

[文章编号] 1007-385X(2002)04-0291-03

砷剂抗肿瘤研究的现状与展望

蔡洪培 综述, 张兴荣, 谢渭芬 审阅(第二军医大学长征医院消化内科, 上海 200003)

[摘要] 近年来我国率先在世界上采用中药砷霜(主要成分三氧化二砷)治疗急性早幼粒细胞白血病的成功, 为恶性的治疗提供了一条新的途径。砷剂对多种血液肿瘤与非血液肿瘤具有杀伤作用, 其作用机制涉及诱导细胞凋亡与抑制细胞增殖等, 与含巯基(-SH)物质结合以及通过影响线粒体跨膜电位($\Delta\Psi_m$)进而释放一些凋亡效应分子是其抗癌作用的分子基础。对实体瘤的临床效果及其给药途径、剂量、安全性等有待进一步评价。

[关键词] 砷剂; 肿瘤

[中图分类号] R73-1; R979.1 [文献标识码] A

1996年8月《Science》杂志以《古老的药物放出新的光彩》为题介绍中国科学家应用三氧化二砷(As₂O₃)治疗急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的研究成果,称这是继全反式维甲酸之后又一令人震惊的发现^[1]。这一报道引起国内外医学界对砷剂抗肿瘤研究的极大兴趣。砷剂已成为当今肿瘤治疗研究的热点之一,现就砷剂抗肿瘤研究的基础与临床作一综述。

1 砷剂临床应用的历史回顾

长期以来,东西方国家都认为含砷制剂属于剧毒物质,但其药用历史同样源远流长。我国自古就已运用砷霜等砷类中药治疗多种顽疾,如皮肤疔肿、神经疾病、哮喘等^[2],民间亦流传以砷霜治疗毒瘡(癌肿)的秘方。目前临床上常用的含砷中药制剂有:牛黄解毒片、安宫牛黄丸、六神丸、紫金丹、蟾酥丸等。口腔科还采用As₂O₃作为牙髓失活剂。由此可见,砷剂的临床用途颇广。含砷制剂中以As₂O₃的毒性最大,目前国内外开展的砷剂抗肿瘤研究多采用As₂O₃。

2 砷剂治疗急性早幼粒细胞白血病(APL)的进展

1992年哈尔滨医科大学一附院中医科孙鸿德等^[3]报道,采用该院根据民间秘方改制成的“癌灵I号”水针剂(主要成分As₂O₃)治疗APL 32例,其中CR 21例(占65%),PR 4例(占12.5%),总缓解率为78.1%。1996年该院血液科张鹏等^[4]报道,将癌灵I号简化成单一的As₂O₃注射液静脉滴注治疗72例APL,其中初治30例,CR率为73.3%,有效率为90%;复发及难治42例,CR率为52.3%,有效率64.2%;与全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)无交叉耐药,毒副作用小,且为可逆,不发生骨髓抑制。随后,国内其他单位亦相继开展抗APL的临床观察研究,认为对初发、复发以及对维甲酸和常规化疗耐药的APL患者As₂O₃是一个相对安全而有效的药物,总的有效率在90%左右。

有关As₂O₃抗APL的基本用法为:0.1% As₂O₃注射液10 ml 稀释于5%葡萄糖(或生理盐水)250~500 ml 中静脉

滴注3~4 h,成人每日1次,儿童按体表面积6 mg/m²计量,28 d为1个疗程,每疗程间歇5~7 d,也可连续应用。如2个疗程未达到缓解为无效。

关于As₂O₃抗APL的作用机理,已进行了一系列研究。APL是急性髓性白血病的一种亚型,95%以上的APL患者具有特征性的t(15;17)染色体易位,15号染色体上早幼粒细胞白血病基因(Promyelocytic Leukemia, PML)和17号染色体上的维甲酸受体基因(RAR α)融合表达有致癌特性的融合蛋白PML/RAR α ,PML/RAR α 既阻断细胞分化,又抑制细胞凋亡,激发生白血病。Chen等^[5,6]在体外细胞水平观察到As₂O₃在0.1~2.0 μ mol/L浓度时能使PML-RAR α 融合蛋白迅速下调与降解,在相对高浓度(0.5~2.0 μ mol/L)时诱导APL细胞凋亡,在低浓度(0.1~0.5 μ mol/L)时诱导其部分分化,As₂O₃通过上述2种效应治疗APL,而这2种效应与降解PML/RAR α 癌蛋白有关。

3 砷剂抗其他血液肿瘤与实体瘤的研究进展

近年来,国内外学者开始研究砷剂对其他血液肿瘤与实体瘤的抗癌效果。Akao等^[7]发现As₂O₃能诱导B淋巴细胞白血病细胞株凋亡。张日等^[8]在细胞水平证实As₂O₃联合木黄酮能抑制CML细胞增殖。傅卫军等^[9]发现As₂O₃能诱导骨髓瘤细胞株(KM3)凋亡。伍钢等人^[10]发现0.5~4 μ mol/L As₂O₃在体外能明显抑制神经母细胞瘤细胞株SJ-N-SH的增殖。蔡洪培等^[11-14]发现As₂O₃对胃癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌细胞均具有明显的抑制作用,起效浓度多在0.1~2 μ mol/L之间,这一抑制作用随药物浓度的提高及作用时间的延长而增加,而对成纤维细胞NIH-3T3和正常肝细胞无明显影响;他们还建立胃癌、结肠癌腹腔转移的动物模型^[15-16],证明As₂O₃通过诱导肿瘤细胞凋亡消除腹腔内肿瘤细胞,抑制腹水生成,并使裸鼠寿命明显延长,作用效果与剂量成正比;另外发现,砷剂治疗组的裸鼠较生理盐水组及表阿霉素对照组恶液质状况明显要轻,长期存活的裸鼠剖腹未见肠黏连,对脏层腹膜的间质细胞无明显形态学改变,治疗作用

有一定的“选择性”。秦叔逵等^[17]报道试用 As₂O₃ 注射液 20 mg/d, 静滴每天 1 次, 治疗 CT 与手术证实的又无法切除的 ELF 化疗无效的晚期胆囊癌(男 70 岁)1 例, 经过近 70 d 的 As₂O₃ 治疗(中间间隔 40 d, 共 2 个周期), 经 CT 复查完全缓解, 治疗期间的主要副作用为轻度食欲减低, 骨髓及外周血无明显影响。使用 As₂O₃ 6 个月后复发, 但再用 As₂O₃ 注射液治疗仍然有效。

4 砷剂抗癌作用的机理

4.1 诱导细胞凋亡

4.1.1 与含巯基(-SH)物质结合

As₂O₃ 与蛋白质和氨基酸分子中的巯基(-SH)有较强的亲和力, 砷与巯基氧化或交联, 从而影响巯基酶或含巯基蛋白质的活性, 影响细胞正常代谢, 诱导细胞凋亡。APL 细胞的融合蛋白 PML/RAR α 成分中 PML 组分 N 端富含半胱氨酸, As₂O₃ 与其-SH 产生高亲和力结合, 这是 As₂O₃ 诱导 APL 细胞凋亡的主要机理之一。GSH、半胱氨酸、二巯基丙醇可抵抗 As₂O₃ 的毒性, 表明 As₂O₃ 的作用来自于对蛋白质巯基的可逆性结合。

4.1.2 影响线粒体跨膜电位($\Delta\Psi_m$)

线粒体是 As₂O₃ 作用的重要靶点之一, 食道癌细胞经 As₂O₃ 处理后线粒体超微结构发生改变, 肿胀, 继之出现气球样外观, 甚至外膜破裂。应用碘化丙啶(PI)/罗达明(Rhodamine 123)双重染色法可发现 As₂O₃ 可明显诱导线粒体 $\Delta\Psi_m$ 下降, 导致线粒体的通透性转运孔(MPT)的开放, 促使某些促凋亡因子(如细胞色素 C 等)自线粒体释放进入胞浆, 进一步激活一些凋亡效应分子。

4.1.3 下调 Bcl-2/Bax 比值

Bcl-2 与 Bax 参与细胞凋亡的调控, 其中 Bcl-2 是凋亡抑制基因, 已有大量实验研究表明, As₂O₃ 诱导肿瘤细胞凋亡与 Bcl-2/Bax 比值下调有关。

4.1.4 激活凋亡效应分子 caspase3,8

As₂O₃ 诱导 MB4 细胞凋亡时, 激活 caspase 酶 3 和 8; caspase 酶抑制剂能抑制 As₂O₃ 诱导 NB4, HL-60 细胞凋亡, 说明 caspase 激活为 As₂O₃ 诱导肿瘤细胞凋亡所必需。

4.1.5 Fas, Fas-L 表达的增加

凋亡相关基因 Fas 及其配体 Fas-L 的结合会迅速诱导细胞凋亡。结肠癌、肝癌与胰腺癌细胞系经 As₂O₃ 处理后肿瘤细胞表面 Fas, Fas-L 表达明显增加, 说明 Fas, Fas-L 的结合是砷剂诱导肿瘤细胞凋亡的一个途径。

4.1.6 细胞内游离 Ca²⁺ 升高

张兴荣等人^[18]发现 2 $\mu\text{mol/L}$ As₂O₃ 作用胰腺癌细胞 48 h 后, 细胞内游离 Ca²⁺ 显著增加, Ca²⁺ 作为第二信使或凋亡信号传导分子活化与细胞凋亡相关的蛋白酶和核酸酶, 从而介导细胞凋亡。

4.2 抑制细胞增殖

细胞周期存在 G₁/S 期和 G₂/M 期转移 2 个限制点。As₂O₃ 不仅诱导肿瘤细胞凋亡, 还抑制多种肿瘤细胞增殖, 抑

制增殖作用与 G₂/M 阻滞有关。

4.3 诱导分化

APL 患者经 As₂O₃ 治疗后, 早幼粒细胞下降, 中晚幼粒细胞及杆状、分叶核细胞逐渐增多而达到 CR, 表明 As₂O₃ 能诱导早幼粒细胞成熟、分化。但目前未见实体瘤细胞的相关报道。

5 存在的问题与展望

近年来, 中药砒霜(主要成分 As₂O₃) 治疗 APL 的成功, 为白血病的治疗提供了一条继维甲酸(RA)以来的新途径。此后, 砷剂抗其它肿瘤的研究亦迅速开展。新近 Soignet 等人^[19]称“中国近年来多个单位报道 As₂O₃ 治疗 APL 的安全性和有效性, 使美国对复发性 APL 开始尝试 As₂O₃ 治疗, 目前美国正在进行 APL 的多中心研究, 以进一步确定 As₂O₃ 治疗 APL 的安全性和有效性”。As₂O₃ 注射液(商品名: 亚砷酸注射液 10mg/10ml)已于 1999 年 10 月由 SDA 批准作为国家 II 类新药由哈尔滨伊达药业公司正式生产和销售; 美国 FDA 亦于 2000 年 9 月底批准美国 Cell Therapeutic 公司的 As₂O₃ 注射液(商品名: Trisenox)上市作为复发性 APL 二线治疗药物。目前国内外还在进行多发性骨髓瘤、恶性淋巴瘤、MDS 等其他恶性肿瘤的临床试验。

尽管 As₂O₃ 治疗癌症的基础与临床研究已取得较大进展, 但仍有许多工作有待深入: ①除 APL 外, 全身哪些肿瘤尚对 As₂O₃ 敏感有效; ②最佳的给药途径、剂量、时间间隔、疗程; ③安全性: 包括急性与慢性砷中毒, 会否引起二次肿瘤; ④会否产生耐药性; ⑤与其他药物的联合用药问题等。近来, 有学者报道^[20]有机砷 Melarsoprol 在体外能够诱导多种肿瘤细胞凋亡, 对 NB4, HL-60 细胞 Melarsoprol 的作用比 As₂O₃ 更显著, 而毒性要明显小于 As₂O₃。

相信在不久的将来, 随着这些问题研究的深入, 砷剂将会在临床得到更广泛的应用。

[参考文献]

- [1] Mervis J. Ancient remedy perform new tricks [J]. Science, 1996, 273(2): 578.
- [2] 中药大辞典[M], 上海: 上海人民出版社, 1997. 10.
- [3] 孙鸿德, 马铃, 胡晓晨, 等. 癌灵 I 号结合中医辨证治疗 APL 72 例 [J]. 中国中西医杂志, 1992, 12(3): 170-172.
- [4] 张鹏, 王树叶, 胡龙虎, 等. 三氧化二砷注射液治疗 72 例急性早幼粒细胞白血病 [J]. 中华血液学杂志, 1996, 17(2): 58-60.
- [5] Chen GQ, Ehu J, Shi XG, et al. *in vitro* studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide(As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR alpha/PML Proteins [J]. Blood, 1996, 88: 1052-1061.
- [6] Chen GQ, Shi XG, Tang W, et al. Use of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): As₂O₃ exerts dose-dependent dual effects on APL cells

- [J]. Blood, 1997, 89: 3345-3353.
- [7] Akao Y, Mizoguchi H, Kojima S, *et al.* Arsenic-induced apoptosis in B-cell Leukaemic cell lines *in vitro*: Activation of caspases and down-regulation of Bcl-2 protein[J]. Br J Haematol, 1998, 102(4): 1005-1009.
- [8] 张 日, 支雅军, 朱子玲, 等. 三氧化二砷联合木黄酮抑制 CML 细胞增殖的研究[J]. 江苏医药, 2000, 26(10): 763-765.
- [9] 傅卫军, 侯 健, 王东星, 等. 氧化砷诱导骨髓瘤细胞株 (KM3) 凋亡的初步研究[J]. 中华血液学杂志, 1998, 19(11): 591-592.
- [10] 伍 钢, 周云峰, 陈同辛, 等. 三氧化二砷诱导神经母细胞瘤细胞凋亡机理的研究[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(5): 265-267.
- [11] 蔡洪培, 邓志华, 李 石, 等. As₂O₃ 诱导人胃癌细胞凋亡的研究[J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(9): 636-639.
- [12] 邓志华, 蔡洪培, 李 石, 等. 氧化砷诱导结肠癌细胞凋亡及其分子机制[J]. 肿瘤防治研究, 2000, 27(2): 105-108.
- [13] 邓志华, 蔡洪培, 李 石, 等. 三氧化二砷对正常肝细胞及肝癌细胞株的影响[J]. 中华消化杂志, 1999, 19(4): 227-229.
- [14] 张兴荣, 蔡洪培, 邓志华, 等. 氧化砷诱导胰腺癌细胞凋亡与 Fas, Fas-L 关系的研究[J]. 解放军医学杂志, 1999, 24(6): 450-452.
- [15] 蔡洪培, 邓志华, 李 石, 等. 三氧化二砷对裸鼠结肠癌腹腔转移的抑制作用[J]. 中华消化杂志, 1999, 19(6): 378-380.
- [16] 张兴荣, 蔡洪培, 邓志华, 等. 三氧化二砷对人胃癌裸鼠腹腔种植腹水生成的影响[J]. 癌症, 2001, 20(5): 477-479.
- [17] 秦叔逵, 钱 军, 何泽明, 等. 三氧化二砷注射液治疗晚期胆囊癌[J]. 临床肿瘤学杂志, 2000, 5(4): 286-287.
- [18] 张兴荣, 蔡洪培, 邓志华, 等. 细胞内 Ca²⁺ 变化在砷剂诱导胰腺癌细胞株凋亡中的作用[J]. 第二军医大学学报, 2001, 22(5): 422-424.
- [19] Soignet SL. Clinical experience of arsenic trioxide in relapsed promyelocytic leukemia[J]. Oncologist, 2001, 6(Suppl 2): 11-16.
- [20] Koshiuka K, Elstner E, Williamson E, *et al.* Novel therapeutic approach: Organic arsenical melarsoprol alone or with all-trans-retinoic acid markedly inhibit growth of human breast and prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo*. [J] Br J Cancer, 2000, 82(2): 452-458.
- [收稿日期] 2002 - 04 - 22 [修回日期] 2002 - 08 - 31