

肿瘤化疗的新策略

New Strategy for Tumor Chemotherapy

陈建敏

(军事医学科学院, 博士研究生)

章扬培

(军事医学科学院, 副研究员)

提 要 近年来的研究发现, 肿瘤细胞耐药性是一种非常复杂的生物学现象, 涉及P-糖蛋白、O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶、谷胱甘肽S-转移酶、二氢叶酸还原酶等多种蛋白(或酶)的异常表达。它们分别构成了肿瘤细胞对一种(类)或几种(类)化疗药物耐受的重要分子基础。文章从三个方面探讨今后肿瘤化疗发展的新策略: 肿瘤耐药的分子基础作为预见指标, 指导临床有针对性地使用化疗药物; 肿瘤耐药的分子基础作为化疗的新靶, 开发新一代抗癌药物; 肿瘤耐药的分子基础作为“盾牌”, 提高机体耐受力, 以提高化疗效果。

化疗作为肿瘤治疗三大支柱(手术, 化疗, 放疗)之一, 在人类征服癌症的进程中发挥着重要的作用。联合使用多种细胞毒化疗药物已能治愈某些恶性肿瘤(如小儿急性淋巴性白血病、绒毛膜上皮癌、肾母细胞瘤、伯基特淋巴瘤和何杰金氏病等), 但对于大多数恶性肿瘤尤其是成年人转移癌的治疗仍不尽人意。其中最大的障碍源于肿瘤耐药性的产生, 致使化疗药物对肿瘤不再有效, 并导致复发。因此, 从阐明肿瘤耐药的分子机制入手, 将会为临床化疗提供全新的思路, 从而开创肿瘤治疗的新局面。

近年来的研究发现, 肿瘤耐药是一种非常复杂的生物学现象, 涉及多种酶或蛋白的改变, 它们的过高或过低表达导致了肿瘤对化疗药物的抗性。换言之, 这些酶或蛋白分别构成了肿瘤细胞对一种或几种化疗药物耐受的分子基础。表1列出了部分与肿瘤耐药有关的蛋白或酶。

本文仅以目前研究最为活跃的P-糖蛋白为代表, 首先介绍它与危害最大的肿瘤多药耐药性的关系, 然后以此为基础, 探讨今后肿瘤化疗发展的新方向。最后概述国内有关研究动态。

一、P-糖蛋白与肿瘤多药耐药

临床上经常发现, 在对病人进行化疗时, 一开始肿瘤迅速缩小, 但过一段时间后, 又再次开始生长, 此时肿瘤不仅耐受正在使用的药物, 而且可以耐受其他多种结构和功能完全不同的化疗药物, 这种耐药性即称为多药耐药性(Multidrug resistance, MDR)。MDR并不涉及所有抗癌剂, 如抗代谢物甲氨喋呤、甾体化合物地塞米松、烷化剂卡莫司汀(BCNU)等都不受影响, 而主要针对天然来源的疏水性抗肿瘤药物如长春新碱、秋水仙碱等药物(详见表1)。

对MDR分子机制的阐明, 首先来自以耐药细胞系为工具进行的大量工作。70年代初, 人们用化疗药物诱导建立了体外培养的MDR细胞系, 随后观察到MDR细胞膜上常常出现分子量为17万道尔顿糖蛋白的过度表达。进一步研究发现MDR细胞排出药物的能力大大增强, 而药物进入细胞的速度与亲代敏感细胞相比则无明显差异, 提示这种糖蛋白可能与细胞膜的通透性(Permeability)有关, 故称之为P-糖蛋白(P-glycoprotein, PgP)。80年代以来, PgP的编码基因mdr1也已分离和鉴定。将mdr1基因导入原药物敏感细胞, 可使之稳定持久地表达MDR。

表1 部分与肿瘤耐药有关的蛋白或酶

蛋白或酶	表达	耐受药物
P-糖蛋白	升高	阿霉素、放线菌素 D、长春新碱、VP16、VM26、秋水仙碱、长春地辛、长春碱、丝裂霉素 C
0 ⁸ -甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶	升高	BCNU、CCNU、ACNU
谷胱甘肽 S-转移酶	升高	阿霉素、放线菌素 D、VP16、VM26、美法仑、顺铂、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、BCNU
拓扑酶 II	降低	阿霉素、放线菌素 D、VP16、VM26、安吡啶
二氢叶酸还原酶	升高	甲氨喋呤
胸苷酸合成酶	升高	5-氟尿嘧啶
细胞周期相关蛋白	升高	阿霉素、甲氨喋呤、长春新碱、羟基脲

PgP分子由1280个氨基酸组成,可分为几乎相等的两部分,每一部分都有一个亲水区和一个疏水区,前者突出于细胞质中,后者主要埋伏在双层脂质细胞膜中,在胞膜外部分接有糖基。目前一般认为,位于胞膜内侧的亲水区域既具有抗肿瘤药物的结合部位,又具有ATP的结合部位。PgP一旦与抗肿瘤药物结合,即可利用ATP提供的能量,将药物从胞内泵出胞外,抗肿瘤药物在细胞内浓度不断下降,其细胞毒作用因而减弱或完全消失,出现耐药现象。

近年来,不少学者探讨了人肿瘤组织中mdrl基因和PgP的表达状况与MDR的关系,发现通常对化疗不敏感的肿瘤组织中mdrl基因和PgP的表达水平较高,而通常对化疗敏感的肿瘤组织中mdrl基因和PgP的表达水平较低,并证实PgP的含量与肿瘤病人的预后直接相关,从而进一步证实了PgP在MDR产生中的关键作用。

二、肿瘤化疗的新策略

肿瘤耐药分子机制的逐步阐明,反映了人们认识世界的能动过程,而认识世界的根本目的在于改造世界,因此如何根据肿瘤耐药的分子基础来指导基础研究和临床实践,就成为提高化疗水平的关键。下面从三个方面探讨今后肿瘤化疗的新策略。

1. 肿瘤耐药的分子基础作为预见指标,指导临床有针对性地使用化疗药物

在肿瘤患者接受治疗以前,如果能够预先检测患者肿瘤部位的mdrl基因或PgP的表达状况,然后对于mdrl或PgP低表达的肿瘤,有针对性地使用天然来源的疏水性抗癌药物如长春新碱、放线菌素等(详见表1);对于mdrl或PgP高表达的肿瘤,则避免使用上述药物,而选用抗代谢药物及烷化剂等。这样将会减少化疗的盲目性,提高针对

性,从而最大程度地发挥有效药物的杀伤作用,最大程度地避免在化疗联合方案中使用无效药物,减少毒副作用。

作为检测手段的免疫组化技术和核酸分子杂交技术相比,前者较后者更具优越性。这主要由于核酸分子杂交技术通常需要首先将肿瘤组织匀浆,然后再提取DNA或RNA进行测定。由于肿瘤组织并非完全均一的实体,而是由肿瘤实质(即肿瘤细胞)和肿瘤间质(起支持营养作用的结缔组织和血管成分)组成,这就不可避免地会出现两种可能:一是肿瘤细胞本身mdrl基因不表达,而肿瘤间质mdrl基因高表达,造成假阳性结果;二是仅有少数肿瘤细胞mdrl基因高表达,但由于稀释作用而呈假阴性。采用聚合酶链式反应(PCR)技术首先进行基因扩增,虽能提高检测的灵敏度,但仍不能排除假阳性结果。与之相比,免疫组化技术能够在单个细胞水平检测PgP的表达状况,这无疑将为临床治疗提供更为可靠的信息。

2. 将肿瘤耐药的分子基础作为化疗的新靶,开发新一代抗癌药物

肿瘤耐药的分子基础在为化疗提供预见性指标的同时,也为化疗提供了可以利用的新靶。可以设想,对于mdrl基因或PgP高表达的肿瘤,预先采用一定的手段,首先抑制mdrl基因或PgP的表达和功能,然后再使用天然来源的抗癌药物,可望获得较好的临床疗效,这将大大开阔这类药物的应用范围,并将在那些对几乎所有的化疗药物都不敏感的肿瘤的治疗中发挥作用。欲达这一目的,可考虑通过以下三条途径:

(1)利用反义技术,用人工合成或生物体合成的特定互补的DNA或RNA片段(或其化学修饰产物),特异地抑制mdrl DNA的转录或mdrl RNA的翻译,在基因水平阻断PgP的表达。鉴于存在于胞浆中的mRNA较存在于胞核中的DNA提供了易于寡聚核苷酸接近的靶,反义RNA比反义DNA更具吸引力。目前国外已有学者在此方面进行了有益的尝试。

(2)利用单克隆抗体特异地结合PgP来抑制或破坏MDR肿瘤细胞。关于此项工作人们进行了大量研究,在实验过程中也遇到了一定的困难,主要是难以得到针对PgP胞膜外成分的抗体。因此,一些致力于开发MDR治疗药物的公司不得不将目光转向目前已经注册的现有单抗上。其中日本科学家研制的MRK16引起了人们的注意。MRK16是通过用完整的对阿霉素呈抗性的人骨髓型白血病K562细胞免疫Balb/c小鼠,再取免疫小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞融合、筛选得到的。它能够与人MDR肿瘤细胞胞膜上的PgP胞外成分起特异反应。MRK16可望通过与PgP结合,激活

补体,或连接上细胞毒素等途径杀伤MDR肿瘤细胞。MRK16还可应用于骨髓净化,清除混杂于骨髓中的MDR肿瘤细胞,为保证骨髓移植成功创造有利条件。

(3)研究和开发某些药物来拮抗化疗药物与PgP的结合,这也是目前MDR研究中的热点之一。这些药物包括异博定、奎尼定、利血平、环孢菌素和FK506等,它们可能主要通过与抗肿瘤药物竞争同一结合部位,使PgP与抗肿瘤药物的结合发生障碍,药物不再从胞内泵出胞外,耐药性得以克服或纠正,抗肿瘤作用得以增强。这一现象已在体外及体内实验中得到证实。如通常用于器官移植病人以抑制免疫排斥反应的环孢菌素能够有效地阻断急性骨髓型白血病的MDR,从而提高了阿霉素的治疗效果。但因环孢菌素毒副作用较大,人们正通过改构来合成一些新的、毒副作用小的类似物。有报道称,一种新的环孢菌素类似物将在欧洲进入一期临床试验,用作化疗药物的辅助药物。

3. 以肿瘤耐药的分子基础作为“盾牌”,提高机体对化疗药物耐受力

正常骨髓细胞对化疗药物很敏感,骨髓抑制通常是限制化疗药物剂量的主要因素。如前所述,mdr1基因的高表达使肿瘤细胞对化疗药物产生抗性,导致化疗的失败。那么能否利用mdr1基因来提高机体重要生命器官,尤其是骨髓对化疗药物的耐受,从而在不损伤机体重要生理功能的前提下,增大化疗药物的剂量来杀伤肿瘤细胞呢?最近的研究表明,mdr1基因能使小鼠骨髓细胞对化疗药物的耐受性增加10倍。同样,如果能够运用基因转移技术,使mdr1基因在人骨髓细胞高度表达,也将会大大提高机体对化疗药物的耐受。在此种情况下,随着用药剂量的增大,有可能治愈原来不能治愈的肿瘤,这将为临床化疗提供新的选择余地。据合众国际社今年5月21日报道,美国国立肿瘤研究所的科学家明年将开始利用mdr1基因作保护正常组织不受化疗药物毒性影响的人体试验。可以预言,采用基因治疗手段来克服耐药性在肿瘤的治疗中有着广阔的应用前景。

三、国内有关研究动态

近年来,国内许多学者对肿瘤耐药性显示出越来越浓厚的兴趣,仅介绍MDR研究进展的综述文章每年都在几篇以上。更为重要的是,肿瘤耐药性的分子机制已被国家卫生部列入“八五”期间重点攻关课题。据悉,已有多家科研单位开始从事这方面的研究工作。

我实验室自1986年开始进行有关O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O⁶-methylguanine

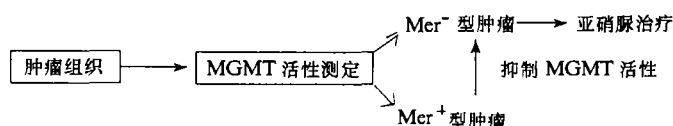
-DNA methyltransferase, MGMT)与肿瘤化疗的应用基础研究,至今已获得以下重要进展:

1. 探讨了20株中国人肿瘤细胞中MGMT活性和对亚硝脲药物ACNU敏感性的关系。发现两者之间基本上呈线性相关,即MGMT活性越低,对ACNU越敏感,从体外细胞水平证实MGMT活性是决定肿瘤细胞对ACNU敏感性的分子基础。

2. 将MGMT活性低的Mer⁻型肿瘤细胞和MGMT活性高的Mer⁺型肿瘤细胞植入裸鼠,成瘤后腹腔注射ACNU治疗,结果前者被高特异地治愈,而后者则继续生长,进一步从体内证实了MGMT活性是决定肿瘤细胞对ACNU敏感性的分子基础,并提出,根据临床检验,可指导医生对于MGMT活性低的Mer⁻型肿瘤,有针对性地使用亚硝脲药物进行预见性化疗。

3. 对74例不同类型肿瘤组织(包括乳腺癌、胃癌、肺癌、肾癌、食道癌、脑瘤和恶性黑色素瘤)中MGMT活性进行分析,率先报道MGMT活性在不同肿瘤组织中的分布规律与临床使用亚硝脲治疗肿瘤的经验基本相吻合,即在那些通常使用亚硝脲药物进行治疗的肿瘤中MGMT活性均值较低,这就从另一侧面支持了上述两项工作。此外还证实了确实存在MGMT活性低的Mer⁻型肿瘤,从而为预见性化疗方案的实施奠定了基础。

4. 链脲菌素、O⁶-苄基鸟嘌呤在体外、体内都能有效地抑制Mer⁺型肿瘤细胞中MGMT活性,提高这些细胞对ACNU的敏感性。这提示逆转肿瘤耐药的分子基础可以提高化疗效果。综合以上工作,我们提出了以MGMT活性为指标,使用亚硝脲药物对肿瘤进行预见性化疗的新途径:



综上所述,肿瘤耐药分子机制的逐步阐明,为临床化疗提供了新的思路。相信在今后的研究中,以肿瘤耐药的分子基础为指导,借助于生物高技术,人类将会在征服肿瘤的进程中取得更大的成绩。

(责任编辑 肖庆山)

(上接第5页)

受命于国务院的股息交易委员会。该组织独立于中央银行或其它任何一个机构,作为管理股票市场的唯一机构,明确其职责是对股票的发行、交易、经营机构等进行全面的管理。制定有关股票的法令法规,依法管理股票市场。在健全立法工作时,既应尊重国际惯例,借鉴外国的经验,又要结合中国实际,制定符合中国国情的股票市场法规。

(责任编辑 宋义荣)