

• 综述 •

苦参碱在恶性血液系统疾病中的应用
及机制研究进展*吴迪炯¹ 邵科钉¹ 孙洁² 叶宝东¹ 周郁鸿^{1△}

[关键词] 恶性血液病;苦参碱;临床应用;机制

[中图分类号] R733 [文献标志码] A [文章编号] 1004-2806(2012)07-0469-03

恶性血液病的治疗目前仍以化疗及移植为主,新的药物,包括靶向药物的出现进一步提高了临床疗效,但原发及继发的化疗耐药仍是困扰临床的难题之一。中药多靶点、多途径的优势,在血液病治疗中发挥着越来越重要的作用。苦参碱为苦参主要有效成份之一,现代研究显示其在治疗慢性肝病、保护心血管、抗病毒、抗肿瘤等方面具有积极的作用。在血液系统疾病,尤其是白血病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤等恶性血液病的治疗中,已取得了不少突破性进展,对其药物作用机制、疗效等方面的探讨是目前的研究热点之一。本文就苦参碱在恶性血液系统疾病中的研究近况做一综述。

1 作用机制

1.1 抑制肿瘤细胞过度增殖

在恶性血液病,如白血病、骨髓增殖性疾病中,骨髓细胞单系或多系的异常增殖活跃是其主要生物学特点之一。细胞的增殖受细胞周期调控,细胞周期蛋白(cyclin)、细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(cyclin dependent kinase inhibitor, CKI)是目前发现的与细胞周期调控相关的主要分子。p27kip1 属于 CKI(p21)家族,能通过 G₁ 期对 cyclin E-CDK2 和 cyclin D-CDK4 激酶复合物的抑制,防止细胞周期由 G₁ 期进入 S 期^[1]。白血病患者高度表达增殖细胞核抗原(PCNA),作为 DNA 聚合酶辅助因子,通过抑制 PCNA 除了能直接影响 DNA 的复制,且尚能促进 p21 的表达,进而阻滞细胞周期^[2]。研究显示,苦参碱能显著抑制红白血病 K562 细胞 p27kip1 及 PCNA 的表达^[3-4],并能上调 c-myc,抑制 IL-6、STAT3 等基因的表达,协同参与细胞周期的抑制^[5]。此外,端粒酶与细胞增殖、分化和凋亡密切相关,苦参碱具有抑制端粒酶活性的作用^[6]。而对于多发性骨髓

瘤 RPMI8226 细胞,有报道显示苦参碱同样能增加 G(0)/G(1)期、减少 S 期比例,但对 G(2)/M 期无显著影响^[7]。

1.2 促进恶性细胞凋亡

恶性血液病细胞存在着细胞凋亡的缺陷,是导致疾病进展的主要因素,同样也是药物治疗的潜在靶点。p53 基因是迄今发现的与人类肿瘤相关性最高的基因,同时又是重要的凋亡相关基因。K562 是 p53 缺陷的细胞株,研究发现,苦参碱能显著上调该细胞 p53 mRNA 转录^[8],进一步促细胞凋亡蛋白酶活化因子-1(Apaf-1)的表达、Bax 蛋白移位及细胞色素 c(cyto C)释放,最后激活 caspase3/9^[9],该过程可被 caspase3 抑制剂所阻断^[10],认为苦参碱的促凋亡过程与线粒体死亡通路密切相关。此外,p27 kip1、E2F-1 除了在细胞周期中发挥作用外,同样参与了细胞的凋亡过程,苦参碱能通过上调上述物质的表达介导细胞凋亡^[3,11]。对于单核细胞白血病 U937 细胞株,苦参碱诱导凋亡的通路 bcl-2、bcl-xL、bax 及 MAPK 三大亚族(Erk1/2、p38、JNK/SAPK)均无关,但细胞色素 C/Caspase 的调控路径及 Bcl-6 蛋白则参与其中^[4,12]。苦参碱对于骨髓瘤细胞株的诱导凋亡同样与线粒体途径相关,呈药物浓度及作用时间依赖性^[13],但对急性 T 淋巴母细胞白血病 JM 细胞株的凋亡则主要与 Fas/FasL 死亡途径有关^[14]。苦参碱抑制 Burkitt 淋巴瘤 Raji 细胞增殖则可能与其抑制 Survivin、Bcl-2 凋亡抑制蛋白,上调 P-p38MAPK、Fas、FasL 的表达密切相关,并呈浓度依赖性^[15-17]。

1.3 诱导肿瘤细胞正常分化

除了肿瘤细胞的过度增殖及凋亡减少,细胞分化的异常同样是引起疾病进一步发展及耐药与否的重要因素。有关白血病细胞的诱导分化,目前主要集中于对 K562 细胞的研究,其中酪氨酸激酶相关受体途径是其中的主要通路^[18]。有研究认为 K562 细胞表面可能存在着苦参碱相关受体,通过与苦参碱结合能有效抑制蛋白酪氨酸激酶活性^[19],并诱导早期分化基因的表达^[20],进而促进血红蛋白 F($\alpha_2\gamma_2$)的合成,其作用可与丁酸钠相

* 基金资助:国家自然科学基金项目(No:30600256);浙江省自然科学基金项目(No:Y2101416);浙江省中医药管理局项目(No:2007YB029)

¹ 浙江中医药大学附属第一医院血液科(杭州,310006)

² 浙江中医药大学附属第一医院骨髓移植中心

[△] 审校者

通信作者:周郁鸿, E-mail:zyhblood@163.com

近^[6,21]。此外,苦参碱同样能有效诱导 HL-60 细胞分化及凋亡,上调细胞表面分化抗原 CD11b 和 CD15 表达水平^[22]。

1.4 抗癌细胞黏附浸润及转移

多数恶性血液系统疾病均存在着肿瘤细胞的远处转移或周围浸润,尤其是白血病,侵袭和转移是其复发和治疗失败的主要原因。基质金属蛋白酶家族(MMPs)几乎能降解细胞外基质中的各种蛋白成分,破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障。其中,MMP-9、MMP-2 是目前研究较为深入,在肿瘤的侵袭转移中起关键性作用。有学者发现,苦参碱能全面抑制急性淋巴细胞白血病 Jurkat、早幼粒细胞 HL-60 细胞的黏附能力、运动能力和侵袭能力,其作用机制可能与下调 MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达有关^[23-24],更多的研究可从此着手完善。此外,黏附分子与肿瘤的生长、浸润和转移密切相关,癌细胞转移过程中对其他细胞和基质的黏附主要是通过黏附分子所介导的。苦参碱能显著下调骨髓瘤细胞黏附分子 CD44、CD54(ICAM-1)的表达,参与了肿瘤细胞转移的抑制过程^[7]。值得一提的是,通过抑制 CD44 表达尚能诱导部分亚型白血病细胞的分化,苦参碱在该方面的作用是否具有优势,具有一定的研究意义。

1.5 逆转肿瘤细胞化疗耐药

肿瘤细胞对单药或多药的耐药是导致化疗不敏感甚至失败的主要原因,是目前亟待攻克的难题之一。有关耐药机制的产生,目前存在多种假说,认为与耐药基因、耐药相关蛋白、酶等因素相关。苦参碱逆转白血病细胞 K562/A02 对柔红霉素的耐药性,其机制就可能与下调 MDR 基因 MDR-1 mRNA 的表达有关^[25]。此外,多种凋亡相关基因,如 p53、Fas、bcl-2 等的表达改变,均被认为与肿瘤细胞凋亡受抑,进而致化疗药物耐受有关。苦参碱在促进细胞凋亡的作用在逆转耐药中同样可发挥作用。端粒酶是一种特异的逆转录酶,由 RNA 模板(hTR)、催化亚单位(hTERT)和端粒酶相关蛋白 1(TP1)组成,高水平的端粒酶除抑制癌细胞凋亡外,更多可修复化疗药物所致染色体断裂,使易产生耐药。有报道,苦参碱作用 K562 细胞后,其端粒酶基因 hTERT-mRNA 表达受抑,并与药物作用浓度相关^[26]。苦参碱通过抑制端粒酶活性进而逆转耐药机制有望成为新的突破点,值得深入探讨。急性早幼粒细胞白血病是目前认为的化疗能够治愈的惟一的白血病,尽管全反式维甲酸诱导分化疗法可使其中 85% 以上获得完全缓解,但单药应用引起的快速耐药与高复发率仍是影响 ATRA 长期疗效的两大障碍。我们的研究发现,苦参碱能有效逆转急性早幼粒细胞白血病 NB4-R1 细胞株维甲酸耐药,可能与其协同 ATRA 诱导分化及促

进耐药细胞凋亡有关^[27]。

1.6 清除微小残留灶

关于白血病的复发机制,一定程度上归结于微小残留病的存在。如何更好地减少微小残留灶,是临床工作者所关心的。通过建立表达增强型绿荧光蛋白(EGFP)的多药耐药白血病模型,研究者发现,苦参碱能显著抑制微小残留白血病细胞增生的作用,提高模型小鼠的平均生存期^[28]。今后如能建立和优化苦参碱在恶性血液病缓解期的运用方案,有望减少疾病的复发,给患者提供更多的福音。

2 临床应用进展

尽管目前苦参碱作用机制的研究已较为全面和深入,但其在临床的应用仍处于起步阶段,相关的文献报道有限。苏永忠等^[29]将 57 例诊断明确的成人急性淋巴细胞白血病(ALL)患者分为两组,分别用苦参碱联合 VDP 方案(长春新碱加柔红霉素加泼尼松,34 例)和单用 VDP 方案(23 例),发现苦参碱联合 VDP 方案与单用 VDP 方案诱导化疗后完全缓解率(CR)分别为 82.35% 和 52.17%,差异有统计学意义。邢玉^[30]同样报道苦参碱联合 DOLP 方案(柔红霉素加硫酸长春新碱加 L-左旋门冬酰胺酶加泼尼松)治疗成人 ALL,CR 率达 81.1%,明显高于单纯 DOLP 方案的 51.5%,结果与上研究相似。对于成人 ALL,用苦参碱联合 VDP 方案诱导化疗具有用药方便、疗程短、CR 率高、持续 CR 时间长及不良反应轻等优点。杨泽松等^[31]比较了苦参碱葡萄糖注射液联合 CHOP 方案(环磷酰胺加泼尼松加长春新碱加阿霉素)和单纯 CHOP 方案治疗 IV 期非霍奇金淋巴瘤(NHL)的疗效及不良反应,结果显示联合组疗效优于常规组(68.18% vs 55.56%),苦参碱能降低化疗不良反应,增强化疗疗效,改善生活质量。

3 小结及展望

随着对中医药的不断深入挖掘,中药单药及其有效成分在恶性血液系统疾病的作用优势得到不断体现。亚砷酸在早幼粒细胞白血病、高三尖杉联合阿糖胞苷(HA)方案在老年白血病中的成功应用,让中药协助攻克恶性血液病成为可能。苦参碱作为重要的中药有效单体,目前主要运用于肝病及恶性肿瘤晚期的临床治疗,其在恶性血液病的应用可见零星报道,已显现出其在提高疾病缓解率、增效减毒、改善生活质量方面的优势,但仍需要多中心、大样本的随机对照研究加以验证。结合不断深入的基础研究,建立和完善苦参碱参与的化疗方案具有一定的临床现实意义,合理优化该药的使用阶段、剂量和适宜人群可作为今后的工作方向之一。

参考文献

- [1] BATSI C, MARKOPOULOU S, KONTARGIRIS E, et al. Bcl-2 blocks 2-methoxyestradiol induced leuke-

- mia cell apoptosis by a p27 (Kip1)-dependent G1/S cell cycle arrest in conjunction with NF-kappaB activation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78: 33-44.
- [2] MERKEROVA M, BRUCHOVA H, BRDICKA R. Expression analysis of PCNA gene in chronic myelogenous leukemia—combined application of siRNA silencing and expression arrays[J]. *Leuk Res*, 2007, 31: 661-672.
- [3] 张翠梅, 高建慧, 李德乐, 等. 苦参碱诱导 K562 细胞向红系分化伴随凋亡[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(3): 478-480.
- [4] 张永清, 黄高昇, 王哲, 等. 苦参碱对 K562 细胞增殖及凋亡相关分子表达的影响[J]. *中国医学科学院学报*, 2001, 23(4): 333-336.
- [5] 黄凤霞, 张彦, 王伟佳. 苦参碱对 K562 细胞 Cg1-100 基因表达和细胞增殖的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(3): 525-530.
- [6] ZHANG L P, JIANG J K, TAM J W, et al. Effects of Matrine on proliferation and differentiation in K-562 cells[J]. *Leuk Res*, 2001, 25: 793-800.
- [7] 吴建波, 章圣辉, 韩义香, 等. 苦参碱诱导多发性骨髓瘤 RPM I8226 细胞凋亡及其对细胞黏附分子表达的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(1): 93-96.
- [8] ZHANG L P, JIANG J K, TAM J W, et al. Effects of Matrine on proliferation and differentiation in K-562 cells[J]. *Leuk Res*, 2001, 25: 793-800.
- [9] JIANG H, HOU C, ZHANG S, et al. Matrine upregulates the cell cycle protein E2F-1 and triggers apoptosis via the mitochondrial pathway in K562 cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 559: 98-108.
- [10] LIU X S, JIANG J. Molecular mechanism of matrine-induced apoptosis in leukemia K562 cells[J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34: 1095-1103.
- [11] JIANG H, HOU C, ZHANG S, et al. Matrine upregulates the cell cycle protein E2F-1 and triggers apoptosis via the mitochondrial pathway in K562 cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 559: 98-108.
- [12] LIU X S, JIANG J, JIAO X Y, et al. Matrine-induced apoptosis in leukemia U937 cells: involvement of caspases activation and MAPK-independent pathways[J]. *Planta Med*, 2006, 72: 501-506.
- [13] HAN Y, ZHANG S, WU J, et al. Matrine induces apoptosis of human multiple myeloma cells via activation of the mitochondrial pathway[J]. *Leuk Lymphoma*, 2010, 51: 1337-1346.
- [14] 冯骥良, 黄高昇, 郭英, 等. Cathepsin D 及 Fas ligand 在苦参碱诱导急性 T 淋巴瘤母细胞白血病 JM 细胞株凋亡中的表达研究[J]. *细胞生物学杂志*, 2003, 25(4): 238-241.
- [15] 唐友红, 钟美佐, 余兴, 等. 苦参碱对淋巴瘤 Raji 细胞的增殖及 survivin 蛋白表达的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(9): 1687-1691.
- [16] 黄曦, 陈建斌, 郭启帅, 等. 苦参碱诱导 Raji 细胞凋亡及其对 Bcl-2 表达的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(2): 189-191.
- [17] 刘占术, 罗章琴, 谢波, 等. 苦参碱对 Raji 细胞凋亡的影响及其机制[J]. *中药材*, 2011, 34(4): 576-579.
- [18] 刘北忠. 苦参碱诱导 K562 细胞增殖分化的信号转导机制[J]. *中华血液学杂志*, 1999, 20(5): 278-280.
- [19] 刘北忠, 蒋纪恺, 何於娟, 等. 苦参碱对 K562 细胞蛋白酪氨酸激酶及磷酸酶活性的影响[J]. *癌症*, 2002, 21(12): 1292-1295.
- [20] 张彦, 马凌娣, 何於娟, 等. 苦参碱诱导 K562 细胞分化早期的基因表达分析[J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(6): 342-345.
- [21] 张翠梅, 封志纯. 苦参碱诱导 K562 细胞合成 γ 珠蛋白[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(2): 215-218.
- [22] 李玉红, 许浪, 晏丹, 等. 苦参碱对 HL-60 细胞增殖与分化影响的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(9): 2385-2386.
- [23] 张伟, 戴碧涛, 徐西华, 等. 苦参碱对白血病细胞株 Jurkat 侵袭转移的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(10): 907-911.
- [24] 张伟, 戴碧涛, 汪明宇, 等. 苦参碱对白血病细胞 HL-60 黏附、运动和侵袭的抑制作用[J]. *中成药*, 2009, 31(4): 505-509.
- [25] 主文瑜, 车舜华, 崔克义, 等. 苦参碱逆转白血病多药耐药细胞系 K562/A02 对柔红霉素耐药性的研究[J]. *中国病理生理杂志*, 1998, 14(5): 521-524.
- [26] 李旭芬, 张苏展, 郑树. 苦参碱对 K562 及其多药耐药细胞 K562/Vin 的细胞生物学影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(10): 1233-1237.
- [27] 吴迪炯, 周郁鸿, 朱俊, 等. 苦参碱缓解急性早幼粒细胞性白血病维甲酸耐药的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 22(5): 313-316.
- [28] 费新红, 许小平, 陈莉, 等. 白细胞介素-2 和苦参碱对小鼠微小残留白血病的治疗作用[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2006, 15(1): 4-6.
- [29] 苏永忠, 谢建英, 朱文捷, 等. 苦参碱联合化疗治疗急性淋巴细胞白血病疗效分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2008, 7(7): 7-8.
- [30] 邢玉. DOLP 方案联合苦参碱治疗成人急性淋巴细胞白血病[J]. *中国当代医药*, 2009, 16(5): 41-42.
- [31] 杨泽松, 陈建斌, 张红宾, 等. 苦参碱葡萄糖注射液联合 CHOP 方案治疗非霍奇金淋巴瘤的临床研究[J]. *中成药*, 2007, 29(12): 1728-1730.

(收稿日期: 2011-07-15 修回日期: 2011-11-02)