

## 海洋生物抗肿瘤活性物质及其作用机理研究进展\*

## PROGRESS IN STUDIES ON MARINE ANTITUMOR BIOACTIVE SUBSTANCES AND THEIR ANTITUMOR MECHANISMS

欧阳高亮 李祺福 田长海

(厦门大学生命科学院细胞生物学研究室, 细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室 厦门 361005)

中图分类号 R282.77 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)07-0021-04

海洋环境的独特性、海洋生物的多样性以及海洋生物活性物质结构的新颖性是海洋生物活性物质研究与开发的重要基础。海洋占地球表面积的 71%, 是生命的发源地, 也是潜力巨大的海洋生物资源库, 其生物多样性远远超过陆地生物的多样性, 据估计, 浩瀚的海洋中生活着的生物种数约占地球生物总数的 80%, 共计约 30 门 50 多万种。在漫长的生命进化历程中, 为适应高盐度、高压、低温、低光照、寡营养的变化多端的海洋生态环境, 许多海洋生物不仅形态各异, 而且产生了与陆地生物不同的代谢系统和机体防御系统, 从而具有极强的自我防御能力和适应环境的能力, 而且其体内蕴含了许多结构新颖、功能独特的天然活性物质。因此海洋生物天然活性物质为新药研制提供了重要的先导化合物, 是创新药物的丰富源泉。其中海洋生物活性物质抗肿瘤研究进展很快, 是海洋药物开发的重要方向。本文拟就海洋生物抗肿瘤活性物质及其抗肿瘤作用机理研究作一综述, 并探讨海洋生物活性物质抗肿瘤作用研究的发展趋势。

## 1 海洋生物抗肿瘤活性物质

美国 NCI 每年所筛选的约 30 000 个抗肿瘤化合物中, 约 5% 来自海洋生物, 其中发现有抗肿瘤活性的约 1%。海洋动物、植物和微生物均能产生抗肿瘤活性物质。目前发现的具有抗肿瘤活性的海洋生物活性物质主要来源于海洋中的动植物, 如海绵、珊瑚、海兔、海鞘、鲨鱼、海星、海葵、海胆和海藻等, 其中以海绵、海鞘和海藻最多<sup>[1-4]</sup>。业已证实, 约 10% 的海洋动物提取物有抗 P388 白血病细胞及 KB 细胞的活性。海绵是最低等的多细胞动物, 结构简单, 但作为一个特

殊生物群体却含有极为丰富的活性物质。第一个利用海洋生物活性物质创新的治疗白血病和淋巴瘤的药物阿糖胞苷 (Cytarabine) 就是利用海绵的核苷类似物作为骨架进行人工修饰得到的具有抗肿瘤活性的核苷衍生物。以此为原药, 人们又提取或合成了许多活性更强的阿糖胞苷衍生物, 如 Gemcitabine 对胰腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌等肿瘤患者具有明显疗效<sup>[5]</sup>。源于海鞘的 Didemnin B 已作为抗肿瘤药物进行了 II 期临床试验, 可使淋巴瘤全部或部分消退; Didemnin B 的类似物 Aplidine 比其更为有效, 并已进行了临床 I 期试验<sup>[5,6]</sup>。海鞘的另一大类有丝分裂抑制剂 Ecteinascidins (如 ET 743) 也已进入 II 期临床试验<sup>[7]</sup>。同时美国 NCI 的研究报告也表明, 3.5% 的海洋植物提取物对 P388 白血病细胞、KB 细胞等肿瘤细胞具有抗肿瘤活性或细胞毒性。如 1994 年 Ueda 等发现蓝绿藻环肽 FR901228 可抑制经 Ha-ras 转化的 NIH-3T3 细胞的生长, 下调其 c-myc 基因的转录活性, 导致细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期停滞; 1999 年 Kan 等报道绿藻环肽 Kahalalide F 也具有显著的抗肿瘤活性。除海洋动植物以外, 海洋微生物 (海洋细菌、海洋放线菌、海洋真菌等) 也是海洋天然活性物质的重要来源之一<sup>[8,9]</sup>。随着对海洋微生物研究不断向纵深发展, 微生物的次级代谢产物已超出抗菌的范围。从海洋极限环境中分离出嗜

\* 国家自然科学基金项目 30170724 号。

第一作者: 欧阳高亮, 出生于 1971 年, 博士, 研究方向为肿瘤细胞分子生物学, Email: oyglz@yahoo.com.cn

收稿日期: 2002-01-15; 修回日期: 2002-07-12

碱、嗜冷和嗜盐微生物的次级代谢产物能提供种类繁多、分子结构新颖、化学组成复杂和生理活性特异的天然化合物。目前发现的许多海洋生物活性物质分离自海洋微生物,而且也有一些研究表明,不少有开发前景的海洋抗肿瘤活性物质其实并非由海绵或海藻等动植物产生,而是由与动植物宿主共生的海洋微生物所产生的。这些海洋微生物在从动植物宿主中获取营养的同时,也可产生多种活性物质,以有利于宿主生长或保护宿主免受其它生物的侵犯,这些活性物质正是海洋微生物抗肿瘤药物开发的物质基础。因此从海洋生物中筛选鉴定具有抗肿瘤作用的初生代谢产物和次生代谢产物等天然活性物质,并且利用海洋生物天然活性物质特异的结构作为导向物设计合成新的抗肿瘤药物,是海洋药物研究和抗肿瘤药物研究的重要方向。

## 2 海洋生物活性物质抗肿瘤作用机理

近几年来,人们应用以微管、酶(如拓扑异构酶、端粒酶、蛋白激酶C、DNA聚合酶 $\beta$ 等)、受体、DNA、RNA、B淋巴细胞和T淋巴细胞等为靶点的筛选方法,从海洋天然产物中筛选出约3000种具有抗肿瘤活性的新化合物,并对多种海洋抗肿瘤活性物质进行了临床前或临床试验<sup>[10-13]</sup>。这些海洋生物来源的抗肿瘤活性物质绝大多数具有独特的化学结构,其抗肿瘤作用机理亦呈多样性。

许多研究表明,不少海洋生物活性物质可通过阻止微管聚合或阻止微管解聚而影响细胞分裂,如海绵提取物 Discomdermolide<sup>[14]</sup>、软珊瑚提取物 Sarcodictyins 和 Eleutherobins<sup>[12]</sup>、海兔提取物 Dolastatin 10<sup>[15]</sup>以及海鞘提取物 Ecteinascidin 743<sup>[7,12]</sup>可作用于纺锤体微管蛋白,抑制肿瘤细胞分裂,因此抗微管药物和有丝分裂抑制剂的筛选是近年来海洋生物抗肿瘤药物研究的重要方向之一<sup>[16,17]</sup>。拓扑异构酶由于能将DNA超螺旋解开以利于DNA复制,因而以该酶为靶点的抗肿瘤新药的筛选已引起广泛关注,如海洋提取物 Ascidiidemin 可抑制细胞拓扑异构酶II的活性,对多种肿瘤细胞具有明显的细胞毒作用<sup>[18]</sup>。端粒酶是RNA依赖性的DNA聚合酶,主要存在于永生化和85%恶性肿瘤细胞中,与细胞永生有关,端粒酶抑制剂能抑制恶性肿瘤细胞端粒酶的活性,如海藻提取物可抑制人白血病MOLT-4细胞端粒酶活性<sup>[19]</sup>,因此端粒酶抑制剂很可能成为肿瘤治疗的新手段,是海洋抗肿瘤

药物筛选中值得关注的领域。蛋白激酶C(PKC)是一类胞浆内丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是G蛋白偶联受体介导的磷脂酰肌醇信号通路的重要蛋白激酶,作为第二信使广泛参与细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡,许多PKC调节剂可抑制肿瘤,如海洋毒素 Bistratene A 可选择性地激活细胞生长负调节因子PKC $\delta$ 亚基从而抑制细胞增殖并诱导细胞分化<sup>[20]</sup>,因此蛋白激酶C是筛选新抗肿瘤药物的重要靶点。血管形成抑制因子由于能抑制肿瘤血管形成从而切断肿瘤供血及其转移途径近年来备受人们关注,如从极少患癌症的鲨鱼的软骨中提取的软骨血管形成抑制因子,可通过阻止肿瘤周围毛细血管生长而对肝癌、肺癌等多种肿瘤的生长具有抑制作用。同时,目前对筛选中已发现的有一定抗肿瘤活性的海洋生物活性物质已开始重视观察其对免疫学指标的影响,如苔藓虫素 Bryostatin 1 可诱导细胞因子释放和肿瘤特异性淋巴细胞大量增加<sup>[13]</sup>,许多海洋生物多糖也对机体具有免疫调节作用。另外,作用于细胞凋亡过程的活性成分以及对多种耐药肿瘤细胞有效的新化合物的研究,也是海洋天然活性物质抗肿瘤研究的重要领域,如生物碱 Ascidiidemin 可强烈诱导 caspase-3 介导的 HL-60 和 P388 细胞的凋亡<sup>[18]</sup>,海绵代谢物 Mycalamide A 和 Pateamine 均可诱导多种细胞发生凋亡<sup>[21]</sup>。而诱导肿瘤细胞分化研究则是海洋活性物质抗肿瘤研究的新方向之一,肿瘤诱导分化是针对肿瘤细胞增殖失控、分化异常,应用分化诱导剂调节细胞增殖周期,抑制肿瘤细胞增殖,逆转肿瘤细胞恶性表型和功能特征,使之呈现出正常或接近正常的表型和功能特征,并进行终末分化。目前人们已发现数种海洋生物活性物质可诱导肿瘤细胞分化,如螺提取物可抑制人非小细胞支气管肺癌 NSCLC-N6 细胞增殖,导致G<sub>1</sub>期停滞,诱导肿瘤细胞终末分化<sup>[22]</sup>,海洋动物肝脏提取物 HMG 可诱导人结肠癌细胞出现分化表型<sup>[23]</sup>,Bryostatin 1 的类似物对多种肿瘤细胞具有诱导分化效应<sup>[24]</sup>,但海洋生物活性物质诱导肿瘤细胞终末分化的研究目前还非常少,而且对其诱导分化的作用机理也缺乏深入了解。

## 3 海洋生物活性物质抗肿瘤作用研究的几个重要方向

海洋生物尤其是海洋低等生物,不仅种类繁多,而且由于其进化地位低和生长在海洋这一特殊环境,

使其在漫长的演化过程中产生并积累了大量的结构独特、生理活性各异的次生代谢产物,存在着许多未见于陆地动物的特殊化学结果类型特质,是开发新型海洋药物的主要资源。海洋低等生物自身无免疫系统或仅有先天性免疫系统,主要靠化学防御来抵御入侵病原的侵袭,并很少患癌症。因此从海洋生物尤其是从海洋无脊椎生物中提取抗肿瘤活性成分就成为抗肿瘤药物研究与开发的热点。其中抗菌肽是海洋无脊椎动物等生物先天性免疫系统循环血淋巴内可对外来病原作出免疫反应并将其杀死的众多生物活性物质中的一大类成分。抗菌肽具有分子量小、水溶性好、热稳定、免疫原性较弱、材料来源丰富等优点,不仅具有广谱的抗菌、抗病毒活性,近年来国内外也竞相报道了抗菌肽的抗肿瘤作用。如从鲎血淋巴细胞中分离提取的抗菌肽 Tachyplesin 可明显抑制人胃癌细胞、人肝癌细胞增殖,诱导细胞分化<sup>[3,25]</sup>,其人工合成类似物 RGD-tachyplesin 则可诱导肿瘤细胞和内皮细胞凋亡<sup>[26]</sup>。因此抗菌肽的抗肿瘤活性研究是海洋抗肿瘤药物研究中的一个重要领域。

低分子肿瘤抑制物筛选也是海洋抗肿瘤活性物质研究中的一个新方向。低分子肿瘤抑制物广泛存在于生物体内的组织和体液中,是细胞内特定合成的或生化代谢的中间产物,分子量一般小于 10.0 ku,能选择性地杀伤或抑制肿瘤细胞,对机体正常细胞无毒副作用或毒副作用很小。近年来国内外学者从哺乳动物胚胎、血液等组织中分离提取了小分子多肽等低分子肿瘤抑制物,但由于哺乳动物胚胎、脑组织来源特殊且稀少,难以大量提取低分子肿瘤抑制物以满足基础及临床研究与应用的需要。因此从海洋动物尤其是从进化地位低、具有原始性特点的海洋无脊椎动物中筛选低分子抗肿瘤活性成分无疑是一条值得探索的抗肿瘤药物研究与开发新途径。

同时,如前所述,从海洋生物中筛选具有诱导肿瘤细胞终末分化作用的分化诱导剂和具有抑制血管形成作用的肿瘤血管形成抑制因子以及具有增强机体细胞免疫或体液免疫功能的免疫调节剂也都是海洋抗肿瘤活性物质研究中富有前景的领域,但筛选诱导肿瘤细胞凋亡的生物活性物质仍将是目前海洋生物抗癌新药筛选的主要方向。

#### 4 结语

由于生物多样性是开发药物的重要基础,而海

洋生物的多样性及其生物活性物质化学结构的多样性远远超过了陆地生物,而且这些海洋生物天然活性物质的独特结构是陆生天然活性物质所无法比拟的。因此以海洋生物活性物质作为新药开发的资源具有非常广阔的前景。许多研究也表明,从海洋生物中发现的许多抗肿瘤活性物质的抗肿瘤活性强度比现有药物更高、毒性更低,体外细胞抑制浓度常仅达 ng 级,如 Didemnin B、Aplidine 和 Ecteinascidin 743 的临床 II 期试验推荐浓度分别仅为 6.3、6.0 和 1.5 mg/m<sup>2</sup>,因此海洋生物活性物质抗肿瘤研究前景诱人,而且进展也非常快。但由于海洋生物中抗肿瘤活性物质的含量往往极低,大多数海洋生物抗肿瘤活性物质仅在体外细胞培养中测定了其初步的细胞毒活性,仅对其中极少数物质进一步研究了其在生物体内的抗肿瘤活性,近 20 年来也未有新的海洋药物进入药物市场。而且其抗肿瘤机理仍主要局限于细胞毒作用如 DNA 或 RNA 合成抑制、蛋白质合成抑制和细胞有丝分裂阻断等方面,真正能临床应用的海洋抗肿瘤药物种类依然十分有限。因此如何走出单纯以杀灭细胞的方式筛选和鉴定抗肿瘤药物的原有模式,选择具有独特特性的海洋生物作为抗肿瘤药物筛选对象,选择合适的筛选模型,依据肿瘤细胞基因表达调控的分子机理,重视对作用于细胞信号传导系统、调控细胞增殖、细胞分化与细胞凋亡的肿瘤抑制物的研究,应用药物基因组和药物蛋白质组的研究成果,全面阐述海洋生物抗肿瘤活性成分的结构及其抗肿瘤作用机理,增强药物对肿瘤细胞的靶向性,改进其药物动力学特征,降低血药浓度,应用水产养殖和化学合成以及细胞工程、基因工程进行大量合成,是海洋生物抗肿瘤活性物质研究和海洋药物开发的重要方向。

#### 参考文献

- 1 孙林学,徐怀恕. 海绵动物中的生物活性物质研究进展. 海洋科学, 1998, 22(5): 15-17
- 2 董志峰,程云,欧阳藩,等. 海鞘中的抗肿瘤生物活性物质. 生物工程进展, 1999, 19(2): 32-36, 47
- 3 李祺福,欧阳高亮,刘庆榕,等. 中国鲎素诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞分化的观察. 癌症, 2002, 21(5): 480-483
- 4 Rinehart K L. Antitumor compounds from tunicates. Med Res Rev, 2000, 20(1): 1-27
- 5 Schwarlsmann G. Marine organisms and other novel natural sources of new cancer drugs. Ann Onc, 2000, 11(Suppl 3): 235-243

- 6 Shu Y Z. Recent nature products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J Nat Prod*, 1998, 61(8): 1 053-1 061
- 7 Delaoge S, Yovine A, Taamma A, et al. Ecteinascidin-743: a marine derived compound in advanced, pretreated sarcoma patients- preliminary evidence of activity. *J Clin Onc*, 2001, 19(5): 1 248-1 255
- 8 Toske S G, Jensen P R, Kauffman C A, et al. Aspergillamides A and B: modified cytotoxic tripeptides produced by a marine Fungus of the Genus *Aspergillus*. *Tetrahedron*, 1998, 54(44): 13 459-13 466
- 9 Sponga F, Cavaletti L, Lazzarini A, et al. Biodiversity and Potentials of marine-derived microorganisms. *J Biotechnology*, 1999, 70(1-3): 65-69
- 10 Fenical W. New pharmaceuticals from marine organisms. *Trends Marine Biotechnology*, 1997, 15(9): 339-341
- 11 Cragg G M, Newman D J, Weise R B. Coral reefs, forests, and thermal vents: the worldwide exploration of natural for novel antitumor agents. *Semi Onc*, 1997, 24(2): 156-163
- 12 Munro M H G, Blunt J W, Dumdei E J, et al. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *J Biotechnology*, 1999, 70(1-3): 15-25
- 13 Schwartzmann G, Da-Rocha A B, Berlinck R G S. Marine organisms as a source of new anticancer agents. *Lancet Onc*, 2001, 2(4): 221-225
- 14 Ter H E, Kowalski R J, Hamel E, et al. Discodermolide, a cytotoxic marine agent that stabilizes microtubules more potential than taxol. *Biochemistry*, 1996, 35(1): 243-250
- 15 Poncet J. The dolastatins, a family of promising antineoplastic agents. *Current Pharmaceu Design*, 1999, 5(3): 139-162
- 16 Wang L G, Liu X M, Kreis W, et al. The effect of antimicrotubule agents on signal transduction pathways of apoptosis: a review. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1999, 44(5): 355-361
- 17 Jordan A, Hadfield J A, Lawrence N J, et al. Tubulin as a target for anticancer drugs: agents which interact with the mitotic spindle. *Med Res Rev*, 1998, 18(4): 259-296
- 18 Dassonneville L, Watez N, Baldeyrou B, et al. Inhibition of topoisomerase II by the marine alkaloid ascididemin and induction of apoptosis in leukemia cells. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60(4): 527-537
- 19 Kanegawa K, Harada H, Myouga H, et al. Telomerase inhibiting activity in vitro from natural resources, marine algae extracts. *Cytotechnology*, 2000, 33(1-3): 221-227
- 20 Frey M R, Leontieva O, Watters D J, et al. Stimulation of protein kinase C-dependent and -independent signaling pathways by bistratene A intestinal epithelial cells. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(9): 1 093-1 100
- 21 Hood K A, West L M, Northcote P T, et al. Induction of apoptosis by the marine sponge (*Mycale*) metabolites, mycalamide A and pateamine. *Apoptosis*, 2001, 6(3): 207-219
- 22 Deslandes E, Pondaven P, Auperin T, et al. Preliminary study of the in vitro antiproliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6). *J Appl Phycol*, 2000, 12(3-5): 257-262
- 23 Wang H, Rajagopal S, Reynolds S, et al. Differentiation-promoting effect of 1-O(2 methoxy) hexadecyl glycerol in human colon cancer cells. *J Cel Physiol*, 1999, 178(2): 173-178
- 24 Wender P A, Hinkle K W, Koehler M F, et al. The rational design of potential chemotherapeutic agents: synthesis of bryostain analogues. *Med Res Rev*, 1999, 19(5): 388-407
- 25 Li Q F, Ouyang G L, Li C Y, et al. Effects of tachyplesin on the morphology and ultrastructure of the human gastric carcinoma cell line BGC-823. *World J Gastroentero*, 2000, 6(5): 676-680
- 26 Chen Y X, Xu X M, Hong S G, et al. RGD-tachyplesin inhibits tumor growth. *Cancer Res*, 2001, 61(6): 2 434-2 438

(本文编辑:张培新)