DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.11.037
第25卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 11
1022 2003年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2003

综述

文章编号:1000-5404(2003)11-1022-02

寻找以线粒体为靶点的抗癌新药

The searching for new anticancer drugs targeting directly mitochondria

杨世昕[1],韩 泉[2] 综述,卞修武[1] 审校 ([1]第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038;[2]南京军区空军九江庐山疗养院,庐山 332900)

寻找肿瘤药物作用的新靶点和合成新的抗肿瘤药一直是肿瘤治疗研究的重大课题。线粒体结构和功能的改变,不仅会干扰肿瘤细胞的生长、代谢和增殖等过程,最终还会触发很多肿瘤细胞凋亡[1~4]。随着线粒体调控细胞凋亡的发现,线粒体诱导肿瘤细胞凋亡成为目前研究的新热点。最近开发的一些抗肿瘤新药,能够直接作用于线粒体,而且还是克服肿瘤治疗过程中凋亡耐受的一种新策略[4]。

1 线粒体与细胞凋亡

传统的细胞超微结构分析认为凋亡细胞线粒体的形态一直维持不变直至细胞降解的最后阶段,但最近研究证明线粒体是细胞凋亡的调控者,在细胞凋亡乃至死亡过程中起了关键性的作用[5]。

线粒体对细胞凋亡的调控作用的机制尚未完全清楚。研究较多的、也比较肯定的是以下两方面[4~6]:①线粒体外膜释放凋亡活性物质,当细胞受到凋亡信号刺激后,Cyt-c 迅速从线粒体释放到胞液中,与凋亡蛋白酶激活因子1(Apoptotic protease activing factor 1, Apaf-1/CED-4)和 Caspase 9 酶原互相结合组成了凋亡体(Apoptosome),从而启动了细胞凋亡蛋白酶级联反应。同时位于线粒体内外膜之间凋亡诱导因子(Apoptosis induced factor, AIF)转移到胞浆中,再进入细胞核中直接诱导细胞核发生凋亡改变。②线粒体通透性转变孔开放。大量研究证实几乎所有致细胞凋亡的刺激因素都会诱发线粒体结构破坏和功能障碍[2],由此产生一系列关键性变化,如电子转运变化、线粒体跨膜电位($\Delta\varphi m$)下降、细胞内氧化还原改变。这些作用主要涉及位于线粒体内外膜之间称为通透性转变孔(Permeability transition pore, PTP)的巨大渗透性通道,PTP 开放是引起线粒体通透性转换(Permeability transition, PT)的直接后果。但 PTP 开放的机制尚不清楚,目前已经知道 PTP 是由内膜蛋白胸腺核苷酸易位子(Adenine nucleotide translocatoor, ANT)和外膜的电压依赖性离子通道(VDAC)以及 VADC 外周上的苯二氮类受体等组分,称为线粒体膜通透转运孔复合物(PTPC)。ANT 作为特殊携蛋白通常起 ATP 和 ADP 交换的的作用。VADC 是外膜的电压依赖性离子通道。ANT 和/或 VDAC 与 bcl-2 和 Bax 相互作用,和苯二氮受体一起参与能量代谢的调节(例如己糖激酶Ⅱ和肌酸酶)。PTPC 同时控制线粒体外膜的通透性(孔形成蛋白:VDAC 和/或 Bax)以及内膜通透性(孔形成蛋白:ANT 可能与 Bax 协作)并且参与能量代谢(由于酶和 ANT)。由于存在多种蛋白,每一种都可能会影响孔的开放,PTPC 可能组成一种调节通道,影响大部分代谢活动:氧化还原反应对(例如减少氧化谷胱甘肽、辅酶Ⅰ/辅酶Ⅱ),局部 ATP/ADP 浓度、不同的代谢(葡萄糖和肌酸)、Ca^{2+} 和 Mg^{+2},pH 以及线粒体跨膜电位 $\Delta\varphi m$。所有的这些因素可能通过 PTPC 决定线粒体膜通透性,一旦线粒体膜屏障功能丢失,就会造成生物能量代谢、氧化还原代谢、离子代谢紊乱,最终导致细胞死亡。

2 以线粒体为靶点的抗肿瘤药物的作用机制

随着线粒体调控细胞凋亡的发现,人们开始寻找一些可以通过线粒体而改变肿瘤细胞的生长活性甚至诱导肿瘤细胞凋亡达到治疗肿瘤的药物,如若丹明、亚砷酸盐、CD437、白桦脂酸等,这些实验性抗肿瘤药物能够直接作用于线粒体膜或 PTPC[4]。

2.1 若丹明

若丹明(Lonidamine, LND),即二氯苯基-1-吲唑-3-羧基酸,它是吲唑-3-羧酸衍生物,具有抗肿瘤的作用,能够提高体内外顺铂、环磷酰胺、阿霉素、紫杉醇引起的凋亡反应。LND 已经在联合化学疗Ⅱ、Ⅲ期临床使用来治疗转移乳腺癌以及不能手术的非小细胞肺癌(NSCLC),结果表明两种肿瘤的平均存活时间都有所缩短[7,8]。研究表明 LND 能够引起瘤细胞 $\Delta\varphi m$ 降低,生成活性氧族,产生 DNA 片段、影响细胞活力[9]。利用无细胞系的研究还发现[10],LND 对细胞染色质成分没有直接作用,只有当加入线粒体时,LND 会引起 $\Delta\varphi m$ 降低并释放凋亡因子如细胞色素 c,从而导致染色质凝聚、形成 NAD 片段。所有这些作用能够被 PTPC 抑制剂环孢菌素降低。当加入到包含 PTPC 的脂质体中,LND 引起膜通透性的改变,但对缺乏 PTPC 的脂质体却没有这种作用。LND 对细胞、分离线粒体、提纯 PTPC 的作用都可以通过重组 Bcl-2 蛋白抑制。综合以上,这些数据表明 LND 诱导凋亡是通过对 PTPC 的直接作用,封闭 Bcl-2 而抑制 LND 作用是由于抑制了 PTPC 的作用。

2.2 亚砷酸盐

亚砷酸盐,(例如三氧化二砷)最近已成为治疗急性早幼粒细胞性白血病(APL)的选择性药物。人 T 细胞白血病、骨髓瘤细胞、变异淋巴细胞对亚砷酸盐非常敏感。无细胞系凋亡模型(即在细胞外把亚细胞结构如线粒体、细胞核和细胞质成分混

作者简介:杨世昕(1968-),男,江西省永丰县人,博士研究生,主治医师,主要从事移植耐受和肿瘤病理方面的研究。电话:(023)68752246
通信作者:卞修武,电话:(023)68752247
收稿日期:2002-04-09;修回日期:2002-06-07

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

合在一起来研究凋亡发生过程)已显示[11,12], 在体外亚砷酸盐通过线粒体参与诱导细胞凋亡过程, 甚至亚砷酸盐能够作用于分离的线粒体, 诱导 PTPC 开放。由于亚砷酸盐的毒性调节是通过减少谷胱甘肽而起作用, 可以推测它改变线粒体通透性可能是与硫醇氧化有关。

2.3　CD437

CD437 是一种新合成的视黄醛受体 γ(RARγ)拮抗剂, 能够诱导人乳腺癌、肺、宫颈、卵巢癌、黑瘤、前列腺、神经母细胞瘤、急性早幼粒细胞性白血病(APL)细胞系凋亡。其作用机制包括 p53、p21、bax 升高和 bcl-xl 的降低。过去认为 CD437 是通过 RARγ 起作用, 但它可以杀死 RARγ 阴性细胞, 这说明 CD437 不完全通过 RARγ 起作用。在完整的细胞, CD437 依赖的 Caspase 活化有细胞色素 c 释放, 这种作用不被 Caspase 抑制剂阻断。加入到纯化的线粒体当中, CD437 可导致膜通透性改变, 这种效应可以被环孢菌素抑制, 这表明 CD437 可能通过 PTPC 而发挥其毒性作用[13]。

2.4　白桦脂酸

白桦脂酸是一种三萜化合物, 是一种新的抗肿瘤药, 在体内和体外均具有抗黑色素瘤、神经外胚叶瘤、神经胶质瘤作用。Fulda 等[14,15] 研究显示白桦脂酸通过直接改变线粒体而诱导凋亡, 所有的这些作用在细胞和无细胞系中都观察到了。当加入分离的线粒体, 白桦脂酸能够直接诱导 $\Delta\psi_m$ 降低, 不受 Caspase 抑制剂 Z-VAD-fmk 的影响但还是被 BA(米酵菌酸)所抑制。在无细胞系, 线粒体、胞质和提纯的细胞核, 线粒体通过白桦脂酸能够诱导通透性的转变释放可溶性因子(如细胞色素 C 和 AIF)间接激活 Caspase(Caspase8, Casepase3)和核片段形成。Bcl-2 和 Bcl-Xl 封闭线粒体和通过白桦脂酸诱导细胞凋亡, BA 同样也是 PTPC 的抑制物。

大量研究表明线粒体不仅对细胞凋亡的启动和调控具有重要意义, 而且是细胞凋亡执行的关键元件, 人们可以以此为靶点而控制肿瘤生长的恶性方式。总之, 线粒体诱导肿瘤细胞凋亡的深入研究为肿瘤治疗提供了新思路和新靶点, 并将更好地指导肿瘤药物的研究和实践。

3　展望

目前对线粒体与细胞凋亡的研究仍停留在体外实验上, 虽然研究表明线粒体凋亡途径中线粒体通透性增强、Cyt-c 的释放是细胞凋亡的关键性问题, 但是很多问题仍没有解决, 例如 Cyt-c 与其它线粒体释放因子的关系、核基因如何编码线粒体凋亡功能等方面还有待进一步的研究。

传统的化学治疗药物通过诱导内膜效应(与生理性凋亡相关)间接引起线粒体膜渗透。这种作用会由于 p53 突变、抗氧化活性增加、封闭 CD95/CD95L 径路, Bcl-2 样蛋白的过表达能够稳定线粒体膜从而减少大部分这些药物的细胞毒形药性。使用线粒体药物来诱导细胞死亡而不考虑上游调控机制和 Caspase 的状态以及内生 Caspase 抑制剂。以 PTPC 为靶点的抗肿瘤药能够克服 Bcl-2 介导的凋亡抑制, 所以设计线粒体靶毒性药还是一种克服凋亡耐受的新策略[4]。随着对线粒体在细胞凋亡调控机制的深入理解, 必将为肿瘤的放疗、化疗及生物治疗提供新的思路和策略。

关键词: 抗肿瘤药; 线粒体; 凋亡
中图法分类号: R979.1　　文献标识码: A

参考文献:

[1] Glaser T, Weller M. Caspase-dependent chemotherapy-induced death of glioma cells requires mitochondrial cytochrome c release[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 281(2): 322—327.

[2] Sanchez Alcazar J A, Khodjakov A, Schneider E, *et al*. Anticancer drugs induce increased mitochondrial cytochrome c expression that precedes cell death[J]. Cancer Res, 2001, 61(3): 1038—1044.

[3] Ferreira C G, Span S W, Peters G J, *et al*. Chemotherapy triggers apoptosis in a caspase-8-dependent and mitochondria-controlled manner in the non-small cell lung cancer cell line NCI-H460[J]. Cancer Res, 2000, 60(24): 7133—7141.

[4] Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, *et al*. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(13): 1042—1053.

[5] Green D R, Reed J C. Mitochondria and apoptosis[J]. Science, 1998, 281(5381): 1309—1312.

[6] Susin S A, Daugas E, Ravagnan L, *et al*. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis[J]. J Exp Med, 2000, 192(4): 571—580.

[7] Dogliotti L, Danese S, Berruti A, *et al*. Cisplatin, epirubicin and lonidamine combination regimen as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer: a pilot study[J]. Cancer chemother Pharmacol, 1998, 41(4): 333—338.

[8] Lanniello G P, De Cataldis G, Comella P, *et al*. Cisplatin, epirubicin, and vindesine with or without lonidamine in the treatment of inoperable nonsmall cell lung carcinoma: a multicenter randomized clinical trial[J]. Cancer, 1996, 78(1): 63—69.

[9] Ravagnan L, Marzo I, Costantini P, *et al*. Lonidamine triggers apoptosis *via* a direct, Bcl-2-inhibited effect on the mitochondrial permeability transition pore[J]. Oncogene, 1999, 18(16): 2537—2546

[10] Biroccio A, Del Bufalo D, Fanciulli M, *et al*. bcl-2 inhibits mitochondrial metabolism and lonidamine-induced apoptosis in Adriamycin-resistant MCF7 cells[J]. Int J Cancer, 1999, 82(1): 125—130.

[11] Rousselot P, Labaume S, Marolleau J P, *et al*. Arsenic trioxide and melarsoprol induce apoptosis in plasma cell lines and plasma cells from myeloma patients[J]. Cancer Res, 1999, 59(5): 1041—1048.

[12] Seol J G, Park W H, Kim E S, *et al*. Potential role of caspase-3 and -9 in arsenic trioxide-mediated apoptosis in PCI-1 head and neck cancer cells[J]. Int J Oncol, 2001, 18(2): 249—255.

[13] Marchetti P, Zamzami N, Joseph B, *et al*. The novel retinoid 6-[3-(1-adamantyl)-4-hydroxyphenyl]-2-naphtalene carboxylic acid can trigger apoptosis through a mitochondrial pathway independent of the nucleus[J]. Cancer Res, 1999, 54(24): 6257—6266.

[14] Fulda S, Jeremias I, Pietsch T, *et al*. Betulinic acid: a new chemotherapeutic agent in the treatment of neuroectodermal tumors[J]. Klin Padiatr, 1999, 211(4): 319—322.

[15] Fulda S, Scaffidi C, Susin S A, *et al*. Activation of mitochondria and release of mitochondrial apoptogenic factors by betulinic acid[J]. J Biol Chem, 1998, 273(51): 33942—33948.

(编辑　张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net