

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.09.021

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240131.1027.004\(2023-01-30\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240131.1027.004(2023-01-30))

青蒿琥脂纳米脂质体抑制肝癌 VEGF 及其受体作用的研究进展*

赵春霞,王玲玲,魏潇,李思,张雄[△]

(武汉市武昌医院检验科,武汉 430061)

[摘要] 血管内皮生长因子及其受体在肝脏肿瘤生长中发挥着非常重要的调节作用,该文深入探讨了青蒿琥脂纳米脂质体的药理作用,以及青蒿琥酯纳米脂质体抑制肝癌肿瘤血管生成的作用机制、药物抗癌作用的新靶点,以期为肝癌的治疗提供新策略。

[关键词] 肝癌;青蒿琥酯纳米脂质体;血管内皮生长因子;血管内皮生长因子受体;综述

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)09-1397-04

Research progress of artesunate nanoliposomes inhibiting VEGF and its receptor in hepatocellular carcinoma*

ZHAO Chunxia, WANG Lingling, WEI Xiao, LI Si, ZHANG Xiong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Wuhan Wuchang Hospital, Wuhan, Hubei 430061, China)

[Abstract] Vascular endothelial growth factor and its receptor play a very important regulatory role in the growth of liver tumors. In this paper, the pharmacological effects of artesunate nanoliposomes, the mechanism of artesunate nanoliposomes inhibiting tumor angiogenesis of liver cancer and the new targets of anti-cancer effects of drugs were discussed in order to provide new strategies for the treatment of liver cancer.

[Key words] liver cancer; artesunate nanoliposomes; vascular endothelial growth factor; vascular endothelial growth factor receptor; review

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,好发于中年男性^[1]。肝癌细胞在侵袭过程中能促进新生血管形成,并通过血道、淋巴道转移,不断浸润周围组织,从而破坏正常毛细血管的生存环境^[2]。肿瘤局部微环境在各种因素刺激下发生改变,促血管生成因子释放增多,当达到一定条件时,蔓延深入肿瘤组织中的新生血管,和高表达水平的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)互相作用,促使肿瘤不断生长^[3]。

VEGF/VEGFR 是调节细胞侵袭、迁移能力的经典信号通路,在肿瘤的进展过程中发挥着非常重要的调节作用^[4]。已有大量研究证实,青蒿琥酯(artesunate)作为青蒿素的衍生物,通过抑制内皮细胞的增殖和小管形成能力等方式抑制肿瘤血管生成,发挥其抗肿瘤作用^[5]。此外,有研究证明^[6],如果在青蒿琥酯原料药的基础上采用先进的纳米技术,制备青蒿琥酯纳米脂质体,可使原料药靶向性更强,更容易作用到肝癌组织中。因此,青蒿琥酯纳米脂质体被认为具

有潜在的肝脏肿瘤治疗价值。

1 VEGF 与 VEGFR

VEGF 是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子,包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF)^[7],它们在血管系统的形成、功能和维护中发挥着重要的作用。其中,VEGF-A^[8]被证明是调节血管通透性的因子,也是实体瘤生长过程中血管生成的调节因子;VEGF-C^[9]是最先被发现的促淋巴管生成因子,主要是介导淋巴管内皮细胞的趋化性、细胞增殖力和淋巴管的增生。

正常情况下,新生血管生成后 VEGF 的形成通道关闭,但是某些代谢旺盛的器官或肿瘤组织中 VEGF 的表达增高^[10]。VEGFR 主要分 3 种,分别是 VEGFR-1 (FLT)、VEGFR-2 (FLK/KDR) 和 VEGFR-3 (FLT-4)^[11]。VEGF 以自分泌、旁分泌和细胞分泌的特异性方式作用于 VEGFR,共同发挥生物学功能,促进血管内皮细胞的有丝分裂,并增加血管的通透性^[12],同时调节内皮细胞凋亡信号的传导路径及抗调

* 基金项目:湖北省武汉市卫生健康科技基金项目(WX20D21)。

[△] 通信作者, E-mail:15078383089@163.com。

亡过程等。

2 青蒿琥酯纳米脂质体的药理作用

青蒿琥酯过去多用于治疗疟疾,近年来发现青蒿素及其衍生物还具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗炎、抗纤维化,以及治疗心血管疾病、白血病、神经系统疾病、阿尔茨海默病等重要药理作用^[13],其抗肿瘤作用已成为研究热点。但由于青蒿琥酯水溶性小、半衰期短,用于临床治疗时需要频繁给药,患者耐受性差,治疗达不到预期效果,导致其在肿瘤方面的应用较少^[14]。现阶段比较常用的青蒿琥酯药物制剂类型主要包括片剂、栓剂和注射剂,但这些剂型均在生物利用度、循环时间、体内定位分布等方面存在问题而无法应用于临床^[15]。为了改善青蒿琥酯的这些弊端,研究人员尝试将其制备成多种纳米制剂给药系统。

纳米结构脂质载体是一种由磷脂双分子层自主形成的中空球囊结构,其粒径尺寸可在 20~200 nm,能够将脂溶性药物包载到液固混合脂质中,构成新一代的脂质纳米给药系统,是一种极具开发前景的新型纳米药物载体^[16]。纳米结构脂质载体具有多个特点^[17]:(1)改变了药物动力学及释放特征;(2)能控制药物释放速度,防止药物过早被机体吸收代谢;(3)对人体刺激性小,纳米粒更易于被细胞摄取;(4)能靶向传输药物,提高治疗效果,减少治疗剂量,降低药物的不良反应;(5)本身对人体无毒,对免疫机制不产生抑制^[18]。尤其作为抗肿瘤药物的载体,纳米结构脂质载体能使药物有效聚集在肿瘤周围,实现药物的 48 h 持续释放^[19]。

随着科技的进步,脂质体制备工艺有了突破性发展,已从传统单一的工艺发展到多种方法联合使用制备及质量控制^[20]。青蒿琥酯纳米脂质体结合了青蒿琥酯抗肿瘤作用及纳米脂质体优点,其药理作用更具优势。DWIVEDI 等^[21]制备了青蒿琥酯纳米脂质体,经测定包封率为(79±5)% ,该脂质体对人黑素瘤细胞和角质形成细胞有很好的抑制效果,但药物本身的细胞毒性微乎其微。为实现药物的定点靶向释放^[22],研究人员根据肿瘤微环境特点设计了具有 pH 响应性的脂质纳米制剂:药物在中性 pH 环境中不释放,但是在肿瘤酸性 pH 条件下脱离脂质体有效释放,这提示了脂质纳米载体负载青蒿琥酯在癌症化疗中的可行性。

3 青蒿琥酯纳米脂质体抑制肝癌 VEGF 的作用机制

青蒿素类药物抑制血管生成的机制包括下调多种生长因子、诱导血管内皮细胞凋亡、上调血管生成抑制剂、降低 VEGF 受体水平^[23]。青蒿琥酯由于添加了半琥珀酸组,在所有青蒿素衍生物中,具有最佳的水溶性和生物利用度,以及优异的抗血管生成效果^[24]。血管生成受多种机制调控,抑制血管生成已成

为胰腺癌、乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌等的有效治疗策略^[25]。SNEH 等^[23]使用 2-二甲基哌嗪盐酸盐诱发结直肠癌大鼠模型,发现青蒿琥酯能通过下调 Wnt/ β -catenin 途径和诱导细胞凋亡,抑制模型鼠的血管生成,发挥抗肿瘤作用。在人脐静脉内皮细胞系中,青蒿琥酯通过下调 VEGFR 水平抑制血管生成,对淋巴管内皮细胞和 Lewis 肺癌细胞也有类似的调控作用^[26]。研究人员还注意到,青蒿琥酯对眼部疾病具有保护作用,尤其是眼新生血管性疾病方面。CHENG 等^[27]用青蒿琥酯治疗患有角膜碱烧伤的大鼠,通过测量大鼠角膜血管系统的长度和面积来评估角膜新生血管形成,发现青蒿琥酯可以通过诱导动物模型中活性氧依赖的细胞凋亡来抑制角膜新生血管。进一步研究结果显示,青蒿琥酯可以通过血管内皮细胞铁/活性氧依赖性 p38MAPK-线粒体途径特异性诱导细胞凋亡,抑制血管生成。另外,治疗视网膜新生血管方面,YAO 等^[28]发现在青蒿琥酯的作用下,通过下调 VEGFR2 和血小板衍生生长因子受体的表达,可以抑制视网膜新生血管生长。

在正常肝脏组织中,VEGF 及 VEGFR 呈稳定的低水平表达,在早期肝癌中 VEGF 及 VEGFR 水平也没有明显差异,但当肝脏肿瘤发展到 III、IV 期时,血清中 VEGF 及 VEGFR 水平明显升高^[29]。马薇等^[30]在研究肝癌组织中肝癌衍生生长因子(hepatoma-derived growth factor,HDGF)、VEGF 的表达及与肿瘤组织微血管密度、患者远期预后的关系时发现,癌组织中的 HDGF 蛋白、VEGF 蛋白表达阳性率均明显高于癌旁组织,其表达与肿瘤大小、中国肝癌分期、淋巴结转移、血管侵犯和门静脉侵袭等临床病理特征有关,能反映患者病情程度及预后情况。

目前,抗血管生成治疗和免疫治疗是临床上多数肿瘤治疗的一线策略,具有明显疗效。有研究表明^[31],抗血管生成药物可以使肿瘤血管生长正常化,使促血管生长因子和抑血管生长因子达到平衡,阻止肿瘤快速向周围转移。使用 VEGF 靶向药物联合其他方法来治疗进展期肿瘤,可以提高患者的总体生存率^[32],例如采用贝伐珠单抗治疗转移性结直肠癌,可提高手术患者的生存率。原发性肝癌细胞及动物模型肝癌组织中,VEGF 及 VEGFR2 在 mRNA 水平及蛋白水平均有过量表达,青蒿琥酯纳米脂质体组与青蒿琥酯原料药组的 VEGF 及 VEGFR2 mRNA 和蛋白表达均减少,且青蒿琥酯纳米脂质体组表达水平低于青蒿琥酯原料药组,表明青蒿琥酯纳米脂质的抗肝癌血管生成效果明显^[33]。青蒿琥酯纳米脂质的体外抗肿瘤活性实验中^[34],维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯修饰青蒿琥酯纳米脂质体组的药物对细胞的渗透性有所增强,药物可以大量被癌细胞摄取,从而提高对

肿瘤细胞的杀伤力。青蒿琥酯在抗肿瘤血管生成方面有其独特的优势,且与传统化疗药不存在交叉耐药,因此,青蒿琥酯纳米脂质体在抗肿瘤方面的开发及应用受到越来越多的重视。

4 小结与展望

肝癌的药物治疗过程中,肿瘤细胞在化疗药的反复刺激下会产生多药耐药,导致患者的用药浓度不断提高,对身体产生极大的不良反应甚至是致突变毒性,因此,具有抗肿瘤效果的中成药物具有广大的研究前景。青蒿素及其衍生物具有逆转肿瘤细胞多药耐药,增强肿瘤细胞放、化疗敏感性的能力^[35]。青蒿琥酯广谱、低毒,可选择性杀伤肿瘤细胞,且不与其他药物产生交叉耐药。随着分子生物学技术的飞速发展,科研人员已经有能力设计并且制备各种不同的脂质体药物转运系统。将青蒿琥酯原料药与作为药物载体的纳米脂质体相结合,不仅能发挥青蒿琥酯抗肿瘤作用,也可以通过纳米脂质体的缓释作用避开青蒿琥酯半衰期短、释放快的缺点。青蒿琥酯纳米脂质体通过下调 VEGF、VEGFR 的表达,从而抑制肿瘤生长。目前其还处于体外试验阶段,但临床应用前景非常广泛。进一步深入研究其抗肿瘤血管生成作用机制,对于开发抗癌新药、寻找药物抗癌作用新靶点都具有重要意义。

参考文献

- [1] SHI T T, LIU Z Q, FAN H, et al. Analysis on incidence trend of liver cancer in China, 2005—2016[J]. *Chin J Epidemiol*, 2022, 43(3): 330-335.
- [2] HAIYONG T, TONG L, NA Y, et al. Molecular mechanism exploration of autologous blood transfusion with RBC surface membrane protein pMHC/aCD28 combined with CD8⁺ T cells to promote the proliferation of CD8⁺ T cells to inhibit the malignant transformation of liver cancer[J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 6102672.
- [3] BENJAMIN B, LAURENT M, PASCALE M, et al. VEGF and VEGFR family members are expressed by neoplastic cells of NF1-associated tumors and may play an oncogenic role in malignant peripheral nerve sheath tumor growth through an autocrine loop [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2022, 60: 151997.
- [4] YANG Y, LU B, LI B, et al. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)/endostatin (ES) and VEGF receptor 2 (VEGFR2)/ES is associated with NSCLC prognosis[J]. *Oncol Translat Med*, 2021, 7(4): 149-154.
- [5] BOCHAO G, YUANZHANG Z, YINGYING Y, et al. Corrigendum: artesunate suppresses choroidal melanoma vasculogenic mimicry formation and angiogenesis via the Wnt/CaMK II signaling axis[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 870805.
- [6] LIWEI G, JIAXING Z, DANDAN L, et al. Development of artesunate intelligent prodrug liposomes based on mitochondrial targeting strategy[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 376.
- [7] FERDINAND A, JEAN-JACQUES M, BERNARD I L, et al. VEGF (vascular endothelial growth factor) inhibition and hypertension: does microvascular rarefaction play a role? [J]. *Hypertension*, 2023, 80(5): 901-911.
- [8] FARIBA M, HOSSEIN J, AMIR R A, et al. Substance P accelerates the progression of human esophageal squamous cell carcinoma via MMP-2, MMP-9, VEGF-A, and VEGFR1 overexpression[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6): 4263-4272.
- [9] XIAO C, LUPING L, QIAOLING W, et al. Tumor necrosis factor- α promotes the tumorigenesis, lymphangiogenesis, and lymphatic metastasis in cervical cancer via activating VEGFC-mediated Akt and ERK pathways[J]. *Mediators Inflamm*, 2023, 2023: 5679966.
- [10] 黄丹, 余蕾, 朱玲龔, 等. 熊去氧胆酸联合胎盘多肽对孕鼠肝内胆汁淤积的治疗作用[J]. *现代妇产科进展*, 2020, 29(5): 363-367.
- [11] 李璟波, 张文, 夏晖, 等. 肺腺癌组织血管内皮生长因子受体 3 (VEGFR3) 高表达与患者预后不良正相关[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2019, 35(11): 1023-1029.
- [12] PRASAD C B, SINGH D, PANDEY L K, et al. VEGFa/VEGFR2 autocrine and paracrine signaling promotes cervical carcinogenesis via β -catenin and snail[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2022, 142: 106122.
- [13] 解举民, 刘雅然, 陈梦迪, 等. 青蒿素药理功能研究进展[J]. *中医药学报*, 2022, 50(8): 96-100.
- [14] NEHAL S, MOHAMED E I, MAGED K E. Electrospun composite nanofibers based on PLA/Artesunate-loaded citrate-functionalized hydroxyapatite for boosting in vitro anticancer efficacy and drug delivery of artesunate[J]. *Fi-*

- ber Polym, 2022, 23(12): 3415-3426.
- [15] 高歆娜, 康靖杰, 孙鹏, 等. 青蒿素类化合物微生物转化研究进展[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(11): 2876-2895.
- [16] MANAGULI R S, WANG J T, FARUQU F N, et al. Asenapine maleate-loaded nanostructured lipid carriers: optimization and in vitro, ex vivo and in vivo evaluations[J]. Nanomedicine, 2019, 14(7): 889-910.
- [17] LEI D, PING Z, XU H, et al. Intracellular reduction-responsive molecular targeted nanomedicine for hepatocellular carcinoma therapy[J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 809125.
- [18] RUI Z, QIAN Z, HELDER O, et al. Preparation of nanoliposomes loaded with anthocyanins from grape skin extracts: stability, gastric absorption and antiproliferative properties[J]. Food Funct, 2022, 13(21): 10912-10922.
- [19] 赵力赤, 蒋志敏, 梁能堂, 等. 青蒿琥酯肠溶纤维的制备及体外释放研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(17): 2049-2056.
- [20] CHONG Q, YANYAN W, QIUYAN G, et al. Preparation and application of calcium phosphate nanocarriers in drug delivery[J]. Mater Today Bio, 2022, 17: 100501.
- [21] DWIVEDI A, MAZUMDER A, FOX L T, et al. In vitro, skin permeation of artemisone and its nano-vesicular formulations[J]. Int J Pharm, 2016, 503(1/2): 1-7.
- [22] 徐晴晴, 杨硕晔, 崔兰, 等. 肿瘤微环境响应型纳米递药系统的应用研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2023, 42(4): 216-221.
- [23] SNEH V, PRASENJIT D, VIJAY L K. Chemoprevention by artesunate in a preclinical model of colorectal cancer involves down regulation of β -catenin, suppression of angiogenesis, cellular proliferation and induction of apoptosis[J]. Chem Biol Interact, 2017, 278: 84-91.
- [24] LU B W, XIE L K. Potential applications of artemisinins in ocular diseases[J]. Int J Ophthalmol, 2019, 12(11): 1793-1800.
- [25] YANG P, YU D, ZHOU J, et al. TGM2 interference regulates the angiogenesis and apoptosis of colorectal cancer via Wnt/ β -catenin pathway[J]. Cell Cycle, 2019, 18(10): 1122-1134.
- [26] CHEN H H, ZHOU H J, WU G D, et al. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis and on expressions of vascular endothelial growth factor and VEGF receptor KDR/flk-1[J]. Pharmacology, 2004, 71(1): 1-9.
- [27] CHENG R, LI C. The artemisinin derivative artesunate inhibits corneal neovascularization by inducing ROS-dependent apoptosis in vascular endothelial cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(5): 3400-3409.
- [28] ZONG Y, YUAN Y G, QIAN X B, et al. Small molecular-sized artesunate attenuates ocular neovascularization via VEGFR2, PKC α , and PDGFR targets[J]. Sci Rep, 2016, 6: 30843.
- [29] 叶杰, 陈素珍, 温旺荣. 血管内皮生长因子在肿瘤筛查中的临床意义及诊断价值[J]. 黑龙江医药, 2022, 35(6): 1442-1445.
- [30] 马薇, 张书勤, 魏柏, 等. HDGF、VEGF 与肝肿瘤组织 MVD 水平的关系及对肝癌病人预后的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(2): 178-180.
- [31] XIAO M S, SHI Y L, JIANG S J, et al. Recent advances of nanomaterial-based anti-angiogenic therapy in tumor vascular normalization and immunotherapy[J]. Front Oncol, 2022, 12: 1039378.
- [32] CHEN J R, LIU X Y, ZHANG J H, et al. Frontline anti-PD-1/PD-L1 versus bevacizumab in advanced non-small-cell lung cancer: a network meta-analysis[J]. Future Oncol, 2022, 18(13): 1651-1664.
- [33] 赵春霞, 沈雪松, 金美华, 等. 青蒿琥酯纳米脂质体对人肝癌 HepG2 细胞抗血管生成作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 226-229.
- [34] 胡诚, 梁琨, 安靓, 等. TPGS 修饰青蒿琥酯脂质体的制备及其体外抗肿瘤活性[J]. 中成药, 2017, 39(3): 492-498.
- [35] XI J Q, HUANG Y L, CHEN J, et al. Artesunate-loaded poly (lactic-co-glycolic acid)/polydopamine-manganese oxides nanoparticles as an oxidase mimic for tumor chemo-catalytic therapy[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 181: 72-81.