

◇小专论◇

青蒿素类化合物抗肿瘤研究进展

陆金健

(浙江中医药大学生命科学院, 浙江 杭州 310053)

中国图书分类号: R-05 R 284.4; R 730.534 R 979.1

文献标识码: A 文章编号: 1001-1978(2010)06-0818-03

摘要: 青蒿素类化合物是一类有效的抗疟疾药物, 近年来研究显示该类化合物也具有较好的抗肿瘤作用。其抗肿瘤机制主要包括铁参与的氧化应激反应、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡以及抗新生血管生成等。由于青蒿素类化合物对正常组织细胞毒性小, 且对多药耐药的肿瘤细胞仍然有效, 因此, 开发该类化合物作为新型的抗肿瘤药物具有广阔前景。

关键词: 青蒿素; 氧化应激; 周期阻滞; 细胞凋亡; 抗血管新生; 抗肿瘤

青蒿素是从菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 中提取的一种含内过氧化基团的倍半萜内酯化合物, 其衍生物主要有二氢青蒿素、青蒿琥酯、蒿甲醚、蒿乙醚等。目前, 青蒿素类化合物已被广泛用于治疗疟疾。此外, 它还具有免疫抑制、抗血吸虫、抗病毒及抗肿瘤等多方面药理作用^[1]。本文就国内外学者对青蒿素类化合物抗肿瘤方面的最新研究进展予以综述。

1 青蒿素类化合物体内外抗肿瘤效应

青蒿素类化合物在体外对包括白血病、乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、胃癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌、肺癌、骨肉瘤等在内的多种肿瘤细胞都具有一定的抑制或杀伤作用^[1-10]。以往研究显示白血病及结肠癌细胞对青蒿素类化合物敏感, 而非小细胞肺癌细胞对其耐受^[1]。Lu等^[3]的研究也观察到了类似

现象, 提示青蒿素类化合物对不同组织来源的肿瘤细胞具有一定的选择杀伤性, 但具体机制尚未完全明确。此外, 青蒿素类化合物对多药耐药的肿瘤细胞同样具有杀伤作用^[11]。

动物水平研究表明, 青蒿素类化合物能有效预防肿瘤的发生。Lai等^[12]报道喂食含 0.02% 青蒿素的粉状鼠食可以延缓由二甲基苯蒽诱导的大鼠乳腺癌的生长。在肿瘤治疗方面, Li等^[13]比较了青蒿琥酯每天给药 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 连续给药 20次和每 3天给药 $300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 连续给药 7次两种方案对结肠癌 CLY细胞裸小鼠移植瘤的治疗情况。结果发现, 两者对移植瘤都有较好的抑制作用, 而后的给药方式较前者具有更强的抑制效果。Chen等^[18]证实 $25 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 二氢青蒿素对卵巢癌裸小鼠移植瘤具有一定的治疗作用, 若联合 $120 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 卡铂则效果更佳。Hou等^[7]发现 $50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 青蒿琥酯或 $50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 二氢青蒿素联合 $80 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 吉西他滨对肝癌 HepG2和 Hep3B移植瘤具有很好的抑制效果。张佳丽等^[14]报道二氢青蒿素与 $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 环氧化酶 2抑制剂美洛昔康合用能明显抑制 S180肉瘤的生长, 其效果优于两药单用。最近又有研究显示青蒿素类化合物能有效抑制胰腺癌 BxPC-3, Panc1细胞裸小鼠移植瘤的生长^[15,9], 这对于缺少有效化疗药物的胰腺癌治疗来说无疑具有重要意义。

2 青蒿素类化合物的抗肿瘤作用机制

2.1 氧化应激与铁 氧化应激在青蒿素类化合物抗肿瘤作用中可能起到重要作用。Efferth等^[16]通过微阵列分析法, 发现 γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽 S转移酶等与细胞对青蒿素类化合物耐受密切相关。直接的实验证据^[17,18]也证实碳中心自由基或活性氧参与了青蒿素类化合物抗肿瘤过程。

青蒿素类化合物主要是通过铁裂解过氧桥结构产生大量的自由基而发挥抗疟作用的。肿瘤细胞含有较丰富的铁, 提示铁在青蒿素类化合物抗肿瘤中可能也起重要作用。Ef

收稿日期: 2010-01-12 修回日期: 2010-03-19

基金项目: 浙江中医药大学科研基金重点资助项目 (No 2009ZZ04)

作者简介: 陆金健 (1981-), 男, 博士, 研究方向: 肿瘤药理学,

Tel/Fax: 0571-86613600 Email: jinjian_lu@163.com

to observe the anti-proliferation of TMP. The levels of ERK1/2 and p-ERK1/2 proteins were determined by Western blot. Results: In presence of the TMP with different concentrations (12.5 , 25 , 50 , 100 and $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) at 6 , 12 , 24 , 36 and 48 hours, compared with control groups, the average inhibitory rates of cell proliferation in all groups were increased significantly ($P < 0.05$), especially of $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TMP group at 48 hours ($P < 0.01$). The levels of p-ERK1/2

proteins were significantly decreased at 30 minutes and 60 minutes after treatment with TMP ($200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and PDGF ($20 \text{pg} \cdot \text{L}^{-1}$). Conclusion: The proliferation of ASCMs is inhibited by TMP, and this may be related to inhibiting the activation of ERK1/2 signaling pathway.

Key words: Tetramethylpyrazine; ASCMs; Proliferation; ERK1/2; rat aorta

ferth等^[1]发现当青蒿素类化合物与氨基乙酸硫酸亚铁共孵育能明显提高白血病 CCRF-CEM细胞和人星型细胞瘤 U373细胞对其的敏感性。Lu等^[3]也发现去铁敏预处理 HL-60细胞 6 h可以有效拮抗二氢青蒿素引起的细胞凋亡。研究表明,细胞对铁的摄取与细胞表面的转铁蛋白受体(transferrin receptor, TR)相关,且在增殖旺盛的肿瘤细胞中 TR高表达。最近 Efferth等^[20]运用 OncoTest S36细胞板测试系统研究发现,青蒿琥酯与氨基乙酸硫酸亚铁联用的增效现象并不适用于所有的测试细胞,相对于低表达 TR的肿瘤细胞而言,高表达 TR对于联合使用药物更为有效。由于铁需要与其结构中的过氧桥发生反应而产生自由基,因此该类化合物中的过氧桥结构也被赋予了重要作用,若无此结构,则其抗肿瘤活性明显下降^[18]。

2.2 细胞周期阻滞

青蒿素类化合物能有效抑制细胞增殖,可能与其诱导周期阻滞密切相关。Hou等^[7]证明青蒿琥酯和二氢青蒿素都能有效引发肝癌 HepG2细胞和 Hep3B细胞 G₀/G₁期阻滞,下调周期调控蛋白 Cyclin D₁, Cyclin E等。Morrissey等^[15]发现青蒿素类化合物能有效阻滞前列腺癌细胞于 G₀/G₁期。Lu等^[4]也发现二氢青蒿素能使结肠癌 HCT116细胞发生 G₀/G₁期阻滞,并明显下调 S期细胞比例。不过也有报道该类化合物能阻断细胞于其他周期,如 Jiao等^[9]发现二氢青蒿素能诱导卵巢癌 OVCA-420细胞 G₂期周期阻滞。可见该类化合物的周期阻滞效应可能会因细胞来源不同而有所差异。研究发现细胞分裂周期 25A(cyclin dependent kinase 25 homolog A, CDK25A)蛋白与青蒿素类化合物的敏感性高度相关,将 CDK25A基因转入大鼠胚胎 R12细胞中,则细胞对青蒿琥酯的敏感性增加^[1]。最近也有研究报道^[21]青蒿素可以直接抑制细胞周期素依赖的激酶 4基因的表达,从而导致前列腺癌细胞周期阻滞。

2.3 诱导细胞凋亡

青蒿素类化合物对多种肿瘤细胞具有良好的凋亡诱导效应,一般认为该类化合物通过线粒体介导的通路诱导细胞凋亡^[9,17]。二氢青蒿素能有效升高细胞内促凋亡蛋白 Bax,同时下调抗凋亡蛋白 Bcl2^[6-9]。将 Bcl2基因转染到 Jurkat细胞中,发现这些细胞明显对青蒿素类化合物诱导的凋亡耐受^[17]。最新研究表明,死亡受体介导的通路可能也参与了该类化合物的细胞凋亡过程。Lu等^[3]发现二氢青蒿素在诱导白血病细胞 HL-60凋亡过程中除线粒体膜电位下降、Caspase9激活外还伴随着 Caspase8激活。Chen等^[8]也发现二氢青蒿素除有效下调 Bcl2和上调 Bax外,能同时升高 Fas和激活 Caspase-8。He等^[19]最近报道二氢青蒿素能增强死亡受体 5活性并激活死亡受体和线粒体通路诱导细胞凋亡。这些结果提示该类化合物诱导细胞凋亡途径可能与肿瘤细胞类型有关。

此外,青蒿素类化合物诱导的细胞凋亡可能并不依赖于 P53^[7],而在某些细胞中更依赖于 P38 MAPK的激活。预处理 P38 MAPK的特异性抑制剂 SB203580则能有效逆转二氢青蒿素引发的 HL-60细胞凋亡^[3]。二氢青蒿素诱导的肺癌

PC-14细胞凋亡中也有类似现象^[10]。另外,青蒿素类化合物引发的细胞内钙流升高也可能参与了其细胞凋亡过程^[10,21]。

2.4 抗肿瘤新生血管生成 肿瘤的生长和转移依赖血管生成。研究表明^[11],青蒿素类化合物具有抗肿瘤新生血管生成的作用。Chen等^[23]发现二氢青蒿素能有效抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与人脐静脉内皮细胞上相应受体之间的结合。鸡胚尿囊膜实验进一步证明低剂量的二氢青蒿素就能明显抑制新生血管生成。二氢青蒿素处理后也能明显下调慢性粒细胞白血病 K562细胞中 VEGF的表达和分泌。收集培养 K562细胞的培养基用于鸡胚尿囊膜实验,发现经过二氢青蒿素处理得到的培养基能明显下调血管新生,而未经处理的血管新生正常^[24]。Anfosso等^[25]通过微阵列分析研究了青蒿素类化合物跟 89个与血管发生相关的基因间的相关度,结果发现,30个基因与肿瘤细胞对青蒿素类化合物的反应密切相关。其中包括 VEGFC成纤维细胞生长因子、基质金属蛋白酶、缺氧诱导因子 1 α 等。这些结果显示青蒿素类化合物除可以直接抑制或杀伤肿瘤细胞外,也可以影响与血管新生密切相关的分子最终达到抗肿瘤的目的。

2.5 其他 除以上机制外,通过微阵列分析法, Efferth等^[1]还发现多个与青蒿素类化合物效应相关的分子,如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、肿瘤生长因子 β 2-酪氨酸激酶以及乳腺癌易感基因 2等。进一步研究证实转染了 EGFR cDNA的恶性胶质瘤 U-87MG细胞与对照组相比对青蒿琥酯产生明显的抵抗作用。Li等^[13]研究显示青蒿琥酯对结肠癌 CLY细胞的抑制很可能与 β -catenin有关。青蒿琥酯虽然不能下调 β -catenin的蛋白水平,但能有效抑制其核转位,从而抑制了其下游基因的表达。Lu等^[4]最近通过生物信息学的方法发现肿瘤细胞对青蒿素类化合物的敏感性与癌蛋白 cMYC的表达水平呈正相关。其活性代谢体二氢青蒿素还能通过增强 cMYC蛋白 58位磷酸化加速该蛋白的降解,从而可能贡献于其抗肿瘤活性。

3 展望

青蒿素类化合物具有明显的抗肿瘤活性,并且对正常组织细胞毒性低,与其他抗肿瘤药物联合化疗可增强抗肿瘤效果,具有广阔的开发前景。青蒿素类化合物与铁剂合用能更有效地杀伤肿瘤细胞,因此设计同时转运铁和青蒿素类化合物的策略有可能在增强作用效果的同时提高靶向性。总之,青蒿素类化合物抗肿瘤机制的深入研究能使我们更好地开发和利用该类化合物,造福人类。

参考文献:

- [1] Efferth T. Molecular pharmacology and pharmacogenomics of artemisinin and its derivatives in cancer cells[J]. *Curr Drug Targets* 2006, 7(4): 407-21.
- [2] Lu Y Y, Chen T S, Qu J L, et al. Dihydroartemisinin (DHA) induces caspase-3-dependent apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 cells[J]. *J Biomed Sci* 2009, 16(16): 1-15.
- [3] Lu J J, Meng L H, Cai Y J, et al. Dihydroartemisinin induces ap-

- apoptosis in HL-60 leukemic cells dependent of iron and p38 mitogen-activated protein kinase activation but independent of reactive oxygen species [J. Cancer Biol Ther 2008 7(7): 1017-23.
- [4] Lu JJ, Meng LH, Shankavaram U T, et al. Dihydroartemisinin accelerates c-MYC oncoprotein degradation and induces apoptosis in c-MYC-overexpressing tumor cells [J. Biochem Pharmacol 2010 80(1): 22-30.
- [5] Du JH, Zhang HD, Ma ZJ, Ji KM. Artesunate induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts in vivo [J. Cancer Chemother Pharmacol 2010 65(5): 895-902.
- [6] Chen H, Sun B, Pan S, et al. Dihydroartemisinin inhibits growth of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo [J. Anticancer Drugs 2009 20(2): 131-40.
- [7] Hou JM, Wang DS, Zhang RW, Wang H. 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): 5519-30.
- [8] Chen T, Li M, Zhang RW, Wang H. Dihydroartemisinin induces apoptosis and sensitizes human ovarian cancer cells to carboplatin therapy [J. J Cell Mol Med 2009 13(7): 1358-70.
- [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): 1045-56.
- [10] Mu D, Zhang W, Chu D, et al. The role of calcium p38 MAPK in dihydroartemisinin-induced apoptosis of lung cancer PC-14 cells [J. Cancer Chemother Pharmacol 2008 61(4): 639-45.
- [11] Michaelis M, Kleinschmidt M, Barth S, et al. Anticancer effects of artesunate in a panel of chemoresistant neuroblastoma cell lines [J. Biochem Pharmacol 2010 79(2): 130-6.
- [12] Lai H, Singh NP. Oral artemisinin prevents and delays the development of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced breast cancer in the rat [J. Cancer Lett 2006 231(1): 43-8.
- [13] Li LN, Zhang HD, Yuan SJ, et al. Artesunate attenuates the growth of human colorectal carcinoma and inhibits hyperactive Wnt/beta-catenin pathway [J. Int J Cancer 2007 121(6): 1360-5.
- [14] 张佳丽, 王 增, 庄蓓蓓, 周慧君. 二氢青蒿素联合环氧化酶2抑制剂抗 S180肉瘤作用机制研究 [J. 中国药理学通报, 2009 25(3): 308-12.
- [14] Zhang JL, Wang Z, Zhuang BB, Zhou HJ. Action mechanism of dihydroartemisinin combined with COX2 inhibitor in S180 carcinoma [J. Chin Pharmacol Bull 2009 25(3): 308-12.
- [15] Morrissey C, Gallis B, Solazzi JW, et al. Effect of artemisinin derivatives on apoptosis and cell cycle in prostate cancer cells [J. Anti-Cancer Drugs 2010 21(4): 423-32.
- [16] Efferth T, Oesch F. Oxidative stress response of tumor cells: microarray-based comparison between artemisinins and anthracyclines [J. Biochem Pharmacol 2004 68(1): 3-10.
- [17] Efferth T, Giesl M, Merzinger A, et al. Artesunate induces ROS-mediated apoptosis in doxorubicin-resistant T leukemia cells [J. PLoS One 2007 2(1): e93.
- [18] Mercer A E, Maggs JL, Sun X M, et al. Evidence for the involvement of carbon-centered radicals in the induction of apoptotic cell death by artemisinin compounds [J. J Biol Chem 2007 282(13): 9372-82.
- [19] He Q, Shi J, Shen X L, et al. Dihydroartemisinin upregulates death receptor 5 expression and cooperates with TRAIL to induce apoptosis in human prostate cancer cells [J. Cancer Biol Ther 2010 9(10): 814-20.
- [20] Keller G, Steinhilber D, Konkimalla VB, et al. Role of transferrin receptor and the ABC transporters ABCB6 and ABCB7 for resistance and differentiation of tumor cells towards artesunate [J. PLoS One 2007 2(8): e798.
- [21] Willoughby JA, Sundar SN, Cheung M, 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. J Biol Chem 2009 284(4): 2203-13.
- [22] Mu D, Chen W, Yu B, et al. Calcium and survivin are involved in the induction of apoptosis by dihydroartemisinin in human lung cancer SPC-A-1 cells [J. Methods Find Exp Clin Pharmacol 2007 29(1): 33-8.
- [23] Chen HH, Zhou HJ, Wang WQ, Wu GD. Antimalarial dihydroartemisinin also inhibits angiogenesis [J. Cancer Chemother Pharmacol 2004 53(5): 423-32.
- [24] Lee J, Zhou HJ, Wu XH. Dihydroartemisinin downregulates vascular endothelial growth factor expression and induces apoptosis in chronic myeloid leukemia K562 cells [J. Cancer Chemother Pharmacol 2006 57(2): 213-20.
- [25] Anfosso L, Efferth T, Albini A, Pfeffer U. Microarray expression profiles of angiogenesis-related genes predict tumor cell response to artemisinins [J. Pharmacogenomics J 2006 6(4): 269-78.

Progress in the research on the anti-cancer activity of artemisinin compounds

IU Jin-jian

(College of Life Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract Artemisinin compounds are widely used antimalarial drugs which also possess anti-cancer activities in various tumor cells and mouse models. It has been shown that artemisinin compounds exert their anti-cancer activity by inducing oxidative stress, cell cycle arrest, apoptosis and anti-angiogenesis activity

etc. Due to the low cytotoxicity and anti-multiple drug resistant activity, artemisinin compounds may be potentially developed for cancer therapy.

Key words artemisinin, oxidative stress, cell cycle arrest, apoptosis, anti-angiogenesis, anti-cancer