苦参碱在抗肿瘤治疗中的研究进展*

李琦^{1,2}综述,王玲玲²,徐佳²,尚晓泓²,王成彬^{1△}审校

(1. 解放军总医院临床检验科,北京 100853; 2. 中国中医科学院西苑医院检验科,北京 10091)

关键词:苦参碱; 抗肿瘤; 作用机制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.026

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)04-0500-03

苦参碱是由豆科植物苦参的干燥根、植株、果实经乙醇等有机溶剂提取制成的一种生物碱。其作为一种传统的中药成分,具有清热、利尿、杀虫、祛湿、抗病原微生物等多方面作用。近年来,随着医学事业的发展,其抗肿瘤作用日益受到人们的重视。本文就苦参碱抗肿瘤作用的最新进展及作用机制做相关论述。

1 抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭

近几年,苦参碱作为传统中药在抗肿瘤作用方面引起了人们的广泛关注,目前已有大量实验证明苦参碱对常见的多种系统肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭具有明显的抑制作用。

Li 等^[1] 研究结果显示当雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 和 PC3 经 6.0 g/L 的苦参碱处理 72 h 后,采用四甲基偶氮唑盐比色法(MTT 法)检测到对其的抑制率可达到 88%; 用 4.0 g/L 的苦参碱处理细胞 48 h 后,对其迁移与侵袭的抑制作用可接近 100%。由此表明苦参碱对细胞 DU145、PC3 的增殖、迁移和侵袭起到明显的抑制作用。

An 等^[2] 分别用 0.2、0.5、0.8 和 1.0 mg/mL 的苦参碱在体外处理非小细胞性肺癌 A549 细胞 48 h。与对照组比较发现 0.2 和 0.5 mg/mL 的苦参碱对细胞增殖的抑制作用不明显,而 0.8 和 1.0 mg/mL 的苦参碱可明显抑制细胞增殖,且相应的抑制率分别为 45.28% 和 52.68%,表明苦参碱以剂量依赖的方式抑制 A549 细胞的增殖。

Zhang 等^[3] 研究指出用不同浓度的苦参碱分别处理人结肠癌 Lovis 细胞 24、48、72 h 后,相应的 50% 抑制浓度(IC50) 分别为 1.150、0.738 和 0.414 mg/mL,证明当苦参碱作用于 Lovos 细胞时,以剂量和时间依赖的方式抑制其增殖。

2 干扰肿瘤细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡

细胞增殖的快慢是由完成一个细胞周期的时间长短决定的。整个细胞周期分为 G1、S、G2 和 M 期,而 G1 期则是整个细胞周期长短的关键。大量实验证明苦参碱对肿瘤细胞周期的影响主要体现在通过减少处于 S 期的细胞群及增加处于 G1 期的细胞群而完成的,并最终诱导肿瘤细胞凋亡。

向永佳等^[4] 用流式细胞仪检测氧化苦参碱(OMT)对人结肠癌细胞 SW620 细胞周期的影响,结果发现 OMT 作用于 SW620 细胞后,其 G1 期的细胞比例显著增高。由此推测,OMT 可能是通过阻滞 SW620 细胞从 G1 期向 S 期的进程,造

成细胞在 G1 期堆积阻滞并阻断细胞的 DNA 合成与复制,从而影响细胞周期。另外,该研究还发现经 OMT 作用后的 SW620 细胞内 CyclinD1 及 CDK4 蛋白表达水平显著降低,而 P16 蛋白水平升高,表明 OMT 可能是通过调控 CyclinD1、P16 和 CDK4 蛋白等细胞周期正负调节因子的表达水平来调控细胞周期的,从而诱导 SW620 细胞的凋亡。

Li 等^[1] 研究发现经苦参碱处理过的雄激素非依赖性前列腺肿瘤细胞 DU145 和 PC3 与对照组相比处于 S 期的细胞群比例明显降低,而处于 G1 前期的细胞群比例则明显升高,这说明苦参碱抑制了肿瘤细胞 DNA 的合成并降低了 DNA 的稳定性。进一步研究发现,细胞 DU145 和 PC3 经苦参碱处理后,凋亡的细胞群显著增加。由此可以证明苦参碱对细胞 DU145 和 PC3 中 DNA 的复制有抑制作用并最终诱导肿瘤细胞凋亡。

Zhou 等^[5] 将经不同浓度的苦参碱处理过的人类成神经管细胞瘤 D341 细胞作为实验组,通过 Annexin-VFITC/PI 双染色法对细胞凋亡情况进行检测,结果发现与对照组相比,实验组 D341 细胞中存在较多数量的空泡和凋亡小体,表明苦参碱可在一定程度上诱导 D341 细胞发生凋亡。

3 调节肿瘤相关基因与蛋白质的表达

随着高通量测序技术和蛋白质组学的发展,越来越多的研究表明苦参碱抗肿瘤细胞的作用机制可能是通过对肿瘤相关基因与蛋白质的表达进行调控完成的,并最终诱导肿瘤细胞凋亡,发挥其对肿瘤的抑制作用。

Zhou 等^[5] 检测经不同浓度苦参碱处理后的人类成神经管细胞瘤 D341 中 Bax、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Caspase 等癌基因的表达情况,结果表明 Bax 和 Caspase 等癌基因被激活的同时抑制了 Bcl-2 的表达,证明了苦参碱可以通过调节细胞 D341 中与凋亡相关的基因及蛋白质的表达水平而诱导细胞凋亡,从而发挥其抗肿瘤作用。Chang 等^[6] 研究表明苦参碱作用于人类胃癌细胞 HT29 后,可以诱导激活 Caspase-3 和 Caspase-9 的表达,并促进细胞色素 C 由线粒体释放到细胞质。此外,苦参碱也可通过上调促细胞凋亡因子 Bax 和下调 Bcl-2,导致 Bax 与 Bcl-2 的比例失衡,进而发挥其抗肿瘤作用。

Wang 等^[7] 研究表明苦参碱通过上调 P53 和 P21 等癌基因的表达来诱导人食管癌细胞 Eca-109 的凋亡。进一步研究

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472382)。

△ 通信作者,E-mail:wangcb301@126.com。

发现经苦参碱处理后,存在于人食管癌细胞 Eca-109 中的一些凋亡相关蛋白发生了改变:BCL-2/BID 的比例显著降低,而 Caspase-9 的活性显著增强,表明苦参碱通过线粒体介导的内部途径诱导细胞 Eca-109 的凋亡,而并不是通过死亡受体介导的外在凋亡途径发挥作用的。

4 干扰信号传导通路

信号转导通路指各种信号通过细胞膜进入细胞,逐步引起细胞内各种物质主要是蛋白质发生变化的过程,该过程是一个多酶级联反应过程,各条信号通路之间通过细胞间信号蛋白的相互作用组成高度有序的调控网络。近年来,大量实验数据表明苦参碱发挥抗肿瘤作用的机制与干扰信号传导通路有关。

Li 等^[1]用免疫印迹法对经过苦参碱处理后的雄激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 和 PC3 中 P65, p-P65, IKK α / β , p-IKK α / β , IKB α 和 p-IKB α 的水平进行检测,结果发现其表达均降低,表明苦参碱通过调节 NF- κ B 信号转导通路发挥对细胞 DU145 和 PC3 的抗肿瘤作用。

Shao 等^[8]研究发现经苦参碱处理后的视网膜母细胞瘤细胞内 Apaf-1、Caspase-3、Caspase-9、Caspase-7 和 Bax/Bcl-2 的水平均显著升高且呈剂量依赖性,该结果证明了苦参碱可能是通过影响 Caspase 依赖的信号传导通路而发挥其对视网膜母细胞瘤的抗肿瘤作用。

Ma 等^[9]用 RT-PCR 和蛋白质印迹法检测人类胰腺癌 HPAC 细胞中 MT1-MMP、Wnt 和 β -Catenin 的表达情况,并用芯片试验检测经苦参碱处理的 HPAC 细胞中 MT1-MMP 的转录活性,结果发现 MT1-MMP、Wnt 和 β -Catenin 的表达均明显降低,进一步分析 MT1-MMP 的转录活性发现,苦参碱通过影响 Wnt 信号转导通路抑制 MT1-MMP 的表达水平,从而发挥其抗肿瘤作用。

Xie 等^[10]用苦参碱的衍生物 14-噻吩亚甲基苦参碱 (YYJ18) 处理鼻咽癌 (NPC) CNE2 细胞株,采用荧光定量 RT-PCR 技术检测 PI3K/Akt 信号通路,结果发现 YYJ18 激活了信号调节蛋白 ERK1/2 和 Akt,并分别使处于 PI3K/Akt 信号通路下游的 Bax、Caspase-3 活化和 Bcl-2 灭活,证明 YYJ18 的抗细胞 CNE2 的作用与 PI3K/Akt 信号通路密切相关。

5 调节自噬与凋亡

自噬是一个吞噬自身细胞质蛋白或细胞器并使其包被进入囊泡,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物的过程。根据目前研究报告显示,苦参碱与自噬的关系较复杂,有的研究表明苦参碱对自噬有促进作用,但也有研究表明其抑制了自噬。

Xie 等^[11]发现苦参碱作用于鼠肝脏卵圆细胞系 WB-F344 后,其细胞内有关自噬的标志性检测物单丹磺酰戊二胺 (MDC) 和微管结合蛋白 LC3-II 的水平显著增加;同时抑制了 Bcl-2 的表达,促进了 Bax 的表达,导致 Bax/Bcl-2 的比例上调,这证明了苦参碱可同时激活细胞 WB-F344 的自噬与凋亡。

Yang 等^[12]在关于经苦参碱治疗后肝癌 (HCC) 细胞中自噬与凋亡的相互作用关系的研究中指出:苦参碱不仅可以激活半胱天冬酶和 ADP 核糖聚合酶 (PARP) 裂解,还可通过升高 LC3II、Beclin 1、PI3KC3 和降低 P62 的表达水平促进自噬;此

外,苦参碱还可促进 JNK-Bcl-2/Bcl-xL-Bax/Bak 信号转导通路。因此证明了苦参碱通过 Beclin 1 与该通路的相互作用对 HCC 细胞的自噬与凋亡进行调节。

Ma 等^[13]分别用 0.6、0.8、1.0 和 1.2 g/L 的苦参碱处理人骨肉瘤 MG-63 细胞 0、24、48 和 72h 后,用绿色荧光蛋白-微管相关蛋白 1 轻链 3 (GFP-LC3) 和荧光显微镜证实了苦参碱可诱导细胞 MG-63 发生自噬,且呈时间依赖性;通过流式细胞术证明当 1.1 g/L 的苦参碱处理细胞 MG-63 时,其以时间依赖的方式诱导细胞发生凋亡。该研究进一步用蛋白质印迹检测凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax、自噬相关蛋白 (LC3-II) 和细胞外信号调节激酶 (ERK) 的活性,结果发现 Bax、LC3-II 和 ERK 的表达被激活,而 Bcl-2 被抑制。以上结果均证明了苦参碱可同时诱导细胞 MG-63 发生自噬与凋亡。

6 逆转肿瘤耐药性

多药耐药性 (MDR) 是指肿瘤细胞对一种化疗药物产生耐药性的同时,对其他结构和功能完全不同的多种化疗药物产生交叉耐药性的现象,这是造成肿瘤化疗失败的重要原因之一。因此,逆转肿瘤耐药性在抗肿瘤过程中有非常重要的意义。

王炜等^[14]采用 MTT 比色法检测人肝癌耐药细胞株 HepG2/ADM 的多药耐药性及苦参碱干预前后耐药细胞株药敏性的变化。结果发现:苦参碱作用前后,阿霉素 (ADM)、顺铂 (CDDP) 和 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 对 HepG2/ADM 细胞株的 IC₅₀ 分别为 11.56、3.14、18.08、6.41、34.83、17.17 mg/L;相应的耐药指数分别为 27.52、5.50 和 4.39;逆转倍数分别约为 3.68、2.82 和 2.03 倍。此外,用流式细胞术对苦参碱作用前后 HepG2/ADM 细胞膜表面 P 糖蛋白 (P-gp) 的表达水平进行检测,结果发现 0.5 mg/mL 的苦参碱作用于 HepG2/ADM 耐药细胞株 48 h 后,与阴性对照组比较,其细胞膜表面 P-gp 的表达下调,但仍高于 HepG2 非耐药细胞组。该研究表明苦参碱在体外可部分逆转 HepG2/ADM 的 MDR,且其作用机制可能与降低 P-gp 的表达有关。

Luo 等^[15]用 MTT 试验测得 100 μ mol/L 的苦参碱对非小细胞性肺癌 NCI-H520/TAX25 细胞株没有细胞毒性,因此用 100 μ mol/L 的苦参碱对 NCI-H520/TAX25 细胞株进行处理,结果发现,苦参碱对 NCI-H520/TAX25 细胞株的 IC₅₀ 由 43.56 nmol/L 降低为 25.0 nmol/L,逆转倍数约为 1.74 倍。表明了苦参碱在一定程度上可有效逆转 NCI-H520/TAX25 细胞耐药性。

7 联合用药并提高化疗药物敏感性

有研究表明,苦参碱不但可以逆转部分化疗药物的肿瘤耐药性,其与部分化疗药物联合用药还可以提高化疗药物敏感性,在一定程度上达到增强治疗效果的目的。Lin 等^[16]研究表明当苦参碱和索拉非尼联合应用于肝癌细胞株 HepG2 和 Hep3B 时,可明显增强索拉非尼对肿瘤细胞增殖的抑制作用,且表现为剂量依赖形式,其作用机制可能与调节 miRNA-21 和同源磷酸酶-张力蛋白的表达水平有关。Wu 等^[17]研究发现 0.1 mmol/L 苦参碱和 1.0 μ mol/L 全反式维甲酸联合应用于急性白血病细胞 NB4-LR1 后,可增强细胞 NB4-LR1 对维甲酸的敏感性。这可能与苦参碱增强环腺苷酸和蛋白激酶的表达,

减小端粒酶的活性并下调拓扑异构酶 II 的表达水平有关。以上研究结果均表明苦参碱联合其他化疗药物在抗肿瘤治疗中可起到协同作用,并提高其他化疗药物的敏感度。

8 小 结

目前国内外研究大多证实苦参碱对肿瘤具有广泛而确切的作用,其作用机制可能与抑制肿瘤细胞 DNA 的合成、干扰肿瘤细胞周期、调节肿瘤相关基因和蛋白质的表达、干扰信号传导通路等方面有关。另外,苦参碱还可调节肿瘤细胞自噬与凋亡、逆转肿瘤细胞耐药性及增强化疗药物敏感性,这可能与促进自噬相关标志物的表达和抑制 MDR 相关蛋白及 mRNA 的表达有关。

虽然苦参碱已被证实具有明显的抗肿瘤作用,但目前有关苦参碱抗肿瘤作用及其作用机制的研究仍处于初步阶段,且大多局限于体外肿瘤细胞及动物模型的研究^[8,12],因此其在人体内作用效果还需要大量临床研究的支撑。此外,虽然中医药用于抗肿瘤治疗普遍具有副作用较小的优点,但目前研究表明苦参碱在抗肿瘤治疗中往往需要较高水平及较长的作用时间^[18],且目前临床尚缺乏有关其引起的不良反应等方面的全面探讨,因此,还需要进一步对其进行用药安全性评估。

总之,随着对苦参碱抗肿瘤作用分子机制研究的不断深入,随着对苦参碱临床性研究和安全性评估的不断深入,其在抗肿瘤方面的应用将进一步引起重视,苦参碱将成为一种极有发展前景的抗肿瘤药物。

参考文献

- [1] Li Q, Lai Y, Wang C, et al. Matrine inhibits the proliferation, invasion and migration of castration-resistant prostate cancer cells through regulation of the NF-kappaB signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 375-381.
- [2] An Q, Han C, Zhou Y, et al. Matrine induces cell cycle arrest and apoptosis with recovery of the expression of miR-126 in the A549 non-small cell lung cancer cell line[J]. *Molecular Med Rep*, 2016, 14(5): 4042-4048.
- [3] Zhang S, Cheng B, Li H, et al. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of human colon cancer LoVo cells by inactivating Akt pathway[J]. *Molecular Bio Rep*, 2014, 41(4): 2101-2108.
- [4] 向永佳. 氧化苦参碱诱导人结肠癌 SW620 细胞周期阻滞的作用机制研究[J]. *中国药业*, 2015, 20(1): 17-18.
- [5] Zhou K, Ji H, Mao T, et al. Effects of matrine on the proliferation and apoptosis of human medulloblastoma cell line D341[J]. *Inter J Clin*, 2014, 7(4): 911-918.
- [6] Chang C, Liu SP, Fang CH, et al. Effects of matrine on the proliferation of HT29 human colon cancer cells and its antitumor mechanism[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3): 699-704.
- [7] Wang Q, Du H, Geng G, et al. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis via BID-mediated mitochondrial pathway in esophageal cancer cells[J]. *Molecular Bio Rep*, 2014, 41(5): 3009-3020.
- [8] Shao Q, Zhao X, Yao L. Matrine inhibits the growth of retinoblastoma cells (SO-Rb50) by decreasing proliferation and inducing apoptosis in a mitochondrial pathway[J]. *Molecular Bio Rep* 2014, 41(5): 3475-3480.
- [9] Ma Y, Zou F, Xiong J, et al. Effect of Matrine on HPAC cell migration by down-regulating the expression of MT1-MMP via Wnt signaling[J]. *Cancer cell Inter*, 2015, 15(1): 59.
- [10] Xie M, Yi X, Wang R, et al. 14-Thienyl methylene matrine (YYJ18), the derivative from matrine, induces apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma cells by targeting MAPK and PI3K/Akt pathways in vitro[J]. *Cellular Phy Bio*, 2014, 33(5): 1475-1483.
- [11] Xie B, He X, Ai Z, et al. Involvement of beta-catenin in matrine-induced autophagy and apoptosis in WB-F344 cells[J]. *Molecular Med Rep*, 2014, 9(6): 2547-2553.
- [12] Yang J, Yao S. JNK-Bcl-2/Bcl-xL-Bax/Bak Pathway Mediates the Crosstalk between Matrine-Induced Autophagy and Apoptosis via Interplay with Beclin 1[J]. *Inter J Molecular*, 2015, 16(10): 25744-25758.
- [13] Ma K, Huang MY, Guo YX, et al. Matrine-induced autophagy counteracts cell apoptosis via the ERK signaling pathway in osteosarcoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(3): 1854-1860.
- [14] 王炜. 苦参素逆转人肝癌细胞株 HepG2/ADM 多药耐药的实验研究[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 32(10): 1409-1416.
- [15] Luo SX, Deng WY, Wang XF, et al. Molecular mechanism of indirubin-3'-monoxime and Matrine in the reversal of paclitaxel resistance in NCI-H520/TAX25 cell line[J]. *Chinese Med J*. 2013, 126(5): 925-929.
- [16] Lin Y, Lin L, Jin Y, et al. Combination of matrine and sorafenib decreases the aggressive phenotypes of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Chemotherapy*, 2014, 60(2): 112-118.
- [17] Wu D, Shao K, Sun J, et al. Matrine cooperates with all-trans retinoic acid on differentiation induction of all-trans retinoic acid-resistant acute promyelocytic leukemia cells (NB4-LR1); possible mechanisms[J]. *Planta Med*, 2014, 80(5): 399-408.
- [18] Yong J, Wu X, Lu C. Anticancer Advances of Matrine and Its Derivatives[J]. *Current Pharm Design*, 2015, 21(25): 3673-3680.