



卿晨,女,博士,二级教授,博导。毕业于昆明医科大学临床医学专业,获学士学位;毕业于中国科学院上海药物研究所肿瘤药理专业,获博士学位,导师丁健院士。2004年晋升教授,2000年遴选为硕士,2007年遴选为博导。

主要研究领域为抗肿瘤活性物质筛选、抗肿瘤新药临床前药效学评价及作用机制研究。已主持完成国家自然科学基金项目3项(其中地区重点项目1项,国际合作项目1项),目前主持国家基金、省重点、省国际合作项目各1项,承担1项科技部新药重大专项的药效学评价工作。在国内外发表研究论文近50篇,其中SCI收录28篇。

获2008年度云南省自然科学二等奖1项,排名第一;获2009年度国家自然科学基金二等奖1项,排名第五。获2010年度云南省有突出贡献优秀专业技术人才称号。云南省中青年学术和技术带头人、云南省药学重点学科建设负责人。“昆明医科大学天然药物药理学研究省创新团队”带头人。以第一导师培养33名硕士研究生毕业。连续10余年承担研究生选修课《细胞培养与实践》、《细胞分子生物学》的教学工作,承担本科生《药理学》的教学任务。

现任昆明医科大学药学院院长兼云南省天然药物药理重点实验室主任。兼任中国药理学学会常务理事、云南省药理学学会理事长、云南省植物学会常务理事、云南省民族药开发技术创新联盟理事、云南省执业药师学会理事,中国药理学会化疗药理、生化与分子药理学、补益药药理专业委员会委员。担任国家自然科学基金委评议专家。

恶性肿瘤化疗耐药及克服耐药的研究

在恶性肿瘤的治疗中,药物治疗(化疗)具有不可替代的作用。但在化疗过程中肿瘤细胞产生的耐药,主要是多药耐药(multidrug resistance, MDR)是肿瘤化疗失败的主要原因和临床上亟待解决的难题。

MDR是指肿瘤细胞在对一种抗癌药产生耐药的同时,对结构和作用机制不同的其它化疗药亦产生交叉耐药。MDR现象多针对天然来源的抗癌药物,如阿霉素、柔红霉素、长春新碱、长春碱、紫杉醇、鬼臼毒素等,其形成机制复杂。

1 肿瘤MDR产生的相关机制

1.1 肿瘤细胞可通过不同途径导致MDR产生

1.1.1 P-糖蛋白(P-gp) 研究证明,MDR产生与肿瘤细胞mdr1基因高表达P-gp有关。P-gp表达在细胞膜上,分子量170 kD,是能量依赖性转运蛋白,类似于药泵,能将多种结构和作用机制不同的药物排出细胞外,致使细胞内药物浓度降低,导致肿瘤细胞对多种化疗药物不敏感,产生MDR。

1.1.2 多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP) MRP也是糖蛋白,由MRP基因表达,分子量约190 kD,在某些具有MDR表型的肿瘤细胞中高表达,而这些细胞既没有mdr1基因扩增和表达增加,也没有P-gp过度表达。许多研究表明,MRP既是一种能量泵,同时也是一种谷胱甘肽耦合泵(GS-X),能够清除包括化疗药物在内与谷胱甘肽结合的亲脂性复合物以及阴离子残基,从而减弱其细胞毒作用,产生耐药性。

1.1.3 肺耐药相关蛋白(lung resistance-related protein, LRP) 研究发现,在某些具有MDR表型的肿瘤细胞中表达一种新的耐药相关蛋白LRP,分子量约100 kD。而这些细胞既不表达P-gp,也不表达MRP。LRP能介导对顺铂、卡铂、烷化剂等一些P-gp和MRP不能介导的药物耐受。这些药物的一个共同特点是均以DNA为靶点。

1.1.4 谷胱甘肽(GSH)及谷胱甘肽转移酶(GST) 谷胱甘肽转移酶(GST)通过催化谷胱甘肽(GSH)与化疗药物结合而解毒。肿瘤细胞产生

多药耐药性时,胞内 GSH 水平往往升高,用 GSH 合成抑制剂丁硫氨酸亚砷胺 (buthionine sulfoximine, BSO) 降低细胞内谷胱甘肽水平,则肿瘤细胞对化疗药的敏感性随之恢复. GSH、GST 亦可保护细胞对抗放疗的损伤,因而产生对放疗的耐受.

1.1.5 DNA 拓扑异构酶 (topoisomerase, Topo) DNA 拓扑异构酶是细胞核内的重要核酶,通过催化超螺旋 DNA 的断裂和再连接来改变 DNA 的拓扑状态,根据催化机制的不同分为 Topo I 和 Topo II. Topo I 催化 DNA 单链断裂; Topo II 则主要催化超螺旋 DNA 双链的断裂和再连接反应.

Topo II 参与细胞内 DNA 复制、修复、转录、重组以及染色体的分离等重要生理过程,与肿瘤的发生、发展有重要关系,是抗癌药的重要作用靶点. 肿瘤细胞通过 Topo II 基因突变、低表达及磷酸化等途径产生耐药. 此耐药细胞多无 MDR 基因的扩增和过表达,称非典型多药耐药 (at-MDR). 引起 at-MDR 的化疗药主要是 Topo 抑制剂.

1.1.6 细胞凋亡 (Apoptosis) 目前认为,化疗药除直接作用于肿瘤细胞内 DNA、酶及蛋白等靶分子外,还可通过诱导凋亡来杀伤细胞,因此,肿瘤细胞在化疗过程中产生凋亡机制障碍,亦可导致 MDR 出现. 这是 MDR 产生的一个新机制,其实质是药物不能激活细胞凋亡途径: (1) 野生型 p53 (wt-p53) 蛋白是启动凋亡的一个重要分子,在细胞遭到药物等不利因素打击时, wt-p53 表达增加并阻滞细胞于 G₁ 期,启动凋亡清除受损细胞. 而 p53 基因又是肿瘤中最易发生突变的抑癌基因,突变将导致其诱导凋亡的功能丧失,引发耐药; (2) Bcl-2 基因是细胞凋亡的重要调节因子,其过度表达抑制细胞凋亡,是一种新的耐药因素. 临床研究显示 Bcl-2 的表达与白血病、淋巴瘤等的耐药及预后有关; (3) 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 (cysteiny l aspartate-specific protease, Caspase) 在细胞凋亡中发挥重要作用. 化疗药物诱导肿瘤细胞凋亡依赖于 Caspase 途径. 研究发现,表达 P-gp 的白血病耐药细胞株对依赖 Caspase 途径的化疗、放疗等凋亡刺激产生耐受,表明 P-gp 除了经典的药物外排泵功能外,对依赖于 Caspase 途径的凋亡尚具有屏蔽作用. 在 Caspase 中, caspase-3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶,起着不可替代的作用,其最主要底物是多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 PARP [poly (ADP-ribose) polymerase]. 该酶与 DNA 修复、基因完整性监护有关. 细胞凋亡中 PARP 被 Caspase-3 剪切成 31 kD 和 85 kD 两个片段,使 PARP 不能发挥正常功能,继而使受 PARP

负调控的核酸内切酶活性增高,裂解核小体间的 DNA,引起细胞凋亡. 此作用可被 Caspase-3 特异性抑制剂 Ac-DEVD-CHO 所抑制. 研究还证实, Caspase-3 诱导的凋亡可被 Bcl-2 阻断.

总之,大多数化疗药通过诱导凋亡引起肿瘤细胞死亡,抗凋亡基因过表达和促凋亡基因的缺失均可导致肿瘤对化疗的耐受.

2 肿瘤多药耐药逆转剂的研究

近年来研究的 MDR 逆转剂其主要作用位点在 P-gp,大致可分为: (1) 钙离子通道阻滞剂:其代表是维拉帕米 (verapamil, VER),是最早发现的 MDR 逆转药物. 通过竞争性地与 P-gp 结合来抑制药物泵外排、增加细胞内药物聚积量实现逆转作用,而与钙拮抗作用无关. 但本类药物由于严重的心血管系统毒性,妨碍了其临床应用; (2) 环孢菌素类药物:是一种高度亲脂性物质,可与抗肿瘤药物竞争 P-gp 上的结合位点,抑制药泵作用,使细胞内药物累积增加,逆转 MDR. 其代表药物为环孢菌素 A (CsA) 及其衍生物 Valspodar 和 bir-codar. 临床观察发现 CsA 比传统逆转剂 VER 有更强的逆转作用. 但由于 Valspodar 和 Bircodar 是细胞色素氧化酶 P450 3A4 的底物,因此也抑制该酶的活性,导致该酶代谢相关药物的体内代谢和消除受抑制,用药者体内相关药物浓度升高而产生严重毒性反应. 由于药物间的相互作用极其复杂,临床上难以确定安全有效的剂量,限制了其应用; (3) 近年研制的对 P-gp 更具有特异性和更强作用的 P-gp 抑制剂 Tariquidar,能高亲和性地结合 P-gp,强效抑制其活性. 不同于前两类竞争性抑制机制, Tariquidar 与 P-gp 的结合是特异和非竞争性的,其亲和力远大于其它底物. Tariquidar 在临床研究中观察到其抑制 P-gp 的能力和明显超过前两类 MDR 逆转剂,并在 I 期和 II 期临床实验中均收到良好的效果. 但在 III 期临床实验中发现其与一线化疗药物联用时毒性增强,甚至出现严重的毒副作用,以致最终临床疗效依然不理想.

在以上提及的 MDR 逆转剂中,绝大多数本身不具有抗肿瘤作用,而对于抗癌药,肿瘤细胞又几乎都可能产生耐药性. 迄今几乎没有对耐药肿瘤有效的抗癌药,更无法得知其逆转肿瘤耐药的机制. 而中国医科院天津血液病研究所杨纯正教授等发现治疗慢性粒细胞性白血病的当归芦荟丸有效成分——靛玉红在临床试验中显示出逆转耐药和抗肿瘤的双重效应,此类药物值得期待,是寻找具有克

服耐药的新抗癌药的重要方向。

肿瘤多药耐药产生的机制极其复杂,迄今未有 MDR 逆转剂成功地应用于临床。但近几十年来对 MDR 的研究和认识取得了许多重大进展。随着对 MDR 研究的不断深入,相信将有希望为克服肿瘤多药耐药提供更多的思路和途径。

[参考文献]

- [1] FU-SHING LIU. Mechanisms of chemotherapeutic drug resistance in cancer therapy a quick review [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2009, 48 (3): 239 - 244.
- [2] MARCO TUCCI, COSIMA QUATRARO, FRANCO DAMMACCO. Role of active drug transporters in refractory multiple myeloma [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9: 218 - 224.
- [3] MIMÉAULT M, HAUKE R, BATRA S K. Recent advances on the molecular mechanisms involved in the drug resistance of cancer cells and novel targeting therapies [J]. Clin Pharmacol Ther, 2008, 83: 673 - 691.
- [4] SCHWARZENBACH H. Expression of MDR1/P-glycoprotein, the multidrug resistance protein MRP, and the lung-resistance protein LRP in multiple myeloma [J]. Med Oncol, 2002, 19: 87 - 104.
- [5] TAKARA K, SAKAEDA T, OKUMURA K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy [J]. Curt Pharm Des, 2006, 12 (3): 273 - 286.
- [6] GHAVAMI S, HASHEMI M, ANDE S R, et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes [J]. J Med Genet, 2009, 46 (8): 497 - 510.
- [7] GOTTESMAN M M, LING V. The molecular basis of multidrug resistance in cancer: the early years of P-glycoprotein research [J]. FEBS Lett, 2006, 580: 998 - 1 009.
- [8] KERR JFR, WYLLIE A N, CURRIE A R, et al. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [J]. Br J Cancer, 1972, 26: 239 - 257.
- [9] JOHNSTONE R W, CRETNEY E, SMYTH M J. P-glycoprotein leukemia cells against caspase-dependent, but not caspase-independent cell death [J]. Blood, 1999, 93: 1 153 - 1 168.
- [10] LETIZIA PORCELLI, CLARA LEMOS, GODEFRIDUS J, et al. Intracellular Trafficking of MDR Transporters and Relevance of SNPs [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9: 197-208.
- [11] MISTRY P, STEWAR A J, DANGERFIELD W, et al. In vitro and in vivo reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by a novel potent modulator, XR9576 [J]. Cancer Res, 2001, 61: 749 - 758.
- [12] STORCH C H, EHEHALT R, HAEFELI W E, et al. Localization of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in lipid rafts/caveolae and modulation of its activity by cholesterol in vitro [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 323: 257 - 264.

(2012 - 12 - 04 收稿)