

NF- κ B 与肿瘤防治药物研究进展

马艳霞,李敏

关键词: NF- κ B; 肿瘤防治; 药物筛选

中图分类号: R730.1; R730.53; R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)06-0465-03

0 引言

核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通过调控多种基因的表达, 参与免疫反应、炎症反应、细胞凋亡、肿瘤发生与转移等多种生物进程^[1,2]。在静息状态下, NF- κ B 在胞浆内与其抑制因子 I κ Bs 结合形成复合物, 处于非活化状态; 当细胞受到各种细胞内外刺激因素的作用时, I κ Bs 被 I κ B 磷酸化激酶复合物 (IKK) 磷酸化后, 与泛素蛋白结合, 后经蛋白酶体降解, 使得 NF- κ B 释放出来, 并进一步转位到细胞核内, 处于活化状态^[3]。近年来, 随着分子生物学技术的发展, 在研究 NF- κ B 通路如何影响肿瘤细胞凋亡及如何决定其凋亡相关元件的表达增强或抑制方面已取得一定进展, 而针对这些机制研究出新型的分子靶点药物也为肿瘤防治开辟了一条新的途径^[4]。本文对 NF- κ B 相关的药物研究及其作为分子靶点在药物筛选中的应用等方面作一简要的综述。

1 NF- κ B 活性激活剂与抑制剂

近年来, 国内外药物研发机构、制药公司已经针对 NF- κ B 展开了广泛的药物研究, 发现了一系列作用于 NF- κ B 通路的化合物, 主要可以分为两大类, 一类为 NF- κ B 活性的激活剂; 另一类为 NF- κ B 活性的抑制剂。

NF- κ B 活性激活剂可以增强机体的免疫能力, 维持机体内环境的稳定。并且, 研究发现 NF- κ B 的活化也可能有助于促进某些肿瘤细胞的凋亡^[5]。具有激活 NF- κ B 活性的因素有肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-1 (IL-1)、蓖麻毒素、扶正抑瘤颗粒 (FYK)、血管紧张素 II (AII)、细菌脂多糖 (LPS)、神经生长因子、病毒、氧自由基、物理化学因子等。另

外, 柔红霉素 (Daunorubicin)、长春新碱 (Vincristine)、阿霉素 (Doxorubicin)、表阿霉素等多种应用于临床的化疗药物均可以激活 NF- κ B。TNF、IFN- γ 、IFN- α 、IL-2、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 和促红细胞生长素 (EPO) 是已被批准用于临床肿瘤治疗的 7 种细胞因子, 而它们当中的前 6 种也被证明与 NF- κ B 的信号传导通路有关^[6]。

1.1 NF- κ B 活性抑制剂

机体的诸多病理性改变都是由于 NF- κ B 的非正常活化所导致的。同时, 肿瘤多药耐药性组织中 NF- κ B 的表达和活性异常增高, 而 NF- κ B 的抑制因子 I κ B 的表达水平明显下降。因此, 针对 NF- κ B 活性抑制剂的研究具有重要意义^[7]。NF- κ B 活性抑制剂可在不同环节阻断 NF- κ B 激活, 诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖, 发挥抗肿瘤作用。例如, 通过诱导 I κ B mRNA 合成, I κ B 表达增多, 可抑制 NF- κ B 的核转位。抑制 26S 等蛋白酶体的功能可以减少 I κ B 的降解, 从而阻止 NF- κ B 通路的激活。此外, 抑制 I κ B 磷酸化激酶 (IKK) 的形成及活性可以阻止下一步的 I κ B 磷酸化, 进而抑制 NF- κ B 的转位活化。针对 IKK 亚基 (又被称为 NEMO) 的合成多肽可进入细胞阻止 NEMO 与 IKK 的结合, 从而抑制 NF- κ B 的活化和靶基因的表达^[8]。反义脱氧寡核苷酸 (Antisense oligodeoxyribonucleotide, AS-ODN) 或反义寡核苷酸通过碱基配对, 选择性与构成 NF- κ B 成员的基因或 mRNA 结合, 最终抑制 NF- κ B 成员的转录或翻译过程。

目前一些 NF- κ B 活性抑制剂已经被应用于临床肿瘤的化学治疗中。例如, 三氧化二砷用于治疗慢性髓细胞性淋巴瘤, 实验证实它具有抑制 NF- κ B 活性的功能。研究人员还在继续进行三氧化二砷临床实验, 评价其治疗其他血液病和实体瘤的效果。沙利度胺 (Thalidomide) 是目前应用于临床的另一种 NF- κ B 抑制剂, 它可能是通过抑制 I κ B 激酶的活性来发挥抑制 NF- κ B 活性的作用。

蛋白酶体抑制剂 Bortezomib (PS-341) 已经完成临床试验并被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准

收稿日期: 2005-06-20; 修回日期: 2005-09-05

基金项目: 国家高技术研究发展 (863) 计划 - 新药筛选及关键技术研究 (2002AA2Z343C)

作者单位: 100083 北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室

通讯作者: 李敏, E-mail: limin@hsc.pku.edu.cn

作者简介: 马艳霞 (1981-), 女, 硕士, 主要从事抗肿瘤药物分子药理机制研究

作为治疗骨髓瘤的药物^[9,10]。该药物不仅可单独用于治疗肿瘤;还能增强其他化疗药物的抗肿瘤活性,并且不增加化疗药物毒副作用。随着研究的不断深入,有望在不久的将来研究开发出更多、更有效、更特异的 NF- κ B 活性抑制剂,并应用于临床。

2 NF- κ B 抑制剂与抗肿瘤药物之间的相互作用

实验发现 NF- κ B 高表达的肿瘤细胞对抗肿瘤药物及电离射线有较高耐受性,而抑制 NF- κ B 活性可明显增加其治疗敏感性并诱导细胞凋亡^[11]。目前应用于临床的预防肿瘤的化合物大多数可以抑制 NF- κ B 活化,从而抑制 NF- κ B 介导的诸多与肿瘤发生相关基因的转录,这也可能是其产生预防肿瘤疾病效应的机制之一。这些预防性化合物包括:绿茶多酚类、辣椒素(Capsaicin)、槲黄素(Quercetin)、羟基维生素 D₃ (Dihydroxy vitamin D₃)、白藜芦醇(Resveratrol)、拓朴异构酶抑制剂-拉帕醌(-lapachone)、舒林酸(Sulindac)、沙利度胺加(Celecoxib)等。上述肿瘤预防性化合物在肿瘤治疗过程中也能发挥重要的辅助疗效^[12,13]。

除了前面所提到的大多数化学治疗药物能激活 NF- κ B,例如,柔红霉素,长春新碱等;泰素(Taxol,人工半合成紫杉醇 Paclitaxel)、足叶乙甙(Etoposide)等化合物也能激活 NF- κ B。当 NF- κ B 抑制剂与这些化疗药物或者放射治疗联合应用时,NF- κ B 抑制剂可降低肿瘤细胞对肿瘤治疗的耐药性,增强放疗的治疗效果,同时能减轻抗肿瘤治疗引起的毒副作用。因此,抑制 NF- κ B 的活性能起到预防和辅助治疗肿瘤的双重效果。另外,有些肿瘤预防性的化合物不仅能抑制 NF- κ B 的活性,而且自身还能诱导凋亡,有助于增强常规肿瘤放、化疗的疗效^[14-16]。吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)被认为是目前最有效的 NF- κ B 活性抑制剂,同时,PDTC 还能有效地抑制 TNF 诱导 NF- κ B 活化的作用,增强 TNF 的抗肿瘤活性。

3 NF- κ B 与药物筛选

由于 NF- κ B 的广泛生理功能,尤其与免疫应答和肿瘤的发生发展关系密切,并且在肿瘤的治疗中,NF- κ B 的抑制剂能起到很好的辅助常规放、化疗的作用,因此,NF- κ B 成为备受人们关注的药物作用靶点。通过报告基因与转染技术,多种检测方法已经建成并用于筛选作用于 NF- κ B 通路的化合物。Moon 等^[17]将 pNF- κ B-SEAP-NPT 质粒转染入人角化细胞株 HaCaT 中,该转染细胞能在 NF- κ B 活化的情况下诱导分泌型胚胎碱性磷酸酶(SEAP)报

告基因的表达,同时转染质粒中还包含有新霉素磷酸转移酶(NPT)基因作为选择性标记。通过检测 SEAP 荧光底物的变化可以确定 SEAP 报告基因的表达水平,进而间接反映 NF- κ B 的活性变化。该细胞检测系统可被应用于人皮肤细胞 NF- κ B 活性的量化检测,并且能应用于各种天然与合成化合物的筛选,发现治疗皮肤病的抗炎药物。同理,本文作者应用 NiFty-SEAP/HEK293 转染细胞结合-定量的 TNF,建立了可同时筛选 NF- κ B 促进剂与抑制剂的药物筛选体系,用于抗肿瘤化合物与免疫调节剂的筛选^[18]。最近,Leung 等^[19]向肝癌细胞(Hep G2)转入荧光素酶报告基因 pBII-X-luc(包含有两个衔接的重复 NF- κ B 结合位点)和 pRL-TK 质粒载体。通过双荧光素酶报告基因检测系统来检测细胞培养上清中萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的活性,从而反映 NF- κ B 的转录活性。利用该检测系统,研究人员从中草药冬凌草(Isodon rubescens)中发现了一些对 NF- κ B 转录活性具有抑制作用的二萜类化合物,冬凌草甲素(Oridonin),冬凌草乙素(Ponicidin),信阳冬凌草甲素(Xindongnin A),以及信阳冬凌草乙素(Xindongnin B)。

为了直接检测反映 NF- κ B 活性的报告分子,王付龙等^[19]建立了 NF- κ B 反应性不稳定增强型绿色荧光蛋白(d2EGFP)报告系统,作为筛选 NF- κ B 拮抗药物及研究其相关信号传导途径的工具。实验表明,NF- κ B 反应性 d2EGFP 报告系统可特异、灵敏、动态地反映和监测 NF- κ B 的活性变化。另有报道将构建的能表达 I κ B-EGFP 融合蛋白的基因重组体 pI κ B-EGFP 转染人白血病细胞株 HL60 后,通过定性与定量的方法,观察不同刺激物作用该细胞后荧光强度的变化,直接了解 I κ B-EGFP 蛋白的降解情况,从而间接判断经刺激剂作用后细胞内 NF- κ B 的活化状态,可用于筛选 NF- κ B 诱导剂^[21]。

当然,以 NF- κ B 作为靶点进行药物筛选也存在一定局限性。实验表明,某些细胞中 NF- κ B 活性的抑制并不足以诱导肿瘤细胞的凋亡或者增强抗肿瘤药物介导的肿瘤细胞的细胞毒作用。另外,某些实验也证实,NF- κ B 的活化是启动凋亡所必需的,例如新必斯(Sindbis)病毒感染的细胞凋亡,Fas 诱导的细胞死亡,以及对于氧化应激、缺血等情况下的相应细胞反应,甚至对于某些细胞毒性药物所诱导的细胞凋亡的启动均需要有 NF- κ B 的活化。这些特性都提示以 NF- κ B 为抗肿瘤药物筛选的靶点需要充分考虑 NF- κ B 细胞特异性的抗凋亡或者是促凋亡功能才能使相关的工作有更好的针对性和实用价值。

4 小结与展望

在多种细胞中,由于基因突变、慢性炎症等因素所致的 NF- κ B 异常活化可抑制细胞凋亡、促进细胞增殖、加速肿瘤细胞转移、提高肿瘤细胞对放、化疗的抗性,最终促进肿瘤的发生与发展。因此,NF- κ B 活性抑制剂将有助于肿瘤的防治。然而,NF- κ B 活性的广泛、持续阻断在发挥抗肿瘤作用的同时,也会影响到正常的免疫功能,甚至导致免疫缺陷以及健康细胞的凋亡。因此,有必要在深入了解不同种类细胞中 NF- κ B 活化通路的差异及其在某些疾病发生中所发挥作用的基础上,合理设计具有靶细胞特异性、NF- κ B 和 IKK 等蛋白亚单位特异性的 NF- κ B 抑制剂,实现抗肿瘤和调控正常细胞功能之间的精细平衡,从而达到有效治疗效果,减少药物的毒副作用。例如,IKK 是内在免疫反应中介导 NF- κ B 活化的必要因素,而 IKK 则是非必要的;因此,IKK 特异性的抑制剂则可能选择性的抑制 NF- κ B 在一些肿瘤中的活化,而并不影响机体免疫系统^[22]。

总之,在以 NF- κ B 为靶的药物研究过程中,应结合 NF- κ B 信号传导通路的各个环节综合考虑,进行有针对性、特异性的药物作用靶点和相关药物研究,开发出高效低毒的抗肿瘤新药^[23]。

参考文献:

- [1] Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(5-6): 883-888.
- [2] Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity[J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(6): 280-288.
- [3] Yamamoto Y, Gaynor RB. Role of the NF-kappaB pathway in the pathogenesis of human disease states[J]. *Curr Mol Med*, 2001, 1(3): 287-296.
- [4] Nakanishi C, Toi M. Nuclear factor-kappaB inhibitors as sensitizers to anticancer drugs[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 297-309.
- [5] Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF-kappaB: control of oncogenesis and cancer therapy resistance[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1470(2): M55-62.
- [6] Phal HL. Activators and target genes of Rel/ NF-kappaB transcription factors[J]. *Oncogene*, 1999, 18(49): 6853-6866.
- [7] Orłowski RZ, Baldwin AS Jr. NF-kappaB as a therapeutic target in cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8(8): 385-389.
- [8] McIntyre KW, Shuster DJ, Gillooly KM, et al. A highly selective inhibitor of I kappa B kinase, BMS-345541, blocks both joint inflammation and destruction in collagen-induced arthritis in mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(9): 2652-2659.
- [9] Adams J. Preclinical and clinical evaluation of proteasome inhibitor PS-341 for the treatment of cancer[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2002, (4): 493-500.
- [10] Boccadoro M, Morgan G, Cavenagh J. Preclinical evaluation of the proteasome inhibitor bortezomib in cancer therapy[J]. *Cancer Cell Int*, 2005, 5(1): 18.
- [11] Chinni SR, Li Y, Upadhyay S, et al. Indole3-carbinol (I3C) induced cell growth inhibition, G1 cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells[J]. *Oncogene*, 2001, 20(23): 2927-2936.
- [12] Haefner B. NF-kappa B: arresting a major culprit in cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2002, 7(12): 653-663.
- [13] Lin A, Karin M. NF- κ B in cancer: a marked target[J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13: 107-114.
- [14] Amit S, Ben-Neriah Y. NF- κ B activation in cancer: a challenge for ubiquitination and proteasome-based therapeutic approach[J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13: 15-28.
- [15] Greten FR, Karin M. The IKK/ NF- κ B activation pathway—a target for prevention and treatment of cancer[J]. *Cancer Lett*, 2004, 206(2): 193-199.
- [16] Sarkar FH, Li YW. Cell signaling pathways altered by natural chemopreventive agents[J]. *Mutat Res*, 2004, 555(1-2): 53-64.
- [17] Moon KY, Hahn BS, Lee J, et al. A cell-based assay system for monitoring NF- κ B activity in human HaCaT transfectant cells[J]. *Anal Biochem*, 2001, 292: 17-21.
- [18] 马艳霞,徐波,崔景荣,等. 以 NF- κ B 为靶的药物筛选方法的建立与应用研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33(2): 149-154.
- [19] Leung CH, Grill SP, W Lam, et al. Novel mechanism of inhibition of NF- κ B DNA-binding activity by diterpenoids isolated from *isodon rubescens* [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 68: 286-297.
- [20] 王付龙,梁华平,刘昕,等. 核因子- κ B 反应性不稳定增强型绿色荧光蛋白报告系统的建立与应用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(1): 78-83.
- [21] 史须,马炳娜,钟英诚,等. NF- κ B 活化诱导剂筛选细胞的建立[J]. *中国免疫学杂志*, 2002, 18: 245-248.
- [22] Greten FR, Eckmann L, Greten TF, et al. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer[J]. *Cell*, 2004, 118(3): 285-296.
- [23] Viatour P, Merville MP, Bours V, et al. Phosphorylation of NF-kappaB and I kappa B proteins: implications in cancer and inflammation[J]. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30(1): 43-52.

[编辑:贺文]