

替莫唑胺治疗脑胶质瘤耐药机制的研究进展

郭珊珊, 阎 昭*

天津医科大学肿瘤医院 国家药物临床试验机构, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市肿瘤防治重点实验室, 天津 300060

摘要: 替莫唑胺是一种新型口服化疗药, 它被广泛用于治疗恶性脑胶质瘤。多形性胶质母细胞瘤是 IV 级脑肿瘤, 由异质群体的细胞所组成, 具有高度的渗透性, 血管生成性及对化学治疗的耐药性等特点。目前标准的治疗方案为术后切除放化疗, 但由于替莫唑胺的耐药性, 治疗后只能为患者提供 12~14 个月的生存期。总结了有关耐药的几种 DNA 修复机制及其他相关因素, 揭示了一些导致替莫唑胺耐药的分子机制及一些可能的治疗新靶点, 同时讨论了一些可能的解决方法。

关键词: 替莫唑胺; 耐药; 自噬; 碱基切除修复; O^6 -甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶; 错配修复; DNA 单链断裂修复

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2014) 06 - 0561 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.06.022

Research progress on drug resistance mechanism of temozolomide in treatment of glioma

GUO Shan-shan, YAN Zhao

Department of Clinical Pharmacology, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China

Abstract: Temozolomide (TMZ) is a new oral chemotherapy agent to be approved for the treatment of high-grade malignant gliomas. Glioblastoma multiform (GBM) is a grade IV brain tumor characterized by a heterogeneous population of cells that are highly infiltrative, angiogenic, and resistant to chemotherapy. The current standard of care, comprised of surgical resection followed by radiation and the chemotherapeutic agent TMZ, only provides the patients with a 12—14 month survival period post-diagnosis. In this review we will describe several DNA repairing mechanisms of drug resistance and other relevant factors. Revealing a growing number of molecular mechanisms contributing to TMZ resistance and a broad range of potentially novel targets for therapy, at the same time we discuss some possible solution.

Key words: temozolomide; resistance; autophagy; base excision repair; O^6 -methyl guanine-DNA methyl transferase; mismatch repair; DNA single-strand break repair pathway

脑胶质瘤是最常见的原发性脑肿瘤, 占所有原发性中枢神经系统肿瘤的 32%, 5 年病死率在全身肿瘤中仅次于胰腺癌和肺癌 (位列第 3 位), 是 35 岁以下肿瘤患者的第 2 位死亡原因。脑胶质瘤中一半以上是恶性程度最高的多形性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiform, GBM) [1]。GBM 是 IV 级脑肿瘤, 年发病率为 $5 \times 10^{-6} \sim 8 \times 10^{-6}$, 具有生长迅速、侵袭性强等特性, 使得手术彻底切除困难, 极易复发 [1-2]。原发的 GBM 多发生于 55 岁以上的中老年患者, 而继发的多发生于年龄小于 55 岁的患者, 是由低级别胶质瘤发展而来, 占 GBM 的 5%~10% [3]。目前对 GBM 的治疗采用手术和放化疗的综

合治疗方式。临床实践证明, 成功手术后的有效化疗是目前治疗恶性脑胶质瘤的有效手段之一, 化疗可以明确提高恶性脑胶质瘤患者的生存率和生存时间。

替莫唑胺 (TMZ) 是第二代口服烷化剂, 易通过血脑屏障, 是临床治疗恶性脑胶质细胞瘤的标准一线化疗药 [4]。替莫唑胺主要攻击肿瘤细胞 DNA, 造成 DNA 烷基化损伤, 主要发生在 N^3 、 N^7 、 O^6 位鸟嘌呤和 O^3 位的腺嘌呤处, 进而形成 DNA 交联, 导致癌细胞死亡 [5]。临床研究表明, TMZ 对人恶性脑胶质瘤的有效率在 45% 左右 [6]。GBM 对 TMZ 的耐药性是化疗失败的主要原因, 即使采用了最为积极的治疗手段, GBM 患者中位生存期仍然少于 15

收稿日期: 2014-08-28

作者简介: 郭珊珊, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为肿瘤临床药理。Tel: 13512876179 E-mail: guoshanshan0407@126.com

*通信作者 阎 昭, 男, 研究生导师, 研究方向为肿瘤临床药理。Tel: (022)2340123-6416 E-mail: yanzhaotj@tjmuch.com

个月。Weller 等^[7]对 TMZ 在胶质瘤细胞中获得性耐药分子机制进行了探讨,发现 TMZ 的耐药不是单一因素影响,主要包括肿瘤干细胞及其微环境、肿瘤细胞对化疗药物的应激反应、药物向肿瘤组织中的渗透性及各种 DNA 损伤修复途径介导的耐药。本文就近年来对 TMZ 耐药的有关因素及其分子靶点的研究进行综述。

1 药物向肿瘤组织中的渗透性介导的耐药

渗透作用影响抗癌药物的作用主要体现在抗癌药物向肿瘤组织的渗透性差,导致药物在肿瘤内部不能达到有效浓度,从而导致化疗失败。

传统的化疗药物具有抗血管生成的特性,通过破坏血管内皮细胞或抑制血管内皮生长因子的表达抑制肿瘤血管生成,反过来也会限制药物成功进入血管^[8]。Kato 等^[9]探讨了 TMZ 对 MCF-7 异种移植实体瘤及体外 MCF-7 细胞作用的比较,发现反复使用 TMZ 会使血管通透性-表面积降低,同时检测 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT) mRNA 的表达情况。结果显示在体内作用 TMZ 后 MGMT mRNA 的表达没有明显变化;但是,在体外培养的 MCF-7 细胞中,高于 50 μg/mL TMZ 处理后能够诱导 MGMT mRNA 表达。这种 MGMT 的不同表达形式可能与 TMZ 在瘤内的浓度低于体外有关。

这种现象说明抗癌药物的耐药与管通透性-表面积的降低有关,从而减少药物向肿瘤细胞的渗透,同时推测在肿瘤内部 MGMT 不是导致耐药的最主要原因^[10]。

2 GBM 干细胞和复杂的血管系统介导的耐药

2.1 多形性脑胶质瘤干细胞能够分化成胶质瘤内皮细胞

GBM 具有复杂的血管系统等特性,这些复杂的血管系统是由高度复制的血管内皮细胞和紊乱的血管组成^[11]。研究表明,造成 GBM 这种复杂血管的特性是由于 GBM 胶质瘤干细胞能够分化成内皮细胞,缺氧条件甚至能够促进这种分化。分化的内皮细胞一部分具有运输液体的功能,一部分将会导致 GBM 异常血管的形成^[12]。Ricci-Vitiani 等^[13]发现抑制 GBM 干细胞分化成内皮细胞可以减少肿瘤的生长,同时能够消除血管球,这表明胶质瘤内皮细胞(GECs)能够促进肿瘤的生长和血管系统的发展。此外,GECs 接受放化疗时发生衰老而不是凋亡,说明 GECs 对目前的标准治疗具有耐药性。因此,GECs 也许能够成为治疗的新靶点,通过抑制多形

性脑胶质瘤干细胞(CSCs)向 GECs 的分化,能偶减少肿瘤血管的生成从而减慢肿瘤的生长。

2.2 GBM 干细胞与其微环境

肿瘤的生长需要血管向不断复制扩增的肿瘤细胞提供氧和营养物质,同时排出有害的代谢物质。如果肿瘤过大,它将缺少足够的氧和营养物质,为了缓解无氧条件,细胞分泌一种能够促进血管生成的因子,即血管内皮生长因子(VEGF),它能够促使血管增殖、迁移,最终形成新的血管。而 GBM 的异常血管系统会促使多形性胶质细胞瘤神经干细胞本身分泌 VEGF 和基因细胞来源因子 1(SDF1),从而促进肿瘤血管的生成;同时,胶质瘤微血管系统内皮细胞(tMVECs)能够保护 CSCs 免受化疗药物的损伤。Borovski 等^[14]认为 tMVECs 可能参与 MGMT 的表达,增加 DNA 修复途径从而保护干细胞免受化疗的损害。

3 肿瘤细胞引起的内质网凋亡途径介导的耐药

内质网应激反应(ERSR)是通过多种病理,如低氧、营养缺失以及肿瘤的产生等条件所引起的一种自我保护方式。通过激活非折叠蛋白反应(UPR)可以维持细胞的正常功能并使之存活;但是如果损伤较严重,稳定的内环境不能及时恢复,ERSR 就会引起细胞凋亡,信号由促生存向促凋亡转换。

胶质瘤细胞周围经常处于低氧状态使其经常处于低应激状态,这种由 ERSR 引起的保护机制会长期被激活,也同时保护了肿瘤细胞免受来自于化疗药物的损伤从而导致耐药。所以近年来经常有研究将 ERSR 做为治疗 GBM 的目标。Sun 等^[15]研究发现脯氨酰羟化酶 β 多肽(P4HB)过表达与 TMZ 的 IC₅₀ 增加有关;同时在临床上发现获得性耐药的肿瘤标本中 P4HB 表达相对增加,通过 siRNA 敲除或杆菌肽抑制 P4HB 可以增加胶质瘤细胞对 TMZ 的敏感性;相反,使 P4HB 表达增高也会导致其在体外对 TMZ 耐药。所以,P4HB 能够保护胶质瘤细胞,使其对替莫唑胺耐药,因此降低 P4HB 的表达能够提高胶质瘤细胞对化疗的敏感性^[16]。

4 肿瘤细胞发生自噬对耐药的影响

自噬,即大分子自发吞噬作用,是细胞遇到压力或饥饿等条件时自发的降解,循环利用细胞内容物来为细胞提供一种能源。在自噬过程中,一种名为自噬体的双膜细胞质囊泡包裹大分子甚至整个细胞器。自噬体与溶酶体结合形成自噬溶酶体,降解

细胞内容物,所以自噬是细胞维持内环境稳态必不可少的^[17-18]。

临床应用的 TMZ 剂量能够导致细胞发生自噬,而不是凋亡。用巴弗洛霉素 A 抑制自噬,能够激活 caspase-3 继而发生凋亡,说明自噬能够使胶质瘤细胞逃避死亡。TMZ 导致的自噬是由于 TMZ 引起的 O^6 -MeG 损伤。用 siRNA 敲除 MSH2-MSH6 复合体能够取消自噬,说明自噬的发生需要错配修复 (mismatch repair, MMR)。用 TMZ 处理某些胶质瘤细胞时发现自噬先于凋亡发生,在一些研究中显示抑制自噬不仅能增加凋亡,还能使凋亡发生得更早,因此自噬能够使胶质瘤细胞免除 TMZ 造成的死亡^[19]。

由于放疗也是治疗 GBM 的一个重要部分,有研究表明自噬能够增加细胞对放疗的敏感性,从而增加细胞死亡^[20]。说明自噬对于耐药的作用是比较复杂的,通常取决于细胞种类和具体的治疗方法。

5 DNA 修复途径介导的耐药

5.1 O^6 -甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶

替莫唑胺可引起 DNA 上 O^6 -烷基鸟嘌呤发生甲基化,虽然 O^6 -MeG 仅占碱基损伤的 6%,但它干扰 DNA 复制的程度最严重、毒性最大。MGMT 可将 TMZ 导致的 O^6 -MeG 加合物转移到自身半胱氨酸残基上,避免 DNA 发生交联、断裂,使 DNA 得以修复,从而导致肿瘤对烷化剂的耐药,同时自身不可逆的失活,即“自杀式”修复机制。这种机制表明 O^6 -烷基鸟嘌呤加合物移除的数量是由 MGMT 分子在细胞中的数量及合成速度决定的^[21]。

目前研究认为,MGMT 是胶质瘤细胞对 TMZ 耐药的主要机制之一。Wiewrodt 等^[22]比较新诊断的与接受 TMZ 化疗后复发的患者体内 MGMT 的活性,发现后者中 MGMT 活性明显增高。MGMT 与脑肿瘤患者的生存率呈负相关。因此,目前认为有效的消耗 MGMT 蛋白可能是提高替莫唑胺疗效的有效途径。

近来,乙醛脱氢酶 (ALDH) 1A1 可作为胶质瘤干细胞新的标示,在多种肿瘤 (乳腺癌、大肠癌及前列腺癌) 中均发现 ALDH1A1 的表达与临床预后效果低有关。ALDH1A1 是一种新的与 TMZ 耐药有关的酶,ALDH1A1 高表达者对 TMZ 敏感性低,这种现象在 MGMT 表达为阳性细胞中更为明显。ALDH1A1 和 MGMT 都为阳性的细胞 (T98G) 对 TMZ 的敏感性最低;ALDH1A1 和 MGMT 都为阴

性的细胞 (LN229) 对 TMZ 最为敏感。抑制或敲除 ALDH1A1 可增加 MGMT 阳性的 TMZ 耐药细胞株的细胞毒性作用、减少细胞集落的形成以及延长细胞 G_2/M 期。这表明,ALDH1A1 在介导 TMZ 耐药过程中起重要作用,可作为临床诊断治疗 GBM 的可靠指标^[23]。

5.2 错配修复

错配修复系统是切除和修复 DNA 重组和复制过程中出现的碱基错配。如果 MMR 功能缺陷将影响细胞识别 DNA 损伤和激活凋亡的能力,从而使肿瘤细胞对一些化疗药物产生耐药。

研究表明,罗米曲松 (lomeguatrib) 可使肿瘤细胞中的 MGMT 活性下降 95%,但对 MMR 功能缺失的肿瘤细胞不能增加其对 TMZ 的敏感性,这是因为 O^6 -MeG 损伤处会与胸腺嘧啶碱基错误配对,这种错配会被 MMR 系统识别,切除胸腺嘧啶残基,在 MGMT 缺乏的情况下, O^6 -MeG 仍然存在,胸腺嘧啶会被重新插入 O^6 -MeG 的对位,这种无效的循环修复系统会激活 ATR 和 Chk1,导致双链断裂,最终导致细胞发生凋亡。缺乏 MMR 的细胞不会经历错配这个过程,DNA 复制将会继续,则细胞周期不会发生停滞,也不会有细胞凋亡的发生。所以,即使 MGMT 的活性降低,但是 MMR 的缺失也会导致耐药^[24]。

如果 MMR 基因发生突变使参与 MMR 的蛋白失去活性,TMZ 造成的 O^6 -meG:T 错配未被发现,会增加替莫唑胺的耐药性。MMR 基因突变造成功能丧失主要由于 hMLH1 基因启动子甲基化造成的,hMLH1 和 hMSH2 缺失占 MMR 系统缺失的大部分,因此在 MMR 中起着重要的作用,可作为烷化剂耐受的分子指标^[24]。

5.3 碱基切除修复

细胞中有能够识别受损核酸位点的糖苷水解酶,它能够特异性地切除受损核苷酸上的 N - β -糖苷键,在 DNA 链上形成去嘌呤或去嘧啶位点,称为 AP 位点。DNA 分子中一旦产生了 AP 位点,AP 核酸内切酶就会把受损核苷酸的糖苷-磷酸键切开,并移去包括 AP 位点核苷酸在内的小片段 DNA,由 DNA 聚合酶 I 合成新的片段,最终由 DNA 连接酶把两者连成新的被修复的 DNA 链,这一过程即为碱基切除修复 (base excision repair, BER)。

Trivedi 等^[25]对替莫唑胺介导的细胞中 BER 的作用进行了研究,认为替莫唑胺引起的 DNA 损伤

超过80%是作用在N甲基化部位的碱基,这些部位的甲基化是由DNA转葡萄糖基酶识别的,而不是MGMT。所以,BER途径是导致替莫唑胺耐药的重要途径,其作用程度取决于BER基因的表达及活性。

5.4 DNA单链断裂修复

多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)能够识别单链断裂并启动修复过程。PARP利用NAD⁺作为底物催化ADP-核糖聚合链生成,修饰受体蛋白活性,传递DNA损伤信息^[26-27]。PARP不仅可以调节DNA单链断裂修复(SSB)修复,同时也能够调节BER途径,使得PARP成为调节DNA修复系统的靶点。临床前试验将PARP抑制剂(如ABT-888)与替莫唑胺联用能够明显增加GBM对TMZ的敏感性^[28]。ABT-888是一种能够抑制PARP的新型苯并咪唑类化合物,由于能够良好的透过血脑屏障,目前与替莫唑胺联合治疗GBM已经进入I期临床^[29]。此外,PARP抑制剂能够恢复MMR缺失的细胞对替莫唑胺的敏感性^[30]。体外实验发现ABT-888能够增加未用TMZ处理过的胶质瘤细胞对TMZ的敏感性,对已获得耐药的细胞不能增加其敏感性,所以TMZ和PARP抑制剂联用对新诊断的胶质瘤患者疗效更好^[31]。

5.5 DNA双链断裂修复(DSB)

DNA双链断裂主要激活同源重组(HR)和非同源末端连接(NHEJ)两条修复通路。NHEJ途径中Ku70/80蛋白识别断裂的双链,使其与蛋白激酶DNA-PKcs连接,启动XRCC4和DNA连接酶IV达到修复效果。NHEJ能够直接修复DSB,不依赖细胞周期,是GBM在放疗过程中修复的重要途径^[32]。HR修复的双链断裂过程需要姐妹染色单体作为模板,因此HR只能在细胞周期的S和G₂期进行。参与HR调控的分子有很多,如ATM、ATR、BRCA1、BRCA2、P53、CHK1等。在体外肿瘤模型中,NBS1、Rad51、BRCA2等信号蛋白参与TMZ敏感性的调控。此外,一些研究发现ATM、ATR、和MRN蛋白能够延长TMZ导致的G₂期停留,增加TMZ的细胞毒性作用,说明这些分子可能成为克服TMZ耐药的靶点^[33]。

6 结语

脑胶质瘤对替莫唑胺的耐药不是单一因素影响的。近来对TMZ耐药的研究主要集中在MGMT、MMR和BER修复途径。SSB和DSB修复途径在TMZ耐药中的作用也将受到重视。

首先,每一种DNA修复途径不是独自发挥功能,而是与其他途径相互干扰、相互影响的,其功能的发挥是由DNA损伤的程度决定的。因此,逐步分析这种复杂的DNA修复途径甚至可能发现化疗耐药的新靶点。

其次,建立有用的分子标记来评估DNA修复的状态有望开发出针对修复途径的有效治疗方法。通过对相关的分子标记进一步研究,有望实现个体化治疗。个体化化疗与用药可以减少药物的耐受、增加疗效,针对患者的基因型检测可以选择更加有效的药物,从而提高化疗的有效性。

再次,替莫唑胺的耐药与肿瘤细胞本身也有其相关性,细胞受到药物刺激时能够引起自身的内质网应激反应,使肿瘤细胞免于化疗药物的损伤。同时,脑胶质瘤干细胞能够分化成内皮细胞,促进GBM异常血管的生成,并且脑胶质瘤干细胞群能够激活DNA修复途径,是化疗耐药的重要因素。此外,DNA的修复途径是由TMZ导致DNA损伤所引起的,但在DNA发生破坏之前仍有很多因素影响TMZ的疗效。如,TMZ药物本身进入肿瘤内部的浓度通常不能达到有效的治疗浓度。

另外,临床TMZ的用量能够引起细胞发生自噬,从而逃避死亡,这也是TMZ耐药的又一影响因素。肿瘤对化疗的耐药不仅与肿瘤自身有关,同时肿瘤的微环境也对耐药有很大的影响。所以,对TMZ耐药的进一步研究需要考虑这些综合因素。

目前一些化学药物研究者正在合成一些新的替莫唑胺类似物,有望能够比替莫唑胺更加有效的治疗胶质瘤,可以通过这种方法使得药物本身更多的消耗MGMT蛋白,也可以合成能够避开形成DNA加合物而发挥作用的新药。也可以针对避免低级肿瘤向多形性脑胶质瘤转向的某些靶点设计一些抑制剂。同时,发现导致肿瘤复发的某些机制靶点,可以为将来提高生存率开发一些更好的治疗方案。

参考文献

- [1] Dolecek T A, Propp J M, Stroup N E, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005—2009 [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(Suppl 5): v1-v49.
- [2] Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(5): 1445-1453.
- [3] Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(19): 6892-6899.
- [4] 王永峰. 我和替莫唑胺二十年 [J]. *现代药物与临床*, 2013, 28(4): 648-660.

- [5] Fukai J, Koizumi F, Nakao N. Enhanced anti-tumor effect of zoledronic acid combined with temozolomide against human malignant glioma cell expressing O⁶-methylguanine DNA methyltransferase [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104538.
- [6] Cavaliere R, Wen P Y, Schiff D. Novel therapies for malignant gliomas [J]. *Neurol Clin*, 2007, 25(4): 1141-1171.
- [7] Weller M, Stupp R, Reifenberger G, et al. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(1): 39-51.
- [8] Folkins C, Shaked Y, Man S, et al. Glioma tumor stem-like cells promote tumor angiogenesis and vasculogenesis via vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1 [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(18): 7243-7251.
- [9] Kato Y, Okollie B, Raman V, et al. Contributing factors of temozolomide resistance in MCF-7 tumor xenograft models [J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6(6): 891-897.
- [10] Laperriere N, Zuraw L, Cairncross G. Radiotherapy for newly diagnosed malignant glioma in adults: a systematic review [J]. *Radiother Oncol*, 2002, 64(3): 259-273.
- [11] Friedman H S, Prados M D, Wen P Y, et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(28): 4733-4740.
- [12] Soda Y, Marumoto T, Friedmann-Morvinski D, et al. Transdifferentiation of glioblastoma cells into vascular endothelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(11): 4274-4280.
- [13] Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells [J]. *Nature*, 2010, 468(7325): 824-828.
- [14] Borovski T, Beke P, van Tellingen O, et al. Therapy-resistant tumor microvascular endothelial cells contribute to treatment failure in glioblastoma multiforme [J]. *Oncogene*, 2013, 32(12): 1539-1548.
- [15] Sun S, Lee D, Ho A S, et al. Inhibition of prolyl 4-hydroxylase, beta polypeptide (P4HB) attenuates temozolomide resistance in malignant glioma via the endoplasmic reticulum stress response (ERSR) pathways [J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(5): 562-577.
- [16] Sundar R S, Srinivasan V, Balasubramanyam M, et al. Endoplasmic reticulum (ER) stress & diabetes [J]. *Indian J Med Res*, 2007, 125(3): 411-424.
- [17] Maes H, Rubio N, Garg A D, et al. Autophagy: shaping the tumor microenvironment and therapeutic response [J]. *Trends Mol Med*, 2013, 19(7): 428-446.
- [18] Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, et al. Chloroquine in cancer therapy: a double-edged sword of autophagy [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 3-7.
- [19] Kanzawa T, Germano I M, Komata T, et al. Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells [J]. *Cell Death Differ*, 2004, 11(4): 448-457.
- [20] Palumbo S, Pirtoli L, Tini P, et al. Different involvement of autophagy in human malignant glioma cell lines undergoing irradiation and temozolomide combined treatments [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(7): 2308-2318.
- [21] Silber J R, Bobola M S, Blank A, et al. O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase in glioma therapy: promise and problems [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1826(1): 71-82.
- [22] Wiewrodt D, Nagel G, Dreimuller N, et al. MGMT in primary and recurrent human glioblastomas after radiation and chemotherapy and comparison with p53 status and clinical outcome [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(6): 1391-1399.
- [23] Schafer A, Teufel J, Ringel F, et al. Aldehyde dehydrogenase 1A1—a new mediator of resistance to temozolomide in glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2012, 14(12): 1452-1464.
- [24] Wang G, Weiss C, Sheng P, et al. Retrovirus-mediated transfer of the human O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene into a murine hematopoietic stem cell line and resistance to the toxic effects of certain alkylating agents [J]. *Biochem Pharmacol*, 1996, 51(9): 1221-1228.
- [25] Trivedi R N, Almeida K H, Fornsglio J L, et al. The role of base excision repair in the sensitivity and resistance to temozolomide-mediated cell death [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6394-6400.
- [26] Luo X, Kraus W L. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly (ADP-ribose) and PARP-1 [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(5): 417-432.
- [27] De Vos M, Schreiber V, Dantzer F. The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: current state of the art [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(2): 137-146.
- [28] Leonetti C, Biroccio A, Graziani G, et al. Targeted therapy for brain tumours: role of PARP inhibitors [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2012, 12(3): 218-236.
- [29] Plummer R, Jones C, Middleton M et al. Phase I study of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor, AG014699, in combination with temozolomide in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(23): 7917-7923.
- [30] Cheng C L, Johnson S P, Keir S T, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibition reverses temozolomide resistance in a DNA mismatch repair-deficient malignant glioma xenograft [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(9): 1364-1368.
- [31] Clarke M J, Mulligan E A, Grogan P T, et al. Effective sensitization of temozolomide by ABT-888 is lost with development of temozolomide resistance in glioblastoma xenograft lines [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(2): 407-414.
- [32] Mukherjee B, Mcellin B, Camacho C V, et al. EGFRvIII and DNA double-strand break repair: a molecular mechanism for radioresistance in glioblastoma [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(10): 4252-4259.
- [33] Zhuang W, Li B, Long L, et al. Knockdown of the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit radiosensitizes glioma-initiating cells by inducing autophagy [J]. *Brain Res*, 2011, 1371: 7-15.