

虫草素抗肿瘤药理作用及其机制的研究进展

蔡曦¹, 尚超¹, 孟丽荣^{2*}

1. 中国医科大学 生命科学学院 神经生物学教研室, 辽宁 沈阳 110122

2. 澳门理工学院 健康科学与体育高等学校, 澳门 999078

摘要: 虫草素是冬虫夏草的主要活性成分之一, 研究发现其具有抗肿瘤、抗病毒、免疫调节等多种药理活性。近年来, 其抗肿瘤作用逐渐成为研究热点, 包括肺癌、肝癌、乳腺癌等, 其通过腺苷酸活化的蛋白激酶(AMPK)、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)、核因子- κ B(NF- κ B)等多种信号通路来抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭, 并促进肿瘤细胞凋亡。就虫草素抗肿瘤作用的分子机制、具体应用中的存在问题及对策进行综述, 以期抗肿瘤新药研发提供参考。

关键词: 虫草素; 3'-脱氧腺苷; 抗肿瘤; 腺苷酸活化的蛋白激酶; 磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶B; 核因子- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2021) 07-1548-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.07.028

Progress on anti-tumor pharmacological effects and mechanism of cordycepin

CAI Xi¹, SHANG Chao¹, MENG Lirong²

1. Department of Neurobiology, School of Life Sciences, China Medical University, Shenyang 110022, China

2. School of Health Sciences and Sports, Macao Polytechnic Institute, Macao 999078, China

Abstract: Cordycepin is one of the main active constituent of the Chinese traditional medicine *Cordyceps sinensis*. Multiple biological activities of it have been found in past researches, such as anti-tumor, antiviral, and immunomodulation. In recent years, its anti-tumor mechanism has increasingly become a research hotspot, and it has been studied in various tumors such as lung cancer, liver cancer, and breast cancer. It was found that cordycepin inhibits tumor cell proliferation, migration and invasion through AMPK, PI3K/Akt, NF- κ B and other signal pathways, and promotes tumor cell apoptosis. The molecular mechanism of cordycepin in different tumors, and the problems in its application and the countermeasures are reviewed, in order to provide a reference for research and development of new anticancer drugs.

Key words: Cordycepin; 3'-deoxyadenosine; antitumor; AMPK; PI3K/Akt; NF- κ B

虫草素(cordycepin)即3'-脱氧腺苷(3'-deoxyadenosine),是从人工栽培的蛹虫草培养液中分离得到的核苷类似物,也是第一个从真菌中分离出来的核苷类抗菌素^[1]。虫草素为含氮配糖体的核酸衍生物,属于嘌呤类生物碱,由腺苷和具有碳支链的脱氧戊糖组成,具有多种生物活性,如抗肿瘤、抗菌、抗白血病、免疫调节、清除自由基和抗缺血再灌注损伤等药理作用^[2]。

近年来,虫草素在动物体外和体内实验中都显示出了良好的抗肿瘤活性^[3],因此其抗肿瘤作用逐渐成为研究热点。用肺癌、肝癌、乳腺癌等多种肿

瘤细胞系进行的实验研究,发现虫草素抗肿瘤作用是通过腺苷酸活化的蛋白激酶(AMPK)、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)、核因子- κ B(NF- κ B)等多种信号通路实现的,且作用方式主要集中在抑制肿瘤生长和调控肿瘤微环境两个方面。本文结合国内外研究现状,对虫草素在不同肿瘤细胞中的作用及其机制、目前应用中存在的问题及对策等进行综述,以期虫草素在肿瘤治疗中的应用及抗肿瘤新药研发提供参考。

1 肺癌

史宁等^[4]用不同浓度(0、0.25、0.5、1.0、2.0、

收稿日期: 2021-01-20

基金项目: 澳门理工学院资助项目(RP/ESS-04/2017)

第一作者: 蔡曦(1996—),男,硕士在读,研究方向为胶质瘤等肿瘤的病因学及治疗。Tel: 18555417156 E-mail: 2423600479@qq.com

*通信作者: 孟丽荣(1962—),女,博士,教授,研究方向为妇科肿瘤的病因学及治疗。Tel: (853)28578722 E-mail: lrmeng@ipm.edu.mo

4.0 ng/mL) 虫草素处理体外培养的人 A549 肺癌细胞 24 h 后发现, 凋亡促进基因天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteiny aspartate specific proteinase, caspase)-3、caspase-8、大肿瘤抑制子 (LATS1)、氮氧化物 (NOX-1) 的表达量显著高于无虫草素处理的对照组, 而增殖促进基因 Bcl-2、Cyclin D1、c-Myc 和侵袭促进基因 c-FLIP、N-cadherin、TRAF6、Vimentin 的表达量显著低于对照组。且虫草素的作用呈浓度相关, 剂量越高, 作用效果越明显。这说明在肺癌细胞株 A549 中, 虫草素浓度相关地促进促凋亡基因的表达、抑制促增殖和促侵袭基因的表达。刘昌杰^[5]及税晓容等^[6]对体外培养 A549 细胞的研究则进一步发现, 虫草素的抗增殖和抗迁移作用可能与 miR-126/miR-145-Bcl2 途径、miR-205/miR-429/miR-499a-MMP9 途径及一氧化氮 (NO) 相关途径有关。

Wei 等^[7]对 1 组体外培养的人非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 细胞系 (H1975、PC9、H820、HCC827、H1650、A549、H460、H2288、H358、H2122) 用虫草素处理 24 h, MTT 分析发现 H1975、PC9、H820、HCC827、H1650 等 5 个含突变型表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的细胞系对虫草素的敏感性更强。集落形成、迁移实验、划痕实验等一系列研究发现虫草素能够抑制这些 NSCLC 细胞的生长、迁移和侵袭。对凋亡相关分子的分析还发现虫草素激活 AMPK, 从而诱导 NSCLC 细胞凋亡。更重要的是, 随后在裸鼠异种移植实验中发现高剂量 (75 mg/kg) 虫草素的抗癌作用与阿法替尼 (10 mg/kg) 的作用相当。鉴于 EGFR 突变是吉非替尼耐药发生的主要原因, 虫草素单用或与靶向治疗药物联合使用可能是耐药 NSCLC 及其他 EGFR 突变癌症治疗的额外选择。

张超等^[8]研究了虫草素与顺铂联用或单用对体外培养的人肺癌 A549 细胞的作用。结果表明, 与单独用药相比, 联合用药能够明显抑制肿瘤细胞的生长并促进其凋亡。蛋白免疫印迹法 (Western blotting) 结果显示, 与对照组相比, 顺铂能够增加细胞核内 NF- κ B p65 的活性, 然而虫草素却能抑制 NF- κ B p65 的活性, 联合用药后 NF- κ B p65 的活性明显下调; 与顺铂单独用药相比, 联合用药组能够使促凋亡蛋白 Bax 表达显著增高, 而抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达则降低。表明虫草素增强肺癌细胞 A549 对顺铂敏感性的作用, 是通过抑制 NF- κ B 途径, 调节

下游信号分子 Bax 和 Bcl-2 的表达实现的。另外, 对具有顺铂耐药的 A459 细胞的研究发现, 虫草素能够激活半胱天冬酶, 下调 H-Ras 从而刺激细胞凋亡和细胞周期停滞^[9]。

2 肝癌

Guo 等^[10]以人肝癌 Huh7 和 HepG2 细胞为研究对象, 用不同浓度的虫草素进行处理。与对照组相比, 1、5、10 μ mol/L 虫草素处理的肝癌细胞迁移和侵袭能力被显著抑制, 且抑制效果呈浓度相关, 浓度越高抑制效果越强。后续的迁移分析, 蛋白免疫印迹法、实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和免疫荧光分析发现, 虫草素以浓度相关的方式降低 4 型 C-X-C 趋化因子受体 (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) 的表达。且磷酸化 NF- κ B 抑制剂 α (phosphorylated inhibitor α of nuclear factor kappa B, p-I κ B α) 和 p-P65 (NF- κ B 信号传导途径的主要成分) 的激活也被下调。此外, 虫草素还显著抑制了 P65 的核易位, 但对总 I κ B α (t-I κ B α) 和总 P65 (t-P65) 的表达没有影响。虫草素与 NF- κ B 途径抑制剂 JSH-23 也有协同作用。进一步研究发现, 虫草素治疗降低了肝癌细胞向基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor 1, SDF1) 的趋化迁移能力, 在用 JSH-23 治疗后, 该能力得到了显著增强。综上可知, 虫草素以阻止 p-I κ B α 活化的方式抑制 P65 的核易位, 引起 CXCR4 表达下调, 进而使肝癌细胞的迁移和侵袭能力受损以及与 SDF1 的反应性减弱。

李辉等^[11]以人肝癌 Bel-7402 细胞为研究对象, 虫草素处理后, MTT 法、划痕实验、侵袭小室实验、qRT-PCR、蛋白免疫印迹法测定相关指标。结果表明, 虫草素在 0~80 μ mol/L 时对细胞活力无明显影响; 而在 80~640 μ mol/L 时, 细胞活力出现下降; 在 320、640 μ mol/L 时显著降低。40、80 μ mol/L 虫草素均能显著抑制细胞迁移和侵袭活动。与空白对照组比较, 虫草素 40、80 μ mol/L 处理 Bel-7402 细胞 48 h 后, 基质金属蛋白酶 (MMP)-2 和 MMP-9 mRNA 及蛋白表达均下降, 磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK) 和磷酸化表皮生长因子受体 (p-EGFR) 蛋白表达也明显下调。以上结果说明, 虫草素通过 EGFR/ERK 通路介导的 MMP-2 和 MMP-9 表达下调, 从而调控细胞的迁移和侵袭活动。

Zeng 等^[12]评估了虫草素对 N-亚硝基二乙胺 (N-nitrosodiethylamine, NDEA) 诱导的小鼠肝细胞癌的影响, 并对其潜在机制进行了探讨。他们将模型小鼠随机分为 4 组: 对照组、NDEA 组、NDEA+虫草素

20 mg/kg组、NDEA+虫草素 40 mg/kg组。每组动物在饮用水中给予NDEA, 1 h后将在PBS中溶解的虫草素 ig 给药连续 7 d。结果表明, 虫草素降低了肝脏和血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 的活性, 还降低了白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛 (methane dicarboxylic aldehyde, MDA) 的水平, 并在血清中存储了超氧化物歧化酶 (superoxide dehydrogenase, SOD)。说明虫草素可以明显减轻肝脏的病理改变。此外, 虫草素有效抑制了磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K), 蛋白激酶 B (Akt), 哺乳动物雷帕霉素靶点 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 的磷酸化。该研究表明虫草素通过 PI3K/Akt/mTOR 途径起抗肿瘤作用。

3 乳腺癌

谭玉林^[13]等在人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中研究了不同浓度虫草素 (0、1、2、4、8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的作用。MTT 观察结果显示, 虫草素能够以浓度相关方式显著抑制 MDA-MB-231 细胞增殖; 流式细胞术结果显示, 虫草素可显著促进 MDA-MB-231 细胞凋亡; 蛋白免疫印迹法结果显示, 虫草素以浓度相关方式增强肿瘤转移抑制相关基因 1 (tumor metastasis suppressor gene-1, TMSG-1) 的表达。与对照组相比, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 虫草素即可明显上调 MDAMB-231 细胞 TMSG-1 蛋白的表达。总之, 虫草素能够抑制 MDA-MB-231 细胞的生长并诱导其凋亡, 可能通过上调 TMSG-1 蛋白表达的方式, 抑制肿瘤细胞转移, 且作用呈浓度相关。

Lee 等^[14]对人乳腺癌 MCF-7 和 Wang 等^[15]对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的体外培养和裸鼠异种移植实验均发现, 虫草素通过激活半胱天冬酶诱导肿瘤细胞凋亡, 从而抑制乳腺癌的发展。这与其抗肿瘤研究的作用机制是一致的^[9]。除此之外, 虫草素还以增强乳腺癌细胞的放射敏感性的方式, 增强放射治疗的效果, 该放射增敏剂效果则是通过 Nrf2/HO-1/ROS 轴实现的^[16]。

4 胃癌

虫草素通过 PI3K/Akt 途径抑制胃癌细胞发展的作用在不同研究中都有报道^[17-18]。Wang 等^[17]用人胃癌细胞系 MGC-803 和 HGC-27 进行研究, 发现虫草素是通过上调抗转移因子 CLEC2 实现抗癌功

效的; 而 Nasser 等^[18]在人胃癌细胞系 SGC-7901 中则发现, 虫草素是通过诱导活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生来实现这一作用的。在 HGC-27 细胞中, 虫草素又被发现能够抑制 ERK/GSK-3 β 信号通路, 从而抑制肿瘤细胞生长、集落形成和细胞运动, 最终诱导肿瘤细胞凋亡^[19]。

对爱泼斯坦-巴尔病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 阳性胃肿瘤细胞的研究发现, 虫草素能诱导 EBV 感染。并且虫草素可以增强小剂量阿霉素对于 EBV 的激活能力和 EBV 阳性肿瘤细胞的杀伤能力。此功能是通过蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) -p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK) 信号通路使 CCAAT/增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein β , C/EBP β) 磷酸化实现的^[20]。该研究说明虫草素可以增强常规化学疗法治疗 EBV 阳性肿瘤的功效, 为抗阿霉素胃癌的治疗提供了解决方案。另 1 项研究则发现虫草提取物 (Extracts of *Cordyceps militaris*, CME) 中的腺苷也能诱导 EBV 基因表达和裂解再激活, 从而抑制 EBV 相关胃癌 (EBV associated gastric cancer, EBVaGC) 的发展^[21]。

5 肾癌

Yang 等^[22]对人肾癌 Caki-1 细胞的研究表明, 虫草素可诱导 Caki-1 细胞凋亡并抑制细胞迁移。随着虫草素浓度的增加 (0、10、20、30、40、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 其作用效果也越强。qRT-PCR 结果和蛋白免疫印迹法分析表明, 虫草素浓度相关地降低了 Caki-1 细胞中 microRNA-21 的表达和 Akt 磷酸化水平, 增加了蛋白酪氨酸磷酸酶基因 (PTEN) 磷酸酶水平。转染 microRNA-21 模拟物或 PTEN siRNA 来阻断 Caki-1 细胞中的虫草素诱导的 microRNA-21 减少或 PTEN 增加, 从而显著减弱虫草素诱导的细胞死亡及对细胞迁移的抑制作用。综上, 虫草素可通过调控 microRNA-21 和 PTEN 磷酸酶诱导肾癌细胞的凋亡, 抑制肾癌细胞的迁移。

Hwang 等^[23]对人肾癌 TK-10 细胞研究发现, 虫草素通过阻止 NF- κ B 的核动员, 下调 GADD45B 和外部凋亡通路中重要负调控因子 c-FLIPL, 上调 MKK7 和磷酸化 JNK。此外, 与单独使用虫草素相比, 在虫草素处理的细胞中, siRNA 介导的 GADD45B 的敲低显著增加了 MKK7。siRNA 介导的 c-FLIPL 的敲低阻止了 TNF- α 诱导的 JNK 失活, 而 c-FLIPL 的过表达抑制了虫草素介导的 JNK 的激

活。JNK 抑制剂 SP600125 强烈抑制 Bax 表达。在裸鼠实验中,虫草素显著降低了肿瘤体积。由以上结果可知,虫草素抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)介导的 NF- κ B/GADD45B 信号传导,通过抑制 c-FLIPL 表达激活 MKK7-JNK 信号传导途径,从而诱导 TK-10 细胞凋亡。

刘雯思等^[24]运用 CCK-8、流式细胞术、BATMAN-TCM 工具和蛋白免疫印迹法等方法对人肾癌 ACHN 细胞进行研究,发现虫草素对 ACHN 细胞增殖有明显的抑制作用,能够有效诱导 ACHN 凋亡,呈现显著的浓度相关。在不同浓度(0、0.07、0.14、0.28、0.56、1.12 μ mol/mL)虫草素处理 24 h 过程中,细胞增殖抑制率不断提高。虫草素作用 24 h 的半数抑制浓度(IC₅₀)为 0.32 μ mol/mL。同时,随着虫草素的浓度增加,ACHN 细胞中 AKT 通路的活化被显著抑制,说明虫草素可能通过抑制 AKT 磷酸化,抑制 Akt 通路的活性的方式,抑制细胞增殖,并诱导其凋亡。

6 胶质瘤

Hueng 等^[25]对人胶质瘤细胞系 U87MG 和 LN229 的研究发现,虫草素在迁移和创伤修复试验中抑制肿瘤细胞的迁移,并降低了整联蛋白 α 1、黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、p-FAK、paxillin 和 p-paxillin 的表达。溶酶体抑制剂 NH4Cl 阻断了虫草素抑制黏着斑蛋白表达和神经胶质瘤细胞迁移的能力。另外,蛋白磷酸酶抑制剂 calyculin A 和冈田酸阻断了虫草素介导的 p-Akt、p-FAK 和迁移的减少。苏木精和曙红对小鼠异种移植物的染色表明,虫草素可以减少体内脑瘤的大小。总的来说,虫草素通过影响溶酶体降解和蛋白质磷酸酶活化来抑制人胶质母细胞瘤细胞的迁移。

Baik 等^[26]研究发现虫草素通过激活 p38 MAPK 和抑制 Akt 途径触发了 U87MG 细胞的凋亡。杨刚等^[27]发现虫草素能抑制 U87 细胞的增殖和侵袭,其作用机制可能与下调 cyclin D1、Bcl-2、MMP-2、MMP-9、ezrin 的表达有关,而其下调作用还呈现出剂量和时间相关。

对具有替莫唑胺(temozolomide, TMZ)抗性的多形胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)的研究发现,虫草素可抑制神经胶质瘤细胞系的细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导细胞凋亡和细胞周期停滞。同时,虫草素和 TMZ 联用可协同抑制细胞生长,迁移和肿瘤转移,并诱导细胞凋亡和细胞周期停滞^[28-29]。这些功能涉及到 AMPK 信号通路激活,

Akt 信号通路抑制^[28];增加细胞内活性氧以抑制 O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(O⁶-methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)的作用^[29]。

7 宫颈癌

何肇晴等^[30]采用 MTT 法观察不同浓度的虫草素溶液(0、1、2、4 mg/mL)对 HeLa 细胞增殖的抑制作用。人 MMP-9/基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)ELISA 试剂盒及 qRT-PCR 技术检测经不同浓度虫草素溶液(0、1、2、4 mg/mL)处理后不同时间点(12、24、48 h) HeLa 细胞 MMP-9/TIMP-1 及 TIMP-1 mRNA 表达的影响。发现虫草素以浓度相关方式抑制 HeLa 细胞生长。不同浓度虫草素处理不同时间的 HeLa 细胞分泌 MMP-9 呈轻度浓度相关抑制方式,但未见统计学差异。上调 TIMP-1 及其 mRNA 的表达则呈明显的浓度相关,统计学差异显著,尤其在 24 h, TIMP-1 mRNA 的表达及蛋白分泌达最高峰。这说明虫草素通过上调 TIMP-1 及其 mRNA 的表达发挥潜在的抗肿瘤细胞浸润转移的作用,且调节作用呈浓度相关。

Tania 等^[31]报道,虫草素可控制人 SiHa 和 HeLa 宫颈癌细胞的生长,增加其凋亡率,并干扰细胞周期,尤其延长 S 期。qRT-PCR 结果表明,通过虫草素处理,细胞周期蛋白 CDK-2、CYCLIN-A2 和 CYCLIN-E1 在 mRNA 水平下调,但促凋亡或抗凋亡蛋白未见明显变化。虫草素处理过的细胞内 ROS 水平显著增加,这表明 ROS 可能诱导了细胞凋亡。蛋白免疫印迹法分析证实虫草素可显著降低 Cdk-2 的表达,并轻微降低 Cyclin-E1 和 Cyclin-A2 的表达,这可能是调节细胞周期的原因。分子对接研究表明虫草素对 Cdk-2 具有高结合亲和力。分子动力学模拟进一步证实了虫草素-Cdk-2 复合物的对接姿势在结合袋中保留了 10 ns。总结可知,虫草素下调 Cdk-2 和产生 ROS 的方式诱导肿瘤细胞凋亡。

虫草素的放射增敏作用在宫颈癌中也有报道。在人 ME180 细胞和 HeLa 细胞中,虫草素通过诱导 p53 介导的凋亡和调节细胞周期检查点分子的表达,从而增强肿瘤细胞的放射敏感性^[32]。

8 子宫内膜癌

随着虫草素抗肿瘤研究热度的不断提升,针对虫草素抗子宫内膜癌的研究也进入了一个新阶段。Fong 等^[33]通过细胞毒性 MTT 分析、克隆形成分析和流式细胞术等方法观察不同浓度的虫草素(12.5、25、50、100 μ g/mL),顺铂(0.5、1、2、4 μ g/mL)和两者

联用对体外培养的子宫内膜癌 Ishikawa 细胞凋亡和细胞周期调控的影响,发现虫草素能有效抑制 Ishikawa 细胞增殖。进一步研究发现此作用是通过诱导 G₀/G₁ 期细胞停滞并引起细胞凋亡来实现的,且其抑制程度呈浓度相关。而虫草素与顺铂联用抑制 Ishikawa 细胞增殖的作用更强,与单用 4 μg/mL 顺铂 51.6% 的抑制率相比,12.5 μg/mL 虫草素和 4 μg/mL 顺铂联用的抑制率提升到了 76.8%。

9 结语

虫草素虽然是从蛹虫草培养液中分离得到的,也有人研究了基于转录组测序预测,以核糖核苷酸还原酶为切入点研究虫草素合成途径^[34],为大量应用提供了保障。虫草素主要通过抑制肿瘤细胞生长、调控肿瘤微环境 2 个方面实现抗肿瘤作用。(1) 抑制肿瘤生长:包括诱导肿瘤细胞凋亡,造成细胞周期停滞,靶向干预肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)等;(2) 调控肿瘤微环境:抑制肿瘤侵袭,阻滞肿瘤转移等。这些过程涉及到 AMPK、PI3K/Akt、NF-κB、MAPK、MMP 和 caspase 等信号通路^[35]。并且虫草素对肿瘤的作用多呈现浓度相关。另外,虫草素通过 NF-κB、caspase 等信号通路发挥抗作用的机制,在肺癌、肝癌、胃癌等不同肿瘤细胞中都有发现。这也为虫草素在其他肿瘤中的作用机制研究提示了方向。

虫草素的抗肿瘤作用是通过多条途径、多个方面实现的,肿瘤细胞很难产生耐药性。因此,虫草素被视为一种很有潜力的癌症治疗候选药物。然而虫草素体内代谢快、脂溶性差,是限制其应用的两个主要问题。有研究显示虫草素的药动学指标较差,它在动物体内会被腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)快速降解为无活性的化合物 3'-脱氧肌苷。动物研究表明虫草素在大鼠体内的半衰期只有 1.6 min^[36]。

9.1 延长虫草素在体内的作用时间

为了解决虫草素在体内被快速降解的问题,研究人员试图通过多种手段延长虫草素在体内的作用时间,包括以下 3 个方面:

(1) 针对虫草素在体内被脱氨失活的问题,构建结构稳定的虫草素衍生物。Pedro 研究团队研究了 31 种 A3R 激动剂,发现虫草素衍生物 MRS5698 激动剂能有效抑制子宫内膜癌细胞(Ishikawa 和 HEC-1A),且 MRS5698 对 HEC-1A 细胞的抑制作用比顺铂更强^[33,37]。MRS5698 对 ADA 的亲和力低,并具有适当的药物特性,包括吸收、分布、代谢、排泄

和毒性。MRS5698 对 A3R 有高度选择性并对其他腺苷受体亚型(如 A2、A2a 和 A2b13)具有低亲和力,高选择性,表明其副作用较低。但由于目前 MRS5698 价格昂贵,对其进行全面的动物研究有一定困难,而成本高昂亦会降低其开发为药品的可能性。

(2) 与 ADA 抑制剂联用。ADA 抑制剂能够抑制腺苷脱氨酶的作用,从而提高虫草素在体内的存留时间。有研究表明虫草素与 ADA 抑制剂联用具有一定副作用,该作用具有可逆性和浓度相关性^[38],这为虫草素临床应用提供了理论依据。

(3) 利用保护载体靶向运输到患处,如脂质体运输等。在抗肝癌药理研究中,相比单独使用虫草素,经脂质体运输虫草素处理的肿瘤细胞有更高的凋亡率。而动物实验发现,脂质体运输的虫草素对小鼠 H22 肿瘤生长表现出明显的强抑制作用,而单用虫草素对肿瘤生长没有表现出抑制作用^[39]。另有研究显示转铁蛋白偶联的脂质体可作为有效的载体将虫草素递送至肝癌细胞^[40]。说明针对不同肿瘤细胞设计特异性结合的脂质体,能够使虫草素更好地发挥抗肿瘤作用。

9.2 对虫草素未来研究的建议

笔者认为,未来对于虫草素的研究可集中于以下 2 个方面:

(1) 进一步从分子水平明确虫草素抗肿瘤功效相关的信号通路及各通路之间的交互关系,提高对虫草素在不同肿瘤细胞系中作用机制的理解,为虫草素的治疗应用和相关新药研发提供理论依据和明确的作用靶点。

(2) 运用多种方式延长虫草素的体内存留时间,提升其作用效果。并在临床试验中寻找能够用于实际治疗的给药方式,为肿瘤治疗提供新的可行方案。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cunningham K G, Manson W, Spring F S, et al. Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link [J]. Nature, 1950, 166 (4231): 949.
- [2] 王多, 鲍荣, 王芳, 等. 虫草素抗肿瘤作用分子机制研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(4): 643-650.
Wang D, Bao R, Wang F, et al. Progress in molecular mechanisms of anticancer action of cordycepin [J]. Chin

- J Pharmacol Toxicol, 2015, 29(4): 643-650.
- [3] 丁向萍, 马力. 虫草素抗肿瘤机制研究进展 [J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(8): 764-766.
Ding X P, Ma L. Research progress on anti-tumor mechanism of cordycepin [J]. J Fourth Military Med Univ, 2009, 30(8): 764-766.
- [4] 史宁, 郭宏举, 王欢, 等. 虫草素调节肺癌细胞株 A549 恶性生物学行为的实验研究 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(3): 289-291, 295.
Shi N, Guo H J, Wang H, et al. Cordycepin regulates the malignant biological behaviors of lung cancer cell lines A549 [J]. J Hainan Med Univ, 2017, 23(3): 289-291, 295.
- [5] 刘昌杰. 虫草素对体外培养肺癌细胞株 A549 恶性生物学行为的调节及其与相关 miRNA 表达的关系 [J]. 海南医学院学报, 2015, 21(12): 1597-1600.
Liu C J. Regulatory effects of cordycepin on malignant behavior of lung cancer cell line cultured *in vivo* and its relationship with related miRNA expression [J]. J Hainan Med Univ, 2015, 21(12): 1597-1600.
- [6] 税晓容, 雷桅, 李建文, 等. 虫草素抑制肺癌细胞增殖的体外研究 [J]. 广东医学院学报, 2016, 34(1): 26-28.
Shui X R, Lei W, Li J W, et al. *In vitro* study on the effect of cordycepin in inhibiting the proliferation of lung carcinoma cell [J]. J Guangdong Med Univ, 2016, 34(1): 26-28.
- [7] Wei C, Yao X, Jiang Z, et al. Cordycepin inhibits drug-resistance non-small cell lung cancer progression by activating AMPK signaling pathway [J]. Pharmacol Res, 2019, 144: 79-89.
- [8] 张超, 钟沁, 张锡峰, 等. 虫草素通过抑制 NF- κ B 途径增强 A549 细胞对顺铂的敏感性 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(2): 147-151.
Zhang C, Zhong Q, Zhang X F, et al. Enhancement effect of cordycepin on the chemosensitivity of cisplatin on A549 cells by inhibiting the NF-kappa B pathway [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(2): 147-151.
- [9] Cho S H, Kang I C. The inhibitory effect of Cordycepin on the proliferation of cisplatin-resistant A549 lung cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(3): 431-436.
- [10] Guo Z, Chen W, Dai G, et al. Cordycepin suppresses the migration and invasion of human liver cancer cells by downregulating the expression of CXCR4 [J]. Int J Mol Med, 2020, 45(1): 141-150.
- [11] 李辉, 刘登湘, 韩翠平. 虫草素对人肝癌细胞迁移及侵袭的机制研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(17): 7-12.
Li H, Liu D X, Han C P. Mechanism of cordycepin inhibiting migration and invasion of human hepatoma cells [J]. China J Mod Med, 2020, 30(17): 7-12.
- [12] Zeng Y, Lian S, Li D, et al. Anti-hepatocarcinoma effect of cordycepin against NDEA-induced hepatocellular carcinomas via the PI3K/Akt/mTOR and Nrf2/HO-1/NF- κ B pathway in mice [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95: 1868-1875.
- [13] 谭玉林, 谢明, 方会龙, 等. 虫草素对 MDA-MB-231 细胞增殖及细胞凋亡的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(8): 1-5.
Tan Y L, Xie M, Fang H L, et al. Effect of cordycepin on MDA-MB-231 cell proliferation and apoptosis [J]. China J Mod Med, 2015, 25(8): 1-5.
- [14] Lee D, Lee W Y, Jung K, et al. The inhibitory effect of cordycepin on the proliferation of MCF-7 breast cancer cells, and its mechanism: an investigation using network pharmacology-based analysis [J]. Biomolecules, 2019, 9(9):414.
- [15] Wang D, Zhang Y, Lu J, et al. Cordycepin, a natural antineoplastic agent, induces apoptosis of breast cancer cells via caspase-dependent pathways [J]. Nat Prod Commun, 2016, 11(1): 63-68.
- [16] Dong J, Li Y, Xiao H, et al. Cordycepin sensitizes breast cancer cells toward irradiation through elevating ROS production involving Nrf2 [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 364: 12-21.
- [17] Wang Y, Lü Y, Liu T S, et al. Cordycepin suppresses cell proliferation and migration by targeting CLEC2 in human gastric cancer cells via Akt signaling pathway [J]. Life Sci, 2019, 223: 110-119.
- [18] Nasser M I, Masood M, Wei W, et al. Cordycepin induces apoptosis in SGC-7901 cells through mitochondrial extrinsic phosphorylation of PI3K/Akt by generating ROS [J]. Int J Oncol, 2017, 50(3): 911-919.
- [19] 田爽, 于洪丹. 虫草素对人胃癌细胞系 HGC-27 的影响及分子机制 [J]. 中国现代应用药理学, 2019, 36(12): 1468-1472.
Tian S, Yu H D. Effects of cordycepin on human gastric cancer cell lines HGC-27 and its molecular mechanisms [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(12): 1468-1472.
- [20] Du Y, Yu J, Du L, et al. Cordycepin enhances Epstein-Barr virus lytic infection and Epstein-Barr virus-positive tumor treatment efficacy by doxorubicin [J]. Cancer Lett, 2016, 376(2): 240-248.
- [21] Choi S J, Ryu E, Lee S, et al. Adenosine induces EBV lytic reactivation through ADORA1 in EBV-associated gastric carcinoma [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 1286.
- [22] Yang C, Zhao L, Yuan W, et al. Cordycepin induces apoptotic cell death and inhibits cell migration in renal cell carcinoma via regulation of microRNA-21 and PTEN

- phosphatase [J]. Biomed Res, 2017, 38(5): 313-320.
- [23] Hwang I H, Oh S Y, Jang H J, et al. Cordycepin promotes apoptosis in renal carcinoma cells by activating the MKK7-JNK signaling pathway through inhibition of c-FLIPL expression [J] PLoS One, 2017, 12(10): e0186489.
- [24] 刘雯思, 孙明立, 于兆进, 等. 虫草素对人肾癌细胞 ACHN 凋亡的影响及其机制 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(18): 2213-2217.
- Liu W S, Sun M L, Yu Z J, et al. Effect of cordycepin on apoptosis of human renal carcinoma cell line ACHN and its mechanism [J]. Chin J New Drugs, 2017, 26(18): 2213-2217.
- [25] Hueng D Y, Hsieh C H, Cheng Y C, et al. Cordycepin inhibits migration of human glioblastoma cells by affecting lysosomal degradation and protein phosphatase activation [J]. J Nutr Biochem, 2017, 41: 109-116.
- [26] Baik J S, Mun S W, Kim K S, et al. Apoptotic effects of cordycepin through the extrinsic pathway and p38 MAPK activation in human glioblastoma U87MG cells [J]. J Microbiol Biotechnol, 2016, 26(2): 309-314.
- [27] 杨刚, 张永红, 郑茂华. 虫草素对胶质瘤细胞的增殖及侵袭作用的影响及机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(10): 1208-1212.
- Yang G, Zhang Y H, Zheng M H. Effect of cordycepin on proliferation and invasion of glioma cells and its mechanism [J]. Chin J Immunol, 2019, 35(10): 1208-1212.
- [28] Bi Y, Li H, Yi D, et al. Cordycepin augments the chemosensitivity of human glioma cells to temozolomide by activating AMPK and Inhibiting the AKT signaling pathway [J]. Mol Pharm, 2018, 15(11): 4912-4925.
- [29] Bi Y, Li H, Yi D, et al. β -catenin contributes to cordycepin-induced MGMT inhibition and reduction of temozolomide resistance in glioma cells by increasing intracellular reactive oxygen species [J]. Cancer Lett, 2018, 435: 66-79.
- [30] 何肇晴, 龚皓, 程杰, 等. 国产虫草素对Hela细胞MMP-9、TIMP-1及TIMP-1 mRNA表达的调节 [J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(9): 1615-1618.
- He Z Q, Gong H, Cheng J, et al. Regulation of cordycepin on MMP-9/TIMP-1 production and TIMP-1 mRNA expression of Hela cell [J]. J Mod Oncol, 2009, 17(9): 1615-1618.
- [31] Tania M, Shawon J, Saif K, et al. Cordycepin downregulates Cdk-2 to interfere with cell cycle and increases apoptosis by generating ROS in cervical cancer cells: *in vitro* and *in silico* study [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2019, 19(2): 152-159.
- [32] Seong D B, Hong S, Muthusami S, et al. Cordycepin increases radiosensitivity in cervical cancer cells by overriding or prolonging radiation-induced G2/M arrest [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 771: 77-83.
- [33] Fong P, Ao C N, Tou K I, et al. Experimental and *in silico* analysis of cordycepin and its derivatives as endometrial cancer treatment [J]. Oncol Res, 2019, 27(2): 237-251.
- [34] 黄羽琪, 童锌芯, 陶向, 等. 基于转录组测序的冬虫夏草虫草素生物合成研究 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 4044-4050.
- Huang Y Q, Tong X X, Tao X, et al. Study on biosynthesis of cordycepin in *Ophiocordyceps sinensis* based on RNA-seq [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(19): 4044-4050.
- [35] 崔琳琳, 袁甜, 王洋, 等. 虫草素的抗肿瘤与抗转移作用的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 356-362.
- Cui L L, Yuan T, Wang Y, et al. Research progress of cordycepin's anti-tumor and anti-metastatic effects [J]. Sci Technol Food Indus, 2021, 42(4): 356-362.
- [36] Fishman P, Bar-Yehuda S, Liang B T, et al. Pharmacological and therapeutic effects of A3 adenosine receptor agonists [J]. Drug Discov Today, 2012, 17(7/8): 359-366.
- [37] Fong P, Loi C I, U W F, et al. Antitumor effects of MRS5698, a cordycepin derivative, on endometrial cancer cells [J]. Nat Prod Commun, 2019, 14(10): 1-7.
- [38] 蒋宁, 刘红锦, 刘芳, 等. 虫草菌素研究与开发的现状与前景 [J]. 江西农业学报, 2011, 23(1): 121-123, 126.
- Jiang N, Liu H J, Liu F, et al. Current situation and prospects of cordycepin research and exploitation [J]. Acta Agric Jiangxi, 2011, 23(1): 121-123, 126.
- [39] Wu P K, Tao Z, Ouyang Z, et al. The anti-tumor effects of cordycepin-loaded liposomes on the growth of hepatoma 22 tumors in mice and human hepatoma BEL-7402 cells in culture [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2016, 42(9): 1424-1433.
- [40] Bi Y E, Zhou Y, Wang M, et al. Targeted delivery of cordycepin to liver cancer cells using transferrin-conjugated liposomes [J]. Anticancer Res, 2017, 37(9): 5207-5214.

[责任编辑 李红珠]