doi:10.11659/jjssx.03E022089

·综 述·

苦参碱抗骨肉瘤细胞的作用及机制研究进展

黄心诚,阮思源,王玉琦,刘德森,辜刘伟,曹 洪 (十堰市人民医院/湖北医药学院附属人民医院创伤骨科,湖北 十堰 442000)

[摘 要] 骨肉瘤是最常见的骨源性恶性肿瘤,严重危害患者生命健康,但由于发病率低、异质性高和基因背景复杂等,骨肉瘤的基础研究和诊疗都面临着诸多困难和挑战。中药在抗骨肉瘤方面的作用及机制已成为近年来的研究热点,其中苦参碱作为一种极具潜力的抗骨肉瘤中药提取物,具有较高的临床研究价值。苦参碱是从传统中药苦参和豆科植物苦豆子中提取的一种活性生物碱,是喹诺烷类生物碱化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、镇痛、抗纤维化、抗菌等多种药理活性。已有研究表明,苦参碱可通过 STAT3 通路增强阿霉素的作用,调节 ERK/NF-κB 通路中 Bax、Fas/Fasl 和 Bcl-2 的表达,诱导线粒体 caspases 依赖性凋亡和灭活 AKT 通路发挥抗骨肉瘤作用,但其潜在的分子机制尚未完全阐明。因此,本研究从分子生物学方面进一步阐明苦参碱影响骨肉瘤细胞生物学行为的机制,以期为骨肉瘤的靶向治疗提供新的思路和方向。

[关键词] 骨肉瘤;中药;苦参碱;抗肿瘤;作用机制;研究进展

[中图分类号] R681 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-03-21

Research progress on anti-osteosarcoma effect and mechanism of matrine

HUANG Xin-cheng, RUAN Si-yuan, WANG Yu-qi, LIU De-sen, GU Liu-wei, CAO Hong (Department of Orthopedic Trauma, Shiyan People' Hospital/People's Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei 442000, China)

Abstract: Osteosarcoma is a common malignant tumor of bone origin, which seriously endangers patients' life and health. However, there are many difficulties and challenges in the basic research and diagnosis and treatment of osteosarcoma due to its low incidence, high heterogeneity and complex genetic background. The effect and mechanism of traditional Chinese medicine on anti-osteosarcoma have become a research hotspot in recent years. Among which, matrine has high clinical research value because it is a potential anti-osteosarcoma traditional Chinese medicine extract. Matrine is an active alkaloid extracted from traditional Chinese medicine sophora and leguminous plant sophora alopecuroides, as one of the quinolane alkaloid compounds, it has a variety of pharmacological activities including anti-tumor, anti-inflammatory, anti-virus, analgesia, anti-fibrosis, anti-bacterial, etc. Previous studies have shown that matrine can enhance the effect of doxorubicin through STAT3 pathway, regulate the expression of Bax, Fas/Fasl and Bcl-2 in the ERK/NF-κB pathway, induce mitochondrial caspase-dependent apoptosis and inactivate AKT pathway to achieve its anti-osteosarcoma effect, while the underlying molecular mechanism has not been fully elucidated. Therefore, this study further elucidates the mechanism of matrine affecting the biological behavior of osteosarcoma cells from the aspect of molecular biology, in order to provide new ideas and directions for the targeted therapy of osteosarcoma.

Keywords: osteosarcoma; traditional Chinese medicine; matrine; anti-tumor; mechanism; research progress

骨肉瘤是最常见的原发性骨源性恶性肿瘤之一,是一种由成骨间充质干细胞产生的肿瘤,主要累及股骨远端、胫骨近端和肱骨近端干骺端区域等儿童和青少年骨骼生长最快的结构[1]。持续性局部疼痛和静脉怒张是骨肉瘤的主要临床表现,当患者出现全身恶病质时,会严重威胁其生命。研究表明,骨肉瘤的发病率为 0.000 3%,占儿童肿瘤的 3% ~5%,在成人恶性肿瘤中的占比低于 1%[2]。目前其临床治疗以手术治疗为主,化疗为辅,即采用“化疗 - 手术 - 化疗”的综合治疗模式,但效果并不明显。20 世纪 70 年代,骨肉瘤患者 10 年生存率从 30% 提高到 50% 左右,但是患者总体 10 年生存率无显著改善[3]。因此,寻求更加有效的治疗方法,以提高患者的生存率,已成为科研和临床工作的重点。

[基金项目] 武当特色中药研究湖北省重点实验室(湖北医药学院)开放课题重点项目(WDCM2020003);湖北医药学院研究生科技创新项目(YC2020020;YC2021030);湖北医药学院大学生创业训练项目(202010929010;S202010929022)

[通信作者] 曹 洪,E-mail:33556511@qq.com

苦参碱是从传统中药苦参和豆科植物苦豆子的根部分离得到的一种喹诺烷类生物碱,因对各种湿热证、热毒证、皮肤瘙痒等有一定治疗效果而被广泛应用于临床。虽然现代科学尚未完全阐明苦参碱及其衍生物的作用机制,但以往大量研究已经证明苦参碱及其衍生物具有广泛的生物学活性,如抗肿瘤、抗炎、抗病毒、镇痛、抗纤维化、抗菌等[4-5]。在抗肿瘤方面,苦参碱的主要作用机制是通过上调或下调肿瘤相关分子的表达,抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡[6]。Jiang 等[7]研究合成了 5 种苦参碱衍生物,即 YF3-3、YF3-5、YF3-7、YF3-9、RW-23,并对其抗肿瘤作用进行了评估,结果表明,YF3-5 的抗肿瘤作用最强,可诱导肺腺癌 A549 细胞 G1 期细胞周期阻滞和活性氧生成,为预测苦参碱衍生物的结构修饰以合成新的有效抗肿瘤药物提供了参考。

1 苦参碱通过 STAT3 通路增强阿霉素抗骨肉瘤细胞作用

生物医学研究表明,在各种致癌因子的作用下,细胞生长的调控会发生严重紊乱,导致肿瘤形成,而 STAT3 是该过程的关键信号蛋白和转录因子,其能够介导与多种病理生理过程(如细胞增殖、分化、凋亡及血管生成、炎症、免疫反应等)相关的基因表达。与正常骨或软骨瘤组织相比,骨肉瘤组织中 STAT3 mRNA 和蛋白表达水平均明显升高[8]。研究发现,靶向抑制 STAT3 表达可延缓肿瘤进展,提高抗肿瘤免疫应答[9-10]。STAT3 也因此被认为是极具潜力的癌症治疗新靶点之一[11]。阿霉素是一种用于抗有丝分裂化疗的细胞毒性蒽环类抗生素,是一线治疗药物,其机制是扰乱肿瘤细胞的线粒体结构和功能,可通过静脉注入治疗骨肉瘤等肿瘤,是公认有效的抗肿瘤药物[12-14]。有研究表明,阿霉素可显著降低增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)蛋白的表达,而苦参碱可进一步增强这一作用。磷酸化 STAT3(p-STAT3)已被证实能促进肿瘤的发生,阿霉素可显著降低 p-STAT3/T-STAT3的比值,而苦参碱的应用可进一步降低该比值。肿瘤侵袭指标基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)在阿霉素作用下明显降低,苦参碱则增强了阿霉素的这一作用。此外,在凋亡抑制基因 survivin 的改变中也观察到类似的趋势[15]。以上研究提示,苦参碱通过下调 p-STAT3、PCNA、MMP-9 和 survivin 表达促进阿霉素的抗骨肉瘤作用。

2 苦参碱通过调节 ERK/NF-κB 通路发挥抗骨肉瘤作用

ERK 属于丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase,MAPK)家族成员,是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在所有 MAPK 信号转导通路中,ERK 是最重要的信号级联因子,可以将胞外信号传递到胞内靶点,是调节细胞生长、发育和有丝分裂的核心信号网络,具有促进肿瘤细胞增殖的作用[16]。NF-κB 是一种受信号激活级联控制的诱导型转录因子,主要调控与免疫炎症反应、细胞周期进程、细胞凋亡和细胞黏附等相关的基因表达,从而促进癌变和肿瘤进展[17],表现为抗肿瘤活性,在骨肉瘤的发病机制中具有一定的生物学意义。研究表明,ERK 通路通过调节基质金属蛋白酶的表达参与骨肉瘤的侵袭过程;NF-κB 在调节蛋白酶的合成中也发挥重要作用,而苦参碱不仅可直接影响 NF-κB 转录因子并显著降低其在细胞核中的表达,还可影响 ERK 通路,其机制是诱导 ERK/NF-κB 通路下调,抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表达,从而阻断细胞迁移和侵袭途径[18]。还有研究发现,经苦参碱处理后,p-ERK 的表达与时间依赖性呈正相关,表明苦参碱激活了 MG-63 细胞中的 ERK;与单独用苦参碱处理的细胞相比,经苦参碱联合 ERK 信号通路抑制剂 U0126 处理的细胞中 p-ERK 和抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)的表达降低,Bcl-2 样蛋白 4(Bcl-2-like protein 4,Bax)的表达升高,表明苦参碱通过 ERK 通路诱导细胞自噬并阻断其凋亡[19]。

3 苦参碱通过调节 Bax、Fas/Fasl 和 Bcl-2 诱导人骨肉瘤细胞凋亡

Bcl-2 和 Bax 是 Bcl-2 类蛋白家族的典型成员,Bax 和 Bcl-2 分别是细胞凋亡的启动子和抑制因子。Bax 和 Bcl-2 及其比值是各种癌症的预后标志物。Bax 可通过从线粒体释放细胞色素 c 来激活级联反应,有助于 caspases 的连续激活,从而促进细胞凋亡。而 Bcl-2 可以阻止这一过程,从而抑制凋亡机制的下游激活,使细胞存活。高 Bax 和/或低 Bcl-2 及高 Bax/Bcl-2 比值可促进细胞凋亡[20]。Fas(CD95/APO-1)是肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor,TNFR)超家族的膜受体。Fas 受体 FasL(CD95L)的配体属于 TNF 超家族。Fas/FasL 系统在肿瘤发生中具有重要作用,其

主要的作用是促进凋亡细胞死亡,因此针对 Fas/FasL 系统的有效治疗方法可能在抗肿瘤中发挥重要作用[21]。Liang 等[22]研究发现,苦参碱可诱导 Bax 表达,抑制 Bcl-2 表达,促进 Fas/FasL 的活化和 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 的裂解,从而诱导人骨肉瘤细胞凋亡。

4 苦参碱通过诱导线粒体 caspases 依赖性凋亡途径抑制骨肉瘤细胞的生长

caspases 是进化上保守的半胱氨酸蛋白酶家族,主要参与细胞死亡和炎症[23],caspases 信号通路因其在启动和执行程序性细胞死亡或凋亡中的作用最早被发现。除了参与凋亡过程,caspases 还参与许多非凋亡过程,包括细胞周期进展、蛋白稳定和细胞重塑[24]。在抗肿瘤方面,许多癌症的传统治疗通过间接结合这些 caspases 来去除肿瘤细胞诱导其凋亡[25]。有研究表明,一定浓度的苦参碱可以抑制 UMR-108 细胞的生长,并以浓度依赖的方式诱导细胞凋亡,其机制由 PARP 切割后的 caspase-9 和 caspase-3 介导;经苦参碱处理后,骨肉瘤 UMR-108 细胞的基质金属蛋白酶早期降低,其在细胞凋亡中的作用可能与线粒体控制细胞死亡的作用相似;不同浓度苦参碱处理后,Bcl-2 蛋白的丢失可促进线粒体通透性转换孔的开放,UMR-108 细胞 Bcl-2 表达降低,Bax 表达增加;Bax 表达的变化也可促进转换孔的开放[26]。因此,苦参碱通过干扰线粒体通透性转换孔和激活 caspases 诱导 UMR-108 细胞凋亡。

5 苦参碱通过灭活 AKT 通路抑制骨肉瘤细胞生长

AKT 是一种致癌蛋白,也被称为 PKB,是 PI3K 的主要底物,在人类癌症中,PI3K/AKT 通路常因上游成分的突变和/或过表达而被过度激活。已有研究证实,PI3K/AKT 通路是人类癌症中最重要的致癌途径之一[27-29]。AKT 通路的激活突变和扩增与许多癌症的发病有关,且已经被证实是一个有前景的治疗靶点[30]。有研究表明,苦参碱对人骨肉瘤细胞具有显著的生长抑制和促凋亡作用,其抗增殖活性可能主要依赖于下调 AKT 磷酸化水平;苦参碱通过调节细胞周期和凋亡调节因子 AKT、糖原合成激酶 3-β(glycogen synthesis kinase 3-β,GSK3-β)、cyclin D1、p27Kip1 和 Bax 的表达来抑制骨肉瘤细胞增殖并诱导其凋亡,但仅能增加 Bax 的表达,抑制 AKT 的磷酸化[31]。因此,苦参碱是通过灭活 AKT 通路抑制人骨肉瘤细胞增殖,促进其凋亡。

6 总结

中药在抗肿瘤方面的作用及机制已成为近年来的研究热点,苦参碱作为一种极具潜力的抗骨肉瘤中药提取物,具有多种药理活性,具有较高的临床研究价值。苦参碱能够通过 STAT3 通路增强阿霉素的作用,调节 ERK/NF-κB 通路中 Bax、Fas/Fasl 和 Bcl-2 的表达,并通过诱导线粒体 caspases 依赖性凋亡和灭活 AKT 通路发挥抗骨肉瘤的作用。尽管苦参碱有一定的毒副作用,但其在抗骨肉瘤方面仍具有很大的研究价值和广阔的发展前景。目前,研究者对苦参碱的抗肿瘤活性进行了大量的基础研究,取得了积极的成果,并在此基础上,合成了多种苦参碱衍生物,将其对不同骨肉瘤细胞系的抑制作用和促凋亡作用进行了综合评价。苦参碱及其衍生物在临床上具有潜在的应用价值,可作为先导化合物开发新的抗肿瘤药物。毋庸置疑,越来越多的苦参碱衍生物将被设计和合成用于抗肿瘤药物的研发,在抗肿瘤方面极具发展前景。

[参考文献]

[1] Li Z, Li X, Xu D, et al. An update on the roles of circular RNAs in osteosarcoma[J]. Cell Prolif, 2021, 54(1): e12936. doi: 10.1111/cpr.12936.

[2] Kelleher FC, O'Sullivan H. Monocytes, macrophages, and osteoclasts in osteosarcoma[J]. J Adolesc Young Adult Oncol, 2017, 6(3): 396-405. doi: 10.1089/jayao.2016.0078.

[3] Simpson E, Brown HL. Understanding osteosarcomas[J]. JAAPA, 2018, 31(8): 15-19. doi: 10.1097/01.JAA.0000541477.24116.8d.

[4] Li X, Tang Z, Wen L, et al. Matrine: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, toxicity, clinical application and preparation researches[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 269: 113682. doi: 10.1016/j.jep.2020.113682.

[5] Huang J, Xu H. Matrine: bioactivities and structural modifications[J]. Curr Top Med Chem, 2016, 16(28): 3365-3378. doi: 10.2174/1568026616666160506131012.

[6] Rashid HU, Xu Y, Muhammad Y, et al. Research advances on anticancer activities of matrine and its derivatives: an updated overview[J]. Eur J Med Chem, 2019, 161: 205-238. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.037.

[7] Jiang L, Wu L, Yang F, et al. Synthesis, biological evaluation and mechanism studies of matrine derivatives as anticancer agents[J]. Oncol Lett, 2017, 14(3): 3057-3064. doi: 10.3892/ol.2017.6475.

[8] Liu Y, Liao S, Bennett S, et al. STAT3 and its targeting inhibitors in

osteosarcoma[J]. Cell Prolif,2021,54(2):e12974. doi:10.1111/cpr.12974.

[9] Guanizo AC, Fernando CD, Garama DJ, et al. STAT3: a multifaceted oncoprotein[J]. Growth Factors, 2018, 36(1-2):1-14. doi:10.1080/08977194.2018.1473393.

[10] Lee H, Jeong AJ, Ye SK. Highlighted STAT3 as a potential drug target for cancer therapy[J]. BMB Rep, 2019, 52(7):415-423. doi:10.5483/BMBRep.2019.52.7.152.

[11] Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions[J]. Nat Rev Cancer, 2014, 14(11):736-746. doi:10.1038/nrc3818.

[12] National Toxicology Program. Adriamycin[J]. Rep Carcinog, 2011, 12: 31-32.

[13] Armstrong J, Dass CR. Doxorubicin action on mitochondria: relevance to osteosarcoma therapy? [J]. Curr Drug Targets, 2018, 19(5):432-438. doi:10.2174/1389450116666150416115852.

[14] Park HJ, Bae JS, Kim KM, et al. The PARP inhibitor olaparib potentiates the effect of the DNA damaging agent doxorubicin in osteosarcoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):107. doi:10.1186/s13046-018-0772-9.

[15] Zhou H, Chen S, Yang Y, et al. Matrine enhances the efficacy of adriamycin chemotherapy in osteosarcoma cells by the STAT3 pathway[J]. Anticancer Drugs, 2019, 30(10):1006-1012. doi:10.1097/CAD.0000000000000796.

[16] Guo YJ, Pan WW, Liu SB, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(3):1997-2007. doi:10.3892/etm.2020.8454.

[17] Okamoto T, Sanda T, Asamitsu K. NF-kappa B signaling and carcinogenesis[J]. Curr Pharm Des, 2007, 13(5):447-462. doi:10.2174/138161207780162944.

[18] Li Y, Zhang ZN, Zhao HM, et al. Matrine inhibits the invasive properties of human osteosarcoma cells by downregulating the ERK-NF-κB pathway[J]. Anticancer Drugs, 2014, 25(9):1035-1043. doi:10.1097/CAD.0000000000000136.

[19] 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. doi:10.3892/ol.2016.4848.

[20] Kulsoom B, Shamsi TS, Afsar NA, et al. Bax, Bcl-2, and Bax/Bcl-2 as prognostic markers in acute myeloid leukemia: are we ready for Bcl-2-directed therapy? [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10:403-416. doi:10.2147/CMAR.S154608.

[21] Villa-Morales M, Fernández-Piqueras J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy[J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16(1):85-101. doi:10.1517/14728222.2011.628937.

[22] Liang CZ, Zhang JK, Shi Z, et al. Matrine induces caspase-dependent apoptosis in human osteosarcoma cells in vitro and in vivo through the upregulation of Bax and Fas/FasL and downregulation of Bcl-2[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2012, 69(2):317-331. doi:10.1007/s00280-011-1699-4.

[23] Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in cell death, inflammation, and disease[J]. Immunity, 2019, 50(6):1352-1364. doi:10.1016/j.immuni.2019.05.020.

[24] Burgon PG, Megeney LA. Caspase signaling, a conserved inductive cue for metazoan cell differentiation[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 82: 96-104. doi:10.1016/j.semcdb.2017.11.009.

[25] Boice A, Bouchier-Hayes L. Targeting apoptotic caspases in cancer[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2020, 1867(6):118688. doi:10.1016/j.bbamcr.2020.118688.

[26] Yan F, Liu Y, Wang W. Matrine inhibited the growth of rat osteosarcoma UMR-108 cells by inducing apoptosis in a mitochondrial-caspase-dependent pathway[J]. Tumour Biol, 2013, 34(4):2135-2140. doi:10.1007/s13277-013-0744-9.

[27] Song M, Bode AM, Dong Z, et al. AKT as a therapeutic target for cancer[J]. Cancer Res, 2019, 79(6):1019-1031. doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-2738.

[28] Iida M, Harari PM, Wheeler DL, et al. Targeting AKT/PKB to improve treatment outcomes for solid tumors[J]. Mutat Res, 2020, 819820: 111690. doi:10.1016/j.mrfmmm.2020.111690.

[29] Zhang J, Yu XH, Yan YG, et al. PI3K/Akt signaling in osteosarcoma[J]. Clin Chim Acta, 2015, 444:182-192. doi:10.1016/j.cca.2014.12.041.

[30] Shariati M, Meric-Bernstam F. Targeting AKT for cancer therapy[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2019, 28(11):977-988. doi:10.1080/13543784.2019.1676726.

[31] Xu GP, Zhao W, Zhuang JP, et al. Matrine inhibits the growth and induces apoptosis of osteosarcoma cells in vitro by inactivating the Akt pathway[J]. Tumour Biol, 2015, 36(3):1653-1659. doi:10.1007/s13277-014-2764-5.

(编辑:龙小芬)