

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.06.012

· 基础研究 ·

rSIFN-co 对乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞增殖、凋亡和表柔比星耐药性的影响

郑洁^{1,2}, 吕青²(1. 上海中医药大学附属曙光医院 乳腺外科, 上海 201203; 2. 四川大学附属华西医院 甲状腺乳腺科, 四川 成都 610041)

[摘要] **目的:**观察重组复合高效干扰素(recombinant super-compound interferon, rSIFN-co)在体外对多药耐药(multi-drug resistance, MDR)的人乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞的增殖、凋亡和表柔比星耐药性的影响,并探讨其可能的作用机制。**方法:**分别使用 rSIFN-co、表柔比星及 rSIFN-co 联合表柔比星处理 MCF-7/ADR 细胞,以 MCF-7 细胞作为对照,MTT 法和流式细胞术分别检测 rSIFN-co 对 MCF-7/ADR 细胞增殖、凋亡的影响,免疫细胞化学方法检测 rSIFN-co 对 MCF-7/ADR 细胞中 P-gp 表达水平的影响。**结果:**各组药物作用 24 h 后,0.078 μg/ml rSIFN-co 单独作用和 0.02 μg/ml rSIFN-co 联合 15.00 μg/ml 表柔比星对 MCF-7/ADR 细胞体外生长的抑制率即显著高于 100.00 g/ml 的表柔比星[(29.7 ± 1.4)%、(23.0 ± 2.1)% vs (17.1 ± 1.5)% ,均 $P < 0.01$],各组药物对 MCF-7/ADR 细胞的抑制率呈时间、浓度依赖性;rSIFN-co 联合表柔比星作用 72 h 后表现出协同作用。表柔比星作用 24 h 后, MCF-7/ADR 细胞凋亡率与对照组相比无显著变化($P > 0.05$);而 rSIFN-co 单独或联合表柔比星作用 24 h 后,凋亡率即较单用表柔比星组显著增加[(35.37 ± 1.40)%、(61.37 ± 1.76)% vs (9.80 ± 1.66)% ,均 $P < 0.01$],其促凋亡的作用呈时间依赖性;并且 rSIFN-co 与表柔比星具有协同作用。表柔比星组 P-gp 的表达较对照组显著升高[(4.17 ± 0.0252) vs (3.94 ± 0.0088) , $P < 0.01$], rSIFN-co 组与联合组 P-gp 的表达均显著下调[(2.59 ± 0.0260)、(2.62 ± 0.0100) vs (3.94 ± 0.0088) ,均 $P < 0.01$];联合组与单用 rSIFN-co 相比无显著差异($P = 0.948$)。**结论:** rSIFN-co 能够抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖并促进其凋亡,同时可能通过下调 P-gp 蛋白的表达来增加其对表柔比星的敏感性。

[关键词] 复合高效干扰素;乳腺癌;增殖;凋亡;表柔比星;多药耐药

[中图分类号] R737.9;R730.54; R730.53 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)06-0700-06

Effect of recombinant super-compound interferon on proliferation, apoptosis and resistance to epirubicin of human breast cancer cell MCF-7/ADR

Zheng Jie^{1,2}, Lv Qing²(1. Department of Breast Surgery, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Department of Thyroid and Breast Surgery, West China Hospital Affiliated to Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:**To observe the effect of recombinant super-compound interferon (rSIFN-co) on the proliferation, apoptosis and resistance to epirubicin of human breast cancer MCF-7/ADR cells (a multi-drug resistance [MDR] strain), and to investigate the possible mechanism. **Methods:** MCF-7/ADR cells were treated with rSIFN-co, epirubicin alone or combination, and the MCF-7 cells were used as control. MTT assay and flow cytometry were performed to detect the effect of rSIFN-co on the proliferation and apoptosis of MCF-7/ADR cells, respectively. Immunohistochemical staining was used to detect the influence of rSIFN-co on the P-gp expression level in MCF-7/ADR cells. **Results:** After treated by different drugs for 24 h, the growth inhibition rate of MCF-7/ADR cells treated by 0.078 μg/ml rSIFN-co or 0.02 μg/ml rSIFN-co combined with 15.00 μg/ml epirubicin was significantly higher than that treated by 100.00 μg/ml epirubicin ([29.7 ± 1.4]% , [23.0 ± 2.1]% vs [17.1 ± 1.5]% ; all $P < 0.01$). The inhibition effect of each drug had a dose and time dependence. Synergistic effect of rSIFN-co with epirubicin was also observed after being treated for 72 h. Epirubicin showed no significant effect on MCF-7/ADR cells' apoptosis after treated for 24 h ($P > 0.05$); however, use of

[基金项目] 四川省科技攻关计划课题资助项目(No. 0040205301164)。Project supported by the Science and Technology Project of Sichuan Province(No. 0040205301164)

[作者简介] 郑洁(1983 -),女,浙江省金华市人,硕士,主要从事乳腺外科、乳腺肿瘤临床及基础研究。E-mail: shuiply@sina.com

[通信作者] 吕青(Lv Qing, corresponding author), E-mail: lqlq1963@163.com

rSIFN-co alone or combined with epirubicin significantly enhanced the apoptosis rate than did epirubicin alone after 24 h ($[35.37 \pm 1.40]\%$, $[61.37 \pm 1.76]\%$ vs $[9.80 \pm 1.66]\%$; all $P < 0.01$), and the effects on cell apoptosis had a time dependence ($P < 0.01$); and the synergistic effect of rSIFN-co with epirubicin was also observed. Compared with the control group (3.94 ± 0.0088), the P-gp expression was increased in the epirubicin group (4.17 ± 0.0252 , $P < 0.01$), but decreased in rSIFN-co group (2.59 ± 0.0260 , $P < 0.01$) and the combined group (2.62 ± 0.0100 , $P < 0.01$). There was no significant difference between the combined group and rSIFN-co group in P-gp expression ($P = 0.948$).

Conclusion: rSIFN-co can inhibit cell growth, induce cell apoptosis of human breast cancer MCF-7/ADR cells, and reverse the multi-drug resistance by decreasing the expression of P-gp.

[**Key words**] recombinant super-compound interferon (rSIFN-co); breast cancer; proliferation; apoptosis; epirubicin; multi-drug resistance

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(6): 700-705]

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,现已跃居女性恶性肿瘤发病率之首^[1]。化疗在乳腺癌的综合治疗中起着不可替代的作用,但仍有不少患者因化疗失败而死于肿瘤的复发和转移。肿瘤多药耐药(multi-drug resistance, MDR)是导致乳腺癌化疗失败的最主要原因之一,高表达多药耐药基因 *mdr-1* 编码的 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)被认为是 MDR 形成的最主要的原因之一^[2]。P-gp 是能量依赖性的“药物泵”,可将细胞内药物主动泵出胞外而引起耐药^[3]。重组复合高效干扰素(recombinant super-compound interferon, rSIFN-co)是具有我国自主知识产权的一种新型基因工程干扰素,本课题组在测定和比较 22 种天然人体干扰素(包括 INF- $\alpha/\beta/\omega$ 等)的多肽链氨基酸序列及其活性单位结构的基础上,设计并全人工合成了基因序列,采用全新的纯化工艺,改变其编码蛋白的空间构象,使 rSIFN-co 不仅具有抗肿瘤作用,而且还有化疗增敏作用^[4]。本研究选择由多柔比星诱导的、对蒽环类和长春新碱类药物表现 MDR 的乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞为研究对象,检测 rSIFN-co 在体外对 MCF-7/ADR 细胞的增殖、凋亡、P-gp 表达及耐药性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人乳腺癌 MCF-7 细胞由四川大学基础医学院免疫学教研室提供,人乳腺癌多柔比星耐药株 MCF-7/ADR 细胞由四川大学华西医院移植免疫实验室提供。rSIFN-co 购自四川省生物工程研究中心,盐酸表柔比星购自浙江海正药业股份有限公司,新生小牛血清购自郑州佰安生物工程有限公司,胰岛素与 AnnexinV 凋亡检测试剂盒均购自美国 BD 公司,鼠抗人 P-glycoprotein 单克隆抗体、SABC 免疫组化试剂盒与 DAB 显色剂均购自武汉博士德生物工程

有限公司。流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.2 细胞培养

MCF-7 细胞及 MCF-7/ADR 细胞分别培养于 25 cm² 和 75 cm² 培养瓶中,加 5 ml 和 15 ml 含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液。MCF-7/ADR 细胞培养液中含终质量浓度为 12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的表柔比星,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 孵箱中孵育,每 2~3 d 更换 1 次培养液。细胞长满瓶底后,以 0.25% 胰酶消化传代,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT 法检测 rSIFN-co 对 MCF-7/ADR 细胞增殖的影响

按加入的药品将 MCF-7 细胞及 MCF-7/ADR 细胞各分四组:rSIFN-co 组、rSIFN-co + 表柔比星组、表柔比星组、空白对照组(仅 RPMI 1640 培养液)。各组加药浓度详见表 1。

取对数生长期的 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞,用 RPMI 1640 培养液配制成 1.25×10^5 个/ml 的细胞悬液,锥虫蓝染色法测细胞活率 > 95%,将细胞接种于 96 孔培养板上,每孔 100 μl 。空白对照组细胞加入等体积 RPMI 1640 培养液,实验组单用及联合使用不同浓度 rSIFN-co 和表柔比星,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中分别培养 24、48、72 h,加入 MTT(10 mg/ml)10 μl /孔,轻摇混匀继续孵育 4 h,加入 DMSO 100 μl /孔,震荡 10 min 使紫色结晶充分溶解。在酶联免疫分析仪上检测波长 490 nm 处的光密度(D)值。每组设 2 个复孔。以上实验重复 3 次。细胞的生长抑制率(%) = $(D_{\text{对照组}} - D_{\text{实验组}}) / D_{\text{对照组}} \times 100\%$;使用金氏公式计算 q 值, $q \text{ 值} = D_1 + 2 / (D_1 + D_2 - D_1 \times D_2)$ (其中 $D_1 + 2$ 为两药合用的抑制率, D_1 、 D_2 分别为两药单用的抑制率),用来评价 rSIFN-co 与表柔比星联合应用时的协同作用(当 q 值大于 1.15 表示有协同作用,小于 0.85 表示拮抗作用,在 0.85~1.15 之间表示有相加作用)。

表 1 rSIFN-co 对肿瘤细胞作用的实验设计[$\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$]

Tab.1 Experimental design of influence of rSIFN-co on tumor cells [$\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$]

| Group | MCF-7 | MCF-7/ADR |
|-----------------------|---------------|------------|
| rSIFN-co | 0.02 | 0.02 |
| | 0.078 | 0.078 |
| | 0.313 | 0.313 |
| | 1.25 | 1.25 |
| | 5 | 5 |
| rSIFN-co + Epirubicin | 0.02 + 0.125 | 0.02 + 15 |
| | 0.078 + 0.125 | 0.078 + 15 |
| | 0.313 + 0.125 | 0.313 + 15 |
| | 1.25 + 0.125 | 1.25 + 15 |
| | 5 + 0.125 | 5 + 15 |
| Epirubicin | 0.008 | 15 |
| | 0.031 | 20 |
| | 0.125 | 50 |
| | 0.5 | 80 |
| | 2 | 100 |
| Control | RPMI 1640 | RPMI 1640 |

1.4 流式细胞术检测 rSIFN-co 对 MCF-7/ADR 细胞凋亡的影响

MCF-7/ADR 分别加入 rSIFN-co (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、rSIFN-co (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + 表柔比星 (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、表柔比星 (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 及 10% 小牛血清 RPMI 1640 培养液, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 24、48、72 h, 收集各组细胞, 制成单细胞悬液。加入 2 μl Annexin-V-FITC (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 轻轻混匀, 避光、冰上放置 15 min。加入 400 μl PBS。上机前加入 1 μl 碘化丙啶 (PI, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 2 min 后迅速检测, 以不加 Annexin V-FITC 及 PI 的细胞作为阴性对照, 用随机所附软件对测量值进行分析。实验重复 3 次。

1.5 免疫细胞化学方法检测 rSIFN-co 对 MCF-7/ADR 细胞 P-gp 表达的影响

取对数期生长的 MCF-7/ADR 细胞制备细胞爬片, 用 0.25% 胰酶消化成单细胞悬液, 接种至预先放置了盖玻片的 6 孔板中, 每孔 1×10^5 个细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱培养 24 h, 待细胞贴壁后

分别加入 rSIFN-co (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、表柔比星 (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 和 rSIFN-co (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + 表柔比星 (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 对照组加入含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液。处理 48 h 后, 取出盖玻片, 洗涤、固定、烘干。用 3% H_2O_2 室温孵育 30 min 灭活内源性过氧化物酶, PBS 洗 3 次, 10% 山羊血清 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h, 依次加入 30 ~ 50 μl 鼠抗人 P-gp 单抗 (1:100)、羊抗鼠 IgG 二抗和 SABC 液。DAB 显色、苏木精复染、自来水冲洗 30 min 反蓝、脱水、透明、封片, 于显微镜下观察。

染色结果判定参照 Volm 等^[5]的方法, 以细胞膜出现黄色或棕黄色颗粒者为阳性, 高倍镜 (200 \times) 下对每张玻片随机选取 5 个视野, 每个视野计数 200 个细胞。每组细胞的表达情况由以下两个方面共同决定: (1) 阳性染色深度, 按每个细胞着色深浅计分, 无着色计 0 分, 浅黄色计 1 分, 棕黄色计 2 分, 棕褐色计 3 分, 其平均值即为该组细胞的平均染色深度; (2) 阳性细胞百分比, 未见染色细胞为 0 分, 染色细胞 < 25% 为 1 分, 25% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分。(1) + (2) 的总分: 得分 0 ~ 2 分判为表达阴性, 2 ~ 4 分判为阳性, 4 ~ 6 分判为强阳性。使用双盲法评分 (染色者及观察者均不知玻片分组情况)。

1.6 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件分析, 采用 *t* 检验、方差分析、相关分析的方法分析数据, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 rSIFN-co 抑制 MCF-7/ADR 细胞增殖并且与表柔比星具有协同作用

MTT 结果 (表 2) 显示, 各组药物作用 24 h 后, 0.078 $\mu\text{g}/\text{ml}$ rSIFN-co (单独) 和 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ rSIFN-co 联合 15.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Epirubicin 对 MCF-7/ADR 细胞体外生长的抑制率即显著高于 100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的表柔比星 [(29.7 \pm 1.4)%、(23.0 \pm 2.1)% vs (17.1 \pm 1.5)%], $P < 0.01$, 各组药物对 MCF-7/ADR 细胞的抑制率呈时间、浓度依赖性。

不同浓度 rSIFN-co 与表柔比星合用的抑制率均大于两药相应浓度单独使用的抑制率, 并随着时间的延长协同作用增强, 作用 72 h 后各浓度 *q* 值均 > 1.15 (表 3), 表明两药合用对 MCF-7/ADR 细胞体外杀伤具有协同作用。

表 2 rSIFN-co、表柔比星单用或联合应用对 MCF-7/ADR 细胞生长的抑制率

Tab. 2 Inhibition rate of MCF-7/ADR cells treated with rSIFN-co, epirubicin alone or in combination

| Group | Dose [$\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$] | Inhibition rate (%) | | | P |
|-----------------------|--|---------------------|--------------|--------------|-------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h | |
| rsIFN-co | 0.02 | 16.2 ± 2.3 | 34.2 ± 1.8 | 34.8 ± 1.4 | 0.023 |
| | 0.078 | 29.7 ± 1.4** | 33.9 ± 1.4 | 48.7 ± 1.0 | 0.000 |
| | 0.312 | 33.5 ± 1.0** | 41.5 ± 5.3** | 47.7 ± 0.4 | 0.000 |
| | 1.25 | 38.8 ± 2.2** | 52.5 ± 0.7** | 52.7 ± 1.0 | 0.023 |
| | 5.0 | 48.4 ± 6.5** | 67.7 ± 4.4** | 69.4 ± 1.0** | 0.000 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | |
| Epirubicin | 15.0 | 3.8 ± 0.6 | 11.0 ± 1.2 | 15.3 ± 0.6 | 0.000 |
| | 20.0 | 4.7 ± 2.4 | 15.6 ± 1.5 | 28.6 ± 4.5 | 0.000 |
| | 50.0 | 9.9 ± 1.1 | 11.8 ± 4.70 | 46.6 ± 3.6 | 0.011 |
| | 80.0 | 10.5 ± 0.9 | 34.0 ± 3.6 | 47.4 ± 2.0 | 0.000 |
| | 100.0 | 17.1 ± 1.5 | 34.2 ± 3.8 | 51.6 ± 2.6 | 0.000 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | |
| rsIFN-co + Epirubicin | 0.02 + 15.0 | 23.0 ± 2.1** | 49.5 ± 2.9** | 66.6 ± 5.0** | 0.000 |
| | 0.078 + 15.0 | 34.6 ± 0.3** | 48.5 ± 1.6** | 67.8 ± 1.4** | 0.000 |
| | 0.312 + 15.0 | 37.5 ± 1.5** | 53.3 ± 1.3** | 72.8 ± 3.2** | 0.000 |
| | 1.25 + 15.0 | 43.7 ± 1.7** | 65.3 ± 1.6** | 77.7 ± 2.0** | 0.000 |
| | 5.0 + 15.0 | 54.1 ± 1.5** | 83.3 ± 1.2** | 88.7 ± 1.7** | 0.000 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | |

** P < 0.01 vs 100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Epirubicin group

表 3 rSIFN-co 与表柔比星联合应用对 MCF-7/ADR 细胞的协同作用

Tab. 3 Synergistic effect of rSIFN-co and epirubicin on MCF-7/ADR cells

| Dose [$\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$] | | q value | | |
|--|------------|---------|------|------|
| rsIFN-co | Epirubicin | 24 h | 48 h | 72 h |
| 0.02 | 15.0 | 1.19 | 1.20 | 1.49 |
| 0.078 | 15.0 | 1.07 | 1.18 | 1.20 |
| 0.312 | 15.0 | 1.27 | 1.11 | 1.31 |
| 1.25 | 15.0 | 1.28 | 1.13 | 1.30 |
| 5.0 | 15.0 | 1.35 | 1.17 | 1.20 |

2.2 rSIFN-co 促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡并且与表柔比星具有协同作用

流式细胞术检测结果显示,与空白对照组相比,作用 24、48 h 后,单用 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 表柔比星对 MCF-7/

ADR 细胞凋亡无显著作用($P > 0.05$);作用 72 h 后,其显著促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡[(15.8 ± 1.69)% vs (8.80 ± 0.46)% , $P < 0.01$]。单用 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 rSIFN-co 或联合使用 rSIFN-co + 表柔比星 24 h 后,凋亡率即较单用表柔比星组显著增加 [(35.37 ± 1.40)% 、(61.37 ± 1.76)% vs (9.80 ± 1.66)% ,均 $P < 0.01$],并且其促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡的作用呈时间依赖性(图 1、2)。

rSIFN-co 与表柔比星联合作用 24、48 h 后促进细胞凋亡率的 q 值分别为 1.81、1.20,提示两者具有协同作用;作用 72 h 后 q 值为 1.01,提示两者具有相加作用。

2.3 rSIFN-co 下调 MCF-7/ADR 细胞 P-gp 的表达

免疫细胞化学方法检测结果(图 3)显示,在未处理的对照组 MCF-7/ADR 细胞中,P-gp 呈细胞膜阳性表达。与对照组相比,表柔比星组 P-gp 的表达 [(4.17 ± 0.0252) vs (3.94 ± 0.0088) , $P < 0.01$] 显著升高,rSIFN-co 单用组(2.59 ± 0.0260)与联合组

(2.62 ± 0.0100) P-gp 的表达均显著下调(均 $P < 0.01$)。联合组与单用 rSIFN-co 组比较, P-gp 的表

达无显著差异($P = 0.948$)。

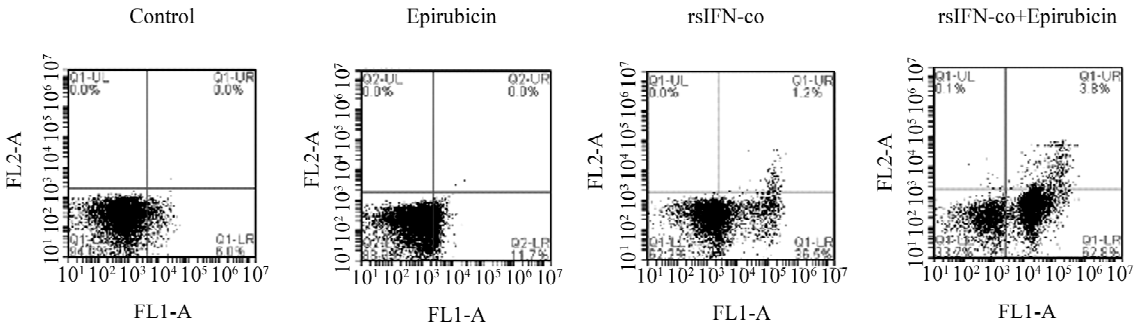


图 1 流式细胞术检测 rsIFN-co 和 Epirubicin 致 MCF-7/ADR 细胞凋亡的作用

Fig. 1 Inducing apoptosis effects of rsIFN-co and Epirubicin on MCF-7/ADR cells detected by flow cytometry

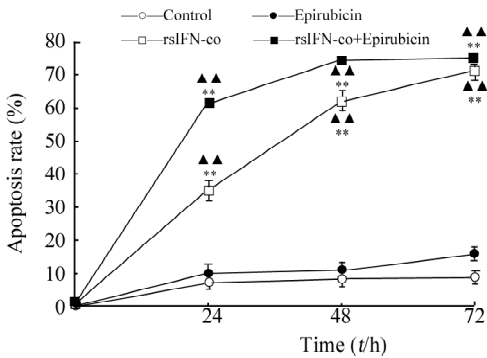


图 2 rsIFN-co 与 Epirubicin 协同促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡

Fig. 2 rsIFN-co and Epirubicin had synergetic effect on the apoptosis of MCF-7/ADR cells

A: Flow cytometry; B: rsIFN-co promoted apoptosis in a time dependent manner

** $P < 0.01$ vs epirubicin group;

▲▲ $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

MDR 是指由一种药物诱发,同时对其他多种结构和作用机制完全不同的药物产生交叉耐药的现象,它涉及多种临床常用抗肿瘤药物,是肿瘤患者化疗失败的重要原因^[6-9]。在大部分难治或复发白血病和部分实体肿瘤(如肺癌、乳腺癌和卵巢癌等)及其转移灶中发现,MDR1 基因以及其编码的 P-gp 表达增加,并且其表达水平与细胞耐药程度相关^[10-11]。本研究结果显示,经表柔比星作用后, MCF-7/ADR 细胞 P-gp 的表达明显升高($P < 0.01$),与龚建平等^[12]报道的经过新辅助化疗后,乳腺癌组织 P-gp 的表达较前明显增高的结果相一致。

克服 MDR 的方法之一是使用逆转剂,使用 MDR 的化学逆转剂、生物逆转剂,在肿瘤耐药性逆转的研究方面已经取得了一定的成果,但多数逆转剂由于毒性反应较大而在临床应用上受到限制^[13]。寻找低毒、有效的 MDR 逆转方法以提高化疗的效果是化疗领域亟待解决的问题。

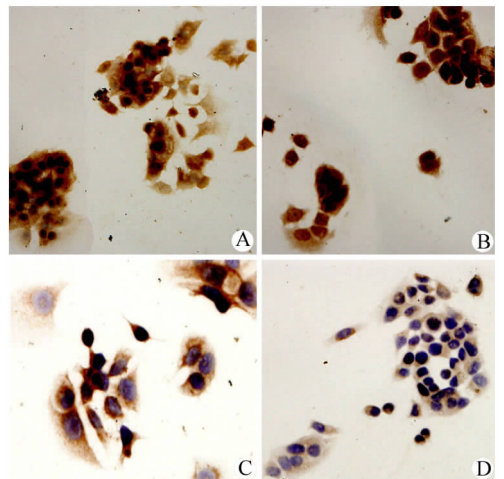


图 3 rsIFN-co 下调 MCF-7/ADR 细胞 P-gp 的表达(×200)

Fig. 3 Expression of P-gp in MCF-7/ADR cells down-regulated by rsIFN-co(×200)

A: Control; B: Epirubicin; C: rsIFN-co;

D: rsIFN-co + Epirubicin

研究^[14-15]发现,IFN 能逆转肿瘤细胞 MDR。史德刚等^[16]研究发现,低浓度 α -IFN 或高浓度的维拉帕米对于 MCF-7/VCR 细胞耐药均有逆转作用。刘顺英等^[17]报道, α -IFN 与经典 MDR 逆转剂异搏定联合应用,有明显的协同逆转作用,可降低异搏定的

使用剂量。并且,IFN 可能通过影响 P-gp 表达、改变其磷酸化程度、抑制 P-gp 功能、增加细胞膜通透性、增强化疗药物与细胞内结合蛋白的亲合力,从而提高细胞内药物浓度、逆转 MDR^[14,18]。对于耐药性骨肉瘤患者,Manara^[19]也主张使用 α -IFN 或 β -IFN 以降低 P-gp 的表达水平,从而改变肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。rSIFN-co 具有比种天然人体 IFN 更强的抗病毒作用和极低的毒性作用,对宫颈癌、卵巢癌及乳腺癌均有生长抑制和促凋亡作用^[20-21]。本研究表明,rSIFN-co 能抑制人乳腺癌多柔比星耐药株 MCF-7/ADR 细胞的增殖,并随着 rSIFN-co 浓度的增加、作用时间的延长,其抑制作用逐渐增加,且与化疗药物表柔比星联用有一定的增敏作用。免疫细胞化学检测发现,经 rSIFN-co 作用后,MCF-7/ADR 细胞 P-gp 的表达显著降低,且 rSIFN-co 协同表柔比星能更明显降低 P-gp 的表达($P < 0.01$)。

本研究初步证实,rSIFN-co 可降低多药耐药乳腺癌细胞 MCF-7/ADR P-gp 的表达,具有化疗增敏作用,但其作用机制仍需进一步研究。并且,对多柔比星类药物明显耐药的 MCF-7/ADR 细胞对 rSIFN-co 极为敏感,这为治疗 MDR 乳腺癌提供了一条新的治疗思路。由于药物在体内的作用受到给药方式、体内分布、肿瘤所在的器官环境等影响,因此有待开展体内试验予以验证,以期更好地抑制乳腺癌细胞、逆转多药耐药、提高化疗敏感性,从而改善复发转移乳腺癌的治疗效果。

[参 考 文 献]

[1] 沈镇宙,邵志敏. 乳腺肿瘤学 [M]. 上海:上海科学技术出版社,2005: 1.

[2] Marzolini C, Paus E, Buclin T, et al. Polymorphisms in human MDR-1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance [J]. Clin Pharmacol Ther, 2004, 75(1): 13-33.

[3] Anthony V, Skach W R. Molecular mechanism of P-glycoprotein assembly into cellular membranes [J]. Curr Protein Pept Sci, 2002, 3(5): 485-501.

[4] 郑洁,吕青 魏大鹏. 重组复合高效干扰素抗人乳腺癌细胞的体外实验研究 [J]. 四川大学学报: 医学版,2010,41(1): 29-34.

[5] Volm M, Koomägi R, Mattern J, et al. Prognostic value of basic fibroblast growth factor and its receptor (FGFR-1) in patients with non-small cell lung carcinomas [J]. Eur J Cancer, 1997, 33

(3): 691-693.

[6] Ferguson LA, Rhoads J. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: The new face of an old disease [J]. J Am Acad Nurse Pract, 2009, 21(11): 603-609.

[7] Gillet JP, Gottesman MM. Mechanisms of multidrug resistance in cancer [J]. Methods Mol Biol, 2010, 596: 47-76.

[8] Lee CH. Reversing agents for ATP-binding cassette drug transporters [J]. Methods Mol Biol, 2010, 596: 325-340.

[9] Coley HM. Overcoming multidrug resistance in cancer: Clinical studies of p-glycoprotein inhibitors [J]. Methods Mol Biol, 2010, 596: 341-358.

[10] Zhou SF. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition [J]. Xenobiotica, 2008, 38(7/8): 802-832.

[11] 龚建平,姚宇锋,唐金海,等. 乳腺癌原发灶和复发灶组织 HR 和 C-erbB-2 及 P-gp 差异性表达的研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志,2012,19(3): 209-211.

[12] 龚建平,姚宇锋,唐金海,等. 术前化疗对乳腺癌组织激素受体及耐药基因蛋白表达的影响 [J]. 中国肿瘤临床,2012,39(23): 1896-1898.

[13] 华英,胡人杰. ATP 结合盒转运蛋白介导的 MDR 逆转剂的实验研究现状 [J]. 天津药学,2006,18(6): 55-59.

[14] 李笑梅,张荣河,陶秀娟. α -干扰素对人乳腺癌细胞多药耐药性的逆转作用研究 [J]. 实用肿瘤学杂志,1999,13(2): 97-98.

[15] 王翠华,徐晓辉,王伟,等. α -干扰素体外逆转乳腺癌细胞多药耐药的研究 [J]. 中国社区医师: 医学专业,2011,13(11): 24.

[16] 史德刚,黄钢,石根明. 维拉帕米和 α -干扰素对 MCF-7/VCR 癌细胞的耐药逆转作用 [J]. 复旦学报: 医学版,2006,33(6): 810-814.

[17] 刘顺英,魏志霞. α -干扰素与异搏定逆转肝癌细胞耐药性的研究 [J]. 中华消化杂志,1999,19(3): 205-207.

[18] 钱钧强,孙蓓. 抗肿瘤药物多药耐药性的研究进展 [J]. 中国肿瘤临床,2011,38(11): 684-687.

[19] Manara MC, Serra M, Benini S, et al. Effectiveness of type I interferons in the treatment of multidrug resistant osteosarcoma cells [J]. Int J Oncol, 2004, 24(2): 365-372.

[20] 陈妍,欧阳运薇,潘小玲,等. 新型重组高效复合干扰素对宫颈癌细胞的生长抑制及促凋亡作用 [J]. 实用妇产科杂志,2009,25(4): 216-219.

[21] 谭秀梅,何凯,高德红,等. 新型重组高效复合干扰素对卵巢癌细胞的生长抑制及促凋亡作用 [J]. 中国性科学,2011,20(8): 5-9.

[收稿日期] 2013 - 07 - 26

[修回日期] 2013 - 10 - 15

[本文编辑] 黄静怡

《 中国肿瘤生物治疗杂志 》 欢迎投稿、欢迎订阅