

中药逆转肿瘤化疗多药耐药性(MDR)体外研究概述

蔡宇¹, 孙桂芝²

(1 江中制药集团博士后工作站, 南昌 330077; 2 中国中医研究院广安门医院, 北京 100053)

中图分类号: R273 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)02-0060-02

化学药物治疗是治疗人体恶性肿瘤的重要手段之一。然而由于肿瘤细胞耐药性常常限制了疗效进一步提高,并最终使治疗失败。肿瘤细胞耐药类型较多,可分为内在耐药(IDR)和获得性耐药(ADR)两类;根据耐药谱的不同,可分为原药耐药(PDR)和多药耐药(MDR),自从 Biedle 和 Riehm 发现 MDR 现象以来,国内外对 MDR 进行了广泛、深入实验与临床研究,证明其机制主要包括^[1]: P-糖蛋白(P-gp)过度产生;谷胱甘肽(GSH)依赖性解毒酶系统活性增加;DNA 修复机制增强;DNA 拓扑异构酶含量减少或性质发生改变。近几年来寻求拮抗/或逆转肿瘤细胞 MDR 的研究颇多,自 Tsumo 等^[2]报道异博定(verapamil)具有逆转肿瘤细胞 MDR 以来,相继发现了环孢霉素、三氟拉嗪等数种化学增敏剂,但此类药物心、肾毒性明显,故而人们寻找从传统植物中草药中寻求有效成分或复方,虽然国内在此方面研究不多,但此方面研究结果初见前景,本文就此方面研究概述如下:

1 细胞毒性试验

用 MTT 法测定柔红霉素(DNR)的细胞毒性(IC₅₀),发现汉防己甲素(TTD)增加 DNR 对 K562/A02(耐药株)细胞的毒性作用;加 TTD 组与未加 TTD 组相比,IC₅₀ 值下降 94.1%;TTD 与 VRP(异博定)均可明显升高 DNR 对 K562/A02 耐药细胞的毒性作用。TTD 对 K562/A02 耐药细胞的作用小于 VRP(P < 0.05),但 TTD 的副作用轻微,仅部分患者出现轻度嗜睡及消化道反应^[3]。粉防己中提取物粉防己甲素(Tet)能明显提高耐药细胞株 K562/VCR 细胞对 VCR 等四种抗癌药物的敏感性,2 × 10⁻⁷ ~ 5 × 10⁻⁶ μmol/L Tet 与 VCR、VP-16、DOX 和 DNR 共同处理细胞 72h,四种药物对 K562/VCR 的 IC₅₀ 值分别减少 3.4~45.5、1.5~38.5、2.6~9.7 和 3.2~33.1 倍。Tet 对非耐药细胞株 K562/S 的 4 种抗癌药物的 IC₅₀ 值影响不明显^[4]。双苄基异喹啉生物碱(BBI)、蝙蝠葛碱(DRC)、蝙蝠葛苏林碱(DRS)均为中药防己科蝙蝠葛(DC)BBI 生物碱^[5],通过获得性耐药的 MCF-7/ADR 和 KBV200 细胞以及天然性耐药的 BEL-7402 细胞求 IC₅₀ 值,并计算出逆转倍数与 VRP 作用比较,结果显示,DRC、DRS 和 VRP 能明显增加 VCR 对 BEL-7402 细胞的敏感性,作用呈剂量依赖性;从量效曲线上与 VRP 逆转强度比较,DRC 优于 VRP,VRP 优于 DRS。经 MTT

法发现苦参碱 50mg/l 能增加 K562/A02 对 DNR 的敏感性,使 DNR 半数抑制浓度(IC₅₀)由 14.92mg/l 降至 8.29mg/l,部分逆转了 K562/A02 对柔红霉素耐药性,逆转倍数为 1.8 倍^[6]。榄香烯乳剂对耐药的 BEL-7402/DOX 细胞有较强杀伤作用,榄香烯乳 48.9μg/ml 与 BEL-7402 细胞持续培养 6 周后,细胞生长缓慢,不能产生抗药性^[7]。此外,甾类生物碱 PM1 和 PM2^[8]及生药提取所得混合晶体 FUL-17^[9]逆转 MDR 亦见报导。川芎嗪(TMP)为中药川芎的有效成分之一,其与 VRP 同样具有钙通道阻滞活性,是一种中药钙通道阻滞剂,可部分纠正 ADM 对小鼠艾氏腹水癌的抗药性^[10];100mg/l TMP 和(或)0.32mg/l 及 1mg/l 的 VRP 与 DNR 联合应用于 HL60/HT 耐药细胞系,均能提高 DNR 的细胞杀伤作用^[11]。

2 对细胞内化疗药物浓度的影响

汉防己甲素(TTD)可通过提高耐药细胞系 K562/A02 细胞内 DNR 的浓度,增加 DNR 对 K562/A02 细胞的毒性作用,与未加 TTD 组细胞内 DNR 含量相比,有极显著的统计学意义(P < 0.001);同时 TTD 和 VRP(终浓度均为 10μmol/L)都不能明显增加 K562/S 敏感细胞内 DNR 浓度,与对照组相比差异不显著(P > 0.05)^[3]。MCF-7/ADR 细胞是具有典型 MDR 细胞特征,加入等浓度的蝙蝠葛碱(DRC)、蝙蝠葛苏林碱(DRS)和 VRP 后,细胞内 ADR 积累分别增加 4.1、3.7 和 4.2 倍,敏感的 MCF-7 细胞内 ADR 积累也略有增加,但影响不明显(P > 0.05),故而提示 DRC、DRS 和 VRP 能特异地阻断 P-gp 的药物外排机制,使 MDR 细胞内药物积累增加,药物浓度升高从而逆转 MDR^[5]。通过流式细胞术测定苦参碱影响 K562/A02 细胞内 DNR 浓度^[6],K562/A02 加入苦参碱后 DNR 峰值上升,而 K562 敏感细胞系(K562/S)与加入苦参碱后的 DNR 荧光强度图形相同,由此说明苦参碱能提高 K562/A02 对 DNR 蓄积能力,而对 K562/S DNR 蓄积能力无影响。流式细胞术测量 HL60/HT 细胞内 DNR 浓度发现 TMP 和(或)VRP 均能增加 HL60/HT 细胞内 DNR 的浓度^[11]。

3 对 P-糖蛋白(P-gp)表达的影响

采用(APAAP)免疫酶标组化方法测定 P-170 糖蛋白表达,苦参碱对 K562 细胞膜的影响为:K562/S 细胞未着色,P-170 糖蛋白表达阴性;K562/A02 细胞呈玫瑰红色,P-170 糖蛋白表达阳性;K562/A02 与苦参碱共同孵育后,均呈淡红色,P-170 糖蛋白的表达阳性;故而苦参碱能下调 P-170 糖蛋白表

达水平^[6]。采用 BEL-7402、BEL-7402/DOX 及 BEL-7402/ELE 细胞株,通过流式细胞术检测榄香烯乳剂对 P-gp 蛋白表达的影响,细胞荧光染色率以 BEL-7402/DOX 组为最高,其作用机制可能在于:乳剂包裹的药物可降低与 P-gp 结合的亲和力;乳剂本身也可直接或间接抑制 P-gp 泵的功能;乳剂可修饰磷脂膜结构并进一步诱导 P-gp 功能及分子排列的改变,乳剂包裹药物可穿过细胞膜,直接将药物分布到细胞质内。^[7]

4 对 mdr-1 mRNA 表达水平的影响

K562/A02 mdr-1 cDNA/ β_2 M cDNA 值为 2.475;K562/A02 与苦参碱联用时 mdr-1 cDNA/ β_2 M cDNA 为 1.69 ($P < 0.01$),表明若参碱可下调 K562/A02 mdr-1 mRNA 表达^[6]。榄香烯乳剂对 BEL-7402 长期作用,未能诱导出 BEL-7402 细胞的 mdr-1 mRNA 的表达,由此说明榄香烯乳剂与 mdr-1 基因表达不密切,不易产生多药耐药性^[7]。

5 结语

抗肿瘤药物多药耐药是一个复杂的问题,涉及基础和临床研究许多方面。必须指出的是:1. 细胞耐药性机制依所用药物种类与肿瘤类型而异,不同肿瘤细胞对同一种药物可能有不同耐药机制,而一种肿瘤对一种药物也可能产生多种耐药机制,为了更好筛选出抗肿瘤 MDR 的药物,应该要明确该肿瘤的耐药机制。2. 同时在目前体外实验已证明逆转作用的中药中大多为单体成分,偶见中药复方制剂^[12]和其它手段^[13]报道,并且研究多为体外实验,而进一步针对中药有效成份或复方在体内的逆转功效和安全性,还需动物体内实验予以验证。3. 从中药筛选抗耐药肿瘤细胞的化合物或耐药逆转剂,应该在结合临床资料基础上,在更广泛范围进行,没有必要拘泥寻求西药的化学结构类似物。4. 从中药中筛选有效拮抗剂和(或)逆转剂,应注意监测血药浓度,因为只有达到有效血药浓度才能克服耐药性。

参考文献:

[1] 徐兵河,孙燕. 肿瘤细胞耐药性研究进展[J]. 癌症, 1990, 9(6): 515—518.
[2] Takashi Tsuruo, Harumi Iida, Shigeru Tsukagoshi, et al. Overcoming of vincristine resistance in p388 leukemia in vivo and

in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil[J]. Cancer Res 1981, 41(5): 1967—1671.

[3] 敖忠芬,夏薇. 汉防己甲素逆转白血病细胞耐药的研究[J]. 中华血液学杂志, 1995, 16(5): 235—238.
[4] 贾正平,谢景文,徐丽婷,等. 粉防己甲素逆转耐药细胞株 K562/VCR 多药耐药的研究[J]. 兰州医学院学报, 1995, 21(4): 203—206.
[5] 田日军,潘启超. 双苄基异喹啉生物碱蝙蝠葛碱与蝙蝠葛苏林碱逆转多药耐药性的比较研究[J]. 癌症, 1996, 15(6): 410—413.
[6] 李文瑜,李舜华,崔克义,等. 苦参碱逆转的白血病多药耐药细胞系 K562/A02 对柔红霉素耐药性的研究[J]. 中国病理生理学杂志, 1998, 14(5): 521—523.
[7] 王宝成,郭军,狄剑时,等. 榄香烯乳剂与肿瘤多药耐药的基础研究[J]. 中国肿瘤临床, 1996, 23(2): 143—146.
[8] 胡凯文,陈信义. 中药活性成份抗耐药肿瘤细胞体外筛选研究[J]. 中国医药学报, 1998, 13(2): 10—13.
[9] 李大成,屈艺,刘柏林,等. 三种中药制剂 Ams-11、Fw-13、Fu-17 逆转肿瘤细胞多药耐药性的研究[J]. 华西医科大学报, 1998, 29(1): 16—19.
[10] 胡艳平,刘健,王庆端,等. 川芎和维拉帕米纠正阿霉素对小鼠腹水癌的抗药性[J]. 药学学报, 1993, 28(1): 75—77.
[11] 梁蓉,杨平地,陈协群,等. 川芎嗪和异博定联合逆转 HL60/HT 细胞的多药耐药[J]. 第四军医大学学报, 1998, 19(4): 385—388.
[12] 张文卿,刘叙仪,韩夏生,等. 中药方剂 R₁ 对耐阿霉素人乳腺癌细胞 P 糖蛋白表达的影响[J]. 中药药理与临床, 1996, 7(1): 21—24.
[13] 张霆钧,高翠华,郭莹,等. 艾炙对多药抗药基因产物 P-170 糖蛋白功能的影响[J]. 针刺研究, 1994, (2): 69—73.