

食管癌多药耐药机制的研究进展

张宏鑫¹, 张颖²

1. 长治市人民医院 心胸外科, 山西 长治 046000

2. 长治市人民医院 病理科, 山西 长治 046000

摘要: 化疗是食管癌治疗的主要方法之一, 而多药耐药 (MDR) 现象是目前食管癌化疗过程中遇到的最大障碍。肿瘤 MDR 是指肿瘤患者经过某种化疗药物长期治疗后, 除了对该化疗药物产生耐药性, 对其他多种结构和功能不同的抗肿瘤药物亦产生耐药。肿瘤 MDR 是一个多阶段、多因素参与的复杂过程, 包括药物转运蛋白的外排作用、靶酶的变化以及其他参与因素的改变等, 主要对食管癌多药耐药机制及其逆转剂的研究进展进行综述。

关键词: 食管癌; 多药耐药; 机制; 逆转剂

中图分类号: R975; R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)06-0742-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.06.030

Research progress on multidrug resistance of esophageal carcinoma

ZHANG Hong-xin¹, ZHANG Ying²

1. Department of Cardiothoracic Surgery, People's Hospital of Changzhi City, Changzhi 046000, China

2. Department of Pathology, People's Hospital of Changzhi City, Changzhi 046000, China

Abstract: Chemotherapy is one of the main methods in treatment of esophageal carcinoma. However, multidrug resistance (MDR) is the greatest barrier during the chemotherapeutic process. MDR means that after treatment for a long period with some chemotherapeutic agents, patients resistant not only to this chemotherapeutic drug, but also to other structurally and functionally drugs. MDR is a complicated procedure involving multiple stages and multiple factors, including exocytosis of drug transporters, changes of target enzyme, and other involved factors. MDR mechanism of esophageal carcinoma and reversal agents are summarized in this brief review.

Key words: esophageal carcinoma; multidrug resistance; mechanism; reversal agents

食管癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一^[1], 我国则是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国家, 每年新发病例约 25 万, 占全世界新发病例的 50% 以上^[2]。目前化疗是食管癌最主要的治疗手段之一, 但化疗过程中出现的多药耐药 (MDR) 现象严重影响了临床的化疗效果。有些肿瘤治疗最初即对抗肿瘤药物耐受, 即天然耐药性, 还有一些肿瘤开始对抗肿瘤药物敏感, 久用则产生耐受, 即获得性耐药性。食管癌多药耐药的机制很复杂, 包括药物转运蛋白的外排作用、靶酶的变化以及其他参与因素的改变等^[3]。因此, 明确食管癌 MDR 的相关机制, 有针对性地逆转 MDR, 提高食管癌化疗效果成为亟待解决的重要问题之一。本文就目前食管癌多药耐药

机制的研究进展及其相应逆转剂进行总结归纳。

1 多药耐药转运蛋白

多药耐药转运蛋白介导的 MDR 即药物转运的改变 (外排增加) 导致食管癌细胞内药物浓度下降而产生的耐药。此类转运蛋白根据发现时间及首要发现部位的不同分为: P-糖蛋白 (P-gp)、多药耐药相关蛋白 (MRP) 和肺耐药相关蛋白 (LRP) 等。

1.1 P-gp

P-gp 是一种腺苷三磷酸 (ATP) 依赖性的膜结合蛋白, 属于三磷酸腺苷结合盒式 (ABC) 转运家族中的一员^[4]。P-gp 由 1 279 个氨基酸组成, 相对分子质量为 1.70×10^5 , 也称 P170 糖蛋白, 其编码基因为 MDR1, 位于 7q21.1。P-gp 由跨膜疏水区

收稿日期: 2015-05-11

作者简介: 张宏鑫, 工作于长治市人民医院。E-mail: 839501606@qq.com

ATP 结合区构成,在膜内以二聚体或四聚体形式存在,通过水解 ATP 提供能量,能够逆浓度梯度将进入细胞内的靶标物(如药物或毒物)泵出细胞外,从而导致其细胞内浓度降低而不能产生作用^[5]。正常情况下, P-gp 在机体大小肠、胰腺、肾上腺等组织中有低表达,其外排功能参与细胞正常的生长、应激和解毒等作用,对人体有保护作用,但在化疗不敏感或疗效差的肿瘤细胞中往往有较高水平 MDR1/P-gp 表达^[6]。P-gp 介导的多药耐药是最为经典、目前研究最多、最彻底的 MDR 耐药机制。目前临床上已经研究开发了多种 P-gp 的抑制剂来逆转耐药,主要包括:(1)钙通道阻滞剂;(2)钙调蛋白抑制剂;(3)环孢菌素 A 及其衍生物;(4)抗疟药;(5)雌激素、孕激素及抗激素类化合物;(6)抗心律失常药及特异性 P-gp 单克隆抗体等;(7)某些中草药成分如姜黄素、胡椒碱、水飞蓟宾、黄酮类、麻醉椒苦素等。研究表明,MDR 的食管癌细胞存在 P-gp 的过表达^[7]。Wang 等^[8]证明通过调控食管癌细胞 P-gp 的表达,能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,从而有效逆转肿瘤 MDR,表明多药耐药蛋白 P-gp 的过表达参与了食管癌多药耐药机制的形成。

1.2 MRP

MRP 是继 P-gp 之后发现的第 2 个 ABC 跨膜转运蛋白家族成员,也是一种 ATP 依赖的 MDR 相关药物转运泵^[9],与 P-gp 有 15% 的氨基酸序列同源。目前,MRP 家族包括 9 位成员,即 MRP1-MRP9 (ABCC1-ABCC6, ABCC10-ABCC12),其中 MRP1 和 MRP2 与肿瘤 MDR 有关。在正常组织中 MRP 亦呈低水平表达,其外排功能在正常情况下对机体有保护作用,担负着细胞内解毒、氧化应激反应、炎症反应、物质的运输等生理功能^[10-11]。但在 MRP 高表达的肿瘤组织,MRP 能够借助 ATP 水解释放的能量,将其底物化疗药物逆浓度梯度转运出细胞外从而导致耐药现象产生。MRP 介导的药物转运机制与 P-gp 不同,其耐药机制与谷胱甘肽(GSH)密切相关。细胞毒药物与 GSH 偶合物相结合后,分布于细胞膜上的 MRP 能识别该复合物并将其转运出细胞外,从而通过改变药物的分布模式而导致耐药^[12-13]。逆转剂司盘 80、聚山梨酯 20、聚山梨酯 80、Myrj 52、硫酸十二烷基钠等可以有效逆转 MRP 介导的多药耐药。甘思远等^[14]采用免疫组化法检测 MRP2 蛋白表达并研究了其与食管癌耐药性之间的

相关性,发现食管鳞癌组织对环磷酰胺、5-氟尿嘧啶、吉西他滨、顺铂、卡铂、阿霉素、长春瑞滨、羟喜树碱等化疗药物的敏感性与相应癌组织中 MRP2 表达水平呈明显的负相关,MRP2 表达水平越高,这些药物的化疗敏感性越低,因此认为 MRP2 可能与食管癌多药耐药现象的形成有关。

1.3 LRP

1993 年,荷兰学者 Scheper 等^[15]对一株多药耐药的肺癌细胞株进行研究,发现其无 P-gp 和 MRP 表达,却发现了另一种与多药耐药相关的蛋白,由于此蛋白首先在肺中发现,因而被命名为 LRP。LRP 不属于 ABC 转运蛋白超家族成员,其跨膜转运区域缺少 ATP 结合位点^[16],编码基因位于人类染色体 16p13.1~11.2。LRP 介导的耐药作用非常广泛,包括一些 P-gp 和 MRP 不能介导的药物的耐药,如铂类、烷化剂等,其作用机制主要是使以细胞核为靶点的药物不能通过核孔进入核内,同时使已经进入核内的药物进入囊泡呈房室性分布,从而隔离药物并通过胞吐作用将其排出细胞外而产生耐药性^[17]。逆转 LRP 的逆转剂主要有抗 LRP 抗体 LRP-56、环孢菌素 A、PAK-104P 和肿瘤坏死因子(TNF)α。

2 酶改变

细胞内多种生物活性酶是许多化疗药物的作用靶点或底物,也一定程度上参与了食管癌多药耐药机制的形成。根据酶性质及作用机制的不同,可分为:拓扑异构酶 II (Topo II)、谷胱甘肽 S-转移酶-π (GST-π) 以及 DNA 聚合酶 β (DNA-pol β)。

2.1 Topo II

Topo II 是一类与细胞增殖有关的重要细胞核酶类,它能改变 DNA 二维及三维结构,在基因复制、转录、有丝分裂、染色体分离、修复等中起关键作用^[18]。Topo II 是多种化疗药物的靶酶,如 VP-16、蒽环类抗癌药等,当胞内 Topo II 基因突变、含量降低或活性减弱时,药物作用的靶点减少,无法发挥疗效,从而导致肿瘤细胞耐药^[19-20]。喜树碱类衍生物如伊立替康、拓扑替康、九氮基喜树碱是以 Topo II 为作用靶点的逆转剂,它能稳定化疗药物-Topo II-DNA 复合物,从而增强药物对 DNA 的损伤,抑制 DNA 复制,从而导致细胞死亡。Topo II 介导的耐药细胞并无 mdrl 基因的扩增和 P-gp 过量表达,因此又称为非典型耐药^[21]。研究表明,Topo II 变化与食管癌对化疗药物耐受有关。张妍等^[22]发现 103 例食管鳞癌患者中存在 Topo II 高表达,明显强

于腺癌组织 (Topo II 阳性率低), 与临床报道的食管鳞状细胞癌比腺癌化疗效果好的事实相一致, 表明 Topo II 与食管癌多药耐药机制的形成有关。

2.2 GST

GST 是一组与体内生物转化有关的酶系, 分为 α 、 μ 和 π 等多种同工酶, 参与细胞解毒功能。GST 主要通过促进亲电底物与还原型 GSH 结合, 加速多种毒性物质 (如药物、染料、致癌物等) 排出体外, 从而达到解毒的目的。临床上许多化疗药物亦是 GST 的催化底物, 如化疗药烷化剂和铂类, 通过 GST 的外排作用导致化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用减弱, 从而引起耐受^[23]。二乙酯类药物及其衍生物被发现能抑制性结合 GST, 从而提高化疗药物浓度而对抗耐药现象^[24]。在 GST 多种同工酶中, GST- π 被发现与肿瘤 MDR 的关系最密切, 在多种耐药细胞株中高度表达。李明等^[25]采用双铂方案对 58 例食管癌患者进行了治疗, 同时采用免疫组织化学方法检测患者食管癌组织中多药耐药相关蛋白 GSH- π 的表达情况, 目的是研究化疗敏感性与 GST- π 表达差异的关系, 结果发现, 化疗有效组患者中 GSH- π 表达率显著低于化疗无效组, 提示高表达的 GST- π 诱发了食管癌多药耐药机制的形成。

2.3 DNA-pol β

DNA-pol β 广泛存在于哺乳动物细胞核内, 由 355 个氨基酸组成, 是目前已知最小的 DNA 聚合酶。DNA-pol β 在碱基切除修复、DNA 复制、跨损伤合成中发挥重要作用, 还与基因组不稳定性有关^[26]。细胞为了维持正常分化以及 DNA 复制和修复, DNA-pol β 在细胞内的表达水平必须保持在一个适量的稳定水平。当其浓度变高时, 可导致细胞自身突变率增加、遗传不稳定性发生以及对一些抗癌药物产生耐受性。大量研究显示 DNA-pol β 与食管癌 MDR 之间存在密切的联系。李敏等^[27]通过建立人食管癌顺铂 (cDDP) 耐药细胞系, 分析了高表达的 DNA-pol β 与食管癌细胞耐药之间的相关性, 结果发现 DNA-pol β 的高表达可引起肿瘤细胞对 cDDP 的耐受。崔华娟等^[28]采用 cDDP 反复间歇 24 h 暴露法作用于食管癌细胞系 ECa-109, 建立了对 cDDP 耐药的细胞系 ECa-109/cDDP, 经 Western blot 法检测 DNA-pol β 表达发现, ECa-109/cDDP 细胞内的 DNA-pol β 水平显著高于敏感的亲本细胞 ECa-109, 提示 DNA-pol β 表达增高与食管癌细胞对 cDDP 耐药有关。

3 其他

参与食管癌多药耐药机制形成的其他可能因素包括癌基因改变, 如 p53 以及细胞相关蛋白改变如微管蛋白和热休克蛋白 (HSP)。

3.1 突变型 p53 蛋白

p53 是一种重要的抑癌基因, 可诱导肿瘤细胞程序性死亡即凋亡, 而失去正常功能的突变、缺失型基因则相反, 它可以抑制肿瘤细胞凋亡。有研究报道, 突变型 p53 与食管癌对化疗药物耐受有关。王延明等^[29]应用免疫组化法检测 54 例食管癌组织标本中 p53 基因表达, 发现突变型 p53 在食管癌组织的表达水平高于周围正常食管黏膜组织, 且突变型 p53 表达可引起多药耐药 MDR-1 编码产物表达增高, 从而使食管癌细胞获得多药耐药 MDR-1 表型引发耐药。Chin 等^[30]从转录水平研究 p53 基因对 MDR-1 基因启动子的调控作用, 发现将突变型 p53 基因导入抗药的 NHI3T3 细胞后可明显激活 MDR1 基因的促进因子, 进而促进 MDR-1 基因转录, 增加 P-gp 生成, 诱发耐药。

3.2 微管蛋白

微管蛋白是构成细胞骨架和纺锤体的主要成分, 参与细胞有丝分裂、细胞器组成与运输及信号传导等。微管蛋白是许多药物作用的靶点, 其变化可导致与药物相互作用的改变而引发耐药。目前真核生物中已经确定的微管蛋白有 7 种, 分别为 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ 、 η -微管蛋白, 其中 α -和 β -微管蛋白是微管结构的主要组成成分。紫杉醇的作用机制是促使微管蛋白二聚体装配成微管, 并阻止其解聚而使微管束不能与微管组织中心相互连接, 由此抑制纺锤体的正常形成, 导致有丝分裂异常或停止而致使癌细胞死亡^[31]。有研究报道, 肿瘤细胞内微管蛋白及其同型的变化与紫杉醇耐药有关, 这些变化包括微管蛋白解聚、点突变、H α 乙酰化、H β 亚型表达改变, 随着 H β 4 成分的增加, 紫杉醇类药物与作用靶点的亲和力明显下降, 从而导致微管稳定性下降而产生耐药^[32-33]。卢红等^[34]研究发现, 紫杉醇耐药的食管癌细胞株 EC9706 中存在 H β 4 mRNA 高表达, 是参与食管癌紫杉醇耐药的一个重要因素。

3.3 HSP

HSP 又称应激蛋白, 是生物细胞在生理应激或病理状态以及各种环境因素的刺激下迅速合成的、具有高度保守序列的一类蛋白质。HSP 作用广泛, 其主要功能是作为分子伴侣参与蛋白质的折叠、装

配和修饰,保护细胞免受各种应激因素的损伤、参与细胞的增殖分化,并在细胞凋亡的多个关键点起作用。人类 HSP 根据相对分子质量大小可分为 HSP100、HSP90、HSP70、HSP60、HSP40 以及包括 HSP27 在内的小热休克蛋白家族(sHSP)亚家族,其中 HSP70、HSP27 与食管癌耐药密切相关。Miyazaki 等^[35]证实食管鳞癌患者中,化疗对 HSP27 低表达组的疗效明显优于高表达组,且差异有统计学意义($P<0.05$)。HSP27 和 HSP70 介导的肿瘤细胞耐药机制可能为 3 个,(1)造成瘤细胞内药物转运障碍:HSP27 可以在囊泡水平滞留药物,使与其作用的靶位保持一定距离,从而导致肿瘤细胞耐药^[36];(2)分子伴侣:HSP27 可发挥分子伴侣作用,有效修复细胞内化学治疗药物引起的蛋白损伤,从而促进耐药肿瘤细胞的存活^[37];(3)HSP70、HSP27 可以造成再生性耐药:再生性耐药是指化疗杀死癌细胞后由于肿瘤细胞快速再生而导致的治疗失败。

4 结语

综上所述,食管癌多药耐药机制的产生是一个多因素、多机制参与的复杂过程。随着肿瘤内科学及分子生物学的发展,有关食管癌细胞多药耐药的分子机制将会不断清晰,这亦将有利于针对这些机制的相应逆转药物的研究和开发,为临床多药耐药食管癌的治疗提供更多的选择。

参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, *et al.* Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Ke L. Mortality and incidence trends from esophagus cancer in selected geographic areas of China circa 1970-90 [J]. *Int J Cancer*, 2002, 102(3): 271-274.
- [3] 王丽娟,刘克辛.介导肿瘤多药耐药的 ATP 结合盒转运体的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2014, 37(2): 173-177.
- [4] Loo T W, Clarke D M. Recent progress in understanding the mechanism of P-glycoprotein-mediated drug efflux [J]. *J Membr Biol*, 2005, 206(3): 173-185.
- [5] Pérez-Tomás R. Multidrug resistance retrospect and prospects in anticancer drug treatment [J]. *Curr Med Chem*, 2006, 13(16): 1859-1876.
- [6] Bergman A M, Pinedo H M, Talianidis I, *et al.* Increased sensitivity to gemcitabine of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein-overexpressing human cancer cell lines [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(12): 1963-1970.
- [7] Gillet J P, Efferth T, Remacle J. Chemotherapy-induced resistance by ATP-binding cassette transporter genes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775(2): 237-262.
- [8] Wang T H, Wan J Y, Gong X, *et al.* Tetrandrine enhances cytotoxicity of cisplatin in human drug-resistant esophageal squamous carcinoma cells by inhibition of multidrug resistance associated protein [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(5): 1681-1686.
- [9] Linton K J. Structure and function of ABC transporters [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2007, 22(2): 122-130.
- [10] Zhou S F, Wang L L, Di Y M, *et al.* Substrates and inhibitors of human multidrug resistance associated proteins and the implications in drug development [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(20): 1981-2039.
- [11] Sharom F J. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance [J]. *Pharmacogenomics*, 2008, 9(1): 105-127.
- [12] Kimura Y, Morita S Y, Matsuo M, *et al.* Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1 [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(9): 1303-1310.
- [13] Cicchillitti L, Di Michele M, Urbani A, *et al.* Comparative proteomic analysis of paclitaxel sensitive A2780 epithelial ovarian cancer cell line and its resistant counterpart A2780TC1 by 2D-DIGE: the role of ERp57 [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(4): 1902-1912.
- [14] 甘思远,区增冠,孙艳芹,等. MRP2 蛋白在食管鳞癌中的表达及其与化疗耐药的相关性 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(25): 4863-4865.
- [15] Scheper R J, Broxterman H J, Scheffer G L, *et al.* Over-expression of a M(r)110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(7): 1475-1479.
- [16] Ozben T. Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(12): 2903-2909.
- [17] Vollmar F, Hacker C, Zahedi R P, *et al.* Assembly of nuclear pore complexes mediated by major vault protein [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 6): 780-786.
- [18] 卢培刚,张荣伟,袁绍纪,等. 恶性胶质瘤 DNA 拓扑异构酶的表达 [J]. *实用医药杂志*, 2003, 20(6): 445-446.
- [19] Acuto O, Di Bartolo V, Michel F, *et al.* Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9): 699-712.
- [20] 韩永,徐燕杰,石炳毅,等. 大肠癌多药耐药基因表达及其体视学测定与临床研究 [J]. *实用诊断与治疗杂志*, 2007, 21(9): 644-647, 721.
- [21] Fischer V, Rodríguez-Gascón A, Heitz F, *et al.* The multidrug resistance modulator valspodar (PSC833) is metabolized by human cytochrome P4503A: implications

- for drug-drug interactions and pharmacological activity of the main metabolite [J]. *Drug Metab Dispos*, 1998, 26(8): 802-811.
- [22] 张妍, 王翠芳, 宦大为, 等. DNA 拓扑异构酶 II 在食管癌的表达及意义 [J]. 实用医技杂志, 2006, 13(12): 2013-2014.
- [23] 董稚明, 崔雅静, 邝刚, 等. 胸苷酸合成酶基因多态性及其蛋白表达与食管鳞状细胞癌淋巴结转移的关系 [J]. 癌症: 英文版, 2005, 24(10): 1225-1229.
- [24] Morgan A S, Ciaccio P J, Tew K D, *et al*. Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors potentiate drug sensitivity in cultured human tumor cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1996, 37(5): 363-370.
- [25] 李明, 张成辉, 张永喜. PgP, TP, GST-, MRP 在食管癌组织中的表达及与化疗的关系 [J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(19): 1768-1772.
- [26] Idriss H T, Al-Assar O, Wilson S H. DNA polymerase beta [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34(4): 321-324.
- [27] 李敏, 臧文巧, 付庆, 等. pol β 高表达与食管癌细胞耐药的相关性 [J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(12): 1065-1068.
- [28] 崔华娟, 金戈, 杨洪艳, 等. 人食管癌顺铂耐药细胞系 DNA 聚合酶 β 的表达 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2005, 40(1): 17-19.
- [29] 王延明, 郑建强, 白京霞, 等. 食管癌 Mp53 和 mdr-1, mrp 表达的相关性研究 [J]. 临床军医杂志, 2003, 31(1): 1-3.
- [30] Chin K V, Ueda K, Pastan I, *et al*. Modulation of activity of the promoter of the human MDR gene by Ras and p53 [J]. *Science*, 1992, 255(5043): 495-462.
- [31] El-Kareh A W, Labes R E, Secomb T W. Cell cycle check point models for cellular pharmacology of Paclitaxel and platinum drugs [J]. *AAPS J*, 2008, 10(1): 15-34.
- [32] Rosell R, Taron M, Sarries C, *et al*. β -Tubulin mutation alanalysis: tantalizing findings [J]. *Lung Cancer*, 2002, 38(1): 99-100.
- [33] Belani C P, Eckardt J. Development of docetaxel in advanced non-small-cell-lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2004, 46 (Suppl 2): S3-11.
- [34] 卢红, 樊青霞, 王留兴. Ec9706/P-1 细胞多药耐药基因 1, 多药耐药相关蛋白基因 1 及 β -微管蛋白 IV 基因 mRNA 的表达 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(2): 236-238.
- [35] Miyazaki T, Kato H, Faried A, *et al*. Predictors of response to chemo-radiotherapy and radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(4): 2749-2755.
- [36] 薄爱华, 薛军, 路立军, 等. 热休克蛋白和 P-糖蛋白在食管癌和胃癌组织中表达的研究 [J]. 美国中华外科杂志, 2000, 1(3): 1-6.
- [37] Beissinger M, Buchner J. How chaperones fold proteins [J]. *Biol Chem*, 1998, 379(3): 245-259.