

雷公藤红素单用和联用抗肿瘤作用机制的研究进展

徐资怡, 石金凤, 鲜 静, 张 晨*, 章津铭*

成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

摘 要: 雷公藤红素是雷公藤中的主要活性成分之一, 现代研究表明, 雷公藤红素具有广谱、高效的抗肿瘤活性, 其抗肿瘤作用机制包括抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞转移、诱导肿瘤细胞自噬等作用, 同时雷公藤红素联合用药还具有协同增敏、逆转肿瘤多药耐药的作用。综述了近几年雷公藤红素单用及联合用药抗肿瘤的作用机制, 此外还总结了目前用于雷公藤红素药物递送系统, 并对未来研究方向加以讨论, 旨在阐明雷公藤红素作用机制, 通过联合用药以及改变递药系统提高雷公藤红素抗肿瘤效果, 为今后雷公藤红素的研究与应用提供参考, 以促进雷公藤红素的研究和临床应用。

关键词: 雷公藤; 雷公藤红素; 抗肿瘤活性; 作用机制; 联合用药; 纳米载药系统

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)14-4372-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.14.030

Research progress on anti-tumor mechanism of celastrol alone and in combination

XU Zi-yi, SHI Jin-feng, XIAN Jing, ZHANG Chen, ZHANG Jin-ming

College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Celastrol is one of the main active constituents from *Tripterygium wilfordii*. Modern studies have shown that celastrol exhibits broad-spectrum and highly effective anti-tumor activity. Its anti-tumor mechanism includes inhibition of tumor cell proliferation, metastasis, autophagy and so on. At the same time, celastrol combined with other drugs also has the effect of synergistic sensitization and reversing tumor multidrug resistance. The anti-tumor mechanism of celastrol alone and in combination are reviewed in recent years in this paper. In addition, the current drug delivery system for celastrol is summarized, and the future research directions are discussed, aiming to explore the mechanism of celastrol, and improve the anti-tumor effect of celastrol by combining drugs and changing the delivery system, which provide a reference for the future research and application of celastrol to promote the research and clinical application of celastrol.

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; celastrol; anti-tumor activity; mechanism; combination therapy; nanoparticles drug delivery system

近年来, 全球肿瘤发病率和死亡率正在迅速增长, 恶性肿瘤严重危害了人们的健康, 影响了人们的正常生活^[1]。化疗是目前肿瘤治疗的主要方式, 但大多数化疗药物水溶性较差、生物利用度不高且化疗药物对正常细胞的非选择性作用, 大多数常规化疗患者出现严重的不良反应^[2]。中药活性成分具有高效、低毒、作用广和靶点多等优势, 可有效克服或弥补化疗药物严重的不良反应和肿瘤耐药性^[3], 这使得中药活性成分逐渐成为研究热点, 通过研究中药活性成分以获得更好的肿瘤治疗。

雷公藤红素又名南蛇藤素, 是从卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f.中提取的五环三萜类单体化合物, 除了具有抗炎、抗风湿、止痛、治疗神经性退化疾病等多种药理活性, 还具有显著的抗肿瘤活性, 对前列腺癌、肺癌、肝癌、白血病、胶质瘤、结肠癌、卵巢癌、乳腺癌、胃癌等细胞均有抑制作用^[4-8]。现代研究表明, 雷公藤红素具有广谱、高效的抗肿瘤活性, 与传统抗肿瘤药物相比, 自身细胞毒性作用轻, 抗肿瘤活性更强, 并能表现出明显的放疗及化疗增敏作用^[9]。随着近年来雷公

收稿日期: 2020-12-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973662); 四川省杰出青年科技人才项目 (2019JDJQ0049)

作者简介: 徐资怡 (1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药新制剂研究与开发。Tel: 15680619032 E-mail: 982916034@qq.com

*通信作者: 章津铭, 教授, 主要从事中药新剂型与新制剂研究。Tel: 13551043885 E-mail: cdutcmzjm@126.com

张 晨, 讲师, 主要从事中药新剂型与新制剂研究。Tel: 18782916423 E-mail: chen-zhang_1990@126.com

藤红素研究的深入,其广泛的应用和独特的优势使其有望成为抗肿瘤的有效药物。本文综述了近几年雷公藤红素单用及联用抗肿瘤作用机制及其递药系统的研究进展,以期为今后雷公藤红素的深入研究和广泛应用奠定基础。

1 抗肿瘤作用机制

1.1 抑制肿瘤细胞增殖

肿瘤细胞具有无限增殖的特性,雷公藤红素可以通过促进肿瘤细胞凋亡、诱导肿瘤细胞自噬、阻滞细胞周期等抑制肿瘤细胞增殖,从而达到治疗肿瘤的作用。

1.1.1 诱导肿瘤细胞凋亡 细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由基因控制的细胞程序性死亡,通过一系列基因的激活、表达以及调控等作用,其异常功能是肿瘤生长和抗肿瘤发展的基础。由雷公藤红素介导的细胞凋亡主要通过 3 种通路实现:线粒体参与的内源性信号通路、外源性信号通路和内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)介导的细胞凋亡。

线粒体参与的内源性信号途径主要是由关键调节因子 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma 2, Bcl-2) 家族蛋白导致的线粒体膜的破坏或通透,从而导致细胞色素 c (cytochrome c, Cyt-c) 的释放和其他凋亡因子的表达。在细胞质中, Cyt-c 与三磷酸腺苷形成一种称为凋亡酶激活因子的复合物,该复合物激活半胱氨酸天门冬氨酸特异的蛋白酶 9 (cysteine/aspartate specific proteinase-9, Caspase-9) 进而激活下游 Caspase-3 等相关靶点^[10]。Bcl-2 家族蛋白包括抗凋亡 Bcl-2 家族蛋白 (Bcl-2、Bcl-xL 和 Survivin) 和凋亡前 Bcl-2 家族蛋白 [B 淋巴细胞瘤-2 基因相关启动子 (Bcl-2 associated death promoter, Bad)、Bcl 相关 X 蛋白 (Bcl-associated X protein, Bax)、BH3 结构域凋亡诱导蛋白 (BH3 interacting domain death agonist, Bid) 和 Bcl-2 细胞死亡调节因子 (Bcl-2 interacting mediator of cell death, Bim)], 他们通过调节 Cyt-c 的释放来抑制或促进细胞凋亡^[11-13]。Yang 等^[14]在研究雷公藤红素对人乳腺癌 MCF-7 细胞的作用机制时发现,雷公藤红素通过降低 Bcl-2 表达,增加 Bax 表达来诱导 Cyt-c 和凋亡诱导因子释放从而使得 Caspase-7、8、9 活化,诱导聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 裂解以及 Caspase-8 介导的 Bid 裂解。雷公藤红素还可以通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidyl

inositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 途径诱导细胞凋亡^[15]。当用雷公藤红素 5 $\mu\text{mol/L}$ 和拉帕替尼 5 $\mu\text{mol/L}$ 组合处理人乳腺癌 MDA-MB-453 细胞时,可以在体外生长抑制和凋亡方面显示出强大的协同作用,表明凋亡相关蛋白 (Caspase-9、3) 与生长途径相关蛋白 [人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2)、磷酸化 HER2 (p-HER2)、磷酸化 Akt (p-Akt) 和磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (phosphorylated extracellular regulated protein kinases 1/2, p-ERK1/2)] 的下调^[15]。雷公藤红素处理后的细胞线粒体通透性发生改变,使得线粒体膜电位破坏^[16]。另外有研究发现雷公藤红素可以通过抑制肽基脯氨酰顺/反异构酶 (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1, Pin1) 表达,从而抑制 Akt、信号转导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、p38、c-Jun 氨基端激酶 (c-Junamino-terminal kinases, JNK)、p65 和白细胞介素 (interleukin, IL)-6 表达^[17]。Zhang 等^[18]研究表明雷公藤红素 2、4 $\mu\text{mol/L}$ 处理 2 d 后,人卵巢癌 OVCAR3 细胞中 *miRNA-21* 的相对表达水平降低, *miRNA-21* 表达的下调会导致细胞 OVCAR3 中 PI3K/Akt-核转录因子 (nuclear transcription factor- κB , NF- κB) 的表达水平降低,从而通过线粒体途径诱导细胞凋亡。

死亡受体介导的外源性信号通路是通过促凋亡配体与促凋亡受体结合导致死亡诱导信号复合体的形成^[19],如自杀相关因子 (factor associated suicide, Fas)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- αR 、DR3、DR4 和 DR5 等死亡受体通过激活配体诱导细胞凋亡。雷公藤红素通过增加 TNF 受体 (TNF receptor, TNFR)-1、TNFR-2、Fas、DCR2、DR5、RIP 和 TNFR 相关死亡结构域蛋白的表达来诱导口腔癌 SASV16 细胞凋亡^[20]。NF- κB 途径是细胞因子刺激、细胞周期、凋亡和血管生成的关键调节因子^[21]。Ni 等^[22]在使用雷公藤红素处理骨髓瘤细胞后,采用免疫印迹法对 NF- κB 信号通路进行了检测, NF- κB 和 I κB 激酶 α (I κB kinase α , IKK α) 的表达降低,用免疫荧光法检测雷公藤红素处理后 NF- κB p65 亚基的核转位,结果表明雷公藤红素以时间相关的方式有效地阻止了 p65 亚基的核转位和 NF- κB 抑制蛋白 α (inhibitor of NF- κB , I $\kappa\text{B}\alpha$) 裂解。此外, Mou 等^[23]发现雷公藤红素作用人肺癌 A549 细胞 48 h 后

激活自杀相关因子配体与 Fas 结合, 并通过激活 Caspase-8 触发外部途径细胞凋亡。雷公藤红素可以减弱豆蔻酰佛波醇乙酯、TNF- α 对 *IL-6* 基因表达的激活作用, 下调 IKK α 、p50 和 p65 的表达, 通过 NF- κ B 依赖途径下调 *IL-6* 基因表达, 达到抑制前列腺癌细胞增殖的目的^[24]。TNF 相关凋亡诱导配体 (TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 是 TNF 超家族成员之一, 其与 DR4/DR5 结合可诱导细胞凋亡。在研究雷公藤红素诱导骨肉瘤细胞凋亡的实验中, Li 等^[25]发现雷公藤红素可以上调外源性凋亡途径蛋白 DR5 的表达。

ERS 是细胞的一种保护机制, 但是当长时间过度应激或功能障碍时, 可能会诱导凋亡。ERS 通常伴随着能诱导 ERS 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成的增加, 过多的 ROS 水平干扰氧化还原动态平衡从而诱导细胞凋亡^[26-27]。同时, ERS 也会导致线粒体功能障碍, 增加线粒体 ROS 生成^[28]。研究表明, 雷公藤红素可以诱导 JNK 的激活进一步的诱导 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP), 从而诱导 DR5 死亡受体的表达, 最终引起细胞凋亡^[29]。在用雷公藤红素 1 μ mol/L 处理 MCF-7 细胞后, 发现雷公藤红素可以通过 ROS-蛋白激酶 C-AMP 活化蛋白激酶-p53 蛋白-Polo 激酶 1 通路诱导细胞凋亡^[30]。同样, Chen 等^[27]发现雷公藤红素诱导 ROS 积聚激活 JNK, 进而启动线粒体介导的细

胞凋亡。雷公藤红素通过 ROS 积聚诱导 HSP90 客户蛋白表达下调, 并通过抑制线粒体呼吸链复合体 I 活性促进 ROS 积聚。雷公藤红素诱导产生的 ROS 可以激活多种信号通路, 如包括 p38、JNK 和 ERK1/2 在内的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 家族成员进而诱发细胞凋亡^[31]。研究表明, 雷公藤红素 3 μ mol/L 处理人骨肉瘤 HOS 细胞 24 h 可诱导发生凋亡, 该作用是通过上调 ERS 相关蛋白 [兔抗人结合免疫球蛋白 (binding immunoglobulin protein, BiP)、p-蛋白激酶样内质网激酶、肌醇依赖酶 1 α 、钙联蛋白和蛋白质二硫键异构酶]、凋亡相关蛋白 (CHOP、Caspase-12) 和 Caspase-3 的表达等^[32]。Yoon 等^[33]发现雷公藤红素通过诱导细胞凋亡来杀死乳腺和结肠癌细胞系, 这种细胞死亡模式的特征是通过扩张内质网和线粒体而出现广泛的空泡化。雷公藤红素诱导活化转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4)、CHOP、赖氨酸-天冬氨酸-谷氨酸-亮氨酸受体的积累, 同时通过线粒体钙离子单向转运体介导的线粒体 Ca^{2+} 摄取、三磷酸肌醇受体介导的内质网 Ca^{2+} 释放诱导内质网应激。雷公藤红素通过诱导线粒体功能障碍从而增加 ROS 生成, 破坏线粒体膜, 促进 Cyt-c 的释放, 进而激活 Caspase-3 和 Bax 的表达, 诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡^[34]。雷公藤红素诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制见图 1。

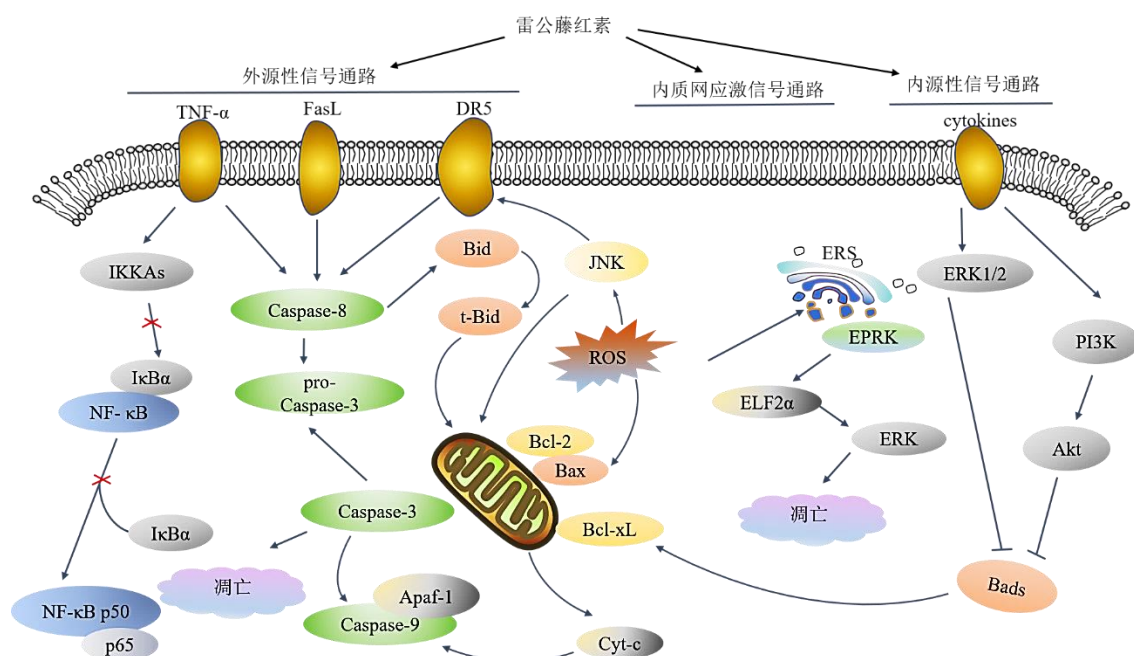


图 1 雷公藤红素诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制

Fig. 1 Mechanisms of celastrol inducing apoptosis in tumor cells

1.1.2 阻滞细胞周期 细胞周期的调控由细胞周期蛋白 (Cyclin)、细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs)、CDKs 抑制剂三者共同协调完成^[35]。研究表明,雷公藤红素通过下调 *miR-21* 的表达明显抑制细胞增殖,并抑制细胞增殖相关蛋白 Cyclin D1 和 CDK6 的表达,诱导 G₂/M 细胞周期阻滞^[36]。雷公藤红素上调 G₂/M 期相关蛋白细胞周期检测点激酶 2 (checkpoint kinase 2, Chk2)、磷酸化 Chk2 (phosphorylate Chk2, p-Chk2)、p-周期蛋白依赖性激酶 1 (cyclin-dependent kinases 1, Cdc2) 和 p-Cdc25C 的表达,下调 Cdc25C 的表达,增加 Cyclin B1 的表达。此外,雷公藤红素还增加了 p21 的蛋白质水平,阻断 Cdk1/Cyclin B1 的激活^[31]。Li 等^[17]分别用雷公藤红素 0.25、0.5、1 μmol/L 处理

人卵巢癌 SKOV3 细胞 24 h,当雷公藤红素剂量为 1 μmol/L 时可以显著抑制 Cyclin D1、CDK2、CDK4 和 Bcl-2 的下调以及 Caspase-3 的增加,从而显著抑制 G₂/M 期细胞的活力并诱导凋亡和细胞周期停滞。另一项研究表明雷公藤红素通过上调 p-Chk2、Chk2、p-Cdc25C、p-Cdc2、p21 和 Cyclin B1 的表达,并下调 Cdc25C 和 Cdc2 的表达,诱导 G₂/M 期的细胞蓄积,并且 G₀/G₁ 和 S 期相应减少^[25]。Cyclin E 是一种核蛋白,与 CDK2 缔合,并在 G₁ 期晚期形成活性复合物,引导其进入 S 期。在雷公藤红素处理的人骨髓瘤 RPMI-8226 细胞中发现通过下调 Cyclin D1 和 Cyclin E 水平,上调 p21 和 p27 水平诱导细胞凋亡^[37]。雷公藤红素阻滞肿瘤细胞周期的作用机制见图 2。

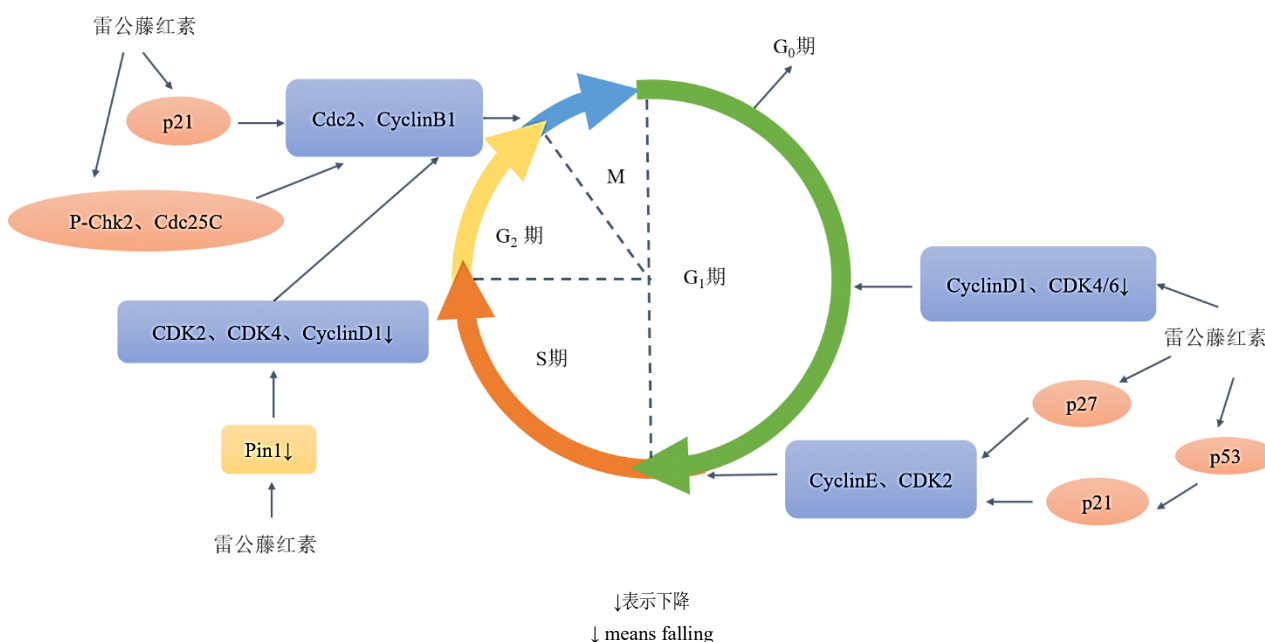


图 2 雷公藤红素阻滞肿瘤细胞周期的作用机制

Fig. 2 Mechanism of celastrol blocking tumor cell cycle

1.2 抑制肿瘤细胞转移

癌症患者的死亡通常是由于肿瘤细胞转移造成的。细胞黏附是肿瘤细胞转移级联过程中的关键步骤,阻断这一步骤被认为是预防和治疗肿瘤转移的合理策略。实体瘤的生长和转移依赖于新形成的邻近血管的血液供应。因此,肿瘤血管成为潜在治疗干预的关键靶点^[38]。据研究报道,雷公藤红素抑制 β-1 整合素介导的活性从而抑制人脐静脉内皮 HUVECs 细胞与纤连蛋白的黏附。Ke 等^[38]用 1.0、2.0、4.0、8.0 μg/mL 雷公藤红素作用于 HUVECs 细胞 1 h,细胞黏附率分别降至 87%、68%、52%、46%。

此外,有研究发现,用雷公藤红素处理人肺癌 95-D 细胞和小鼠黑色素瘤 B16F10 细胞,可以明显抑制该细胞外基质黏附。这种抑制是通过增强 β-1 整合素配体亲和力以及降低黏着斑激酶磷酸化实现的^[39]。研究发现脂多糖通过激活细胞表面受体 toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 促进血管生成,雷公藤红素可以下调脂多糖诱导的人多发性骨髓瘤 Lp-1 细胞上 TLR4 的表达^[40]。雷公藤红素还可以抑制血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 分泌以及 Akt/一氧化氮合酶信号转导^[41]。关于雷公藤红素抑制肿瘤细胞迁移的通路,有报道

表明雷公藤红素诱导人前列腺癌 PC-3 细胞凋亡并抑制 Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)/p70 核糖体蛋白 S6 激酶 (p70 ribosomal protein S6 kinase, p70S6K) 通路。研究者用 VEGF 50 ng/mL 和雷公藤红素 0、0.5、1、2、5 $\mu\text{mol/L}$ 共同处理 PC-3 细胞后, 发现雷公藤红素以浓度相关地方式有效抑制 VEGF 触发的 HUVECs 细胞的 mTOR 信号级联反应, 包括 Akt、mTOR 和 S6K 激酶的激活, 提示雷公藤红素通过阻断 mTOR 信号通路抑制肿瘤血管生成^[42]。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是癌症侵袭的重要组成部分, 用雷公藤红素 0、0.1、0.5、1 $\mu\text{mol/L}$ 处理 HepG2 细胞后, 通过免疫印迹法检测到雷公藤红素以剂量相关地方式显著降低 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平, 进一步的研究发现抑制 *miR-224* 的表达可以降低 MMP-9 的蛋白水平^[43]。同样, Ma 等^[44]发现雷公藤红素通过抑制 mTOR/p70S6K/真核生物翻译起始因子 4E 和 ERK 信号通路来抑制缺氧诱导的缺氧诱导因子 1 α 的激活, 从而抑制 VEGF 的表达。

1.3 诱导肿瘤细胞自噬

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, 从而实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器的更新。p62 在氧化应激反应途径中起着关键作用^[45]。p62 表达的增加也可能与 ROS 的产生有关。Liu 等^[31]发现雷公藤红素触发了自噬, 并上调了程序性死亡受体-1 和微管相关蛋白轻链 3B (microtubule-associated protein light chain 3B, LC3B) 的表达以及 p62 的水平, 通过激活 ROS/JNK 信号通路和抑制 Akt/mTOR 信号通路, 同时触发胶质瘤细胞凋亡和自噬。同样, 在 HOS 细胞和人骨肉瘤 MG-63 细胞中, Li 等^[25]发现雷公藤红素诱导的 LC3B-II 表达的增加。雷公藤红素 1.2 $\mu\text{mol/L}$ 作用于人宫颈癌 HeLa 细胞 12 h, 可观察到 LC3 点的形成和聚集, 提示雷公藤红素可诱导自噬小体的形成。雷公藤红素处理的 HeLa 细胞 12 h 内, 上调自噬标志物 LC-3I 转化为 LC-3II 和 LC3 来诱导肿瘤细胞系^[46]。此外, Guo 等^[47]发现雷公藤红素下调雄激素受体及其靶标 *miR-17-92a*, 从而导致前列腺癌细胞自噬。

1.4 抑制炎症应激

炎症被认为是对病原体或受损细胞的生物反

应。长时间的炎症应激会引起过敏症状和许多疾病的进展, 包括肿瘤的生成。炎症的发生通常与 NF- κ B 调节的细胞因子有关, 如 TNF- α 和 IL-1 β , 然后抑制 TNF- α 诱导的抗凋亡 (如 Bcl-2、Bcl-xL 和 Survivin)、侵袭 (如 MMP-9) 和血管生成相关蛋白的基因表达来发挥抗肿瘤作用。雷公藤红素已显示出对炎症介导的肿瘤细胞的保护作用。研究发现, 雷公藤红素可以通过调节 Notch 信号通路抑制肿瘤增殖, 诱导人白血病 U937 细胞凋亡^[48]。在人脑星形胶质瘤细胞中, 雷公藤红素下调黏附分子 (如细胞间粘附分子-1/血管细胞粘附分子 1) 和趋化因子 [如单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, CCL2)、CXC 趋化因子 8 (C-X-C motif chemokine ligand 8, CXCL8) 和 CXCL10] 的表达。研究者通过使用雷公藤红素处理人脑星形胶质瘤 CRT-MG 细胞发现雷公藤红素通过抑制 JNK-MAPK-STAT1/NF- κ B 信号调节促炎介质的表达^[49]。同样, 另一项研究发现, 雷公藤红素通过 NF- κ B 调节的趋化因子 (CCL2、CXCL10、CXCL12、CCR2 和 CXCR4) 基因抑制人类风湿关节炎成纤维样滑膜 RA-FLSS 细胞的增殖和侵袭^[50]。

2 联合用药

2.1 抗肿瘤作用机制

雷公藤红素作为目前具有抗肿瘤前景的中药活性成分之一, 雷公藤红素的临床应用受到了严重的肝、肾毒性以及免疫抑制限制。迄今为止, 对于许多类型的肿瘤, 联合治疗被认为是临床上优选的治疗过程。药物联合使用产生的协同作用可以提高单独用药治疗功效, 从而减少每种药物的剂量, 为患者带来更好的耐受性, 减轻药物毒副作用。此外由于不同药物的不同作用机制, 单一用药经常会使肿瘤细胞产生耐药性, 联合疗法降低了耐药性的风险。因此, 雷公藤红素联合用药为肿瘤治疗提供了新的机遇。具体联合作用机制主要包括抗肿瘤多药耐药性 (multidrug resistance, MDR)、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞转移、阻滞细胞周期、诱导肿瘤细胞自噬等。

2.1.1 协同增敏, 逆转肿瘤 MDR 肿瘤 MDR 是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生抗药性的同时, 对于结构和作用机制不同的多种化疗药物表现出的交叉抵抗现象, 是肿瘤难治疗、易复发的主要原因之一。研究表明, 雷公藤红素联合其他药物增敏是解决肿瘤 MDR 的一种可靠方法。Lu 等^[51]发现 TNF-

α 与醉茄素 A 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 或雷公藤红素 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 联合作用时,以剂量相关地方式激活 Caspase-3、9,下调 X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP),诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡。这种结合还导致蛋白酶体靶蛋白 I κ B α 的积累,从而抑制 NF- κ B 信号的激活,从而使 MDA-MB-231 细胞对醉茄素 A 和雷公藤红素增敏。有研究者探讨了雷公藤红素联合表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKIs) 对 T790M 突变人肺癌 H1975 细胞生长的影响及可能的机制,结果发现联合用药抑制 H1975 细胞 EGFR、STAT3、p-Akt 和 p-ERK 的表达和磷酸化,提示通过抑制 p-EGFR 途径抑制 H1975 细胞的侵袭^[52]。同时,体内实验也证明了雷公藤红素联合 EGFR-TKIs 对小鼠肿瘤生长具有更显著的抑制作用。Boridy 等^[53]通过雷公藤红素与替拉替尼联用,抑制了 HSP90 靶向蛋白毒性应激反应,可使人胶质母细胞瘤对雷公藤红素治疗增敏,增加多泛素化聚集体和 p62 积累,直接影响蛋白稳定,从而克服胶质母细胞瘤中的 MDR。雷公藤红素除了与药物联用可以增加抗肿瘤效果以外,还可以通过增强肺癌细胞辐射敏感性来对抗肿瘤。Lee 等^[54]检测了雷公藤红素的放射增敏活性,结果表明 EGFR、人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor 2, ErbB2) 和 Survivin 水平降低,丝氨酸 (serine, Ser) 15 和 Ser20 残基磷酸化同时抑制其蛋白酶体降解以及上调 p53 水平。

2.1.2 诱导肿瘤细胞凋亡 Yan 等^[15]对拉帕替尼 5 $\mu\text{mol/L}$ 与雷公藤红素 5 $\mu\text{mol/L}$ 联合诱导 HER2/neu 高表达的人乳腺癌 MDAMB-453 细胞凋亡进行研究,发现两药联合可以通过上调凋亡相关蛋白 (Caspase-9、3),下调生长途径相关蛋白 (HER2、p-HER2、p-Akt 和 p-ERK1/2) 以及降低 HER2 膜蛋白表达来增强细胞的凋亡和生长抑制。Zhu 等^[55]发现 Bcl-2 抑制剂 ABT-737 10 $\mu\text{mol/L}$ 与雷公藤红素 1.25 $\mu\text{mol/L}$ 联合应用可协同抑制肝癌细胞增殖,诱导细胞凋亡。其作用的通路包括内质网应激介导的细胞凋亡和线粒体参与的内源性信号途径等。线粒体参与的内源性信号途径具体包括增强 Caspase-3 和 PARP 的裂解作用,诱导 Bax 积累,降低 Bcl-2 和 Bcl-xL 表达水平,同时上调 Bim 和重组 p53,上调凋亡调节因子 (recombinant p53 upregulated

modulator of apoptosis, PUMA) 的表达及 Cyt-c 的释放。内质网应激被激活,ATF4 和 CHOP 蛋白的表达增强,eIF2 α 磷酸化的增加诱导了 Noxa 的激活。人类髓细胞白血病-1 (myeloid leukemia cell-1, Mcl-1) 作为一种重要的凋亡因子,由于其与 ABT-737 的亲和力较弱而不能使 ABT-737 发挥出较强的肿瘤杀伤活性。将 ABT-737 与雷公藤红素联用促进了 Noxa 与 Mcl-1 的相互作用,导致 Mcl-1 的表达减少从而增强了细胞凋亡。在研究人恶性脑胶质瘤 U87-MG 细胞的实验中发现,雷公藤红素联合 TRAIL 可以通过上调 DR5 表达并激活 Caspase-8、Caspase-3 和 PARP 诱导死亡受体途径的凋亡^[56]。雷公藤红素联合顺铂也通过线粒体和内质网途径促进人骨肉瘤 U-2OS 细胞凋亡。研究发现其作用靶点包括上调 Cyt-c、Caspase-3 和 C/EBP 同源蛋白的表达,下调 Bcl-2、PARP、葡萄糖 (相对分子质量 78 000) 调节蛋白和 Caspase-9 的表达^[57]。

2.1.3 抑制肿瘤细胞转移 Zhang 等^[58]发现雷公藤红素和索拉非尼联用可以抑制 Akt 途径和 VEGF 自分泌系统增强对 HepG2 细胞和小鼠肝癌 Hepa1-6 细胞的抗肿瘤活性。研究发现 *miR-33a-5p* 在胰腺癌组织中表达下调,提示 *miR-33a-5p* 可能是一种抑癌基因^[59],且经雷公藤红素处理后,*miR-33a-5p* 表达上调,其上调可以增强细胞对雷公藤红素的敏感性,发挥协同抗肿瘤作用。通过免疫印迹法显示其抗肿瘤作用的机制主要是由于雷公藤红素上调 *miR-33a-5p* 的表达,*miR-33a-5p* 的高表达抑制 mTOR 及其下游效应 (mTOR、p-p70S6K 和 p-4EBP1 的表达下降)。此外,有研究发现雷公藤红素可与 5-氟尿嘧啶、盐霉素、诱导型一氧化氮合成酶抑制剂 1400W 和 L-NIO 联合应用增强抑制人结肠癌 HT-29 和 HCT116 细胞的增殖、迁移^[60]。进一步研究表明雷公藤红素抑制大肠癌细胞的血管生成主要是通过抑制血管生成途径中的关键基因[胸腺嘧啶核苷酸磷酸化酶 (thymidine phosphorylase, TYMP)、人血管内皮钙黏蛋白 5 (cadherin 5, CDH5)、血小板反应蛋白 2 (thrombospondin 2, THBS2)、瘦素 (leptin, LEP)、MMP-9 和 TNF]和蛋白 (IL-1 β 、MMP-9、血小板衍生生长因子、丝氨酸蛋白酶抑制剂 E1 和组织基质金属蛋白酶抑制剂-4) 的表达。Shanmugam 等^[61]报道了通过雷公藤红素与硼替佐米联合使用可以抑制 CXCR4 和 MMP-9 的表达,降低血清 IL-6 和 TNF- α 水平来抑制多发性骨髓瘤 MM 细胞的侵袭和迁移,

这可能成为治疗骨髓瘤和其他血液系统恶性肿瘤的有效途径。

2.1.4 阻滞细胞周期 Jiang 等^[62]将雷公藤甲素和雷公藤红素联用处理人肺癌 H1299 细胞和人非小细胞肺癌 H157 细胞后,用 PI 染色流式细胞仪检测细胞周期分布,发现雷公藤甲素和雷公藤红素联用可诱导 2 种肿瘤细胞的 G₂/M 期积聚和 G₀/G₁ 期减少。为进一步探讨雷公藤甲素和雷公藤红素阻滞细胞周期的分子机制,采用免疫印迹法检测了细胞周期相关蛋白的表达。结果表明,这种机制主要是通过显著上调 G₂/M 期细胞周期调控蛋白 CDK1、Cyclin B 和 p21 蛋白水平以及降低 CDK2/4/6、Cyclin D/E、膜瘤细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, pRb)、p27 蛋白水平来实现的。同样,有研究者发现雷公藤红素 1 μmol/L 和柳氮磺胺吡啶 600 μmol/L 联用可以诱导人胶质瘤 SNB-19 细胞在 G₂/M 期的进展明显受阻,受阻率达到 46.6%^[63]。

2.1.5 诱导肿瘤细胞自噬 细胞自噬同样是抑制肿瘤细胞增殖的重要方式,Duan 等^[64]用雷公藤红素联合鞣花酸处理人肺癌 HOP62 细胞和 H1975 细胞后,检测了绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记的 LC3 阳性自噬小体的形成。实验发现与单独在细胞中使用鞣花酸 25 μmol/L 或雷公藤红素 0.75 μmol/L 进行处理相比,联合治疗可诱导细胞核和线粒体中的 GFP-LC3 点显著增加和 LC3-II 积累,下调 p-Akt 并抑制 mTOR 磷酸化和 p70S6K 的表达,此外还降低蛋白磷酸酶 2A 癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)表达。靶向雄激素受体(androgen receptor, AR)轴是前列腺癌治疗的标准策略,miR-101 是一种自噬的抑制剂,Guo 等^[65]发现 AR 通过反式激活 miR-101 来抑制自噬。因此 miR-101 模拟物与雷公藤红素联合应用治疗前列腺癌可能是一种有前途的治疗方法。

雷公藤红素联合应用抗肿瘤机制见表 1。

表 1 雷公藤红素联合应用抗肿瘤作用机制

Table 1 Antitumor mechanism of celastrol in combination

联合应用	肿瘤类型	细胞系	机制	联合机制	文献
拉帕替尼	乳腺癌	MDA-MB-453	Caspase-9、3↑, HER2、P-HER2、p-Akt 和 p-ERK1/2↓	诱导肿瘤细胞凋亡	15
曲妥珠单抗	乳腺癌	SKBr-3、BT-474、21MT-1、JIMT-1	泛素化、ErbB2 和其他 HSP90 客户蛋白的降解↑, ROS 水平↑	抑制肿瘤细胞增殖	66
TNF-α	乳腺癌	MDA-MB-231	NF-κB 信号通路↓, XIAP↓, Caspase-3、9↑	增敏、诱导肿瘤细胞凋亡	51
索拉非尼	肝癌	HepG2、Hepal-6	AKT 途径和 VEGF 自分泌系统↓	抗血管生成	58
选择性小分子 c-Met 抑制剂 PHA665752	肝癌	BEL-7402、Huh7	VEGF 分泌↓, Caspase-3、7↑	诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、迁移	67
阿帕替尼	肝癌	Hep3B	p-Akt 和 p-ERK 表达↓, Caspase-3 和 Bax 表达↓	增敏、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、迁移	68
ABT-737	肝癌	Bel-7402、HepG2	Caspase-3↑, PARP 的裂解作用↑, Bax↑, Bcl-2 和 Bcl-xL↓, Bim 和 PUMA 的表达↑, Noxa 与 Mcl-1 的相互作用↑, Mcl-1 的表达↓, Hsp90↓, Hsp90 客户蛋白的降解↓, ATF4 和 CHOP 蛋白的表达↑, eIF2α 磷酸化↑	内质网应激、诱导肿瘤细胞凋亡	55
雷公藤甲素	肺癌	H1299andH157	HSP90 客户蛋白 Survivin、Akt、EGFR 的表达↓, 阻滞 G ₂ /M 期↑, 阻滞细胞周期、诱导肿瘤细胞 CDK1、CyclinB 和 p21↑, G ₀ /G ₁ 期↓, ROS 积聚↑, CDK2/4/6、CyclinD/E、pRb、p27↓, PARP 裂解和 Caspase-3↑, Bax、Bcl-xS/L、Bcl-2、Mcl-1、Survivin、XIAP 的表达水平↓, ROS↑	阻滞细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡	62
辐射	肺癌	Nci-H460	EGFR、ErbB2 和 Survivin↓, p53↑, 磷酸化 Ser15 和 Ser20 残基及其蛋白酶体降解↓, p53↑	增敏	54
鞣花酸	肺癌	HOP62、H1975	LC3-II 的表达↑, CIP2A↓	诱导肿瘤细胞自噬	64
miR-33a-5p	肺癌	A549、LTEP-a-2	miR-33a-5p↑, mTOR、p-p70S6K 和 p-4EBP1↓	增敏、抗血管生成	59
TRAIL	肺癌	A549、HCC-15、Calu-3	Caspase-3、8 水平↑, ROS↓	诱导细胞凋亡	69

续表 1

联合应用	肿瘤类型	细胞系	机制	联合机制	文献
EGFR-TKI	肺癌	A549、H1975	EGFR、STAT3、p-Akt 和 p-ERK 的表达和磷酸化↓, EGFR 通路↑, p-EGFR 途径↓	MDR	52
羟脲酸	肺癌	95-D	Caspase-3、PARP 的裂解↑, NF-κB p65 活性↓, E-cadherin↑	诱导细胞凋亡、增敏	70
	卵巢癌	SK-OV-3			
TRAIL	肺癌	95-D	PARP、pro-Caspase-3↑, Caspase-9↑	细胞凋亡	71
	卵巢癌	OVCAR-8			
	结肠癌	SW620			
替拉替尼	胶质瘤	U251N、U343	多泛素化聚集体和 p62↑, HSP90↓	增敏	53
TRAIL	胶质瘤	U87-MG	Caspase-8、Caspase-3 和 PARP↑, DR5 表达↑	细胞凋亡	56
Hsp70siRNA	胶质瘤	U251N	Hsp70 的表达↓	抑制增殖	72
柳氮磺胺吡啶	胶质瘤	NCI-60、SNB-19	Hsp90 客户蛋白 EGFR↓, G2/M 期阻滞↑	增敏、阻滞细胞周期	63
	前列腺癌	PC-3	γH2AX↑, PARP 和 Mcl-1 的裂解↑, 体内血管生成↓	增敏	9
miR-101 模拟物	前列腺癌	LNCaP	AR 的表达↓, miR-101 表达↓	细胞自噬	65
藤黄酸	口腔鳞状细胞癌	Tca8113、TSCC、NT	NF-κB 信号通路↓, p65 亚基的核转位↓	诱导凋亡	73
替莫唑胺	黑色素瘤	SK-MEL-173	JNK 磷酸化↑, MAPK 通路↑, 泛素化蛋白↑, TNF-α 诱导的 I-κB 磷酸化水平↓, NF-κB 核转位↓	增敏、抑制肿瘤细胞增殖	74
EGCG 前体药物	白血病	K-562、JurkatT	Caspase-3、PARP 裂解↑, Bcr-Abl 蛋白↓	增敏、诱导肿瘤细胞凋亡	75
5-氟尿嘧啶、盐霉素、1400W、L-NIO	结肠癌	HT-29、HCT116	NOS 活性↓, TYMP、CDH5、THBS2、LEP、MMP-9 和 TNF↓	抑制血管生成	60
紫杉醇	甲状腺癌	8505C、SW1736	磷酸化-ERK1/2, 磷酸化-JNK、BiP、COX-2、ROS↑	诱导肿瘤细胞凋亡	76
长春新碱	口腔癌	SAS、SASV16	G2/M 期阻滞↑, Caspase-8, Caspase-9 和 PARP 裂解↑, tBid↑, Bcl-2↓, JNK1/2↑	诱导肿瘤细胞凋亡、MDR	20
卡铂	胶质瘤	VUMC-HGG-14	降解 FANCD2, HGG 对卡铂介导的 DNA 损伤敏感↑	增敏	77
硼替佐米	骨肉瘤	U266	Caspase-3↑, NF-κB 信号通路↓, CXCR4 和 MMP-9↓, MM 细胞的侵袭和迁移↓, IL-6 和 TNF-α↓	诱导肿瘤细胞凋亡、抑制血管生成	61
顺铂	骨肉瘤	U-2OS	Bcl-xL、Cyt-c、Caspase-3 和 C/EBP 同源蛋白↑, Bcl-2、PARP、Hsp70 和 Caspase-9↓	诱导肿瘤细胞凋亡	57
TRAIL/Apo-2L	卵巢癌	OVCAR-8、SW620	DR4、DR5 表达↑	诱导肿瘤细胞凋亡	78
	结肠癌				

↑表示上升 ↓表示下降

↑ means rising ↓ means falling

2.2 药物递送系统用于雷公藤红素的联合抗肿瘤

虽然雷公藤红素联合其他药物有着良好的抗肿瘤效果,但由于其各种物理化学和药动学限制,如低水溶性、低生物利用度和靶向性不足,限制了这些化合物在临床中的使用。纳米技术在药物传递领域的积极探索为联合用药抗肿瘤带来了新思路。纳米粒通过粒径控制、结构改造和表面修饰等途径,可具有较强的载药能力、体内长循环、肿瘤组织被

动或主动靶向等特点^[35]。鉴于纳米技术的优势,纳米载体与前景较好的中药相关单体活性化合物的结合,对于探索药物与细胞相互作用的相关机制,促进纳米载体在临床治疗中的潜在应用具有重要意义。

2.2.1 与化疗药物联合用于药物递送系统 有报道将雷公藤红素负载到介孔二氧化硅纳米颗粒中,将阿西替尼负载到聚乙二醇化脂质双层中,制备了负载阿西替尼/雷公藤红素的复合纳米颗粒,得

到的纳米粒粒径约为 120 nm, 多分散指数狭窄 (约 0.07)。体外细胞毒性实验发现复合纳米颗粒能有效地抑制血管生成和线粒体功能, 并能有效地内化小鼠鳞状细胞癌 SCC-7 细胞、人乳腺癌 BT-474 细胞和人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞。在异种肿瘤模型中, 复合纳米颗粒组小鼠的抑瘤率明显高于其他组, 抑瘤率达到 64%^[79]。Hu 等^[80]将疏水的雷公藤红素和亲水性的吡啶胺 2,3-加双氧酶抑制剂 1-甲基色氨酸同时负载到透明质酸包被的阳离子白蛋白纳米粒 (hyaluronic acid coated cationic albumin nanoparticle, HNPs) 中, 所得纳米粒平均粒径约为 300 nm, 实现了层次化的纳米结构, 并有效地将小分子药物输送到胰腺肿瘤部位。在透明质酸酶存在的情况下, HNPs 的粒径减小, 以促进深入肿瘤组织的渗透。在 C57BL/6 小鼠移植模型中的生物分布研究表明, HNPs 增加了肿瘤的积聚, 延长了 HNPs 的循环时间。与单独使用雷公藤红素相比, 雷公藤红素联合 1-甲基色氨酸通过改善肿瘤微环境的免疫抑制作用, 增强了抑制肿瘤的效果。同时 HNPs 可减轻体内使用雷公藤红素的不良反应如心脏毒性, 提高安全性。在促结缔组织增生性黑色素瘤中, 肿瘤细胞和肿瘤相关成纤维细胞的纤维化以及肿瘤微环境的免疫抑制影响了抗肿瘤的疗效。为了解决这一难题, Liu 等^[81]开发了一种基于米托蒽醌和雷公藤红素靶向递送的创新化学免疫策略, 研究发现当米托蒽醌和雷公藤红素以最佳比例 (5:1) 有效地共传递到肿瘤部位时显著地触发了免疫原性肿瘤细胞凋亡并恢复了肿瘤抗原识别, 从而激发了整体的抗肿瘤免疫, 通过协同作用减少了药物用量和不良反应。纳米载体介导的化学免疫治疗成功地重塑了纤维化和免疫抑制的肿瘤微环境, 阻止了肿瘤的发展, 并进一步抑制了肿瘤向主要器官的转移。

2.2.2 与中药活性成分联合用于药物递送系统 秦越等^[82]采用经典的薄膜水合的方法制备了基于丹参酮 II_A 磺酸钠和小粒径的雷公藤红素微乳的多组分脂质体, 该脂质体通过最初释放丹参酮 II_A 磺酸钠表现出协同的抗乳腺癌活性用于调节肿瘤微环境, 随后释放雷公藤红素微乳以消灭肿瘤组织。体外研究表明, 该脂质体可诱导 MCF-7 细胞大量凋亡, 表明其对肿瘤细胞具有协同的细胞毒性作用。此外, 与单独使用雷公藤红素相比, 该脂质体的全身毒性较小。沈展等^[83]采用“混匀-滴注”方法制备转铁蛋白修饰的 β -榄香烯-雷公藤红素共传递微乳

用于协同靶向抗结直肠癌。通过四甲基偶氮唑盐法得到 β -榄香烯与雷公藤联合给药的最佳比例 40:1, 对人结肠癌 Lovo、HT-29 细胞的半数抑制浓度半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (11.7 $\pm$ 0.6)、(27.4 $\pm$ 1.2) μ g/mL, 联合指数 (combination index, CI) 分别为 0.61、0.72。该微乳与 Lovo 细胞孵育 4 h 后的摄取量为 7.2 μ g/mg, 是 β -榄香烯+雷公藤红素给药组的 3.3 倍。该微乳能够引发 59.2% 的 Lovo 细胞凋亡, 对荷 Lovo 大肠癌裸鼠的肿瘤生长有明显的抑制作用。相比单独使用雷公藤红素, 该微乳给药组裸鼠的肿瘤组织 HE 染色切片出现大量的细胞坏死, Ki-67 免疫组化切片显示肿瘤细胞增殖被明显抑制。另外有研究者构建了转铁蛋白和叶酸双重修饰的薏苡仁油-雷公藤红素微乳, 平均粒径为 (52.52 $\pm$ 0.11) nm, 多分散指数为 0.124 $\pm$ 0.019, Zeta 电位为 (-21.50 $\pm$ 1.70) mV, 且具有较好的体外稳定性。细胞实验表明, 该微乳对 MCF-7、A549 细胞的 IC₅₀ 分别为 0.77、0.85 μ mol/L, 游离雷公藤红素对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值 (1.52 μ mol/L) 高于各微乳组, 提示微乳可能通过摄取增强来提高细胞毒性^[84]。

2.2.3 与其他治疗方式联合用于药物递送系统 除了与常规的化疗药物和中药活性成分联合, 雷公藤红素还可以联合靶向肿瘤微环境的载体实现靶向协同抗肿瘤。Tan 等^[85]将亲脂性阳离子(4-羧丁基)三苯基溴化磷与类糖脂结合物偶联, 得到线粒体靶向结合物, 再负载弱酸性药物雷公藤红素后, 得到 CTPP-线粒体靶向结合物/雷公藤红素胶束, 对线粒体碱性 pH 值 (8.0) 有选择性的响应。受胶束疏水核心与雷公藤红素之间较弱的相互作用所控制, 在 pH 值为 8.0 时, 雷公藤红素具有较高的溶解性, 该胶束对线粒体碱性 pH 有较强的选择性。但在 pH 值为 7.4、5.0 时, 药物有缓慢的释放行为, 减少药物在细胞质和溶酶体中的渗漏。体内实验中, 以 MCF-7 裸鼠移植瘤为模型, 该胶束的抑瘤率为 80.17%, 明显高于类糖脂结合物/雷公藤红素 (58.35%) 和雷公藤红素 (54.89%)。光敏感型纳米材料目前研究热点之一, 其中 TiO₂ 纳米纤维作为生物相容性最好的半导体纳米材料之一, 可以作为一种良好的光敏剂材料, 在药物载体和光动力疗法治疗疾病等领域显示出潜在的应用前景。研究者将 TiO₂ 纳米纤维引入雷公藤红素后对所制备的纳米进行表征, 其表面呈针状, 宽度约为 80 nm, 长度为 200~5000 nm。当雷公藤

红素和 TiO_2 纳米纤维结合后, 在紫外线照射下 HepG2 细胞的凋亡率增加到 43.9%, 与对照组比较有显著性差异。纳米纤维与雷公藤红素形成的纳米复合材料还可以增强雷公藤红素对 HepG2 细胞的细胞毒作用, 降低药物消耗, 从而降低相关药物的不良反应^[86]。

3 结语

随着越来越多中药活性成分抗肿瘤研究的开展, 中药在抗肿瘤方面的作用在国内外都得到了普遍认可。雷公藤红素作为一种目前研究比较深入且具备较好成药性的中药活性成分, 具有广谱、多途径、多靶点等特点, 可以有效地抑制恶性肿瘤细胞和异种移植物。然而目前其作用机制仍有一部分尚未得到充分论证, 为了进一步提高其在未来临床实践中的潜力, 对于其抗肿瘤机制和免疫学靶点的研究是必不可少的。虽然雷公藤红素具有良好的抗肿瘤作用, 但还没有上市药品, 主要是由于毒性较大, 口服给药后会起胃肠道不良反应, 且易产生全身性的不良反应, 并且有报道发现, 雷公藤红素容易造成严重的器官毒性, 如心脏、肝脏和神经系统毒性, 其有效剂量和毒性剂量还有待进一步探究^[87-89]。另外, 雷公藤红素为难溶性物质, 口服生物利用度较低, 上述因素严重限制了该药物的临床应用。

肿瘤发病机制复杂, 单一的药物治疗难以达到预期的效果且容易产生耐药性或严重的不良反应, 使得抗肿瘤药物的疗效和长期使用相当有限。通过药物联合应用由于其作用机制不同, 可以同时调节多种信号通路, 从而起到协同增效的作用同时减少 MDR 现象和不良反应的发生。因此药物的联合治疗已经成为肿瘤治疗的一种有效途径, 具有广阔的前景。但联合用药易受不同药物体内代谢特性的影响, 致到达肿瘤部位的药量较少。纳米递药系统可同时转运 2 种或多种药物, 增加药物溶解性, 改善药物的药动学和药理特性, 提高药物靶向性从而限制药物在肾脏、肝脏、脾脏和其他非靶向器官中的蓄积等特点。因此, 采用雷公藤红素联合用药纳米递药系统为药物研发以及临床运用提供了新道路。

即便如此, 纳米递药系统仍存在一些问题需要解决: (1) 载药率过低。在制备纳米的时候注意材料的选择, 如选择配体修饰及多孔结构的材料; 此外制备工艺的考察筛选出最佳处方可以在一定程度上改善载药率过低的问题; (2) 在安全性方面, 使用获得上市许可的生物相容性较好的纳米材料构建

纳米释药系统有望回避载体的安全性问题, 寻找特异性更好的受体及相关配体也可以减少纳米载体在其他正常组织中的分布, 从而减少毒性; (3) 代谢不稳定。纳米在进入人体以后还容易与一些蛋白形成蛋白冠, 使得纳米粒被网状内皮系统清除。多数纳米载体特异性释药性能差, 药物被突然释放, 导致局部浓度过高产生较大的毒性。因此, 如何改良药物的缓控释放性能, 避免频繁给药, 维持合适的血药浓度, 增加治疗的稳定性也是今后的研究方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 高会乐, 蒋新国. 肿瘤靶向递药新策略的研究进展 [J]. 药学报, 2016, 51(2): 272-280.
- [2] Muhamad N, Plengsuriyakarn T, Na-Bangchang K. Application of active targeting nanoparticle delivery system for chemotherapeutic drugs and traditional/herbal medicines in cancer therapy: A systematic review [J]. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 3921-3935.
- [3] 罗尧尧, 石金凤, 陈梁, 等. 雷公藤甲素功能化纳米递药系统用于抗肿瘤的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(21): 4566-4572.
- [4] He M F, Liu L, Ge W, *et al.* Antiangiogenic activity of *Tripterygium wilfordii* and its terpenoids [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 121(1): 61-68.
- [5] Morita T. Celastrol: A new therapeutic potential of traditional Chinese medicine [J]. *Am J Hypertens*, 2010, 23(8): 821.
- [6] Peng B, Zhang X, Cao F F, *et al.* Peptide deformylase inhibitor actinonin reduces celastrol's HSP70 induction while synergizing proliferation inhibition in tumor cells [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 146.
- [7] 袁菱, 童德银. 雷公藤红素及其制剂的抗肿瘤研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(14): 1224-1229.
- [8] 杨静, 马景涛, 闫骏. 雷公藤红素通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对胃癌 MFC 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(8): 1517-1523.
- [9] Dai Y, DeSano J T, Meng Y, *et al.* Celastrol potentiates radiotherapy by impairment of DNA damage processing in human prostate cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 74(4): 1217-1225.
- [10] Shrivastava S, Jeengar M K, Reddy V S, *et al.* Anticancer effect of celastrol on human triple negative breast cancer: Possible involvement of oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis and PI3K/Akt pathways [J]. *Exp*

- Mol Pathol*, 2015, 98(3): 313-327.
- [11] Yang J, Liu X, Bhalla K, *et al.* Prevention of apoptosis by Bcl-2: Release of cytochrome c from mitochondria blocked [J]. *Science*, 1997, 275(5303): 1129-1132.
 - [12] Tsujimoto Y. Bcl-2 family of proteins: Life-or-death switch in mitochondria [J]. *Biosci Rep*, 2002, 22(1): 47-58.
 - [13] Danial N N, Korsmeyer S J. Cell death: Critical control points [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 205-219.
 - [14] Yang H S, Kim J Y, Lee J H, *et al.* Celastrol isolated from *Tripterygium regelii* induces apoptosis through both Caspase-dependent and -independent pathways in human breast cancer cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(2): 527-532.
 - [15] Yan Y Y, Bi H, Zhang W, *et al.* Downregulation and subcellular distribution of HER2 involved in MDA-MB-453 breast cancer cell apoptosis induced by lapatinib/celastrol combination [J]. *J BUON*, 2017, 22(3): 644-651.
 - [16] Tozawa K, Sagawa M, Kizaki M. Quinone methide tripterine, celastrol, induces apoptosis in human myeloma cells via NF- κ B pathway [J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(5): 1117-1122.
 - [17] Li X J, Wang H M, Ding J, *et al.* Celastrol strongly inhibits proliferation, migration and cancer stem cell properties through suppression of Pin1 in ovarian cancer cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 842: 146-156.
 - [18] Zhang H, Li J, Li G, *et al.* Effects of celastrol on enhancing apoptosis of ovarian cancer cells via the downregulation of microRNA-21 and the suppression of the PI3K/Akt-NF- κ B signaling pathway in an *in vitro* model of ovarian carcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(6): 5363-5368.
 - [19] Lin H F, Hsieh M J, Hsi Y T, *et al.* Celastrol-induced apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma is associated with the activation of the death receptor and the mitochondrial pathway [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2): 1683-1690.
 - [20] Lin F Z, Wang S C, Hsi Y T, *et al.* Celastrol induces vincristine multidrug resistance oral cancer cell apoptosis by targeting JNK1/2 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2019, 54: 1-8.
 - [21] Wang J H, Manning B J, Wu Q D, *et al.* Endotoxin/lipopolysaccharide activates NF- κ B and enhances tumor cell adhesion and invasion through a beta 1 integrin-dependent mechanism [J]. *J Immunol*, 2003, 170(2): 795-804.
 - [22] Ni H W, Zhao W Z, Kong X T, *et al.* NF- κ B modulation is involved in celastrol induced human multiple myeloma cell apoptosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95846.
 - [23] Mou H, Zheng Y, Zhao P, *et al.* Celastrol induces apoptosis in non-small-cell lung cancer A549 cells through activation of mitochondria-and Fas/FasL-mediated pathways [J]. *Toxicol in Vitro*, 2011, 25(5): 1027-1032.
 - [24] Chiang, Tsui K H, Chung L C, *et al.* Celastrol blocks interleukin-6 gene expression via downregulation of NF- κ B in prostate carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e93151.
 - [25] Li H Y, Zhang J, Sun L L, *et al.* Celastrol induces apoptosis and autophagy via the ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma cells: An *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1604.
 - [26] Malhotra J D, Kaufman R J. Endoplasmic Reticulum stress and oxidative stress: A vicious cycle or a double-edged sword? [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9(12): 2277-2293.
 - [27] Chen G Z, Zhang X H, Zhao M, *et al.* Celastrol targets mitochondrial respiratory chain complex I to induce reactive oxygen species-dependent cytotoxicity in tumor cells [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 170.
 - [28] Qu K, Shen N Y, Xu X S, *et al.* Emodin induces human T cell apoptosis *in vitro* by ROS-mediated endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(9): 1217-1228.
 - [29] Sung B, Park B, Yadav V R, *et al.* Celastrol, a triterpene, enhances TRAIL-induced apoptosis through the down-regulation of cell survival proteins and up-regulation of death receptors [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(32): 16920.
 - [30] Kim J H, Lee J O, Lee S K, *et al.* Celastrol suppresses breast cancer MCF-7 cell viability via the AMP-activated protein kinase (AMPK)-induced p53-polo like kinase 2 (PLK-2) pathway [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(4): 805-813.
 - [31] Liu X H, Zhao P Y, Wang X J, *et al.* Celastrol mediates autophagy and apoptosis via the ROS/JNK and Akt/mTOR signaling pathways in glioma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 184.
 - [32] Chen Y Y, Ou Y S, Tao Y, *et al.* Effect and mechanisms of celastrol on the apoptosis of HOS osteosarcoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(4): 2260-2268.
 - [33] Yoon M J, Lee A R, Jeong S A, *et al.* Release of Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum and its subsequent influx into mitochondria trigger celastrol-induced paraptosis in cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16): 6816-6831.

- [34] Liu X, Gao R W, Li M, *et al.* The ROS derived mitochondrial respiration not from NADPH oxidase plays key role in celastrol against angiotensin II-mediated HepG2 cell proliferation [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(11): 1315-1326.
- [35] 石金凤, 罗尧尧, 李佳鑫, 等. 雷公藤甲素单用及联合用药抗肿瘤的作用及机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3391-3398.
- [36] Yao S S, Han L, Tian Z B, *et al.* Celastrol inhibits growth and metastasis of human gastric cancer cell MKN45 by down-regulating microRNA-21 [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(6): 1706-1716.
- [37] Kannaiyan R, Manu K A, Chen L, *et al.* Celastrol inhibits tumor cell proliferation and promotes apoptosis through the activation of c-Jun N-terminal kinase and suppression of PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Apoptosis*, 2011, 16(10): 1028-1041.
- [38] Ke C H, Jin H, Cai J Y. AFM studied the effect of celastrol on $\beta 1$ integrin-mediated HUVEC adhesion and migration [J]. *Scanning*, 2013, 35(5): 316-326.
- [39] Zhu H, Liu X W, Cai T Y, *et al.* Celastrol Acts as a potent antimetastatic agent targeting beta1 integrin and inhibiting cell-extracellular matrix adhesion, in part via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(2): 489-499.
- [40] Ni H W, Zhao W Z, Kong X T, *et al.* Celastrol inhibits lipopolysaccharide-induced angiogenesis by suppressing TLR4-triggered nuclear factor-kappa B activation [J]. *Acta Haematol*, 2014, 131(2): 102-111.
- [41] Huang S, Tang Y B, Cai X D, *et al.* Celastrol inhibits vasculogenesis by suppressing the VEGF-induced functional activity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423(3): 467-472.
- [42] Pang X F, Yi Z F, Zhang J, *et al.* Celastrol suppresses angiogenesis-mediated tumor growth through inhibition of AKT/mammalian target of rapamycin pathway [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 1951-1959.
- [43] Li H Y, Li Y, Liu D, *et al.* miR-224 is critical for celastrol-induced inhibition of migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(2): 448-458.
- [44] Ma J, Han L Z, Liang H, *et al.* Celastrol inhibits the HIF-1 α pathway by inhibition of mTOR/p70S6K/eIF4E and ERK1/2 phosphorylation in human hepatoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 235-242.
- [45] Nezis I P, Stenmark H. p62 at the interface of autophagy, oxidative stress signaling, and cancer [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 17(5): 786-793.
- [46] Kashyap D, Sharma A, Tuli H S, *et al.* Molecular targets of celastrol in cancer: Recent trends and advancements [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 128: 70-81.
- [47] Guo J Q, Mei Y, Li K, *et al.* Downregulation of miR-17-92a cluster promotes autophagy induction in response to celastrol treatment in prostate cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(2): 804-810.
- [48] Wang X N, Wu Q, Yang X, *et al.* Effects of celastrol on growth inhibition of U937 leukemia cells through the regulation of the Notch1/NF- κ B signaling pathway *in vitro* [J]. *Chin J Cancer*, 2010, 29(4): 385-390.
- [49] An S Y, Youn G S, Kim H, *et al.* Celastrol suppresses expression of adhesion molecules and chemokines by inhibiting JNK-STAT1/NF- κ B activation in poly(I: C)-stimulated astrocytes [J]. *BMB Rep*, 2017, 50(1): 25-30.
- [50] Fang Z Y, He D Y, Yu B, *et al.* High-throughput study of the effects of celastrol on activated fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis [J]. *Genes*, 2017, 8(9): E221.
- [51] Lu L, Shi W L, Deshmukh R R, *et al.* Tumor necrosis factor- α sensitizes breast cancer cells to natural products with proteasome-inhibitory activity leading to apoptosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113783.
- [52] Wang Y, Liu Q Y, Chen H J, *et al.* Celastrol improves the therapeutic efficacy of EGFR-TKIs for non-small-cell lung cancer by overcoming EGFR T790M drug resistance [J]. *Anticancer Drugs*, 2018, 29(8): 748-755.
- [53] Boridy S, Le P U, Petrecca K, *et al.* Celastrol targets proteostasis and Acts synergistically with a heat-shock protein 90 inhibitor to kill human glioblastoma cells [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1216.
- [54] Lee J, Choi K J, Seo W D, *et al.* Enhancement of radiation sensitivity in lung cancer cells by celastrol is mediated by inhibition of Hsp90 [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 27(3): 441-446.
- [55] Zhu H, Yang W, He L J, *et al.* Upregulating noxa by ER stress, celastrol exerts synergistic anti-cancer activity in combination with ABT-737 in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52333.
- [56] Cha Z, Cheng J, Xiang H, *et al.* Celastrol enhances TRAIL-induced apoptosis in human glioblastoma via the death

- receptor pathway [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2019, 84(4): 719-728.
- [57] Wang Q, Yu X, Li F, *et al.* Efficacy of celastrol combined with cisplatin in enhancing the apoptosis of U-2OS osteosarcoma cells via the mitochondrial and endoplasmic reticulum pathways of apoptosis [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3): 3305-3313.
- [58] Zhang R, Chen Z, Wu S S, *et al.* Celastrol enhances the anti-liver cancer activity of sorafenib [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4068-4075.
- [59] Li Y J, Sun Y X, Hao R M, *et al.* miR-33a-5p enhances the sensitivity of lung adenocarcinoma cells to celastrol by regulating mTOR signaling [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(4): 1328-1338.
- [60] Gao Y F, Zhou S, Pang L Z, *et al.* Celastrol suppresses nitric oxide synthases and the angiogenesis pathway in colorectal cancer [J]. *Free Radic Res*, 2019, 53(3): 324-334.
- [61] Shanmugam M K, Ahn K S, Lee J H, *et al.* Celastrol attenuates the invasion and migration and augments the anticancer effects of bortezomib in a xenograft mouse model of multiple myeloma [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 365.
- [62] 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.
- [63] Pham A N, Blower P E, Alvarado O, *et al.* Pharmacogenomic approach reveals a role for the x(c)-cystine/glutamate antiporter in growth and celastrol resistance of glioma cell lines [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 332(3): 949-958.
- [64] Duan J, Zhan J C, Wang G Z, *et al.* The red wine component ellagic acid induces autophagy and exhibits anti-lung cancer activity *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(1): 143-154.
- [65] Guo J, Huang X, Wang H, *et al.* Celastrol induces autophagy by targeting AR/miR-101 in prostate cancer cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140745.
- [66] Raja S M, Clubb R J, Ortega-Cava C, *et al.* Anticancer activity of Celastrol in combination with ErbB2-targeted therapeutics for treatment of ErbB2-overexpressing breast cancers [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(2): 263-276.
- [67] Jiang H L, Jin J Z, Wu D, *et al.* Celastrol exerts synergistic effects with PHA-665752 and inhibits tumor growth of c-Met-deficient hepatocellular carcinoma *in vivo* [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(7): 4203-4209.
- [68] Li H H, Fan Y C, Yang F, *et al.* The coordinated effects of Apatinib and Tripterine on the proliferation, invasiveness and apoptosis of human hepatoma Hep3B cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 353-361.
- [69] Nazim U M, Yin H H, Park S Y. Autophagy flux inhibition mediated by celastrol sensitized lung cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via regulation of mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen species [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(2): 984-993.
- [70] Zheng L, Fu Y Y, Zhuang L H, *et al.* Simultaneous NF- κ B inhibition and E-cadherin upregulation mediate mutually synergistic anticancer activity of celastrol and SAHA *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(7): 1721-1732.
- [71] Zhu H, Ding W J, Wu R, *et al.* Synergistic anti-cancer activity by the combination of TRAIL/APO-2L and celastrol [J]. *Cancer Invest*, 2010, 28(1): 23-32.
- [72] Matokanovic M, Barisic K, Filipovic-Grcic J, *et al.* Hsp70 silencing with siRNA in nanocarriers enhances cancer cell death induced by the inhibitor of Hsp90 [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(1): 149-158.
- [73] He D, Xu Q, Yan M, *et al.* The NF- κ B inhibitor, celastrol, could enhance the anti-cancer effect of gambogic acid on oral squamous cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2009, 9: 343.
- [74] Chen M, Rose A E, Doudican N, *et al.* Celastrol synergistically enhances temozolomide cytotoxicity in melanoma cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(12): 1946-1953.
- [75] Davenport A, Frezza M, Shen M, *et al.* Celastrol and an EGCG pro-drug exhibit potent chemosensitizing activity in human leukemia cells [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(3): 465-470.
- [76] Kim S H, Kang J G, Kim C S, *et al.* Cytotoxic effect of celastrol alone or in combination with paclitaxel on anaplastic thyroid carcinoma cells [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(5): 1010428317698369.
- [77] Metselaar D S, Meel M H, Benedict B, *et al.* Celastrol-induced degradation of FANCD2 sensitizes pediatric high-grade gliomas to the DNA-crosslinking agent carboplatin [J]. *EBioMedicine*, 2019, 50: 81-92.
- [78] Zhu H, Liu X W, Ding W J, *et al.* Up-regulation of death receptor 4 and 5 by celastrol enhances the anti-cancer activity of TRAIL/Apo-2L [J]. *Cancer Lett*, 2010, 297(2): 155-164.

- [79] Choi J Y, Ramasamy T, Kim S Y, *et al.* PEGylated lipid bilayer-supported mesoporous silica nanoparticle composite for synergistic co-delivery of axitinib and celastrol in multi-targeted cancer therapy [J]. *Acta Biomater*, 2016, 39: 94-105.
- [80] Hu Y, Chen X, Xu Y Y, *et al.* Hierarchical assembly of hyaluronan coated albumin nanoparticles for pancreatic cancer chemoimmunotherapy [J]. *Nanoscale*, 2019, 11(35): 16476-16487.
- [81] Liu Q, Chen F Q, Hou L, *et al.* Nanocarrier-mediated chemo-immunotherapy arrested cancer progression and induced tumor dormancy in desmoplastic melanoma [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(8): 7812-7825.
- [82] 秦越, 王理想, 郭梦斐, 等. 雷公藤红素/丹参酮 II_A 磺酸钠共传递脂质体的制备、表征及协同抗乳腺癌研究 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5271-5279.
- [83] 沈展, 陈文斌. 转铁蛋白功能化的 β -榄香烯-雷公藤红素共传递微乳协同靶向抗结直肠癌研究 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 471-480.
- [84] 郭梦斐, 瞿鼎, 王理想, 等. 转铁蛋白/叶酸双重修饰的 薏苡仁油-雷公藤红素微乳制备及其体外靶向抗肿瘤研究 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1748-1756.
- [85] Tan Y N, Zhu Y, Zhao Y, *et al.* Mitochondrial alkaline pH-responsive drug release mediated by Celastrol loaded glycolipid-like micelles for cancer therapy [J]. *Biomaterials*, 2018, 154: 169-181.
- [86] Li J Y, Wang X M, Jiang H, *et al.* New strategy of photodynamic treatment of TiO₂ nanofibers combined with celastrol for HepG2 proliferation *in vitro* [J]. *Nanoscale*, 2011, 3(8): 3115-3122.
- [87] Guo L, Luo S, Du Z W, *et al.* Targeted delivery of celastrol to mesangial cells is effective against mesangioproliferative glomerulonephritis [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 878.
- [88] Zhang Q, Tian X, Cao X F. Transferrin-functionalised microemulsion co-delivery of β -elemene and celastrol for enhanced anti-lung cancer treatment and reduced systemic toxicity [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2019, 9(3): 667-678.
- [89] Hu X, Jia M D, Fu Y, *et al.* Novel low-toxic derivative of celastrol maintains protective effect against acute renal injury [J]. *ACS Omega*, 2018, 3(3): 2652-2660.

[责任编辑 崔艳丽]