

· 合理药物治疗 ·

骨化三醇抗肿瘤作用研究进展

第二军医大学长海医院血液科 程 涛综述

人们早已熟知骨化三醇〔Calcitriol, 1,25—二羟维生素D₃, 1,25 (OH)₂D₃〕是维生素D₃在体内经肝肾代谢而产生的一种激素类物质。临床上主要用于治疗佝偻病、甲状旁腺机能减退以及慢性肾功能衰竭等病。近年研究发现,本品尚有其他多种生物效应,诸如对细胞生长分化、机体免疫调节等均有一定影响,特别是对肿瘤细胞的抑制生长作用,引起了人们的广泛关注。鉴于1,25(OH)₂D₃是一种生理性物质,副作用小,因此运用该类物质治疗肿瘤是一种值得尝试的新方法。业已证实骨化三醇抗肿瘤作用主要通过诱导分化途径,而非细胞毒效应。以往研究得最多的是针对白血病细胞的诱导分化,现就此作一综述。

一、骨化三醇诱导后的细胞表型改变

一些白血病细胞系在 $10^{-10} \sim 10^{-6}$ mol/L 1,25 (OH)₂D₃作用下可进一步分化成熟;细胞增殖也同时受到抑制作用,上述效应呈时间和剂量依赖关系。人早幼粒白血病细胞系(HL-60)、人组织淋巴瘤细胞系(U937)以及小鼠粒细胞白血病细胞系(M₁)等粒单白血病细胞系在骨化三醇诱导后分化为单核/巨噬样细胞。分化细胞有一定粘附力,细胞表面Fc受体及C₃受体的数目明显增多,细胞吞噬活性显著增强,硝基四氮唑蓝(NBT)还原能力、非特异性酯酶以及水解酶活性均有显著提高。电镜下可见,HL60细胞在分化后,核形由圆形变为不规则,异染色质增加,胞浆中高尔基体、内质网转发达出现溶酶体、自噬泡等颗粒,髓性过氧化物酶(MPO)活性减低。

此外HL60细胞在骨化三醇诱导分化后,细胞表面CD₁₄(单核细胞特异性抗原)表达增加,而CD₁₅(粒细胞特异性抗原)表达减少,从而进一步说明单核/巨噬细胞的分化特征。最近作者采用一株人原始巨核白血病细胞系(HIMeg)进行研究,发现本品可使HIMeg沿巨核系进一步分化成熟,分化细胞不仅在形态结构上有较成熟的巨核细胞特征,而且细胞表面CD₁₄(血小板糖蛋白Ⅱb/Ⅲa)表达明显增加。可见,它可使不同白血病细胞系沿不同系列分化成熟。

二、骨化三醇诱导分化的作用机制

1. 对细胞代谢的影响。D₃作为激素类物质,必然高效能地影响细胞代谢,这是它发挥诱导分化作用的物质基础。骨化三醇通过诱导脂肪酸环氧酶和血栓烷合成酶活性而增加血栓烷产物(TXB₂、TXA₂及PGE₂),其中TXA₂参与单核/巨噬细胞的粘附过程。另外本品尚可刺激某些肿瘤细胞系合成纤维连结素(F₂),这是细胞粘附能力的主要效应物质。有报道本品可增强细胞蛋白激酶C(PKC)活性,使蛋白磷酸化,产生具有单核细胞特异性的磷酸化蛋白,从而提示特异性的蛋白磷酸化作用与细胞分化方向有关。关于骨化三醇对Ca²⁺的调控研究,以往主要集中于肠、骨、肾细胞,其实白血病细胞的诱导分化也与此有关。HL60细胞及鼠红白血病细胞系(MEL)在被本品诱导分化过程中,伴有细胞内钙的升高。将异搏(停Ca²⁺拮抗剂)或EGTA(Ca²⁺螯合剂)与本品合用可使HL60细胞增殖和分化受到显著抑制,而异搏停或EGTA单用则对细

胞增殖分化无明显影响。降低细胞外钙浓度能明显增强本品对M₁细胞的生长抑制作用,但对细胞分化影响较小。从而推测,特定的细胞内外钙离子比例是本品诱导分化的必要条件之一,细胞内钙的升高是细胞分化的一个重要因素。

2. 对癌基因及细胞周期的影响 骨化三醇作用于HL60细胞后,C-myc基因转录的mRNA水平显著下降,而去除诱导剂后,C-myc之mRNA则恢复原有水平。N-ras基因在HL60细胞分化前后无变化特征。C-fos和C-fms基因有特征性表达,二者在未分化的HL60细胞中无表达,当经本品诱导分化后,C-fos在分化早期表达明显;而C-fms在分化晚期表达显著。现已证实,C-fms编码的蛋白就是巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的受体。癌基因的改变与DNA合成受抑以及细胞周期有密切关系。骨化三醇可直接抑制DNA合成,这种抑制作用分为速发抑制和迟发抑制两种时相,在速发抑制期无癌基因变化,只有在迟发抑制期才有癌基因的改变,采用同位素掺入、放射自显影技术,利用细胞周期特性阻滞剂,发现本品最敏感的时相是G₀/S期,这是小剂量化疗药与诱导分化剂合用的依据之一。用DNA及膜双标技术进行流式细胞分析,发现在表达单核/巨噬细胞抗原特征的细胞群体中不仅有G₀/G₁期细胞而且还有S期细胞,可见细胞分化的前提条件并非阻滞于G₀/G₁期,细胞在分化过程中逐步丧失分裂能力,最后停滞于G₀/G₁期。

3. 骨化三醇受体的介导效应 本品的生物效应是通过骨化三醇受体(VDR)的介导机制而发挥的。药物作用效果与受体数有关,经测定每个HL-60细胞内含大约4,000个VDR,饱和这些受体的药物浓度为 5×10^{-9} mol/L,与体外测得的ED₅₀(5.7×10^{-9} mol/L)很接近。除了白血病细胞以外,在黑素瘤、骨肉瘤、乳腺癌以及结肠癌等细

胞中亦有VDR的存在,且骨化三醇对它们的生长均有抑制作用⁽¹⁶⁾。VDR与本品有高度亲和力,K_d= $1 \sim 50 \times 10^{-11}$ mol/L。VDR与类固醇受体类似,位于细胞核内,哺乳动物VDR分子量为52~55KD,分子结构中至少有三个功能区:即激素结合区、DNA结合区以及抗原决定区。现已弄清,人VDR由427氨基酸残基组成,与类固醇、甲状腺素以及维甲酸等受体有高度同源性,同属一超基因家族。VDR可能的作用机制如下:骨化三醇与VDR结合后再与骨化三醇DNA左右部位接触,改变基因局部超螺旋结构,从而调控基因表达,导致分化过程的发生。

三、临床实验研究 Koaffler⁽¹⁷⁾报道了在较高浓度(10^{-8} mol/L)骨化三醇作用下,急性髓性白血病(AML)细胞在体外可发生明显分化成熟现象,而在低浓度(10^{-9} mol/L)时,则几乎无作用。Gerrit对10例AML的体外实验结果表明,本品对6例AML患者细胞有较强诱导分化作用,其作用强于维甲酸、小剂量阿糖胞苷以及二甲亚砷。但是作者最近的实验显示,本品对部分原代培养的白血病细胞层有一定诱导分化作用,但其作用强度远不及维甲酸对早幼粒白血病的诱导效果;本品的作用尚存在诱导不完全、抑制增殖力不足的局限性。Irinio观察2例AML患者服用本品(4.5~15μg/天)后,骨髓中白血病细胞减少,出现非典型淋巴样细胞,认为是来自白血病细胞的分化。目前尚无有说服力的大宗病例报道。临床应用的主要副作用是高血钙、感染、皮疹及消化道出血,但程度较轻,发生率仅13.5%,可作相应对症治疗。

四、进一步增强骨化三醇抗肿瘤作用的途径 本品的抗肿瘤作用不仅存在有抑制增殖不强、诱导分化不完全的局限性,而且甚至有一定可逆性和耐药现象,这是临床疗效不佳的主要原因。为了克服本品抗肿瘤作用

的不足,主要从以下几方面增强其疗效。

1. 合理用药 包括给药途径、用药剂量和时间等,这方面尚无系统研究报道。

2. 合成新的衍生物 寻求新的 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 衍生物的唯一标准就是高效低毒。研究较多的是一些氟化形式的化合物, $24,24-\text{F}_2-1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 和 $26,26,26,27,27,27-\text{F}_6-1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 对白血病细胞可产生与 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 类似的诱导活性,也有报道上述二者的作用比 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 强数倍。Milan⁽²⁰⁾研究了 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 类似物的构效关系得出如下结论:(1) 1α 羟基是必需基团;(2) Δ^{22} -双键和C-24位加甲基无增强分化作用,C-23三键有增强分化作用;(3) C-24、26、27位上的氢被氟取代可进一步增强诱导分化和抑制增殖作用。

3. 联合应用其它药物(1)与其他诱导分化剂合用:骨化三醇与维甲酸对HL-60细胞以及HIMeg细胞的诱导分化具有相加作用效应。另外,本品与地塞米松对M₁细胞有协同诱导分化效应,并且可相互克服其耐药性。(2)与小剂量化疗药合用:小剂量化疗药通过抑制DNA合成,可增加细胞对本品的敏感性和增强对细胞增殖的抑制作用。体外试验提示,阿糖胞苷、羟基脲、柔红霉素以及三尖杉酯类生物硷等多种小剂量化疗药与本品均有协同作用。(3)与细胞因子合用:体外试验表明,不仅骨化三醇分别与重组 γ 干扰素($\gamma\text{IFN}-\gamma$)和重组肿瘤坏死因子(γTNF)有协同诱导分化作用,而且三者同时合用有更加显著的协同效应。

(参考文献29篇略)

盐酸维拉帕米临床新用

西安医科大学一院药剂科 王茂义

盐酸维拉帕米为钙离子拮抗剂,临床上用于阵发性室上性心动过速和早博的治疗,此外也可治疗心绞痛、高血压。近几年来,临床应用有新的进展。

一、治疗支气管哮喘⁽¹⁾

高氏报道:盐酸维拉帕米穴位注射:每日1次,每次5mg;或盐酸维拉帕米10mg+10%葡萄糖液500ml静滴每日一次,能有效解除支气管痉挛,改善肺通气功能;尤以穴位注射最优,总有效率达93.9%。作用机理:盐酸维拉帕米可以降低细胞浆中的钙离子浓度,使气管平滑肌细胞的兴奋-收缩脱耦联,防止特异性和非特异性刺激引起的支气管平滑肌收缩和肥大细胞释放组织胺,同时也能提高细胞内的cAMP浓度,从而产生支气管舒张效应。

二、治疗急性胆绞痛⁽²⁾

18例急性胆绞痛患者,多次注射阿托品,VitK₃、654-2,颅痛定、杜冷丁无效。口服盐酸维拉帕米,剂量40mg/次,每日2~4次。总有效率83.3%,起效时间15~70min,作用最短持续3h。作用机制是盐酸维拉帕米可松弛胆道平滑肌。

三、治疗顽固性蛋白尿

何氏报道⁽³⁾:13例顽固性蛋白尿患者,经过地塞米松或强的松+噻替哌或环磷酰胺等药物治疗一个疗程以上而无效。经改口服盐酸维拉帕米片,每日3次,每次40mg,有效率达92.3%其副作用少,值得推广。

四、治疗肥厚性心肌病

吴氏报告⁽⁴⁾:经口服心得安或心得安并乙胺碘呋酮治疗无效的肥厚性心肌病患者,