

## 水生动物来源的抗肿瘤活性肽作用机制研究进展

## Research advance on anticancer mechanisms of bioactive peptides derived from aquatic animals

张永进, 林琳, 姜绍通, 陆剑锋

(合肥工业大学 生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

中图分类号: Q917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2015)08-0116-09

doi: 10.11759/hyhx20140703001

生物活性肽能调节人体多种生理功能, 有提高免疫、抗肿瘤、抗病毒和降血压等作用, 而且肽类物质的结构类型十分丰富, 有巨大的药物活性筛选潜力, 是当前国际药品与保健品界最热门的研究对象和极具发展前景的功能因子<sup>[1]</sup>。在中国, 生物活性肽开发利用的研究起步较晚, 易杨华等<sup>[2]</sup>从棕色扁海绵(*Phakellia fusca*)中获得一个具有较好抗肿瘤活性的新型类环七肽的 phakellistatin (Pro-Gly-Phe-Pro-Trp-Leu-Thr), 这也是首次从产于中国海域的 *Phakellia* 属海绵动物中分离获得此类化合物。近年来, 各种生化测试仪器性能不断提升, 分析方法也在不断改进, 为更深入地研究小分子活性肽类物质奠定了基础。Suenaga 等<sup>[3]</sup>从截尾海兔(*Dolabella auricularia*)中分离得到了一种活性物质 aurilide, 经核磁共振和高效液相色谱技术精确地测定了它的结构, 表明其为 26 个氨基酸残基组成的环肽, 对人宫颈癌细胞株 HeLaS3 有一定抗性, 其 IC<sub>50</sub>(半抑制浓度或称半抑制率)值为 11 μg/mL。

癌症(亦称恶性肿瘤)是一种在全球范围内产生严重不良影响的疾病, 每年造成数百万人死亡。据世界卫生组织预测, 到 2030 年这一数字将达到 1300 万。迄今, 人类还无法找到治愈癌症的有效方法。手术治疗仅对早期癌症有一定作用, 对晚期病人却无能为力。放疗给病人造成的痛苦巨大, 甚至难以接受。所以, 寻找新型、高效和低毒的抗癌药物仍是当前科学家们不得不面临的一项重大课题。众所周知, 地球表面积的 2/3 以上为海洋所覆盖, 水生生物的种类和生物总量均远高于陆生生物。然而, 人类对水生生物的认识还相当有限, 利用率也只有 1%左右, 存在极大的开发空间。1967 年, 美国举行了题为“向海

洋寻求药物”的专题讨论会, 人类利用现代科学技术手段向水生生物寻求药物的探索从此正式拉开序幕, 水生生物尤其是水生动物的药用研究由此获得加速发展<sup>[4]</sup>。海洋活性物质尤其是生物活性肽类物质的功能各异, 种类众多, 作用机制也相当复杂。因此, 作者就水生动物来源的生物活性肽抗肿瘤活性机理加以综述, 为利用这些机理寻找更多的抗肿瘤活性肽类物质提供参考, 也为发现更多的抗肿瘤新靶点提供思路和启示。

## 1 直接作用于肿瘤细胞的抗肿瘤机理

## 1.1 细胞毒作用

## 1.1.1 抑制 DNA 和蛋白质合成

细胞周期的程序调控主要由各种细胞周期蛋白(cyclins)、细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)等调控因子共同完成, 能抑制相关酶活性或基因表达的药物均能阻断细胞周期, 发挥抗肿瘤作用<sup>[5]</sup>。DNA 干扰剂是一类以 DNA 为靶点的抗肿瘤药物, 通过与 DNA 结合形成 DNA 加合物(adducts), 导致 DNA 链间、链内或分子间的交联, 随后发生 DNA 单链断裂、DNA 双链断裂或者 DNA 与蛋白质交联, 最终导致肿瘤细胞死亡<sup>[6]</sup>。Urdiales 等<sup>[7]</sup>从加勒比海海鞘(*Trididemnum* sp.)中分离得到 5 种具有抗肿瘤活性的环酯肽 didemnins 系列, 其中环七肽 didemnin B(图 1a)既能抑制蛋白质的合成, 也能抑制 DNA 和 RNA

收稿日期: 2014-07-03; 修回日期: 2014-09-02

基金项目: 安徽省 115 产业创新团队计划资助项目(2012d5t146)

作者简介: 张永进(1988-), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事水产品加工及贮藏方面的研究, E-mail: a471456292@126.com; 陆剑锋, 通信作者, 教授, E-mail: lujf@sibs.ac.cn

的合成。研究 didemnin B 对黑色素瘤细胞株 B16 细胞周期作用表明, 它可杀伤各期细胞, 尤以 G<sub>1</sub> 至 S 期细胞敏感。此外, didemnin B 对淋巴瘤细胞株 L1210 的 IC<sub>50</sub> 值为 1×10<sup>-3</sup> μg/mL, 对白血病细胞株 P388 的 IC<sub>50</sub> 值为 7.5×10<sup>-4</sup> μg/mL<sup>[8]</sup>。Aplidine(APLD) (图 1b)是从地中海地区采集的海鞘(*Aplidin abbian*)中分离得到的一种蛋白质合成抑制剂, 是 didemnins B 的一个羟基氧化成羰基所得的化合物, 抗肿瘤活性较 didemnins 更强<sup>[9]</sup>。泥蚶(*Arca granosa*)多肽在 (0.25~1.0)g/L 内, 对人肺癌细胞株 A549 和人肾癌细胞株 Ketr-3 的增殖以及细胞蛋白质合成具有明显的抑制作用, 对 A549 和 Ketr-3 的周期阻滞分别为 G<sub>2</sub>-M 期和 G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 期; 泥蚶多肽在(100~400)mg/kg 内, 对小鼠 S180 和 H22 肉瘤的抑瘤率分别达到 29.35%~55.43%和 26.87%~44.12%, 明显延长艾氏腹水瘤小鼠的生存时间<sup>[10]</sup>。

### 1.1.2 作用于微管蛋白

微管(microtubule)是由 α、β 两种微管蛋白异二聚体聚合而成的管状聚合物, 是真核细胞骨架的重

要组成部分。微管参与许多细胞功能, 包括维持细胞形态, 胞内物质的运输, 细胞器的定位, 鞭毛和纤毛的运动, 染色体运动和细胞分裂等。无论是促进还是抑制微管蛋白聚合, 都能影响有丝分裂过程, 使细胞生长受到抑制<sup>[11]</sup>。Edler 等<sup>[12]</sup>从两种海鞘(*Didemnum cuculiferuin* 和 *Polysyncranton lithostrotum*)中发现了同一种含有 13 个氨基酸的双环肽 vitilevuamide(图 2a)。Vitilevuamide 对人肿瘤细胞有细胞毒作用, LC<sub>50</sub>(半数致死浓度或称半数致死剂量)值为 (6~31)mmol/L, 其微管蛋白聚合抑制剂的细胞筛选实验结果呈阳性, 剂量为 5.6 mmol/L 的作用效果与 62.5 mmol/L 秋水仙碱效果相当; 同时其体内实验结果表明, 当 vitilevuamide 剂量为 30 mg/kg 时, 对小鼠白血病生命延长率可达 70%。另外, 还有学者从截尾海兔中分离到一种有效的抗有丝分裂剂 dolastatin-10(图 2b), 同样能够抑制微管的形成和聚集; 它与微管蛋白的结合位点靠近抗肿瘤药物长春碱与微管蛋白的结合位点, 可使停滞在有丝分裂期的细胞大量聚集, 从而抑制细胞生长<sup>[13]</sup>。

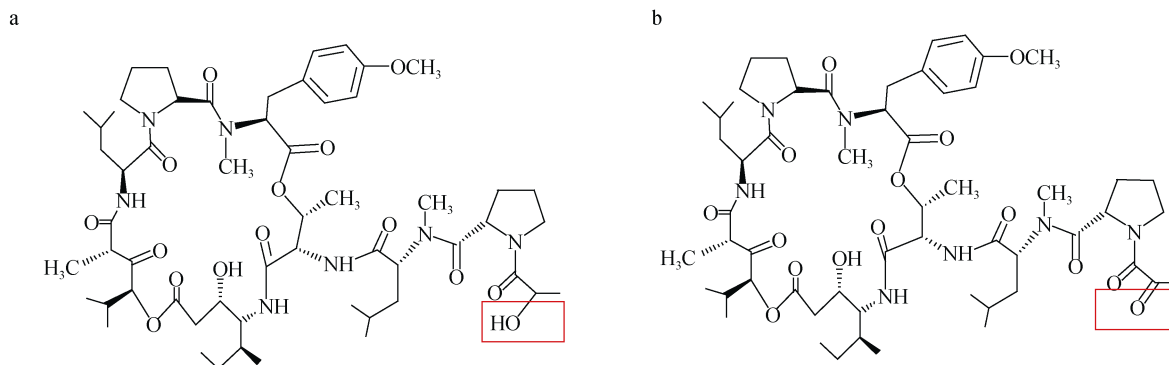


图 1 didemnin B(a)和 aplidine(b)的分子结构式

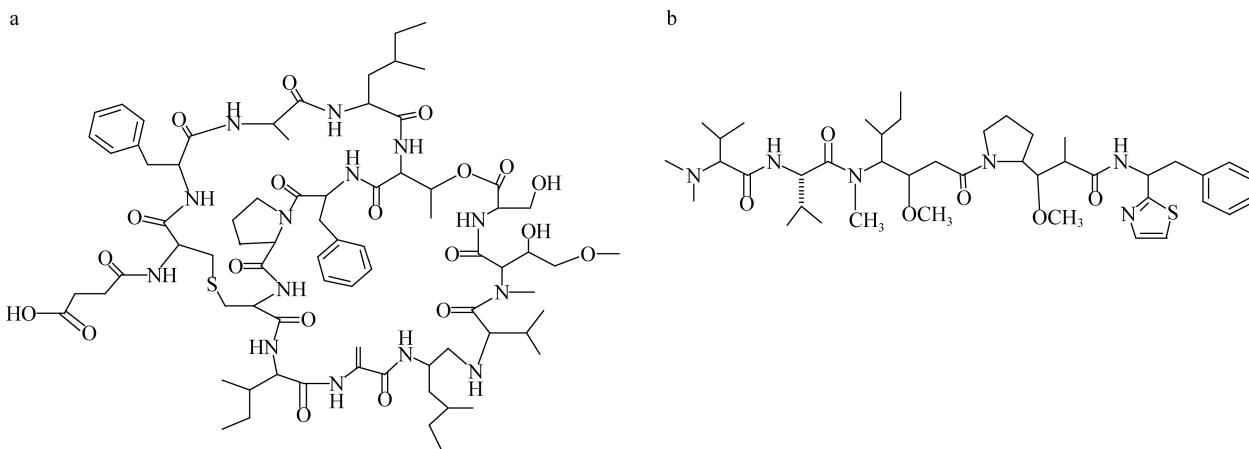


图 2 vitilevuamide(a)和 dolastatin-10(b)的分子结构式

### 1.1.3 诱导肿瘤细胞胀亡

胀亡主要表现出细胞受损后的体积扩大,膜通透性增加,DNA裂解为非特异片段,最后细胞溶解和胞质泄漏等特征<sup>[14]</sup>。光镜下观察胀亡早期的细胞,可见胞浆疏松化并且有空泡形成,膜泡中主要是液体,很少含有细胞器,这些与凋亡早期的细胞皱缩、胞浆浓缩及出芽改变等特点有较大区别;电镜下观察发现,胀亡细胞的胞膜上微绒毛消失,完整性被破坏,早期即出现孔道,接着胞膜崩解,细胞内容物外溢并出现组织炎症反应,而凋亡晚期的胞膜皱缩内陷、分割包裹、形成凋亡小体,周围并不出现炎症反应<sup>[15]</sup>。

线粒体损伤、细胞膜破坏和钙稳态失衡都可能引起细胞胀亡<sup>[14]</sup>。Lin等<sup>[16]</sup>用一种从石斑鱼(*Epinephelus coioides*)中分离的抗菌肽作用于人纤维肉瘤 HT1080 细胞和巨噬细胞 RAW264.7, 2 h 后 HT1080 癌细胞出现裂解,内容物质外泄并最终死亡,而同样处理的巨噬细胞则相对不敏感,仅出现局部肿胀现象。类似地, Tan 等<sup>[17]</sup>从海绵(*Discodermia kiiensis*)中得到了系列活性脂肽 lipodiscamides A-C, 此类提取物对白血病细胞株 P388 和宫颈癌细胞株 HeLa 有稳定的抑制效果。Kahalalide F(图 3)是一种来自水生动物的多肽抗肿瘤临床药物,对人前列腺和乳腺癌细胞显示出很强的细胞敏感性,而对正常人体细胞的敏感性则降低 5~40 倍;经 kahalalide F 处理后的细胞在激光共聚焦显微镜和电镜下均可发现典型的细胞胀亡特征,包括细胞质肿胀并液泡化,内质网囊肿,线粒体损伤和质膜破裂等<sup>[18]</sup>。

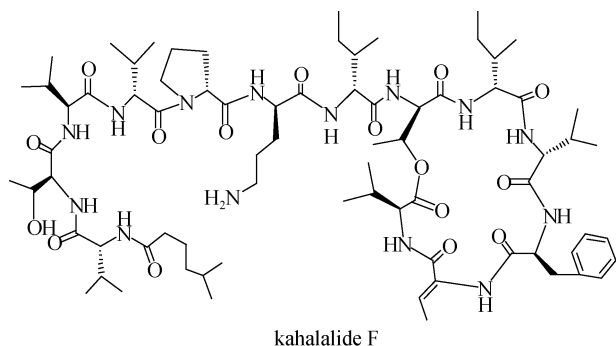


图 3 kahalalide F 的分子结构式

### 1.1.4 抑制拓扑酶或端粒酶

目前肿瘤治疗中,DNA 拓扑酶已成为某些抗肿瘤药的作用靶点。拓扑酶可以调控 DNA 的空间结构,在复制、转录以及基因重组的过程中,是保持基因构

型完整性必不可少的。而拓扑酶抑制剂正是基于通过干扰拓扑酶的作用,引起 DNA 单链或双链断裂,最终诱导细胞凋亡<sup>[19-20]</sup>。拓扑酶抑制剂诱导细胞凋亡或死亡的机制主要包括促进拓扑酶介导的 DNA 断裂和阻断基因的转录<sup>[21-22]</sup>。

端粒酶(telomerase)是由 RNA 和蛋白质组成的一种核糖核蛋白复合物,90%的肿瘤组织中端粒酶活性表达呈阳性,而正常组织中端粒酶活性表达呈阴性,可见组织器官中端粒酶的活性表达与肿瘤的发生存在密切的相关性<sup>[23]</sup>。端粒酶具有逆转录酶活性,能以自身 RNA 亚单位为模板合成端粒 DNA,维持细胞染色体端的活性,使细胞能够无限增殖。通过抑制端粒酶活性而治疗恶性肿瘤尚存在较大困难,原因主要是由于端粒酶在干细胞和生殖细胞中也呈阳性表达。以端粒酶为靶点治疗恶性肿瘤成功的关键是找到一种既可特异性地抑制端粒酶活性,又不损伤正常细胞的端粒酶抑制剂<sup>[24]</sup>。细胞毒类活性肽一般都有极强的细胞杀伤能力,但这些活性肽的作用靶点往往不具有选择性,即在干扰肿瘤细胞增殖、代谢的同时,也会损伤正常细胞,导致患者出现严重的化疗副作用,如骨髓抑制、免疫抑制等,因此,如何提高其特异性和靶向性,值得进一步研究<sup>[25-26]</sup>。

## 1.2 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡主要有两条途径,即死亡受体途径和线粒体途径<sup>[27-28]</sup>。死亡受体途径是由胞外肿瘤坏死因子(TNF)超家族的死亡配体(如 TNF $\alpha$ 、FasL/CD95L、TWEAK 和 TRAIL)引发,死亡配体与对应的细胞表面受体(分别对应 TNFR、Fas/CD95、DR3、DR4/DR5)结合,使受体三聚化并激活<sup>[29]</sup>。激活的受体通过死亡域(death domain)募集衔接蛋白(如 TRADD、FADD),衔接蛋白通过死亡效应域(death effect domain)与 procaspase-8 形成复合物,称为死亡诱导信号复合物(death-inducing signaling complex, DISC)<sup>[30]</sup>。Procaspase-8 具有弱的催化活性,可发生自我剪接并活化,活化产生的 caspase-8 释放到胞质中启动 caspase 级联反应,导致细胞凋亡<sup>[31]</sup>。激活的 caspase-8 能使胞质中的促凋亡蛋白 Bid 断裂成 tBid 转移到线粒体上,诱导细胞色素 C 从线粒体释放进入胞质,从而把死亡受体途径和线粒体途径联系起来,扩大了凋亡信号<sup>[32]</sup>。

线粒体途径中,Bcl-2 蛋白家族在线粒体外膜通道的形成中发挥了关键作用。Bcl-2 蛋白家族分为抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白。抗凋亡蛋白包括 Bcl-2、

Bcl-x1 等, 含 4 个高度保守的 Bcl-2 同源结构域(Bcl-2 homology domain, BH1-4)和一个疏水性 C-末端结构域 HCD, 其 BH1、BH2 和 BH4 是抗凋亡活性所必须, 而 HCD 结构域与蛋白在细胞内的靶向定位有关。促凋亡蛋白又分为两个亚类: 多结构域蛋白和 BH3-only 蛋白<sup>[33]</sup>。多结构域蛋白含有 BH1-3 和 HCD, 包括 Bax、Bak、Bok 等。BH3-only 蛋白仅含有 BH3 结构域, 有或没有 HCD 结构域, 包括 Bid、Bim、Bad 等, 其 BH3 结构域对 Bcl-2 蛋白家族成员之间的相互作用及促凋亡活性极为重要<sup>[34-35]</sup>。乌贼墨寡肽(sepia ink oligopeptide, SIO)是从乌贼(*Sepia esculenta*)墨中得到的三肽, 这种三肽可以显著抑制人前列腺癌细胞株 DU145、PC3 和 LNCaP 增殖。用 SIO 处理 24 h 后, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达量下降, 而凋亡蛋白 Bax 表达量明显上升, 而且 Bax/Bcl-2 的表达比是增大的<sup>[36]</sup>。杨永芳等<sup>[37]</sup>研究了紫贻贝(*Mytilus edulis*)酶解多肽体外抗肿瘤活性, 实验结果表明该肽可以下调肿瘤细胞中 Bcl-2 基因的表达。初步推断紫贻贝酶解多肽可能是通过诱导细胞凋亡来实现抗肿瘤的。Pardaxin 是一种源自石纹豹蛸(*Pardachirus marmoratus*)的线型抗菌肽, Wu 等<sup>[38]</sup>用小鼠纤维肉瘤细胞株 MN11 研究了它的抗肿瘤活性, 细胞培养和软琼脂集落形成实验表明, pardaxin 可以抑制癌细胞株 MN11 的增殖; 透射电镜观察发现, pardaxin 改变了 MN11 细胞膜的结构, 并使之出现典型的凋亡特征, 如线粒体损伤、细胞核皱缩及核膜破裂等; 实时定量 PCR 和酶联免疫实验证明, pardaxin 通过核转录因子(NF- $\kappa$ B)通路诱导了细胞凋亡。

### 1.3 诱导肿瘤细胞分化

肿瘤细胞是正常细胞分化失控的细胞, 肿瘤细胞与正常细胞最本质的区别是基因组发生不同形式的突变<sup>[39]</sup>。慢性粒细胞性白血病(CML)病人的 9 号与 22 号染色体易位形成 bcr/abl 融合基因, bcr/abl 编码的新蛋白质 P210 含有极高酪氨酸蛋白激酶活性, 使周围蛋白质的磷酸化程度增强, 导致细胞增殖<sup>[40]</sup>。白血病细胞株 K562 源于 CML 患者, 有研究证明 K562 细胞经诱导分化后, bcr/abl 转录产物显著下降, P210 蛋白质水平降低, 纠正了细胞增殖的混乱程度, 趋向分化<sup>[41]</sup>。

抑癌基因可以诱导细胞分化, 如 PTEN 基因定位在人类 10 号染色体长臂 2 区 3 带第 3 亚带 (10q23.3), 不仅能诱导细胞周期抑制, 而且在细胞

黏附和细胞迁移、分化、衰老和凋亡等各种生理活动中发挥重要作用。它同时表现出抑癌基因的特性和磷酸酶活性, 通过磷酸化与去磷酸化的动态变化, 介导肿瘤细胞 G<sub>1</sub> 期阻滞, 抑制瘤细胞侵袭, 促进细胞分化<sup>[42-43]</sup>。张海涛等<sup>[44]</sup>从产自北部湾的中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)血液中分离到一种小分子多肽, 研究发现该多肽相对分子质量小于 14 400 Da, 其氮端 15 个氨基酸残基为: N-P-L-I-R-A-I-Y-I-G-A-T-V-G-P, 质量浓度为 120 mg/L 时, 可明显抑制白血病细胞株 HL60、K562 和人肺癌细胞株 SPCA1 等细胞的生长。李祺福等<sup>[45]</sup>发现鲎血小分子肽能有效改变肝癌细胞恶性形态和超微结构特征, 改变肝癌细胞相关酶活性和抗原表达, 对肝癌细胞具有一定的诱导分化作用。

恶性肿瘤细胞在形态、功能等方面都类似于未分化的胚胎细胞, 分化诱导剂可使肿瘤细胞向正常成熟方向逆转, 一般不直接杀伤肿瘤细胞。所以诱导肿瘤细胞分化的基本特点在于不是杀伤肿瘤细胞, 而是诱导肿瘤细胞分化为正常细胞或接近正常细胞甚至成为对抗肿瘤的细胞。Bernay 等<sup>[46]</sup>从长牡蛎(*Crasostrea gigas*)匀浆液中分离得到具有抗肿瘤作用的低分子牡蛎活性肽 BPO-1。实验表明, BPO-1 可以明显抑制胃腺癌和肺腺癌细胞的增殖, 使癌细胞形态发生改变, 失去原有的恶性表型。

### 1.4 逆转肿瘤细胞多药耐药性

多重耐药性是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物耐药的同时, 对其他结构和机制不同的药物也产生耐药性。其形成机制主要有 3 种<sup>[47]</sup>: (1)细胞膜 P-糖蛋白(permeability-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated protein, MRP)和胞浆中的肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)过度表达形成药物外输泵, 使抗癌药物在肿瘤细胞内蓄积下降; (2)谷胱甘肽-S-转移酶(GST)单独或与谷胱甘肽(GSH)一起参与多种细胞毒素代谢及解毒过程, 其过度表达不仅可以催化亲电性烷化剂与谷胱甘肽结合, 使其更有极性而加强外排, 还可直接与亲电物质结合, 消除自由基或过氧化物, 保护肿瘤细胞; (3)许多化疗药物是细胞凋亡的诱导剂, 当与细胞凋亡相关的因子及基因(如 p53、NF- $\kappa$ B 等)异常时也能引起肿瘤细胞多药耐药。如前所述, 肽类物质 aplidine(APLD)是一种蛋白合成抑制剂, Tognon 等<sup>[48]</sup>发现 APLD 还可通过控制多药转运蛋白 P-gp 表达,

逆转人卵巢癌细胞的耐药性。

## 1.5 诱导肿瘤细胞自噬

近年来研究发现,一些活性多肽可以通过诱导肿瘤细胞自噬的方式将癌细胞清除或抑制其进一步扩散<sup>[49]</sup>。但目前尚未从水生动物体内获取此类生物活性肽。

## 2 间接作用于肿瘤细胞的抗肿瘤机理

### 2.1 调节机体免疫功能

现代免疫学研究表明,生物活性肽可通过激活免疫细胞如NK细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等提高机体免疫力,或改变机体对肿瘤细胞的生长学效应而产生细胞或体液介导的抗肿瘤免疫,并且对机体无任何不良反应<sup>[50]</sup>。扇贝多肽是近年来从栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)中提取的一种小分子水溶性肽。杜卫等<sup>[51]</sup>利用RP-HPLC从栉孔扇贝中分离得到4个分子量(800~1000)Da的小分子多肽,并对其进行了药理活性测试。结果表明,扇贝多肽不仅能显著减轻地塞米松(DEX)对免疫细胞的抑制作用,还可以增强免疫细胞活性。吴萍茹<sup>[52]</sup>从二色桌片参(*Mensamaria intercedens*)的体中分离纯化得到二色桌片参糖蛋白GPMI-I及其部分酶解产物GPMI-II。实验表明GPMI-I在30 mg/kg及120 mg/kg剂量下可显著降低BALB/c荷瘤小鼠的肝指数(liver index)。同时随着其剂量增加,抑瘤作用也随之增强。而经蛋白酶水解后得到的糖蛋白GPMI-II在剂量20 mg/kg时对小鼠肉瘤S180有较显著的抑制作用,抑瘤率达48.8%,在40 mg/kg剂量下能够显著地降低荷瘤小鼠肝指数。Ding等<sup>[53]</sup>研究栉孔扇贝多肽对<sup>60</sup>Co辐射小鼠的保护作用,发现扇贝多肽能提高受试小鼠组织匀浆中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶的活性,降低组织中活性氧和丙二醛的含量,同时提高机体总抗辐射和氧化损伤能力,防止放射辐射所致的基因突变或癌变。

### 2.2 抑制肿瘤血管生长

1971年,Folkman等<sup>[54]</sup>提出肿瘤生长依赖于血管的学说,后来根据肿瘤血管的生长和分布状况,将肿瘤的生长分为血管前期和血管期。在血管前期肿瘤细胞处于休眠状态,肿瘤生长得到明显抑制;而在血管期,肿瘤的新生血管生长活跃,依靠丰富毛细血管网提供活跃代谢环境,肿瘤得以快速生长和转移。实体瘤的生长、发展和转移与肿瘤血管生

成有密切关系,超过(1~2)mm<sup>3</sup>没有血管生成,肿瘤细胞则表现为不能生长。因此抑制肿瘤微血管生成可有效阻止肿瘤的发展。李龙江等<sup>[55]</sup>发现,鱼精蛋白可明显降低肿瘤内血管密度,具有抗肿瘤作用。体外实验研究发现,鱼精蛋白能明显抑制鸡胚绒毛膜膜上的血管生成。给移植瘤动物皮下注射鱼精蛋白,肿瘤生长明显受到抑制。罗红宇等<sup>[56]</sup>从赤魮(*Dasyatis akajei*)软骨中获得高纯度的血管生成抑制因子DCAIF-I对鸡胚绒毛尿囊膜新生血管生成具有明显的抑制效果,并具有一定的量效关系,SDS-PAGE检测可知其分子量为62 kDa。

机体癌变组织常处于低氧状态。此时,组织中低氧诱导因子 $\alpha$ 亚基(HIF-1 $\alpha$ )对血管形成会发挥有效的调节作用,HIF-1 $\alpha$ 的活性受到抑制时,肿瘤组织中血管生成也会受到抑制。另外,HIF-1 $\alpha$ 还参与了肿瘤发生发展的其他一些环节<sup>[57-60]</sup>。

### 2.3 抑制肿瘤细胞转移浸润

肿瘤转移是癌症难以治愈的主要原因,也是恶性肿瘤的基本特征。肿瘤转移过程包括从肿瘤原发灶脱离,进入周围基质,进入血液循环或淋巴系统,黏附在血管内皮细胞(vascular endothelial cell,VEC)并向血管外及远处迁移浸润<sup>[61]</sup>。肿瘤细胞侵袭力很大程度上依赖于所处的微环境,细胞外基质和基底膜的降解是肿瘤转移过程中的重要环节,这些组织结构的破坏和降解需要相应的溶酶参与,这个庞大的蛋白溶酶家族统一被称为基质金属蛋白酶(matrix metallo proteinases,MMPS)<sup>[62]</sup>。肿瘤细胞在胞外基质中的转移有两种明显不同的途径,分别是间充质转移(mesenchymal migration,MM)和变形转移(amoeboid migration,AM)<sup>[63]</sup>。间充质转移是通过金属蛋白激酶(MMPs)和丝氨酸蛋白酶(SP)不断降解胞外基质形成一条肿瘤细胞转移通路;变形转移是肿瘤细胞主动改变自己的形状,在胞外基质已有的狭小空隙中扩散,而不发生胞外基质的催化降解。体外实验证明,通常肿瘤细胞转移方式为MM,当肿瘤组织微环境发生改变,如基质降解酶活性被药物抑制,肿瘤细胞转移方式会由MM转变为AM(mesenchymal to amoeboid transition,MAT)<sup>[64]</sup>。2005年,Williams等<sup>[65]</sup>从新几内亚海域的海绵(*Neopetrosia* sp.)中获得三环肽类neopetrosiamides(图4),在人结肠癌细胞LS174T(该细胞仅有变形转移)的侵袭实验中发现,neopetrosiamides质量浓度为

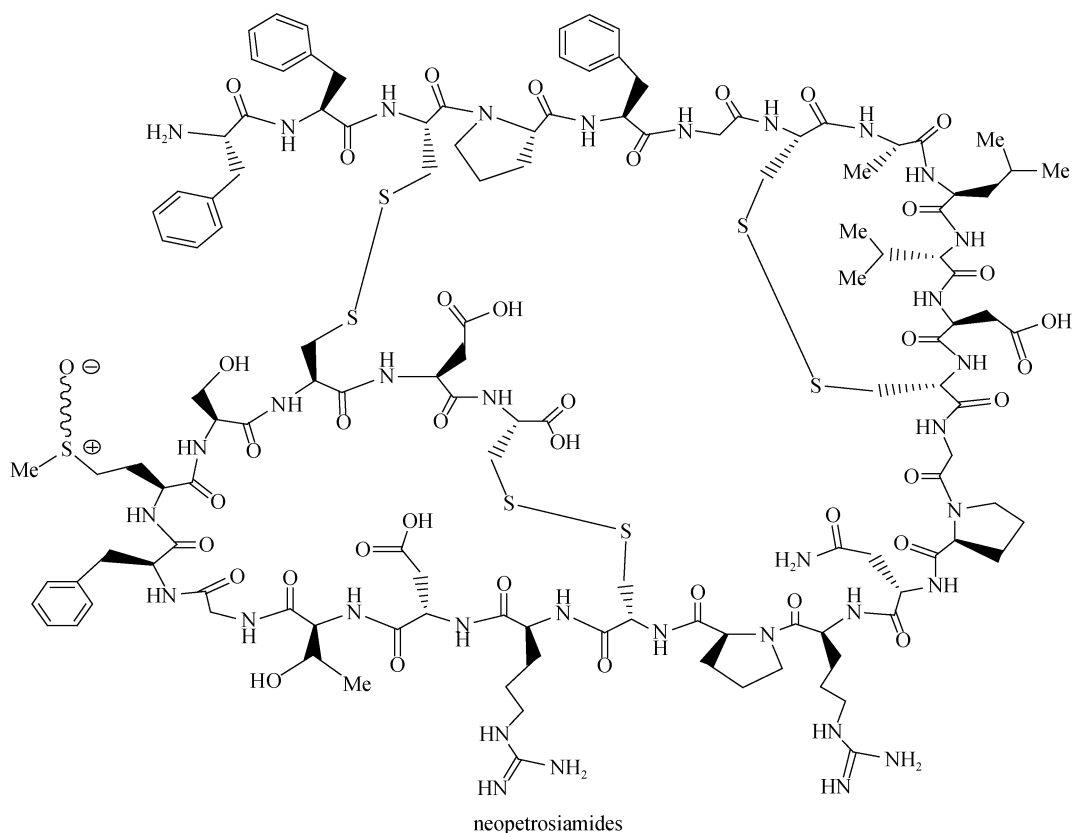


图4 neopetrosiamides 的分子结构式

6  $\mu\text{g/mL}$  可有效抑制肿瘤细胞变形转移。如果用 neopetrosiamides 来控制 MAT 细胞, 有望彻底阻断肿瘤细胞侵袭途径。

### 3 结论与展望

经过世界各国学者几十年的研究探索之后, 活性肽(尤其是海洋生物活性肽)巨大的药用、食用及保健作用已经得到较好的发掘利用。然而, 生物活性肽的开发也面临着一些难题: 一些水生动物抗肿瘤活性肽具有特殊的结构, 如含有多种修饰基团、D 型氨基酸、封闭的 N 末端等, 给活性分析带来一定困难<sup>[66]</sup>; 一些活性肽在具有明确的抗肿瘤活性同时, 也存在一定的毒副作用, 难以在临床上直接使用; 还有些活性肽难以大量提取纯化, 面临药源不足问题。针对这些难题, 一方面可以利用蛋白质工程技术, 对多肽分子进行合理改造, 选择性地增强其药效, 降低毒副作用。另一方面运用基因工程方法进行大规模生产, 解决药源问题。而对于众多的小分子肽, 则可以采用构建融合蛋白的方法, 在既稳定其构象又不影响其活性的同时大量获取基因重组产品。此外, 可以结合噬

菌体展示技术, 对结构各异、数量众多的小分子肽实现高通量特异性高效筛选。近年来, 随着有机合成技术的进步, 越来越多的海洋活性肽可以运用半合成、全合成等方法人工合成, 并且保持其真实结构和活性作用。

就抗肿瘤应用方面, 生物活性肽已初步显示出了其重要的价值。但在抗癌活性肽的筛选过程中, 人们往往把更多的目光投向海洋生物<sup>[67]</sup>, 淡水动物的药用开发价值却被严重忽视。如游丽君等<sup>[68]</sup>用可控酶解技术分离纯化出泥鳅(*Oriental weatherfish*)蛋白中的抗氧化肽, 同时发现其还有一定的抗疲劳和抗肿瘤功效。此外, 除了具有明确的抗癌抑瘤作用外, 很多淡水动物活性肽表现出良好的抗氧化活性, 间接提示其潜在的抗肿瘤活性<sup>[69]</sup>。如王艳梅等<sup>[70]</sup>发现黄缘盒龟(*Cistoclemmys flavomarginata*)肌肉酶解所得的小分子肽具有很强的抗氧化能力, 对羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH 自由基和过氧化氢均有较好的清除作用, 而且还具一定的还原能力、亚铁离子螯合能力和亚油酸自氧化抑制能力, 其抗肿瘤活性也特别值得进一步发掘。由此可见, 淡水动物同样有巨大的药用开发价值。

参考文献:

- [1] Petit K, Biard J F. Marine natural products and related compounds as anticancer agents: an overview of their clinical status [J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(4): 603-631.
- [2] 易杨华, 李玲, 林厚文, 等. 我国南海总合草苔虫和海绵中新的抗肿瘤活性成分的研究[J]. *第二军医大学学报*, 2002, 23(3): 236-239.
- [3] Suenaga K, Mutou T, Shibata T, et al. Aurilide, a cytotoxic depsipeptide from the sea hare *Dolabella auricularia*: isolation, structure determination, synthesis, and biological activity[J]. *Tetrahedron*, 2004, 60(38): 8509-8527.
- [4] Newman D J, Cragg G M, Snader K M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002[J]. *Journal of Natural Products*, 2003, 66(7): 1022-1037.
- [5] Kastan M B, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer[J]. *Nature*, 2004, 432(7015): 316-323.
- [6] Hurley L H. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2(3): 188-200.
- [7] Urdials J L, Morata P, De Castro I N, et al. Antiproliferative effect of dehydrididemnin B (DDB), a depsipeptide isolated from *Mediterranean tunicates* [J]. *Cancer Letters*, 1996, 102(1): 31-37.
- [8] Schwartzmann G, Da Rocha A B, Berlinck R G S, et al. Marine organisms as a source of new anticancer agents[J]. *The Lancet Oncology*, 2001, 2(4): 221-225.
- [9] Mayer A, Gustafson K R. Marine pharmacology in 2005-2006: Antitumour and cytotoxic compounds[J]. *European Journal of Cancer*, 2008, 44(16): 2357-2387.
- [10] 姚如永, 初晓, 陈守国, 等. 海洋泥蚶多肽抗肿瘤作用的实验研究[J]. *中国药理学杂志*, 2006, 41(11): 868-870.
- [11] Pellegrini F, Budman D R. Review: tubulin function, action of antitubulin drugs, and new drug development [J]. *Cancer Investigation*, 2005, 23(3): 264-273.
- [12] Edler M C, Fernandez A M, Lasstoa P, et al. Inhibition of tubulin polymerization by vitilevuamide, a bicyclic marine peptide, at a site distinct from colchicine, the vinca alkaloids, and dolastatin 10[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2002, 63(4): 707-715.
- [13] 曹王丽, 宋佳希, 李芳秋. 海洋生物抗肿瘤多肽海兔毒素-10 及其衍生物的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2011, 24(11): 1208-1211.
- [14] Van Cruchten S, Van Den Broeck W. Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis[J]. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2002, 31(4): 214-223.
- [15] Waters J P, Pober J S, Bradley J R. Tumour necrosis factor and cancer[J]. *The Journal of Pathology*, 2013, 230(3): 241-248.
- [16] Lin W J, Chien Y L, Pan C Y, et al. Epinecidin-1, an antimicrobial peptide from fish (*Epinephelus coioides*) which has an antitumor effect like lytic peptides in human fibrosarcoma cells[J]. *Peptides*, 2009, 30(2): 283-290.
- [17] Tan K C, Wakim Oto T, Abe I. Lipodiscamides AC, new cytotoxic lipopeptides from *Discodermia kiiensis*[J]. *Organic Letters*, 2014, 16, 3256-3259.
- [18] Suarze Y, Gonzalez L, Cuadrado A, et al. Kahalalide F, a new marine-derived compound, induces oncosis in human prostate and breast cancer cells[J]. *Molecular Cancer Therapy*, 2003, 2(9): 863-872.
- [19] Champoux J J. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2001, 70(1): 369-413.
- [20] Denny W A, Baguley B C. Dual topoisomerase I/II inhibitors in cancer therapy[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2003, 3(3): 339-353.
- [21] Pommier Y. DNA topoisomerase I inhibitors: chemistry, biology, and interfacial inhibition[J]. *Chemical Reviews*, 2009, 109(7): 2894-2902.
- [22] Nitiss J L. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2009, 9(5): 338-350.
- [23] Frumento G, Piazza T, Di Carlo E, et al. Targeting tumor-related immunosuppression for cancer immunotherapy [J]. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 2006, 6(3): 223-237.
- [24] Serrano D, Bleau A M, Fernandez-Garcia I, et al. Inhibition of telomerase activity preferentially targets

- aldehyde dehydrogenase-positive cancer stem-like cells in lung cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2011, 10(1): 1-15.
- [25] Elting L S, Cooksley C, Chambers M, et al. The burdens of cancer therapy[J]. *Cancer*, 2003, 98(7): 1531-1539.
- [26] Shay J W, Zou Y, Hiyama E, et al. Telomerase and cancer[J]. *Human Molecular Genetics*, 2001, 10(7): 677-685.
- [27] Thouburn A. Death receptor-induced cell killing[J]. *Cellular Signalling*, 2004, 16(2): 139-144.
- [28] Zheng L, Lin X, Wu N, et al. Targeting cellular apoptotic pathway with peptides from marine organisms[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 2013, 1836(1): 42-48.
- [29] Lavrik I, Golks A, Krammer P H. Death receptor signaling[J]. *Journal of Cell Science*, 2005, 118(2): 265-267.
- [30] Wang L, Yang J K, Kabaleeswaran V, et al. The Fas-FADD death domain complex structure reveals the basis of DISC assembly and disease mutations[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2010, 17(11): 1324-1329.
- [31] Zhao Y, Sui X, Ren H. From procaspase-8 to caspase-8: Revisiting structural functions of caspase-8[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2010, 225(2): 316-320.
- [32] Johnstone R W, Ruefli A A, Lowe S W. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy[J]. *Cell*, 2002, 108(2): 153-164.
- [33] Martinou J C, Youle R J. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics[J]. *Developmental Cell*, 2011, 21(1): 92-101.
- [34] Debatin K M. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2004, 53(3): 153-159.
- [35] Kang M H, Reynolds C P. Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy[J]. *Clinical Cancer Research*, 2009, 15(4): 1126-1132.
- [36] Huang F, Yang Z, Yu D, et al. Sepia ink oligopeptide induces apoptosis in prostate cancer cell lines via Caspase-3 activation and elevation of Bax/Bcl-2 ratio[J]. *Marine Drugs*, 2012, 10(10): 2153-2165.
- [37] 杨永芳, 丁国芳, 杨最素, 等. 紫贻贝酶解多肽体外抗肿瘤活性研究[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2011, 30(2): 113-118.
- [38] Wu S P, Huang T C, Lin C C, et al. Pardaxin, a fish antimicrobial peptide, exhibits antitumor activity toward murine fibrosarcoma *in vitro* and *in vivo*[J]. *Marine Drugs*, 2012, 10(8): 1852-1872.
- [39] Thomas R K, Baker A C, Debiast R M, et al. High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(3): 347-351.
- [40] Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia[J]. *The Lancet*, 2007, 370(9584): 342-350.
- [41] Druker B J, Talpaz M, Resta D J, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia[J]. *New England Journal of Medicine*, 2001, 344(14): 1031-1037.
- [42] Zheng H C, Li Y L, Sun J, et al. Growth, invasion, metastasis, differentiation, angiogenesis and apoptosis of gastric cancer regulated by expression of PTEN encoding products[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2003, 9(8): 1662-1666.
- [43] Tian S Z, Jiang X Q, Chi H C, et al. Expression of p73 and PTEN in laryngeal squamous cell carcinoma and their clinical significance[J]. *Cancer*, 2004, 23(1): 90-94.
- [44] 张海涛, 张海风, 祝其锋, 等. 鲎血细胞多肽诱导 HL-60 细胞凋亡时线粒体膜电位的变化[J]. *中国癌症杂志*, 2002, 12(2): 123-126.
- [45] 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[J]. *癌症*, 2002, 21(5): 480-483.
- [46] Bernay B, Baudy-Flock M, Zanuttini B, et al. Ovarian and sperm regulatory peptides regulate ovulation in the oyster *Crasostrea gigas*[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2006, 73(5): 607-616.
- [47] Krishna R, Mayer L D. Multidrug resistance (MDR) in cancer: mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2000, 11(4):



- 265-283.
- [48] Tognon G, Bernasconi S, Celli N, et al. Induction of resistance to Aplidin® in a human ovarian cancer cell line related to MDR expression[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2005, 4(12): 1325-1330.
- [49] Shoji-Kawata S, Sumpter R, Leveno M, et al. Identification of a candidate therapeutic autophagy-inducing peptide[J]. *Nature*, 2013, 494(7436): 201-206.
- [50] Reiche E M V, Nunes S O V, Morimoto H K. Stress, depression, the immune system, and cancer[J]. *The Lancet Oncology*, 2004, 5(10): 617-625.
- [51] 杜卫, 刘晓萍, 梁惠, 等. 扇贝多肽对淋巴细胞的保护作用 and 反相液相色谱分析[J]. *中国海洋药物*, 2000, 19(5): 27-29.
- [52] 吴萍茹, 陈粤. 二色桌片参糖蛋白的分离性质与抗肿瘤活性的研究[J]. *中国海洋药物*, 2000, 19(5): 4-6.
- [53] Ding B X, Wang C B. Inhibitory effect of polypeptide from *Chlamy farreri* on UVB-induced apoptosis and DNA damage in normal human dermal fibroblasts *in vitro*[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2003, 24(10): 1006-1010.
- [54] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. *New England Journal of Medicine*, 1971, 285(21): 1182-1186.
- [55] 李龙江, 温玉明. 血管生成抑制及联合化疗治疗颊黏膜鳞癌的动物实验研究[J]. *临床口腔医学杂志*, 1995, 11(1): 9-12.
- [56] 罗红宇, 余新威, 钱晓. 赤魃软骨血管生成抑制因子的纯化及抗血管生成活性验证[J]. *水产学报*, 2007, 31(6): 813-817.
- [57] Pugh C W, Ratcliffe P J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system[J]. *Nature Medicine*, 2003, 9(6): 677-684.
- [58] Yeo E J, Chun Y S, Park J W. New anticancer strategies targeting HIF-1[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2004, 68(6): 1061-1069.
- [59] Semenza G L. Targeting HIF-1 for cancer therapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3(10): 721-732.
- [60] Liu G, Liu M, Wei J, et al. CS5931, a novel polypeptide in *Ciona savignyi*, represses angiogenesis via inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases (MMPs)[J]. *Marine Drugs*, 2014, 12(3): 1530-1544.
- [61] Freidl P, Gilmour D. Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, 10(7): 445-457.
- [62] Fingleton B. Matrix metalloproteinases: roles in cancer and metastasis[J]. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 2005, 11: 479-491.
- [63] Valastyan S, Weinberg R A. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292.
- [64] Wolf K, Mazo I, Leung H, et al. Compensation mechanism in tumor cell migration mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis[J]. *The Journal of Cell Biology*, 2003, 160(2): 267-277.
- [65] Williams D E, Austin P, Diaz-Marrero A R, et al. Neopetrosiamides, peptides from the marine sponge *Neopetrosia* sp. that inhibit amoeboid invasion by human tumor cells[J]. *Organic Letters*, 2005, 7(19): 4173-4176.
- [66] Korhonen H, Pihlanto A. Bioactive peptides: production and functionality[J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(9): 945-960.
- [67] Lin X, Liu M, Hu C, et al. Targeting cellular proapoptotic molecules for developing anticancer agents from marine sources[J]. *Current Drug Targets*, 2010, 11(6): 708-715.
- [68] 游丽君. 泥鳅蛋白抗氧化肽的分离纯化及抗疲劳, 抗癌功效研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [69] 魏志权, 苟巧, 张伟. 过氧化氢酶与肿瘤的关系[J]. *癌变·畸变·突变*, 2013, 25(1): 79-81.
- [70] 王艳梅, 万全, 陆剑锋, 等. 黄缘盒龟肉的酶解工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. *水产学报*, 2013, 37(4): 622-630.

(本文编辑: 谭雪静)