

雷公藤甲素抗卵巢癌的研究进展

吴沁航, 符士源

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要: 雷公藤甲素是从雷公藤中提取的环氧化二萜内酯化合物, 对卵巢癌体外培养细胞及体内实体瘤均有显著的抑制作用, 并可有效抑制耐顺铂卵巢癌细胞的生长。综合近年来国内外对雷公藤甲素抗卵巢癌的最新研究结果, 对雷公藤甲素抗卵巢癌的作用及其诱导卵巢癌细胞凋亡、干预细胞周期、抑制癌细胞转移等方面的机制进行综述。

关键词: 雷公藤甲素; 卵巢癌; 细胞凋亡; 细胞周期; 癌细胞转移; 作用机制

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)06-1049-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.06.029

Advances in studies on ovarian cancer treated by triptolide

WU Qin-hang, FU Shi-yuan

School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Triptolide is an epoxidated diterpene lactone compound separated from *Tripterygium wilfordii*. It has been reported that triptolide inhibits the growth of ovarian cancer cells *in vitro* and suppresses tumor growth *in vivo*. Triptolide could also sensitize ovarian cancer cells to cisplatin. Having combined the latest literatures on the effects of triptolide on ovarian cancer domestic and abroad, this article reviews the recent research advances in the anti-ovarian cancer activity of triptolide and its mechanisms which include inducing apoptosis of ovarian cancer cells, interfering in the cell cycle, and suppressing cell metastasis.

Key words: triptolide; ovarian cancer; cell apoptosis; cell cycle; cancer cell metastasis; mechanism of action

卵巢癌是较为常见的妇科恶性肿瘤, 严重影响了女性健康。有研究表明, 由于病灶位于盆腔深处, 早期病变难以被发现, 约有 70% 的患者在确诊时已处于癌症中晚期。临床上多以手术治疗为主、放化疗为辅的综合治疗方案, 但似乎疗效甚微, 大部分晚期卵巢癌患者出现复发及耐药现象, 5 年的生存率仅 30%^[1]。因此, 迫切需要寻找能逆转耐药及新的抗卵巢癌药物。雷公藤甲素 (triptolide, TP) 是中药雷公藤的主要活性成分, 具有广谱、高效的抗肿瘤活性^[2]。TP 对多种肿瘤均有抑制作用, 如黑素瘤、直肠癌、肺癌、中枢神经系统肿瘤等^[3-4]。近年来, TP 对妇科肿瘤的作用引起了国内外学者的关注, 体内外研究表明 TP 可显著抑制卵巢癌细胞的生长, 并可抑制耐顺铂细胞株的生长, 将其与传统药物合用治疗卵巢癌, 可增强癌细胞对药物的敏感性, 其机制主要与干预细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制肿瘤细胞转移有关。

1 TP 对卵巢癌细胞的抑制作用

1.1 单独对卵巢癌细胞作用

体外研究发现, TP 可显著抑制卵巢癌细胞株 A2780、SKOV-3 的增殖, 且随着浓度的增大、时间的延长, 其抑制率升高, 呈量-效、时-效关系, 其 48 h 半数抑制率 IC₅₀ 约为 34 nmol/L, 而其对正常的人卵巢上皮细胞 HIO-180 只有很小的影响, 提示 TP 对正常细胞和卵巢癌细胞的生长和增殖的抑制作用存在不同的机制^[5]。相比传统化疗药物顺铂、丝裂霉素和紫杉醇, TP 具有更强的抗肿瘤活性^[6]。此外, TP 对耐顺铂卵巢癌细胞株 OVCAR-3 也有显著的抑制作用, 通过干预细胞周期, 促进肿瘤细胞凋亡。

体内实验表明, TP 对荷卵巢癌大鼠具有一定的抑制作用, 且随着浓度的升高, 抑制肿瘤的作用越强^[7]。TP 可通过抑制大鼠体内动脉环新生微脉管的形成而抑制卵巢肿瘤的生长^[8]。用 TP 处理卵巢癌

收稿日期: 2015-07-09

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20133237120011); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 吴沁航 (1981—), 女, 博士, 讲师, 主要从事中药生物技术研究。Tel: (025)85811516 E-mail: wuqinhang@163.com

细胞移植鼠,可明显发现当给药剂量为 1 mg/kg 时,小鼠腹腔内转移瘤的数目减少了约 80%。

1.2 与其他药物联合作用

当前,临床上针对卵巢癌的治疗多采用铂类联合紫杉醇的化疗方案,但由于卵巢癌细胞对药物产生的耐受性,其疗效并不乐观^[9]。多药耐药蛋白 1 (multidrug resistance protein 1, MDR1) 是一种消耗 ATP 转运疏水性药物移出细胞液的跨膜蛋白,是肿瘤细胞对紫杉醇、阿霉素等传统化疗药物产生耐药的主要原因^[6]。研究显示,TP 可降低 MDR1 蛋白的表达,将其与化疗药物合用,可协同发挥疗效^[10]。TP 与紫杉醇联合使用可逆转卵巢癌细胞的耐药,增强药效,TP 与紫杉醇联合作用于耐顺铂上皮卵巢癌细胞 COC1/DDP,通过抑制 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路显著抑制癌细胞的增殖,促进其凋亡^[11]。在较低浓度下,TP 与顺铂联合使用对卵巢癌的抑制作用强于单独使用顺铂,其抑制率随时间延长明显增高^[12]。姜黄素是从姜黄中提取出来的一种黄色色素,具有抗肿瘤、抗炎等功效,TP 联合使用低浓度的姜黄素,可显著降低卵巢癌细胞中热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 27 和 70 的表达,促进卵巢癌细胞凋亡^[13-14]。雷公藤红素也是雷公藤中活性物质之一,具有抗肿瘤作用,TP 与雷公藤红素协同作用比单独使用 TP 或雷公藤红素对卵巢癌细胞的抑制作用强,使肿瘤细胞停滞于 G₂/M 期,并通过增加活性氧 (ROS) 的表达促进细胞凋亡^[15]。

2 TP 抗卵巢癌的作用机制

2.1 干预肿瘤细胞周期

一个细胞周期的顺利进行受到严格的调控,而当细胞周期出现了失控就会导致肿瘤的产生和增殖^[16]。周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, CDK) 和周期蛋白 (cyclin) 协同作用,调控细胞周期^[17]。P21 是 CDKs 的一种抑制剂,促进 P21 的表达可抑制 cyclin-CDK 复合物的形成。Wu 等^[5]研究发现 TP 通过激活 P53,与 DNA 结合后可促进 P21 的表达,进而抑制细胞周期蛋白复合物 G1-S/CDK2 和 G2-M/Cdc2 的形成,阻滞卵巢癌细胞的 G₁/S 期和 G₂/M 期。

2.2 抑制 HSP 的表达

HSP 是高度保守蛋白,在保护细胞对抗不利的环境因素中起重要作用。HSP 的高表达被认为是许多癌症发生的信号,HSP27、HSP70 和 HSP90 的表达与癌症密切相关。有研究表明 HSP70 被认为是卵

巢肿瘤侵袭的标志物,当其在腹腔和胸腔积液中表达水平上升时,意味着患者有较低的生存率^[18]。此外,HSP27 在药物的耐受中发挥重要作用,并在药物耐受的卵巢癌细胞中大量表达,研究认为 HSP27 是治疗化疗耐受肿瘤的潜在作用位点^[19]。TP 可下调 HSP27 和 HSP70 的表达,其机制为抑制热休克转录因子 HSF1 的活性,减少分子伴侣的表达,使敏感细胞应激性死亡,从而有利于卵巢癌的治疗^[20]。

2.3 抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 的激活

NF- κ B 是涉及炎症反应的细胞核因子,参与调控细胞生长、增殖过程中的转录,在肿瘤的发生发展过程中起重要作用^[21]。NF- κ B 是核蛋白 P50 和 P65 的异质二聚体,调控着许多基因的转录。NF- κ B 可通过激活抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 XIAP 抑制细胞的凋亡,从而导致肿瘤细胞对药物的耐受,因此 NF- κ B 被认为是许多卵巢癌耐化疗药物的主要原因。Zhong 等^[22]研究发现,TP 通过抑制线粒体复合物 I,促进 ROS 的表达而抑制 NF- κ B 的激活,进而下调 Bcl-2 和 XIAP 的表达,并激活 Caspase-3 通路,促进耐顺铂卵巢癌细胞的凋亡。此外,TP 可抑制人表皮生长因子受体 (human epidermal growth factor receptor, HER) 2 的转录,其结合部位位于 HER 2 启动子上游 207 和 103 bp 处,而该部位含有 NF- κ B 的结合位点,TP 通过抑制 NF- κ B 活性,下调 HER 2 的磷酸化,进而抑制其下游的 PI3K/Akt 信号通路,促进卵巢癌细胞的凋亡^[23]。

2.4 抑制缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 的转录

HIF-1 α 是一种调控组织细胞对缺氧适应性反应的转录因子,其调节的基因涉及血管发生、细胞能量代谢以及细胞信号转导等,与肿瘤的发生发展、血管再生及耐药密切相关^[24-25]。由于 HIF-1 α 在肿瘤血管生成中的重要作用,其可作为卵巢癌治疗的一个潜在靶点^[26]。Zhou 等^[8]研究发现 TP 可有效抑制卵巢癌细胞 SKOV-3 的增殖,其机制为 TP 显著性抑制 SKOV-3 细胞中 HIF-1 α mRNA 的转录活性,剂量依赖性抑制其下游基因血管内皮生长因子 (VEGF)、Bcl-2、碳酸酐酶 IX 的表达;并且通过特异性 HIF-1 α siRNA 干扰技术,可有效逆转 TP 对卵巢癌细胞的生长抑制及促进细胞凋亡作用,表明 HIF-1 α 蛋白上调参与了 TP 对 SKOV-3 细胞的细胞毒作用。

2.5 抑制基质金属蛋白酶的表达

肿瘤细胞的扩散是造成癌症患者死亡的主要

原因。卵巢癌细胞的扩散源自于直接转移以及侵袭相邻组织,且其扩散与一系列复杂的蛋白水解有关,包括降低细胞外基质蛋白的表达和基底膜的形成^[27]。基质金属蛋白激酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一种在癌细胞生长进程中发挥重要作用的蛋白水解酶,其通过下调基底膜的组分,增强细胞的运动性以及淋巴结的转移,并以此促进癌细胞进入血管内渗和扩散。Zhao 等^[28]研究发现 TP 可在 mRNA 和蛋白质水平显著抑制卵巢癌细胞中 MMP7 和 MMP19 的表达,其抑制作用与 TP 呈浓度依赖性。

此外,癌细胞扩散和转移的一个重要步骤是需要从周围的细胞中脱离出来。细胞通过细胞与细胞之间的黏附因子结合在一起,而 E-钙黏蛋白在哺乳动物细胞的黏连中起着重要作用。抑制 E-钙黏蛋白的表达,可以促进癌细胞的分离和转移^[29]。研究表明,TP 可在体外显著增加 SKOV3 和 A2780 细胞中 E-钙黏蛋白的表达,通过上调 E-钙黏蛋白的表达,增加细胞之间的黏附,从而减少卵巢癌细胞的转移和侵袭^[28]。

2.6 其他作用机制

TP 抗卵巢癌的作用位点不断被发现。分泌型卷曲相关蛋白 1 (secreted frizzled-related protein 1, SFRP1) 与 Wnt 受体的胞外区半胱氨酸富集结合域同源。SFRP1 与卷曲蛋白结合形成异二聚体使 Wnt 受体形成无功能性受体复合物,从而负调控 Wnt 信号通路。Li 等^[30]研究发现, SFRP1 基因沉默可通过 Wnt 途径激活肿瘤细胞,促进肿瘤细胞的生长,而恢复 SFRP1 的表达则可抑制肿瘤细胞的转移和侵袭。TP 可促进 SFRP1 的表达,进而抑制卵巢癌细胞的转移。

白细胞源性精氨酸氨肽酶 (leukocyte-derived arginine aminopeptidase, LRAP) 位于内质网,参与内源性抗原肽的修饰和递呈,可促进人白细胞相关抗原 I (HLA I) 结合抗原肽;降低白细胞源性精氨酸氨肽酶 (LRAP) 的表达可修复受损抗原,并帮助肿瘤细胞逃逸免疫监控。TP 可上调 LRAP 的表达,通过修整结合到 HLA I 上的抗原肽而使 T 淋巴细胞识别并杀灭卵巢癌细胞。

3 结语

卵巢癌作为严重影响女性生命健康的五大恶性肿瘤之一,长期以来都是学术界关注和研究的对象。由于卵巢癌细胞对目前临床上常用的治疗方案存在

一定的耐药性,学者们一直在寻找和开发疗效更为显著的药物。TP 是中药雷公藤的有效成分,其具有广泛的药理作用,可多方向、多途径、交叉发挥抗肿瘤作用。近年来将其用于抗卵巢癌的研究引起了广泛的关注,多项研究证明,TP 对卵巢癌细胞具有抑制细胞增殖、阻断细胞周期、诱导细胞凋亡以及抑制癌细胞的转移和侵袭作用,并且一些传统化疗药物耐药的卵巢癌细胞对 TP 敏感,其有望成为一种新型的抗肿瘤药物用于卵巢癌的治疗。

目前,TP 抗卵巢癌的作用靶点不断被发现,但其抗卵巢癌的作用机制还尚不明确,其临床应用还受到局限。因此,在现有研究基础上还需进一步加深对 TP 抗卵巢癌作用机制的基础和临床研究,以充分发挥 TP 抗卵巢癌的优势,并不断发掘药物联用的合理方案,为中药抗卵巢癌研究提供理论基础和新思路。

参考文献

- [1] Poveda V A, Casado H A, Cervantes R A, *et al.* Treatment guidelines in ovarian cancer [J]. *Clin Transl Oncol*, 2007, 9(5): 308-316.
- [2] Liu Q Y. Triptolide and its expanding multiple pharmacological functions [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(2): 377-383.
- [3] 骆永伟, 施 畅, 廖明阳, 等. 雷公藤甲素抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2024-2026.
- [4] Li X J, Jiang Z Z, Zhang L Y. Triptolide: progress on research in pharmacodynamics and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1): 67-79.
- [5] Wu J, Li Q Q, Zhou H, *et al.* Selective tumor cell killing by triptolide in p53 wild-type and p53 mutant ovarian carcinomas [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(7): 14-25.
- [6] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(1): 65-72.
- [7] 邹党华, 谭布珍, 黄艳琴, 等. 小剂量雷公藤内酯醇对荷卵巢癌大鼠体内抑瘤作用的观察 [J]. 江西医学院学报, 2009, 49(2): 110-111.
- [8] Zhou Z L, Luo Z G, Bing Y, *et al.* Increased accumulation of hypoxia-inducible factor-1 α with reduced transcriptional activity mediates the antitumor effect of triptolide [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(1): 1-11.
- [9] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2008, 58(2): 71-96.
- [10] Guo Q, Nan X X, Yang J R, *et al.* Triptolide inhibits the multidrug resistance in prostate cancer cells via the

- down-regulation of MDR1 expression [J]. *Neoplasma*, 2013, 60(6): 598-604.
- [11] 刘 斐, 谭布珍. 雷公藤内酯醇联合紫杉醇对 COC1/DDP 细胞凋亡的影响及其对 PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路的调控 [J]. 现代妇产科进展, 2013, 22(12): 945-950.
- [12] 张雪梅, 侯敏敏, 陈 悦, 等. 雷公藤内酯醇对卵巢癌细胞株 A2780 作用的实验研究 [J]. 华西医学, 2008, 23(2): 423-623.
- [13] Cai Y Y, Lin W P, Li A P, *et al.* Combined effects of Curcumin and triptolide on an ovarian cancer cell line [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(7): 4267-4271.
- [14] Yin H T, Zhang D G, Wu X L, *et al.* In vivo evaluation of curcumin-loaded nanoparticles in an A549 xenograft mice model [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(1): 409-412.
- [15] Jiang Q W, Cheng K J, Mei X L, *et al.* Synergistic anticancer effects of triptolide and celastrol, two main compounds from thunder god vine [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32790-32804.
- [16] Hung F M, Chen Y L, Huang A C, *et al.* Triptolide induces S phase arrest via the inhibition of cyclin E and CDC25A and triggers apoptosis via caspase and mitochondrial dependent signaling pathways in A375. S2 human melanoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(3): 1053-1060.
- [17] 刘 媛, 陈 燕, 赵 菲, 等. 雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞周期及 P21 wap1/cip 1 和 p27 kip1 表达的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1819-1823.
- [18] Hunt C R, Geller M, Evans C, *et al.* Inhibition of epithelial ovarian cancer by Minnelide, a water-soluble pro-drug [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 135(2): 318-324.
- [19] Langdon S P, Rabiasz G J, Hirst G L, *et al.* Expression of the heat shock protein HSP27 in human ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 1995, 1(12): 1603-1609.
- [20] Westerheide S D, Kawahara T L, Orton K, *et al.* Triptolide, an inhibitor of the human heat shock response that enhances stress-induced cell death [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(14): 9616-9622.
- [21] Li M, Wang X, Liu M, *et al.* NF- κ B signaling inhibition and anticancer activities of LLDT-246 on human colorectal cancer HCT-116 cells *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(5): 527-535.
- [22] Zhong Y Y, Chen H P, Tan B Z, *et al.* Triptolide avoids cisplatin resistance and induces apoptosis via the reactive oxygen species/nuclear factor- κ B pathway in SKOV3PT platinum-resistant human ovarian cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(4): 1084-1092.
- [23] Ou C C, Chen Y W, Hsu S C, *et al.* Triptolide transcriptionally represses HER2 in ovarian cancer cells by targeting NF- κ B [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 1-10.
- [24] Rankin E B, Giaccia A J. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 678-685.
- [25] Marín-Hernández A, Gallardo-Pérez J C, Ralph S J, *et al.* HIF-1 α modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over-expression of specific glycolytic isoforms [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9(9): 1084-1101.
- [26] 罗 军, 彭芝兰, 杨开选, 等. 应用组织芯片技术研究卵巢癌组织中缺氧诱导因子 1 α 与血管生成的关系 [J]. 中华妇产科杂志, 2005, 40(1): 38-41.
- [27] Coussens L M, Fingleton B, Matrisian L M. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations [J]. *Science*, 2002, 295(5564): 2387-2392.
- [28] Zhao H X, Yang Z F, Wang X H, *et al.* Triptolide inhibits ovarian cancer cell invasion by repression of matrix metalloproteinase 7 and 19 and upregulation of E-cadherin [J]. *Exp Mol Med*, 2012, 44(11): 633-641.
- [29] Cavallaro U, Schaffhauser B, Christofori G. Cadherins and the tumor progression: is it all in a switch? [J]. *Cancer Lett*, 2002, 176(2): 123-128.
- [30] Li H L, Takai N, Yuge A, *et al.* Novel target genes responsive to the anti-growth activity of triptolide in endometrial and ovarian cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2010, 297(2): 198-206.