

葫芦素类化合物的抑瘤作用及其作用机制和联合用药研究进展[△]

王文雪^{1,2,3,4*}, 牟艳玲^{2,3,4}, 姚庆强^{2,3,4#} (1. 济南大学/山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250200; 2. 山东省医学科学院药物研究所, 济南 250062; 3. 卫生部生物技术药物重点实验室, 济南 250062; 4. 山东省罕见病重点实验室, 济南 250062)

中图分类号 R961;R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)19-2712-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.19.33

摘要 目的: 为发现新的抑瘤靶点、完善葫芦烷型四环三萜类化合物的构效关系以及开发四环三萜类抗肿瘤新药提供参考。方法: 以“葫芦素”“肿瘤”“Cucurbitacin”“Tumour”等为关键词, 组合查询2005—2016年在PubMed、Wiley-Blackwell、EBSCO、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献, 对葫芦素类化合物中抑瘤效果最明显的葫芦素B、D、E、I及雪胆甲素的抑瘤作用及其作用机制和联合用药进行综述。结果与结论: 共检索到相关文献237篇, 其中有效文献47篇。葫芦素是从葫芦科植物中分离出的葫芦烷型四环三萜类化合物, 其对乳腺癌、肺癌、结肠癌等抑瘤效果显著, 可通过诱导细胞凋亡、诱导细胞自噬、阻滞细胞周期、抑制肿瘤转移、破坏细胞骨架以及调节细胞内的信号转导子与转录激活子3、丝裂原激活的蛋白激酶等信号通路来发挥抑瘤作用。葫芦素类药物无论是与临床上使用的药物联合还是自身联合应用, 均有较好的协同作用; 此外, 葫芦素类药物还能提高放疗的敏感性, 逆转卵巢癌紫杉醇耐药细胞的多药耐药。目前, 关于葫芦素的抗肿瘤研究虽然很多, 但大多集中于体外研究, 体内研究较少且未见临床应用。今后对含量丰富的葫芦素类化合物开展抑瘤研究的同时, 也应对其其他的葫芦素及衍生物进行研究对比。

关键词 葫芦素; 四环三萜类化合物; 抗肿瘤药; STAT3 转录因子; 肌动蛋白

近年来, 癌症已成为人类最大致死原因, 我国癌症的发病率和病死率也在逐年增加^[1]。葫芦素是从葫芦科植物中分离出的葫芦烷型四环三萜类化合物, 该类化合物在结构上高度氧化, 目前已经分离出了200多种葫芦素及其衍生物^[2-3]。现代药理研究表明, 葫芦素具有抗肿瘤、抗菌消炎、抗人类免疫缺陷病毒(HIV)、保肝、提高机体免疫力等药理活性。笔者总结了具有抗肿瘤活性的葫芦素类化合物结构母核及结构式, 见图1、表1^[4-10]。笔者以“葫芦素”“肿瘤”“Cucurbitacin”“Tumour”等为关键词, 组合查询2005—2016年在PubMed、Wiley-Blackwell、EBSCO、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献。结果, 共检索到相关文献237篇, 其中有效文献47篇。现对葫芦素类化合物中抑瘤效果最明显的葫芦素B(CuB)、葫芦素D(CuD)、葫芦素E(CuE)、葫芦素I(CuI)、雪胆甲素(Cu II a)的抑瘤作用及其作用机制和联合用药进行综述, 以期发现新的抑瘤靶点、完善葫芦烷型四环三萜类化合物的构效关系以及开发四环三萜类抗肿瘤新药提供参考。

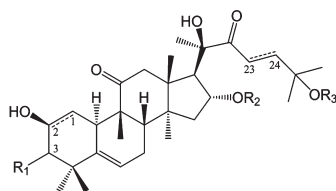


图1 葫芦素类化合物结构母核

[△] 基金项目: 山东省自主创新及成果转化专项项目(No.2014ZZCX02105)

* 硕士研究生。研究方向: 天然药物化学。电话: 0531-82919960。E-mail: 407785182@qq.com

通信作者: 研究员, 硕士生导师, 博士。研究方向: 天然药物化学。电话: 0531-82919960。E-mail: yao_imm@163.com

表1 具有抗肿瘤活性的葫芦素类化合物结构式

葫芦素类化合物	R ₁	R ₂	R ₃	双键 $\Delta^{13,14}$	双键 $\Delta^{23,24}$	参考文献
CuB	=O	H	Ac	-	+	[5]
CuD	=O	H	H	-	+	[6]
CuE	=O	H	Ac	+	+	[7]
CuI	=O	H	H	+	+	[8]
Cu II a	OH	H	Ac	-	-	[9]
葫芦素L(CuL)	=O	H	H	+	-	[4]
16,25-二乙酰基葫芦素F	OH	Ac	Ac	-	+	[10]

1 CuB

CuB是葫芦素家族中含量最丰富的成员, 对乳腺癌^[11]、结肠癌^[12]、喉癌^[13]、肺癌^[14]、黑色素瘤^[15]、胰腺癌^[16]、前列腺癌^[17]等肿瘤细胞的增殖均有抑制作用, 主要通过影响细胞信号转导通路、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、破坏细胞骨架来发挥抗肿瘤活性。

1.1 CuB对细胞信号转导通路的影响

CuB影响细胞信号转导通路的研究多集中在信号转导子与转录激活子3(STAT3)和丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)信号转导通路。但近几年也有报道指出, 葫芦素抑瘤作用与STAT3无必然联系。更值得关注的是, CuB对细胞形态及其他信号通路的影响早于STAT3信号通路的变化^[18]。

1.1.1 STAT3信号转导通路 STAT3是一种致癌基因转录因子, 通过与其他转录因子如 β -连环素、缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)、核因子 κ B(NF- κ B)和原癌基因c-myc、c-jun等相互作用控制基因的表达, 而且STAT3参与细胞死亡一般认为与细胞凋亡有关。阻断STAT3信号通路中显性失活的STAT3突变体或反义STAT3, 可抑制与细胞凋亡相关的靶基因的表达, 例如抗凋亡蛋白Bcl-xL、原癌基因c-myc、细胞周期蛋白Cyclin D1等。Zhang M

等^[19]对 CuB 进行了研究,发现 CuB 能阻滞人肺癌细胞 A549 于 G₂/M 期,显著抑制细胞增殖,并下调 Bcl-2 蛋白的表达,通过 STAT3 信号通路诱导人肺癌细胞 A549 凋亡。Zheng Q 等^[20]研究 CuB 对人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 的抑瘤作用中发现,CuB 不仅阻滞细胞于 G₂/M 期,而且可下调磷酸化蛋白酪氨酸激酶 2(JAK2)、磷酸化 STAT3 的表达,诱导细胞凋亡。然而,也有报道指出,抑制 STAT3 的活化并不是 CuB 抑瘤的机制。Yasuda S 等^[12]在给予 CuB 24 h 后检测人结肠癌细胞 SW480 的周期分布时发现,G₂/M 期的细胞比例显著提高,细胞周期蛋白 Cyclin B1 和 Cdc25C 蛋白水平显著下调,抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL 并没有明显变化,提示在人结肠癌细胞 SW480 中 CuB 并不能促进 STAT3 脱磷酸化而发挥诱导细胞凋亡作用;另外,该研究还发现人结肠癌细胞 SW480 内活性氧(ROS)含量升高,并以 ROS 依赖的方式诱导细胞凋亡。Zhang T 等^[21]在研究葫芦素化合物引发细胞死亡的作用机制中发现,葫芦素化合物 CuB、CuD 及 CuI 可过度促进细胞自噬标记蛋白 LC3 由可溶形式转变为脂溶形式,也可促进自噬体在多种细胞中积累;同时,还发现由葫芦素引起的细胞自噬及死亡与抑制 STAT3 无关,与线粒体释放的 ROS 升高有关。可见,CuB 对 STAT3 信号通路的抑制存在争议,这可能与肿瘤细胞种类及给药浓度等有关,不能同一而论。

1.1.2 MAPK 信号转导通路 MAPK 在细胞增殖、分化和凋亡等过程中均起着十分重要的作用。在哺乳类动物细胞中,与细胞外信号调节激酶(ERK)相关的细胞内信号转导途径被认为是经典的 MAPK 信号转导途径。CuB 抑制人胶质瘤细胞 SH-SY5Y ERK1/2 磷酸化,促进 c-jun 氨基末端激酶(JNK)及丝裂原活化蛋白激酶 p38(p38 MAPK)磷酸化^[20],并能在短时间内显著抑制人白血病细胞 K562 中 c-Raf 激酶、ERK1/2 和丝裂原活化蛋白的磷酸化,该影响早于对 STAT3 信号通路的抑制^[18]。然而,CuB 并非能抑制所有肿瘤细胞 ERK1/2 的磷酸化。用 CuB 处理人肝癌细胞 BEL-7402 发现,CuB 抑制 c-Raf 激酶激活的同时可促进 ERK1/2 的磷酸化^[22],这种现象的产生可能与信号通路之间的交联有关。此外,Zhang T 等^[21]也发现 CuB、CuD 及 CuI 可激活 ERK 和 JNK 的磷酸化,促进细胞自噬,平衡调节细胞自噬和细胞凋亡的水平,可更高效地促进细胞死亡。可见,由于细胞内信号转导通路之间的交联及不同种类的细胞分子水平表达的差异,导致 CuB 对 MAPK 信号转导通路的影响很复杂,仍需进一步的研究。

1.1.3 其他作用靶点 除上述两条研究较多的信号通路外,也发现了新的作用靶点。Gao Y 等^[17]体外研究发现,CuB 低浓度下就能显著抑制前列腺癌细胞的生长,同时激活细胞凋亡蛋白酶 Caspase-3、Caspase-7,增加二磷酸腺苷核糖聚合酶(PARP)的剪切激活,阻滞细胞于

G₀/G₁期,显著诱导细胞凋亡;体内研究发现,CuB 能显著降低体内肿瘤形成的速率,且三磷酸腺苷柠檬酸裂解酶(ACLY)为 CuB 的体内外作用的靶点,CuB 呈剂量依赖性地抑制 ACLY 的磷酸化。BRCA1 蛋白是一个与遗传性乳腺癌和卵巢癌相关的肿瘤抑制因子。Promkan M 等^[23]用 CuB 给药处理 4 种乳腺癌细胞并分析抑癌基因 p21、p27 和存活蛋白的表达,发现 CuB 能明显抑制 BRCA1 突变组和 BRCA1 敲除组乳腺癌细胞的增殖和转移,促进 p21^{Waf1} 和 p27^{Kip1} 的表达,抑制存活蛋白的表达,提示存活蛋白可能是 CuB 抑制 BRCA1 缺失的乳腺癌细胞增殖的重要作用靶点。Shang Y 等^[24]在研究 CuB 对神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 的抑制作用时发现,抑癌基因 p21 及 p27 的表达显著增加,细胞周期蛋白 Cyclin D1 及 Cyclin E 的表达显著降低($P < 0.01$);随后的分子水平研究发现,NF- κ B、一磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMPK)和 p38 信号通路均不是 CuB 发挥抑制神经母细胞瘤作用的通路,蛋白激酶 B(Akt)的过度表达会减弱 CuB 体外对神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 增殖的抑制作用,表明 CuB 是通过上调抑癌基因 PTEN 的表达,抑制 Akt 信号通路的激活来发挥抗神经母细胞瘤作用。

1.2 CuB 对细胞骨架的影响

肌动蛋白微丝的主要生物学功能是构成细胞骨架,其对细胞形态的维持具有重要意义。构成微丝的主要成分为肌动蛋白和肌动蛋白结合蛋白。在完成对细胞形态的维持、运动、分裂等各种功能时,肌动蛋白需要通过多种方式锚定在质膜上,与质膜蛋白如整合素发生连接。Gupta P 等^[11]经体外试验研究发现,CuB 能抑制多种乳腺癌细胞的生长,主要通过显著抑制整合素 A6、整合素 B4 的表达及诱导整合素 B1、整合素 B3 的表达来发挥作用。虽然已有众多研究表明葫芦素类药物破坏了肌动蛋白的聚合/解聚动力学平衡,诱导肌动蛋白的异常聚集,从而引起细胞形态的迅速改变,但具体是影响了哪些肌动蛋白调控因子,现在还没有统一的认识。Zhang Y 等^[15]研究显示,小鼠黑色素瘤细胞 B16F10 经 CuB 处理后能快速引起细胞膜出泡和变形,阻滞细胞于 G₂/M 期,并促使多倍体细胞的形成;此外,球形肌动蛋白(G-actin)迅速殆尽,肌动蛋白快速聚集。降低 ROS 的含量,能显著减少 G-actin 的损耗,同时抑制 CuB 的抗肿瘤活性,推测 CuB 通过 ROS 依赖的方式诱导 G-actin 迅速殆尽从而发挥抗黑色素瘤的效果。Kausar H 等^[14]对 4 种非小细胞肺癌细胞进行体外研究时发现,CuB 能显著改变细胞骨架肌动蛋白聚集,阻滞细胞于 G₂/M 期,并调节线粒体凋亡途径中的几个关键的分子靶点促进细胞凋亡;进一步研究发现,CuB 通过 p38 MAPK/热休克蛋白 27 信号通路诱发细胞形态变化及骨架重塑,并非由三磷酸鸟苷蛋白酶和 ROS 的表达变化引起。

以上研究表明,CuB 对各种癌细胞形态的影响是快

速而显著的,但影响细胞骨架肌动蛋白的方式因细胞而异。鉴于目前对CuB影响的肌动蛋白调控因子尚不明确,将肌动蛋白细胞骨架作为靶标依然是葫芦素化合物抑瘤研究的热点。

2 CuD

CuD对肺癌、结肠癌、前列腺癌及乳腺癌等肿瘤细胞具有显著的细胞毒活性,其抗癌机制包括诱导细胞凋亡及阻滞细胞周期等。

Kim SR等^[25]研究瓜蒌乙醚提取物及CuD抑制乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖及诱导细胞凋亡时发现,两者均可通过抑制STAT3磷酸化,引起细胞凋亡及G₂/M期细胞阻滞。Ishii T等^[26]体外研究多个浓度的CuD对多种人子宫内皮及卵巢癌细胞的影响时发现,CuD能促进细胞凋亡蛋白酶Caspase-3、Caspase-9的剪切激活,增加PARP的分裂和p21^{Waf1}、p27^{Kip1}的表达,减少Cyclin A及Cyclin B的聚集。此外,Spear SA等^[27]用CuD处理2型神经纤维瘤细胞Sch10545和人脑膜瘤细胞Ben-Men-1时发现,CuD通过抑制结合蛋白PRAS40和Akt的磷酸化状态发挥凋亡前分子效应,同时降低Cyclin A、Cyclin B和Cyclin E的表达。因此,CuD也被认为是治疗2型神经纤维瘤及脑膜瘤的候选药物。

以上研究表明,CuD与CuB在抑瘤方面有很多相似之处,它也能通过抑制STAT3信号通路诱导多种肿瘤细胞的凋亡。但CuD在抑瘤方面的研究明显少于CuB,可能与其在天然药物中的含量稍低有关。

3 CuE

CuE在葫芦素家族中的含量丰富,在早期研究中发现,CuE具有调节免疫、抗炎及保护神经等药理活性,最近几年对CuE的研究集中在抗肿瘤活性方向。CuE抗肿瘤机制包括诱导细胞凋亡^[28]、引发细胞自噬^[29]、破坏细胞骨架^[30]、阻滞细胞周期^[28]等。

除CuB之外,CuE是另外一个在细胞骨架方面研究较多的葫芦素化合物。整体上,CuE也是通过影响细胞骨架肌动蛋白调控因子、打破肌动蛋白聚合/去聚合状态的平衡,来诱发肌动蛋白的异常聚集。Zhang T等^[30]在研究CuE对乳腺癌转移的影响时发现,腹腔注射CuE能明显抑制乳腺肿瘤转移至肺;进一步研究发现,CuE能损坏肌动蛋白相关蛋白2/3复合物依赖性的肌动蛋白聚集,并经肉瘤/局部黏着斑激酶/Ras相关的C3肉毒素底物1/基质金属蛋白酶通路抑制乳腺癌转移。Cofilin是常见的一种肌动蛋白结合蛋白,能在细胞内结合和解聚纤维状肌动蛋白(F-actin),同时介导细胞内的信号通路,调节肌动蛋白骨架的重组,对维持细胞形态有重要意义。LIM激酶是一类具有丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸双重活性的激酶。LIM激酶作为Cofilin的上游信号分子,可调控Cofilin自身N末端第3位点丝氨酸(Ser3)的磷酸化状态,LIM激酶磷酸化后被激活,而后引起Cofilin的

Ser3磷酸化而失活,提高F-actin的稳定性。李丽等^[31]研究CuE对人结肠癌细胞Caco-2增殖与迁移的影响时发现,CuE可能通过抑制LIM激酶/Cofilin信号通路而损害细胞骨架肌动蛋白,从而导致人结肠癌细胞Caco-2的增殖与迁移受到抑制。

除破坏细胞骨架外,Ma G等^[32]研究CuE对肺癌细胞95D的抗癌效果时发现,CuE能降低细胞的生存能力,抑制集落形成,同时以浓度依赖性的方式增加ROS水平,该水平可由抗氧化剂N-乙酰-L-半胱氨酸逆转;CuE通过影响Bcl-2和Caspase的表达诱导ROS依赖性的细胞凋亡,而且能诱导防护性的细胞自噬,由经Akt/哺乳动物雷帕霉素靶点(mTOR)信号通路的ROS水平调节,在细胞凋亡和自噬间达到一种动态平衡。在人类膀胱癌及乳腺癌细胞中观察到CuE将细胞周期阻滞于G₂/M期,同时检测到p27、p21、p53的表达显著升高,STAT3、CDK1、Cyclin B的表达降低^[33-34]。此外,CuE抑制Cyclin B1/CDC2复合体的形成,诱导GADD45在结肠直肠癌及神经胶质瘤细胞中的表达,提示CuE抑制有丝分裂的进程可能是由GADD45基因家族的超表达所调控^[35-36]。

以上研究表明,CuE发挥抑瘤作用所涉及的信号通路也非常广泛,同时对细胞骨架肌动蛋白的破坏也是快速而显著的。综合CuE与CuB的抑瘤情况及结构差异,可推测葫芦烷型四环三萜结构母核中 $\Delta^{1,2}$ 双键并不是抗肿瘤活性所必需,但该双键是否与抑瘤强度相关还未知,仍需进一步的研究对比。

4 CuI

CuI可从多种植物中分离得到,多项研究证明CuI也具有较好的抗肿瘤效果。CuI抗肿瘤机制包括阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、引发细胞自噬及抑制癌细胞转移等。

Kim HJ等^[8]将CuI作用于人结肠癌细胞SW480,发现CuI呈浓度依赖性地降低细胞活力、抑制细胞增殖,同时CuI还能降低细胞周期蛋白Cyclin B1、Cyclin A、CDK1、Cdc25C的表达,阻滞细胞于G₂/M期,促进细胞凋亡蛋白酶Caspase-3、Caspase-7、Caspase-8、Caspase-9和PARP的剪切激活,加强细胞凋亡的发生。Chang CJ等^[37]研究发现,CuI作用于头颈部鳞状细胞癌细胞,能有效抑制STAT3通路,抑制抗凋亡基因Bcl-2和存活蛋白的表达。除上述促进细胞凋亡发挥抑瘤效果外,CuI还可诱导细胞自噬。Yuan G等^[38]从体内、体外两个方面研究CuI对恶性胶质瘤的抑瘤效果,发现CuI经AMPK/mTOR/人p70核糖体蛋白S6激酶(p70S6K)通路诱导胶质瘤细胞的自噬,并不经磷酸肌醇3激酶(PI3K)/Akt通路;同时CuI可降低HIF-1 α 的表达,减少Bcl-2和自噬基因Beclin1/PI3K家族III联合,引发自噬。除上述通路的研究外,有报道指出CuI也可导致细胞骨架肌动蛋白的改变,从而发挥抑瘤效果,与JAK2/STAT3信号通路无

关^[39]。另外, Lopez-Haber C等^[40]发现, CuI能抑制乳腺癌细胞中信号转导分子Ras相关的C3肉毒素底物1的激活,且不依赖于JAK2的表达,由ROS的水平调节Rho和Rac之间的平衡,从而抑制癌细胞的转移。

可见, CuI能抑制多种肿瘤细胞的增殖,对JAK2/STAT3信号通路抑制方面也存在争议。CuI与CuE的结构非常相似,对比两者抑瘤方面的研究,推测葫芦烷型四环三萜结构母核中25位碳上的乙酰基也不是抗肿瘤活性所必需。

5 Cu II a

Cu II a是雪胆属植物的主要活性成分,最早用于治疗杆菌痢疾和肠胃炎^[9]。随着人们研究的不断深入发现, Cu II a不仅具有清热解毒、抗菌消炎、抗HIV及健胃止疼等功效,还具有抗肿瘤活性。

高申等^[41]对人肺癌细胞A549及小鼠原代培养的脾细胞给予不同浓度的Cu II a,观察了Cu II a对人肺癌细胞A549增殖抑制和诱导凋亡的作用。MTT结果显示, Cu II a对人肺癌细胞A549和脾细胞的增殖抑制作用呈浓度依赖性,且随浓度的增大, Cu II a对人肺癌细胞A549增殖的抑制作用显著高于脾细胞,说明Cu II a抑制细胞增殖有一定的倾向性;流式细胞仪检测结果表明,随着Cu II a浓度升高,处于G₂/M期细胞的比例逐渐下降,并随时间延长,细胞凋亡率逐渐升高,推测阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡是Cu II a抑制人肺癌细胞A549增殖的机制之一。Boykin C等^[42]研究发现, Cu II a可诱导F-actin不可逆聚集,阻滞细胞周期于G₂/M期。此外, Cu II a能降低磷酸化组蛋白H3的表达,显著增加PARP的分裂,因此丧失DNA修复功能,诱导细胞发生凋亡。该研究还发现, Cu II a并不能抑制JAK2/STAT3磷酸化,也不能改变促细胞分裂相关的蛋白激酶磷酸化状态,但可降低与细胞周期调节相关的细胞凋亡蛋白抑制剂(IAP)存活蛋白的表达。因此, Cu II a的抗癌机制可能是通过破坏肌动蛋白细胞骨架抑制癌细胞扩散,同时通过抑制下游存活蛋白的表达,促使细胞发生PARP介导下的细胞凋亡。

与高度氧化的葫芦素类化合物比较, Cu II a结构中不含 $\Delta^{23,24}$ 双键及3位羰基,并且其在抗肿瘤方面的报道较少,但上述研究中所发现的其对细胞骨架肌动蛋白的破坏与CuB在这方面的报道有很大的相似性。因此,可通过CuB的已知报道为Cu II a的进一步研究提供思路。

6 其他葫芦素

Abdelwahab SI等^[43]报道了葫芦素L 2-O- β -D-葡萄糖苷(CLG)的抗肿瘤活性。结果提示, CLG对人结肠癌细胞HT-29的促凋亡作用有一定的选择性,推测CLG促凋亡的机制是对细胞内活性氮和ROS的抑制,基于研究,将CLG的抗炎和抗氧化活性视为预防结肠癌发生的重要特性。此外, Li Y等^[10]从金佛山雪胆中分离出了

16,25-二乙酰基葫芦素F等5种新的化合物,并分别进行了人肺腺癌细胞H460、人结肠癌细胞SW620、人前列腺癌细胞DU145的细胞毒试验,其中16,25-乙酰基葫芦素F对3种细胞的半数抑制浓度分别为0.046、0.18、0.87 μ g/mL。可见,该化合物有较强的细胞毒活性,且该化合物结构与CuB有较大的相似性,在后期研究中若对比CuB、Cu II a进行抗肿瘤研究,有望明确3位羰基及16位碳上乙酰基的构效关系。

7 联合用药

葫芦素类化合物不仅在单一用药方面表现出良好的抗肿瘤活性,而且在药物联合应用方面也发挥了很好的协同作用。CuB与吉西他滨、多西他赛、甲氨蝶呤、顺铂等联合用于治疗胰腺癌、骨肉瘤、喉癌等肿瘤,能提高单一药物的抗肿瘤增殖作用^[13,44]。Liu T等^[13]体外研究发现,与单一用药及溶剂对照组比较, CuB与顺铂联合用于治疗喉癌能更显著地降低磷酸化STAT3、细胞周期蛋白Cyclin B1和抗凋亡蛋白Bcl-2的表达水平,增强细胞凋亡的发生;另外,体内研究发现,联合用药组对小鼠移植瘤的抑制作用更明显,具有统计学意义($P < 0.01$)。Lan T等^[45]在研究CuE对化疗药物的影响时发现,低剂量的CuE可进一步加强顺铂对乳腺癌细胞的抑制作用,但高剂量的CuE并没有这样的效果,提示在药物的联合应用研究中,必须考察剂量因素。

葫芦素类药物不仅可与临床上使用的药物联合应用发挥抗肿瘤协同作用,还可自身联合增强抗肿瘤作用。Tannin-Spitz T等^[45]研究发现,与单一用药比较, CuB和CuE糖苷联合应用可明显阻滞人乳腺癌细胞于G₂/M期,并引起纤维组织的损伤,诱导细胞凋亡。

联合用药除了能提高单一药物的抗肿瘤增殖作用外,还可提高放射治疗的敏感性,逆转卵巢癌紫杉醇耐药细胞的多药耐药。Chang CJ等^[37]以CuI作为STAT3信号通路的抑制剂,处理成神经管细胞瘤(MB)派生的CD133阳性细胞,发现CuI可改善其对MB放疗的敏感性。Duangmano S等^[46]研究发现, CuB可改善人乳腺癌细胞MDA-MB-231和MCF7的放疗敏感性,但是对人乳腺癌细胞SKBR-3的放疗增敏不明显;并通过流式细胞术检测发现CuB仅将人乳腺癌细胞MDA-MB-231和MCF7阻滞于G₂/M期,提示将细胞周期阻滞于G₂/M期可能是葫芦素对某些乳腺癌细胞放疗增敏的重要机制。曲迎春^[47]研究发现, CuB对卵巢癌紫杉醇耐药细胞的多药耐药有逆转作用,提示CuB可作为紫杉醇的互补药物。

8 结语

葫芦素类化合物对癌细胞的抑制作用是广泛的,并不局限于一种癌细胞,其通过诱导细胞凋亡、诱导自噬、阻滞细胞周期、抑制肿瘤转移、破坏细胞骨架等多种途径发挥抑癌作用;同时,葫芦素也调节细胞内的多条信

号通路。鉴于葫芦素类化合物对 STAT3 信号通路的影响晚于细胞形态和其他一些信号通路的变化,推测其抗肿瘤活性可能涉及更为上游的靶点,且大多葫芦素类化合物能破坏细胞骨架,显著引起细胞形态的改变,通过相应的因子将细胞周期阻滞在 G₂/M 期。考虑到已知的影响微丝骨架的药物都会引起不同程度的细胞周期阻滞,推测葫芦素类化合物引起细胞周期阻滞也可能与微丝骨架受损相关。目前,关于葫芦素抗肿瘤的研究虽多,但大多集中于体外,体内研究较少且临床未见应用。今后对含量丰富的葫芦素类化合物开展抑瘤研究的同时,也应对其其他的葫芦素及其衍生物进行研究对比。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 李悦, 承伟, 邹艾岑. 瓜蒂中葫芦素 B 的不同提取工艺研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(19): 1760-1761.
- [3] Cai Y, Fang X, He C, *et al.* Cucurbitacins: a systematic review of the phytochemistry and anticancer activity[J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(7): 1331-1350.
- [4] Chen JC, Chiu MH, Nie RL, *et al.* Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities [J]. *Nat Prod Rep*, 2005, 22(3): 386-399.
- [5] Duangmano S, Sae-Lim P, Suksamrarn A, *et al.* Cucurbitacin B inhibits human breast cancer cell proliferation through disruption of microtubule polymerization and nucleophosmin/B23 translocation[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2012, doi: 10.1186/1472-6882-12-185.
- [6] Takahashi N, Yoshida Y, Sugiura T, *et al.* Cucurbitacin D isolated from *Trichosanthes kirilowii* induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(4): 508-513.
- [7] Saade M, Magdalou J, Ouaini N, *et al.* Stability of cucurbitacin E in human plasma: chemical hydrolysis and role of plasma esterases[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2009, 30(7): 389-397.
- [8] Kim HJ, Park JH, Kim JK. Cucurbitacin I, a natural cell-permeable triterpenoid isolated from Cucurbitaceae, exerts potent anticancer effect in colon cancer[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, doi: 10.1016/j.cbi.2014.05.005.
- [9] He J, Wang Y, Xu LH, *et al.* Cucurbitacin II a induces caspase-3-dependent apoptosis and enhances autophagy in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16(1): 27-34.
- [10] Li Y, Zheng ZF, Zhou L, *et al.* Five new cucurbitane triterpenoids with cytotoxic activity from *Hemsleya jinfushanensis*[J]. *Phytochem Lett*, 2015, doi: 10.1016/j.phytol.2015.10.019.
- [11] Gupta P, Srivastava SK. Inhibition of HER2-integrin signaling by Cucurbitacin B leads to in vitro and in vivo breast tumor growth suppression[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(7): 1812-1828.
- [12] Yasuda S, Yogosawa S, Izutani Y, *et al.* Cucurbitacin B induces G₂ arrest and apoptosis via a reactive oxygen species-dependent mechanism in human colon adenocarcinoma SW480 cells[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(4): 559-565.
- [13] Liu T, Peng H, Zhang M, *et al.* Cucurbitacin B, a small molecule inhibitor of the Stat3 signaling pathway, enhances the chemosensitivity of laryngeal squamous cell carcinoma cells to cisplatin[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 641(1): 15-22.
- [14] Kausar H, Munagala R, Bansal SS, *et al.* Cucurbitacin B potently suppresses non-small-cell lung cancer growth: identification of intracellular thiols as critical targets[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(1): 35-45.
- [15] Zhang Y, Ouyang D, Xu L, *et al.* Cucurbitacin B induces rapid depletion of the G-actin pool through reactive oxygen species-dependent actin aggregation in melanoma cells[J]. *Acta Biochim Biophys Sin: Shanghai*, 2011, 43(7): 556-567.
- [16] Iwanski GB, Lee DH, En-Gal S, *et al.* Cucurbitacin B, a novel in vivo potentiator of gemcitabine with low toxicity in the treatment of pancreatic cancer[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(4): 998-1007.
- [17] Gao Y, Islam MS, Tian J, *et al.* Inactivation of ATP citrate lyase by Cucurbitacin B: a bioactive compound from cucumber, inhibits prostate cancer growth[J]. *Cancer Lett*, 2014, 349(1): 15-25.
- [18] Chan KT, Li KS, Chu KH, *et al.* Cucurbitacin B inhibits STAT3 and the Raf/MEK/ERK pathway in leukemia cell line K562[J]. *Cancer Lett*, 2010, 289(1): 46-52.
- [19] Zhang M, Bian ZG, Zhang Y, *et al.* Cucurbitacin B inhibits proliferation and induces apoptosis via STAT3 pathway inhibition in A549 lung cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(6): 2905-2911.
- [20] Zheng Q, Liu Y, Liu W, *et al.* Cucurbitacin B inhibits growth and induces apoptosis through the JAK2/STAT3 and MAPK pathways in SH-SY5Y human neuroblastoma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 89-94.
- [21] Zhang T, Li Y, Park KA, *et al.* Cucurbitacin induces autophagy through mitochondrial ROS production which counteracts to limit caspase-dependent apoptosis[J]. *Autophagy*, 2012, 8(4): 559-576.
- [22] Chan KT, Meng FY, Li Q, *et al.* Cucurbitacin B induces apoptosis and S phase cell cycle arrest in BEL-7402 human hepatocellular carcinoma cells and is effective via oral administration[J]. *Cancer Lett*, 2010, 294(1): 118-124.
- [23] Promkan M, Dakeng S, Chakrabarty S, *et al.* The effectiveness of cucurbitacin B in BRCA1 defective breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55732.

- [24] Shang Y, Guo XX, Li WW, *et al.* Cucurbitacin-B inhibits neuroblastoma cell proliferation through up-regulation of PTEN[J]. *Eur Rev for Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(21): 3297-3303.
- [25] Kim SR, Seo HS, Choi HS, *et al.* Trichosanthes kirilowii ethanol extract and cucurbitacin D inhibit cell growth and induce apoptosis through inhibition of STAT3 activity in breast cancer cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi: 10.1155/2013/975350.
- [26] Ishii T, Kira N, Yoshida T, *et al.* Cucurbitacin D induces growth inhibition, cell cycle arrest, and apoptosis in human endometrial and ovarian cancer cells[J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(1): 285-291.
- [27] Spear SA, Burns SS, Oblinger JL, *et al.* Natural compounds as potential treatments of NF2-deficient schwannoma and meningioma: cucurbitacin D and goyazensolide [J]. *Otol Neurotol*, 2013, 34(8): 1519-1527.
- [28] Hung CM, Chang CC, Lin CW, *et al.* Cucurbitacin E as inducer of cell death and apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cell line SAS[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(8): 17147-17156.
- [29] Zha QB, Zhang XY, Lin QR, *et al.* Cucurbitacin E induces autophagy via downregulating mTORC1 signaling and upregulating AMPK activity[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0124355.
- [30] Zhang T, Li J, Dong Y, *et al.* Cucurbitacin E inhibits breast tumor metastasis by suppressing cell migration and invasion[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 135(2): 445-458.
- [31] 李丽, 随何欢, 黄家君, 葫芦素E对人结肠癌细胞Caco-2增殖与迁移的影响及其作用机制[J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(13): 1342-1348.
- [32] Ma G, Luo W, Lu J, *et al.* Cucurbitacin E induces caspase-dependent apoptosis and protective autophagy mediated by ROS in lung cancer cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2016, doi: 10.1016/j.cbi.2016.04.028.
- [33] Huang WW, Yang JS, Lin MW, *et al.* Cucurbitacin E induces G₂/M phase arrest through STAT3/p53/p21 signaling and provokes apoptosis via Fas/CD95 and mitochondria-dependent pathways in human bladder cancer T24 cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi: 10.1155/2012/952762.
- [34] Lan T, Wang L, Xu Q, *et al.* Growth inhibitory effect of Cucurbitacin E on breast cancer cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(9): 1799-1805.
- [35] Hsu YC, Chen MJ, Huang TY. Inducement of mitosis delay by cucurbitacin E, a novel tetracyclic triterpene from climbing stem of *Cucumis melo* L., through GADD45 γ in human brain malignant glioma (GBM) 8401 cells[J]. *Cell Death Dis*, 2014, doi: 10.1038/cddis.2014.22.
- [36] Hsu YC, Huang TY, Chen MJ. Therapeutic ROS targeting of GADD45 γ in the induction of G₂/M arrest in primary human colorectal cancer cell lines by cucurbitacin E[J]. *Cell Death Dis*, 2014, doi: 10.1038/cddis.2014.151.
- [37] Chang CJ, Chiang CH, Song WS, *et al.* Inhibition of phosphorylated STAT3 by cucurbitacin I enhances chemoradio-sensitivity in medulloblastoma-derived cancer stem cells [J]. *Child's Nervous System*, 2012, 28(3): 363-373.
- [38] Yuan G, Yan SF, Xue H, *et al.* Cucurbitacin I induces protective autophagy in glioblastoma in vitro and in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(15): 10607-10619.
- [39] Knecht DA, LaFleur RA, Kahsai AW, *et al.* Cucurbitacin I inhibits cell motility by indirectly interfering with actin dynamics[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e14039.
- [40] Lopez-Haber C, Kazanietz MG. Cucurbitacin I inhibits Rac1 activation in breast cancer cells by a reactive oxygen species-mediated mechanism and independently of Janus tyrosine kinase 2 and P-Rex1[J]. *Mol Pharmacol*, 2013, 83(5): 1141-1154.
- [41] 高申, 于孟可, 魏佳慧, 等. 雪胆甲素对人非小细胞肺癌A549细胞增殖的抑制作用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(1): 69-71.
- [42] Boykin C, Zhang G, Chen YH, *et al.* Cucurbitacin II a: a novel class of anti-cancer drug inducing non-reversible actin aggregation and inhibiting survivin independent of JAK2/STAT3 phosphorylation[J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(5): 781-789.
- [43] Abdelwahab SI, Hassan LE, Abdul Majid AM, *et al.* Cucurbitacin L 2-O- β -glucoside demonstrates apoptogenesis in colon adenocarcinoma cells (HT-29): involvement of reactive oxygen and nitrogen species regulation[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi: 10.1155/2012/490136.
- [44] Lee DH, Thoennissen NH, Goff C, *et al.* Synergistic effect of low-dose cucurbitacin B and low-dose methotrexate for treatment of human osteosarcoma[J]. *Cancer Lett*, 2011, 306(2): 161-170.
- [45] Tannin-Spitz T, Grossman S, Dovrat S, *et al.* Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(1): 56-67.
- [46] Duangmano S, Sae-lim P, Suksamrarn A, *et al.* Cucurbitacin B causes increased radiation sensitivity of human breast cancer cells via G₂/M cell cycle arrest[J]. *J Oncol*, 2012, doi: 10.1155/2012/601682.
- [47] 曲迎春. 葫芦素B对卵巢癌紫杉醇耐药细胞凋亡诱导作用及其机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2015.
(收稿日期: 2016-10-29 修回日期: 2017-01-05)
(编辑: 余庆华)