

中药活性成分逆转卵巢癌化疗耐药机制的研究进展

杨 红 钱 麟 周 华 齐 聪

卵巢癌是妇科生殖系统死亡率最高,发病率位居第 3 的恶性肿瘤,目前治疗原则仍以手术为主,辅以化、放疗等综合治疗。铂类与紫杉醇类的联合化疗作为标准方案使卵巢癌患者的总体反应率达到 90%,完全缓解率达到 75%^[1]。但仍有 70% 左右的晚期患者会在 2 年内复发,其中 70% 又会出现化疗耐药,高复发率和复发后的高耐药率导致卵巢癌的 5 年生存率始终徘徊在 30%~50%^[2]。因此从中药中筛选出有效的耐药逆转药物,从而开发出专一性的耐药逆转剂,将有助于改善卵巢癌患者的化疗效果,提高 5 年生存率。

近年来,国内外研究发现我国传统中药成分如黄芩素、穿琥宁、甲基莲心碱、槲皮素等可在体内和(或)体外发挥逆转卵巢癌化疗耐药的作用。其具体作用机制主要包括:提高肿瘤细胞内有效药物浓度、降低肿瘤细胞对药物的转化和解毒功能、影响药物作用靶点、降低肿瘤细胞 DNA 损伤修复功能、诱导肿瘤细胞凋亡、调节肿瘤细胞周期等。本文围绕以上几个机制对中药活性成分逆转卵巢癌化疗耐药的研究进展作一综述。

1 提高肿瘤细胞内有效药物浓度 卵巢癌细胞膜表面存在一类特殊的跨膜蛋白质,为药物输出泵,如 P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MRP)、肺耐药蛋白(LRP)等,这些泵能将细胞内药物泵出,从而降低细胞内药物浓度或改变其分布区域,影响药物疗效。其耐药相关的药物主要有:生物碱类,萜环类,丝裂霉素类,鬼臼毒素类,紫杉醇类等。黎丹戎等^[3]体外研究表明黄芩素能特异性阻断 P-gp 的药物外排机制,从而降低化疗药物的外流,增加细胞内化疗药物的积累,使卵巢癌耐药细胞恢复对化疗药物的敏感性。赵旭林等^[4]研究发现非细胞毒性剂量川芎嗪能显著降低人卵巢癌阿霉素耐药细胞株(A2780/ADM)的 IC₅₀, 逆转倍数为 2.07 倍;非细胞毒性剂量川芎嗪能显著增加耐药细胞内阿霉素(ADM)的浓度和耐药细胞的凋亡百分率,显著降低 P-gp 的表达。表明川芎

嗪具逆转卵巢癌耐药细胞株 A2780/ADM 细胞对 ADM 的耐药性,其逆转机制可能与增加细胞内 ADM 浓度和抑制该细胞 P-gp 的表达有关。

2 降低肿瘤细胞对药物的转化和解毒功能 谷胱甘肽转移酶(GST)属于谷胱甘肽(GSH)依赖型细胞解毒酶系统,其中 GST- π 与肿瘤多药耐药关系最密切。GST- π 与 GSH 从以下几个方面参与了肿瘤细胞耐药机制的形成^[5]:(1) GST- π 催化 GSH 与亲电性抗癌药物(烷化剂、萜环类等)迅速结合,加速药物降解,使药物在靶部位的积蓄量迅速减少,从而达不到致死浓度。(2)催化亲脂性抗癌药物与胆红素及甾体化合物等结合,加速药物的排泄,并保护膜脂质成分不被自由基等损伤。(3)消除细胞内毒性药物的代谢产物,从而防止其对膜磷脂的损伤。(4)阻止药物与靶细胞 DNA 结合形成具有细胞毒性的双功能复合物,并且加强对损伤 DNA 的修复能力,从而使抗肿瘤药物的细胞毒性降低。(5)GST- π 在癌细胞内表达水平及活性增加,使抗肿瘤药物降解加速,排泄加快,细胞内有效药物浓度持续时间缩短,相应地缩短了抗肿瘤药物作用于靶部位的时间,降低抗肿瘤药物的细胞毒性。穿琥宁为爵床科植物穿心莲提取物穿心莲内酯经酯化、脱水、成盐精制而成的脱水穿心莲内酯琥珀酸半脂单钾盐。刘明华等^[6]研究发现穿琥宁对人卵巢癌顺铂耐药细胞株(COC1/DDP)的顺铂耐药性有逆转作用,逆转倍数达到 5.63 倍。与 COC1 比较,COX1/DDP 细胞内 GSH 水平增高,顺铂含量下降,但经穿琥宁干预后,COX1/DDP 胞内的 GSH 水平降低,顺铂的含量增加。提示穿琥宁可能通过 GSH/GST- π 解毒系统而逆转卵巢癌细胞耐药。梁梦等^[7]研究发现甲基莲心碱能有效逆转人卵巢浆液性乳头状腺癌顺铂细胞株(SKOV3/DDP)细胞的耐药性,其逆转机制可能与下调 GST- π 基因高表达有关。亦有研究发现灵芝多糖也有类似作用^[8]。

3 影响药物作用靶点 细胞内药物作用靶点及靶点与药物亲和力的改变可能也是卵巢癌耐药的机制之一。卵巢癌一线化疗药物紫杉醇能促进微管的聚合从而稳定微管,这种稳定性在细胞分裂时会破坏微管的聚合-解聚的动态平衡,使纺锤体和染色体的运动

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81173291);上海市重点学科(第 3 期)中医妇科学建设项目资助(No.S30303)

作者单位:上海中医药大学附属曙光医院妇科(上海 201203)

通讯作者:齐 聪, Tel:021-53827407, E-mail:qicongxq@yahoo.com.cn

受阻,阻止细胞分裂,限制细胞增殖。微管及其相关蛋白的变化导致了紫杉醇耐药。研究发现^[9], β III 微管蛋白的减少可以增加紫杉醇的敏感性。克服紫杉醇耐药的方法之一是使用紫杉醇类似物,从中药单体中寻找紫杉醇类似物的研究较少,现有的研究提示多数中药活性成分如丹参中提取的新木酚素类化合物(Salvinal)作用类似于秋水仙碱,具有抑制微管蛋白聚合的作用,但动物实验研究提示它们能逆转紫杉醇类化疗耐药^[10],其机制有待进一步研究。有研究发现^[11]三氧化二砷(As_2O_3)能明显抑制微管蛋白聚合,但同时又能保持微管蛋白多聚体的稳定性。所以推测某些中药活性成分是可以双向调节微管的聚合-解聚平衡,从而达到逆转卵巢癌化疗耐药的作用,有待进一步研究。

4 降低肿瘤细胞 DNA 损伤修复功能 拓扑异构酶(Topto I, Topto II)是 DNA 转录复制的重要工具酶,调节控制 DNA 的超螺旋状态,影响细胞内核代谢过程,直接参与细胞打断和重新连接 DNA 分子链。Topto I 主要指导 DNA 超螺旋结构的松解和逆转,Topto II 参与染色体浓缩和分离。Topto 蛋白本身改变及耐药细胞的 Topto 活性增高可促进化疗引起的 DNA 损伤的修复,从而诱导耐药。因此抑制 Topto 活性,可中断 DNA 的复制和转录,使耐药逆转^[12]。研究发现^[13,14],黄酮类成分槲皮素及木犀草素均可抑制 Topto I、Topto II 活性,进而逆转 Topto 介导的多药耐药(MDR)。已证实,喜树碱化合物为 Topto I 抑制剂,葱环类、鬼臼毒素类药物为 Topto II 抑制剂,均已成为常用的治疗卵巢癌的化疗药物。

5 诱导肿瘤细胞凋亡 大部分抗肿瘤药物通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥作用,肿瘤细胞对凋亡的耐受力是 MDR 的重要机制之一,耐药的卵巢癌细胞表现为自发凋亡能力明显下降以及癌细胞的无限制恶性增殖。研究表明许多中药成分可通过改变肿瘤细胞的基因表达、阻断细胞信号转导、阻断细胞周期从而促进肿瘤细胞凋亡,以发挥逆转化疗耐药的作用。

5.1 影响肿瘤细胞凋亡相关基因的表达

5.1.1 Fas 基因及 N-myc 基因 Fas 又称凋亡素-1,是细胞表面的跨膜受体,当 Fas 与 Fas 配体(FasL)结合时,激活凋亡过程,诱导表达 Fas 的细胞凋亡。化疗药物能诱导低表达 Fas 的肿瘤细胞功能性 Fas 高表达,Fas 基因表达越高的细胞通过与自身的 FasL 相互作用,引起细胞凋亡^[15]。在人类肿瘤中,myc 基因是一种癌基因,N-myc 基因增幅与癌细胞增生增殖有关^[16]。黄守国等^[17]研究发现:顺铂耐

药人卵巢癌裸鼠腹腔移植瘤经 As_2O_3 化疗后,以顺铂为对照组,致癌率明显降低,肿瘤细胞 Fas 基因的表达呈明显的升调节,而 N-myc 基因的表达呈降调节,差异有统计学意义。提示: As_2O_3 对人卵巢癌裸鼠腹腔移植瘤具有明显的抑制作用,其机制是通过升调节 Fas 和降调节 N-myc 基因从而促进肿瘤细胞凋亡。

5.1.2 Bcl-2 基因家族 Bax 和 bcl-2 是一对凋亡相关的正负调节基因。当 bcl-2 基因过量表达,与 bax 基因形成异二聚体,抑制凋亡;而 bax 过量表达时,自身形成同源二聚体,促进凋亡发生,bcl-2/bax 比例失调时则抑制细胞凋亡并改变肿瘤细胞对化疗的敏感性。研究发现^[18]中药雄黄的主要成分 As_2O_3 作用于卵巢癌耐药株 C13K/DDP 后,诱导肿瘤细胞凋亡率明显高于顺铂组,Western blot 结果显示 bcl-2 表达下调,bax 表达明显上调。提示 As_2O_3 通过调节 bcl-2/bax,促进凋亡发挥逆转卵巢癌化疗耐药性的。

5.1.3 Survivin 与 Caspase、Smac 基因 Survivin 是凋亡抑制因子,其在人类正常组织中不表达而在多种肿瘤中高表达。过表达的 survivin 基因增强卵巢癌细胞的抗凋亡能力,从而产生耐药^[19]。Caspase 是多种细胞凋亡途径的中心环节,survivin 可直接结合并抑制 Caspase 级联反应下游的凋亡核心 Caspase-3 和 -7 的活性,从而抑制化疗药物诱导的细胞凋亡^[20]。此外,survivin 还能与肿瘤细胞释放的第二个线粒体起源的 Caspase 激活剂(Smac/DIABLO)结合,从而阻断后者对细胞凋亡蛋白抑制剂的结合,进而抑制细胞凋亡^[21]。研究发现^[22,23]姜黄素与顺铂联合用药与单独用顺铂相比,卵巢癌耐药细胞凋亡率明显增加;bcl-2、survivin mRNA 的表达明显降低,Caspase-3、Smac mRNA 的表达明显增高。结果表明:姜黄素能促进耐药卵巢癌细胞凋亡,并能增强该细胞系对顺铂的敏感性,其机制可能与降低 bcl-2、survivin 基因的表达,增加 Caspase-3、Smac 基因的表达有关。Yang YI 等^[24]亦通过体内外实验证明广木香内酯可激活卵巢癌耐药细胞 Caspase-3、8、9 的表达,从而诱导其凋亡,且与顺铂有协同作用。

5.2 阻断细胞信号转导 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路是抗凋亡、促增殖的信号转导途径,其活性异常激活导致卵巢癌细胞耐药。激活的 Akt 激酶直接磷酸化调控凋亡相关基因的表达或磷酸化凋亡级联反应中的调节蛋白调控其活性,抑制肿瘤细胞凋亡,在肿瘤的发生增殖、侵袭转移及放化疗抵抗中发挥重要作用。近年来研究^[25]已证实通过应

用 PI3K/Akt 抑制剂可阻断 PI3K/Akt 途径,可提高卵巢癌耐药细胞株对化疗药物的敏感性。而 PI3K/Akt 抑制剂有较强的毒性,且水溶性差,限制了其临床应用,所以从传统药物中寻找 PI3K/Akt 抑制剂从而改善化疗耐药成为了研究的热点。消癌平是从中药乌骨藤提取的一种中药制剂。目前已广泛应用于卵巢癌的临床治疗。研究表明^[26]消癌平注射液能抑制卵巢癌细胞增殖,并诱导细胞发生 G₀/G₁ 期阻滞,与 PI3K 抑制剂 LY294002 作用相似,消癌平能抑制 Akt 的磷酸化,从而促进卵巢癌细胞凋亡。

5.3 阻断细胞周期 细胞周期与细胞增殖密切相关,通过改变细胞周期来阻止肿瘤细胞的增殖已受到人们的关注。程道海等^[27]以何首乌蒽醌类化合物 GXHSAQ-1 联合卡铂作用于卡铂耐药卵巢癌细胞 (SKOV-3/CBP), 结果发现: (1) 无细胞毒剂量 7.8 mg/L 和 3.9 mg/L 的 GXHSAQ-1 能逆转 SKOV3/CBP 细胞对卡铂的耐药性,逆转倍数分别为 1.75 ($P < 0.01$) 和 1.32 ($P < 0.01$) 倍; (2) 7.8 mg/L 和 3.9 mg/L GXHSAQ-1 联合卡铂后的细胞凋亡率高于单独卡铂作用组 ($P < 0.01$), G₀-G₁ 期细胞数减少 ($P < 0.01$), S 期和 G₂-M 期细胞增多 ($P < 0.01$)。提示: 无细胞毒剂量的 GXHSAQ-1 可逆转卵巢癌耐药细胞对 CBP 的耐药性,逆转作用可能与其促进细胞更容易进入 S 期从而导致细胞对 CBP 敏感有关。熊果酸又名乌索酸,属五环三萜类的天然化合物,它主要存在于杜鹃花科植物的叶、果实中,玄参科植物毛桐的叶中,以及木樨科植物女贞的叶中。杨茗钫等^[28]研究发现熊果酸可使 SKOV3/DDP 细胞停滞于 G₀/G₁ 期,诱导其发生凋亡,降低细胞的恶性增殖。

近年来中药逆转卵巢癌化疗耐药研究进展较快,尤其是在体外实验中取得了一定的进展,但仍存在一些问题亟待解决: (1) 目前关于中药逆转耐药的研究基本局限于体外实验,体内实验少见,临床研究更是罕见,如何将中药耐药逆转剂应用于临床是相关新药研发的一大瓶颈。 (2) 临床上更多使用的是中药复方,且复方的疗效要比单味中药佳,但中药复方成分复杂,明确其有效成分及作用机制是一大难题。 (3) 因为卵巢癌化疗耐药的机制尚未完全明确,中药耐药逆转剂的作用机制很难完全明确。故今后的研究重点是继续探索卵巢癌化疗耐药的机制,对有效的中药成分进行体内实验,最后进行临床试验,以及对临床确定有效的复方进行机制的研究,明确其有效成分及作用机制,最终目的是使其受益于病人,真正解决卵巢癌病人化疗耐药的问题,延长其生存期。

参 考 文 献

- [1] 王新宇,谢幸. 上皮性卵巢癌的一线化疗[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26(3): 163-165.
- [2] Pectasides D, Farmakis D, Koumariou A, et al. The role of neoadjuvant chemotherapy in the treatment of advanced ovarian cancer[J]. Oncology, 2005, 68(1): 64-70.
- [3] 黎丹戎,张玮,唐东平,等. 黄芩素对卵巢癌耐药细胞株 A2780/ADM 逆转作用实验研究[J]. 肿瘤, 2004, 24(2): 111-113.
- [4] 赵旭林,徐国昌. 川芎嗪对人卵巢癌耐药细胞株 A2780/ADM 逆转作用实验研究[J]. 医学研究杂志, 2009, 38(6): 78-81.
- [5] 梁梦,周英琼. 谷胱甘肽转移酶- π 与卵巢癌化疗耐药的关系[J]. 国际肿瘤学杂志, 2010, 37(3): 225-227.
- [6] 刘明华,章卓,任美萍,等. 穿琥宁对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(20): 1899-1902.
- [7] 梁梦,周英琼,肖胜军,等. 甲基莲心碱对人卵巢癌顺铂耐药逆转的体外研究[J]. 山东医药, 2011, 51(1): 39-41.
- [8] 曲红光,高磊,贺丹,等. 灵芝多糖逆转卵巢癌细胞株顺铂耐药的作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2011, 37(2): 250-254.
- [9] Ohishi Y, Oda Y, Basaki Y, et al. Expression of beta-tubulin isotypes in human primary ovarian carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2007, 105: 586-592.
- [10] Chang JY, Chang CY, Kuo CC, et al. Salvinal, a novel microtubule inhibitor isolated from *Salvia miltiorrhizae* Bunge (Danshen), with antimitotic activity in multidrug-sensitive and -resistant human tumor cells[J]. Mol Pharmacol, 2004, 65(1): 77-84.
- [11] 狄春红,杨磊,顾少华. 三氧化二砷诱导白血病细胞凋亡作用机制研究进展[J]. 国外医学肿瘤学分册, 2005, 32(12): 945-948.
- [12] Tanner B, Pilch H, Schaffer U, et al. Expression of cerbB-2 and topoisomerase alpha in relation to chemoresistance in ovarian cancer[J]. Zentralbl Gynakol, 2002, 124(3): 176-183.
- [13] Cantero G, Campanella C, Mateos S, et al. Topoisomerase II inhibition and high yield of endoreduplication induced by the flavonoids luteolin and quercetin[J]. Mutagenesis, 2006, 21(5): 321-325.
- [14] Yamashita N, Kawanishi S. Distinct mechanisms of DNA damage in apoptosis induced by quercetin and luteolin[J]. Free Radic Res, 2000, 33

- (5): 623-633.
- [15] Kim KB, Bedikian AY, Camacho LH, et al. A phase II trial of arsenic trioxide in patients with metastatic melanoma [J]. *Cancer*, 2005, 104(8): 1687-1692.
- [16] Subbarayan PR, Lima M, Ardan B. Arsenic trioxide/ascorbic acid therapy in patients with refractory metastatic colorectal carcinoma: a clinical experience [J]. *Acta Oncol*, 2007, 46(4): 557-561.
- [17] 黄守国,陈瑾,程虹,等. As_2O_3 对人卵巢癌顺铂耐药细胞株裸鼠腹腔移植瘤作用及其机制的探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2010, 17(11): 827-830.
- [18] 于晓兰,田媛,卢运萍,等. As_2S_3 对人卵巢癌耐药株 C13K/DDP 细胞增殖和凋亡的作用[J]. *肿瘤防治研究*, 2010, 37(8): 894-896.
- [19] 张淑兰,姜涛,林蓓,等. 卵巢癌细胞系 CAOV3 体外化疗后 Survivin mRNA 表达的变化[J]. *中华妇产科杂志*, 2004, 39(7): 482-485.
- [20] Schimmer AD, Dalili S. Targeting the IAP family of Caspase inhibitors as an emerging therapeutic strategy [J]. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*, 2005: 215-219.
- [21] Song ZY, Yao XB, Wu M. Direct interaction between survivin and Smac/DIABLO is essential for the anti-apoptotic activity of survivin during taxol-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(25): 23130-23140.
- [22] 英焕春,张淑兰,吕靖. 姜黄素逆转卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 耐药性及机制的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2007, 15(5): 604-607.
- [23] 吕靖,英焕春,戴进. 姜黄素增强卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 对顺铂敏感性的研究[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(8): 1183-1186.
- [24] Yang YI, Kim JH, Lee KT, et al. Costunolide induces apoptosis in platinum-resistant human ovarian cancer cells by generating reactive oxygen species [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 123(3): 588-596.
- [25] Westfall SD, Skinner MK. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase sensitizes ovarian cancer cells to carboplatin and allows adjunct chemotherapy treatment [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(11): 1764-1771.
- [26] 王淳,李士怡,王晓波,等. 消癌平注射液抑制卵巢癌细胞 (Caov-3) 侵袭的作用及可能机制[J]. *解剖科学进展*, 2011, 17(2): 144-146.
- [27] 程道海,侯华新,李力,等. 广西产何首乌 GXH-SWAQ-1 对卵巢癌耐药细胞 SKOV23/CBP 的耐药逆转作用研究[J]. *广西医科大学学报*, 2009, 26(4): 493-495.
- [28] 杨茗飏,刘丝荪. 熊果酸对顺铂耐药人卵巢癌 SKOV3/DDP 细胞增殖与凋亡的影响[J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2011, 51(5): 15-18.

(收稿:2012-03-02 修回:2013-01-21)

第十届活血化癥研究进展高层论坛征文通知

中国中西医结合学会活血化癥专业委员会拟于 2013 年 6 月 20—23 日在海南省海口市举办“第十届活血化癥研究进展高层论坛”,届时将邀请国内著名专家讲演,交流血癥证及活血化癥研究的新成果、新理论、新方法。现将有关事项通知如下。

会议主题 (1) 血癥证及活血化癥临床研究;(2) 血癥证诊治及活血化癥方药应用经验;(3) 血癥证及活血化癥相关基础研究;(4) 血癥证及活血化癥研究新进展;(5) 血癥证病症结合诊断标准研究。

会议内容 (1) 大会论文交流;(2) 评选会议优秀论文并颁奖;(3) 活血养心专题报告会;(4) 第七届活血化癥专业委员会委员会议;(5) 选举第七届活血化癥专业委员会青年委员会副主委。

征文要求 (1) 来稿符合会议主题,请用电子邮件投寄论文全文及 500 字以内摘要;(2) 请自留底稿,恕不退稿。

截稿日期 2013 年 5 月 30 日;来稿请寄:北京市朝阳区樱花东路 2 号(邮编 100029);中日友好医院中西医结合心内科,刘燕收。

联系方式 联系人:刘燕;电话:010-84205043,84205041;传真:010-64284945;E-mail: liuyyy-1124@163.com。