维普资讯 http://www.cqvip.com

277-302 大肠肿瘤，抗药性，治疗方法

第21卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.21 No.3
1996 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1996

大肠癌的抗药性和化疗对策

第一医院普外科 王严庆

中图分类号 R730.5 R735.340.5

(35)

大肠癌是最常见的恶性肿瘤之一，据卫生部统计，全国部分城市和县区恶性肿瘤死亡率中大肠癌占第五位[1]。目前大肠癌的主要治疗手段是早期进行根治性手术切除，但随着癌肿进入进展期，其对肠壁的浸润加深，继而突破浆膜侵及邻接脏器或发生腹膜腔种植，同时出现区域性或远处淋巴结转移、血行转移等，手术切除率及切除后的5年生存率迅速下降。我国目前大肠癌手术病例中早期癌不足5%，根治术后5年生存率接近50%。约半数病人切除术后5年内发生局部复发或远处转移；部分病人确诊时已因病灶局部广泛蔓延或远处转移而无法切除。这类病人构成了一类特殊人群，他们带瘤生存，受到肿瘤造成的不断加重的生理上和精神上的痛苦折磨直至死亡，其间尚有一段人生路程，需要尽可能给予医疗救助以提高生活质量、延长生命。此时抗癌药物化疗是第一线的重要治疗，化疗也是进展期癌根治术后综合治疗的重要组成部分；少数较晚期病人尚可借有效化疗使癌灶缩小而得以切除。大肠癌对化疗药物的抗药性是目前化疗效果不好的主要原因，研究大肠癌抗药性的机理并采取相应的治疗对策以提高化疗效果具有重要的意义。

表 进展期大肠癌单剂药物化疗效果[2]

药 物	有效率(%)
5－氟脲嘧啶(5－Fu)	19.5～22
氟脲嘧啶脱氧核苷(FUDR)	23
塞替派(Thio Tepa)	22
环磷酰胺(CTX)	19
氯唑霉素(Chlorozotocin)	18
Triazinate	18
丝裂霉素C(MMC)	12～16
甲坏亚硝脲(MeCCNU)	15～18
卡氮芥(BCNU)	10～14.5
氮芥(HN_2)	15.5
光辉霉素(MTH)	14
丙亚胺(ICRF－159)	12
六甲蜜胺(HMM)	11.5
羟基脲(HU)	11
氮烯咪胺(DTIC)	11
丙脒腙(Me－GAG)	15

其它：表阿霉素(Epi－ADM)有效率8%[3]
顺铂(DDP)、氨甲喋呤(MTX)、足叶乙甙(Vp－16)、干扰素、白细胞介素Ⅱ等无效[4]

1 内源性抗药性

大肠癌在初次化疗时就对大多数化疗药物具有的抗药性。自1958年Curreri报告5－氟脲嘧啶(5－Fu)用于临床以来，30余年间众多抗癌药问世，但对大肠癌的疗效未有超过5－Fu者，而5－Fu单药有效率仅为15～20%(表)。Buyse[5]统计近1986年英文文献17系列6791例大肠癌手术后以5－Fu为主

维普资讯 http://www.cqvip.com

要的辅助化疗对照观察结果显示:化疗组总死亡率较对照组低17%,5年生存率高3.4%,获疗效甚微;小平进[6]报告结肠癌1256例、直肠癌1221例术后以喃氟啶加丝裂霉素C的治疗结果,仅直肠癌术后无病间期有所延长,5年生存率并无改善。

2 获得性抗药性

1970年Biedler[7]首先报告中国仓鼠细胞对放线菌素D(ACTD)产生获得性多药抗药性。原来对抗癌药物敏感的肿瘤经数次化疗后变得不敏感而使尔后的化疗失效。这种现象可在培养的肿瘤细胞株中重复出来,用逐渐增加培养基中某一抗癌药浓度的办法使其对该药产生抗药性,则该细胞株同时对结构不相关的其它抗癌药也产生抗药性;这种现象临床上也有众多报告,这种广泛的抗药性称为多药抗药性(multidrug resistance),简称MDR[7,8],主要是对蒽环类抗生素、长春花生物碱、鬼血毒素、ACTD等一大类广谱天然抗癌药产生交叉抗药,这些药物被称为MDR相关药物。大肠癌细胞株的促分化剂如丁酸钠、双甲基亚砜(dimethyl sulfoxide)、双甲基甲酰氨(dimethyl formamide)等均可显著增强细胞株的MDR[9]。

3 产生抗药性的机制

大肠癌的抗药性与大肠本身的生理条件有关,大肠粘膜细胞长期接触环境中尤其是食物中的有害物质,细胞内存在着各种保护和解毒机制,包括药物吸收量的减少、药物作用靶酶的改变、细胞代谢和修复机制的加强、药物灭活功能的强化、基因突变和扩增等。这些机制可减少毒物对大肠粘膜乃至人体的危害,有保护健康的作用。癌变细胞不同程度继承了正常粘膜的遗传特性,对化疗药物亦具有抗药性。

3.1 mdrl基因(亦称PGY1基因,转录成4.5 kb mRNA)的编码蛋白P-glycoprotein(PgP)表达增加[10,11]。Pgp是细胞膜糖蛋白,分子量170kd,现已弄清Pgp的核苷酸序列,由此推断其氨基酸序列与目前已知的细菌膜转运蛋白结构类似。它是依赖ATP供能的药物输出泵,可把药物泵出细胞,使细胞内药物积聚量减少[10]。Pgp存在于正常大肠粘膜上皮细胞的管腔面,呈高度表达,转送毒物出细胞;大肠癌细胞也呈不同程度表达,Redmond[12]报告23例结肠癌及其周围正常粘膜均检出Pgp 170,癌组织中含量显著高于周围正常组织者4例;Goldstein[13]用印迹法测定41例结肠癌的mdrl RNA,阳性35例,占85%;Fojo[14]报告结肠癌的mdrl mRNA测值高于周围正常粘膜者达17~63%;Pgp在结肠癌浸润性癌细胞和淋巴结转移灶中阳性表达的比率很高[15],也存在于肝转移灶中(7/11)[16]。这说明结肠癌保持正常粘膜表达mdrl基因的能力可贯穿于肿瘤发展的各个时期,其转移灶也呈抗药状态。Pgp的表达程度似与大肠癌的分化程度无明显相关性。mdr/mRNA/Pgp呈高达的结肠癌细胞株对阿霉素(蒽环类)的抗药性可达其亲代的2.5~50倍,对长春新碱的抗药性可达11~50倍,对鬼臼乙叉甙达5~10倍[16]。只有存在于细胞膜的分子量170kd的磷酸化状态成熟Pgq才与MDR呈肯定的相关性。丁酸钠、双甲基亚砜等在诱导大肠癌细胞株分化的同时,也能使其mdr/mRNA/Pgp表达明显增加而成为MDR的表型[17]。

3.2 谷胱甘肽(GSH)有关的解毒机制的改变 这是获得性抗药性的主要机制之一,与肿瘤细胞对烷化剂和放射线的抵抗性有关[18]。抗药细胞内还原型GSH池扩大、浓度增加,合成和利用GSH的酶类发生了变化。用硫丁氨酸亚砜胺(BSO)大量消耗GSH可恢复瘤细胞对化疗和放疗的敏感性。

3.2.1 GSH巯基转移酶(GST)是参与众多生物体内异物(xenobiotics)代谢酶类中的

维普资讯 http://www.cqvip.com

一个家族，有多种同功酶，都能利用GSH而对亲电解质疏水基质解毒。GST与毒素以共价键或非价键的形式结合、隔离毒素而保护细胞，能使有机过氧化物解毒成乙醇。GST按尾端氨基酸顺序、酶基质的特性和共同抗原性可分成3类，即α、μ和π。GSTπ mRNA在结肠癌及其周围正常粘膜中都可测出，用免疫组化法测定发现癌细胞中含量高于周围正常粘膜[19]，推测此酶可能是结肠癌细胞内源性抗药性的标记物。人GSTπ基因位于11号染色体的基因组中[19]。Wang[20]报告对苯丙酸氮芥抗药与敏感的瘤细胞株之间的主要差别就是前者有GST酶类的过度表达。GST抑制剂利尿酸钠可对抗肿瘤的抗药性，在培养细胞株[21]和小鼠体内移值的人结肠癌[22]均得到证实。临床I期试验也证明该药可与GST酶类结合而使后者活性降低至对照组的40%以下，从而延长塞替派血浓度的半衰期而增强其疗效[18]。

3.2.2 GST过氧化酶(GPx)也构成细胞解毒机制的一部分，它催化毒性过氧化物还原成乙醇，同时氧化消耗GSH而成GSH的二硫化物，后者借辅酶NADPH而还原成GSH。这种GSH氧化循环对于保护细胞不受脂质过氧化物损害具有重要意义[10]，可对蒽环类抗生素和放射线导致的毒性氧基团和残基进行解毒。实验小鼠心脏的GPx降低时对产生氧自由基和过氧化物的物质的敏感性增加[10]。培养细胞株的GPx活性显著增强时可使阿霉素在其细胞内形成的毒性羟基减少而呈抗药状态。

GSH、GST、GPx的变化都与肿瘤细胞的抗药性有关，体外实验证明一大类抗药细胞株的GSH、GST、GPx含量呈高水平，GSH升高还与细胞对顺铂的抗药性有关[23]。

3.2.3 拓扑异构酶Ⅱ(TopoⅡ)与非典型MDR 有的肿瘤细胞株并无Pgp表达，却对不同种类的抗癌药产生抗药性，如人白血病细胞株CEM，使其对鬼臼噻吩甙抗药，则其同时对蒽环类抗生素产生交叉抗药性，与MDR相似，但对长春花生物碱仍敏感，瘤细胞吸收药量和细胞内药物积聚量均与其对药物敏感的亲代细胞株相同，并无药物转运上的变化，这种交叉抗药性称为非典型MDR，其机制与MDR不同，有强力证据表明这些细胞株发生了TopoⅡ活性的改变[10]。

TopoⅡ属核酶类，参与基因加工和引导DNA二级、三级结构改变，为DNA复制时所必需。它依靠ATP供能，插入DNA双股螺旋的空间结构，使螺旋的5'端蛋白连结部位出现暂时性裂口，以便第二段DNA在裂口关闭前从裂口通过，其介导作用是酶上的氨酸残基与DNA5'端的磷酸盐部分形成共价交连，以此造成DNA与酶的中间复合物，称为可切开复合物。几种抗癌药，包括DNA插入剂阿霉素、氨苯哌啶(m－AMSA)、鬼臼毒素等可与此酶相互作用而使复合物变得牢固，导致TopoⅡ的性质改变，使DNA保持切开状态，复原过程受阻[24]。TopoⅡ可能是这些药物的作用的共同靶酶。定量测定发现抗药肿瘤细胞株TpopⅡ的DNA插入活性及致DNA裂开活性均显著低于敏感细胞株[24]。

3.2.4 DNA修复酶类的活性增强 O^6－烷基鸟嘌呤－DNA的烷基转移酶(Alkyltrans－ferrase)是一种特殊酶，能修复由含氯亚硝基脲和甲基化药物如氮烯咪胺等所致的DNA嘌呤基损伤，此酶活性升高可导致瘤组胞株和移植肿瘤对甲基化和氯乙基化的杀细胞药物产生抗药性，结肠肿瘤细胞内此酶测值低下者或许用以上药物化疗较为有效[13]。

4 克服和逆转大肠癌抗药性的有关实验和临床研究

4.1 甲酰四氢叶酸钙(LV) 1978年Wax-

维普资讯 http://www.cqvip.com

man[26]、Ullman[28]相继报告LV在Friend白血病及小鼠L1210细胞中使5－Fu的细胞毒性显著增强，以后学者们进行了大量实验和临床观察，证明LV参与构成细胞内还原型叶酸池，后者的扩大可显著增强5－Fu的细胞毒性，其机制为叶酸池中的5,10－甲烯四氢叶酸与氟脱氧脲苷酸、胸苷酸合成酶形成了牢固的三重共价复合物，脱氧脲苷酸不能甲基化而成脱氧胸苷酸，导致DNA合成从开始就被阻断。LV喋呤环第6位碳原子空间为一立体化学部位，生理活性型主要是左旋异构体[27]。

Doroshow[28]报告伴有肝及肝外转移的结直肠癌患者79例，采用5－Fu加大剂量LV治疗，方案为LV500mg/m².d，连续静滴5.5天，治疗开始24小时后用5－Fu370mg/m².d，静注5天为1周期，28天后重复至疾病进展或严重毒副作用出现为止。结果：治疗组39例有效率45%(含CR1例)，对照组单用5－Fu有效率仅13%，两组有显著差别(P－0.019)，中位生存期各为432天、386天，毒副反应有腹泻、骨髓抑制等，均不重，无死亡者。其它报告方案相似[29,30]。但关于LV的最适剂量目前尚未一致，有主张200mg/m².d×5天，也有主张用小剂量20或25mg/m².d×5天。O'Connell[44]报告小剂量LV有效率达43%，优于大剂量组(26%)，且毒副作用低。Bleyer[27]主张LV口服，肠道能选择性地吸收l型，且足以达到增强5－Fu作用的有效血浓度，每次量＜40mg时吸收最佳。晚近Scheithauer[31]报道5－Fu加LV加顺铂的联合方案治疗大肠癌，有效率34%(20/59)，含CR3例，病情稳定者27%(16/59)，令人鼓舞。总之，LV与抗癌药联合应用是30余年来大肠癌化疗疗效提高的实际进展。

4.2 钙离子通道阻滞剂

4.2.1 异搏停：1981年Tsuruo[32]报告此药增强长春新碱(VCR)对耐药的白血病细胞株P388/VCR的抗肿瘤效果，浓度2.2～6.6μM时可完全抵消其抗药性。异搏停与PgP结合被泵出细胞，同Pgp与抗癌药的结合和转运过程发生竞争性抑制，不但可克服抗药细胞的抗药性，还可克服敏感细胞物敏感不均匀性；在髓原性白血病细胞株K562的子代抗药亚克隆K562/ADM培养基中同时加入6.6μM的异搏停可增大ADM(阿霉素)和VCR的细胞毒性分别达30.42倍[33]；对结肠癌LoVo和SW948细胞株的抗药亚克隆，异搏停有显著增强ADM、VCR、ACTD的细胞毒性，但需长时间保持培养基中异搏停的有效浓度而不中断[34]，有人主张应超过肿瘤倍增时间[36]。异搏停的临床应用由于心脏毒副反应而难于达到体外实验那样高的有效浓度；宫永[38]报告异搏停5mg/kg即可克服小鼠移植膀胱癌MBT－2对顺铂的抗药性，且能耐受，用于临床则剂量亦达250～300mg/d。

4.2.2 右旋异搏停：此药逆转MDR的活性与普通消旋异搏停相当而心脏毒性只有后者的1/10，培养基中加入2～3μM即可对抗结肠癌抗药细胞株LoVo和CEM对ADM和DNR(柔红霉素)、Idarubicin的抗药性，临床应用当可耐受[37]。

4.2.3 Bepridil：体外试验证明可逆转MDR，Linn[38]报告此药与VLB(长春花碱)合用于晚期大肠癌，结果15例中CR1例缓解8个月，其后单用VLB无效时合用Bepridil又获CR。

4.3 环孢素A 能恢复结肠癌细胞株内的药物积聚，逆转对蒽环类抗生素的抗药性比异搏停更有效且临床剂量可达到体外实验要求，Verweij[39]试用于24例大肠癌，方案为环孢素A 3mg/kg加5%葡萄糖液100ml静滴1h，6h后重复1次；第2次滴完后1h用Epi－ADM(表阿霉素)90mg/m²单剂静注，以上为1周期，每3周重复，平均每例3周期，结果：

维普资讯 http://www.cqvip.com

PR1例缓解6个月，NC14例维持3个月；突出的副反应是33%病例出现WHO3～4级白细胞减少。

4.4 胺碘酮 对Pgp阳性的癌细胞株能竞争性抑制药物的抽出泵，阻止ADM从细胞内泵出并使其移向细胞核，有增强蒽环类抗生素对大鼠结肠癌细胞株的细胞毒作用。van der Graaf[39]试用于各类恶性肿瘤14例（消化道癌6例），用法：胺碘酮1000mg/d口服6天，第7天口服600mg，以后250mg/m²加5%葡萄糖液250ml静滴3h，再用ADM50mg/m²静注30min，然后再用胺碘酮250mg/m²加5%葡萄糖液250ml静滴3h；每3周重复。14例共治疗38周期，结果PR1例、NC7例；副反应主要是消化道表现和骨髓抑制，属ADM的毒性。

4.5 利尿酸 系GST抑制剂，用于恢复与GST活性增高有关的抗药癌细胞株对烷化剂的敏感性[21]。O'Dwyer[18]报告临床I期试验用于晚期恶性肿瘤27例（大肠癌6例），方案为利尿酸片口服，首剂25mg/m²，每隔6h服第2，3剂，剂量可分别增至50和75mg/m²，口服第2剂后1h用塞替派30mg/m²加5%葡萄糖液静注10min，治疗前一晚及服利尿酸后强力水化，以上为1周期，每4周重复时塞替派可渐增致55mg/m²，27例共52周期。结果利尿酸增至50和75mg/m²时周围血单核细胞和红细胞中GST值降至对照组的40%以下，主要副反应是大量利尿，24小时尿量最多达11，750ml，其次是骨髓抑制。

4.6 甲地孕酮 结肠癌细胞株HCT－116/VM26以此药3μM即能恢复其对ACTD的敏感性，在相同浓度时此药逆转MDR的效力为孕酮的2.5倍[40]。

4.7 免疫制剂

4.7.1 肿瘤坏死因子α(TNF－α)、干扰素γ(INFr)和白细胞介素Ⅱ(IL－Ⅱ)对人结肠癌细胞株LoVo、HT115、SW480和LS174T进行预治疗48及72小时后，前3株的mdr－1表达显著降低，但LS174T 不受影响；同时应用免疫制剂和抗癌药并无相加作用。结果提示对有效的细胞株用免疫制剂进行较长期预治治疗后再用VCR、ADM等可显著增强其细胞毒性[41]。

4.7.2 LAK细胞：MDR表型人结肠癌细胞株LoVoDx对结肠癌和良性疾病患者的培养LAK细胞均敏感，且较其亲代显著增强，以此提增LAK细胞过继免疫治疗对Pgp阳性的MDR肿瘤是有效的[42]。

4.7.3 α－2a－干扰素：可显著增强5－Fu对人结肠癌细胞株的细胞毒性，Wadler[43]报告30例有肝、肺等处转移的大肠癌病例，治疗方案为：5－Fu750mg/m².d，静滴，第1～5天，休息1周后每周1次；α－2α－干扰素9MU皮下注射，第1天起，每周3次，用此药前30min口服扑热息痛650mg，每4h1次，共3次，并禁用皮质激素或非甾体类止痛药；以后5－Fu剂量视毒副反应而调整。结果：17例初次化疗者PR13例（其中1例为临床CR）；13例有化疗往史者疗效较差，毒副反应为腹泻、白细胞减少，其中2例死亡。

总之，目前有关大肠癌抗药性的研究和对策已经取得相当的进展，临床治疗上还应作出艰苦的努力。

参 考 文 献

1.中国卫生年监 1993.423

2.Metzger UF,et al.Cancerr Chemother Pharmacal 1985;14:1

3.Verweig J,et al.Br J Cancer 1991;64:361

4.Mayer RJ,et al.J Natl Cancerr Inst 1989;81:1359

5.Buyse M,et al.JAMA 1988;259:3571

6.小平 进·他。第26回日本癌治疗学会 1988;P.25

7.Riehm H,Biedler JL.Cellular Cancer Res 1971;31:409

8.Bech－Hansen NT,et al.J Cell Physiol

维普资讯 http://www.cqvip.com

1986;88:23
9.Mickley LA,et al.J Biol Chem 1989;264:18031
10.Moscow JA,Cowan KH.J Natl Cancer Inst 1988;14:20
11.Kaye sb SB.Br J Cancer 1993;67:641
12.Redmond SMS,et al.Cance Res 1991;51:2092
13.Goldstein LJ,et al.J Natl Cancer Ihtl Inst 1989;81:116
14.Fogo AT,et al.Proc Natl Acad USA 1987;84:256
15.Weinstein RS,et al.Cancer Res 1991;51:2720
16.Kramer R,et al.Br J Cancer 1993;67:959
17.Frommel TO,et al.Int J Cancer 1993;56:297
18.O'Dwyer PJ,et al.Cancer Res 1991;51:6059
19.Moscow JA,et al.Cancer Res 1989;49:1422
20.Wang AL,et al.Cancer Treat Rep 1985;69:677
21.Tew KD,et al.Cancer Res 1988;48:3622
22.Cipper ML,et al.J Cell Pharmacol 1990;1:71
23.Glisson B,et al.Cancer Res 1986;46:1399
24.Deffie AM,et al.Cancer Res 1989;49:58
25.WaxmanS,et al.Proc Am Assoc Cancer Res 1978;19:149
26.Uiiman B,et al.Proc Natl Acad Sci USA 1978;75:980
27.Bleyer WA,et al.Cancer 1989;63:995
28.Doroshow JH,et al.J Clin Oncol 1990;8:491
29.Arbuck SG.Cancer 1989;63:1036
30.Wolmark N,et al.J Clin Oncol 1993;LL 1:1879
31.Scheithauer W,et al.Cancer Res 1991;67:1294
32.Tsuruo T,et al.Cancer Res 1981;41:1967
33.Tusa K,Tsuruo T.Cancer Res 1989;49:5002
34.Toffoli G,et al.Cancer Res 1989;49:5002
34.Toffoli G,et al.Cancer Dedect Prev 1993;17;425
35.Toffoli,et al.Eur J Cancer 1993;29A(12):1776
36.宫永直人.他.J Jpn Soc Cancer Ther 1993;28:36
37.Damiani D,et al.Anticancer Drugs 1993;4:173
38.Ling SC,et al.J Clin Oncol 1994;12:812
39.Van der Graaf WTA,et al.Int J Cancer 1991;48:616
40.Wang L,et al.Cancer Chemother Pharmacol 1994;34:96
41.Walther W,Stein U.J Cancer Res Clin Oncol 1994;120:471
42.Mooney EF,et al.Br J Surg 1993;80:1259
43.Wadler S,et al.J Clin Oncol 1989;7:1769
44.O'Connell MJ,et al.Cancer 1989;63:1026

(收稿日期 1996－01－31)

(上接第295页)

2.Wilmore DW,et al.Surgery 1988;104:917
3.Page CP.Am J Surg.1989;156:485
4.Thompsom JS,et al.JPEN.1987;11:28
5.Glodstein RM,et al.J Pediatric Surg.1985;20:785
6.Hoghes CA, et al.Clin Sci 1988;59:317
7.Maxto DG.Clin Sci 1989;77:401
8.Dcmling R,et al.Curr Prob Surg 1993;30:356
9.Moore FA,et al.J Trauma 1989;29:916
10.Kudsk KA,et al.Ann Surg 1992;217:172
11.Moore FA,et al .Ann Surg 1992;216:172
12.Fong Y,et al.J Clin Invest 1990;85:1896
13.Tran D,et al.Surgery 1993;114:21
14.Deilh EA.Gul 1994;35(supple 1):S23
15.Van Leeuwer PAM,et al.Gut.1994;35(supple 1):S28
16.Fcrguson A.Gut 1994;35(supplc 1):S10
17.Deitch EA,et al.Ann Surg 1987;205:681
18.Ma L,et al.JPEN 1989;13:572
19.Deitch EA,et al.Ann Surg 1990;211:560
20.Fong Y,et al.Ann Surg 1989;210:449
21.Flverdy J,et al.Ann Surg 1985;202:681
22.Alverdy J,et al.Surgery 1998;104:185
23.Tanaka S,et al.Cell Tissue Res.1991;266:29
24.Kcymling M.Gut 1994;35(supplc 1):S77
25.Larson DE,et al.Castroenterology 1987;93:48
26.Ponsky JL,et al.Am J Surg 1985;149:102
27.Foutch PG,et al.Am J Gastroenterol 1988;83:812
28.Miller RE,et al.Surg Endos 1989;3:186
29.Yeung EY,et al.Clin Gastroenterol 1992;6:297

(收稿日期 1996－04－16)