

## 胃癌多药耐药的可能机制与解决策略

李婷婷 综述 吴本伊 审校

胃癌是我国死亡率最高的恶性肿瘤之一。化疗是胃癌的主要疗法,特别是对于手术后残留癌细胞的清除、防止复发具有重要治疗价值。但是,目前应用的多种药物以及多种给药方案的总体评价疗效很不理想,甚至有报道称胃癌术后的化疗并不能降低复发率,也不能改善患者的预后<sup>[1]</sup>。化疗失败主要与癌细胞对化疗药物具有或产生了耐药性或多药耐药性(multidrug resistance, MDR)有关。胃癌MDR是指胃癌细胞同时对多种化学结构和作用机制并不相同的药物产生了耐受性。MDR的特点是癌细胞一旦发生耐药后,不仅对曾经用过的抗癌药具有抵抗力,而且对未曾用过的甚至在结构和功能上均不相同的抗癌药同样会产生交叉耐药性。

### 1 胃癌多药耐药性可能机制

实体瘤如胃癌MDR的产生机制十分复杂,按药物进入细胞后的作用途径可将MDR产生的可能机制总结为如下10方面:(1)发生在细胞膜水平的化疗药物摄取减少和外排增多,引起细胞内药物的绝对浓度减低,如由P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)引起的耐药;(2)发生在细胞质和细胞器水平的药物亚细胞分布的改变,使药物无法接近其作用靶点,引起药物有效浓度的降低,如由多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated protein, MRP)引起的耐药;(3)肺耐药相关蛋白(lung resistance protein, LRP)对化疗药物的胞吐作用;(4)乳腺癌耐药相关蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)对化疗药物的外排作用;(5)细胞解毒系统功能加强,使药物迅速灭活,如与谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)有关的耐药;(6)药物靶点在质和量上的改变,主要是拓扑异构酶II表达降低,且发生点突变,活性下降,减弱了以此酶为靶点的药物的细胞毒性;(7)蛋白激酶C(pro-

tein kinase C, PKC)活性升高,促进P-gp及拓扑异构酶II的磷酸化;(8)抗凋亡基因Bcl-2表达增高及凋亡基因Fas、Bax等的表达降低;(9)DNA修复系统功能加强,使药物引起的肿瘤细胞DNA损伤得以及时修复;(10)肿瘤细胞生存的内外环境发生改变,如pH值、温度及缺氧等<sup>[2]</sup>。上述这些在近期文献上不断描述的现象虽然多数都在耐药细胞上可以观察到,但其与耐药的发生是因果关系,果因关系或仅为伴随现象都还难以确定。特别是这些现象多见于血液系统肿瘤的耐药细胞或实体瘤已经在体外长期培养的离散细胞,但在实体瘤,特别是胃癌的耐药细胞即便将上述机制全部加以阻断,耐药细胞依然可以表现出耐药现象,说明胃癌产生的耐药性可能具有其独特的机制。从分子水平研究胃癌的这种特殊的耐药机制,有助于克服胃癌的耐药性,从而提高疗效。

#### 1.1 P-gp等细胞膜/核膜转运蛋白介导的耐药

P-gp是最早发现和克隆表达的耐药蛋白,也是目前研究最为广泛和深入的耐药分子之一,是一种ATP依赖性药物排除泵,在膜内以二聚体和四聚体方式存在,形成一个畅通的药物通道,可耗能将细胞内多种结构和作用机制不同的天然药物泵出细胞外,使细胞内药物浓度下降,降低对肿瘤细胞的毒性,由此产生多药耐药性<sup>[3]</sup>。MRP引起MDR的机制主要为MRP与谷胱甘肽结合物输出载体泵活性,谷胱甘肽(glutathione, GSH)是细胞中主要的II相解毒物质,在相关酶[谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px), GST等]催化下与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、亲电子剂和GSH结合,形成GS-X复合物,然后被转运到胞外。目前认为MRP就是依赖于ATP的GS-X泵,GSH、葡萄糖醛酸和硫酸盐共轭物是其合适的底物。MRP通过促进GSH结合药物从细胞内的排出而导致多药耐药<sup>[4]</sup>。LRP可通过两种途

收稿日期:2008-10-07

基金项目:国家自然科学基金资助课题(No. 4341111E)

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年消化内科

通讯作者:吴本伊, E-mail: lilylismiling@hotmail.com

径引起 MDR;一是封锁核孔,使药物不能进入细胞核,二是使进入细胞内的药物转运至胞质中的运输囊泡,呈房室分布,最终经胞吐机制排出。Kitazono 等<sup>[5]</sup>证实,LRP 能够导致阿霉素由细胞核转运至细胞浆,促使其在细胞内再分布,最终导致细胞内靶点药物浓度降低引起耐药。1999年,Ross 等<sup>[6]</sup>和 Hazlehurst 等<sup>[7]</sup>利用 Northern 和 Southern 印迹方法研究不同来源的肿瘤 MDR 细胞系,进行 BCRP 基因表达水平测定发现,在乳腺癌 MCF-7/Mitox、胃癌 EPG85-257RNDV、结肠癌 SM1-3.2、纤维肉瘤 EPF86-079RNDV 和多发性骨髓瘤 8226/MR20 等耐药细胞中均有 BCRP 过度表达,同时发现 BCRP 高表达与 P-gp/MRP 表达无关。

**1.2 胞质/核内蛋白介导的耐药** GSH 是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸通过肽键结合而成的三肽化合物,在机体中含量较高,有还原型及氧化型两种,其主要功能为阻止氧化剂对巯基的破坏,保护细胞膜中含巯基蛋白质和含巯基酶不被氧化。化疗药能与 GSH 结合而解毒,这是在 GST 催化下发生的反应。GST 是一种具有多种功能的二聚体蛋白质,属于 II 相代谢酶系,主要促进 GSH 与亲电性化疗药物之间的反应,与化疗药物的氧化物质结合,从而阻止化疗药物攻击肿瘤细胞,产生耐药<sup>[8]</sup>。

除了 GSH 及 GST, DNA 拓扑异构酶 II (ToPo II)、金属硫蛋白(MT)、PKC 等胞质/核内蛋白也与耐药有关。ToPo II 是一种能催化 DNA 超螺旋结构局部构型改变的核酶,在细胞的生长和分裂过程中至关重要,参与细胞中 DNA 的复制、修复、重组、转录、染色质分离等过程。与 ToPo II 有关的化疗药有啞啉类、表鬼臼毒素、葱环类、葱醌类。ToPo II 的数量减少,引起药物作用靶分子减少,导致药物诱导 DNA 断裂减少和药物细胞毒作用的降低;其活性的改变,导致 DNA-ToPo II 结合的减少或影响 ToPo II 对药物诱导可断裂复合物稳定作用的易感性,从而使 DNA 断裂减少以及药物细胞毒作用降低而产生耐药。体内观察,MT 可对亲电性抗癌药物或-OH 产生清除反应,并认为该反应为体内 MT 作用的基础。研究发现,PKC 可能通过诱导 Mdr1 基因的过度表达和加快 P-gp 的磷酸化而导致 MDR 的形成和发展。目前关于 PKC 诱导 P-gp 磷酸化的机制,一般认为与癌基因 C-Jun 编码转录激活因子激活蛋白-1 有关<sup>[9]</sup>。

**1.3 细胞凋亡与多药耐药** 细胞凋亡是细胞在各种死亡信号刺激后发生的一系列瀑布式激活的主动

死亡过程,而细胞凋亡的启动和传导需要多种基因及其产物的参与。细胞凋亡介导的多药耐药主要通过促凋亡基因如 p53、Bcl-2 家族促凋亡基因的缺失和抗凋亡基因如 c-myc、Bcl-2 家族抗凋亡基因的过表达来实现的。

**1.3.1 促凋亡基因缺失** p53 是肿瘤中最易发生突变的抑癌基因,野生型 p53 蛋白是细胞内的"分子警察",其主要功能是细胞 G<sub>1</sub> 期阻滞和诱导细胞凋亡,当细胞受到依托泊苷、顺铂、丝裂霉素等药物或放疗作用后,细胞 DNA 损伤,受损细胞启动供给失调毛细血管扩张突变基因(ATM)使 p53 表达增加。但人类肿瘤一半以上可发生 p53 的突变。当发生缺失、突变等导致表达异常(突变型)时,对凋亡过程调控异常,可抑制化疗药物诱导的凋亡,导致耐药,同时也可特异性激活 MRP-1/P-gp,产生 MDR。

Bcl-2 基因家族是细胞凋亡的重要调控基因,在细胞凋亡的过程中处于调控机制的终末部分,该基因家族在维持细胞生理分化、发育和细胞数量的动态平衡中具有重要作用,其表达状态在一定程度上影响着肿瘤的发生、发展及多药耐药性的产生。Bcl-2 基因家族是目前最受重视的调控细胞凋亡的基因家族,可分两大类:促凋亡基因和抗凋亡基因,其中促凋亡基因包括 Bcl-xs、Bax、Bad、Bak、Hrk、Bim 和 Bnip-3 等,近年来研究发现,Bcl-2 基因家族促凋亡基因的缺失促进了 MDR 的形成<sup>[10]</sup>。

**1.3.2 抗凋亡基因过度表达** c-myc 是 myc 基因家族中最重要的一员,最初是从鸡病毒 v-myc 癌基因的同源物中分离出来的,研究显示 c-myc 基因的过度表达与 MDR 具有相关性<sup>[11]</sup>。He 等<sup>[12]</sup>用 Mdr1 核酶来逆转耐药长春新碱细胞系 KBv200 的耐药性,结果发现,c-myc 蛋白、P-gp 蛋白和 c-myc mRNA 在 KBv/5mR3 中的表达显著下降。这表明,Mdr1 基因和 c-myc 基因有很密切的关系,c-myc 基因很可能参与了 Mdr1 基因的调控。Bcl-2 家族的抗凋亡基因包括 Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-w、A-1、Mcl-1、Bhrf1 和 Bfl-1 等。Bcl-2 导致耐药的主要机制是通过抑制肿瘤细胞的凋亡途径完成,可以认为它是一种新型的耐药基因,其家族成员联系复杂,此外还涉及细胞凋亡的其他基因家族,如 FAS、Caspases、BCR-ABL 融合基因等,而 Caspases 是诱发凋亡最关键的信号分子<sup>[13,14]</sup>。

**1.4 细胞黏附与多药耐药** 细胞的生存、增殖、分化、凋亡甚至某些细胞因子和生长因子的分泌都依赖于细胞与细胞外基质(extracellular matrix,

ECM)黏附。ECM通常由胶原、层粘连蛋白、纤维粘连蛋白和细胞粘素等组成。细胞膜表面存在着能与ECM成分结合的受体,其中分布和作用较为广泛的是整合素家族、选择素家族、钙粘素家族和CD44家族等分子。新近研究均表明,肿瘤细胞表面的上述分子与ECM的相互作用影响着细胞对化疗药物的敏感性。Kolodkin等<sup>[15]</sup>发现,当人多发骨髓瘤细胞系8226生长在固定了纤连蛋白的培养基上时,可以抵抗马法兰和阿霉素的杀伤。因此他们认为,细胞与ECM的黏附可以诱导耐药,并将这种形式的耐药称为细胞黏附介导的耐药。黏附分子受体主要通过相应非受体型酪氨酸激酶刺激细胞内信号途径,这些激酶包括FAK、SRC、ILK等<sup>[16]</sup>。最终激活胞浆内特定的信号通路。其中以PI3K-AKT和MAPK/ERK信号传导通路为研究的热点,可被多种不同的胞外刺激信号激活,在肿瘤细胞对抗化疗药物的杀伤过程中起重要作用<sup>[17]</sup>。

## 2 解决策略:利用高通量筛选技术

胃癌MDR机制十分复杂,传统单基因的干预模式已无法满足研究的需要,此时,迫切需要采用高通量的研究技术,探索MDR相关基因之间的网络调节机制。目前高通量筛选方法有很多,包括已经比较成熟的基因芯片技术、cDNA文库的构建和近两年的热点小干扰RNA(miRNA)文库等<sup>[18~21]</sup>。而转录因子活性谱芯片和miRNA芯片等的问世,则为以RNA和蛋白质为核心的功能基因组研究提供了便利的条件。以“中心法则”为基础的转录、转录后修饰、翻译以及翻译后修饰是基因表达调控中重要的环节,其中每一个环节都影响着耐药的发生。未来MDR研究的解决策略是分别在转录、转录后修饰、翻译以及翻译后修饰水平上,利用转录因子活性谱芯片、miRNA芯片等高通量的方法,研究耐药相关转录因子和耐药相关miRNA,阐明其在信号传导通路中的机制,并精细分析耐药相关信号传导通路中各种蛋白相互作用的分子基础。在阐明单一信号传导通路的基础上,进一步分析它们之间的相互联系,从而有可能将各种通路整合,在更高层次上建立耐药相关信号传导通路的网络,必将为MDR机制的进一步阐明提供有力依据。

## 参考文献

[1] Capella LS, Alcantara JS, Moura-Neto V, et al. Vanadate is toxic to adherent-growing multidrug resistant

cells. *Tumour Biol*, 2000, 21:54-62.

- [2] Xia S, Yu S, Yuan X. Effects of hypoxia on expression of P-gp and multidrug resistance protein in human lung adenocarcinoma A549 cell line. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2005, 25:279-281.
- [3] Ling V, Charles F, Kettering Prize. P-glycoprotein and resistance to anticancer drugs. *Cancer*, 1992, 69: 2603-2609.
- [4] Lautier D, Canitor Y, Deeley RG, et al. Multidrug resistance mediated by the multidrug resistance protein (MRP) gene. *Biochem Pharmacol*, 1996, 52:967.
- [5] Kitazono M, Sumizawa T, Takebayashi Y, et al. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91:1647-1653.
- [6] Ross DD, Yang W, Abruzzo LV, et al. Atypical multidrug resistance: breast cancer resistance protein messenger RNA expression in mitoxantrone-selected cell lines. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91:429-433.
- [7] Hazlehurst LA, Foley NE, Gleason-Guzman MC, et al. Multiple mechanisms confer drug resistance to mitoxantrone in the human 8226 myeloma cell line. *Cancer Res*, 1999, 59:1021-1028.
- [8] Chao CC, Huang YT, Ma CM, et al. Overexpression of glutathione S-transferase and elevation of thiol pools in a multidrug-resistant human colon cancer cell line. *Mol Pharmacol*, 1992, 41:69-75.
- [9] Swannie HC, Kaye SB. Protein kinase C inhibitors. *Curr Oncol Rep*, 2002, 4:37-46.
- [10] Stavrovskaya AA. Cellular mechanisms of multidrug resistance of tumor cells. *Biochem Mosc*, 2000, 65: 95-106.
- [11] Motomure S, Motoji T, Takanashi M, et al. Inhibition of P-glycoprotein and recovery of drug sensitivity of human acute leukemic blast cells by multidrug resistance gene (mdr1) antisense oligonucleotides. *Blood*, 1998, 91:3163-3171.
- [12] He Y, Zhang J, Zhang J, et al. The role of c-myc in regulating mdr1 gene expression in tumor cell line KB. *Chin Med J*, 2000, 113:848-851.
- [13] Wang J, Lenardo M. Roles of caspases in apoptosis, development, and cytokine maturation revealed by homozygous gene deficiencies. *J Cell Sci*, 2000, 113: 753-757.
- [14] Hannun YA. Apoptosis and the dilemma of cancer chemotherapy. *Blood*, 1997, 89:1845-1853.
- [15] Kolodkin AL, Matthes DJ, Goodman CS. Theseamphorin genes encode a family of transmembrane and

secreted growth cone guidance molecules. *Cell*,1993, 75:1389-1399.

[16] Mas VM, Hernandez H, Plo I, et al. Protein kinase C mediated Raf-1/extracellular-regulated kinase activation by daunorubicin. *Blood*,2003,101:1543-1550.

[17] Hoyt DG, Rusnak JM, Mannix RJ, et al. Integrin activation suppresses etoposide-induced DNA strand breakage in cultured murine tumor-derived endothelial cells. *Cancer Res*, 1996, 56:4146-4149.

[18] Downward J. RNA interference. *Br Med J*, 2004,5: 1245-1248.

[19] Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science*,2002,296:550-553.

[20] Paddison PJ, Caudy AA, Hannon GJ. Stable suppression of gene expression by RNAi in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 1443-1448.

[21] Kaykas A, Moon RT. A plasmid-based system for expressing small interfering RNA libraries in mammalian cells. *BMC Cell Biol*, 2004,5:16-27.

(上接第 375 页)

PLSVC 的病理意义主要取决于其最终汇入右房或左房。约 90% 的 PLSVC 经冠状静脉窦汇入右房,此时若不伴有其他心血管畸形,则无血流动力学改变,临床多无症状,不需治疗。当 PLSVC 回流入左房时,则形成右向左分流,可出现紫绀,且几乎所有患者均伴有卵圆孔未闭、房室间隔缺损、单心房、右位心、下腔静脉畸形、动脉导管未闭、左房室瓣闭锁、法洛四联症及大动脉转位等,手术治疗的同时需处理 PLSVC。此外,PLSVC 的存在增加了心导管检查、起搏器安装和心脏手术的难度,因此早期诊断本病具有重要的临床意义。本例高龄患者有 PLSVC,但不合并其他畸形,临床上无紫绀表现,对血流动力学无影响,故无需特殊处理。

参 考 文 献

[1] 施仲伟,王菊芳,孙演光. 超声诊断永存左上腔静脉合并房间隔缺损一例. *诊断学理论与实践*,2006,5:65.

[2] Nsah EN, Moore GW, Hutchins GM. Pathogenesis of persistent left superior vena cava with a coronary sinus connection. *Pediatr Pathol*,1991, 11:261-269.

[3] Hardey DW, White MS, Malloy KP, et al. Persistent left superior vena cava; review of embryologic anatomy and considerations for cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Dis*,1980,7:433-441.

[4] Hibi N, Fukui Y, Nishimura K, et al. Cross-sectional echocardiographic study on persistent left superior vena cava. *Am Heart J*,1980,100:69-76.

[5] 苏应衡,郭兰敏. *实用胸部外科手术学*. 济南:山东科学技术出版社,1996. 670.

[6] 朱晓东. *心脏外科基础图解*. 北京:中国协和医科大学出版社,2002. 275-283.

[7] 梁继河,刘维永,杨景学,等. 永存左上腔静脉畸形的临床意义与手术处理. *中国循环杂志*,1996,11:289-293.

• 消 息 •

欢迎订阅《中华老年心脑血管病杂志》

《中华老年心脑血管病杂志》是由解放军总医院主管、主办的医学专业学术期刊。1999年12月创刊,2000年纳入国家科技统计源期刊。2004年4月确定为中国医药卫生核心期刊。同年10月获全军期刊优秀学术质量奖。主要报道老年心脏病、脑部疾病、血管系统疾病的临床诊断及治疗等相关内容,包括临床研究、基础研究、影像学、遗传学、流行病学、临床生化检验与药物、手术和介入治疗以及有关预防、康复等。主要栏目:指南与共识、专家论坛、述评、临床研究、基础研究、循证医学荟萃、继续教育园地、综述、病例报告、短篇报道、经验交流、读者·作者·编者等。是一本具有可读性和指导性的杂志。本刊为月刊,大16开本,96页,铜版纸印刷,每期订价15.00元,全年180.00元。邮发代号:2-379,国内统一刊号:CN 11-4468/R,国际标准刊号:ISSN 1009-0126。欲订本刊的单位及读者请到各地邮局办理订购手续或直接汇款至本刊编辑部。

地址:北京市复兴路28号《中华老年心脑血管病杂志》编辑部  
 邮编:100853  
 电话:(010)66936463,E-mail:zhlnxnxg@sina.com.cn,http://www.zhlnxnxg.com.cn