

钙离子通道阻滞剂在逆转肿瘤细胞多药耐药性作用的研究进展

孟庆梅 孙 铭(杭州 浙江康恩贝集团有限公司)

化疗作为肿瘤治疗的经典方法之一,至今仍是临床不可或缺的治疗手段。但是由于部分肿瘤细胞产生多药耐药性(Multidrug resistance, MDR)往往是导致化疗失败的一个重要原因,也是临床工作较为棘手的问题。

肿瘤细胞的耐药,按其产生情况可分为两类:一类是内在性耐药,即未接触药物时就已有耐药;另一类是获得性耐药,即在接触药物后才产生的耐药现象^[1]。如果一种细胞株同时对多种不同化学结构产生耐药,就称为MDR。

MDR的机制相当复杂,而其一旦产生,将是永久性的。MDR的表现形式目前认为有三种类型^[2-5]。其一为典型MDR,即由人类MDR1基因编码的细胞膜P-糖蛋白(P-gp)表达增加引起。此类形式由Juliano和Ling等在1976年发现,P-gp为一类似于转运蛋白的跨膜蛋白质,具有能量依赖性“药泵”的功能,它的胞内部分药物结合,耗能使药物转出细胞外,结果使细胞内药物浓度下降,药物的细胞毒作用因而丧失,细胞由此产生耐药性。已证实肿瘤多药耐药性细胞的MDR1基因大量扩增,使P-gp表达量明显高于敏感细胞。其二为非典型MDR,由细胞DNA拓扑异构酶II(TOPO II)含量减少或性质发生改变引起,TOPO II是某些化疗药物的靶酶,与典型MDR相比非典型MDR细胞内药物浓度无变化,MDR基因无过度表达。其三,为多药耐药相关蛋白(Multidrug resistance-associated protein, MRP)基因的扩增或过度表达。此类形式由Cole等在1992年发现。从而综合导致药物,尤其是疏水性药物的转运、摄取、活化障碍;药物分解酶增多或药物递

度外排乃至肿瘤细胞修复机制增加等^[6-9]。因此研究MDR同时导致MDR逆转剂是使化疗获得成功的关键,这也是近年来医药界研究比较热门的课题。

体外实验中已证实,能逆转MDR的药物至少有七大类。①钙通道阻滞剂(CCB)。如:维拉帕米、硝苯吡啶。②钙调蛋白抑制剂;三氟拉嗪、三氟丙噻、氟丙噻、氟奋乃静等吩噻类化合物,其作用机制与钙离子拮抗剂相似。③环孢菌素A(CSA)及其衍生物是一类对P-gp具有拮抗作用的药物。④抗激素类化合物:三苯氧胺(tamoxifen)。⑤蛋白激酶(PKC)抑制剂:CGP41251是有高度选择性PK抑制剂,具有抗肿瘤作用和MDR逆转作用。⑥表面活性剂:吐温-80、gremophor EL以及solutol Hs15等被证明可以逆转MDR。⑦其它如:大环内酯类抗生素:FK506,喹啉类化合物MS-209,细胞因子:GM-CSF、IFN-2等^[10-13]。

尽管如此众多的药物具有逆转MDR作用,但由于毒性等原因,给临床应用带来了极大限制。如何寻找安全、易得、价廉的MDR逆转剂,目前按文献报道的频率看,国内外学者比较集中的还是在钙离子拮抗剂中探索。维拉帕米(Verapamil VER)作为第一个被证实具有此类作用的药物。虽已用于临床,但由于严重的心血管毒性,而受到限制。Seiji Naito等^[14]证实在膀胱上皮癌经尿道切除术后灌輸化疗法,采用ADM合用VER对比单用ADM能显著减少癌症复发,有较好的疗效。Toppolin等研究在VER不同取代基的构效关系发现:苯环上的甲氧基被H733取代时会使逆转能力下降2~4倍,而将7-氟基-8-甲基壬烷改用碳链或用甲氨基代替7位的氟基,其逆转活力上升,从而推测苯环

上的甲氧基决定 VER 衍生物的细胞毒作用,而苯环的脂肪链上的取代基(R5、R6)通过与 Pgp 结合能决定 VER 衍生物的逆转作用的强弱。从而筛选出 R-VER 和 nor-VER 具有较低的细胞毒性和较高的逆转能力,可能有望用于临床。

双氢吡啶类化合物作为另一类钙离子通道阻滞剂,也试用于 MDR 的逆转。Kiyoshi 等^[15]研究发现:此类衍生物 PAK-200 对耐药细胞株 VB-C2 对长春新碱(VCR)的敏感性增强,且活力是同浓度 VER 的 50 倍,同时 PAK-200 对 Pgp 的作用也比 VER 强,而钙通道阻滞作用比 VER 低约 5 倍,而 1,4 双氢吡啶衍生物 NIK250,体外试验证明,它兼具有逆转表达 MDR1 的细胞的耐药和由 MRP 介导的耐药,从而显示了较好的临床前景。

针对化学合成的钙离子通道阻滞剂的不可克服的心脏毒性;国内外学者一直探索在具有钙通道阻滞作用的天然药物中寻找理想逆转剂。Punya Shrivastava 等^[16]最近在对小细胞肺癌 MDR 细胞的研究中,发现使用喹啉衍生物 McS-209 或同时合用 CSA 及 VER 能增加化疗效果;潘启超等^[17]研究多种中药单体:粉防己碱(telrandrine, TTP 又称汉防己甲素)巴马汀(palmatine)、小檗碱(berbamine BBM)、丹皮酚(paconol)和人参皂甙 Rb1 延胡索 2 素等 11 种中药 CCB 以及 VER 为此研究发现,大多数中药都有类似的 VRP 的增效作用,其中尤以 TTD 为甚;其逆转倍数达 13 倍($P > 0.001$)作用超过 VRP 的作用。同时发现 TTD 能明显增强阿霉素(ADR)的细胞毒作用 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 TTD 就能完全逆转 ADR 的耐药性,逆转倍数达 100 倍($P < 0.001$),即使在 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时,其逆转倍数为 18.6 倍($P < 0.001$),明显优于 VRP 和其他中药 CCB 的作用。进一步的研究表明 TTD 能明显增加 ADR 在耐 ADR 的肿瘤细胞(MCF-7/Adr)内的积累,而对敏感的 MCF7 细胞无影响。从而证明 TTD 能阻断 MDR 细胞的药物外排过程,探测其逆转机制可能与 TTD 干扰膜的功能,直接与 P-gp 结合有关。两学者在 1997 年又深入报道了同属双苜基异喹啉类生物碱的 TTD, BBM 逆转 MDR 的比较研究^[18],结果表明 BBM 因亲水性较大而使其逆转 MDR 作用较 TTD 弱。同时发现 TTD 对两对敏感的抗药的细胞均有体外细胞毒作用,且 TTD 体外对 MCF-7/Adr 细胞的 IC₅₀ 为 6.2 $\mu\text{mol/L}$,较 ADR 敏感近一倍,体内单用 TTD 对 MCF-7/Adr 实体瘤也有一定抑制作用,而单用 ADR 则无抑制作用,说明 TTD 单用时本身具有抗肿瘤活性,是理想的化疗增敏剂。

结语:肿瘤多药耐药性因其重大的现实意义而受

到国内、外各界的重视,对其逆转剂的研究亦取得了较大进展,可具 MDR 逆转作用的化合物虽有很多,进入临床研究的药物却只限于 VER、CsA 等少数几种。为寻找对正常组织没有毒性的理想的逆转剂,目前对已有逆转剂改构合成新的衍生物及天然中药单体成为主要探索方向,一些新近合成的高效低毒化合物显示出较好效果。如 VER 衍生物,喹啉衍生物,MS-209 等,而中药单体 TTD 则更因本身有抗肿瘤性和安全性而显示出可喜的应用前景,现应加大临床研究力度。

参考文献

- 1 徐兵河,孙燕.肿瘤细胞耐药性研究进展.癌症,1990,9(6):515.
- 2 徐萌.多药耐药相关蛋白基因与肿瘤耐药材.中国肿瘤临床,1998,25(1):68.
- 3 Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochem Biophys Acta*, 1976, 455:152.
- 4 Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Overexpression of transporter gene in a multidrug-resistance human lung cancer cell line. *Science*, 1992, 258:1650.
- 5 Gorsch H, et al. Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. *Nature*, 1986, 324:485.
- 6 Ferguson PJ, et al. Critical issues relating to clinical drug resistance. *The cancer Bulletin*, 1989, 1(1):7.
- 7 潘启超.抗癌药抗药性的细胞生物化学机理及其拮抗方法论.癌症,1982,1(2):130.
- 8 潘启超.抗癌药抗药性研究新进展.癌症,1985,4(1):54.
- 9 Tsuruo T, et al. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastin by verapamil. *Cancer Res*, 1981, 41:1967.
- 10 Tsuruo T, Lida H, Nojiri M, et al. Circumvention of vincristine and adriamycin resistance in vitro and in vivo by calcium influx blockers. *Cancer Res*, 1983, 43:2905.
- 11 付东,王玉芝.肿瘤耐药逆转剂的研究进展.国外医学肿瘤分册,1997,24(1):19.
- 12 Arcec RJ, Stieglitz K, Bierer BE. Immunosuppressants FK506 and rapamycin function as reversal agents of the multidrug resistance phenotype. *Blood*, 1992, 86(6):1528.
- 13 平宝红,等.干扰素逆转白血病细胞多药耐药性的研究及机制的初步探讨.中华血液学杂志,1996,17(1):13.
- 14 Seiji Naito, Shuji Koto, Tetsuo Omoto, et al. Prophylactic intravesical instillation chemotherapy against recurrence after a transurethral resection of superficial bladder cancer: a randomized controlled trial of doxorubicin plus verapamil versus doxorubicin alone. *Cancer Chemother Pharmacol*,

- 1998,42:367.
- 15 Kiyoshi N, Kazutaka Y, Tatsuhiko F, *et al.* Effect of dihydrophyridine analogue, 2 - [benzyl (phey) amino] ethyl, 4 - dihydro - 2,6 - dimethyl - 5 - (5,5 - dimethyl - 2 - oxo - 1,3,2 - dioxaphosphorinan - 2 - yl) - 1 - (2 - morpholino - ethyl) - 4 - (3 - nitrophenyl) - 3 - pyridinecarboxylate on reversing in vivo resistance of tumor cells to adriamycin. *Cancer Res*, 1992,52:3655.
- 16 Punya Shrivastava, Massaki Hani buchi, Seiji Yano, *et al.* Circumvention of multidrug resistance by a quinoline derivative, Ms - 209, in multidrug - resistant human small - cell lung cancer cells and its synergistic interaction with cyclosporin A or verrapamil. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1998,42:483.
- 17 潘启超,田晖.多种中药单体逆转肿瘤多药耐药性.科学通报,1995,40(2):1901.
- 18 田晖,潘启超.双苄基异喹啉类生物碱粉防己碱与小壁胺逆转多药抗药性的比较研究.药学学报,1997,32(4):245.