

. 综 述 .

脑胶质瘤化疗现状及耐药机制的研究进展

汪超甲 综述 王 辉 审校

【关键词】脑胶质瘤;化疗;耐药机制

【文章编号】1009-153X(2017)11-0791-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; R 730.53

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性肿瘤,恶性程度高,侵袭性强,易复发,治疗相当困难。随着显微神经外科、术中导航以及术中 CT 和 MRI 等技术及设备的发展,手术治疗的效果较前明显改善,但仍不能达到理想的目标。化疗或者术后辅以化疗在一定程度上可以改善病人的生存质量,但由于药物很难透过血脑屏障,加之耐药性,使得化疗效果有限,为了更好地指导化疗药物的选择和减少耐药性,提高疗效,综合分析人脑胶质瘤的化疗现状及耐药机制是非常必要的。

1 脑胶质瘤的化疗现状

早在 1980 年, Walker 等^[1]研究显示,脑胶质瘤术后辅以化疗较单纯手术对生存率无明显影响。但是,2013 年, Scholtyssek 等^[2]进行 meta 分析后发现放、化疗联合使用组 1 年生存期高于单纯放疗组,证实化疗可以延长病人的生存期。

1.1 化疗药物的选择 目前应用的化疗药物主要有以下几类:①亚硝酸类药物,如尼莫司汀、洛莫司汀;②挽救性药物,如铂类、伊立替康;③烷化剂,如替莫唑胺(temozolomide, TMZ)、甲基苄肼。TMZ 是目前治疗脑胶质瘤的最有效的化疗药物,口服给药,迅速完全吸收,生物利用率高,能通过血脑屏障^[3]。

由于脑胶质瘤的病理类型多,很难选择针对性的药物,考虑到中枢神经系统血脑屏障的特殊性,主张遵循以下原则^[4]:①选择小分子、脂溶性高、非离子化、对正常脑组织毒性小的药物。②对不能透过或

者难以透过血脑屏障的药物,选择其它给药方式,如鞘内给药、瘤腔内给药。③联合使用不同药代动力学药物。④对转移瘤,依据原发肿瘤病理类型选择。

1.2 化疗药物的给药途径 ①置入药囊或 Ommaya 囊,副作用小,但反复穿刺或手术易导致感染,再次给药操作不便。②局部给药,将难以透过血脑屏障的药物直接注射到肿瘤腔内、脑室和脑池内。这种方式提高了局部药物的浓度,但深处的肿瘤很难达到满意的效果,且要控制药量及给药速度。③颈动脉给药,由于血流较快,一过性高药物浓度很难对肿瘤起治疗作用,针对这一弊端,目前采用的导管直接插入肿瘤供应血管,持续灌注,延长了作用时间,提高了疗效。④靶向给药体系能够将有效载荷药物传递的靶向部位。目前研究较多的靶向体系包括病毒载体、脂质体、纳米颗粒、胶束和微颗粒,通过上述体系可以将微小 RNA、小干扰 RNA 及特定的化疗药物运输到指定位置,达到靶向治疗的目的,可大大提高化疗的疗效,但很多尚处于体外实验阶段,有待进一步临床验证^[5]。

1.3 联合化疗 将不同的作用靶点、作用机制及不同药代动力学的药物联合使用,以提高疗效,减少毒性。比较理想的有 PVC 方案等。

2 化疗耐药机制

肿瘤耐药是指肿瘤细胞对通常情况下能够杀死肿瘤细胞的抗癌药物不敏感或敏感性降低,表现为只对一种或一类结构相似的药物耐药,也可同时对多种生化机制和化学结构完全不同的药物耐药,即多药耐药(multidrug resistance, MDR)。耐药是普遍存在的也被认为是化疗失败的最主要的原因^[6]。根据临床表现可分为原发性耐药(即首次使用即出现耐药)和继发性耐药(在化疗过程中出现的耐药)两种。要想提高化疗的疗效,减低或者消除这一耐药现象,揭示耐药机制非常重要,目前已成为研究的热

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2017.11.023

基金项目:湖北省自然科学基金(2013CFB225);湖北省十堰市科技局指导性项目(17Y14)

作者单位:442000 湖北十堰,湖北医药学院附属太和医院神外三科(汪超甲、王 辉)

通讯作者:王 辉, E-mail: sunny6910@163.com

点,也取得了一定的成果,主要有以下几种机制。

2.1 肿瘤细胞内药物的积聚减少

2.1.1 MDR 基因与其产物 P-糖蛋白(P glycoprotein, P-gp)是MDR1基因编码的产物,是一种排出性膜泵,属于ATP依赖的转运蛋白,可以从瘤细胞内将化疗药物转移至细胞外,胞内药物浓度得到降低,从而降低疗效,产生耐药。Noack等^[7]通过对脑胶质瘤细胞P-gp的干扰发现,细胞对长春新碱和阿霉素的敏感性得到显著提高。Seebacher等^[8]研究发现在脑胶质瘤化疗过程中,随着次数的增加,P-gp的表达有增加的趋势,提示胶质瘤既有原发性耐药又可能产生化疗诱导或增强肿瘤细胞的耐药性双重因素。同时还发现在胶质瘤细胞和人体血脑屏障中存在耐药基因MDR1的表达。脑胶质瘤皮下模型和颅内模型比较分析发现,均不表达MDR1,而P-gp仅在颅内模型的血管内皮细胞中表达,提示血脑屏障中MDR1表达可能是产生耐药现象的主要原因。

2.1.2 MDR 蛋白 (multidrug resistance associated protein, MRP) MRP是非钠依赖药物排出泵,属于ATP相关的转运蛋白超家族。MRP1和MRP3是目前研究最多的两种。Tivan等^[9]发现胶质瘤细胞系均存在MRP1和MRP3的过度表达,且与依托泊苷和长春新碱等耐药有关,目前已成为耐药研究的重要靶点。

2.1.3 肺癌耐药性相关蛋白 (lung resistance related protein, LRP) LRP能独立于P-gp起作用,在肺癌化疗耐药中起着关键的作用。研究发现人脑胶质瘤细胞及血脑屏障中也有表达,尤其在肿瘤血管中表达更为明显^[10,11]。过度表达LRP可能与依托泊苷、顺铂等化疗药耐药有关,但具体机制不详。

2.1.4 ATP结合盒转运蛋白(ATP-binding Cassette subfamily C, ABCC) ABCC家族共有9个成员,在人体内广泛分布,参与重要物质的转运。许多化疗药物都是它们的转运底物,过度表达往往与化疗的耐药有关^[12]。ABCC基因的变异可能会导致物质转运的变化及化疗耐药程度的改变,目前,被认为是研究耐药的重要靶点之一。

2.2 药物失活增加 研究表明谷胱甘肽S转移酶(glutathione S transferase, GST)是肿瘤细胞产生MDR的又一重要因素。它是一种二聚体蛋白质,具有多种生物功能。不仅本身可以和亲脂性细胞毒性药物结合,增加其水溶性,促进其代谢,还可以催化亲电物质和谷胱甘肽结合,防止氧损伤,从而减弱抗肿瘤药物的细胞毒作用^[13]。谷胱甘肽S转移酶π在

上述过程中发挥着重要作用。另外GST能通过将外源性抗癌药物与谷胱甘肽耦联而促进毒性分子排出,减轻细胞毒性。

2.3 药物作用靶点减少

2.3.1 拓扑异构酶II (topoisomerase II, top II) Top II具有切开环状双链DNA,以保证DNA复制的顺利进行的作用。烷化剂等化疗药物之所以能起到抗肿瘤的作用就是能以top II等核基质为靶点,抑制其活性。研究发现top II在脑胶质瘤中表达明显增多,可能也是胶质瘤化疗耐药的重要原因之一^[14]。

2.3.2 金属硫蛋白 具有降低顺铂细胞毒性的作用,多种肿瘤的化疗耐药被证实与其密切相关。Gumulec等^[15]证实其过度表达于胶质瘤中,与化疗耐药有关,也是胶质瘤预后较差的重要原因。

2.4 凋亡与抗凋亡机制失衡

2.4.1 P53基因/蛋白 P53是抑癌基因,有野生型和变异型两种构型,野生型可诱导肿瘤细胞凋亡,从而抑制肿瘤细胞生长和增殖;变异型在失去抑癌基因作用的同时,肿瘤细胞凋亡信号也会缺失。Qin等^[16]研究发现在干扰或者敲除P53基因后,O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O6-methyl guanine-DNA-methyltransferase, MGMT)的表达明显增加,进而影响TMZ引起的耐药。

2.4.2 Bcl-2基因/蛋白 Bcl-2基因属于调控细胞凋亡基因家族。过度表达Bcl-2时,能够引起肿瘤细胞的损伤,然而这种损伤被转为无效死亡信号,使得瘤细胞死亡率明显下降甚至不死^[17]。Bcl-2被认为是一种新型的耐药基因,可以通过抑制细胞凋亡而使肿瘤细胞产生耐药。

2.4.3 同源盒A9基因 同源盒(Homeobox, HOX)基因属于转录因子家族,在细胞分化和胚胎发育过程中发挥主控基因的功能。HOXA9基因过度表达,可以通过PI3K信号通路直接诱导TMZ耐药,且与MGMT甲基化无关;也可以通过核转录因子-κB信号通路上调MGMT水平,从而间接地诱导TMZ耐药^[18]。

2.5 MDR中DNA修复机制 肿瘤细胞DNA修复系统能修复化疗所致的损伤,从而对化疗产生抵抗。

2.5.1 MGMT Lamb等^[19]研究认为,在MGMT缺失的背景下,错配修复基因在有未修复的烷基化物残留时,能引起双链断裂和潜在的染色体突变。MGMT能修复被化学药物烷基化的鸟嘌呤,因而可阻止DNA交联的形成,降低化学药物的细胞毒作用。Yang等^[20]发现MGMT蛋白表达与病人生存期密切相关,MGMT阳性病人生存期明显较阴性者长,且

MGMT 阳性病人化疗更敏感,因此 MGMT 被作为预后和化疗敏感性判断的指标。

2.5.2 核苷切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 基因 NER 与 MGMT 在肿瘤耐药中可以起到互补的作用。MGMT 只能修复被化疗药物烷基化的鸟嘌呤,防止交连的形成,而 NER 则可以在交连形成时发挥修复的作用。DNA 错配修复基因可以维持 DNA 复制的保真度、控制基因的变异。细胞 DNA 错配修复基因功能缺陷与多种抗肿瘤药物(顺铂、阿霉素、6-硫鸟嘌呤)的耐药性关系密切^[21]。

2.6 肿瘤干细胞与 MDR Schonberg 等^[22]首次明确提出“肿瘤干细胞假说”。Liu 等^[23]研究发现脑胶质瘤也存在这种具有干细胞特性的细胞,即胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)。肿瘤的复发被认为与这类细胞密切相关,GSCs 具有较强的耐药性,可能与化疗耐药有直接关系。Tobias 等^[24]研究发现 CD133⁺细胞存在天然耐药性,MDR1 和 MRP1 过度表达也是胶质瘤多药耐药的重要原因。肿瘤干细胞耐药的主要原因可能是靶点表达缺失,从而逃脱了化疗药物的细胞毒性作用。

综上所述,关于脑胶质瘤化疗耐药的机制研究涉及到很多方面,而 TMZ 作为脑胶质瘤化疗的首选药物目前研究更为广泛。单克隆抗体、长链非编码 RNA、微小 RNA、化疗耐药相关蛋白组学、信号通路及特异性抑制剂、自噬与凋亡、脑胶质瘤干细胞、胶质瘤微环境、靶向的给药系统等研究,使得对脑胶质瘤化疗耐药的机制有了更深的了解。但是目前它们之间是如何共同作用的仍有很多不解之谜,很难再但时间内应用于临床治疗。

脑胶质瘤的化疗耐药机制十分复杂,涉及到多方面因素,为了彻底解决肿瘤化疗的耐药问题,我们必须首先弄清肿瘤细胞的耐药机制,从这点入手研究其逆转的方法与途径,结合临床病人的个体特点,制定合理的方案,综合治疗。目前有利用中药和化疗药物的协同作用改善化疗效果,单克隆抗体也在化疗耐药方面得到应用,基因芯片的应用为我们更好的筛选耐药基因提供可能,针对靶基因采用 RNA 干扰及 Cas9 靶向敲除技术,联合化疗,通过对脑胶质瘤进行基因分型进行个体化治疗,可能会更好的提高为脑胶质瘤的化疗疗效。

【参考文献】

- [1] Walker MD, Green SB, Byar DP, *et al.* Randomized comparison of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery [J]. *N Engl J Med*, 1980, 303(23): 1323-1329.
- [2] Scholtyssek F, Zwiener I, Schlamann A, *et al.* Reirradiation in progressive high-grade gliomas: outcome, role of concurrent chemotherapy, prognostic factors and validation of a new-prognostic score with an independent patient cohort [J]. *Radiat Oncol*, 2013, 8: 161.
- [3] Chang L, Su J, Jia ZX, *et al.* Treating malignant glioma in Chinese patients: update on temozolomide [J]. *Onco Targets Ther*, 2014, 7: 235-244.
- [4] Siega T. Which drug or drug delivery system can change clinical practice for brain tumor therapy [J]? *Neuro Oncology*, 2013, 15(6): 656-669.
- [5] 李远强,张坤,孙丽丹,等. 肿瘤干细胞靶向给药系统的研究[J]. *湖南医学*, 2017, 28(2): 260-262.
- [6] Chen J, Xu ZY, Wang F. Association between DNA methylation and multidrug resistance in human glioma SHG-44 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 3(2): 43-52.
- [7] Noack A, Noack S, Hoffmann A, *et al.* Drug-induced trafficking of p-glycoprotein in human brain capillary endothelial cells as demonstrated by exposure to mitomycin C [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88154.
- [8] Seebacher NA, Richardson DR, Jansson PJ. Glucose modulation induces reactive oxygen species and increases P-glycoprotein-mediated multidrug resistance to chemotherapeutics [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(10): 2557-2572.
- [9] Tivnan A, Zakaria Z, O'Leary C, *et al.* Inhibition of multidrug resistance protein 1 (MRP1) improves chemotherapy drug response in primary and recurrent glioblastoma multiforme [J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 218.
- [10] Tang SW, Bai C, Yang PY, *et al.* 14-3-3ε boosts bleomycin-induced dna damage response by inhibiting the drug-resistant activity of MVP [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(6): 2511-2524.
- [11] Lötsch D, Steiner E, Holzmann K, *et al.* Major vault protein supports glioblastoma survival and migration by upregulating the EGFR/PI3K signalling axis [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(11): 1904-1918.
- [12] El-Awady R, Saleh E, Hashim A, *et al.* The role of eukaryotic and prokaryotic ABC transporter family in failure of chemotherapy [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 7: 535.
- [13] Zhu DH, Tu M, Zeng B, *et al.* Up-regulation of miR-497

confers resistance to temozolomide in human glioma cells by targeting mTOR/Bcl-2 [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(2): 452-462.

[14] Das CM, Aguilera D, Vasquez H, *et al.* Valpreic acid induces p21 and topoisomerase-II(alpha/beta) expression and synergistically enhances etoposide cytotoxicity in human glioblastoma cell lines [J]. *J Neurooncol*, 2007, 85(2): 159-170.

[15] Gumulec J, Raudenska M, Adam V, *et al.* Metallothionein-immunohistochemical cancer biomarker: a meta-analysis [J]. *Plos One*, 2014, 9(1): e85346.

[16] Qin LS, Jia PF, Zhang ZQ, *et al.* ROS-p53-cyclophilin-D signaling mediates salinomycin-induced glioma cell necrosis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 57.

[17] Colla R, Izzotti A, Ciucis CD, *et al.* Glutathione-mediated antioxidant response and aerobic metabolism: two crucial factors involved in determining the multi-drug resistance of high-risk neuroblastoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 43(7): 70715-70737.

[18] Abdel-Fattah R, Xiao A, Bomgardner D, *et al.* Differential expression of HOX genes in neoplastic and non-neoplastic human astrocytes [J]. *J Pathol*, 2006, 209: 15-24.

[19] Lamb KL, Liu Y, Ishiguro K, *et al.* Tumor-associated mutations in O6-Methylguanine DNA-methyltransferase (MGMT) reduce dna repair functionality [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(3): 201-210.

[20] Yang QC, Wang YH, Lin Y, *et al.* Expression of O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) and its clinical significance in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(7): 4204-4212.

[21] Zhao H, Thienpont B, Yesilyurt BT, *et al.* Mismatch repair deficiency endows tumors with a unique mutation signature and sensitivity to DNA double-strand breaks [J]. *Elife*, 2014, 3: e02725.

[22] Schonberg DL, Lubelski D, Miller TE, *et al.* Brain tumor stem cells: molecular characteristics and their impact on therapy [J]. *Mol Aspects Med*, 2014, 39: 82-101.

[23] Liu H G, Lv L, Yang K. Chemotherapy targeting cancer stem cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3): 880-893.

[24] Tobias AL, Thaci B, Auffinger B, *et al.* The timing of neural stem cell-based virotherapy is critical for optimal therapeutic efficacy when applied with radiation and chemotherapy for the treatment of glioblastoma [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(9): 655-666.

(2017-03-15 收稿, 2017-08-07 修回)

(上接第 763 页)

[12] 杜伟强. 鼻内镜下视神经管减压治疗外伤性视神经病变 [J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(5): 806-810.

[13] Yu B, Ma Y, Tu Y, *et al.* The Outcome of endoscopic transthoracic optic canal decompression for indirect traumatic optic neuropathy with no-light-perception [J]. *Ophthalmol*, 2016, 2016: 6492858.

[14] 胡卫群, 刘钊臣, 蔡佳玉. 经鼻内镜视神经减压术治疗外伤性视神经病的疗效及预后的影响因素分析 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(16): 54-55.

[15] Donna F, Berlin JA, Morton SC, *et al.* Meta-analysis of observational studies in epidemiology (MOOSE) group: a proposal for reporting [J]. *JAMA*, 2000, 283(15): 2008-2012.

[16] Blettner M, Sauerbrei W, Schlehofer B, *et al.* Traditional reviews meta-analysis and pooled analyses in epidemiology [J]. *Int J Epidemiol*, 1999, 28(1): 1-9.

[17] Cook MW, Levin LA, Joseph MP, *et al.* Traumatic optic neuropathy: a meta-analysis [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1996, 122(4): 389-392.

[18] Kountakis SE, Maillard AA, El-Harzi SM, *et al.* Endoscopic optic nerve decompression for traumatic blindness [J]. *Otolaryngology Head Neck Surg*, 2000, 123(1pt1): 34-37.

[19] Kuppersmith RB, Alford EL, Patrinely JR, *et al.* Combined transconjunctival /intranasal endoscopic approach to the optic canal in traumatic optic neuropathy [J]. *Laryngoscope*, 1997, 107(3): 311-315.

[20] 姜 荔, 马志中, 陶 海, 等. 兔视神经间接损伤的神经组织压观察 [J]. *中华创伤杂志*, 2000, 16(4): 238-239.

[21] 狄静芳, 史剑波, 曾耀英, 等. 视神经损伤后视网膜细胞凋亡的研究 [J]. *暨南大学学报(医学版)*, 1999, 20(4): 88-93.

[22] 史剑波, 文卫平, 许 庚, 等. 外伤性视神经损伤手术时机选择的实验研究 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2003, 24(4): 368-370.

(2017-05-17 收稿, 2017-09-09 修回)