具有生长抑制作用,其对乳腺癌细胞DNA甲基化的抑制作用,是通过CpG岛的高甲基化,导致DNA的低甲基化、去甲基化和抑癌基因的活化发挥的^[5]。这种效应可能是普鲁卡因与富含CpG岛的DNA的强结合有关,也可能是通过其自身介导完成的。同时,该研究还发现,普鲁卡因抑制乳腺癌细胞的生长与去甲基化事件可能同时发生^[5],这将为普鲁卡因及其衍生物在基于表观遗传学的癌症治疗应用方面提供理论依据。

5 白血病

最近研究发现,普鲁卡因能抑制人类白血病细胞的生长,且与全反式维甲酸(ATRA)联合能诱导癌细胞分化,还会降低DNA甲基转移酶的表达;同时,普鲁卡因治疗人类白血病细胞后可增加CD11b、E-钙粘蛋白、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)的表达与分化和细胞凋亡^[20]。还有报道指出,普鲁卡因对人急性髓系白血病(AML)细胞株HL-60细胞DNA结合抑制因子4(ID4)基因甲基化状态及细胞增殖具有一定的影响:普鲁卡因对体外培养的HL-60细胞增殖起抑制作用,且在一定范围内具有剂量、时间依赖性;同时,还可以逆转ID4基因启动子区域CpG岛的甲基化使其恢复基因活性,从而上调ID4基因mRNA和蛋白的表达,并在一定范围内随着给药剂量的上升而逐渐增强^[21]。因此,普鲁卡因的去甲基化作用可能是其抑制白血病HL-60细胞增殖的重要分子机制之一。这将为临床探寻白血病基因治疗的潜在靶点提供理论依据。

6 结肠癌

有研究发现,普鲁卡因可能通过影响脂多糖结合蛋白的表达进而干扰结肠癌细胞的迁移和侵袭行为。脂多糖作为内毒素可能会诱导免疫抑制细胞因子和促血管生成趋化因子的分泌^[22],从而改变癌细胞的增殖和凋亡方式,也有可能对癌细胞的转移过程产生影响,但其具体在结肠癌细胞中的表达作用尚不清楚。通过CCK-8细胞活性试验、划痕愈合试验发现,普鲁卡因在一定范围内能抑制结肠癌细胞的增殖,抑制结肠癌细胞的运动能力,表明一定浓度的普鲁卡因可能具有抑制肿瘤细胞的生物活性^[23]。还有研究通过采用RT-PCR技术、蛋白印迹分析结果发现,普鲁卡因可以提高Syk基因在人结肠癌HT-29细胞中的表达水平,同时使Syk基因重新活化并上调其表达,并且随着普鲁卡因浓度的升高,Syk基因的表达水平也逐步增加^[24]。而临床研究表

明,增强 *Syk* 基因的表达将减少肿瘤转移的风险,从而起到抗肿瘤的作用,同时 *Syk* 基因的表达可以作为潜在的新预后标志^[25]。这为深入探索普鲁卡因用于结肠癌诊疗的机制提供理论依据,也为结肠癌的临床治疗提供了新的诊疗思路。

7 鼻咽癌

周慧等^[26]研究发现,普鲁卡因可以抑制人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖,并且抑制率随药物浓度的增加而升高。流式细胞术测定结果显示,经普鲁卡因处理后,人鼻咽癌细胞在 G₁ 期的细胞比例明显上升,表明细胞停滞在 G₁ 期,而 G₁ 期作为一个细胞周期的开始,是细胞合成 rRNA、mRNA、tRNA 及核蛋白体的主要时期^[27]。因此,普鲁卡因将细胞阻滞在 G₁ 期,可能成为药物作用的新靶点。该研究还发现,普鲁卡因还能上调 CNE-2Z 细胞 *RASSF1A* 基因(抑癌基因)和 p16 蛋白的表达,恢复其活性,以此来抑制肿瘤细胞的生长。这将对鼻咽癌的治疗提供新的药物研发方向。

8 膀胱癌

王凯臣^[28]的研究采用针对细胞核 DNA 的 Hoechst 33258 荧光染色法观察普鲁卡因对膀胱癌细胞 5637 和 T24 的形态学影响,结果发现普鲁卡因处理后的膀胱癌细胞呈现出细胞凋亡的特征性形态学变化,包括浓缩的细胞核、变圆的细胞质,以及因细胞核碎裂而形成的离散的染色质浓染碎片。但为了进一步分析普鲁卡因对膀胱癌肿瘤细胞的作用机制,通过实时荧光定量甲基化特异性聚合酶链反应检测时发现,普鲁卡因可使 *APAF1* 基因(凋亡酶激活因子)的甲基化程度明显减弱,*APAF1* 基因阳性率为 90%。因此,普鲁卡因作为治疗膀胱癌的去甲基化试剂具有一定的应用潜力。

9 骨肉瘤

普鲁卡因作为骨肉瘤的常规化学治疗药物,最近的研究指出,其可通过调节 microRNA(miRNA)起到抑制肿瘤细胞生长的作用^[29]。miRNA 是一类高度保守的内源性小非编码 RNA(约 22 个核苷酸)^[30]。有研究发现,miRNA 参与了癌症的发生和进展,可以调节细胞增殖、凋亡,以及分化和转移能力^[31]。同时,关于 miRNA 在骨肉瘤中的功能作用已有较多研究^[32-33],其中 miR-133b 已被证实是骨肉瘤中的肿瘤抑制因子,其可通过调节细胞增殖和细胞周期抑制骨肉瘤细胞的生长^[34]。还有研究发现,随着苏氨酸蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(AKT/ERK)途径的失活,普鲁卡因能抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移,同时通过上调 miR-133b 以促进骨肉瘤细胞的凋亡^[27]。这可能为骨肉瘤的治疗提供新的方向。

10 结语

综上所述,可以从两方面说明普鲁卡因抗肿瘤细胞

增殖的作用机制:普鲁卡因可以终止细胞的有丝分裂,从而抑制肿瘤细胞的生长;普鲁卡因通过与 DNA 的 CpG 岛密集区紧密结合,使超甲基化的 CpG 岛去甲基化,从而使沉默的抑癌基因重新表达,达到治疗肿瘤的目的。目前,表观遗传学的研究者们对去甲基化越来越重视,原因在于甲基化状态既可以作为一种筛查手段,同时还可通过某些干预手段逆转这种状态,即“可诊可治”^[35-37]。因此,抑癌基因的表观遗传学变异不仅可以作为诊断标志物,还有可能成为治疗的靶点,这将为普鲁卡因应用于肿瘤的临床靶向治疗提供理论基础。但是目前普鲁卡因的抗肿瘤作用多见于体外研究,临床观察报道仅见其用于治疗晚期肺癌出现的癌性疼痛和咯血。因此,未来需加强普鲁卡因的相关体内研究,并尝试扩大癌种范围,以深入探索普鲁卡因治疗癌症的临床价值。

参考文献

- [1] 孙建宁.药理学[J].4版.北京:中国中医药出版社,2016:82-83.
- [2] 高勇,王杰军,王革芳,等.缺氧对肿瘤细胞产生和分泌基质金属蛋白酶的影响[J].癌症,2005,24(2):180-183.
- [3] HIDVEGI EJ, YATVIN MB, DENNIS WH, et al. Effect of altered membrane lipid composition and procaine on hyperthermic killing of ascites tumor cells[J]. *Oncol*, 1980, 37(5):360-363.
- [4] YAU TM, KIM SC. Local anaesthetics as hypoxic radiosensitizers, oxidic radioprotectors and potentiators of hyperthermic killing in mammalian cells[J]. *Brit J Radiol*, 1980, 53(631):687-692.
- [5] XUAN W, HANKIN J, ZHAO H, et al. The potential benefits of the use of regional anesthesia in cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(12):2774-2784.
- [6] VILLAR-GAREA A, FRAGA MF, ESPADA J, et al. Procaine is a DNA demethylating agent with growth-inhibitory effects in human cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(16):4984-4989.
- [7] 杨雷,薛晓文,张奕华. DNA 甲基转移酶抑制剂的研究进展[J].药学与临床研究,2009,17(4):323-327.
- [8] VIALE M, PASTRONE I, PELLECCIA C, et al. Combination of cisplatin procaine complex DPR with anticancer drugs increases cytotoxicity against ovarian cancer cell lines[J]. *Anticancer Drugs*, 1998, 9(5):457-463.
- [9] MIZUNO S, ISHIDA A. Selective enhancement of the cytotoxicity of the bleomycin derivative, peplomycin, by local anesthetics alone and combined with hyperthermia[J]. *Cancer Res*, 1982, 42(11):4726-4729.
- [10] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2012:123-134.

- [11] 任崇松, 杜元平, 于晓燕. 普鲁卡因联合肾上腺色腓治疗肺结核大咯血疗效观察[J]. 西部医学, 2011, 23(6): 1045-1046.
- [12] 王雪玲, 李文革. 普鲁卡因联合肾上腺色腓治疗肺结核大咯血临床疗效和不良反应观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(27): 2998-2999.
- [13] 毛方术, 曹加兴, 王超, 等. 普鲁卡因治疗晚期肺癌癌性疼痛伴咯血11例疗效观察[J]. 西南国防医药, 2014, 24(3): 283-285.
- [14] MA XW, LI Y, HAN XC, et al. The effect of low dosage of procaine on lung cancer cell proliferation[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(22): 4791-4795.
- [15] GAO Z, XU ZD, HUNG MS, et al. Procaine and procainamide inhibit the Wnt canonical pathway by promoter demethylation of WIF-1 in lung cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(6): 1479-1484.
- [16] TADA M, IMAZEKI F, FUKAI K, et al. Procaine inhibits the proliferation and DNA methylation in human hepatoma cells[J]. *Hepatol Int*, 2007, 1(3): 355-364.
- [17] 朱晨宇, 高曰文, 杜清, 等. 普鲁卡因对人肝癌HepG2细胞增殖影响的实验研究[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(4): 686-689.
- [18] KLOSE RJ, BIRD AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators[J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31(2): 89-97.
- [19] LI YC, WANG Y, LI DD, et al. Procaine is a specific DNA methylation inhibitor with anti-tumor effect for human gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 119(2): 2240-2249.
- [20] BORUTINSKAITE V, BAURAITAKATOVA J, NAVAKAUSKIENE R. Anti-leukemic activity of DNA methyltransferase inhibitor procaine targeted on human leukemia cells[J]. *Open Life Sci*, 2016, 11(1): 322-330.
- [21] 王春晓. 盐酸普鲁卡因对人白血病HL-60细胞ID4基因甲基化状态及细胞增殖的影响[D]. 桂林: 桂林医学院, 2015.
- [22] DIANA LR, CATALINA L, MARIA EA, et al. Effects over time of two platelet gel supernatants on growth factor, cytokine and hyaluronan concentrations in normal synovial membrane explants challenged with lipopolysaccharide[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16(1): 153-165.
- [23] 党晓东, 来炳祺, 何元. 普鲁卡因抑制脂多糖诱导的结肠癌细胞肿瘤侵袭性的作用机制[J]. 局解手术学杂志, 2018, 27(8): 541-544.
- [24] 高曰文. 盐酸普鲁卡因对人结肠癌HT-29细胞Syk基因甲基化及表达的影响[D]. 宜昌: 三峡大学, 2011.
- [25] MAHABELESWAR GH, KUNDU GC. Syk, a protein tyrosine kinase suppresses the cell motility and nuclear factor κ B mediated secretion of urokinase type plasminogen activator by inhibiting the phosphatidylinositol 3'-kinase activity in breast cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 6209-6221.
- [26] 周慧, 徐明锋, 罗国庆, 等. 普鲁卡因对人鼻咽癌细胞CNE-2Z增殖的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 21(24): 1118-1121.
- [27] 吴志伟. 全反式维甲酸联合顺铂对肺癌A549细胞裸鼠移植瘤影响及机制的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2014.
- [28] 王凯臣. 膀胱癌DNA甲基化标志物筛查和PA-MSHA及普鲁卡因诱导肿瘤凋亡机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [29] YING B, HUANG H, LI H, et al. Procaine inhibits proliferation and migration and promotes cell apoptosis in osteosarcoma cells by upregulation of microRNA-133b[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(9): 1463.
- [30] BUSHATI N, COHEN SM. microRNA functions[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23(1): 175-205.
- [31] GARZON R, FABBRIO M, CIMMINO A, et al. MicroRNA expression and function in cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2006, 12(12): 580-587.
- [32] NAMLØS HM, MEZAZEPEDA LA, BARØY T, et al. Modulation of the osteosarcoma expression phenotype by microRNAs[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): 950-953.
- [33] MIAO J, WU S, PENG Z, et al. MicroRNAs in osteosarcoma: diagnostic and therapeutic aspects[J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(4): 2093-2098.
- [34] NOVELLO C, PAZZAGLIA L, CINGOLANI C, et al. MiRNA expression profile in human osteosarcoma: role of miR-1 and miR-133b in proliferation and cell cycle control[J]. *Int J Oncol*, 2012, 42(2): 667-675.
- [35] VOLANIS D, PAPAPOPOULOS G, DOUMAS K, et al. Molecular mechanisms in urinary bladder carcinogenesis [J]. *J Buon*, 2011, 16(4): 589-601.
- [36] YANG W, CUI S, MA J, et al. Cigarette smoking extract causes hypermethylation and inactivation of WWOX gene in T-24 human bladder cancer cells[J]. *Neoplasma*, 2012, 59(2): 216-223.
- [37] RAMACHANDRAN K, GORDIAN E, SINGAL R. 5-azacytidine reverses drug resistance in bladder cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(11): 3757-3766.

(收稿日期: 2019-04-13 修回日期: 2019-07-11)

(编辑: 孙冰)