

克服耐药性的研究进展

浙江省肿瘤医院 陈万源

化疗对多数恶性肿瘤的效果往往欠佳, 近十几年来研究表明, 导致化疗失败的主要原因是肿瘤细胞产生多药耐药性 (Multi-drug resistance MDR), 即肿瘤细胞一旦对某一抗癌药产生耐药性, 同时获得对其他结构和作用机制不同的药物的抗药性。肿瘤细胞一般对天然植物碱类和抗生素类抗癌药易产生耐药性及交叉耐药性, 耐药细胞与其相应的敏感细胞比较, 在药物处理后, 其细胞内药物浓度明显低于敏感细胞。早在 1976 年, Juliano 和 Ling 发现仓鼠 MDR 细胞膜上高度表达一种糖蛋白, 分子量约 170KD, 命名为 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, Pgp), 现已阐明其分子结构, 证明 Pgp 为能量依赖性药物排出“泵”, 促使细胞内药物外排, 胞内药物积聚下降, 减少了对细胞的毒性作用, 之后许多学者报道耐药细胞膜上常有 Pgp 过表达; Pgp 与 MDR 有关的直接证据是药物敏感细胞膜被融合入 Pgp 后即表现出耐药性。Pgp 的编码基因是 mdrl。研究表明, 有的耐药细胞无 Pgp 过表达, 细胞内药物浓度与敏感细胞无差异, 而 DNA 拓扑异构酶 I (Topo I) 的含量及活性有所下降, Danks 把这类耐药细胞称为 at-MDR (A typical MDR), 以区别于过表达 Pgp 的“典型”的耐药细胞。Topo I 含量及活性下降, 使其导致的 DNA 断链活性降低。耐药性的产生可能与 GSH、GST 等有关, 最近发现药物在耐药细胞和敏感细胞内分布有很大差异。说明肿瘤细胞产生耐药性是多因素的, 耐药性的存在, 大大限制了抗癌药的疗效发挥, 如何逆转耐药性, 提高肿瘤细胞对药物的敏感性, 是近年来国外研究的热点, 耐药细胞有不同的表型, 可用不同手段从多方面来克服耐药性, 现概述如下。

一、药物逆转耐药性

(一) 对 Pgp 上的药物结合位点的竞争抑制: 研究发现, Pgp 的质膜胞浆一侧有一个药物结合位点, 某些药物或化合物能与抗癌药竞争结合 Pgp 上的药物结合位点, 使细胞内药物外排减少, 细胞耐药性

由此部分或完全被逆转。Pgp 能直接与标记的光亲和性长春花碱类似物 ^{125}I -NASV 结合, 这种结合被二氢吡啶类似物 NK-138、NK-194、NK-200、NK-203、NK-220 及利血平、千金藤素所阻断。NK-138 等阻滞耐药细胞内长春新碱 (VCR) 的外排, 增加药物毒性作用。Kees 等报道, 人白血病耐药细胞和敏感细胞对柔红霉素 (DRN) 的 50% 集落形成抑制浓度分别为 $3.4\mu\text{M}$ 和 $0.8\mu\text{M}$, $3\mu\text{M}$ 的环胞霉素 A (cy-A) (临幊上可达此浓度) 可使耐药细胞对 DRN 的敏感性提高 5 倍。曲霉菌链 M₃ 能产生二种 Pgp 抑制物, 即 Rubrofusarin B (RF-B) 和 Dianhydro-aurasperone C (DA-C), RF-B 能轻度逆转人表皮细胞瘤耐药株 KB-C₂ 对阿霉素 (ADM) 和 DRN 的敏感性, 部分逆转对放线菌素 A₃ 和完全逆转对 VCR 和丝裂霉素 C (MMC) 的敏感性; DA-C 能使另一耐药细胞株 KB-8-5 细胞内 VCR 外排减少。两者在逆转 KB-8-5 耐药性有相同效果, 它们与 Pgp 相互作用, 抑制其“泵”功能, 在 $10\mu\text{M}$ 时, 可完全抑制 Pgp 的药物外排作用。Wakao 等研究发现, 在 $30\text{nM}^3\text{H}$ -VCR 的环境中, 4 个小时后, K₅₆₂/ADM 和 K₅₆₂ 细胞内的 VCR 浓度分别为 0 和 6.3pM , 如果加上 $3\mu\text{M}$ 的 MS-073, 则 K₅₆₂/ADM 细胞内 VCR 达 3.6pM , 还发现 $10\mu\text{M}$ M-073 能使 Pgp 上 95% 的 ^3H -azidopine 光亲和性标记被抑制, 说明 MS-073 竞争 Pgp 上药物结合位点, 阻滞药物外排。其它能与 Pgp 相互作用的如 PAK-104P 等, 均可不同程度逆转耐药性。

(二) 钙通道阻滞剂: 钙通道阻滞剂异搏定 (VER) 逆转耐药性的研究始于八十年代初。VER 能使耐药细胞内药物浓度增高, 并增加其对药物的敏感性, 而对药物敏感细胞影响不大; VER 对表达 Pgp 的 MDR 细胞作用明显, 对 at-MDR 细胞作用不显著。VER 逆转细胞耐药性时, 呈剂量依赖性, 而与钙离子浓度无关; 其浓度大于 $6\mu\text{M}$ 时, 有较强的逆转作用, 见表。

表

异搏定逆转细胞耐药性的作用

作者	时间(年)	耐药细胞株	药物	测定指标	结果
Mitali	90	CHO/ADM	ADM ^N ADM _A	IC ₅₀	NI _{C₅₀} =15倍 AI _{C₅₀}
Xiu F	90	CEM/VLB ₁₀₀₀	ADM ^N ADM _A	IC ₅₀	270±10.6 23.7±3.7 μg/ml
		CEM/VLB ₁₀₀	ADM ^N ADM _A	IC ₅₀	96±8.5 5.7±0.2 μg/ml
Taylor	91	MCF7/D40	ADM ^N ADM _A	IC ₅₀	30 3.1 μM
			MTX ^N MTX _A	IC ₅₀	8.1 1.2 μM
MAX	89	ADM-RFLC3	Rh ₀ 123 ^N Rh ₀ 123 _A	胞内浓度	0.04 0.31 荧光强度
Broxterman	90	2780AD	DNR ^N DNR _A	胞内浓度	19±3 113±2 pm

N: 抗癌药不加异搏定

A: 抗癌药加异搏定

高浓度异搏定对心脏毒性作用较大, 临幊上难以达到, Coenraad 等发现, Bepridil 能逆轉人耐药细胞对抗生素类抗癌药的敏感性, 而且心脏毒性作用比 VER 小。因此, 还需进一步研究发现低毒高效的逆轉剂。

(三) 增加细胞膜通透性: 有些药物或化合物是通过调节细胞膜的通透性, 来增加耐药细胞内药物浓度, 提高细胞对药物的敏感性, 如植物二萜、Faskolin、二性霉素等。二性霉素使耐药细胞膜形成亲水性通道, 膜通透性增高, 胞内药物浓度明显升高, 同时伴有细胞内 K⁺外流, 对敏感细胞则影响不大。非小细胞肺癌 (PC-G) 及其耐顺铂细胞 (PC-9/0.5) 对顺铂的 50% 生长抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 0.5 μg/ml 和 8.9 μg/ml, 如果用 5 或 10 μg/ml 的二性霉素作为逆轉剂, 则 PC-9/0.5 对顺铂的 IC₅₀ 分别降至 3.1 和 1.1 μg/ml; 二性霉素用超声波处理后被包在脂质体内, 可使其在瘤体内浓度达到 5-20 μg/ml, 这为临床治疗提供可能性。细胞膜通透性的改变一般对逆轉剂具有依赖性, 即撤離逆轉剂后, 胞膜通透性很快恢复原状, Akihiro 等发现, SDB-ethylenediamine 可增加耐药细胞的膜透性, 这种作用可在撤離此药后维持 2 个小时。

(四) 促使 DNA 链断裂: 细胞 DNA 往往是一些抗癌药如抗生素类抗癌药的作用靶点, 药物引起的 DNA 链断裂在敏感细胞明显高于耐药细胞, 但二种细胞的 DNA 修复能力未见差异。Tan 等发现, at-MDR 细胞 Topo I 基因中有一个等位基因被重排, 表现出高甲基化, 这为我们提供一个用抑制甲基化的药来逆轉耐药性的可能途径。Naoya 等报道, MX,

引起 DNA 链断裂, 逆轉了细胞的耐药性。耐药细胞和敏感细胞对抗癌药影响 DNA 复制合成的反应不同, 前者影响不大, 后者却明显受到抑制。因此, 抑制 DNA 复制, 促使 DNA 断裂的药物, 将有效发挥抗癌作用。

二、细胞因子逆轉耐药性

生物治疗应用于肿瘤临幊, 已取得一定疗效。Rik 等报道, 人乳腺癌细胞及多发性骨髓瘤细胞的耐药株, 尽管它们的 Pgp 表达水平不同, 与它们的敏感细胞株一样, 均显示出对 NK 细胞和 LAK 细胞的敏感性, 或更敏感。表皮生长因子 (EGF) 能增加人鳞癌细胞 A₄₃₁ 对阿霉素的敏感性, 这种作用在耐药细胞株 A₄₃₁/A₅、A₄₃₁/A₁₀ 更为明显, 可能机理是耐药细胞表面高度表达 EGF 受体, EGF 与受体结合, 激活多种酶 (如蛋白激酶 C, 酪氨酸激酶)。α-干扰素 (α-IFN) 也具有逆轉细胞耐药性的作用, 500u/ml 的 α-IFN 与阿霉素联合应用, 能使人结肠癌细胞 Lovo 的耐药株 Lovo/DX 细胞内阿霉素浓度增加 6 倍, IC₅₀ 从 7000ng/ml 降至 80ng/ml, 对敏感细胞影响不大。α-IFN 的逆轉作用与 Pgp 无关, 逆轉机理可能与其促使药物内流或增加抗癌药与细胞内蛋白结合有关。细胞因子调节、逆轉细胞的耐药性, 可避免象某些药物逆轉耐药性时所带来的副作用, 具有潜在的临床意义。

三、高温联合化疗克服耐药性

肿瘤细胞对热的敏感性高于正常细胞, 热敏感性与肿瘤细胞病理类型无关, 在高温条件下 (40-43℃), 细胞膜通透性增高, 使细胞对抗癌药的摄入增多; 同时, 肿瘤组织因血供差, 及其血管对热反应

不敏感，散热能力比正常组织弱，易致组织内缺氧，pH 值下降，增强抗癌药的活性。高温联合化疗能抑制由于高温和抗癌药所引起的 DNA 损伤的修复，对耐药细胞 DNA 修复的抑制作用尤为显著，而且耐药细胞对高温不出现耐热，这样，高温联合化疗能有效杀伤耐药细胞。全身热疗对机体免疫系统影响不大，但往往有其它明显副作用，局部加温也受到加温设备及测温条件等限制，均需进一步研究。

四、其他

研究表明，耐药细胞对抗癌药的摄取和细胞内药物积聚低于敏感细胞，如果把耐药细胞置于无糖培养基，细胞摄取药物明显增多，即中止能量供给，可逆转细胞耐药性。另外，酸性环境能提高肿瘤细胞

对高温化疗的敏感性，使耐药细胞对热疗更敏感。其它如三苯氧胺、ICI₁₆₁₃₈₄，也具有逆转耐药性的作用。

综上所述，可用多种方法达到逆转肿瘤细胞耐药性，为肿瘤临床化疗开辟新的道路，尤其是通过药物作用逆转耐药性，但多数有副作用，限制了其使用，还需寻找新的低毒高效逆转剂。细胞因子逆转耐药性是一条新途径，付作用少，同时具有生物治疗特性。由于高温需要严格的加温和测温系统，及高温引起的付作用，不易推广。研究表明，多数耐药细胞有 mdrl 扩增，一旦 mdrl 表达水平下降或丧失扩增，细胞耐药性随之消失，因此，在基因水平上加以调控，将从根本上解决了 MDR 问题。（本文参考文献 39 篇从略）

子宫内膜腺鳞癌 1 例

山东滨州地区人民医院放疗科 于甬华 陈兴秀

子宫内膜腺鳞癌少见，我们经治一例，报道如下：

女患，46 岁，农妇。10 月前阴道不规则流血，间隔 6—7 天，持续 10 多天。量多，血块多，同房时有血流出。白带多，有腥臭味。伴头晕、全身乏力，腰痛，下腹坠痛。近 2 月来阴道流血不止，时多时少，并有烂肉排出。查体：耻骨联合上可触及宫体质硬，轻压痛，活动差。两下肢凹陷性水肿。妇查：外阴（-），阴道壁光滑，宫颈新生物呈菜花状突向阴道内，直径约 5cm。质脆，触之易出血。宫体如 4 月妊娠大，均匀增大，硬、活动欠佳。附件（-）。骶韧带增粗，未侵达盆壁。宫颈活检病理：腺癌。B 超示：子宫前位，13.4×8.1cm 大小。宫底处见约 6.6×5.8cm 之强弱回声不均匀块，边界不清，粘膜线显示不清。诊断：宫内实质性占位。手术见子宫孕 3 月大，充血，壁软。左卵巢菜花样新生物。行子宫全切，附件及淋巴清扫。子宫剖视：整个宫腔内及颈管内均呈烂豆渣样，宫体肌层侵犯一半，宫颈原形消失，阴道后壁受累约 3cm。术后病理：子宫内膜腺鳞癌累及颈管、阴道，左卵巢转移，左腹股沟淋巴结转移。术后骨盆前后两野⁶⁰Co 外照射 DT50Gy/35 天。随访 2 年

3 个月死于肺转移。

讨论 子宫内膜鳞癌的发生机理意见不一，多数学者支持以下两种理论：一是鳞上皮来源于子宫内膜的未分化细胞，另一是认为来自瘤性上皮化生^[1]。文献报道，腺鳞癌与腺棘皮癌及纯腺癌病人的预后并不相同，前者较后二者预后差^[2-4]。原因在于腺鳞癌内含有较高比例的分化差的腺癌组织以及其浸润宫体肌层或宫颈较重。腺鳞癌的组织特征是：腺癌组织中有恶性鳞形上皮成份，与腺体毗邻或有结缔组织相隔。在分化较好的病例中，两者成份分辨较清楚；分化差者，不易识别。其中腺癌多属Ⅱ级，鳞癌成份可为角化大细胞型和圆形或梭形小细胞型。

子宫内膜虽然与卵巢的淋巴道关系密切，但卵巢的转移很少见，有人报道约占 3.5%。该癌扩散早，主要经静脉扩散，约占 50%，其次是输卵管扩散。由于缺乏特殊症状，多数就诊时已属晚期如本例。腺鳞癌的预后与分化差的腺癌相似，60 岁以上的病人预后更差。国外统计 5 年生存率为 19.3%。治疗以手术根治为主，术后放化疗可望提高疗效。