

文章编号:1001-6880(2016)6-0986-04

青蒿琥酯抗肿瘤作用机制与临床应用的研究进展

李异兴,李曦雯,农晓琳*

广西医科大学口腔医学院口腔颌面外科,南宁 530021

摘要:青蒿素的可溶性衍生物青蒿琥酯(Artesunate, ART)具有潜在的抗肿瘤作用,能够抑制乳腺癌、肺癌、肝癌、胃癌、宫颈癌以及白血病等多种人类常见肿瘤。其作用机制是多方面的,包括抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞分化和凋亡、调控细胞信号转导、抑制肿瘤血管新生、抑制肿瘤侵袭转移、增敏抗肿瘤化疗药物等。近年来有新的研究表明,ART 亦可逆转肿瘤细胞的多药耐药作用,且抗氧化可能也是其抗肿瘤的机制之一。本文对近年来 ART 抗肿瘤作用机制的实验研究作了全面的归纳分析,并对 ART 抗肿瘤作用机制及其临床应用进行了综述。

关键词:青蒿素;青蒿琥酯;肿瘤;机制;临床

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.028

Review on Anti-tumor Mechanism and Clinical Application of Artesunate

LI Yi-xing, LI Xi-wen, NONG Xiao-lin*

Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Abstract: Artesunate, a water-soluble artemisinin-derivative, has been widely used as an anti-malarial agent. ART also possesses anti-tumor potential, and inhibits various common human tumors such as breast cancer, lung cancer, liver cancer, stomach cancer, cervical cancer, leukemia, etc. The multiple mechanisms of anticancer activity of ART comprise inhibition of proliferation of tumor cells, induction of differentiation and apoptosis, anti-angiogenesis, regulation of cell signal transduction, inhibition of invasion and metastasis. This paper presented a review of research progress on the anti-tumor mechanism and clinical application of artesunate.

Key words: artemisinin; artesunate; tumor; mechanism; clinical

青蒿素是直接从青蒿中提取出的倍半萜内酯药物。一直以来,青蒿素类药物被认为是一种有效的抗疟疾药物^[1]。青蒿琥酯(Artesunate, ART)是青蒿素的衍生物之一,除了抗疟疾作用,其抗肿瘤作用更是引起人们的广泛关注,临床应用前途广泛^[2]。Efther T 等^[3]通过体外实验研究表明,ART 具有显著的肿瘤细胞杀伤作用,且不易产生耐药性。近年来,国内外学者研究发现,ART 可通过抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞分化和凋亡、调控细胞信号转导、抑制肿瘤血管新生、抑制肿瘤侵袭转移、增敏抗肿瘤化疗药物及逆转耐药等多种机制发挥抗肿瘤作用。现将近年来 ART 抗肿瘤作用机制的实验研究及临床应用综述如下。

收稿日期:2016-02-01 接受日期:2016-03-23

基金项目:国家自然科学基金(81060156);广西自然科学基金面上项目(2013GXNSFAA019231);广西卫生厅重点科研项目(重 200927);广西研究生教育创新计划(201010598RY10)

* 通讯作者 Tel:86-771-5358255; E-mail:xnong@gxmu.edu.cn

1 青蒿琥酯抗肿瘤作用机制

1.1 抑制肿瘤细胞增殖

1.1.1 抑制端粒酶活性

端粒酶在正常人体细胞中不表达,而在多种肿瘤细胞中可检测出其活性^[4]。肿瘤细胞端粒酶活性的增强可导致肿瘤细胞的永生化,抑制端粒酶活性是中药发挥抗肿瘤的一种机制。青蒿琥酯对端粒酶活性具有抑制作用,并能引起相关基因表达的变化。艾金霞^[5]报道青蒿琥酯可通过下调 HeLa 细胞 hTERT 基因的表达,降低端粒酶活性,进而抑制 HeLa 细胞的增殖。

1.1.2 细胞周期

青蒿琥酯阻滞肿瘤细胞于不同周期的进程是其抗肿瘤增殖的另一个重要途径。Willoughby JA 等^[6]研究认为,青蒿琥酯可以介导 MM 细胞系阻滞在 G0/G1 期。还有研究发现,ART 能以浓度和时间依赖性方式特异性地将肿瘤细胞阻滞于 G2/M 期^[7]

或 G1/G2 期^[8]。

1.2 调控细胞信号转导及诱导细胞凋亡

细胞凋亡是一种由多基因控制的细胞主动性自杀的过程,又称程序性细胞死亡。肿瘤的发生、发展与细胞信号转导通路的异常密切相关,青蒿琥酯对肿瘤细胞的信号转导通路具有调节作用。近年来研究表明,青蒿琥酯主要是通过降低线粒体跨膜电位,促进细胞内凋亡物质的释放及 caspase 的激活来诱导肿瘤细胞凋亡。此外,青蒿琥酯可以通过抑制 NF- κ B 通路或抑制 cox-2 的表达诱导肿瘤细胞凋亡。

1.2.1 线粒体和 caspase-3 途径细胞凋亡

线粒体通路的基本环节为外界凋亡刺激引起线粒体膜通透性改变^[9],导致内膜中细胞色素 C 释放入细胞质中,形成凋亡小体,依次激活 caspase-9、caspase-3,最终引发凋亡。激活的 caspase 在细胞凋亡中起主要作用。同时,越来越多的研究证实 Bcl-2 在细胞凋亡的线粒体途径中起着至关重要的作用,其机制主要包括:(1)Bcl-2 阻断 Ca^{2+} 从内质网释出,降低 Ca^{2+} 依赖性的核酸内切酶活性,从而阻断细胞凋亡;(2)通过阻止 caspase 的活化,发挥其抗凋亡的作用;(3)Bcl-2 参与抗氧化通路,改变线粒体膜电位,调控细胞凋亡。

Yang Z 等^[10]研究发现,Bcl-2 对肿瘤细胞凋亡的影响不是通过它本身单独作用体现的,而是由 Bcl-2/bax 来决定细胞是否发生凋亡。关于青蒿琥酯对人胃癌细胞的抗肿瘤作用的研究报道表明青蒿琥酯能够促进促凋亡因子 Bax 的表达,抑制抗凋亡因子 Bcl-2 的表达,激活 caspase-3 和 caspase-9,并诱导线粒体膜电位下降,提示青蒿琥酯是通过线粒体途径介导细胞的凋亡的^[11]。

1.2.2 NF- κ B 信号通路

大量研究证实,肿瘤的发生机制与调节转录因子 AP-1 和 NF- κ B 有关,NF- κ B 信号通路活化后,上调细胞因子、黏附分子、趋化因子及与多种肿瘤发生发展有关的基因的表达。已有研究证实,可以通过多个环节来抑制 NF- κ B 通路^[12,13]。Li S 等^[14]报道了青蒿琥酯可以通过抑制 NF- κ B 通路促进骨髓瘤细胞凋亡。

另外,环氧化酶(COX)是前列腺素(PGs)合成初始步骤中的关键性限速酶。COX 有两种同工酶 COX-1 和 COX-2,前者为结构型被称为要素酶或管家酶;后者为诱导型,是经刺激迅速产生的诱导酶,在许多肿瘤组织中呈过度表达^[15]。COX-2 的过度

表达与肿瘤的发生、发展、侵袭、肿瘤细胞凋亡及肿瘤预后不良相关。Wei Z^[16]等研究发现,青蒿琥酯可能通过抑制 cox-2 的表达诱导膀胱癌细胞的凋亡。

1.3 抗肿瘤转移

1.3.1 抑制侵袭

大量的研究表明,金属蛋白酶(metalloproteinase,MMP)-2 和 MMP-9 的在恶性肿瘤细胞中的高表达与其高侵袭和迁移能力紧密相关^[17]。MMPs 促进肿瘤侵袭的转移的机制包括:降解细胞外基质和基膜,促进肿瘤向正常组织浸润;调节原发和继发肿瘤的生长效应;调节细胞黏附和促进新生血管形成等^[18]。Rao JS 等^[19]通过介导 Ad-uP-AR-MMP-9 进入 H1299 肺癌细胞内,抑制其 MMP-9 的表达,结果使得该细胞具有抗肿瘤活性的作用,能抑制肿瘤早期的转移,达到抗肿瘤的目的。

1.3.2 抑制肿瘤血管新生

新生血管的形成是实体肿瘤发生转移的重要前提^[20]。肿瘤血管形成受多种因子调节,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现的最重要的血管生长因子。在血管新生调控中,专一作用于血管内皮细胞的 VEGF 和 Angs 两家族相互协调发挥关键作用^[21]。青蒿琥酯抗肿瘤作用的机制与其抗血管形成密切相关^[22]。ang-2 是近年来新发现的血管生成因子,研究已证实 ang-2 促进肿瘤的血管生成,从而参与肿瘤的发生、发展及转移^[23]。何荣荣等^[24]发现,ART 作用于人子宫内膜癌 ishikawa 细胞株后,ang-2 mRNA 基因及蛋白质表达水平均降低。推测 ART 可能通过影响 VEGF 的表达,反馈调节抑制 ang-2 表达,共同抑制了子宫内膜癌细胞的侵袭能力。

1.4 抑制肿瘤多药耐药

化疗使肿瘤细胞产生的耐药性,是肿瘤治疗失败的主要原因。多药耐药(multi-drug resistance, MDR)是指由一种药物作用于肿瘤使之产生耐药,同时对其他多种结构和作用机制完全不同的抗癌药物产生交叉耐药的现象。研究认为,产生 MDR 的重要原因一是 ABC 家族蛋白,如 P-糖蛋白(P-gp),多药耐药相关蛋白(MRP)及 ABCG2 的高表达,P-gp 和 MRP 通过三磷酸腺苷(ATP)提供能量,将化疗药物由细胞内泵出细胞外,降低细胞内抗肿瘤药物的浓度,使其抗肿瘤作用减弱或消失而表现为耐药性。研究表明,三磷酸腺苷结合转运蛋白 G2(ABCG2)与肿瘤的多药耐药密切相关,经 ART 处

理后的 Eca109/ABCG2 裸鼠移植瘤细胞, ABCG2 显著减低, 推测 ABCG2 参与了食管癌多药耐药的形成, ART 可通过降低食管癌细胞中 ABCG2 的表达从而逆转食管癌耐药作用^[25]。

1.5 其他

青蒿琥酯可通过其他途径杀伤肿瘤细胞。(1)免疫调节:不少学者对青蒿琥酯与免疫功能的关系进行过研究,但结论并不完全一致。有些学者认为青蒿琥酯有免疫抑制作用,有些学者则认为有增强免疫功能的作用,还有人认为有双向调节作用。(2)铁介导的自由基生成:Efferth T^[26]等研究指出,青蒿琥酯能在铁的催化下产生自由基活性产物,损伤机体的烷化大分子和细胞膜结构,导致细胞死亡,他还提出抗氧化可能是 ART 抗肿瘤的机制之一。(3)原癌基因和抑癌基因:大量研究表明,青蒿琥酯的抗肿瘤机制与 Survivin、P21、P27、P53 等癌基因密切相关。(4)铁依赖性细胞死亡(ferroptosis):近年来,有研究表明 ART 诱导胰腺导管腺癌细胞死亡的方式不同于典型的 caspase 介导的细胞凋亡与坏死,而是激活一种铁和活性氧依赖性的程序性死亡来诱导肿瘤细胞凋亡^[27]。

2 青蒿琥酯抗肿瘤临床应用

青蒿素已被逐渐应用于肿瘤的临床治疗。尤其是对失去手术机会,没有化疗条件及不能接受放疗的中、晚期癌症患者来说,是一种有希望的抗癌药物。其效果明显,且不良反应少,可改变患者一般状况,提高生活质量;在配合肿瘤的放、化疗过程中能减少其毒副作用,增加患者对放、化疗的耐受性,提高肿瘤细胞对放、化疗的敏感性,从而提高疗效。

2.1 喉癌

Singh Narendra P 等^[28]首次报道在临幊上使用青蒿琥酯治疗喉鳞状细胞癌。治疗过程包括:每天 60 mg 青蒿琥酯肌注,连用 15 d,从第 16 d 开始,改为每天口服青蒿琥酯 50 mg。经治疗两个月后,肿瘤体积明显缩小 70%,颈部淋巴结减少,患者的身体感觉和精神状态均取得显著改善。

2.2 垂体大腺瘤

Singh Narendra P 等^[29]报道,口服甲基还原青蒿素治疗垂体大腺瘤患者 12 个月后,虽然肿瘤体积没有明显减小,但电脑断层扫描显示肿瘤密度减低,且在临幊上,视觉,听觉和运动等相关的症状和体征得到显著改善。

2.3 恶性黑色素瘤

Berger 等^[30]用青蒿琥酯治疗 2 例经过单纯标准化学治疗无改善的晚期转移性葡萄膜黑色素瘤患者,其中 1 例患者治疗经后症状控制稳定,脾和肺中的转移灶也明显好转,存活时间达 47 个月,远远高于晚期黑色素瘤患者 2~5 个月的中位生存时间。

2.4 非小细胞肺癌

张祖贻^[31]等对中晚期非小细胞肺癌分为单纯化学治疗组(对照组)和青蒿琥酯联合化疗组(试验组),经至少 2 个周期的治疗,结束后进行评价发现,试验组和对照组的疾病控制率和疾病进展时间存在统计学差异,分别为 88.2%、24 周和 72.7%、20 周。提示青蒿琥酯有可能减少或逆转了肿瘤对化疗药物的耐药,延迟复发时间,延长总生存时间。

值得一提的是,König M^[32]等在青蒿琥酯辅助治疗转移或局部晚期乳腺癌患者时引起耳毒性的研究中发现,在 23 名被纳入研究的女性患者中有 4 名患者出现了听觉系统的不良反应,这可能与青蒿琥酯的摄入有关。但总而言之,青蒿素及其衍生物在临床肿瘤治疗方面,有益于改善患者的生活质量,延长生存时间。

3 结语

综上所述,近 20 年来对青蒿琥酯的研究表明,青蒿琥酯通过多种机制发挥其抗肿瘤作用,在有效剂量范围内对肿瘤细胞选择抑制性高,毒副作用小,这些优点使之有可能成为新型的抗肿瘤药物。但是,其对不同肿瘤的选择性杀伤作用剂量和分子机制并不完全相同。因此深入开展 ART 在动物和人体的生物学效应的研究,探讨它们抗肿瘤的分子机制,将具有非常重要的理论意义和广泛的应用前景。此外,在未来的青蒿琥酯抗肿瘤研究中,应避免忽视青蒿琥酯不良反应的研究,以便为临床安全用药提供参考。

参考文献

- Tu Y. The discovery of artemisinin (Qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. *Nat Med*, 2011, 17:1217-1220.
- Jiang HY(蒋红艳), et al. Research progresses of artesunate in inducing tumor cell apoptosis. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2014, 34:181-183.
- Efferth T, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer. *Int J Oncol*, 2001, 18:767-773.
- Mandal M, et al. Bcl-2 prevent CD95 (Fas/APO-1) induced degradation of lamin B and Ply (Aop-ri-bose) polymerase

- and restores the NF- κ B signaling pathway. *J Biol Chem*, 1996, 271:30354-30359.
- 5 Ai JX(艾金霞). Inhibiting effect of artemisinin on HeLa cell growth. *J Shanxi Med Univ* (山西医科大学学报), 2007, 38:204-207.
- 6 Willoughby JA, et al. Artemisinin blocks prostate cancer growth and cell cycle progression by disrupting Sp1 interactions with the cyclin-dependent kinase_4 (CDK4) promoter and inhibiting CDK4 gene expression. *J Biol Chem*, 2009, 284:2203-2213.
- 7 Jeong da E, et al. Repurposing the anti-malarial drug artesunate as a novel therapeutic agent for metastatic renal cell carcinoma due to its attenuation of tumor growth, metastasis, and angiogenesis. *Oncotarget*, 2015, 6:33046-33064.
- 8 Li YX(李异兴), et al. Inhibition effects of artesunate on novel human palatal salivary gland cell line of adenoid cystic carcinoma in vitro. *Guangxi Med J*(广西医学), 2012, 34: 517-521
- 9 Papanikolaou X, et al. Artesunate overcomes drug resistance in multiple myeloma by inducing mitochondrial stress and non-caspase apoptosis. *Oncotarget*, 2014, 12:4118-4128.
- 10 Yang Z, et al. Cardiovascular inflammation and lesion cell apoptosis: a novel connection via the interferon-inducible immunoproteasome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29:1213-1219.
- 11 Zhang P, et al. Artesunate inhibits the growth and induces apoptosis of human gastric cancer cells by downregulating COX-2. *Onco Targets Ther*, 2015, 8:845-854.
- 12 Van Waes C. Nuclear factor- κ B in development, prevention, and therapy of Cancer. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 1076-1082.
- 13 Wang D, et al. Artesunate attenuates lipopolysaccharide-stimulated proinflammatory responses by suppressing TLR4, MyD88 expression and NF- κ B activation in microglial cells. *Inflammation*, 2015, 38:1925-1932
- 14 Li S, et al. Effect of artesunate on inhibiting proliferation and inducing apoptosis of SP2/0 myeloma cells through affecting NF κ B p65. *Int J Hematol*, 2009, 90:513-521.
- 15 Méric JB, et al. Cyclooxygenase-2 as a target for anticancer drug development. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2006, 59:51-64.
- 16 Zuo W, et al. Artesunate induces apoptosis of bladder cancer cells by miR-16 regulation of COX-2 expression. *Int J Mol Sci*, 2014, 15:14298-14312.
- 17 Rasheed SA, et al. First evidence that the antimalarial drug artesunate inhibits invasion and *in vivo* metastasis in lung cancer by targeting essential extracellular proteases. *Int J Cancer*, 2010, 6:1475-1485.
- 18 Visse R, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 2003, 92:827-839.
- 19 Rao JS, et al. Inhibition of invasion, angiogenesis, tumor growth, and metastasis by adenovirus-mediated transfer of antisense uPAR and MMP-9 in non-small cell lung cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4:1399-1408.
- 20 Nesbit M. Abrogation of tumor vasculature using gene therapy. *Cancer Metastasis Rev*, 2000, 19:45-49.
- 21 Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc)*, 2008, 73:751-762.
- 22 Murray J, et al. *In vitro* oxygen availability modulates the effect of artesunate on HeLa cells. *Anticancer Res*, 2014, 34: 7055-7060.
- 23 Bach F, et al. Angiopoietins in malignancy. *Eur J Surg Oncol*, 2007, 33:7-15.
- 24 He RR(何荣荣), et al. Effect of artesunate on expression of the angiopoietin-2 in ishikawa cellline. *Chin J Prac Gynecol Obstetrics*(中国实用妇科与产科杂志), 2010, 26:260-262.
- 25 Liu L, et al. Reversal of multidrug resistance by the anti-malaria drug artesunate in the esophageal cancer Eca109/ABCG2 cell line. *Oncol Lett*, 2013, 5:1475-1481.
- 26 Efferth T, et al. Enhancement of cytotoxicity of Artemisinins toward cancer cells by ferrous iron. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37:998-1009.
- 27 Eling N, et al. Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells. *Oncoscience*, 2015, 2:517-532.
- 28 Singh NP, et al. Case report of a laryngeal squamous cell carcinoma treated with artesunate. *Arch Oncol*, 2002, 10: 279-280.
- 29 Singh NP, et al. Case Report of a pituitary macroadenoma treated with artemether . *Integr Cancer Ther*, 2006, 5: 391-394.
- 30 Berger TG, et al. Artesunate in the treatment of metastatic uveal melanoma-first experiences. *Oncol Rep*, 2005, 14: 1599-1603.
- 31 Zhang ZY(张祖贻), et al. Artesunate combined with vinorelbine plus cisplatin in treatment of advanced non-small cell lung cancer: A randomized controlled trial. *J Chin Integr Med*(中西医结合学报), 2008, 2:124-126.
- 32 König M, et al. Investigation of ototoxicity of artesunate as add-on therapy in patients with metastatic or locally advanced breast cancer: new audiological results from a prospective, open, uncontrolled, monocentric phase I study. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 77:412-427.