



抗肿瘤干细胞药物盐霉素对Wnt/ β -catenin信号通路的抑制

黎莹斯[†], 刘博昕[†], 孙琦^{*}, 吕德生^{*}

深圳大学医学部药理学系, 深圳 518086

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: sunqi@szu.edu.cn; delu@szu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-12; 接受日期: 2021-07-20; 网络版发表日期: 2021-09-14

国家自然科学基金(批准号: 81802662, 22077085, 21671137, 31970739)、广东省自然科学基金(批准号: 2017A030310329)、广东省医学科学技术研究基金(批准号: A2019475)、深圳市基础研究项目(批准号: JCYJ20170817094611664, JCYJ20190808153209537, JCYJ20190808173601655)和 SZU medical young scientists program资助

摘要 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是一小群具有自我更新和分化潜力,并能产生异质性细胞的肿瘤细胞亚群,该群细胞在肿瘤的发生发展、复发、转移和耐药中起着十分重要的作用,因此通过研发针对CSCs的靶向药物,将为抗肿瘤药物的研究提供新的方向,并为未来根治肿瘤带来新的希望.近年来,大量实验研究证实了盐霉素对多种类型的肿瘤干细胞具有明显的杀伤作用,这些肿瘤包括肝癌、乳腺癌、胃癌、结直肠癌、前列腺癌和骨肉瘤等.盐霉素可以抑制肿瘤干细胞的增殖、分化及转移,并诱导其凋亡.Wnt/ β -catenin信号通路是一种在生物进化过程中高度保守的信号系统,与组织的发育和器官形成等生物学过程密切相关,该通路的异常活化在肿瘤及肿瘤干细胞的发生发展中起关键作用.通过靶向阻断异常活化的Wnt信号通路,可以抑制肿瘤细胞和肿瘤干细胞的增殖并诱导其凋亡,因此该通路已经成为抗肿瘤药物领域的研究热点.Wnt/ β -catenin信号通路在盐霉素抗肿瘤干细胞过程中起重要作用,本文综述了盐霉素通过调节Wnt/ β -catenin信号通路抑制肿瘤干细胞的研究进展.

关键词 盐霉素, Wnt/ β -catenin信号通路, 肿瘤干细胞, 靶向治疗

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是一群具有自我更新和多向分化潜能的细胞,是维持肿瘤异质性,造成肿瘤生长、复发和转移的根源.目前认为CSCs的存在是导致肿瘤放化疗失败的主要原因.因此,研发抗CSCs的靶向药物,更深入地研究CSCs在治疗过程中产生的耐药、转移和复发的机制将是发展CSCs靶向治疗策略的关键.Wnt/ β -catenin信号通路是目前抗肿

瘤药物研究的热点,该通路在维持肿瘤干细胞的干性中起着关键作用.通过靶向阻断异常活化的Wnt/ β -catenin信号通路,可以促进肿瘤细胞的凋亡和抑制肿瘤干细胞的活性.盐霉素是一种一元羧酸聚醚类抗生素.目前研究发现,盐霉素具有靶向肿瘤干细胞的作用,并表现出明显的肿瘤杀伤作用,使之成为临床上具有前景的抗肿瘤药物之一.本文将总结盐霉素抗肿瘤干细

引用格式: 黎莹斯, 刘博昕, 孙琦, 等. 抗肿瘤干细胞药物盐霉素对Wnt/ β -catenin信号通路的抑制. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 223-236
Li Y S, Liu B X, Sun Q, et al. Inhibition of anti-cancer stem cells drug salinomycin on Wnt/ β -catenin signaling pathway (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 223-236, doi: [10.1360/SSV-2021-0008](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0008)

胞的作用及其机制, 并着重论述当前盐霉素通过调节Wnt/ β -catenin信号通路抑制肿瘤干细胞的研究进展。

1 盐霉素

盐霉素, 又名沙利霉素, 分子式 $C_{42}H_{70}O_{11}$, 结构式如图1, 是在白色链霉菌发酵液中首次分离出的一种具有抗癌活性的一元羧酸聚醚类抗生素^[1]。研究发现, 盐霉素不仅具有显著杀伤多种革兰氏阳性菌(如肠道内的粪肠球菌、尿肠球菌、葡萄球菌、产气荚膜杆菌等)的作用, 还可有效抑制家禽类的球虫感染, 促进反刍动物(牛、羊)消化吸收功能^[2]。此外, 盐霉素的抗癌作用也被报道^[3]。2009年, Gupta等人^[4]在高通量筛选化学药物中发现盐霉素具有选择性杀伤乳腺癌干细胞的能力, 其对乳腺癌干细胞的杀伤作用比紫杉醇(一种乳腺癌常用的化疗药物)强100倍, 在动物实验中可有效地抑制乳腺肿瘤的生长并诱导肿瘤细胞的分化, 这引起了国内外大量研究学者对盐霉素的关注, 对其作用及作用机制展开了深入的研究。

2 肿瘤干细胞

肿瘤干细胞是肿瘤细胞中具有自我更新和分化潜力的细胞亚群, 该亚群只占肿瘤细胞的一小部分。1994年, Lapidot等人^[5]在急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞中首次分离出免疫表型 $CD34^+/CD38^-$ 的CSCs, 并在重症联合免疫缺陷的小鼠上证实了CSCs的自我更新能力。随后, 越来越多的研究在其他恶性肿瘤中进一步证实CSCs的存在, 并根据其生物学特性和可靠的表面标记物分离出各种CSCs。研究发现, CSCs对化疗和放疗均具有抵抗力, 大多数常规治疗方法虽然杀死了具有增殖潜力的肿瘤细胞, 并缩小了肿瘤的体积, 但对处于静止或休眠状态的CSCs没有影响, 有些疗法反而促进CSCs的增殖, 最终并未使患者生存率得到提高, 甚至出现恶化倾向^[6,7]。研究表明, CSCs与肿瘤的复发转移密切相关, 其异质性在肿瘤的发生发展中起重要作用^[8]。少量CSCs经移植到免疫缺陷小鼠后, 利用小鼠提供的微环境生长, 形成继发性肿瘤。CSCs还表现出更高的克隆形成潜能, 在软琼脂培养基中存活和生长的能力更强, 因此CSCs可能是造成肿瘤复发转移的原因。为了研究

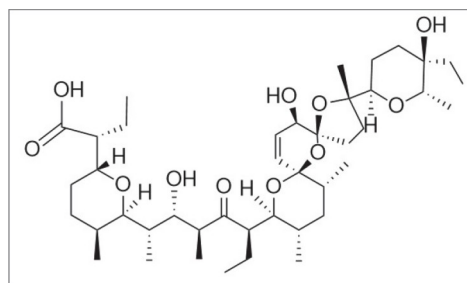


图1 盐霉素化学结构式

Figure 1 Chemical structure of salinomycin

CSCs在肿瘤转移过程中的作用, Brabletz等人^[9]提出了迁移肿瘤干细胞(metastatic cancer stem cell, MCSC)的概念, 他们提出, 原位CSCs可以通过上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)导致MCSCs的产生, 随后MCSCs播散并形成转移集落。在高水平表达ALDH1, SOX2, Nanog和Nestin的胃癌组织中发现CSCs对药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)和顺铂表现出明显的耐药性, 并导致肿瘤的复发和转移^[10]; 并且 $ALDH1A1^+$ CSCs的存在与N0和N1期肺癌患者的不良预后存在显著相关性^[11]。因此, CSCs被认为是肿瘤生长、复发、转移和耐药性的根源。发展针对CSCs的靶向治疗策略在抗肿瘤治疗中具有重要的临床意义。

目前杀伤CSCs的治疗方法主要包括针对CSCs特异性表面标记分子、与CSCs相关的信号通路、CSCs赖以生存的微环境以及选择性诱导CSCs分化或凋亡^[12]。CSCs可以表现出胚胎干细胞或组织干细胞的许多特性, 这些特性依赖于一种或多种与组织生长发育和稳态相关信号通路的持续激活。在这些信号通路中, 目前研究机制较为明确的主要有Wnt, Hedgehog, Notch和Hippo信号通路^[13]。因此, 可以通过发展靶向这些相关信号通路的抑制剂, 阻断CSCs增殖, 进而杀灭这些细胞, 最终抑制肿瘤的生长、复发、转移和耐药性, 为临床上肿瘤的治疗提供新的方法和手段, 并使根治肿瘤成为一种可能。自2009年Gupta等人^[4]发现盐霉素能够选择性杀伤乳腺CSCs以来, 大量研究分别证实了盐霉素具有靶向不同类型CSCs的能力, 包括胃癌^[10]、肺癌^[14]、骨肉瘤^[15]、结直肠癌^[16]、前列腺癌^[17]等, 有效地抑制这些CSCs增殖、分化及转移, 并诱导其凋亡(图2)。

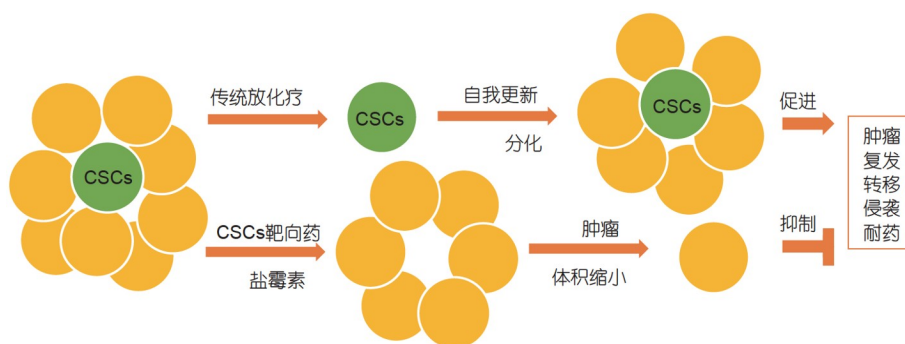


图2 盐霉素与CSCs(网络版彩图)
Figure 2 Salinomycin and CSCs (color online)

3 Wnt/ β -catenin信号通路

作为一种高度保守的信号系统, Wnt信号通路在动物胚胎和细胞发育、组织器官形成以及成体干细胞的维持等方面都起着至关重要的作用^[18,19]. 该通路包括通过 β -catenin激活基因转录的经典Wnt信号通路, 释放胞内 Ca^{2+} 调节细胞间黏连和相关基因表达的Wnt/ Ca^{2+} 通路, 以及与细胞骨架重排密切相关的Wnt/PCP通路. 经典Wnt信号通路即Wnt/ β -catenin信号通路, 主要由Wnt信号分子、胞膜受体、胞质信号转导蛋白和转录调控因子以及 β -catenin下游靶基因组成, 是一种复杂的传导系统. 在正常细胞中, 分泌型糖蛋白Wnt作为Wnt信号通路配体, 与细胞膜蛋白受体卷曲蛋白(Frizzled, Fzd)以及低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6(low density lipoprotein receptor-related protein5/6, LRP5/6)结合后活化蓬乱蛋白(dishevelled, Dvl), 启动下游信号, 激活Wnt通路. 大肠腺瘤息肉蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、轴蛋白(axin)以及糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)等蛋白形成具有降解 β -catenin功能的复合物, Dvl蛋白抑制该复合物形成, 导致 β -catenin在胞质中积聚, β -catenin进入胞核与转录因子T细胞因子/淋巴样增强因子1(T-cell factor/lymphoid enhancing factor 1, TCF/LEF1)结合, 促进下游靶基因(如*c-myc*, *cyclin D1*, *VEGF*等)的转录, 从而调控细胞的增殖、分化及肿瘤的形成^[20,21]. 而在没有Wnt配体的情况下, β -catenin在Ser45位点上被酪氨酸激酶(casein kinase 1, CK1 α)磷酸化, 随后被GSK3 β 在Thr41, Ser37和Ser33位点上磷酸化, 磷酸化的 β -catenin被泛素-蛋白酶体途径降解, 致使Wnt信号通路处于失活状态^[22,23].

4 Wnt/ β -catenin信号通路异常活化

Wnt/ β -catenin信号通路的异常活化参与肿瘤的发生发展、侵袭和转移等过程, 该通路中的多个基因突变、蛋白表达异常等均可引起通路的异常活化. Nusse和Varmus^[24]首次在小鼠乳腺癌细胞中鉴定第一个Wnt基因*Wnt1*, 又称*int1*; 1991年, 研究者首次在家族性大肠腺瘤性息肉病的病例中, 观察到APC基因的突变^[25], 在结直肠癌中, 大约90%的结直肠癌患者携带Wnt信号相关基因, 如APC, β -catenin(*CTNNB1*)的突变, 导致Wnt信号通路的异常活化. 事实上, 80%的结直肠癌中能检测到 β -catenin在细胞核内聚集, 并且这种 β -catenin在结直肠癌细胞核内的聚集与不良预后呈显著正相关^[26~28]. 在肝癌病例中也证实了 β -catenin, APC和Axin1的突变或表达异常^[29,30]. 此外, 研究发现在乳腺癌中超过50%的患者, 其Wnt/ β -catenin信号通路被激活, 该通路的激活水平与肿瘤总生存率降低密切相关^[31]. 研究表明, Wnt/ β -catenin信号通路的异常活化对于CSCs的形成及干性的维持具有至关重要的作用^[32], 另外, CSCs通过Wnt/ β -catenin信号通路降低肿瘤细胞对放化疗的敏感性, 进而发展为对放射疗法或抗肿瘤药物的抗性^[33~35]. 鉴于Wnt/ β -catenin信号通路在多种癌症中的关键作用, 该通路一直是药物开发的最热门靶点之一, 发展靶向作用于该通路的药物将为肿瘤的治疗提供新的策略和研究方向. 大量研究表明, 盐霉素对Wnt/ β -catenin信号通路的拮抗作用与其抗肿瘤和抗肿瘤干细胞活性密切相关, 盐霉素有望成为靶向Wnt/ β -catenin通路和肿瘤干细胞的新颖药物, 应用于多种肿瘤的预防和治疗.

5 盐霉素与Wnt/ β -catenin信号通路

2011年, Lu等人^[36]利用Wnt通路特异性的*Topflash*报告基因, 首次发现盐霉素能够抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 它作用于Wnt分子与膜上受体Fzd和共受体LRP6结合而形成的复合体, 抑制LRP6的磷酸化, 并诱导LRP6和 β -catenin的降解。Tang等人^[15]发现, 盐霉素能够下调磷酸化的GSK3 β , 提高GSK3 β 活性, 降低 β -catenin和cyclin D1的蛋白表达水平。一项最近的研究表明, 盐霉素不仅作用于Wnt通路的上游成分, 而且还能够阻断 β -catenin与TCF4E之间的相互作用, 进而下调多个Wnt/ β -catenin信号通路靶基因的表达^[37], 这些研究提示, 盐霉素可以通过作用于Wnt信号通路的多个环节, 抑制该信号通路。目前, 盐霉素已经在多种肿瘤中表现出对Wnt/ β -catenin通路和肿瘤干细胞的抑制作用(图3)。

5.1 肝癌

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球发病率最高的恶性肿瘤之一, 严重威胁着人类健康, 其中发达国家的肝癌发病率较低, 发展中国家的肝癌发病率较高^[38]。由于乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感

染, 中国肝癌的发病率高于世界平均发病率的4~8倍, 每年肝癌的死亡率约占全球死亡率的45%^[39,40]。近年来, 尽管在肝癌治疗方面取得了进展, 但由于肝癌进展迅速, 肝癌患者的预后仍不理想, 5年生存率约为7%^[41]。CD133分子是一种已知的肝细胞癌干性标记分子, CD133阳性的干细胞癌细胞具有明显的干细胞样特征。作为Wnt信号通路的特异抑制剂, Wang等人^[42,43]发现, 盐霉素处理能够显著降低肝癌细胞的CD133⁺细胞比例, 进而抑制HCC细胞的恶性增殖, 诱导其凋亡, 并通过增加细胞内Ca²⁺水平抑制Wnt信号通路。该研究还证明, 常规化疗药5-FU和盐霉素联合作用于HCC细胞后, 能够显著下调p-GSK3 β 的表达水平, 导致 β -catenin磷酸化水平增加, 并加速其降解, 同时这两种药物的联用还能阻断 β -catenin的核内转移, 使其在胞质积聚, 从而有效抑制肿瘤细胞和CSCs的生长。实验还发现, 联合用药组的肿瘤抑制率显著高于各单独用药组, 同时通过与盐霉素的合用, 减少了5-FU的用量, 因此也减轻了5-FU对正常细胞的毒性作用。近期研究^[44]发现, 盐霉素可抑制肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)的干细胞特性, 并通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路诱导LCSCs分化。阿霉素(Doxorubicin)^[45]是HCC的常规化疗药物, 然而在阿霉素单独使

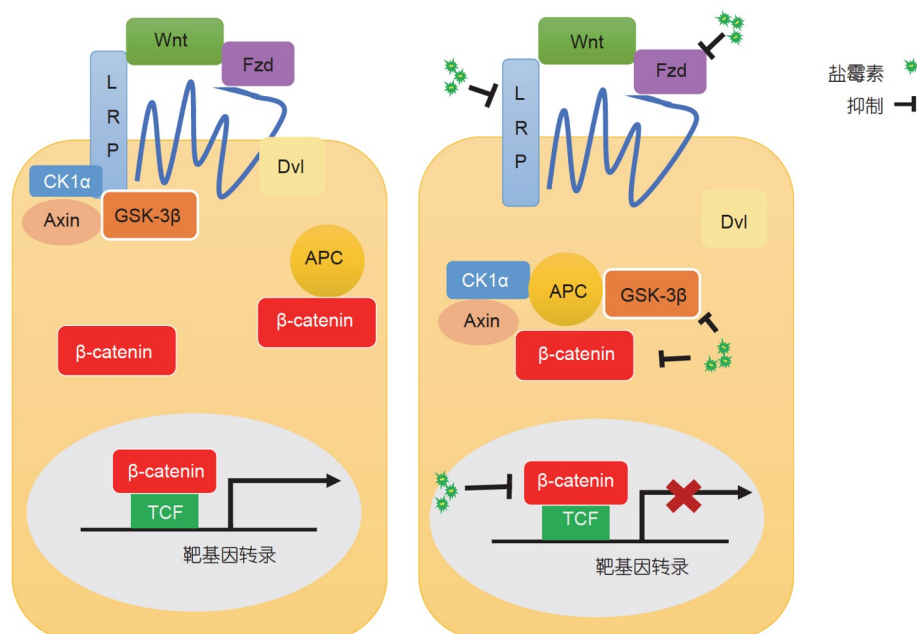


图3 盐霉素与Wnt/ β -catenin信号通路(网络版彩图)

Figure 3 Salinomycin and Wnt/ β -catenin signaling pathway (color online)

用的情况下, HCC细胞容易获得对阿霉素的耐药性, 导致其治疗效果不佳. Zhou等人^[46]注意到盐霉素与阿霉素联用能增强对HCC细胞的细胞毒性作用, 盐霉素通过激活多功能转录因子FOXO3a, 抑制阿霉素诱导的EMT转化过程. 此外, 活化的FOXO3a干扰了 β -catenin和TCF的结合而抑制Wnt/ β -catenin信号通路靶基因的表达, 这些靶基因包括*ZEB1*, *c-myc*和*cyclin D1*, 最终导致HCC细胞对阿霉素的耐药性降低, 增强阿霉素的抗肿瘤活性. 这些研究为盐霉素在肝癌治疗中的潜在应用提供了一定实验依据.

5.2 乳腺癌

乳腺癌(breast cancer)是全球女性最常见的恶性肿瘤之一, 在女性癌症中发病率持续上升, 死亡率高^[47,48]. 在乳腺癌亚型中, 雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕酮受体(progesterone receptor, PR)和人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)均为阴性的三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC), 最具有侵袭性, 该亚型缺乏可识别的特异性标志物, 对常规激素治疗反应无效, 患者预后不良^[49,50]. 2009年, Gupta等人^[4]报道0.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐霉素处理能够显著抑制CD24^{low}/CD44^{high}的乳腺CSCs. TNBC中Wnt/ β -catenin信号通路异常活跃, 其Wnt受体Fzd7和Wnt共受体LRP6显著上调, 盐霉素可以通过促进TNBC细胞中的LRP6降解, 抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 发挥其抗癌活性^[51]. Venkatadri等人^[52]报道盐霉素能够显著增强白藜芦醇的抗ER阳性乳腺癌作用, 在白藜芦醇-盐霉素联合处理的乳腺癌细胞中, 观察到Wnt信号通路相关蛋白和EMT标志蛋白的明显下调, 导致细胞周期的阻滞. Du等人^[53]在犬乳腺癌CMT736细胞中通过微球体形成实验和流式细胞术分析肿瘤细胞的药物抗性、侵袭性和肿瘤干细胞相关蛋白的表达, 发现盐霉素以浓度和时间依赖的方式抑制微球体的形成和肿瘤细胞的侵袭能力, 降低CD44⁺/CD24^{-low}的乳腺CSCs的数量并下调乳腺CSCs中Wnt/ β -catenin信号通路核心蛋白 β -catenin、靶基因*cyclin D1*以及干性标记分子Oct4(octamer-binding transcription factor 4)的表达. 在从乳腺癌MCF7细胞分离的CD44⁺CD24⁻ALDH1⁺的乳腺CSCs中, 发现盐霉素能够显著减少肿瘤细胞的微球体形成, 经该药物处理后ALDH1⁺细胞的百分比降低至原来的1/50. 将阿霉素和

盐霉素联合处理乳腺CSCs后, CSCs的克隆效率降低了90%~96.67%, 且CD44⁺CD24⁻ALDH1⁺乳腺CSCs的凋亡显著增加^[54]. 另外, 同样在MCF7来源的乳腺CSCs和HER2阳性的乳腺癌细胞中, 盐霉素和抗HER2抗体曲妥珠单抗的联合应用比盐霉素或曲妥珠单抗单独应用杀伤乳腺CSCs更有效, 该研究证明了盐霉素与常规抗癌药物的联合应用在杀伤乳腺CSCs中的协同作用^[55]. 此外, 与盐霉素相比, 其结构衍生物也被证实能够通过降低 β -catenin的表达取得更为高效的抗乳腺CSCs能力^[56]. 最近, Versini等人^[57]利用盐霉素及其衍生物作用于CD24^{low}/CD44^{high}的乳腺CSCs, 发现盐霉素的C20修饰衍生物铁霉素(ironomycin)极大提高了抗CSCs作用, 而C1, C9和C28修饰衍生物并不能提高盐霉素的抗乳腺CSCs活性.

5.3 结直肠癌

据统计, 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率每年在全球范围内呈不断上升的趋势, 每年约65.5万人死于结直肠癌, 虽然早期结直肠癌预后较好, 5年生存率约为90%, 但转移性结直肠癌预后不良, 5年生存率低至15%^[58]. Wnt信号通路负调节因子APC的缺失和突变是结直肠癌的主要标志之一, 近年来通过高通量测序进一步明确了结直肠癌中的APC和 β -catenin的突变, 同时揭示了其他新的与Wnt通路相关的基因突变如*Axin1*, *Axin2*^[59]. Klose等人^[60]通过结直肠癌小鼠动物模型研究盐霉素的药理作用, 发现盐霉素通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 降低Wnt靶基因纤连蛋白(fibronectin), Lgr5和CD133的表达, 显著抑制肿瘤细胞的增殖和迁移能力, 并诱导肿瘤细胞的死亡. β -catenin在胞质聚集进入细胞核内, 与转录因子TCF/LEF1结合促进下游靶基因的转录. 最近, Wang等^[37,61]发现, 盐霉素通过阻断CRC细胞中 β -catenin/TCF复合物的形成, 抑制Wnt信号通路, 进而降低Wnt靶基因的表达, 另外, 利用结直肠干细胞异种移植模型, 证实盐霉素通过下调CSC相关Wnt靶基因(*LGR5*, *CD44*, *Sox2*)的表达, 显著抑制由CD44^{high}CD133^{high}结直肠CSCs导致的肿瘤生长^[37]. 这些研究结果证实了盐霉素的抗结直肠癌作用, 在Wnt信号通路相关基因突变的结直肠肿瘤中, 该药表现出很好的临床应用前景. 为了进一步改进盐霉素的生物利用度, 该团队利用纳米结晶技术发展了一种盐霉素-纳米结晶颗粒的口服制剂, 相较于盐霉素本

身, 盐霉素-纳米结晶具有较好的水溶性、较强的细胞膜穿透能力、较强的Wnt/ β -catenin信号通路的抑制活性, 经口服进入动物体内后, 明显富集于动物肠道, 表现出更强的抗结直肠癌作用. Klose等人^[62]对盐霉素的烯丙基C20羟基进行化学修饰, 合成出比天然结构更具有细胞毒活性的衍生物. 研究发现, 盐霉素C20-O-酰基衍生物在较低浓度下能够诱导结直肠CSCs的凋亡, 并抑制其迁移.

5.4 前列腺癌

近年来, 前列腺癌(prostate cancer)是欧美男性中最常见的恶性肿瘤, 其发病率在全球呈一直上升的趋势, 成为威胁老年男性生命健康的主要疾病之一, 也是仅次于肺癌的男性癌症相关死亡的第二大原因^[63,64]. 虽然在前列腺癌的放射治疗和手术治疗方面已取得较大的进展, 但是患者多出现复发情况或者遗留尿潴留、排尿障碍或性功能障碍等问题^[65]. 在前列腺癌细胞中, Wnt/ β -catenin信号通路处于异常活化状态, 并且由于GSK3 β 受到抑制, 而上调细胞mTORC1信号的表达^[66]. Lu和Li^[67]观察到盐霉素处理前列腺癌细胞后, 激活了GSK3 β , 促进 β -catenin的磷酸化, 从而加速其降解. 盐霉素在前列腺癌细胞中, 不仅抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 同时还表现出对mTORC1信号的拮抗作用, 导致cyclin D1和Survivin的表达下调, 并表现出明显的抗前列腺癌活性. Zhang等人^[68]发现, 盐霉素抑制Wnt/ β -catenin通路, 诱导前列腺癌PC-3细胞凋亡, 并且在前列腺癌细胞NOD/SCID小鼠异种移植模型中证实, 盐霉素通过阻断Wnt/ β -catenin通路抑制肿瘤的生长. 乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)是一种已知的肿瘤干细胞标记分子, 盐霉素能够诱导ALDH阳性的PC-3细胞凋亡, 提示盐霉素能够靶向具有干细胞活性的前列腺癌细胞, 这些研究为盐霉素在治疗前列腺癌中的应用提供了一定依据. 类似结果在VCaP和LNCaP来源的前列腺CSCs得到证实, Ketola等人^[17]发现, 盐霉素能够降低前列腺CSCs中ALDH1活性和CD44阳性细胞的比例, 并诱导前列腺癌细胞产生活性氧, 从而抑制肿瘤细胞的生长.

5.5 白血病

Wnt信号通路在正常造血干细胞的自我更新中发挥关键作用, 该通路的异常活化在多种血液系统肿瘤

的发生发展中具有重要意义^[69,70]. Lu等人^[36]发现, 在慢性淋巴白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)细胞中, 盐霉素可抑制Wnt受体LRP6的磷酸化并诱导其降解, 下调Wnt信号通路靶基因LEF1, cyclin D1及Fibronectin的表达, 进而诱导细胞凋亡. Zhao等人^[71]研究了盐霉素对急性早幼粒细胞白血病细胞株NB4和HL-60的作用, 发现盐霉素能够通过激活内在凋亡途径诱导细胞凋亡, 同时增加NBT阳性细胞和CD11b阳性细胞的百分比, 上调CD11b和C/EBP β 水平而诱导急性早幼粒白血病细胞(acute promyelocytic leukemia, APL)的分化, 此外, 该药通过降低 β -catenin及Wnt通路靶基因cyclin D1和c-myc的表达, 有效地抑制细胞增殖, 这些研究提示盐霉素是一种潜在治疗APL的药物.

5.6 头颈部肿瘤

原发性头颈部恶性肿瘤(primary head and neck malignancies)包括头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)、鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)、甲状腺癌(thyroid carcinoma, TC)和腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma, ACC). 据统计在世界范围内, 每年头颈部肿瘤的发病数量超过650000例, 每年约有330000例死亡^[72]. 其中, NPC是我国最常见的恶性肿瘤之一, 放射治疗是其主要的治疗方法, 该疗法在早期能够取得比较满意的效果, 但对于中晚期患者, 放射治疗、化学治疗、手术治疗等现有疗法却难以取得理想的效果, 另外, 由于NPC的解剖部位和早期症状并不明显, 因此高达80%~90%的NPC患者被确诊时已为晚期^[73,74]. Wu等人^[75]在3种NPC细胞系(CNE-1, CNE-2和CNE-2/DDP)中观察到, 盐霉素可通过激活caspase-3和caspase-9, 降低线粒体膜电位, 诱导NPC细胞的凋亡. 同时, 盐霉素下调了LRP6和 β -catenin的蛋白表达水平, 提示Wnt/ β -catenin信号通路参与了盐霉素诱导的NPC细胞凋亡过程. 在近期研究中, 何兰等人^[76]发现, 盐霉素与中药益气解毒方联合应用, 能够协同降低鼻咽癌细胞CNE2和5-8F来源的CSCs中生存相关蛋白XIAP、Wnt靶基因Survivin以及干性相关蛋白ALDH1/2的表达水平, 且盐霉素与中药益气解毒方联合用药组对鼻咽CSCs增殖、克隆形成的抑制作用比药物单用组更强. 甲状腺髓样癌(medullary thyroid cancer, MTC)是源自甲状腺C细胞的神经内分泌肿瘤, 约占所有甲状腺癌的5%^[77]. RET

(rearranged during transfection kinase)的激活突变通常与MTC的发生发展有关. Alqahtani等人^[78]报道了盐霉素及其部分衍生物, 发现它们可选择性地抑制甲状腺髓样癌细胞内PI3K/Akt/mTOR信号转导途径, 对RET驱动的甲状腺髓样癌细胞具有明显的抗增殖活性. 此外, 盐霉素的RET抑制作用可能在很大程度上归因于Wnt通路的抑制, 推测可能与干扰LRP6-Fzd-Wnt复合物的形成有关. 长链非编码RNA(long noncoding RNAs, lncRNAs)与各种肿瘤的发生发展相关联, 包括HNSCC, 近期Li等人^[79]发现一种新的lncRNA AC104041.1, 其可作为内源性RNA竞争miR-6817-3p, 从而稳定Wnt2B, 诱导 β -catenin核内转移和活化. 在HNSCC细胞和患者来源的异种移植瘤(patient-derived xenografts, PDXs)模型中, 盐霉素可通过增强反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)对肿瘤中的lncRNAs AC104041.1作用, 抑制肿瘤生长, 为治疗HNSCC提供了一种潜在的新方法. β -catenin不仅是Wnt/ β -catenin信号通路的关键成员, 还参与细胞EMT过程, 与E钙黏蛋白(E-cadherin)组成复合体, 影响肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力. 陈洁等人^[80]观察到盐霉素明显降低舌鳞癌CAL-27细胞 β -catenin和波形蛋白(vimentin)表达水平, 上调E-cadherin的表达, 提示盐霉素可能通过靶向作用于 β -catenin信号转导, 抑制EMT发生, 从而有效降低CAL-27细胞的侵袭能力.

5.7 骨肉瘤

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是儿童和青少年骨骼系统中最常见的原发性恶性肿瘤^[81]. 目前骨肉瘤的标准治疗方法为新辅助化疗、手术、术后辅助化疗, 在临床上常用联合化疗方案, 但由于骨肉瘤恶性程度高且发展快, 早期远处转移, 因此患者的预后较差. 目前骨肉瘤患者化疗的主要问题是机体耐药性的出现, 长期服药对机体的毒副作用以及重要器官的损伤^[82-84]. 因此, 为提高治疗效果及改善患者预后, 寻找新的靶向化疗药物和治疗方法具有重要意义. Tang等人^[15]发现, 盐霉素能够靶向骨肉瘤干细胞, 抑制骨肉瘤细胞生长, 降低了CSCs表面标记分子Oct4和Sox2的表达, 同时在体内试验也证实了这一结果, 并发现盐霉素治疗后没有出现明显的副作用, 提示盐霉素可能是骨肉瘤干细胞的有效抑制剂. 其机制可能与盐霉素降低GSK3 β 蛋白的磷酸化水平, 激活GSK3 β , 从而诱导 β -catenin的降

解有关. 另外, 蛋白免疫印迹分析显示, 用不同剂量盐霉素处理骨肉瘤U2OS/MTX300细胞后, 明显降低了 β -catenin和cyclin D1的蛋白表达水平.

5.8 卵巢癌

卵巢癌(ovarian cancer, OC)是女性生殖系统中最常见的恶性肿瘤之一, 可分为上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)和生殖细胞性卵巢癌, 以上皮性最为多见, 占85%~90%左右^[85,86]. 即使患者在早期通过化疗病情得以缓解, 但大部分患者在术后2~3年后出现复发, 病死率高, 并且部分患者在化疗药物治疗期间出现耐药性, 如顺铂^[87,88]. 研究表明, Wnt/ β -catenin信号通路的异常活化是上皮性卵巢癌进展的关键因素^[89]. Rask等人^[90]发现, 与正常卵巢组织和良性腺瘤相比, 上皮性卵巢癌中GSK3 β 和 β -catenin的表达显著增加. 上皮性卵巢癌的转移常常伴随着EMT, 引起癌细胞从原发性上皮肿瘤转移扩散, 癌细胞通过EMT获得了产生转移所需的多种细胞生物学特征, 包括细胞间黏附能力的丧失以及迁移和侵袭性状的获得^[91,92]. Li等人^[93]发现, 盐霉素可以通过阻断Wnt/ β -catenin信号通路抑制上皮性卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及EMT, 同时, 检测到盐霉素处理后下调了Wnt/ β -catenin通路的靶基因*Axin2*的表达. Chung等人^[94]采用0.1~5 μ mol/L盐霉素处理细胞, 发现该药呈剂量依赖性地抑制卵巢癌细胞OVCAR3和CD44⁺CD117⁺卵巢癌干细胞样OVCAR3的生长. 这些结果提示, 盐霉素可能通过靶向Wnt通路和卵巢癌CSCs, 抑制EMT, 具有治疗卵巢癌的前景.

5.9 胰腺癌

胰腺癌(pancreatic cancer)是常见的最具有侵袭性、损害性的胃肠道恶性肿瘤, 胰腺导管癌是胰腺癌最常见类型, 其恶性程度高, 早期诊断困难, 故患者预后极差^[95]. 因此, 胰腺癌的早期诊断显得尤为至关重要, 同时需要进一步探索胰腺癌发生发展分子机制, 为更有效地治疗提供依据. 据统计, 2018年全球胰腺癌新发病例458918, 新发死亡病例432242^[72]. 超过65%的胰腺癌显示胞质及胞核内的 β -catenin增加, Wnt1和Fzd蛋白表达增强^[96], Wnt/ β -catenin信号通路已经成为胰腺癌治疗的潜在靶点. Zhang等人^[97]发现, 盐霉素能够抑制CD133阳性的胰腺CSCs生长, 该作用在

体内研究中得到证实。同时发现与药物单独使用相比, 盐霉素与吉西他滨联用能够更有效地根除异种移植小鼠中的胰腺肿瘤。随后, He等人^[98]选取不同起源和分化状态的三种胰腺癌细胞PANC-1, AsPC-1和SW1990, 盐霉素处理能够显著抑制这些胰腺癌细胞的增殖、侵袭、迁移和干性, 并伴随着Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白(β -catenin和p-GSK3 β)的表达降低。此外, 盐霉素处理后, CD133⁺细胞的比例在AsPC-1和SW1990中明显降低, 提示盐霉素对胰腺癌细胞的作用可能与抑制CD133阳性的CSCs相关。

5.10 膀胱癌

膀胱癌(bladder cancer)是泌尿系统常见的恶性肿瘤, 可分为非肌层浸润性膀胱癌、肌层浸润性膀胱癌和转移性膀胱癌^[99]。欧仁杰等人^[100]评价了盐霉素对人膀胱癌5637细胞的作用, 经盐霉素处理后, 癌细胞生长受到明显抑制, 细胞凋亡明显增多, 细胞穿膜数量明显减少, 并伴随着 β -catenin蛋白水平减少。该研究提示, 盐霉素通过作用于Wnt/ β -catenin信号转导途径, 以剂量依赖的方式抑制膀胱癌细胞的增殖, 促进细胞凋亡, 并降低癌细胞侵袭力, 这些结果为探索盐霉素在膀胱癌治疗中的应用提供了依据。

5.11 肺癌

肺癌(lung cancer)是一种最常见的严重危害人类健康的恶性肿瘤, 以非小细胞癌为主。2018年全球肺癌的新诊断病例为200多万, 占有癌症病例的11.6%, 同时肺癌也是癌症死亡的首要原因, 新死亡病例176万, 占癌症死亡总数的18.4%^[72]。因此, 早发现、早诊断、早治疗对肺癌患者显得极其重要。曾葭等人^[101]利用人肺腺癌耐药细胞株A549/DDP研究盐霉素对肺癌细胞的影响, 盐霉素明显下调细胞内 β -catenin和p-LRP6蛋白水平表达, 并呈剂量依赖性地抑制肺癌细胞增殖, 降低线粒体膜电位($\Delta\Psi$ m), 显著升高细胞内活性氧和Ca²⁺浓度, 增加细胞色素C表达以及caspase-3, 8和9的酶活性, 并显著降低Bcl-2/Bax比值, 这些结果表明, 盐霉素可以通过Bcl-2/Bax途径和线粒体凋亡途径, 诱导肺腺癌细胞的凋亡。这些研究提示, 盐霉素可能成为一种新颖的针对Wnt/ β -catenin信号通路的药物, 应用于肺癌的预防和治疗。此外, Wang^[14]发现, 盐霉素处理人肺腺癌A549细胞后, 其CSCs表面标记分子

Oct-4, Nanog和Sox2的表达水平明显降低, 并且显著抑制ALDH1阳性的A549细胞的微球体形成能力。

5.12 胶质母细胞瘤

多形胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是最常见和最致命的原发性脑肿瘤。当前的标准疗法包括手术、放疗和替莫唑胺化疗, 然而这些疗法的临床有效性较差, 中位生存期为14.6个月, 两年生存率仅为30%^[102,103], 因此急需发展新颖的治疗胶质母细胞瘤的方法和手段, Asik等人^[104]评价了盐霉素与AZD3463单用和联合用药对多形胶质母细胞瘤T98G细胞的作用, 单独用药及其联用均可抑制T98G细胞的增殖, 并诱导其凋亡, 但联合治疗表现出更强的抑制增殖和诱导凋亡活性, 并伴随着Wnt信号通路靶基因表达水平的下降。该研究表明, 盐霉素与AZD3463联用表现出的生物学效应可能与抑制Wnt信号通路有关。

5.13 子宫内膜癌

全世界每年约有142000名妇女患子宫内膜癌(endometrial cancer, EC), 大多数病例被诊断于绝经后, 在70~79岁发病率最高, 总体的5年生存率约为80%。子宫内膜癌的组织学类型与临床预后密切相关。子宫内膜癌最常见的病理类型是子宫内膜样癌, 约占子宫内膜癌的75%~80%, 这类患者通常对激素敏感, 临床预后较好; 在非子宫内膜样癌的类型中, 子宫乳头状浆液性癌较常见, 约占子宫内膜癌的10%, 这类子宫内膜癌对激素不敏感, 易转移和复发, 预后差^[105]。侧群(side population, SP)细胞富含干细胞, Kusunoki等人^[106]从人子宫内膜癌细胞(Hec1细胞)和表达K-Ras蛋白的大鼠子宫内膜癌细胞(RK12V细胞)中分离出侧群细胞, 这些细胞具有肿瘤干细胞样特性, 1 μ mol/L盐霉素处理明显降低Wnt靶基因Fibronectin的表达, 并抑制子宫内膜癌侧群细胞的增殖、迁移和侵袭。这些结果提示, 盐霉素通过靶向作用于Wnt通路, 能够抑制子宫内膜癌CSCs的活性。

5.14 胃癌

从人胃癌细胞系NCI-N87和SNU-1中分选出高水平表达ALDH1, SOX2, Nanog和Nestin的细胞, 这些具有自我更新能力的CSCs, 对药物5-FU和顺铂表现出明显的耐药性。Zhi等人^[10]发现, 盐霉素能够抑制ALDH1

高表达的胃癌干细胞样细胞的微球体形成和生存能力, 该药选择性抑制ALDH1高表达的胃癌细胞生长, 其半数抑制浓度为 $3.21\sim 3.35\ \mu\text{mol/L}$, 该药对ALDH1高表达胃癌细胞的敏感性是ALDH1低表达细胞的4倍. 在胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)中, 表达CD44, CD34和低Kit(激活干细胞因子受体)的细胞亚群已被鉴定为具有自我更新和分化能力的CSCs, 这些 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{CD44}^+\text{CD34}^+$ CSCs对伊马替尼(一种靶向Kit的常用于转移性GISTs酪氨酸激酶抑制剂)产生耐受, 而盐霉素完全抑制 $\text{Kit}^{\text{low}}\text{CD44}^+\text{CD34}^+$ CSCs的增殖并诱导其分化. 此外, 相较于盐霉素单独使用, 盐霉素与伊马替尼联合治疗对肿瘤细胞的增殖表现出更大的抑制作用^[107]. Yao等人^[108]研究抗肿瘤的靶向药物输送系统, 即将单壁碳纳米管盐霉素、壳聚糖和透明质酸制备成复合物(SAL-SWNTs-CHI-HA复合物), 该复合物能选择地清除胃CSCs, 显著降低CD44阳性细胞的比例, 抑制微球体形成能力及细胞侵袭、转移能力.

6 展望

肿瘤干细胞是一群具有自我更新和多向分化潜能的细胞, 相对于普通的肿瘤细胞具有更强的耐药性,

能够抵抗传统的放化疗, 且对于肿瘤的生长、复发、侵袭及转移有重要的意义, 因此发展抑制或杀伤CSCs的药物将为肿瘤防治提供全新的手段^[6~7]. 盐霉素不仅能够选择性地杀伤多种类型CSCs, 而且能杀死常规的肿瘤细胞, 增加肿瘤细胞对放化疗的敏感性, 说明盐霉素有望成为新型针对CSCs的抗肿瘤药物. 由于Wnt信号通路在肿瘤干细胞发生发展中的关键作用, 盐霉素的Wnt抑制活性可能与它的抗肿瘤干细胞作用密切相关. 然而盐霉素在Wnt/ β -catenin通路中的靶向作用分子尚待进一步鉴定. 研究发现, 盐霉素的修饰衍生物能够在较低的药物浓度下, 更有效地提高其抗CSCs活性, 减轻其细胞毒性作用, 尤其在烯丙基C20羟基的化学修饰后, 盐霉素衍生物表现出更强的细胞毒性^[56,57,62]. 未来研究将进一步对盐霉素的结构进行修饰改造, 以期开发出更强的具有抗CSCs活性的盐霉素衍生物, 然而这些衍生物抗CSCs活性的分子机制尚待研究. 目前, 盐霉素在临床应用方面的主要障碍在于其可能导致的全身毒性作用, 溶解性较差和生物利用度较低也在一定程度上限制了其临床应用. 通过对盐霉素的化学结构进行改造或修饰, 或者纳米技术制备新颖的盐霉素纳米制剂, 或者与其他药物联用等, 增加其活性和靶向性, 减少毒副作用, 以推动盐霉素最终进入临床应用.

参考文献

- Miyazaki Y, Shibuya M, Sugawara H, et al. Salinomycin, a new polyether antibiotic. *J Antibiot*, 1974, 27: 814–821
- Dorne J L C M, Fernández-Cruz M L, Bertelsen U, et al. Risk assessment of coccidiostats during feed cross-contamination: animal and human health aspects. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 270: 196–208
- Mehlhorn H, Ganster H J, Raether W. Effect of salinomycin-Na on malaria parasites (*Plasmodium falciparum* and *P. berghei*). *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 1984, 256: 305–313
- Gupta P B, Onder T T, Jiang G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell*, 2009, 138: 645–659
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 1994, 367: 645–648
- Chang J C. Cancer stem cells: Role in tumor growth, recurrence, metastasis, and treatment resistance. *Medicine*, 2016, 95: S20–S25
- Zhu Q, Shen Y, Chen X, et al. Self-renewal signalling pathway inhibitors: Perspectives on therapeutic approaches for cancer stem cells. *Oncotargets Ther*, 2020, 13: 525–540
- Li S, Li Q. Cancer stem cells and tumor metastasis. *Int J Oncol*, 2014, 44: 1806–1812
- Brabletz T, Jung A, Spaderna S, et al. Migrating cancer stem cells—an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 744–749
- Zhi Q M, Chen X H, Ji J, et al. Salinomycin can effectively kill ALDH (high) stem-like cells on gastric cancer. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65: 509–515

- 11 Sullivan J P, Spinola M, Dodge M, et al. Aldehyde dehydrogenase activity selects for lung adenocarcinoma stem cells dependent on notch signaling. *Cancer Res*, 2010, 70: 9937–9948
- 12 Cao M F, Zhou D J, Luan J, et al. Strategies of targeting cancer stem cell to treat malignant tumors (in Chinese). *J Med Postgra*, 2012, 25: 886–888 [曹棉富, 周代君, 栾嘉, 等. 肿瘤干细胞的靶向治疗策略. 医学研究生学报, 2012, 25: 886–888]
- 13 Takebe N, Harris P J, Warren R Q, et al. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8: 97–106
- 14 Wang Y. Effects of salinomycin on cancer stem cell in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Med Chem*, 2011, 7: 106–111
- 15 Tang Q L, Zhao Z Q, Li J C, et al. Salinomycin inhibits osteosarcoma by targeting its tumor stem cells. *Cancer Lett*, 2011, 311: 113–121
- 16 Dong T T, Zhou H M, Wang L L, et al. Salinomycin selectively targets 'CD133+' cell subpopulations and decreases malignant traits in colorectal cancer lines. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18: 1797–1804
- 17 Ketola K, Hilvo M, Hyötyläinen T, et al. Salinomycin inhibits prostate cancer growth and migration via induction of oxidative stress. *Br J Cancer*, 2012, 106: 99–106
- 18 Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 387–398
- 19 Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17: 45–51
- 20 Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 2017, 36: 1461–1473
- 21 Kim W, Kim M, Jho E. Wnt/ β -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus. *Biochem J*, 2013, 450: 9–21
- 22 Amit S, Hatzubai A, Birman Y, et al. Axin-mediated CKI phosphorylation of beta-catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway. *Genes Dev*, 2002, 16: 1066–1076
- 23 Liu C, Li Y, Semenov M, et al. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell*, 2002, 108: 837–847
- 24 Nusse R, Varmus H E. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 1982, 31: 99–109
- 25 Groden J, Thliveris A, Samowitz W, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*, 1991, 66: 589–600
- 26 Baldus S E, Mönig S P, Huxel S, et al. MUC1 and nuclear beta-catenin are coexpressed at the invasion front of colorectal carcinomas and are both correlated with tumor prognosis. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 2790–2796
- 27 Sebio A, Kahn M, Lenz H J. The potential of targeting Wnt/ β -catenin in colon cancer. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18: 611–615
- 28 Wanitsuwan W, Kannngun S, Boonpipattanapong T, et al. Overall expression of beta-catenin outperforms its nuclear accumulation in predicting outcomes of colorectal cancers. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 6052–6059
- 29 Anastas J N, Moon R T. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13: 11–26
- 30 de La Coste A, Romagnolo B, Billuart P, et al. Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 8847–8851
- 31 Hoek K S, Schlegel N C, Brafford P, et al. Metastatic potential of melanomas defined by specific gene expression profiles with no BRAF signature. *Pigment Cell Res*, 2006, 19: 290–302
- 32 Wend P, Holland J D, Ziebold U, et al. Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21: 855–863
- 33 Chen M S, Woodward W A, Behbod F, et al. Wnt/beta-catenin mediates radiation resistance of Sca1⁺ progenitors in an immortalized mammary gland cell line. *J Cell Sci*, 2007, 120: 468–477
- 34 Yeung J, Esposito M T, Gandillet A, et al. β -Catenin mediates the establishment and drug resistance of MLL leukemic stem cells. *Cancer Cell*, 2010, 18: 606–618
- 35 Janikova M, Skarda J. Differentiation pathways in carcinogenesis and in chemo- and radioresistance. *Neoplasma*, 2012, 59: 6–17
- 36 Lu D, Choi M Y, Yu J, et al. Salinomycin inhibits Wnt signaling and selectively induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 13253–13257
- 37 Wang Z, Zhou L, Xiong Y, et al. Salinomycin exerts anti-colorectal cancer activity by targeting the β -catenin/T-cell factor complex. *Br J Pharmacol*, 2019, 176: 3390–3406
- 38 Kudo M, Matsui O, Izumi N, et al. JSH consensus-based clinical practice guidelines for the management of hepatocellular carcinoma: 2014 update by the liver cancer study group of Japan. *Liver Cancer*, 2014, 3: 458–468
- 39 Qi J S, Wang W H, Li F Q. Combination of interventional adenovirus-p53 introduction and ultrasonic irradiation in the treatment of liver cancer.

- [Oncol Lett](#), 2015, 9: 1297–1302
- 40 Chen S, Li J, Wang D, et al. The hepatitis B epidemic in China should receive more attention. [Lancet](#), 2018, 391: 1572
 - 41 Carr B I. Hepatocellular carcinoma: current management and future trends. [Gastroenterology](#), 2004, 127: S218–S224
 - 42 Wang F, He L, Dai W Q, et al. Salinomycin inhibits proliferation and induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. [PLoS ONE](#), 2012, 7: e50638
 - 43 Wang F, Dai W, Wang Y, et al. The synergistic *in vitro* and *in vivo* antitumor effect of combination therapy with salinomycin and 5-fluorouracil against hepatocellular carcinoma. [PLoS ONE](#), 2014, 9: e97414
 - 44 Liu Q, Sun J, Luo Q, et al. Salinomycin suppresses tumorigenicity of liver cancer stem cells and Wnt/ β -catenin signaling. [Curr Stem Cell Res Ther](#), 2020, doi: 10.2174/1574888X15666200123121225
 - 45 Tacar O, Sriamornsak P, Dass C R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. [J Pharm Pharmacol](#), 2013, 65: 157–170
 - 46 Zhou Y, Liang C, Xue F, et al. Salinomycin decreases doxorubicin resistance in hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the β -catenin/TCF complex association via FOXO3a activation. [Oncotarget](#), 2015, 6: 10350–10365
 - 47 Ahmad A. Breast cancer statistics: recent trends. In: Ahmad A, ed. Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer, 2019. 1–7
 - 48 Hwang E S, Nho J H. Lifestyle intervention for breast cancer women. [J Lifestyle Med](#), 2019, 9: 12–14
 - 49 Li Z L, Zhang H L, Huang Y, et al. Autophagy deficiency promotes triple-negative breast cancer resistance to T cell-mediated cytotoxicity by blocking tenascin-C degradation. [Nat Commun](#), 2020, 11: 3806
 - 50 Kalscheuer S, Khanna V, Kim H, et al. Discovery of HSPG2 (Perlecan) as a therapeutic target in triple negative breast cancer. [Sci Rep](#), 2019, 9: 12492
 - 51 King T D, Suto M J, Li Y. The Wnt/ β -catenin signaling pathway: a potential therapeutic target in the treatment of triple negative breast cancer. [J Cell Biochem](#), 2012, 113: 13–18
 - 52 Venkatadri R, Iyer A K V, Kaushik V, et al. A novel resveratrol-salinomycin combination sensitizes ER-positive breast cancer cells to apoptosis. [Pharmacol Rep](#), 2017, 69: 788–797
 - 53 Du H, Zhou B, Zhang H, et al. Salinomycin inhibits canine mammary carcinoma *in vitro* by targeting cancer stem cells. [Oncol Lett](#), 2017, 14: 427–432
 - 54 Gong C, Yao H, Liu Q, et al. Markers of tumor-initiating cells predict chemoresistance in breast cancer. [PLoS ONE](#), 2010, 5: e15630
 - 55 Oak P S, Kopp F, Thakur C, et al. Combinatorial treatment of mammospheres with trastuzumab and salinomycin efficiently targets HER2-positive cancer cells and cancer stem cells. [Int J Cancer](#), 2012, 131: 2808–2819
 - 56 Huang X, Borgström B, Kempengren S, et al. Breast cancer stem cell selectivity of synthetic nanomolar-active salinomycin analogs. [BMC Cancer](#), 2016, 16: 145
 - 57 Versini A, Colombeau L, Hienzsch A, et al. Salinomycin derivatives kill breast cancer stem cells by lysosomal iron targeting. [Chemistry](#), 2020, 26: 7416–7424
 - 58 Jones P, Cade J E, Evans C E L, et al. Does adherence to the World Cancer Research Fund/American Institute of Cancer Research cancer prevention guidelines reduce risk of colorectal cancer in the UK Women’s Cohort Study? [Br J Nutr](#), 2018, 119: 340–348
 - 59 Novellademunt L, Antas P, Li V S W. Targeting Wnt signaling in colorectal cancer. A review in the theme: Cell signaling: proteins, pathways and mechanisms. [Am J Physiol Cell Physiol](#), 2015, 309: C511–C521
 - 60 Klose J, Eissele J, Volz C, et al. Salinomycin inhibits metastatic colorectal cancer growth and interferes with Wnt/ β -catenin signaling in CD133⁺ human colorectal cancer cells. [BMC Cancer](#), 2016, 16: 896
 - 61 Wang Z, Feng T, Zhou L, et al. Salinomycin nanocrystals for colorectal cancer treatment through inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. [Nanoscale](#), 2020, 12: 19931–19938
 - 62 Klose J, Kattner S, Borgström B, et al. Semi-synthetic salinomycin analogs exert cytotoxic activity against human colorectal cancer stem cells. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2018, 495: 53–59
 - 63 Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2020. [CA Cancer J Clin](#), 2020, 70: 7–30
 - 64 Feng C, Hu B, Hu B, et al. Comparative study of conventional US, contrast enhanced US and enhanced MR for the follow-up of prostatic radiofrequency ablation. [Exp Ther Med](#), 2017, 13: 3535–3542

- 65 Litwin M S, Tan H J. The diagnosis and treatment of prostate cancer: A review. *JAMA*, 2017, 317: 2532–2542
- 66 Inoki K, Ouyang H, Zhu T, et al. TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell*, 2006, 126: 955–968
- 67 Lu W, Li Y. Salinomycin suppresses LRP6 expression and inhibits both Wnt/ β -catenin and mTORC1 signaling in breast and prostate cancer cells. *J Cell Biochem*, 2014, 115: 1799–1807
- 68 Zhang Y, Liu L, Li F, et al. Salinomycin exerts anticancer effects on PC-3 cells and PC-3-derived cancer stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 4101653
- 69 Lento W, Congdon K, Voermans C, et al. Wnt signaling in normal and malignant hematopoiesis. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, 5: a008011
- 70 Luis T C, Ichii M, Brugman M H, et al. Wnt signaling strength regulates normal hematopoiesis and its deregulation is involved in leukemia development. *Leukemia*, 2012, 26: 414–421
- 71 Zhao Y, Zhong L, Liu L, et al. Salinomycin induces apoptosis and differentiation in human acute promyelocytic leukemia cells. *Oncol Rep*, 2018, 40: 877–886
- 72 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394–424
- 73 Qu R, Sun Y, Li Y, et al. MicroRNA-130a-3p suppresses cell viability, proliferation and invasion in nasopharyngeal carcinoma by inhibiting CXCL12. *Am J Transl Res*, 2017, 9: 3586–3598
- 74 Lai S Z, Li W F, Chen L, et al. How does intensity-modulated radiotherapy versus conventional two-dimensional radiotherapy influence the treatment results in nasopharyngeal carcinoma patients? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 80: 661–668
- 75 Wu D, Zhang Y, Huang J, et al. Salinomycin inhibits proliferation and induces apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma cell *in vitro* and suppresses tumor growth *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443: 712–717
- 76 He L, Zhou F L, Fan J Y, et al. Research of Yiqi Jiedu Decoction combined with salinomycin on inhibiting proliferation of nasopharyngeal carcinoma stem cell (in Chinese). *China J Trad Chin Med Phar*, 2020, 35: 1164–1169 [何兰, 周芳亮, 范婧莹, 等. 益气解毒方联合盐霉素抑制鼻咽癌干细胞增殖效应的研究. *中华中医药杂志*, 2020, 35: 1164–1169]
- 77 Hoff A O, Hoff P M. Medullary thyroid carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2007, 21: 475–488
- 78 Alqahtani T, Kumarasamy V M, Huczyński A, et al. Salinomycin and its derivatives as potent RET transcriptional inhibitors for the treatment of medullary thyroid carcinoma. *Int J Oncol*, 2019, 56: 348–358
- 79 Li M, Ding X, Zhang Y, et al. Antisense oligonucleotides targeting lncRNA AC104041.1 induces antitumor activity through Wnt2B/ β -catenin pathway in head and neck squamous cell carcinomas. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 672
- 80 Chen J, Ji P, Su L Z, et al. Effects of salinomycin on proliferative, migratory and invasive property of tongue squamous cell carcinoma cells *in vitro* (in Chinese). *Shanghai J Stomatol*, 2019, 28: 20–24 [陈洁, 季平, 苏雷震, 等. 沙利霉素对舌鳞癌细胞体外增殖、侵袭和迁移能力的影响. *上海口腔医学*, 2019, 28: 20–24]
- 81 Lindsey B A, Markel J E, Kleinerman E S. Osteosarcoma overview. *Rheumatol Ther*, 2017, 4: 25–43
- 82 Biazzo A, De Paolis M. Multidisciplinary approach to osteosarcoma. *Acta Orthop Belg*, 2016, 82: 690–698
- 83 He H, Ni J, Huang J. Molecular mechanisms of chemoresistance in osteosarcoma (Review). *Oncol Lett*, 2014, 7: 1352–1362
- 84 Janeway K A, Grier H E. Sequelae of osteosarcoma medical therapy: a review of rare acute toxicities and late effects. *Lancet Oncol*, 2010, 11: 670–678
- 85 Miow Q H, Tan T Z, Ye J, et al. Epithelial-mesenchymal status renders differential responses to cisplatin in ovarian cancer. *Oncogene*, 2015, 34: 1899–1907
- 86 Nik N N, Vang R, Shih I M, et al. Origin and pathogenesis of pelvic (ovarian, tubal, and primary peritoneal) serous carcinoma. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9: 27–45
- 87 He Y, Wang H, Yan M, et al. High LIN28A and PLK4 co-expression is associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Mol Med Rep*, 2018, 18: 5327–5336
- 88 Kurman R J, Shih I M. The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised, and expanded. *Am J Pathol*, 2016, 186: 733–747
- 89 Arend R C, Londoño-Joshi A I, Straughn Jr. J M, et al. The Wnt/ β -catenin pathway in ovarian cancer: a review. *Gynecol Oncol*, 2013, 131: 772–779

- 90 Rask K, Nilsson A, Brännström M, et al. Wnt-signalling pathway in ovarian epithelial tumours: increased expression of beta-catenin and GSK3beta. *Br J Cancer*, 2003, 89: 1298–1304
- 91 Tam W L, Weinberg R A. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med*, 2013, 19: 1438–1449
- 92 Polyak K, Weinberg R A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 265–273
- 93 Li R, Dong T, Hu C, et al. Salinomycin repressed the epithelial-mesenchymal transition of epithelial ovarian cancer cells via downregulating Wnt/ β -catenin pathway. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 1317–1325
- 94 Chung H, Kim Y H, Kwon M, et al. The effect of salinomycin on ovarian cancer stem-like cells. *Obstet Gynecol Sci*, 2016, 59: 261–268
- 95 Zheng Y W, Gao P F, Ma M Z, et al. Role of ubiquitin-conjugating enzyme E2T in the carcinogenesis and progression of pancreatic cancer. *Oncol Lett*, 2020, 20: 1462–1468
- 96 Zeng G, Germinaro M, Micsenyi A, et al. Aberrant Wnt/beta-catenin signaling in pancreatic adenocarcinoma. *Neoplasia*, 2006, 8: 279–289
- 97 Zhang G N, Liang Y, Zhou L J, et al. Combination of salinomycin and gemcitabine eliminates pancreatic cancer cells. *Cancer Lett*, 2011, 313: 137–144
- 98 He L, Wang F, Dai W Q, et al. Mechanism of action of salinomycin on growth and migration in pancreatic cancer cell lines. *Pancreatology*, 2013, 13: 72–78
- 99 Flaig T W, Spiess P E, Agarwal N, et al. Bladder cancer, version 3.2020, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*, 2020, 18: 329–354
- 100 Ou R J, Shi A P, Yang H M, et al. Inhibitory effect of salinomycin on growth of human bladder cancer 5637 cells (in Chinese). *J Jilin Univ (Med Edit)*, 2014, 40: 607–611 [欧仁杰, 石爱平, 杨红梅, 等. 盐霉素对人膀胱癌5637细胞的生长抑制作用. 吉林大学学报(医学版), 2014, 40: 607–611]
- 101 Zeng J, Liu C C, Zhu A Z, et al. Salinomycin inhibited proliferation and induced apoptosis of cisplatin-resistant human lung adenocarcinoma cell line A549/DDP (in Chinese). *Chin J Pathophysiol*, 2012, 28: 834–838 [曾葭, 刘成成, 祝爱珍, 等. 盐霉素抑制人肺腺癌耐顺铂细胞株A549/DDP增殖及诱导凋亡的机制. 中国病理生理杂志, 2012, 28: 834–838]
- 102 Arvold N D, Reardon D A. Treatment options and outcomes for glioblastoma in the elderly patient. *Clin Interv Aging*, 2014, 9: 357–367
- 103 Stupp R, Mason W P, van den Bent M J, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*, 2005, 352: 987–996
- 104 Asik A, Ay N P O, Bagca B G, et al. Combination of salinomycin and AZD3463 reveals synergistic effect on reducing the viability of T98G glioblastoma cells. *Anticancer Agents Med Chem*, 2020, 20: 2267–2273
- 105 Amant F, Moerman P, Neven P, et al. Endometrial cancer. *Lancet*, 2005, 366: 491–505
- 106 Kusunoki S, Kato K, Tabu K, et al. The inhibitory effect of salinomycin on the proliferation, migration and invasion of human endometrial cancer stem-like cells. *Gynecol Oncol*, 2013, 129: 598–605
- 107 Bardsley M R, Horváth V J, Asuzu D T, et al. Kitlow stem cells cause resistance to kit/platelet-derived growth factor alpha inhibitors in murine gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology*, 2010, 139: 942–952
- 108 Yao H J, Zhang Y G, Sun L, et al. The effect of hyaluronic acid functionalized carbon nanotubes loaded with salinomycin on gastric cancer stem cells. *Biomaterials*, 2014, 35: 9208–9223

Inhibition of anti-cancer stem cells drug salinomycin on Wnt/ β -catenin signaling pathway

LI YingSi, LIU BoXin, SUN Qi & LU DeSheng

Department of Pharmacology, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518086, China

Cancer stem cells (CSCs) are a small subset of cells able to self-renew, differentiate, and generate heterogenous cells, which play a vital role in the tumorigenesis, development, recurrence, metastasis and resistance of tumors. Therefore, developing agents targeting CSCs holds promise to eradicate cancer cells in the future, which provides a novel direction for anti-tumor drug research. Recently, a substantial number of experiments have confirmed the killing effect of salinomycin on CSCs in many types of cancers, including liver cancer, breast cancer, gastric cancer, colorectal cancer, prostate cancer, and osteosarcoma. Salinomycin not only inhibits the proliferation, differentiation and metastasis of CSCs, but also induces their apoptosis. The occurrence and development of cancers and CSCs are crucially influenced by the aberrant activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway, a highly conservative signaling system in the process of biological evolution closely associated with biological processes such as tissue development and organogenesis. Accordingly, targeting the abnormally activated Wnt signaling pathway could inhibit the proliferation of cancer cells and CSCs, and induce their apoptosis. Wnt/ β -catenin signaling pathway plays an essential part in the effect of salinomycin on CSCs. This paper reviews the research progress that salinomycin inhibits CSCs via regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

salinomycin, Wnt/ β -catenin signaling pathway, cancer stem cells, targeted therapy

doi: [10.1360/SSV-2021-0008](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0008)