

· 综述 ·

青藤碱抗肿瘤作用与分子机制研究进展

唐琳^{1,2}, 林也¹, 刘乐平¹, 陆晓珊^{1,2}, 胡胜涛¹, 张二兵¹, 张逢¹, 戴宗顺¹, 宋厚盼¹,
黄宇明³, 蔡雄^{1*}, 刘良^{4*}

(1. 湖南中医药大学 中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室(培育基地), 长沙 410208;
2. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006; 3. 湖南正清制药集团股份有限公司, 湖南 怀化 418000;
4. 澳门科技大学 中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078)

[摘要] 肿瘤为机体在多重致瘤因子的影响下,导致局部组织细胞增生产生的病因未明的新生物,严重威胁人类生命和健康。肿瘤根据其病理性质分为良性肿瘤、交界性肿瘤、恶性肿瘤;其中恶性肿瘤统称为癌症,目前尚无特效药及可靠的治愈手段,为当前医学界研究的一大热点和难点。文献古籍中多有中草药治疗肿瘤屡建良效的记载,且现代药理研究表明,越来越多的中药活性成分已逐步凸显其对多种不同类型肿瘤的抑制作用。青藤碱作为我国传统中草药治疗风湿类疾病具有悠久的历史,青藤碱为中药青藤中含量较高的主要活性成分,具有抗炎、免疫抑制、镇痛、镇静等广泛药理作用,因微溶于水的特性故临床多应用其盐酸盐,商品名为正清风痛宁。近年研究表明,青藤碱单用或联合化疗对多种肿瘤有显著或协同的抑制作用,被称为肿瘤抑制剂、放疗增敏剂,其作用机制主要通过抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,阻滞肿瘤细胞周期,抑制肿瘤侵袭、转移,诱导肿瘤细胞自噬,逆转肿瘤细胞多药耐药,结合纳米材料增效减毒等。该文通过总结近年来青藤碱抗肿瘤抗癌相关实验研究成果,并根据其体内外药理作用及作用机制进行分类叙述,以期青藤碱作为抗肿瘤治疗潜在药物提供理论依据,亦为其抗肿瘤的进一步机制研究提供参考。

[关键词] 青藤碱; 抗肿瘤; 作用机制; 信号通路; 细胞凋亡

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R966;R979.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)04-0175-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212524

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201105.1437.002.html>

[网络出版日期] 2020-11-6 11:56

Advances in Basic Studies on Antitumor Effect and Underlying Molecular Mechanisms of Sinomenine

TANG Lin^{1,2}, LIN Ye¹, LIU Le-ping¹, LU Xiao-shan^{1,2}, HU Sheng-tao¹, ZHANG Er-bing¹,
ZHANG Feng¹, DAI Zong-shun¹, SONG Hou-pan¹, HUANG Yu-ming³, CAI Xiong^{1*}, LIU Liang^{4*}

(1. *Institute of Innovation and Applied Research in Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China*; 2. *School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China*; 3. *Hunan Zhengqing Pharmaceutical Group Co. Ltd., Huaihua 418000, China*; 4. *State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China*)

[收稿日期] 20200630(024)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81703920);湖南省“芙蓉学者奖励计划”资助项目(湘教通[2020]58号);湖南省自然科学基金面上项目(2018JJ2293);湖南省高校创新平台开放基金项目(17K069);湖南省121创新人才培养工程资助项目(湘人社函[2019]192号);湖南省“刘良院士专家工作站”资助项目(湘科协通[2020]34号);湖南中医药大学中医学国内一流建设学科项目(校行科字[2018]3号);湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目(科函[2018]4号)

[第一作者] 唐琳,在读硕士,从事中药药理学研究,E-mail:850347098@qq.com

[通信作者] *蔡雄,博士,教授,从事中药抗炎免疫药理研究,E-mail:caixiong@hnucm.edu.cn;

*刘良,博士,中国工程院院士,从事中医药诊疗风湿病与抗关节炎新药研发研究,E-mail:lliu@must.edu.mo • 175 •

[Abstract] Tumors are new organisms formed by uncontrollable cell proliferation of local tissues driven by various oncogenic factors. The cause of tumors is unknown with life-threatening outcome. Tumors can be classified into benign tumors, borderline tumors, and malignant tumors according to their pathological properties. Among them, malignant tumor is commonly known as cancer, with no specific medicines or reliable cure means, so this is a hot spot and difficult point in current medical research. In ancient literatures, there are many records about the efficacy of Chinese herbal medicine in treating tumor, and modern pharmacological researches have shown that more and more active ingredients of traditional Chinese medicine (TCM) have gradually highlighted their inhibitory effect on various types of tumor. *Caulis sinomenii* has been used for treatment of rheumatic diseases in TCM for a long history. Sinomenine is a major bioactive alkaloid presented in *C. sinomenii*, which has demonstrated a wide range of pharmacological activities such as anti-inflammation, immunosuppression, analgesia and sedation, and due to its slightly soluble in water, it is commonly used in clinic in the form of hydrochloride, with its commercial name of Zhengqing Fengtongning. Recent studies show that sinomenine alone or combined with chemoradiotherapy can inhibit growth of several tumors significantly or in a synergistic way, so it is termed as an inhibitor of tumors. Anti-tumor effect of sinomenine involve inhibition of tumor cell proliferation, induction of tumor cell apoptosis, blockade of tumor cell cycle, suppression of tumor invasion and metastasis, induction of autophagy of tumor cells, and reversal of multidrug resistance of tumor cells. Upon combination with nanomaterials, it can enhance efficiency and reduce toxicity. Here we summarized and reviewed recent advances on basic anti-tumor research of sinomenine, and then made a classification and description according to its *in vivo* and *in vitro* pharmacological action and mechanism of action, so as to elucidate the great potential of sinomenine as a promising anti-tumor drug, and provide reference for further research on its anti-tumor mechanism.

[Key words] sinomenine; anti-tumor; mechanisms of action; signaling pathways; apoptosis

肿瘤是机体细胞在各种异常因素作用下产生的新生物,其可破坏机体正常组织和器官;所有的恶性肿瘤统称为癌症,严重威胁人类健康和生命,其病因尚未完全明确,至今仍为世界性公共卫生难题。癌症的发生是一个多因子、多步骤的复杂过程,与不良的生活习惯、环境污染、遗传、免疫等因素密切相关。目前,临床上已有多种抗癌药物如化疗药物和生物靶向制剂以及中成药、方剂等,但仍然缺乏一种理想的抗癌特效药,手术切除以及放疗亦未能根治此病。据统计,癌症患者新增人数达到每年1500万左右,且癌症致死率高,晚期给患者带来了极大的痛苦;由于癌症在手术后和放化疗等一线治疗过程中可能出现的耐药性或毒副作用等导致患者的预后不佳^[1-2],故探索疗效佳、安全低毒、可靶向性防治肿瘤的药物是目前研究的热点及难点。中医药治疗肿瘤已有两千年历史,中医强调对疾病的辨证施治、标本兼治,且中药的多成分、多靶点、毒副作用小等特点以及其临床辅助手术、放化疗等有效性和安全性已获得普遍的认可^[3-4]。目前,越来越多的中药活性成分已逐步凸显其对不同类型肿瘤的抑制作用^[5-9],从中药中探索抗肿瘤活性成分为

中草药的充分开发应用提供有益借鉴,同时开展相应的高质量药效和机制研究也为中药的临床应用和走向国际市场提供可靠依据。青藤碱(SIN)($C_{19}H_{23}NO_4$)为吗啡烷类生物碱,在防己科植物青藤和毛青藤的干燥藤茎中含量较高且为两者的主要活性成分,其结构式见图1。

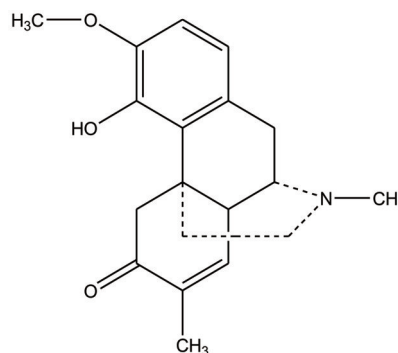


图1 青藤碱化学结构

Fig. 1 Chemical structure of sinomenine

青藤碱药理作用广泛,主要有抗炎、免疫抑制、降压、抗心律失常、镇痛、镇静等,其临床上多以其盐酸盐的形式存在,商品名为正清风痛宁,用以治疗和辅助治疗多种炎症及自身免疫性疾病如类风

湿关节炎、肾小球疾病等^[10-12]。近年来,青藤碱的抗肿瘤活性已得到诸多研究的证实,大量研究结果表明,青藤碱对乳腺癌、肺癌、肝癌、宫颈癌、结肠癌、胃癌、肾癌、滑膜肉瘤、胶质母细胞瘤、食管癌、膀胱癌、黑色素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌、胆管癌、白血病、纤维肉瘤等具有较好的抗肿瘤抗癌作用,主要通过调控肿瘤相关信号通路、蛋白和基因的表达,从而抑制肿瘤生长增殖、侵袭及迁移,同时诱导肿瘤细胞周期阻滞,并诱导肿瘤细胞发生自噬,诱导肿瘤凋亡等,从而发挥其抗肿瘤作用。本文通过搜集国内外有关青藤碱抗肿瘤的基础研究,并对青藤碱的抗肿瘤作用及其分子机制作以综述,为青藤碱的抗肿瘤药理作用及其机制的进一步研究,为青藤碱的临床应用开发提供一定的理论参考。

1 青藤碱的体内外抗肿瘤作用

恶性肿瘤为医疗界的一大难题,探寻一种有效、安全的抗肿瘤先导化合物是目前研究的热点。大量体内外研究证明,青藤碱对多种良性及恶性肿瘤体现出显著的抗肿瘤药理活性。

1.1 体外研究 LIU等^[13]研究表明,青藤碱对正常肺上皮细胞HBE和NL20的细胞生长无影响,呈时间(24,48,72 h)和剂量(25,50,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)依赖性抑制肺癌HCC827,H460和H1975细胞增殖,且增殖标志物磷酸化组蛋白H3 S10(p-H3 Ser10)表达下调。GAO等^[14]表明,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱可显著抑制乳腺癌MDA-MB-231和MCF-7细胞中5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)阳性细胞率并诱导其凋亡。JIANG等^[15]将青藤碱(0.36,0.61 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用于肺癌NCI-H460细胞48 h,结果表明, Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白凋亡检测(Annexin V)阳性细胞比例呈剂量依赖性增加,且肿瘤细胞核浓缩、末端脱氧核苷酸转移酶荧光标记(TUNEL)阳性细胞增加,DNA片段化,提示青藤碱可显著诱导肺癌NCI-H460细胞凋亡。LI等^[16]将青藤碱(0.1,0.5,5.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用于(MDA-MB-231,MCF-7,SK-BR-3,ZR-75-30,BT474,T47D)等不同乳腺癌细胞系48 h,结果显示癌细胞活性均受到不同程度的抑制作用;且在作用48 h时,与正常人乳腺上皮MCF-10A细胞的半数抑制浓度(IC_{50})5.21 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 比较,青藤碱对乳腺癌MDA-MB-231和MCF-7细胞 IC_{50} 分别为1.33,1.51 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,提示青藤碱具有较强的选择细胞毒性。HE等^[17]采用不同浓度的青藤碱(1,8,16,24,32 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用于正常人星形胶质细胞48 h,提示无明显细胞抑制作用;当作用于人U87和U251胶质

瘤细胞时,青藤碱呈浓度依赖性抑制其生长活性,且以16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱作用时,其增殖抑制率分别为55%,60%。XU等^[18]研究表明,青藤碱对正常卵巢HOEpiC细胞无细胞毒性,但对卵巢癌Caov3和SKOV3细胞呈剂量(5,7.5,10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)依赖性产生细胞毒作用。ZHANG等^[19]将青藤碱(1.5,2,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)分别作用于宫颈癌HeLa细胞24,48,72 h,结果表明,青藤碱诱导了严重的细胞死亡(抑制率30%~90%)。内皮细胞(HUVECs)增殖和迁移在血管生成的过程中至关重要,ZHANG等^[20]采用不同浓度青藤碱(62.5,250,1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用于HUVEC细胞24 h,结果表明青藤碱呈剂量依赖性抑制HUVEC细胞的成管能力。XIE等^[21]将400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱分别作用于骨肉瘤HOS和U₂OS细胞24,36 h,结果表明迁移率分别由空白组的81.13%,70.72%降低至62.62%,49.61%;两组的平均迁移细胞数分别由空白组的173,66降低至38,16。SONG等^[22]通过创面愈合实验将不同浓度青藤碱作用于乳腺癌MDA-MB-231细胞24 h,结果表明,空白组及0.25,0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱组的愈合进展分别为95%,80%,50%,提示青藤碱呈剂量依赖性抑制乳腺癌细胞侵袭转移。

1.2 体内研究 LI等^[16]将不同剂量的青藤碱(75,150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)持续给药乳腺癌MDA-MB-231裸鼠21 d,结果表明,青藤碱呈剂量依赖性抑制肿瘤体积及其比重。LU等^[23]将青藤碱(50,100,150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)连续给药肝癌Hep3B模型裸鼠24 d,结果各组对肿瘤体积抑制率分别为5.51%,25.10%,50.01%,对肿瘤比重减小率分别为4.56%,23.89%,43.79%;脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)染色结果表明,凋亡细胞数量分别从空白组的3.2%增加到4.1%,14.7%,32.1%。随后,LI等^[24]通过建立乳腺癌4T1模型及乳腺癌MDA-MB-231肺转移模型,分别以75,150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 青藤碱腹腔注射给药4周后,结果表明,青藤碱呈剂量依赖性抑制肿瘤体积、质量,且在150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 青藤碱剂量下,4T1模型小鼠的肺、肝结节指数分别减少至28.14%,14.86%;MDA-MB-231模型裸鼠的肺结节指数减少至39.09%。提示青藤碱可进一步抑制肿瘤侵袭转移,且无明显肝肾毒副作用。ZHANG等^[20]表明,100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 青藤碱在连续给药乳腺癌4T1模型小鼠14 d后,相对于模型对照组,可显著降低肿瘤质量31%;且分别以71%,55%抑制率显著抑制模型小鼠肺转移和肝转移;同时

100 mg·kg⁻¹青藤碱可显著抑制乳腺癌 168FARN 模型小鼠肿瘤生长。观察结果表明,青藤碱对小鼠体质量无影响,且无毒副作用。而 200 mg·kg⁻¹青藤碱由于过度的血管修剪导致肿瘤缺氧,粒细胞集落刺激因子(G-CSF)上调、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)下调所造成的免疫抑制微环境,对肿瘤的进展没有类似的抑制作用。提示临床用药时剂量范围选择的重要性。JIANG 等^[25]通过建立胶质母细胞瘤 U87 裸鼠模型,结果青藤碱呈剂量(75, 150 mg·kg⁻¹)依赖性抑制肿瘤体积和比重,且自噬相关蛋白(p62)下调,自噬-溶酶体途径启动。在乳腺癌中,音猬因子(SHh)促进了乳腺癌细胞的糖酵解和增殖,并推动了其恶性潜能^[26]。SONG 等^[27]通过建立 MDA-MB-231 乳腺癌肺转移裸鼠模型,并采用 15 mg·kg⁻¹青藤碱和 120 mg·kg⁻¹环巴胺(SHh 抑制剂)分别单用或联用分组连续给药模型裸鼠,青藤碱比环巴胺更显著减少裸鼠肺部肿瘤病灶并延长其生存时间,两药联用可产生协同作用。

2 青藤碱抗肿瘤作用机制

2.1 抑制肿瘤增殖 肿瘤具有生长速度快、无限增殖等特点,故抑制肿瘤细胞增殖为有效治疗肿瘤的机制之一。大量研究表明,青藤碱对肺癌^[15,28]、乳腺癌^[16]、结肠癌^[29]、胃癌^[30]、肾癌^[31-32]、胶质瘤^[17]、食管鳞癌^[33]、黑色素瘤^[34]、前列腺癌^[35]等多种肿瘤细胞具有抗增殖作用,且抑制作用多呈剂量和(或)时间依赖性。LV 等^[30]表明,青藤碱抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖与调控环氧化酶-2(COX-2)通路有关。LI 等^[16]通过体内外研究发现,青藤碱抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖与上调磷酸化细胞外调节蛋白激酶(p-ERK),磷酸化氨基末端蛋白激酶 K(p-JNK)和磷酸化 p38 蛋白激酶(p-p38)表达,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路,下调增殖标志物增殖细胞核抗原(PCNA)有关。DENG 等^[31]研究表明,青藤碱抑制肾癌 ACHN 细胞增殖机制与下调增殖细胞相关抗原(Ki67)和 PCNA 的表达有关。LI 等^[36]研究表明,白细胞介素-1 β (IL-1 β)可刺激人滑膜肉瘤 Hs701.T 细胞的增殖和基因表达,青藤碱可显著抑制滑膜肉瘤 Hs701.T 细胞增殖扩散及白细胞介素-6(IL-6),胎盘生长因子(PIGF),死亡结构域相关蛋白(Daxx)和热休克蛋白 27(HSP27)等相关 17 个基因的表达,并通过下调 IL-6 表达从而抑制酪氨酸激酶(JAK)/信号传导与转录激活因子(STAT)通路的关键中介物 JAK3 表达。JIANG 等^[25]研究结果表明,青藤碱对人胶质母细胞瘤 U87 和 SF767 细胞

产生细胞毒作用,其机制主要与通过半胱氨酸蛋白酶(Caspase)非依赖途径抑制肿瘤细胞增殖,下调 p62 蛋白,启动自噬-溶酶体途径有关。LIU 等^[13]研究表明,己糖激酶(HK2)在非小细胞肺癌系中表现为高表达,青藤碱抑制肺癌 HCC827 和 H1975 细胞活性机制与通过抑制蛋白激酶 B(Akt),从而抑制 HK2 介导的糖酵解有关,且青藤碱诱导的线粒体凋亡部分依赖于 HK2 的下调。王高峰等^[37]研究表明,青藤碱抑制肝癌 HepG2 细胞增殖与上调 Caspase-3, Caspase-9 表达有关。LIU 等^[38]研究表明,青藤碱与顺铂联用可协同抑制胃癌 HGC-27, SGC-7901 和 BGC-823 细胞增殖;WANG 等^[39]研究表明,青藤碱以 1:1 剂量联用 5-氟尿嘧啶(5-FU)相比二者分别单用,可显著协同抑制食管癌 Eca-109 细胞增殖。

2.2 诱导肿瘤凋亡 细胞凋亡主要通过线粒体途径、内质网信号途径、死亡受体途径等 3 种方式激活;诱导肿瘤细胞凋亡有助于各种癌症及肿瘤的治疗。大量研究证明,青藤碱可呈剂量或/和时间依赖性诱导多种肿瘤凋亡。活性氧(ROS)在癌细胞死亡中起重要作用,MAPK 通路为参与调节多种细胞反应的主要信号通路之一,包括细胞增殖、分化和存活;LI 等^[16]研究表明,青藤碱通过上调 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)家族相关 X 蛋白(Bax)和下调 Bcl-2 表达,并通过线粒体途径改变线粒体膜电位,释放细胞色素-C(Cyt-C)并上调 Caspase-3 和 Caspase-9,及凋亡标志物 DNA 修复酶(PARP)表达;并通过 ROS 途径诱导共济失调毛细血管扩张突变基因(ATM)/ATM 及 Rad3 相关蛋白(ATR)-检查点激酶 1(Chk1)/检查点激酶 2(Chk2)信号通路介导的 DNA 损伤(DDR),以及通过 ROS 依赖和非依赖途径调控 MAPKs 诱导乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞死亡。LU 等^[23]表明,青藤碱诱导肝癌 Hep3B 和 SMMC7721 细胞凋亡可能与下调生存(Survivin)蛋白水平,通过线粒体途径改变线粒体膜电位,释放 Cyt-C 和促凋亡的丝氨酸蛋白酶(Omi/HtrA2)至胞质,并触发 Caspase 级联(Caspase-8, Caspase-10, Caspase-3, Caspase-9),上调 PARP 表达有关。XU 等^[18]研究表明,长链非编码 RNA(lncRNA)人卵巢癌特异性转录子(HOST2)在不同卵巢癌细胞系中高表达,并可预测预后不良;青藤碱诱导卵巢癌 Caov3 和 SKOV3 细胞凋亡与抑制 HOST2 表达有关。XU 等^[35]研究结果表明,青藤碱可通过抑制非编码微小 RNA-23a(miR-23a)表达,从而抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/Akt 和 JAK/STAT,继而抑制前

腺癌增殖、侵袭和迁移,并诱导其凋亡。吕彦霖等^[40]研究表明,青藤碱通过上调凋亡关键物裂解半胱天冬酶-3 (cleaved Caspase)-3, cleaved Caspase-9表达,促进胆管癌 HuCCT-1 和 TFK-1 细胞系凋亡。范炎峰等^[41]通过研究表明,青藤碱通过上调 Bax/Bcl-2 及抑制蛋白激酶 1/2(ERK1/2)和 Akt 信号通路从而诱导白血病 Jurkat 细胞凋亡。

研究表明,青藤碱联用 5-FU 可显著协同抑制肿瘤体积和质量,并诱导肿瘤凋亡,无肝肾及血液毒性等副作用^[39,42]。抗转铁蛋白单克隆抗体(anti-TfR mAb)已被证实为一种有效的抗肿瘤药物,HONG 等^[43]研究表明,相比青藤碱或 anti-TfR mAb 单用,两者联合用药可通过抑制 COX-2 通路,下调血管内皮生长因子(VEGF)表达从而显著诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡。FU 等^[33]研究表明青藤碱联合 8 Gy 红外放疗(IR)可显著提高食管鳞癌 Eca109 和 EC9706 细胞对放疗的敏感性;其机制可能与下调核蛋白-70(Ku-70),核蛋白-86(Ku-86)和重组蛋白 A(Rad51)的表达从而抑制 DDR 修复有关。ZHANG 等^[19]研究表明,1 mmol·L⁻¹青藤碱联用 6 Gy IR 给药 48 h,可协同诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡,其机制主要通过上调 DDR 应答标志物磷酸化组蛋白 H2AX (γ -H2AX),磷酸化 ATM(p-ATM)表达增强 DNA 双链断裂(DSBs)积累,抑制核蛋白-80(Ku80)和 Rad51 等 DNA 损伤反应修复因子(DSBR)的表达,并通过 ATR/ATM 上调磷酸化 Chk1(pChk1)和磷酸化 Chk2(pChk2)水平干扰 DNA 损伤检查点。LIAO 等^[42]研究表明,相对于单用青藤碱或 5-FU,两药联用可显著协同诱导胃癌 MKN-28 细胞凋亡,其机制与激活线粒体途径,并抑制 5-FU 相关性胸苷酸合成酶(TS)mRNA 表达从而增强肿瘤对 5-FU 的敏感性有关。陈伟达等^[44]研究表明,青藤碱联用顺铂可通过上调铜离子转运蛋白 1(CTR1)和 Bax 蛋白水平以及下调谷胱甘肽 S-转移酶- π (GST- π)和 Bcl-2 蛋白水平协同诱导纤维肉瘤 HT-1080 细胞凋亡。ZHOU 等^[45]研究表明,当青藤碱分别与 LY294002(PI3K/Akt 通路抑制剂)及 PD98059(ERK 通路抑制剂)联用时,对肺癌 NCI-H460, NCI-H226 和 NCI-H522 细胞产生协同凋亡作用,且相对于三药单用,可显著增加肺癌细胞凋亡率;提示抑制 PI3K/Akt,及丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)/ERK 可能为青藤碱抗肿瘤的潜在机制。综上,青藤碱联合常规放化疗药物可协同发挥抗肿瘤作用,青藤碱主要通过 Caspase-3, Caspase-9 及 Bax, Bcl-2 介导的内源性线

粒体途径诱导肿瘤细胞凋亡,其机制还可能与 ROS, MAPK, JAK/STAT, PI3K/Akt, MEK/ERK, COX-2, ATR/ATM 介导的 DDR,抑制 DSBR 等途径,调控凋亡相关基因和蛋白有关。

2.3 阻滞细胞周期 细胞周期主要分为间期与分裂期(M期),间期又可分为 DNA 合成前期(G₁期),DNA 合成期(S期)与 DNA 合成后期(G₂期),以及处于滞留状态的 G₀期。细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)可控制细胞的增生和凋亡,其与细胞周期蛋白(cyclin)结合可使细胞周期正常运转。其中诱导细胞周期阻滞是肿瘤细胞存活或增殖的另一个决定因素^[46]。YANG 等^[29]研究表明,青藤碱可通过诱导肿瘤细胞 G₁期阻滞,抑制 COX-2 表达从而抑制结肠癌 SW1116 细胞增殖。LI 等^[16]研究表明,青藤碱通过上调细胞周期素依赖性激酶抑制因子(p21, p27)的表达,从而下调 cyclinD₁, CDK4, 磷酸化视网膜母细胞瘤蛋白(p-Rb), cyclinE, 微染色体维持蛋白 7(MCM7)和 PCNA 的表达,诱导乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞周期 G₁/S 期阻滞。LU 等^[23]研究表明,青藤碱通过抑制 Survivin 蛋白,上调 p21 表达,阻滞 HCC 肝癌细胞系周期于 G₁期和亚 G₁期。HE 等^[17]表明,青藤碱主要通过抑制沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)的表达,上调抑癌因子(p53)蛋白表达及乙酰化而诱导 U87 和 U251 胶质瘤细胞周期 G₀/G₁期阻滞。JIANG 等^[47]研究表明,青藤碱阻滞人胶质母细胞瘤 U87 和 SF767 细胞周期于 G₀/G₁期,与上调 p21 表达有关。XIE 等^[21]研究结果表明,青藤碱通过上调 pChk2, p21 表达,抑制 cyclin A-CDK2 活性从而诱导骨肉瘤 HOS 和 U₂OS 细胞 S 期阻滞。XU 等^[18]研究表明,青藤碱通过抑制 cyclinD₁, CDK4, CDK6 表达,从而阻滞卵巢癌 Caov3 和 SKOV3 细胞周期于 G₀/G₁期。HONG 等^[43]表明,青藤碱联用 anti-TfR mAb 协同诱导肝癌 HepG2 凋亡机制可能与诱导肝癌细胞周期 S/G₂期阻滞有关。FU 等^[33]研究表明,青藤碱可显著提高食管鳞癌(ESCC)对放疗的敏感性;其机制与通过下调 cyclinB₁和 CDK1 的表达诱导癌细胞 G₂/M 期阻滞有关。综上,青藤碱对肿瘤细胞的调控作用多为将其阻滞于 G₀/G₁, S, G₂/M 期,其机制主要与调控细胞周期相关基因及蛋白有关。

2.4 抑制肿瘤侵袭、转移 恶性肿瘤的主要特征为具有侵袭性和转移性。肿瘤转移包括肿瘤细胞黏附于细胞外基质(ECM)、迁移、侵袭等血管内外活动的激活^[48],其中上皮间质转化(EMT)使癌细胞具

有转移和复制的能力,从而形成新的肿瘤病灶^[49],故抑制EMT为抑制肿瘤侵袭转移的主要机制之一。GAO等^[14]研究表明,青藤碱主要通过调控miR-29/程序性细胞死亡因子-4(PDCD-4)轴,PDCD-4进一步阻断JNK,MEK/ERK通路,从而抑制乳腺癌MDA-MB-231和MCF-7细胞侵袭转移。核转录因子- κ B(NF- κ B)是一种重要的核转录因子,参与多种重要生物过程的调节,包括细胞增殖、凋亡、黏附和分泌以及细胞周期控制,酶合成等^[50-51]。SONG等^[22]研究结果表明,青藤碱通过抑制IL-4/miR-324-5p/含CUE结构域蛋白(CUEDC2)轴,抑制磷酸化NF- κ B抑制物激酶(p-IKK),并最终抑制NF- κ B通路的激活,从而抑制乳腺癌MDA-MB-231和4T1细胞侵袭、转移。SONG等^[27]随后的研究表明,青藤碱通过下调基质金属蛋白酶(MMP)-2,波形蛋白(Vimentin),IL-11,cyclinD₁和Bcl-2的表达,并抑制NF- κ B激活和NF- κ B介导的SHh信号通路的激活从而抑制乳腺癌MDA-MB-231细胞转移。ZHANG等^[20]研究表明,青藤碱可抑制乳腺癌细胞肿瘤血管生成并促进血管正常化,从而改善肿瘤缺氧微环境;其机制与下调促血管生成的碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)表达,并上调抑血管生成的血小板因子4(PF4)表达有关。骨是晚期乳腺癌常见的转移靶点,骨转移可导致多种骨并发症,并增加患者的发病率和死亡率^[52];ZHANG等^[53]通过体内外研究发现,青藤碱可显著减少乳腺癌MDA-MB-231模型小鼠的骨质流失,其机制与抑制IL-8/A类视紫红质样G蛋白偶联受体(CXCR1)轴及原癌基因(c-Fos)-活化T细胞核因子c1(NFATc1)通路有关。STAT3是一种参与肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭转移的关键信号分子,其主要由JAK/STAT和MAPK信号转导通路激活^[54];JIANG等^[28]研究表明,青藤碱通过抑制JAK/STAT3通路,从而下调N-钙黏蛋白(N-cadherin),转录因子(Snail)和Vimentin蛋白表达,上调E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达,抑制EMT,从而抑制肺癌A549细胞侵袭。LI等^[24]表明,青藤碱主要通过抑制炎症因子IL-6表达减弱炎症微环境,同时下调细胞表面跨膜糖蛋白(CD44)和干细胞转录因子(SOX-2)的表达抑制肿瘤干细胞特性(CSCs),并下调MMP-9,上调MMPs组织抑制物(TIMP)-1和TIMP-2从而抑制ECM降解而抑制乳腺癌细胞侵袭和转移。此外,SHEN等^[55]表明,青藤碱通过抑制miR-21表达从而上调TIMP-1,TIMP-2和反转录富含半胱氨酸蛋白

(RECK)的表达,并下调MMPs和基质金属蛋白酶胞外诱导剂(EMMPRIN/CD147)表达,从而逆转EMT,最终抑制肺癌A549和H1299细胞侵袭和迁移。YUAN等^[56]研究表明,青藤碱抑制胃癌MKN45和SGC-7901细胞迁移和侵袭机制与通过上调miR-204表达从而抑制腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)及分泌型糖蛋白(Wnt)/ β -链蛋白(β -catenin)通路有关。ZHAO等^[32]表明,青藤碱可抑制肾癌ACHN和786-O细胞侵袭迁移及血管生成;其机制与通过下调MMP-2,MMP-9,N-cadherin,Vimentin,Snail1,转录因子(Twist)等EMT相关蛋白,磷酸化信号传导蛋白(p-Smad2,3)表达,上调E-cadherin抑制EMT有关;提示青藤碱抑制肾癌(ccRCC)细胞系侵袭转移与调控Smad/EMT轴有关。JIANG等^[47]通过体内外实验研究表明,青藤碱抑制人胶质母细胞瘤U87和SF767细胞侵袭迁移机制与通过抑制NF- κ B p65表达从而抑制MMP-2,MMP-9蛋白表达,并抑制Vimentin,Snail和Slug(Snail2)蛋白等间质标志物的表达有关。XIE等^[21]通过体内外实验研究结果表明,青藤碱可抑制骨肉瘤HOS和U₂OS细胞侵袭、迁移,其机制主要通过诱导DDR,上调pChk2水平,同时通过抑制趋化因子受体4(CXCR4)/STAT3信号通路进而下调下游MMP-2,MMP-9,NF- κ B受体活化因子配体(RANKL)和VEGF,从而抑制RANKL介导的破骨细胞生成刺激的骨质破坏,VEGF,跨膜糖蛋白(CD147)刺激相关的肿瘤血管新生。XU等^[35]表明,青藤碱通过上调抑癌因子(p16)蛋白表达,下调cyclin D₁和CDK4蛋白表达,并通过抑制miR-23a表达抑制PI3K/Akt,JAK/STAT3通路,抑制前列腺癌PC3细胞侵袭和迁移。王高峰等^[37]研究表明,青藤碱抑制人肝癌细胞的侵袭转移可能与上调小窝蛋白(CAV1)和下调SOX-2表达有关。LIU等^[38]研究表明,100 μ mol·L⁻¹青藤碱联用3.33 μ mol·L⁻¹顺铂可协同抑制胃癌HGC-27细胞侵袭,并诱导其凋亡;结果显示,磷酸化Akt(p-Akt)和 β -catenin蛋白水平下调,其机制可能与青藤碱通过负调控PI3K/Akt/Wnt信号通路增强人胃癌细胞对顺铂敏感有关。综上,青藤碱抑制肿瘤侵袭、转移机制可能与调控JNK,MEK/ERK,IL-4/miR-324-5p/CUEDC2,NF- κ B,JAK/STAT3,AMPK,Wnt/ β -catenin,Smad/EMT,CXCR4-STAT3,PI3K/Akt等通路,下调MMP-2,MMP-9,N-cadherin,Vimentin,Snail,上调E-cadherin等蛋白,以及调控相关miRNA,并调节促

血管生成因子与抗血管生成因子之间的平衡有关。

2.5 诱导肿瘤自噬 自噬是一种保守的细胞内降解系统,是肿瘤发生、发展、细胞死亡、存活等过程中的重要机制;磷酸化的PI3K和Akt为重要的致癌介质,且Akt信号转导下游的雷帕霉素靶蛋白(mTOR)参与了哺乳动物细胞的自噬调控^[57]。DENG等^[31]研究表明,青藤碱可显著下调p62蛋白表达,上调自噬效应蛋白(Beclin1)和微管蛋白I轻链3-II/微管蛋白I轻链3-I(LC3-II/LC3-I),通过抑制PI3K/Akt/mTOR诱导细胞发生自噬,从而诱导肾癌ACHN细胞系凋亡。JIANG等^[25]研究表明,青藤碱通过上调ROS水平,从而激活JNK通路并抑制Akt/mTOR通路介导细胞自噬,同时诱导转录因子(TFEB)核易位,通过溶酶体生物途径诱导胶质母细胞瘤U87和SF767细胞凋亡。JIANG等^[47]表明,青藤碱通过上调胞质中游离Ca²⁺浓度,磷酸化蛋白激酶R样内质网激酶(p-PERK),磷酸化真核细胞翻译起始因子(p-eIF2 α),磷酸化内质网跨膜蛋白肌醇需求酶1 α (p-IRE1 α),子结合蛋白同源蛋白(CHOP),葡糖调节蛋白(GRP78)等表达触发内质网应激,通过诱导细胞自噬而抑制内源性EMT,逆转外源性EMT,最终抑制胶质母细胞瘤U87和SF767细胞迁移和侵袭。SUN等^[34]研究表明,青藤碱通过上调Beclin1蛋白表达及LC3-II/LC3-I,并增加LC3斑点数量,下调p62蛋白及p-Akt和磷酸化mTOR(p-mTOR)水平,从而诱导黑色素瘤B16-F10细胞凋亡;其机制可能与抑制PI3K/Akt/mTOR通路从而激活自噬有关。综上,青藤碱通过调控ROS,JNK,PI3K/Akt/mTOR通路,以及通过内质网通路抑制内源性和外源性EMT,并调控自噬相关蛋白诱导肿瘤细胞发生自噬。

2.6 抗肿瘤多药耐药(MDR) MDR是指癌细胞对化疗药物产生耐药的表型^[58],MDR可通过不同的途径介导,包括药物外排增加、药物摄取减少、解毒系统和凋亡通路缺陷等^[59]。其中P-糖蛋白(P-gp)介导的MDR是结肠癌和膀胱癌化疗中的一个重要障碍,故寻找逆转MDR的策略是改善癌症治疗的一个途径。LIU等^[60]通过将Caco-2细胞暴露于浓度不断升高的阿霉素中,培养了耐多药结肠癌Caco-2(MDR-Caco-2)细胞系,表明500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱给药48 h,可显著增强25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿霉素对MDR-Caco-2细胞毒作用,其机制主要通过NF- κ B途径抑制多药耐药基因1(MDR1)和COX-2的表达,从而抑制P-gp及前列腺素E₂(PGE₂)的表达。

CHEN等^[61]研究表明,青藤碱与阿霉素及吡柔比星联用可协同拮抗253J/DOX膀胱癌细胞MDR;青藤碱通过剂量依赖性下调膀胱癌细胞P-gp表达而减少药物外流,同时通过上调Bax表达诱导癌细胞凋亡,从而逆转膀胱癌MDR。

2.7 结合纳米材料 纳米粒(NPs)为一种安全性高、稳定性佳的靶向制剂,NPs可通过改变药物在体内的药动学特性,从而增加药物在靶器官的吸收分布,从而达到增效减毒的最终目的。王洪刚等^[62-63]通过制备青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒(SPTN)和青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物纳米粒(SPN),体外实验结果表明其主要通过网格蛋白介导的内吞途径进入细胞,且与5-氟尿嘧啶溶液(FS)及青藤碱水溶液(SS)相比,对肝癌HepG2细胞生长具有显著抑制作用;体内研究通过建立腹水型肝癌高淋巴管转移HCa-F细胞小鼠模型,在给药剂量和时间相同的条件下,对肿瘤体积和质量的抑制率强弱依次为SPTN,SPN,FS,SS。提示与SIN溶液相比,SPTN达到相同药效时可减少给药剂量,并可延长其抗肿瘤作用时间,SPTN由于其载体、粒径、表面电荷等有助于SIN被细胞更好地摄取、吞噬等优势^[64],使青藤碱更有效地平稳发挥其对肝癌HepG2细胞的抑制作用;同时,选择合适的纳米材料也对青藤碱充分发挥疗效起到关键作用。上述研究体现药物结合适当的纳米材料可充分发挥其药效特性,为青藤碱的进一步抗肿瘤研究及纳米材料开发提供广阔应用前景。

3 讨论

青藤碱为我国传统中草药青风藤的主要活性成分,作为一种具有广泛药理活性的单体中成药,在临床上有着广阔的开发应用前景。随着中医学的发展,中药药理作用及其机制得到不断地探索和进展,青藤碱亦逐步凸显其抗肿瘤活性。综合以上所述,青藤碱作用机制主要有①通过线粒体凋亡途径诱导肿瘤细胞凋亡;②抑制PI3K/Akt/mTOR,以及通过内质网途径诱导肿瘤细胞自噬;③通过抑制EMT以及血管生成,抑制肿瘤细胞侵袭、转移;④通过促进抑癌基因及其蛋白表达,阻滞肿瘤细胞周期;⑤通过诱导DNA损伤及抑制DSBR,诱导肿瘤凋亡;⑥通过抑制其他相关信号传导通路,抑制细胞增殖分化并诱导其凋亡;⑦增强肿瘤对放化疗的敏感性,并抗肿瘤多药耐药,机制见图2。

大量的体内和体外实验证明,青藤碱具有较好的抗肿瘤活性且活性强度多呈剂量或/和时间依赖

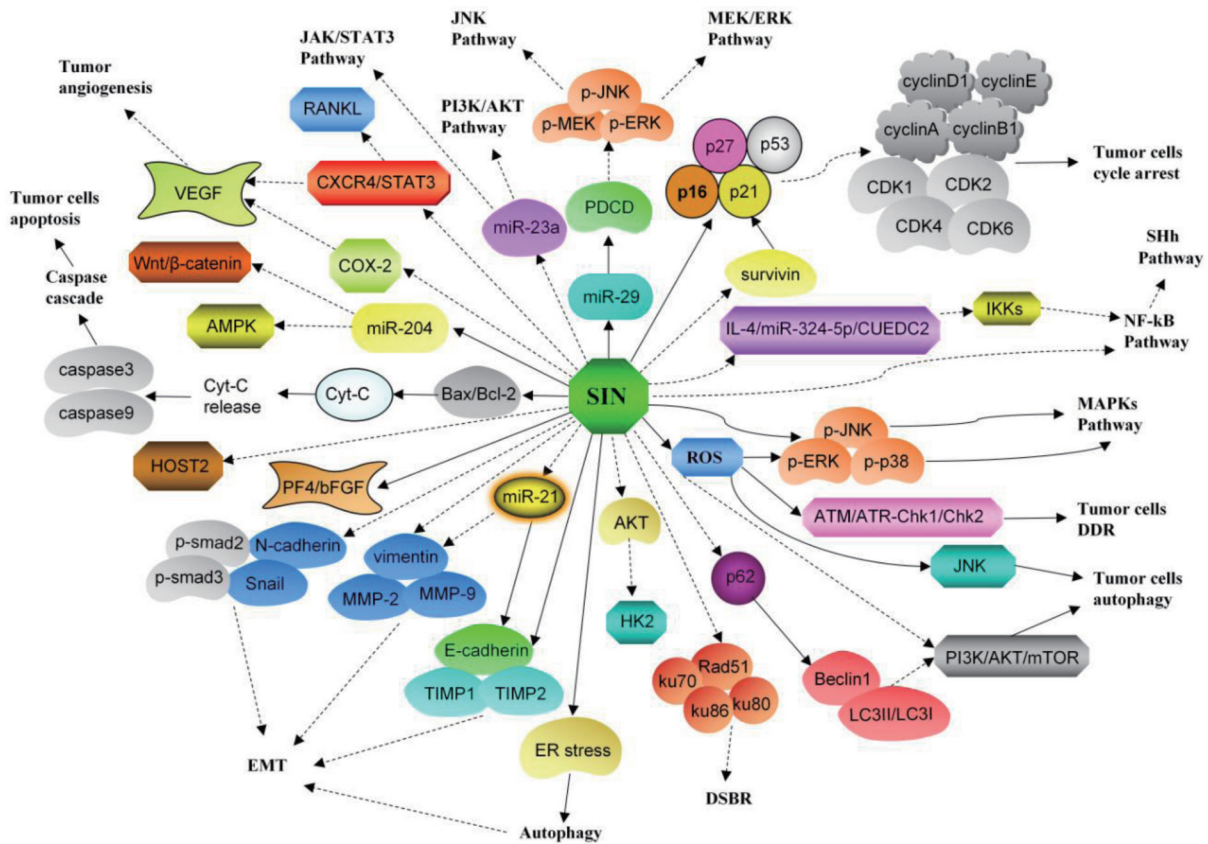


图2 青藤碱抗肿瘤的主要作用机制

Fig. 2 Main anti-tumor mechanisms of sinomenine

性,且研究表明,青藤碱联用5-FU相比两药单用,在减少两药的剂量同时,可协同显著发挥抗胃癌疗效^[42],且联合用药无明显毒性作用,体现了中药增效减毒的独特优势。另外,青藤碱的镇痛、免疫抑制活性已得到大量研究的证实,其中癌症引起的骨痛(CIBP)是最严重的病理性疼痛之一,也是晚期癌症患者的主要痛苦来源,缓解CIBP亦是抗癌的有效治疗手段之一;CHEN等^[65]研究表明,青藤碱可通过抑制小胶质细胞JAK2/STAT3和神经元CAMK II/CREB级联来减轻癌症引起的骨痛。有研究表明,青藤碱衍生物YL064在高浓度时对正常细胞无细胞毒作用,其可通过抑制STAT3,同时可能通过克服由骨髓微环境引起的蛋白酶体抑制剂耐药性从而抑制骨髓瘤活性^[66]。WEI等^[67]通过对青藤碱的A环和C环进行酯化处理得到相应的衍生物,结果表明此衍生物对乳腺癌细胞、胶质瘤细胞系、肺癌细胞、结肠癌细胞等具有良好的抗肿瘤活性,值得进一步探索。综上,青藤碱可通过多靶点、多途径作用于肿瘤细胞,并可能通过镇痛、调节免疫等多种药理活性改善癌症患者预后,提示青藤碱可作为一种安全、潜在的抗肿瘤药物以及放疗增敏剂。

青藤碱及其衍生物的抗肿瘤作用活性具有广阔的研究前景,但目前对于其作为抗肿瘤药物应用于临床仍然面临着诸多挑战。纳米材料作为当前的新兴研究热点,但基于研究尚存在空白,青藤碱结合纳米材料治疗肿瘤的疗效和安全性仍需更多高质量的研究支撑。随着现代研究的不断进步,已证实利用免疫系统来治疗癌症的尝试开始取得成果,肿瘤微环境(TME)亦在促进或抑制肿瘤的发展中起着关键作用^[68-69];青藤碱作为一种具有广泛药理作用的免疫抑制剂,其对肿瘤免疫和肿瘤微环境等影响作用机制尚未完全明确,仍需进一步的研究阐明。恶性肿瘤的发病部位和表现形式多样,而目前青藤碱的体内外抗肿瘤研究多聚焦于乳腺癌、肺癌等,且总体的机制研究均基于较为单一的肿瘤细胞株且检测指标设计较少,并且青藤碱对其它类肿瘤可能的抑制活性尚需得到实验开展去定义;尚需设计针对多种不同肿瘤细胞株和更全面的检测指标来阐明青藤碱作用过程中对多种信号通路、抑癌基因和相关蛋白等的调控及其之间的联系,以明确青藤碱的抗肿瘤作用机制。肿瘤动物模型虽在一定程度上接近人类病理状态,但仍然无法复制恶性

肿瘤在人体的真实病理病机及进展,故开展相应的临床试验亦是评价青藤碱抗肿瘤活性的关键。故开发青藤碱成为临床上的抗肿瘤用药,仍需更进一步开展体内外实验和临床试验。

[参考文献]

- [1] ZHU Y, YANG J, XU D, et al. Disruption of tumor-associated macrophage trafficking by the osteopontin-induced colony-stimulating factor-1 signalling sensitises hepatocellular carcinoma to anti-PD-L1 blockade[J]. *Gut*, 2019, 68(9):1653-1666.
- [2] SUBHAN M A, TORCHILIN V P. Efficient nanocarriers of siRNA therapeutics for cancer treatment [J]. *Transl Res*, 2019, doi: 10.1016/j.trsl.2019.07.006.
- [3] 张玉芝. 浅谈中医药抗肿瘤的思路与体会[J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(8):1566.
- [4] 李黎, 季漪, 李文婷, 等. 基于细胞自噬的中医药抗肿瘤作用研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(1):223-225.
- [5] 杨晓丽, 张君利, 王京峰, 等. 绿原酸抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19):229-234.
- [6] 曹建, 魏润杰, 邓茹芸, 等. 苦参碱及氧化苦参碱抑制肿瘤作用机制研究进展及展望[J]. *中草药*, 2019, 50(3):753-760.
- [7] 苏畅, 李小江, 贾英杰, 等. 香菇多糖的抗肿瘤作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2019, 50(6):1499-1504.
- [8] 王志强, 张秀英, 李文广, 等. 异甘草素抗肿瘤活性及初步机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(8):1159-1165.
- [9] 司建功, 田长恩. 人参皂苷 Rh₂抗肿瘤机制的研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(5):1190-1192.
- [10] 季宇彬, 汝鑫, 鹿丽, 等. 青藤碱的抗肿瘤作用及其机制研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(18):2159-2163.
- [11] LIU L, BUCHNER E, BEITZE D, et al. Amelioration of rat experimental arthritides by treatment with the alkaloid sinomenine [J]. *Int J Immunopharmacol*, 1996, 18(10):529-543.
- [12] 黄小鲁, 王勇, 郝飞. 青藤碱对机体免疫系统的影响及临床应用进展[J]. *医药导报*, 2007, 26(4):397-399.
- [13] LIU W B, YU X F, ZHOU L, et al. Sinomenine inhibits non-small cell lung cancer via downregulation of hexokinases II -mediated aerobic glycolysis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, doi: 10.2147/OTT.S243212.
- [14] GAO G L, LIANG X L, MA W Y. Sinomenine restrains breast cancer cells proliferation, migration and invasion via modulation of miR-29/PDCD-4 axis [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1):3839-3846.
- [15] JIANG T S, ZHOU L P, ZHANG W L, et al. Effects of sinomenine on proliferation and apoptosis in human lung cancer cell line NCI-H460 *in vitro* [J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(1):51-56.
- [16] LI X, WANG K, REN Y, et al. MAPK signaling mediates sinomenine hydrochloride-induced human breast cancer cell death via both reactive oxygen species-dependent and -independent pathways: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Cell Death Dis*, 2014, doi: 10.1038/cddis.2014.321.
- [17] HE X Y, MAIMAITI M, JIAO Y, et al. Sinomenine induces G₁-phase cell cycle arrest and apoptosis in malignant glioma cells via downregulation of sirtuin 1 and induction of p53 acetylation [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, doi:10.1177/1533034618770305.
- [18] XU Y T, JIANG T, WANG C H, et al. Sinomenine hydrochloride exerts antitumor outcome in ovarian cancer cells by inhibition of long non-coding RNA HOST2 expression [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1):4131-4138.
- [19] ZHANG D, DONG Y P, ZHAO Y, et al. Sinomenine hydrochloride sensitizes cervical cancer cells to ionizing radiation by impairing DNA damage response [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(5):2886-2895.
- [20] ZHANG H M, REN Y, TANG X J, et al. Vascular normalization induced by sinomenine hydrochloride results in suppressed mammary tumor growth and metastasis [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep08888.
- [21] XIE T, REN H Y, LIN H Q, et al. Sinomenine prevents metastasis of human osteosarcoma cells via S phase arrest and suppression of tumor-related neovascularization and osteolysis through the CXCR4-STAT3 pathway [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(5):2098-2112.
- [22] SONG L Q, LIU D, ZHAO Y, et al. Sinomenine inhibits breast cancer cell invasion and migration by suppressing NF- κ B activation mediated by IL-4/miR-324-5p/CUEDC2 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(3):705-710.
- [23] LU X L, ZENG J, CHEN Y L, et al. Sinomenine hydrochloride inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth *in vitro* and *in vivo*: involvement of cell

- cycle arrest and apoptosis induction[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(1):229-238.
- [24] LI X, LI P P, LIU C, et al. Sinomenine hydrochloride inhibits breast cancer metastasis by attenuating inflammation-related epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8):13560-13574.
- [25] JIANG Y M, JIAO Y, WANG Z G, et al. Sinomenine hydrochloride inhibits human glioblastoma cell growth through reactive oxygen species generation and autophagy-lysosome pathway activation: an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9):1-22.
- [26] GE X, LYU P W, GU Y T, et al. Sonic hedgehog stimulates glycolysis and proliferation of breast cancer cells: modulation of PFKFB3 activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(3):862-868.
- [27] SONG L Q, LIU D, ZHAO Y, et al. Sinomenine reduces growth and metastasis of breast cancer cells and improves the survival of tumor-bearing mice through suppressing the SHh pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, doi:10.1016/j.biopha.2017.12.065.
- [28] JIANG S L, GAO Y B, HOU W, et al. Sinomenine inhibits A549 human lung cancer cell invasion by mediating the STAT3 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2):1380-1386.
- [29] YANG H B, YIN P H, SHI Z, et al. Sinomenine, a COX-2 inhibitor, induces cell cycle arrest and inhibits growth of human colon carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(1):411-418.
- [30] LV Y F, LI C S, LI S A, et al. Sinomenine inhibits proliferation of SGC-7901 gastric adenocarcinoma cells via suppression of cyclooxygenase-2 expression [J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(4):741-745.
- [31] DENG F, MA Y X, LIANG L, et al. The pro-apoptosis effect of sinomenine in renal carcinoma via inducing autophagy through inactivating PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, doi:10.1016/j.biopha.2017.11.064.
- [32] ZHAO B, LIU L, MAO J, et al. Sinomenine hydrochloride attenuates the proliferation, migration, invasiveness, angiogenesis and epithelial-mesenchymal transition of clear-cell renal cell carcinoma cells via targeting Smad *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, doi:10.1016/j.biopha.2017.11.123.
- [33] FU S B, JIN L, GONG T T, et al. Effect of sinomenine hydrochloride on radiosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(4):1601-1608.
- [34] SUN Z, ZHENG L L, LIU X J, et al. Sinomenine inhibits the growth of melanoma by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR inhibition [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, doi:10.2147/DDDT.S155798.
- [35] XU F, LI Q, WANG Z Y, et al. Sinomenine inhibits proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of prostate cancer cells by regulation of miR-23a[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, doi:10.1016/j.biopha.2019.01.053.
- [36] LI X J, YUE Y K P, HA W Y, et al. Effect of sinomenine on gene expression of the IL-1 β -activated human synovial sarcoma[J]. *Life Sci*, 2006, 79(7):665-673.
- [37] 王高峰, 张强, 张利娟. 青藤碱抗肝癌作用机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(5):688-692.
- [38] LIU Y, LIU C Q, TAN T, et al. Sinomenine sensitizes human gastric cancer cells to cisplatin through negative regulation of PI3K/Akt/Wnt signaling pathway [J]. *Anticancer Drugs*, 2019, 30(10):983-990.
- [39] WANG J, YANG Z R, DONG W G, et al. Cooperative inhibitory effect of sinomenine combined with 5-fluorouracil on esophageal carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(45):8292-8300.
- [40] 吕彦霖, 朱昌毫, 潘耀振, 等. 青藤碱对体外人胆管癌细胞的抑制作用 [J]. *中成药*, 2019, 41(11):2601-2608.
- [41] 范炎峰, 荆玲, 刘宽浩, 等. 青藤碱对人急性T淋巴细胞白血病细胞增殖与凋亡的影响及其机制 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(10):1199-1203.
- [42] LIAO F, YANG Z R, LU X H, et al. Sinomenine sensitizes gastric cancer cells to 5-fluorouracil *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(6):1604-1610.
- [43] HONG Y, YANG J, SHEN X, et al. Sinomenine hydrochloride enhancement of the inhibitory effects of anti-transferrin receptor antibody-dependent on the COX-2 pathway in human hepatoma cells [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(3):447-454.
- [44] 陈伟达, 曾嘉, 梅世文, 等. 青藤碱与顺铂协同诱导人纤维肉瘤HT-1080细胞凋亡 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(3):447-451.
- [45] ZHOU L P, LUAN H, LIU Q P, et al. Activation of PI3K/Akt and ERK signaling pathways antagonized sinomenine-induced lung cancer cell apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(5):1256-1260.
- [46] HALL P A. Cell proliferation [J]. *J Pathol*, 1991, 165(4):349-354.

- [47] JIANG Y M, JIAO Y, LIU Y, et al. Sinomenine hydrochloride inhibits the metastasis of human glioblastoma cells by suppressing the expression of matrix metalloproteinase-2/-9 and reversing the endogenous and exogenous epithelial-mesenchymal transition[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3):1-21.
- [48] VAN Z F, KRUPITZA G, MIKULITS W. Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration [J]. *Mutat Res*, 2011, 728 (1/2) : 23-34.
- [49] MANI S A, GUO W J, LIAO M J, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells [J]. *Cell*, 2008, 133 (4) : 704-715.
- [50] BASAK S, SHIH V F S, HOFFMANN A. Generation and activation of multiple dimeric transcription factors within the NF- κ B signaling system [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(10):3139-3150.
- [51] LIVOLSI A, BUSUTTIL V, IMBERT V, et al. Tyrosine phosphorylation-dependent activation of NF- κ B Requirement for p56 LCK and ZAP-70 protein tyrosine kinases[J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(5) : 1508-1515.
- [52] WESTBROOK J A, CAIRNS D A, PENG J H, et al. CAPG and GIPC1: breast cancer biomarkers for bone metastasis development and treatment [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 108(4):1-10.
- [53] ZHANG Y Y, ZOU B H, TAN Y H, et al. Sinomenine inhibits osteolysis in breast cancer by reducing IL-8/CXCR1 and c-Fos/NFATc1 signaling [J]. *Pharmacol Res*, 2019, doi: 10.1016/j.phrs.2019.02.015.
- [54] SPITZNER M, EBNER R, WOLFF H A, et al. STAT3: a novel molecular mediator of resistance to chemoradiotherapy [J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6 (4):1986-2011.
- [55] SHEN K H, HUNG J H, LIAO Y C, et al. Sinomenine inhibits migration and invasion of human lung cancer cell through downregulating expression of miR-21 and MMPs[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9) : 1-12.
- [56] YUAN H F, ZHANG J H, LI F L, et al. Sinomenine exerts antitumour effect in gastric cancer cells via enhancement of miR-204 expression [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2019, 125(5):450-459.
- [57] SAIKI S, SASAZAWA Y, IMAMICHI Y, et al. Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition [J]. *Autophagy*, 2011, 7(2):176-187.
- [58] AMBUDKAR S V, DEY S, HRYCYNA C A, et al. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999, doi:10.1146/annurev.pharmtox.39.1.361.
- [59] GOTTESMAN M M, FOJO T, BATES S E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(1):48-58.
- [60] LIU Z, DUAN Z J, CHANG J Y, et al. Sinomenine sensitizes multidrug-resistant colon cancer cells (CaCo-2) to doxorubicin by downregulation of MDR-1 expression[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):1-9.
- [61] CHEN Y L, ZHANG L L, LU X L, et al. Sinomenine reverses multidrug resistance in bladder cancer cells via P-glycoprotein-dependent and independent manners [J]. *Pharmazie*, 2014, 69 (1) : 48-54.
- [62] 王洪刚, 高萌, 张成鸿, 等. 青藤碱 PLGA-TPGS 纳米粒的制备及人肝癌 HepG2 细胞对其摄取、被其抑制的作用研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(13):1811-1814.
- [63] 王洪刚, 高萌, 张成鸿, 等. 青藤碱 PLGA-TPGS 纳米粒对 HCa-F 细胞在小鼠淋巴管内增殖及异位移植瘤的抑制作用研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(16) : 2229-2232.
- [64] 徐红, 高萌, 张成鸿, 等. 青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素 E 纳米粒的制备及处方工艺优化 [J]. *中国药房*, 2015, 26(4):525-528.
- [65] CHEN S P, SUN J, ZHOU Y Q, et al. Sinomenine attenuates cancer-induced bone pain via suppressing microglial JAK2/STAT3 and neuronal CAMK II / CREB cascades in rat models [J]. *Mol Pain*, 2018, doi:10.1177/1744806918793232.
- [66] WANG Y Y, WU L L, CAI H Y, et al. Sinomenine derivative YL064: a novel STAT3 inhibitor with promising anti-myeloma activity[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(11):1093.
- [67] WEI C J, XU F, SHI M J, et al. Synthesis and antitumor activities of sinomenine derivatives on rings A and C [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20 (3) : 277-291.
- [68] MCLAUGHLIN M, PATIN E C, PEDERSEN M, et al. Inflammatory microenvironment remodelling by tumour cells after radiotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4):203-217.
- [69] LAPLANE L, DULUC D, BIKFALVI A, et al. Beyond the tumour microenvironment [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(10):2611-2618.

[责任编辑 张丰丰]