DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.11.001

文章编号:1000-5404(2002)11-1257-02

专家论坛

细胞粘附与肿瘤多细胞耐药

Cell adhesion and tumor multicellular drug resistance

梁后杰,黄海辉 (第三军医大学附属西南医院肿瘤血液科,重庆 400038)

肿瘤细胞的耐药现象是影响化疗疗效和患者预后的重要因素之一。为克服肿瘤耐药,多年来人们对肿瘤的耐药机制进行了大量研究,并在细胞乃至分子水平有了诸多进展,其中包括某些耐药基因(MDR)和细胞表面蛋白(P-糖蛋白和多药耐药相关蛋白)介导的多药耐药[1]。然而针对这些耐药机制所设计的治疗方法,尽管在体外研究中效果显著,但在临床上却难以奏效,特别是对实体瘤的治疗更是令人失望。

究其原因,一种可能的解释是这些研究工作,象大多数的临床前研究工作一样,其结果均有赖于体外二维单层培养的肿瘤细胞。这种广为使用的单层培养系统研究的只是单个癌细胞的特性,忽略了重要的以信息系统为基础的细胞-细胞相互作用和特殊的微环境,而体内存在的实体瘤却是一个三维的细胞群集体,因此,临床上实体瘤的耐药机制更为复杂[2]。要想克服耐药不仅要阐明个体癌细胞的耐药特性,更要考虑到细胞间的相互作用和相互协作。

1 粘附介导的多细胞耐药现象

尽管许多年前人们已经观察到细胞与细胞的相互接触可导致细胞生物学行为明显改变和对治疗反应的显著不同,但直到近年来细胞-细胞相互作用与耐药的关系才引起人们的重视。Teicher等[3](1990年)发现在小鼠体内对多种细胞毒性抗烷化剂耐药的肿瘤细胞,当在体外以单层培养检测时即失去其耐药表型。但当这些肿瘤细胞在三维多细胞球形培养时仍表现出耐药特性。这种耐药现象与细胞间粘附和紧密接触密切相关。我们将这种耐药现象称之为"多细胞耐药"(Multicellular resistance, MR)或"群集耐药"。

随后的研究发现,这种多细胞耐药现象可能是肿瘤细胞一种固有的耐药特性,不仅表现为对细胞毒性药物,而且对射线、补体介导的细胞毒性、细胞因子、LAK细胞和免疫毒素等均存在多细胞耐药现象。进一步研究证实,尽管肿瘤细胞三维球形培养对细胞内药物积累水平较单层细胞时还高,但仍表现为更大的耐受性。增加药物向瘤体内渗入的方法也并不能增加药物敏感性。这些结果提示,细胞群集时药物敏感性的降低并非由于或并非仅仅由于药物不易进入所致,而可能主要与细胞-细胞或细胞-基质的相互作用所致的整个细胞群体的耐药表型改变有关[4]。

细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用主要由粘附分子所介导。这些粘附分子包括选择素家族(Selectins family)、CD44家族、整合素家族(Integrins family)、钙粘素家族(Cadherins family)等。其中整合素主要介导细胞和基质间的相互作用,而钙粘素主要参与同型细胞间的粘附作用。已证实这些粘附分子与细胞间和细胞内的信号传导有关,并可通过对细胞周期和细胞凋亡的调控,影响对治疗的反应[5,6]。

2 细胞粘附对细胞周期的影响及其与耐药性的关系

细胞周期的进程为细胞周期蛋白(Cyclin)及其它一些影响因素所调控。其中细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)主要作用于磷酸化关键蛋白,进而影响有丝分裂周期中蛋白质的表达。cyclin-CDKs复合物的作用受细胞周期依赖性蛋白激酶抑制因子(CKIs)控制。CKIs包括两个家族:INK家族(包括p15、p16、p18和p19),作用于细胞由G_1期向S期转化;KIP家族(包括p21、p27及p57),可对细胞周期所有环节产生影响。

肿瘤细胞的群集现象有赖于粘附分子所介导的细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用。目前已有许多研究证实,与体外平面单层培养相比,体外立体培养肿瘤细胞除获得某种耐药表型外,还发现这些细胞大量滞留于细胞周期某一时相点(尤其是G_1期),同时伴随一些CKIs(如p27、p21等)的过表达[7]。在立体球形培养模型中,p27、p21等的高表达仅局限于球体内部相对静止、相互连接较紧密的细胞层中,而在球体外部生长较活跃、但细胞结构较松散的细胞层中并不出现高表达。更有研究证明,EMT-6细胞转染粘附分子(E-钙粘素)后,细胞间粘附作用加强,同时伴有p27的高表达及细胞大量滞留于G_1期。大量肿瘤细胞滞留于细胞周期某一时相点,除导致一些细胞周期特异性药物失效外,由于其增殖缓慢,处于相对静止状态,有利于其在细胞毒性药物中生存,极易对其他许多化疗药物产生耐受。

目前的研究表明,肿瘤细胞的粘附作用增强,可诱导产生一些蛋白质,如:多药耐药蛋白(Pgp)、$p21^{Cip1/Waf1}$、其它CKIs因子、VEGF等[8],并通过某些信号转导机制(NF-κB、MAPK途径),来调控细胞周期蛋白的表达,进而影响细胞周期,并使肿瘤细胞群体表现为耐药。

3 细胞粘附对细胞凋亡的影响及其与耐药的关系

生理情况下,细胞凋亡是以清除无意义细胞为目的的细胞主动死亡过程。在抗肿瘤治疗过程中,化疗药物除直接杀伤肿瘤细胞外,更主要的作用是诱导肿瘤细胞进入凋亡程序,以达到清除肿瘤细胞的目的。在许多哺乳动物细胞系统中,细胞之间可通过传递一种"生存信号"来避免进入凋亡程序。许多研究表明,这种"生存信号"可通过细胞-细胞和细胞-基质之间的粘附作用进行传递。肿瘤细胞相互间亦通过上述粘附作用传递"生存信号",以避免发生凋亡,对抗化疗药物的致凋亡作用,从而表现为耐药。

在粘附分子中,整合素家族主要介导细胞-基质间的粘附

作者简介:梁后杰(1964-),男,河南省商丘市人,博士,主治医师,教授,博士生导师,主要从事肿瘤耐药机制方面的研究,发表论文30余篇。电话:(023)68754128

收稿日期:2002-07-20;修回日期:2002-09-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作用，钙粘素家族主要介导细胞-细胞间的粘附作用。肿瘤细胞的群集现象依赖于钙粘素所介导的细胞-细胞之间的粘附作用。研究发现，运用单克隆抗体阻断E-钙粘素介导的细胞-细胞间粘附作用后，可促进细胞凋亡。细胞-细胞间粘附作用增强伴有蛋白激酶C的高表达，同时NF-κB传导途径激活，上调某些凋亡抑制基因(如Bcl-2)的表达，从而抑制细胞凋亡[9]。

当细胞与细胞外基质间失去正常的粘附作用后，细胞发生凋亡，这种现象被称之为“anoikis”[10]。然而在肿瘤细胞转移过程中，细胞与基质间粘附作用下降，但细胞凋亡现象并未增加，其耐药表型依然保存，表现出一种抗“anoikis”现象。其可能机制为：失去粘附的细胞VLA-4失表达，同型细胞群集现象减弱，不再粘附上皮细胞，MMP-2与MMP-9活性减弱；同时加强了对基质的浸润，TIMP-1表达增加，上调了α1、3GT等基因与α-半乳糖抗原决定簇的表达水平[11]。研究发现，酪氨酸激酶依赖的磷脂酰肌醇3′-激酶，以及丝分裂素-活性蛋白激酶依赖的信号传导途径可能与抗“anoikis”现象的发生有关[12]。

4 抗粘附治疗对肿瘤化疗的增敏作用

St Croix等模拟体内实体瘤环境，在体外以EMT-6实体瘤细胞进行立体球形培养后，细胞对4-HC(4-氢过氧化环磷酰胺)表现为一定程度的耐药，但在细胞体系中加入可破坏细胞粘附作用的牛睾丸透明质酸酶后，发现细胞对4-HC的敏感性恢复，同时发现在破坏细胞粘附后，p27表达下降。随后人们进一步进行一些体内实验，发现联合运用合成糖胺(Synthetic glycoamine)或人类抗E-钙粘素单克隆抗体SHE78-7破坏肿瘤细胞间粘附作用后，体内肿瘤细胞对化疗药物敏感性增加。还有研究表明，破坏细胞粘附作用后，可通过干扰β-半乳糖苷凝集素-3(β-galectin-3)的过表达，从而增强转移性恶性肿瘤细胞的抗凋亡能力，有研究表明使用抗β-galectin-3药物可在一定程度上恢复抗癌药物的疗效[13]。上述证据表明，抗粘附治疗在一定程度上可改善肿瘤细胞耐药现象，恢复肿瘤细胞对化疗药物的敏感性，对传统化疗具有协同、增敏作用。

由于抗粘附分子机制可干扰细胞-细胞及细胞-基质间的粘附作用，具有影响恶性肿瘤细胞动力学、侵袭及转移的能力，现已被认为是一种具有潜能的抗肿瘤治疗方法，即作为肿瘤(尤其是实体瘤)传统化疗的增敏治疗。破坏肿瘤细胞的粘附作用，可通过干扰肿瘤细胞间“耐药信号”的传导、影响细胞周期动力学并诱导细胞凋亡等途径，增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性，传统化疗联合抗粘附治疗可能是解决肿瘤耐药的一个新方法。

5 问题与展望

抗粘附治疗逆转肿瘤多细胞耐药，对肿瘤化疗的增敏作用的研究目前仅限于实验室，还处于研究的初步阶段，所得出的初步结论还有待于更多的证据支持。其作用机制还有待于进一步阐明。体内实验还缺乏对正常组织、细胞影响的研究。同时抗粘附治疗仅局限于实体瘤的治疗。目前研究表明，抗粘附治疗是化疗的一种很好的辅助措施，其单独使用无效，必须联合传统化疗才能达到临床肿瘤治疗的目的。

肿瘤多细胞耐药的研究将人们的眼光从局限于单个肿瘤细胞扩展到对肿瘤细胞群体的研究，提高了对肿瘤的认识水平。就目前传统化疗水平而言，细胞耐药是严重影响疗效及预后的因素。通过对肿瘤多细胞耐药研究而提出的抗粘附治疗已获得了一些实验依据，证明其可能逆转肿瘤多细胞耐药，从而在一个方面上解决耐药的问题。在肿瘤基因治疗及其它特效治疗运用于临床前，抗粘附治疗联合化疗应具有较广阔的前景，在提高疗效、改善预后方面具有重大的临床意义。

关键词：肿瘤；细胞粘附；多细胞耐药
中图法分类号：R392.11；R915 文献标识码：A

参考文献：

[1] Robert H, Shoemsker R H. Genetic and epigenetic factors in anticancer drug resistance[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(1): 4—5.
[2] DeClerck Y A. Interaction between tumor cells and stromal cells and proteolytic modification of the extracellular matrix by metalloproteinases in cancer [J]. European J Cancer, 2000, 36(10): 1 258—1 268
[3] Teicher B A, Herman T S, Holden S A, *et al*. Tumor resistance to alkylating agents conferred by mechanisms operative only *in vivo*[J]. Science, 1990, 247(4 949 Pt1): 1 457—1 461
[4] Green S K, Frankel A, Kerbel R S. Adhesion-dependent multicellular drug resistance[J]. Anti-Cancer Drug Design, 1999, 14(2): 153—168
[5] Han E K, Tahir S K, Cherin S P, *et al*. Modulation of paclitaxel resistance by annexin Ⅳ in human cancer cell lines[J]. Br J Cancer, 2000, 83(1): 83—88
[6] Netti P A, Berk D A, Swartz M A, *et al*. Role of extracellular matrix assembly in interstitial transport in solid tumors[J]. Cancer Res, 2000, 60(9): 2 497—2 503.
[7] St Croix B, Sheehan C, Rak J W, *et al*. E-Cadherin-dependent growth suppression is mediated by the cyclin-dependent kinase inhibitor p27KIP1[J]. J Cell Biol, 1998, 142(2): 557—571
[8] Shweiki D, Neeman M, Itin A, *et al*. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicellular spheroids: implication for tumor angiogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(3): 768—772.
[9] Ramp U, Dejosez M, Czarnotta B. Deficient activation of CD95(APO-1/Fas)-mediated apoptosis: a potential factor of multidrug resistance in human renal cell carcinoma[J]. Br J Cancer, 2000, 82(11): 1 851—1 859.
[10] Frisch S M, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis[J]. J Cell Biol, 1994, 124(4): 619—626
[11] Zhu Z, Sanchez-Sweatman O, Huang X, *et al*. Anoikis and metastatic potential of cloudman S91 melanoma cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(4): 1 707—1 716
[12] Damiano J S, Cress A E, Hazlehurst L A, *et al*. Cell adhesion mediated drug resistance(CAM-DR): Role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines[J]. Blood, 1999, 93(5): 1 658—1 667.
[13] Glinsky GV. Apoptosis in metastatic cancer cells[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 1997, 25(3): 175—186

(编辑 张 宁)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net