

去甲斑蝥素诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展*

李先茜, 李晓丽 综述, 吴嘉熙, 余琛 审校(上海市徐汇区中心医院中心实验室 200031)

【关键词】 去甲斑蝥素; 肿瘤; 细胞凋亡

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.09.049 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)09-1145-02

人类用斑蝥治疗疾病已有 2000 多年的历史,斑蝥为芫青科昆虫南方一大斑蝥或黄黑小斑蝥的干燥体,《木经》中称其味辛、热,有大毒,归肝、胃、肾、大肠和小肠,具有攻毒蚀疮,逐瘀散结的功效。斑蝥抗癌的主要有效成分为斑蝥素,主要用于治疗肝癌、食管癌及胃癌等,但斑蝥素对泌尿系统刺激作用较强烈,应用受到限制。去甲斑蝥素(NCTD)是斑蝥素的衍生物,是从斑蝥中提取斑蝥素并经人工合成的一种新型低毒的抗癌药物,具有抗癌和升白细胞的作用,是当今国际上第一种有升高白细胞作用的抗癌药物。随着研究的深入,人们对 NCTD 的抗癌作用机制有一定的了解。

细胞凋亡是近年来肿瘤治疗研究的热点之一。细胞凋亡,是一种不同于细胞坏死的生理方式,其细胞形态和生化方面的变化主要包括 DNA 断裂、染色质凝聚、膜结构肿胀、细胞皱缩、凋亡小体形成等,它与细胞增殖、分化一样是细胞的基本生命活动,三者密切相关。细胞凋亡是由一种基因调控的细胞主动死亡过程,在大多数细胞凋亡过程中,都需要有新的基因表达。近年研究表明,与诱导细胞凋亡有关的基因有:ced-2、ced-3、ced-4、c-myc、c-fos、p53、肿瘤坏死因子 α (TNF α) 等;与抑制凋亡有关的基因有:bcl-2、ced-9、凋亡抑制剂(IAP)等。由于细胞增殖、分化、凋亡三者之间的平衡失调与肿瘤的发生和发展有关。20 世纪 90 年代以后,细胞凋亡已成为肿瘤学研究的一个热点。诱导肿瘤细胞凋亡是许多抗癌药物的重要作用之一。NCTD 是新型抗肿瘤药物,主要用于治疗肝癌、食管癌及胃癌等,具有较强的抗肿瘤活性和独特的升高白细胞作用。有研究表明,NCTD 抗肿瘤作用的重要机制是诱导肿瘤细胞的凋亡^[1]。本文对 NCTD 诱导肿瘤细胞的凋亡综述如下。

1 NCTD 对肿瘤细胞的增殖抑制和诱导凋亡作用

肿瘤的发生、发展与细胞增殖和凋亡的不平衡有关,NCTD 既对肿瘤细胞的增殖有抑制作用,也可能诱导肿瘤细胞凋亡。在体外有研究观察到 NCTD 对人肝癌细胞 SMMC-7721 及人胃癌细胞 SGC-7901 的生长有不同程度的抑制作用,以对肝癌细胞的作用更为明显^[2-3]。近来有研究发现小剂量 NCTD 刺激细胞生长,而一定范围剂量的 NCTD 可在直接杀伤作用较小的情况下明显诱导 T 淋巴细胞白血病 6T-CEM 细胞株凋亡,不会因细胞坏死而引起炎症反应,这对于其应用于临床特别是肿瘤的治疗有十分重要的意义。正常细胞的增殖与凋亡处于一个平衡状态,若细胞凋亡受阻,或增殖超过凋亡,则表现出生长优势,这是肿瘤发生和发展的重要基础。最近有研究报道,NCTD 诱导肝细胞凋亡时发现 NCTD 有抑制肝癌细胞的增殖和促进肝癌细胞凋亡的作用,从而发挥其抗癌作用^[4-5]。NCTD 对原发性胆囊癌 GBC-SD 细胞系的增殖抑制和凋亡诱导作用也证明了这一点^[6]。研究发现 NCTD 可使裸鼠

移植瘤增长明显减缓,抑瘤率达 42.63%,若与 5-氟尿嘧啶(5-Fu)合用,瘤体增长减缓更显著,抑瘤率达 53.89%,提示 NCTD 不但在体外对人原发性胆囊癌 GBC-SD 细胞有抑制和杀伤作用,也能抑制裸鼠胆囊癌移植瘤的生长,若与 5-Fu 合用,则加强其抑制人胆囊癌生长的作用。

2 NCTD 能改变肿瘤细胞某些基因的表达

有研究发现,NCTD 能改变肿瘤细胞某些基因的表达,从而发挥其抗肿瘤作用^[7-11]。进一步的研究发现,人肝癌 BEL-7402 细胞经 NCTD 处理后,检测到较高水平的 I κ B α ,核因子 κ B(NF- κ B)的表达略有降低,说明 NCTD 可以抑制 I κ B α 的降解从而抑制 NF- κ B 的活化。实验表明缺乏 NF- κ B/Rel 基因或含有 NF- κ B/Rel 抑制瘤的培养细胞在受到 TNF 或 T 细胞激活剂刺激时易发生凋亡。DNA 损害剂如射线等在杀死受损细胞的同时也激活了 NF- κ B,当 NF- κ B 被抑制时,其细胞毒作用更强。许多抗癌药物是通过诱导细胞凋亡而发挥其杀伤作用的,而 NF- κ B 往往抑制细胞凋亡而保护了肿瘤细胞^[12-14]。实验研究也证明了一些肿瘤细胞株中有较高水平的 NF- κ B,对 NF- κ B 的直接抑制可诱导肿瘤细胞凋亡。NCTD 可能通过下调 NF- κ B 基因的表达,诱导肿瘤细胞凋亡,从而发挥其抗肿瘤作用。

3 NCTD 对肿瘤细胞生物活动的抑制作用

研究发现 NCTD 对白血病 HL60 细胞的有丝分裂和 DNA 合成有明显的抑制作用^[15]。有学者发现 NCTD 能提高腹水肝癌 H22 细胞的线粒体的呼吸控制率及溶酶体酶,如酸性磷酸酶和 DNA 酶活性;更有实验证实了 NCTD 对钙调素激活的环苷磷酸二酯酶具有抑制作用。进一步有实验证实 NCTD 是蛋白磷酸酯酶 2A(PP2A)和蛋白磷酸酯酶 1(PP1)的抑制剂。PP2A 和 PP1 在细胞周期中的转换点和 G2 及 M 期起重要作用。PP1 功能被抑制,周期蛋白 RB 不能去磷酸化,细胞不能完成 G1 到 S1 期的正常转换,出现 G2/M 阻滞,PP2A 的活性被抑制,会促进细胞越过 G2-M 和检测点,使一些复制未完成或 DNA 受损的细胞进入 M 期,进行异常有丝分裂,最终使细胞发生凋亡^[16-17]。

4 NCTD 的升白细胞效应

有研究报道连续使用 NCTD 作用于小鼠 8 d 并检测血细胞情况,第 3、8、13 天小鼠白细胞数明显增加。推测早期是加速骨髓成熟或释放所致,后期则可能与促造血干细胞的增殖和分化有关。其后更进一步的实验也证明 NCTD 作用的第 3 天可使正常小鼠粒-单核细胞产率增加,而对于放射性损伤小鼠 NCTD 作用的第 5 天使其白细胞数量回升的同时粒-单系祖细胞产率得到部分恢复。另有学者研究也发现,NCTD 可引起正常小鼠外周血白细胞数量增多,其作用呈剂量和时间依赖

* 基金项目:上海市徐汇区科研项目(SHXH201108);上海市徐汇区中心医院科研项目(2012XHCH06)。

性,而且证实其能刺激小鼠骨髓并产生白细胞介素-1 β , TNF- α 和环孢素 A 等细胞因子。进一步的研究发现, NCTD 作用 24 h 后体外培养的人骨髓细胞 DNA 合成增多和有丝分裂频率增加,此外骨髓粒-单核细胞的细胞周期缩短,并呈剂量时间依赖性^[18-20]。但其后的研究发现, NCTD 引起小鼠外周血白细胞数量增多的效应是短暂的,作用时间超过 3 d 反而抑制细胞 DNA 合成和粒-单核细胞的分化。

5 展 望

传统中药或其提取物在现代肿瘤治疗中的作用正日益受到重视, NCTD 是我国开发的从传统中药中提取并经人工合成的一种新型低毒的抗癌药物,其独特的抗癌和升高白细胞作用备受推崇。随着 NCTD 基础和临床研究的深入,其抗癌和升高白细胞的机制将进一步被阐明,其在肿瘤的治疗中将可能发挥越来越大的作用。

参考文献

- [1] Sun ZX, Ma QW, Zhao TD, et al. Apoptosis induced by norcantharidin in human tumor cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2000, 6(2): 263-265.
- [2] Chang C, Zhu YQ, Mei JJ, et al. Involvement of mitochondrial pathway in NCTD-induced cytotoxicity in human hepG2 cells[J]. *J Exp Cancer Res*, 2010, 29(145): 1-9.
- [3] Riz I, Zweier-Renn LA, Toma L, et al. Apoptotic role of IKK in T-ALL therapeutic response[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(8): 979-984.
- [4] Fan YZ, Fu JY, Zhao ZM, et al. Inhibitory effect of norcantharidin on the growth of human gallbladder carcinoma GBC-SD cells in vitro[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2007, 6(1): 72-80.
- [5] Llambi F, Green DR. Apoptosis and Oncogenesis: give and take in the BCL-2 family[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21(1): 12-20.
- [6] Fan YZ, Fu JY, Zhao ZM, et al. Influence of norcantharidin on proliferation, proliferation-related gene proteins proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 of human gallbladder carcinoma GBC-SD cells[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2004, 3(4): 603-607.
- [7] Yeh CB, Hsieh MJ, Hsieh YH, et al. Antimetastatic Effects of Norcantharidin on Hepatocellular Carcinoma by Transcriptional Inhibition of MMP-9 through Modulation of NF- κ B Activity[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31055.
- [8] Fecker LF, Stockfleth E, Braun FK, et al. Enhanced death ligand-induced apoptosis in cutaneous SCC cells by treatment with diclofenac/hyaluronic acid correlates with downregulation of c-FLIP[J]. *J Invest Dermatol*, 2010, 130(8): 2098-2109.
- [9] Lee SW, Song YS, Lee SY, et al. Downregulation of Protein Kinase CK2 Activity Facilitates Tumor Necrosis Factor- α -Mediated Chondrocyte Death through Apoptosis and

Autophagy[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19163.

- [10] Chen YJ, Chang WM, Liu YW, et al. A small-molecule metastasis inhibitor, norcantharidin, downregulates matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting Sp1 transcriptional activity in colorectal cancer cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 181(3): 440-446.
- [11] Hong CY, Huang SC, Lin SK, et al. Norcantharidin-induced post-G(2)/M apoptosis is dependent on wild-type p53 gene[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276(1): 278-285.
- [12] Hu X, Yang D, Zimmerman M, et al. IRF8 Regulates Acid Ceramidase Expression to Mediate Apoptosis and Suppresses Myelogenous Leukemia[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(8): 2882-2891.
- [13] Marzec M, Liu X, Wysocka M, et al. Simultaneous Inhibition of mTOR-containing complex 1 (mTORC1) and MNK Induces Apoptosis of Cutaneous T-Cell Lymphoma (CTCL) cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24849.
- [14] Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, et al. Molecular biology of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(24): 2897-2908.
- [15] Fan YZ, Zhao ZM, Fu JY, et al. Norcantharidin inhibits growth of human gallbladder carcinoma xenografted tumors in nude mice by inducing apoptosis and blocking the cell cycle in vivo[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(4): 414-422.
- [16] Wlodkovic D, Khoshmanesh K, Sharpe JC, et al. Apoptosis goes on a chip: advances in the microfluidic analysis of programmed cell death[J]. *Anal Chem*, 2011, 83(17): 6439-6446.
- [17] An WW, Wang MW, Tashiro S, et al. Mitogen-activated protein kinase-dependent apoptosis in norcantharidin-treated A375-S2 cells is preceded by the activation of protein kinase C[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2005, 118(3): 198-203.
- [18] Zhao Q, Qian Y, Li R, et al. Norcantharidin Facilitates LPS-Mediated Immune Responses by Up-Regulation of AKT/NF- κ B Signaling in Macrophages[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44956.
- [19] Lee YR, Wu WC, Ji WT, et al. Reversine suppresses oral squamous cell carcinoma via cell cycle arrest and concomitantly apoptosis and autophagy[J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19(9): 1-12.
- [20] Chen YC, Chang SC, Wu MH, et al. Norcantharidin reduced cyclins and cytokines production in human peripheral blood mononuclear cells[J]. *Life Sci*, 2009, 84(7): 218-226.

(收稿日期: 2012-10-24 修回日期: 2012-12-12)