

肿瘤(白血病)多药耐药性 与中药逆转研究[※]

□ 陈信义^{*} 刘江涛 (北京中医药大学东直门医院 北京 100700)

关键词 肿瘤 白血病 多药耐药 中药逆转疗法 综述

多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 是指肿瘤细胞接触一种抗癌药物并产生耐药性后,同时对结构和作用机理不同的多种抗癌药物具有交叉耐药性。MDR 是肿瘤临床化疗失败的主要原因之一。因此,MDR 是当前肿瘤化疗中亟需解决的难题。

1 多药耐药发生机制

1.1 多药耐药与细胞膜蛋白质

1.1.1 P 糖蛋白 (Pgp) Pgp 具有一种能量依赖跨膜药物外输泵功能,当肿瘤细胞与化疗药物接触时,脂溶性药物经浓度梯度进入细

胞,而 Pgp 则结合药物分子,其 ATP 结合位点同时连上 ATP,ATP 水解释能将药物从细胞内泵出细胞外,使细胞内抗肿瘤药物浓度下降,药物抗癌效应因而减弱甚至消失。编码 Pgp 的基因称为 *mdr*。MDR 表型表现为 *mdr* 的过度表达伴有或不伴有基因扩增。肿瘤细胞长期接触化疗药物后,*mdr*₁ 被诱导而扩增,并大量表达 Pgp。但也有研究发现,在耐药程度低的细胞系中,可无 *mdr*₁ 扩增,而只有其 mRNA 表达增加,Pgp 功能增强。临床研究表明,不论是实体瘤还是

恶性血液病,*mdr*₁ 表达可出现于初治病人,而用过化疗的复发病入及难治性患者常表达增高。*mdr*₁ mRNA 或 Pgp 表达阳性患者化疗缓解率明显低于阴性患者,即使获得缓解,持续时间也较短^[1]。临床检测 *mdr*₁ 表达和 Pgp 功能有助于预测化疗效果,并为化疗药物选择提供依据,使化疗方案个体化。

1.1.2 多药耐药性相关蛋白

Cole 等发现^[2],在两种非 Pgp 介导的 MDR 细胞中有一种膜转运蛋白过度表达,称之为多药耐药性相关蛋白 (MRP)。MRP 在人体正常组织中也有表达,如肺、睾丸、肌肉等。MRP 参与耐药株的早期形成^[3],其介导 MDR 在低水平早期耐药起作用^[4]。Brock 等研究 H69/VP16 细胞株时,在同一细胞系中可同时发现 MRP 和 Pgp 表达,但在诱导早期耐药亚株中发现

※基金项目 高等学校博士点专项基金 (NO: 2000002611) 与教育部 21 世纪教育振兴行动计划专项基金资助课题 (NO: 356)。

*** 作者简介** 陈信义,男,教授、主任医师、博士生导师。中华中医药学会肿瘤学会副主任委员、中华中医药学会内科分会血液病专业委员会副主任委员、国家药品监督管理局药品评审专家、承担国家“九五”、“十五”攻关等国家、部局级科研课题多项,获科研成果 6 项、科技进步奖 6 项,出版专著 5 部。

MRP 表达先于 mdr_1 [5]。Versantvoort 等发现 MRP 介导药物转运可受谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 水平调节 [6]。

1.1.3 肺耐药相关蛋白 (LRP)

LRP 可以在来源不同的肿瘤细胞系中过度表达 [7]。LRP 是人类主要穹隆蛋白 (MVP)，在大多数正常组织中可见，推测其可能参与组成核孔复合体，调节细胞内核-浆以及穹隆内外物质，包括药物再分布。

1.2 多药耐药与细胞质、细胞核蛋白质

1.2.1 磷酸激酶 C (PKC)

PKC 是一种 Ca^{++} 、磷脂依赖性蛋白激酶，其正常生理功能为参与细胞内生物信息传递。在具有 MDR 表型的肿瘤细胞中，Pgp 磷酸化与 PKC 关系密切，PKC 水平及活性与 mdr_1 表达呈正相关。因此，PKC 可能是通过诱导 mdr_1 过度表达和加速 Pgp 磷酸化而导致 MDR 形成与发展。实验研究发现，多种磷酸激酶可使 Pgp 磷酸化，影响其功能，而且磷酸化作用还可参与其它与抗药性有关蛋白的磷酸化，调节抗药性产生。

1.2.2 DNA 拓扑异构酶 II (Topo II) Topo II 是活细胞不可缺少的核酶，主要在核内发挥生理作用，影响 DNA 结构，并与间期核基质、有丝分裂期染色体配对、染色体分离、基因重组和转录及 DNA 损伤与修复有密切关系 [8]。Topo II 是化疗药物的重要靶酶，许多抗癌药物，尤其是 Topo II 抑制剂，常以独特方式改变酶功能或活性，使 DNA 断裂增加而发挥抗

癌效应。事实证明肿瘤细胞内 Topo II 水平越高则对抗肿瘤药物的敏感性越高。

1.2.3 谷胱甘肽、谷胱甘肽-S-转移酶 谷胱甘肽 (GSH) 主要功能为保护氧化剂对巯基的破坏与细胞膜中含巯基蛋白质和含巯基酶不被氧化。在谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 催化下，GSH 与化学药物结合，从而降低化学药物的细胞毒作用。另外，GST 不仅可以催化亲电物质与 GSH 结合，而且其自身也可与亲脂性药物结合增加其水溶性，促进抗肿瘤药物外排作用。

2 多药耐药检测方法及临床意义

2.1 检测方法

2.1.1 体外药敏实验 所谓耐药，即肿瘤细胞对化疗药物敏感性降低，也就是单位化疗药物杀死肿瘤细胞数目减少。根据此原理应用 MTT 比色分析法测定肿瘤细胞对化疗药物敏感性，从而为临床选择化疗方案提供一定的依据。MTT 法具有快捷、方便、灵敏、经济的特点，国外研究者还报道了 MTT 法所得结果与临床疗效有良好的吻合性。此法已在白血病等恶性肿瘤体外药敏中开始应用。

2.1.2 针对多药耐药发生机制检测方法 国内外针对不同的发病机制，对有关基因、蛋白及酶活性进行检测。基因表达主要方法有：定量 PCR 法、RF-PCR 法、竞争 RT-PCR 法、链亲和素-胶体金原位杂交法 (SAG-ISH) 法、Northern 杂交法、Slot 印迹杂交法；蛋白及细胞表面分化抗原表达的检测主要有：免疫荧光法、免疫组化

(APAAP) 法、生物素-亲和素过氧化物酶复合物 (ABC) 法、Western 杂交及流式细胞术。其中，Pgp、MRP、LRP 等检测在肿瘤的基础及临床研究中非常重要，它即可预测肿瘤耐药性产生，又可估计肿瘤细胞生物学行为，从而作为衡量患者预后的一项重要指标。

2.1.3 肿瘤细胞内药物浓度测定 根据若丹明 123 及柔红霉素 (ADR) 在肿瘤细胞中滞留并能自身发荧光特点，用流式细胞仪检测其在肿瘤细胞内荧光强度，以间接推测耐药蛋白功能。

2.2 转运膜蛋白表达及临床意义

2.2.1 mdr_1 基因及其编码产物 P 糖蛋白 mdr_1 及 Pgp 在正常人的肾上腺、肾脏、回结肠、直肠、肝脏和肺脏组织 mdr_1 表达较高，而在其他组织如皮肤、皮下组织、骨骼肌、心脏、脾脏、骨髓和淋巴细胞、食管、胃、卵巢、肾实质、脊髓节表达较低或不表达，说明 mdr_1 表达产物主要存在于正常人具有分泌或排泄功能的特殊上皮细胞中，可降低外源性物质对正常细胞损害，保护脏器生理功能。当肿瘤来源于高表达组织和脏器时，多表现为原发性耐药，而来源于低表达或不表达组织的肿瘤，初发时一般常对化疗较敏感，但可产生获得性耐药。

研究人员利用免疫组化和特异性核酸探针 [9]，检测了许多人类肿瘤 mdr_1 基因表达发现，几乎在所有肿瘤类型中，包括癌、肉瘤、白血病、淋巴瘤等都有 mdr_1 基因表达。Nooter 于 1991 年总结了人

体肿瘤 mdr_1 基因表达情况,并根据 mdr_1 基因表达水平将肿瘤分为三类:① mdr_1 基因高度表达肿瘤,如肾癌、结肠癌、胰腺癌等。该类肿瘤来源组织本身就有中至高水平 mdr_1 基因表达,表现为原发性耐药,其化疗效果差。② mdr_1 基因中度表达肿瘤,如乳腺癌、神经母细胞瘤、白血病等。这类肿瘤化疗效果较第一类肿瘤要好,甚至可以达到完全缓解,但是大部分都有复发,以至最后产生耐药。③ mdr_1 基因低度表达肿瘤,如卵巢癌、食道癌、小细胞肺癌等。这类肿瘤对化疗药物敏感,但同样也可以产生多药耐药。

不同肿瘤 mdr_1 /Pgp 表达不同,而且和是否经过化疗关系密切,复发患者 mdr_1 /Pgp 表达较初治患者高^[10,11]。许多血液系统恶性肿瘤,如急性粒细胞性白血病(AML)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、多发性骨髓瘤(MM)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)均可出现 mdr_1 /Pgp 表达增高。多数白血病 MDR 检测结果还显示 mdr_1 及 Pgp 与化疗有关,其过度表达可导致完全缓解(CR)率下降及复发率增高,且预后不良。在 AML 诊断时有 50% 左右病例 mdr_1 基因呈阳性表达,在复发难治病例 mdr_1 基因表达率为 88%,同时发现 mdr_1 基因阴性表达患者有较高诱导缓解率。在成人 ALL 诊断时 mdr_1 基因阳性表达率

为 22%,复发难治病例为 52%,而儿童 ALL 初诊时 mdr_1 基因表达率更低。 mdr_1 基因阴性表达患者,诱导缓解率高,无病生存期长。比较 ALL 和 AML mdr_1 mRNA 表达结果提示:AML 的 mdr_1 mRNA 表达率高于 ALL,说明 AML 产生耐药机会较 ALL 大,所以,临床 AML 治疗效果一般较 ALL 为差。

2.2.2 多药耐药相关蛋白 Nooter 等用定量 RNase 保护法检测正常人组织和 370 名患者肿瘤标本,发现在所有正常组织中均有低表达^[12],并根据 MRP 表达将人类肿瘤分为三组:①高或极高水平 MRP 表达(如慢性淋巴细胞白血病);②低水平或偶尔高水平的 MRP 表达(如食管鳞癌,非小细胞肺癌和急性粒细胞性白血病);③只有低水平 MRP 表达(如软组织肉瘤、黑色素肉瘤、前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌、睾丸癌、卵巢癌和结肠癌)。临床研究表明,MRP 过度表达时肿瘤细胞对化疗药物敏感性下降,使临床缓解率降低,这与分子生物学研究发现 MRP 过度表达是通过 ATP 依赖转运作用降低细胞内药物浓度相一致。

MRP 临床检测主要在非实体瘤中进行。Burger 等报道^[13],MRP 表达水平与白血病类型有关,在慢性淋巴细胞白血病中 MRP 表达较高,而在急性淋巴细胞白血病和慢性粒细胞白血病中 MRP 表达水平较低。在治疗组和非治疗组之间,未发现 MRP 表达水平明显差异。Schneider 等报道^[14],MRP 表达水平与白血病复发密切相关^[15]。

王福旭等应用 RT-PCR 法检测了 65 例 AL 患者骨髓细胞和 15 例正常人外周血单个核细胞中 MRP 基因表达结果发现^[16],复发难治组 MRP 平均表达水平与阳性率最高,初治组 MRP 阳性病例与 MRP 阴性病例首次完全缓解率分别为 25% 和 84%,有显著性差异($P < 0.05$)。

在实体瘤方面,陈金联等应用免疫组化法检测 MRP 在胃癌组织中表达结果发现^[17],52 例胃癌中阳性表达率为 38.5%。并发现晚期胃癌(Ⅲ、Ⅳ期)阳性率为 60%,显著高于 I、II 期胃癌的 18.5% 表达率($P < 0.01$)。MRP 阳性患者平均生存期与 5 年生存率显著低于阴性患者($P < 0.01$)。提示 MRP 在胃癌中表达与预后密切相关,也可能是内源性耐药重要机制之一。陈忠等应用免疫组化法研究 40 例膀胱癌 MRP 及 Pgp 表达结果提示,MRP、Pgp 表达量在复发病人中阳性率显著增高^[18]。这可能是膀胱腔内化疗失败的重要原因。

2.2.3 肺耐药蛋白 LRP 在正常组织中分布具有组织特异性,在那些经常接触异型物质和外界毒物的组织中表达水平高,尤其在那些具有分泌和排泄功能的复层上皮和移行上皮,如支气管、肠道、肾小管等更为明显;LRP 也表达于肾上腺、肺、心、肌肉、骨髓、甲状腺、前列腺、睾丸等组织。与 Pgp 不同的是 LRP 在胆小管上皮没有表达。其分布特点暗示 LRP 象 Pgp 一样也具有保护功能。Mirakhur 等认为^[19],LRP 可介导卵巢癌细胞对顺铂的耐受性,LRP 阳性表达者

卵巢癌化疗反应差^[20]。日本学者也发现^[21]，LRP 在骨肉瘤患者高表达与术前化疗失败有关。LRP 还可能是引起黑色素瘤 MDR 的主要机制^[22]。

有研究发现，mdr₁ 和 MRP 基因可在同一细胞上同时表达，说明在同一耐药细胞上可有不同耐药机制并存。Izaquierdo 等研究 Pgp、MRP、LRP 三种 MDR 相关蛋白在晚期卵巢癌病人中表达情况及其与化疗反应、预后关系中表明^[20]，Pgp、MRP 和 LRP 同时有表达，LRP 表达与病人化疗反应明显相关，且与病人存活情况有相关性。说明 MDR 细胞中多种耐药机制同时存在，并可发挥协同作用。

3 中药逆转研究

3.1 单味中药

3.1.1 汉防己 中药汉防己是防己科千金藤属植物粉防己块根，其主要成分有汉防己甲素（Tetrandrine, TTD）和蝙蝠葛碱（DRC）、蝙蝠葛苏林碱（DRS）等。TTD 又名粉防己碱，是目前报道最多的中药单体逆转剂。1992 年，何其扬等首次报道 TTD 能够逆转中国仓鼠上皮细胞对阿霉素耐药性。此后，TTD 成为中药逆转剂研究的热点。许文林等以 MTT 法检测 TTD 对柔红霉素（DNR）和长春新碱（VCR）杀伤急性白血病细胞的增效作用时发现， 10^{-6} mol/L 的 TTD 能显著增强 DNR 和 VCR 对白血病细胞杀伤效应，并有一定剂量依赖关系，而单用 TTD 对肿瘤细胞和正常骨髓细胞则无明显抑制^[23]。夏薇等采用 MTT 法测定化疗药物对细胞的毒性作用时发现， 10^{-6}

mol/L TTD 能明显增加耐人红白血病细胞 K562/AO2 对 DNR 敏感性，而对 K562/S 细胞影响不大^[24]。同样，TTD 也能显著提高耐药细胞 K562/AO2 对高三尖杉酯碱的敏感性。潘启超等以 MTT 法研究 TTD 对耐药人乳腺癌细胞株 MCF-7/Adr 逆转作用中发现^[25]， $10 \mu\text{mol/L}$ 的 TTD 可完全逆转 MCF-7/Adr 对 ADR 耐药性，逆转倍数达 100 倍，而该浓度 TTD 也能逆转天然耐 VCR 的人肝癌细胞 BEC-7402 细胞株耐药性，其逆转倍数为 13 倍。细胞内 ADR 积累水平测量结果表明，TTD 逆转机理类似维拉帕米（VRP），主要增加抗肿瘤药物在耐药细胞内积聚，而对敏感细胞株作用不明显。敖忠芳等用 K562/S 及其耐 ADR 细胞株 K562/AO2 体外实验结果提示，TTD 是通过提高耐药细胞内 DNR 含量而达到逆转耐药效应^[26]。叶祖光等人在研究 TTD 对人癌细胞抗药性逆转作用时发现，单用 TTD 对 MCF-7/Adr 作用明显强于 MCF-7，在 KB 与 KB_{v200} 中也有类似趋势。联合用药时， $1 \mu\text{mol/L}$ TTD 可以完全逆转 MCF-7/Adr 对 ADR 耐药性，其 IC₅₀ 甚至低于敏感的 MCF-7 细胞，在 KB 细胞系中也有同样明显逆转效果，而且逆转效应呈剂量依赖关系^[27]。何琪扬等研究结果显示，无细胞毒的 TTD 能明显增强 ADR 对抗药性细胞生长抑制^[28]。

现在，已有人将 TTD 用于临床研究，并显示了较好的苗头。许文林等对 4 例难治性白血病、多发性骨髓瘤患者在化疗方案完全失败后，在原来化疗方案的基础上加用

TTD，2 例获得临床缓解，1 例临床症状及体征明显减轻、血象及血生化指标明显改善。对 2 例临床缓解患者进行体外逆转实验，TTD 亦能明显增强化疗药物细胞毒作用。

DRC 结构类似 TTD。田晖、潘启超等研究发现 DRC 可使 VCR 对 BEL-7402 细胞毒增加^[29]。对具有 MDR 表型的 MCF-7/Adr 也获得了类似结果。细胞内含量测定结果表明，逆转主要为增加化疗药物在细胞内积聚。同时研究也发现，DRC 明显增加 ADR 对 Pgp 阳性 MCF-7/Adr 细胞敏感性，且作用呈剂量依赖性；而对 Pgp 阴性敏感细胞株则无明显增效。 $5 \mu\text{mol/L}$ DRC 逆转耐药性作用优于 VRP 3.6 倍。细胞内 ADR 含量测定结果提示，DRC 和 VRP 一样可能特异地阻断 Pgp 药物外排机制，使 MDR 细胞内药物积累增加，浓度升高。

体外实验发现 DRS 能明显增加 ADR 对 Pgp 阳性的 MCF-7/Adr 细胞敏感性，且作用呈剂量依赖性；对 Pgp 阴性敏感细胞株则无明显增效。DRS 对 Pgp 表达阳性的 KB_{v200} 和天然耐 VCR 的 BEL-7402 细胞株亦有增敏效应，并有剂量依赖性，但 DRS 逆转作用弱于 VRP。细胞内 ADR 含量测定提示，DRS 和 VRP 一样可能特异性阻断 Pgp 药物外排机制，使 MDR 细胞内药物积累增加，浓度升高。叶祖光等从汉防己中又获得一种新的双苄基异喹啉化合物 Ys-96，该化合物不仅能逆转抗氯喹株恶性疟耐药性，而且在体外能逆转 MDR^[30]。MCF-7/ADR 和 KB_{v200} 的 IC₅₀ 随 Ys-96 浓度增加而下降。

汉防己单体成分均属较弱的钙通道阻滞剂 (CCB) 之一的双苄基异喹啉类 (BBI) 生物碱。国外早有关于 BBI 生物碱逆转 MDR 的研究报道^[31]。进一步实验发现, CPR 是通过与细胞膜磷脂结合, 干扰膜功能而逆转 MDR。因此, BBI 作用机理既可能与钙通道阻滞、对抗与药物结合和向细胞外转运有关, 又与干扰细胞膜功能有关。

3.1.2 川芎 川芎嗪 (Tetramethylpyrazine, TMP) 是其主要有有效成分之一, 已证实其具有钙通道阻滞活性。许多实验表明, TMP 是一种低毒肿瘤多药耐药逆转剂。谢佐福等^[32] 研究结果表明, 单独 TMP 对 K562 和 K562/Adr 细胞 DNA 合成的抑制很小, 但 TMP 能增强 K562/Adr 对 ADR 敏感性, 而对 K562 影响不大。联合应用时则能显著提高 DNA 合成抑制率, 推测 TMP 可能具有协同抑制核苷酸还原酶作用。胡艳平等^[33] 研究结果显示, TMP 与 ADR 合用后能显著增加 ADR 细胞毒作用, 部分纠正 EAC/Adr 抗药性, 王庆端等实验证明^[34], TMP 与 ADR 合用时对 EAC/Adr 细胞具有明显生长抑制效果, TMP 与 ADR 合用能明显降低 EAC/Adr 内 GSTH-Px 活性, 认为 TMP 降低 EAC/Adr 内 GSH-Px 活性可能是其逆转肿瘤耐药性机制之一。梁蓉等以 MTT 法发现^[35], 100 mg/L TMP 和 3.2 mg/L CsA 均能降低耐三杉酯碱 (HT) 的 HL60/HT 细胞的 IC₅₀, 它们联合应用时作用更明显。进一步实验发现^[36], TMP 对具有 MDR 表型

的 HL60/VCR 细胞株也有明显逆转作用。增敏效果比较, 1.0 mg/L VRP > 320mg/L TMP > 0.32 mg/L VRP。不同化疗药物、不同药物耐药倍数导致逆转效率不同, TMP 对 VCR 的逆转效果较好, 对 DNR 较差。张振玉等^[37] 实验显示, TMP 对人胃癌低分化腺癌 MKN45 也有直接杀伤作用, 而与化疗药物合用时, 有明显增效作用。

TMP 与 BBI 一样是一种较弱的钙通道拮抗剂, 它主要通过和细胞 Pgp 上某些药物受体结合, 充当 Pgp 竞争性底物, 减少药物外排, 增加细胞内药物积聚, 并可抑制 PKC 活性, 下调 *mdr₁* mRNA 表达水平。TMP 和 BBI 毒性大大低于 VRP 等西药, 具有良好开发价值和临床应用前景。

3.1.3 贝母 中医学认为, 痰在肿瘤形成机理中占有重要地位。北京中医药大学胡凯文、陈信义等以此为理论依据, 从化痰中药里筛选 MDR 逆转剂。胡凯文等^[38] 首次发现, 贝母甲素 (PM1) 和贝母乙素 (PM2) 在无细胞毒剂量下, 具有明显多药耐药逆转活性。实验表明^[39], 浙贝母碱在体外对 ADR 杀伤敏感细胞影响较小, 而对 ADR 杀伤 MDR 细胞具有明显增敏作用, 对 K562/AO2 和 HL-60/ADR 逆转倍数分别为 5.7 和 5.6。其主要机制是浙贝母碱增加了 DNR 在耐药白血病细胞内蓄积水平, 可使部分细胞耐药性得到纠正。我院侯丽等研究发现, PM1、PM2 对 KB_{v200} 逆转倍数分别为 2.6、3.2, 并有剂量依赖关系。研究生李柏等实验研究也证明, PM2 可

显著提高血液系统肿瘤患者骨髓单个核细胞内化疗药物浓度, 但不同细胞亚群反应稍有不同, 对 AN-LL、CMML 作用较强, 而对于 MM 患者作用较弱。当与 VRP 伍用时, 可使 VCR 对 KB_{v200} 的杀伤作用明显提高, 表现出协同增敏作用。在化学结构上, PM1、PM2 属于异甾类生物碱中的瑟文类生物碱, 不同于钙离子拮抗剂、免疫抑制剂和其它现有耐药逆转剂, 进一步研究将具有重大的基础和应用价值。

3.1.4 茶叶 有人对茶叶提取物进行了大量实验研究, 证明其有一定的体外抑瘤活性, 也能提高机体免疫功能及抵抗多药耐药效应。潘宏铭等^[40] 体外实验证实, 茶多酚复合体 (TP) 对 SW1116/ADR 具有逆转作用。与 VRP 比较, 茶多酚复合体对 ADR、表阿霉素 (EPI)、柔红霉素 (DNR)、VCR 四种化疗药物的增敏效果较差, 而对 HHT、鬼臼异叉甙 (VP16)、米托蒽醌 (Mito) 的增敏作用较好。TP 与 ADR 合用时移植瘤抑制显著强于单用 ADR。尽管 TP 的体外逆转作用不如 VRP, 但它是一种纯天然提取物, 且 TP 可提高机体外周血白细胞, 增强机体免疫功能^[41]。因此, TP 在临床治疗中仍将具有良好临床应用前景。

3.1.5 雄黄 中药雄黄主要成分为硫化砷。有研究表明, 它对化疗药物耐药复发的急性早幼粒细胞白血病 (APL) 仍然有效, 且有诱导细胞凋亡作用^[42]。张晨等^[43] 采用 K562 细胞株及相应耐 ADR 瘤株 K562/ADR 为模型, 观察了雄黄与化疗药物协同作用。尽管肿瘤细胞

Bcl-2 和 Pgp 均呈高表达,但对雄黄无明显抗药性,经加用雄黄后,细胞摄取 DNR 量显著增加,并可使 Bcl-2 和 Pgp 阳性表达率显著下调,提示雄黄也是一种良好的多药耐药逆转剂。

3.1.6 其它 胡凯文、陈信义实验研究证实,多数中药皂甙,如黄芩甙、栀子甙、芦荟甙、酸枣仁甙、三七甙、芍药甙和人参甙等,在常规剂量下体外对耐药和敏感株不具备杀伤活性,而部分具备极低逆转活性。而大黄酸、大黄素虽无逆转活性,但在体内完全能达到的浓度下,对耐药和敏感株均有很强杀伤效果,且对耐药株作用更强。同属钙离子拮抗剂的盐酸水苏碱、苦参碱却无逆转活性。这一结果提示,钙离子拮抗剂逆转机理非常复杂。有人也曾筛选了多种具有钙通道阻滞剂(CCB)作用的中药单体,发现大多数中药 CCB 多有增效作用,如莲心碱、左旋四氢巴马汀和人参皂甙在 VCR 对 BEL-7402 细胞增效作用也较明显,逆转倍数达 8.6 以上,而延胡索乙素 8.9 倍、小檗碱 8.3 倍、巴马汀 4.5 倍、丹皮酚 2.9 倍的逆转倍数也非常可喜。

也有人从预防 MDR 产生的角度,研究中药单体与肿瘤 MDR 关系。王宝成报道,榄香烯乳剂对耐药 BEL-7402/DOX 细胞株仍有较强杀伤作用,而且经榄香烯乳剂长期作用,也不能诱导出 BEL-7402 细胞的 mdr_1 mRNA 及 Pgp 表达。

3.2 中药复方 中药复方多由天然中草药组成,具有毒副作用小,作用广泛等特点。因此,以中药复

方为对象筛选低毒、高效的逆转剂可能是一种行之有效的途径。

3.2.1 复方 R_1 张文卿等^[44]以 MTT 法粗略证实中药 R_1 (由川芎、莪术、鸡血藤等活血化瘀药提取液组成)能增加 ADR 对耐药细胞 MCF-7/adr 的细胞毒性,克服其对 ADR 耐受性,而对 MCF-7 影响较小。认为 R_1 是通过增加细胞内 ADR 含量及其滞留时间,减慢抗癌药物外排而达到治疗效应。应用识别 Pgp 膜内特异抗原决定簇的 MoAbC₂₁₉ 进行免疫细胞化学分析证明, MCF-7/adr 阳性率为 100%,而用 R_1 培养后, Pgp 表达下降。进一步用 Western blot 检测也证明^[45], R_1 可使 MCF-7/adr 细胞 mdr_1 mRNA 表达下降,但超过 1:90 时 R_1 对耐药细胞 mdr_1 mRNA 表达影响程度达稳定状态。因此, R_1 逆转机制之一可能从转录和翻译水平影响了基因表达。

3.2.2 复方 R_3 刘叙仪等^[46]从中药补骨脂中抽提出 R_3 ,实验证实该单味药多成分复方也有逆转 MDR 作用,在 1:30 无细胞毒浓度下的 R_3 能使 MCF-7/adr 对 ADR 敏感性增加 720 倍,并与 VRP 有协同作用。同样 R_3 也能增加 Rho-123 在耐药细胞内浓度,可抑制 Pgp 表达。补骨脂是一种常用补肾中药,毒性很低,其既有单独逆转 MDR 活性,又能与 VRP 协同调控 MDR,值得进一步研究。

尽管中医药在逆转剂方面取得了不少成绩,但也存在许多不足,如药物谱窄,仅有少数几种单味中

药或中药复方;尚无相应系统理论总结,筛选缺乏针对性;逆转作用靶点较单一,主要集中在 GST 及其相关酶活性和 Pgp 表达上;逆转作用机制尚不明确,尤其是分子机理上缺乏深入研究,也无相应理论支持。这主要由于中医药界从事逆转剂研究起步晚,技术力量不足所致。随着临床与实验研究资料积累、血清药理学、生物信息学、生物芯片技术等相关生命科学理论与技术发展,中医药一定能在逆转 MDR 方面做出自己的贡献。

参考文献

- [1] Chevillard S, Pouillart P, Beldjord C, et al. Sequential assessment of multidrug resistance-phenotype and measurement of Sphase fraction as predictive markers of breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*, 1996, 77: 292.
- [2] Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistance human lung cancer cell line. *Science*, 1992, 258: 1650.
- [3] Versantoot CHM, Withoff S, Broxterman HJ, et al. Resistance associated factor in human-small-cellung-carcinoma GLC4 sublines with increasing adriamycin resistance. *Int J Cancer*, 1995, 61: 375.
- [4] Zamam GJR, Flens MJ, Vanleusden MR, et al. The human multidrug resistance-associated protein MRP is a plasma membrane drug-efflux pump. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91: 8822.
- [5] Brock DR, Hipfner BS, Nielsen PB et al. Sequential coexpression of the multidrug resistance genes MRP-and mdr_1 and their products in Vp-(Etoposide)-selected H69 small cell lung cancer cells. *Cancer Res*, 1995, 55: 459.
- [6] Versantvoort CHM, Broxterman HJ, Bagrij T, et al. Regulation by glutathione of drug transport in multidrug-resistance human lung tumor cell lines overexpression of multidrug resistance - asso-

- ciated protein. *Br J Cancer*, 1995, 72: 89.
- [7] Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Overexpression of a M (r) 110, 000 vesicular in non-p-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res*, 1993, 53: 1475 - 1481.
- [8] Wang JC. Recent studies of DNA topoisomerases. *Biochem Biophys Acta*, 1987, 909: 1.
- [9] 白海, 达万明. 肿瘤多药耐药及其逆转的研究. 西北国防医学杂志, 1998, 19 (2): 156 - 157.
- [10] D. R. Ferry Testing the role of P-glycoprotein expression in clinical trials applying pharmacological principles and best methods for detection together with good clinical trials methodology. *Int. J. of clinical Pharmacology and therapeutics*. 1998, 36 (1): 29 - 40.
- [11] 李丽, 张立杰, 李晓莉, 等. 肿瘤患者外周血多药耐药基因表达的临床意义. 实用肿瘤学杂志, 1999, 13 (1): 36 - 37.
- [12] Nooter K, Mulder. NH, Smith AJ, et al. Expression of the MRP gene in human cancers. *Clin Cancer Res*, 1995, 1: 1301.
- [13] Herman Burger, Kees Nooter, Guido J. R. Zaman, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in acute and chronic leukemia. *Leukemia*, 1997, 8: 990 - 997.
- [14] Erasmus Schneider, Kenneth H, Cowan, et al. Increased expression of the multidrug resistance-associated protein gene in replased acute leukemia. *Blood*. 1995, 85: 186 - 193.
- [15] James Beck, Dietrich Niethammer, Volker Gekeler. High mdrl- and MRP-, but low topoisomerase II-gene expression in B-cell chronic lymphocytic leukemias. *Cancer Lett*, 1994, 86 (1): 135 - 142.
- [16] 王福旭, 董作仁, 罗建民, 等. 急性白血病患者多药耐药相关蛋白基因表达及临床意义. 中华血液学杂志, 1998, 19 (2): 63 - 66.
- [17] 陈金联, 吴云林, 周同, 等. 多药耐药相关蛋白在胃癌中表达的意义. 上海第二医科大学学报, 1997, 17 (4): 247 - 250.
- [18] 陈忠, 章永裳, 李家贵, 等. 多药耐药相关蛋白及 P-糖蛋白在膀胱癌中表达的意义. 中华泌尿外科杂志, 1998, 19 (7): 394 - 396.
- [19] Bleloo Mirakhur, Hemant K Parekh, and Henry Simplins. Expression of the cisplatin resistance phenotype in a human ovarian carcinoma cell line segregates with chromosomes 11 and 16. *Cancer Res*, 1996, 56 (10): 2256 - 2262.
- [20] Izquierdo MA., Van der Zee AGJ., et al. Drug resistance - associated marker LRP for prediction of response to chemotherapy and progress in advanced ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1995, 87: 1230 - 1235.
- [21] Hiroshi Uozaki, M. D. Hajime Horiuchi, M. D. Tsuyoshoshi Ishida, et al. Overexpression of resistance-related proteins (Matallothioneins, Glutathione-Stransferease, Heat shock protein27, and Lung resistance-related protein) in osteosarcoma. *Cancer*, 1997, 79: 2336 - 2344.
- [22] Schadendorf D, Makki A, Stahr C, et al. Membrane transport protein associated with drug resistance expressed in human melanoma. *Am J Pathol*, 1995, 147 (6): 1545 - 1549.
- [23] 许文林, 敖其芳, 陈玉心, 等. 汉防己甲素对柔红霉素和长春新碱增效作用的实验研究. 中华血液学杂志, 1994, 15: 256 - 257.
- [24] 夏薇, 敖忠芳, 朱广荣. 一种有效的肿瘤耐药逆转剂——汉防己甲素逆转白血病耐药细胞的实验研究. 南京医科大学学报, 1995, 15: 543 - 546.
- [25] 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: 1901 - 1904.
- [26] 敖忠芳, 夏薇. 汉防己甲素逆转白血病细胞耐药的研究. 中华血液学杂志, 1995, 16: 235 - 237.
- [27] 叶祖光, 孙爱续, 李兰芳, 等. 汉防己甲素对阿霉素或长春新碱耐药株人癌细胞的逆转抗药性作用. 中国中药杂志, 1996, 21: 369 - 371.
- [28] HE QY, MENG FH, ZHANG HQ. Reduction of doxorubicin resistance by tetrandrine and dauricine in harringtonine - resistant human leukemia (HL-60) cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1996, 17: 179 - 181.
- [29] 田晖, 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. 癌症, 1996, 6: 410 - 413.
- [30] 叶祖光, 孙爱续, 李春英, 等. 双苄基异喹啉化合物对阿霉素或长春新碱耐药株人癌细胞的逆转抗药性作用. 中国中药杂志, 1998, 23: 427 - 428.
- [31] Shiraishi N, Akayama S, Nakagawa M, et al. Effect of bisbenzylisoquinoline (biscoclaurine) alkaloids on multidrug resistance in KB human cancer cells. *Cancer Res*, 1987, 47: 2413 - 2416.
- [32] 谢佐福, 沈世仁. 川芎嗪和羟基脲对阿霉素 K562 细胞株 DNA 合成的影响. 中华医学杂志, 1993, 9: 559.
- [33] 胡艳平, 刘健, 王庆端, 等. 川芎嗪和维拉帕米纠正阿霉素对小鼠艾氏腹水瘤的抗药性. 药学报, 1993, 28 (1): 75 - 78.
- [34] 王庆端, 江金花, 孙文欣, 等. 川芎嗪逆转肿瘤抗药性与谷胱甘肽过氧化物酶的关系. 河南医科大学学报, 1997, 4: 50 - 52.
- [35] 梁蓉, 杨平地, 陈协群. 川芎嗪和(或)环孢素 A 对 HL-60/HT 细胞耐药的逆转. 中华内科杂志, 1999, 4: 260 - 261.
- [36] 梁蓉, 杨平地, 陈协群, 等. 川芎嗪对白血病 HL-60/VCR 细胞多药耐药的逆转及其机制研究. 中华血液学杂志, 1999, 6: 323 - 324.
- [37] 张振玉, 王崇文, 祝金泉, 等. 川芎嗪及联用化疗药物对胃癌细胞杀伤作用的研究. 中国现代医学杂志, 1999, 1: 68 - 69.
- [38] 胡凯文, 陈信义. 中药活性成分抗耐药肿瘤细胞体外筛选研究. 中国医药学报, 1998, 2: 10 - 12.
- [39] 胡凯文, 郑洪霞, 齐静, 等. 浙贝母碱逆转白血病细胞多药耐药的研究. 中华血液学杂志, 1999, 12: 650 - 651.
- [40] 潘宏铭, 胡汛, 吴金民, 等. 大肠癌抗多药性细胞株的建立及茶多酚复合体的逆转作用研究. 肿瘤. 1997, 4: 213 - 216.
- [41] 胡先珍, 张友会. 绿茶儿茶素对小鼠细胞免疫功能的增强作用. 中华微生物学和免疫杂志, 1991, 11 (2): 9.
- [42] 白月辉, 黄世林. 雄黄对 NB4 及 HL-60 细胞的促凋亡作用. 中华血液学杂志, 1998, 19: 477 - 480.

草珊瑚及同种植物的研究进展

□ 刘爱华* 罗永明 林燕华 (江西中医学院 江西 南昌 330006)

关键词 草珊瑚 生药学 化学成分 药理作用 临床应用 综述

草珊瑚又名九节茶, 出《生草药性备要》, 别名肿节风、接骨金粟兰、接骨木, 为金粟兰科 (Chloranthaceae) 植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb) Nakai 的全株。多为全草入药。草珊瑚属植物主要分布于浙江、安徽、广东、广西、云南、江西、福建、台湾、湖南、四川等地。其味辛、苦, 性平, 有小毒, 具有清热、祛风、抗癌、活血化瘀、接骨、止痛等作用, 临床主要用于感冒、肺热咳嗽、痢疾、泄泻、肠痈、疮疡肿

毒、跌打损伤、骨折、风湿痹痛以及癌症等疾病的治疗。近年来, 草珊瑚已被研制开发出一系列药品和保健食品, 在临床上得到了广泛的应用。本文根据国内外几十年的研究, 从生药学、化学成分、药理作用及临床应用等方面作一综述。

1 生药学研究

草珊瑚属包括 2 种和 2 变种, 其中 2 种为: 草珊瑚 (*Sarcandra glabra*)、海南草珊瑚 (*Sarcandra hainanensis*); 2 变种

为: 屏边草珊瑚 [*S. hainanensis* (Pei) Swang et Bailey var *Pingbianensis* C. Z. Qiao et Q. H. Zhang]、陵水草珊瑚 [*S. Hainanensis* (Pei) Swang et Bailey var. *lingshuinensis* C. Z. Qiao et Q. H. Zhang] [1]。

1.1 植物形态 草珊瑚为常绿半灌木, 高 30~140cm。根褐色、味芳香, 茎直立, 多分枝, 节膨大, 节间有明显的纵沟纹。叶革质, 卵型或卵状披针形, 对生, 边缘具粗锯齿, 齿端有 1 腺体, 雄蕊 1, 药隔棒状肉质。核果球形, 成熟时鲜红色。多生于山谷、山坡、林下阴

* 作者简介 刘爱华, 女, 江西中医学院 2000 级硕士研究生。

[43] 张晨, 黄世林. 雄黄抗白血病细胞多药耐药及其凋亡诱导关系的研究. 中国中医基础医学杂志, 1999, 12: 41-42.
[44] 张文卿, 刘叙仪, 刘海英, 等. 中药 R₁ 对耐阿霉素乳腺癌细胞系 (MCF₇^{ADR})

多药耐受的逆转作用. 中药药理与临床, 1994 (5): 16-21.
[45] 张文卿, 刘叙仪, 韩复生, 等. 中药 R₁ 对耐阿霉素乳腺癌细胞 P 糖蛋白表达的影响. 中药药理与临床, 1996 (1): 18-21.

[46] 刘叙仪, 孟松娘, 杨敬贤, 等. 中药 R₃ 对耐阿霉素乳腺癌细胞 (MCF₇^{ADR}) 多药耐药的逆转. 中国肿瘤临床, 1997, 24: 325-330.