

氯硝柳胺在女性恶性肿瘤中的相关研究进展

车仕杰, 刘巍 谭文华

哈尔滨医科大学附属第二医院妇产科, 黑龙江 哈尔滨 150081

摘要: 氯硝柳胺是一种质子型线粒体解偶联剂,经美国食品药品监督管理局批准用于治疗肠道绦虫感染。有研究发现氯硝柳胺具有抗肿瘤作用。氯硝柳胺通过作用于信号转导和转录活化因子3(STAT3)、Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)、细胞外信号调节激酶(ERK)、Notch及核转录因子 κ B(NF- κ B)等信号通路抑制肿瘤细胞增殖和侵袭,发挥抗肿瘤的作用,还可提高肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性,逆转肿瘤细胞的耐药性。近年来关于氯硝柳胺在女性恶性肿瘤领域的相关研究也取得越来越多成果,本文将对氯硝柳胺在女性恶性肿瘤的相关研究进展进行综述。

关键词: 氯硝柳胺; 乳腺癌; 卵巢癌; 宫颈癌; 信号通路

中图分类号: R737.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)04-0546-03

严重威胁女性身心健康的三大恶性肿瘤卵巢癌、宫颈癌、乳腺癌采用传统放化疗或手术等治疗手段,虽然能在一定程度上帮助患者提高生活质量、延长生存时间,但开发新的治疗方案,以帮助女性肿瘤患者减少预后风险是必要的。“老药新用”具有安全、高效、节约成本等特征,在该研究模式下,发现氯硝柳胺为极具应用潜力的药物之一。本文对氯硝柳胺在女性恶性肿瘤中的研究进展做一综述。

1 氯硝柳胺

氯硝柳胺是一种农业生产中常用的灭螺剂和杀鳃剂,为水杨酰胺类衍生物。主要用来抗稻田苹果螺,也是临床用于治疗人体抗血吸虫和肝片吸虫的驱虫药。其通过抑制虫体细胞内线粒体氧化磷酸化过程,减少ATP生成,促进绦虫的头节和邻近节片变质,驱使虫体从肠壁脱落并随粪便排出体外,从而达到驱虫目的。近几年研究发现,氯硝柳胺还可通过影响细胞内多种重要信号通路,产生抗寄生虫以外的多种生物学效应。信号通路主要包括信号转导和转录活化因子3(STAT3)、Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)、细胞外信号调节激酶(ERK)、Notch及核转录因子 κ B(NF- κ B)等^[1-2]。

2 氯硝柳胺抗肿瘤相关机制

STAT3信号通路持续激活促进癌细胞增殖,并抑制癌细胞凋亡参与调节细胞生存、细胞周期和血管生成等环节。Zhu等^[3]发现氯硝柳胺能明显抑制黑色素瘤细胞中STAT3的磷酸化,从而减少黑色素瘤的肺转移。(1)Wnt/ β -catenin信号通路的过度激活促使肿瘤的发生,且该信号通路通过促进上皮-

间充质转化,与肿瘤细胞的晚期转移有关^[4]。Wang等^[5]发现氯硝柳胺可降低结肠癌细胞内Dvl和胞浆 β -catenin的水平,同时降低Wnt/ β -catenin靶基因蛋白的表达,抑制结肠癌细胞的增殖。在体内,氯硝柳胺抑制结肠癌模型小鼠的生长,降低结肠癌组织中Wnt/ β -catenin靶蛋白的水平。(2)Notch信号通路对发育过程中细胞增殖,分化及存活等过程具有重要调控作用。Suliman等^[6]发现氯硝柳胺通过下调Notch信号和上调miR-200家族成员来抑制结肠癌细胞的生长和迁移。(3)PI3K/Akt/mTOR信号通路的异常激活可促进多种肿瘤的形成以及肿瘤耐药的产生。Liu等^[7]发现氯硝柳胺抑制上皮间叶表型转化,进而抑制肿瘤抑制因子生长抑制剂5基因敲除引起的肺癌细胞的增殖和侵袭,该作用与氯硝柳胺抑制Akt磷酸化机制有关。

最近研究表明NF- κ B在多种类型肿瘤组织中被激活^[8]。研究表明,氯硝柳胺可阻断NF- κ B和FOXM1/ β -catenin之间的正性反馈,诱导慢性粒细胞白血病细胞CD34的凋亡,降低白血病干细胞自我更新能力^[9]。

3 氯硝柳胺治疗妇科肿瘤相关机制

3.1 卵巢癌 卵巢癌是女性生殖器官常见的恶性肿瘤,发病率仅次于宫颈和子宫内膜癌。上皮性癌是最常见的卵巢癌类型,其次是恶性生殖细胞肿瘤。卵巢上皮癌的死亡率在各类妇科肿瘤中最高^[10],严重威胁着女性的生命安全。由于卵巢位于盆腔深部解剖位置,且体积小,缺乏典型症状,早期诊断困难。在卵巢上皮性癌患者中,不到30%的肿瘤局限于卵巢,且大部分肿瘤扩散到盆腔和腹部器官,从而进一步增加早期诊断的复杂性。因此,针对该病重要的是确定治疗靶点和有效的药物,关于卵巢癌治疗的新方法也亟待探索。

Yo 等^[11]筛选了一个抑制顺铂耐药的 CP70 卵巢癌细胞球形成的生物活性化合物文库,筛选出氯硝柳胺作为一种活性药物。研究发现氯硝柳胺通过改变卵巢癌细胞的代谢途径在体内外抑制卵巢肿瘤始动细胞。细胞代谢重编程是肿瘤细胞的特征之一,靶向细胞代谢被认为是一种潜在的肿瘤治疗策略。Shangguan 等^[12]发现氯硝柳胺能通过抑制 MEK1/2-ERK1/2 介导的信号转导,显著抑制卵巢癌细胞的生长,诱导细胞凋亡。氯硝柳胺的处理降低了卵巢癌细胞线粒体呼吸和有氧糖酵解。氯硝柳胺显著增强剥夺情况下卵巢癌细胞 ROS 的激活和 JNK 介导的凋亡。氯硝柳胺在裸鼠移植瘤模型体内也显示了抗肿瘤活性。Arend 等^[13]通过收集 34 名卵巢癌患者的腹水细胞并给予氯硝柳胺进行分组研究,发现氯硝柳胺是一个强效的 Wnt/ β -catenin 抑制剂,通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制肿瘤细胞增殖,促进细胞凋亡。在后来的研究中,Arend 等通过对两个卵巢癌细胞系(A2780cp20 和 SKOV3Trip2)以及两者衍生产物的研究,进一步证实氯硝柳胺及其衍生物可通过抑制 Wnt/ β -catenin, mTOR 和 STAT3 信号通路三条途径抑制卵巢癌细胞系扩散增殖^[14]。成纤维细胞生长因子 1 (fibroblast growth factor-1, FGF-1) 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的靶向基因,该基因的过度表达与卵巢癌恶性程度呈高度相关性,King 等^[15]发现氯硝柳胺可通过强效抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路,影响受体 T 细胞因子 (TCF) 和淋巴增强因子 (LEF) 的活性,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的靶向基因对 FGF1 的作用,在人卵巢癌异种移植动物模型中,氯硝柳胺在抑制肿瘤生长及延缓肿瘤扩散方面均展现出明显作用。这一发现显示了氯硝柳胺在卵巢癌治疗中的应用潜力。

3.2 宫颈癌 宫颈癌发病率在全球范围内持续上升,2018 年确诊病例约 57 万例,死亡 31.1 万例^[10],其诊疗方法一直以来受到学者们的广泛关注。研究发现晚期或复发性宫颈癌患者对化疗有很强的耐药性,1 年生存率低于 20%^[16]。导致宫颈癌进展和耐药的分子机制复杂,除了人乳头瘤病毒 (HPV) 持续感染外,mTOR 的激活、抗凋亡蛋白的过表达、抑癌因子的失活等表观遗传和遗传因素也参与了宫颈癌细胞对化疗的抵抗^[17-19]。因此可推测,那些能够靶向作用于这些致癌途径的化合物/药物可能为宫颈癌治疗提供新的策略。

研究表明氯硝柳胺在体内外对宫颈癌细胞都有抑制作用,氯硝柳胺通过诱导线粒体功能障碍和氧化损伤以及抑制 mTOR 信号传导对宫颈癌细胞起作用。氯硝柳胺通过抑制增殖和诱导凋亡有效地靶向宫颈癌。而且氯硝柳胺增强了紫杉醇在体内外对宫颈癌细胞的抗增殖和促凋亡作用^[20]。尽管紫杉醇是最有效的化疗药物之一,也是治疗晚期宫颈癌的标准药物,但宫颈癌细胞对紫杉醇的耐药仍然是治疗过程中棘手的问题^[21]。Chen 等^[20]证明氯硝柳胺和紫杉醇联合应用可以克服宫颈癌细胞的耐药性。氯硝柳胺与紫杉醇的协同作用与先前报道的氯硝柳胺与达沙替尼或顺铂联合治疗白血病和乳腺癌的协同作用一致^[22]。氯硝柳胺作用于宫颈癌细胞的潜在机制是调节线粒体代谢。氯硝柳胺显著抑制线粒体呼吸、复合物 I 活性并降低 ATP 水平,导致线粒体功能障碍和能

量危机。此外,在暴露于氯硝柳胺的宫颈癌细胞中观察到氧化应激和 DNA 损伤,线粒体超氧化物、细胞活性氧水平和 8-OHdG 形成增加^[20]。该研究说明氯硝柳胺可能作为一种单一药物或与标准化疗药物联合治疗宫颈癌的潜在候选药物。

3.3 乳腺癌 2018 年,大约 210 万新诊断的女性乳腺癌病例,占女性癌症病例的四分之一^[10]。治疗乳腺癌的方法有很多,包括抑制癌细胞生长的化疗。目前大多数化疗药物,包括蒽环类药物、激素类药物、芳香化酶抑制剂和生物药物,都是抗代谢药或靶向特异性激素受体^[23]。但其耐药性和获得性抗辐射仍是治疗过程中的难题。

Lu 等^[24]报道氯硝柳胺通过促进 Wnt 共感受器 LRP6 在乳腺癌细胞中的降解,从而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的传导。随后,该组报道氯硝柳胺抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路和减少 p-STAT3 产生,且增强了对癌干细胞的细胞毒性。此外,氯硝柳胺和 TRA-8 的联合作用靶向癌干细胞亚群,并可预防基底样乳腺癌患者的复发和转移^[25]。氯硝柳胺还被发现能防止非乳腺癌干细胞转化为癌干细胞^[26]。这一机制与抑制 IL6-JAK1-STAT3 信号转导途径有关。Wang 等^[27]采用高通量药物筛选发现氯硝柳胺抑制体外乳腺癌球体的形成,诱导乳腺癌球体凋亡和体内肿瘤的生长。Karakas 等^[28]报道氯硝柳胺增强了钡 (II) 糖精复合物的抗肿瘤活性,并增加了对乳腺癌干细胞的细胞毒性。三阴性乳腺癌的定义是缺乏雌激素受体、孕激素受体和原癌基因 Her-2 的表达,约占乳腺癌的 15%,并且缺乏有效的治疗手段^[29]。Yin 等^[30]报道氯硝柳胺单独或联合顺铂抑制了对顺铂耐药的三阴性乳腺癌细胞异种移植瘤的生长。Liu 等^[22]报道氯硝柳胺逆转上皮细胞向间充质细胞的转化表型,抑制 Akt/ERK 和 Src 信号通路,抑制顺铂敏感型 (CS) 和顺铂耐药型 (CR) 三阴性乳腺癌 231 细胞的体外增殖。氯硝柳胺单独或与顺铂联合应用也能抑制小鼠 231-CS 或 231-CR 细胞移植瘤的生长^[24]。有研究发现 STAT3 和 Bcl-2 的激活和活性氧的减少有助于 TNBC 的抗辐射性的发展,而氯硝柳胺通过抑制 STAT3 和 Bcl-2 和增加 TNBC 细胞和异种移植瘤中活性氧的生成,作为一种有效的放射增敏剂。

4 研究前景

近年来氯硝柳胺在女性恶性肿瘤领域的研究取得的显著成果也充分体现其在该领域的研究价值。随着对氯硝柳胺抗肿瘤作用机制的不断发掘,其前瞻性的临床对照研究也需要逐步开展作为新的研究方向,将氯硝柳胺作为抗肿瘤和放疗增敏药物运用于临床将是研究的主要目的。未来关于氯硝柳胺在女性恶性肿瘤领域的研究方向需注重以下几方面:(1) 在众多初级研究基础上多开展有针对性的研究,深入探索氯硝柳胺针对卵巢癌、宫颈癌和乳腺癌的主要作用靶点,明确其在各器官的主要抗癌机制,为氯硝柳胺的临床应用提供理论基础;(2) 开展前瞻性临床对照研究,评价其安全性和有效性;(3) 研究氯硝柳胺的给药途径,结合氯硝柳胺的药代动力学,合成易于吸收的氯硝柳胺衍生物及适合妇科疾病给药特点的制剂,为氯硝柳胺的临床应用提供可行性。

参考文献

- [1] Li YH, Li PK, Roberts MJ, et al. Multi-targeted therapy of cancer by niclosamide: a new application for an old drug [J]. *Cancer Lett*, 2014, 349(1): 8-14.
- [2] Chen W, Mook RA Jr, Premont RT, et al. Niclosamide: beyond an anti-helminthic drug [J]. *Cell Signal*, 2018, 41: 89-96.
- [3] Zhu YX, Zuo WQ, Chen LJ, et al. Repurposing of the anti-helminthic drug niclosamide to treat melanoma and pulmonary metastasis via the STAT3 signaling pathway [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 169: 113610.
- [4] Yi HY, Li GP, Long YK, et al. Integrative multi-omics analysis of a colon cancer cell line with heterogeneous Wnt activity revealed RUNX2 as an epigenetic regulator of EMT [J]. *Oncogene*, 2020, 39(28): 5152-5164.
- [5] Wang JB, Mook RA, Ren XR, et al. Identification of DK419, a potent inhibitor of Wnt/ β -catenin signaling and colorectal cancer growth [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(20): 5435-5442.
- [6] Suliman MA, Zhang ZX, Na HY, et al. Niclosamide inhibits colon cancer progression through downregulation of the Notch pathway and upregulation of the tumor suppressor miR-200 family [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 776-784.
- [7] Liu XL, Zhang XT, Meng J, et al. INC5 knockdown enhances migration and invasion of lung cancer cells by inducing EMT via EGFR/PI3K/Akt and IL-6/STAT3 signaling pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33): 54265-54276.
- [8] Xu X, Guo Y, Du G, et al. Bioluminescence imaging-based assessment of the anti-triple-negative breast cancer and NF-Kappa b pathway inhibition activity of britanin [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 575.
- [9] Jin B, Wang CY, Li J, et al. Anthelmintic niclosamide disrupts the interplay of p65 and FOXM1/ β -catenin and eradicates leukemia stem cells in chronic myelogenous leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(3): 789-803.
- [10] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [11] Yo YT, Lin YW, Wang YC, et al. Growth inhibition of ovarian tumor-initiating cells by niclosamide [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(8): 1703-1712.
- [12] Shanguan FG, Liu Y, Ma L, et al. Niclosamide inhibits ovarian carcinoma growth by interrupting cellular bioenergetics [J]. *J Cancer*, 2020, 11(12): 3454-3466.
- [13] Arend RC, Londoño-Joshi AI, Samant RS, et al. Inhibition of Wnt/ β -catenin pathway by niclosamide: a therapeutic target for ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2014; 134(1): 112-120.
- [14] Arend RC, Londoño-Joshi AI, Gangrade A, et al. Niclosamide and its analogs are potent inhibitors of Wnt/ β -catenin, mTOR and STAT3 signaling in ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 86803-86815.
- [15] King ML, Lindberg ME, Stodden GR, et al. WNT7A/ β -catenin signaling induces FGF1 and influences sensitivity to niclosamide in ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2015, 34(26): 3452-3462.
- [16] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29.
- [17] Yang M, Wang M, Li XP, et al. Wnt signaling in cervical cancer? [J]. *J Cancer*, 2018, 9(7): 1277-1286.
- [18] Ruttkay-Nedecky B, Jimenez Jimenez AM, Nejdil L, et al. Relevance of infection with human papillomavirus: the role of the p53 tumor suppressor protein and E6/E7 zinc finger proteins [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(6): 1754-1762.
- [19] Husseinzadeh N, Husseinzadeh HD. mTOR inhibitors and their clinical application in cervical, endometrial and ovarian cancers: a critical review [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133(2): 375-381.
- [20] Chen LP, Wang L, Shen HB, et al. Anthelmintic drug niclosamide sensitizes the responsiveness of cervical cancer cells to paclitaxel via oxidative stress-mediated mTOR inhibition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(2): 416-421.
- [21] Peng X, Gong F, Chen Y, et al. Autophagy promotes paclitaxel resistance of cervical cancer cells: involvement of Warburg effect activated hypoxia-induced factor 1- α -mediated signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1367.
- [22] Liu JJ, Chen XS, Ward T, et al. Combined niclosamide with cisplatin inhibits epithelial-mesenchymal transition and tumor growth in cisplatin-resistant triple-negative breast cancer [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(7): 9825-9835.
- [23] Carels N, Spinassé LB, Tilli TM, et al. Toward precision medicine of breast cancer [J]. *Theor Biol Med Model*, 2016, 13: 7.
- [24] Lu W, Lin C, Roberts MJ, et al. Niclosamide suppresses cancer cell growth by inducing Wnt co-receptor LRP6 degradation and inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29290.
- [25] Londoño-Joshi AI, Arend RC, Aristizabal L, et al. Effect of niclosamide on basal-like breast cancers [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4): 800-811.
- [26] Kim SY, Kang JW, Song X, et al. Role of the IL-6-JAK1-STAT3-Oct-4 pathway in the conversion of non-stem cancer cells into cancer stem-like cells [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(4): 961-969.
- [27] Wang YC, Chao TK, Chang CC, et al. Drug screening identifies niclosamide as an inhibitor of breast cancer stem-like cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74538.
- [28] Karakas D, Cevateme B, Aztopal N, et al. Addition of niclosamide to palladium(II) saccharinate complex of terpyridine results in enhanced cytotoxic activity inducing apoptosis on cancer stem cells of breast cancer [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(17): 5580-5586.
- [29] Pal SK, Childs BH, Pegram M. Triple negative breast cancer: unmet medical needs [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 125(3): 627.
- [30] Yin L, Gao Y, Zhang X, et al. Niclosamide sensitizes triple-negative breast cancer cells to ionizing radiation in association with the inhibition of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(27): 42126.