

超声与肿瘤化疗协同作用的研究进展

董 扬 综述,黎友伦[△],徐 莉 审校

(重庆医科大学附属第一医院呼吸内科 400016)

关键词:超声治疗;肿瘤;化疗

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.17.037

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)17-1764-02

化疗是治疗侵袭性、转移性晚期肿瘤的主要手段,然而多药耐药的产生是恶性肿瘤患者化疗治疗失败的重要原因之一。统计表明,90%以上的肿瘤患者死因都与多药耐药有关,甚至有些新药刚用于临床就发现耐药。因此增强肿瘤对抗癌药物的敏感性成为亟待解决的重要课题。一些化合物、反义寡核苷酸、细胞因子在体外实验中已经得到证实具有改善肿瘤药物抗性的作用,但由于严重的药物毒性使其从体外实验应用到临床尚有一段距离^[1]。目前,已有很多研究集中于寻找新的药物分子增加肿瘤对抗癌药物的敏感性,然而发展非药物的治疗方式也成为新的研究方向。由于超声波的非侵入性、无创性和可控性等优点使其在协同肿瘤化疗方面备受关注。

1 超声协同肿瘤化疗的研究进展

运用超声协同抗癌药物治疗肿瘤的想法已经存在数十年了,早在1976年,Kremkau等^[2]报道了超声增强氮芥对于小鼠白血病的细胞毒性。然而一直到了20世纪90年代,研究者发现超声能增加细胞膜的通透性,从而增加细胞内化学药物浓度,从此超声协同化疗才得到比较系统的研究。到目前为止国内外学者进行了大量研究证明超声与多种抗肿瘤药物具有协同作用,体外细胞实验和动物实验表明超声波和抗肿瘤药物的协同作用远大于单用化疗药物^[3]。目前已经得到证实与超声具有协同作用的化疗药物有阿霉素、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷、丝裂霉素、地吡酮、博莱霉素、环磷酰胺、氮芥等^[4]。目前,关于超声同顺铂的协同作用存在争议。早先Saad和Hahn^[5]的研究认为超声和顺铂不存在协同关系,但是此后Takada等^[6]研究证实超声在频率28kHz,声压分别在28、33、42kPa时能够不同程度增加顺铂对于HeLa细胞的细胞毒作用。近年也有研究报道提出超声可以增强顺铂对耐药性卵巢癌细胞DNA的损伤效应,从而达到增强肿瘤耐药细胞株对顺铂敏感性的作用^[7]。

随着纳米技术的发展,近年还出现了用超声微泡(microbubbles)作为药物载体进行肿瘤靶向治疗的研究。超声微泡也称为超声造影剂(ultrasound contrast agents, UCA),由Gramiak和Shah等在1968年发现,其用于靶向治疗肿瘤主要是利用微泡在超声介导下的空化效应。所谓空化效应是指液体中存在的微小气泡(空化核)在超声场负压相半周期迅速膨胀,而在正压相半周期又急剧收缩直至内爆^[8]。超声微泡在血液循环中具有较好的稳定性,将超声微泡作为抗肿瘤药物的载体,再用超声波作用于靶器官使其在特定组织释放药物,从而达到靶向治疗肿瘤的目的。Lentacker等^[9]用自制的负荷阿霉素药物的脂质体微泡进行体外实验,结果表明,与对照组相比,脂质体微泡使药物阿霉素能够在超声的介导之下有选择的释放,减少阿霉素引起的对非靶组织的细胞毒作用。Pitt等^[10]

用负荷药物的脂质体协同超声治疗小鼠肿瘤的体内实验也进一步证实超声微泡技术有望成为治疗肿瘤的新方法。该治疗方法具有的非侵入性、靶向性等优点使其具有广阔的发展前景。

2 超声增强肿瘤化疗的作用机制

超声波是一种频率高于20kHz,在介质中传播的一种机械波。超声波具有衰减系数小、几乎能穿透人体任何组织、可控性等特点。超声波作用于肿瘤细胞主要与其机械、空化、热和声化学效应有关^[11]。然而不同类型、不同剂量的超声对于不同组织、不同细胞表现的生物学效应也会不同^[12]。超声的生物学效应在与抗肿瘤药物的协同作用中具体有如下几种表现形式。

2.1 增加细胞内药物浓度 超声增加细胞内药物浓度主要通过两个途径:(1)增加细胞膜对抗肿瘤药物的通透性,使细胞内药物聚集量增加;(2)降低或灭活细胞膜表面的ATPase活性,从而抑制药物外排。Yu等^[13]实验证实低强度超声能够增加阿霉素对于卵巢肿瘤细胞的细胞毒性,经超声协同阿霉素处理的肿瘤细胞存活率与其他对照组相比显著下降,而研究者认为该结果主要与超声增加了细胞内药物浓度有关。Matthews等^[14]研究证实,超声能够影响细胞膜表面的ATPase活性,从而导致ATP能量依赖性药物外排泵减少对细胞内药物的外排作用。

2.2 增强细胞凋亡 细胞凋亡是机体维持自身平衡的一种基本生理机制,恶性肿瘤的发生往往与细胞凋亡机制失常有关。目前,对于超声诱导细胞凋亡的机制不清,尽管研究者认为超声增加细胞内抗肿瘤药物浓度是增强肿瘤细胞凋亡的重要原因,但是也有研究证实超声的单独作用下也能增加细胞凋亡。Ashush等^[15]研究发现,应用超声波辐照淋巴瘤细胞系HL-60、K562和U973,发现辐照30s后细胞质浓缩、核碎裂、凋亡小体形成,研究认为超声主要通过细胞膜和DNA损伤诱导细胞凋亡,而不依赖P53介导。也有研究发现,一定剂量的高强度聚焦超声可通过影响肺癌细胞株A549增殖和凋亡相关基因(P53、FAS、BAX及HSP70)表达,阻止细胞于G₀/G₁期,抑制细胞增殖和集落形成,诱导细胞凋亡^[16]。还有研究者证明超声可能通过线粒体-caspase途径诱导细胞凋亡^[17]。可见目前对于超声诱导细胞凋亡的机制还不清楚,尚待进一步研究。

2.3 增加细胞对药物的敏感性 Yu等^[13]在低频超声增强阿霉素对人卵巢癌3AO细胞系的细胞毒性实验中,设计了3个组别:(1)ADM组(对照组);(2)ADM+US组(先给予药物处理,再给予超声照射);(3)US+ADM组(先给予超声照射再给予药物处理)。结果显示:(1)ADM+US组与US+ADM组

细胞存活率均明显低于对照组;(2)ADM+US 组细胞内药物浓度显著增加,差异有统计学意义,而 US+ADM 组细胞内药物浓度并未明显增加。该实验证明,超声协同抗癌药物的作用机制除了增加细胞内药物浓度之外,还存在其他作用机制,作者推测,预先给予超声照射使得细胞对阿霉素的敏感性增加,从而达到增加抗肿瘤药物细胞毒性的作用。

2.4 逆转细胞对抗癌药物的耐药性 肿瘤细胞多药耐药的产生主要和 MDR 相关膜糖蛋白的缺失或过表达相关。P-糖蛋白、多药耐药相关蛋白、肺耐药蛋白,这些膜蛋白能够调节药物摄入,从而影响细胞内药物积蓄。翟宝进等^[18]在 HIFU(high intensity focused ultrasound)逆转人肝癌细胞 HepG2/ADM 多药耐药的实验研究中证实频率 0.8 MHz、聚焦声强 460 W/cm² 的超声连续照射 5 s,能够通过下调 HepG2/ADM 细胞 P-gp 的表达活性,使耐药细胞内 ADM 浓度增加 88%,从而部分逆转 HepG2/ADM 细胞的耐药性。并且进一步的体内研究证实,超声波和超声波联合阿霉素能有效治疗多药耐药裸鼠移植瘤,使细胞中 *mdr1* mRNA、*MRP* mRNA 和 *LRP* mRNA 表达水平降低,蛋白 P-gp、*MRP* 和 *LRP* 合成下降,从而抑制肿瘤生长,使其存活期延长^[19]。最新研究也证实超声能够通过降低蛋白 P-gp、*MRP* 及其 mRNA 的表达并且增加 Bax 蛋白表达,从而逆转 HepG2/ADM 细胞的多药耐药^[20]。

3 超声协同肿瘤化疗的发展前景

超声协同肿瘤化疗是一种新型的治疗肿瘤手段,并且在多项实验中已得到证实。然而超声波协同化疗增强药物疗效甚至至于逆转肿瘤多药耐药的作用机制目前还不清楚,其可能是通过多种生物学效应共同作用来达到协同化疗的效果。需要在今后的研究中进一步探讨其机制。虽然有报道显示热疗和电脉冲场也有增强抗肿瘤药物疗效的作用,但是由于超声具有强穿透性、强方向性、可控性等优点而在治疗肿瘤方面具有一定优势。尤其是近年超声微泡的出现及其不断深入的研究也给肿瘤的靶向治疗带来新的希望。

但是目前超声协同肿瘤化疗的应用也存在很多问题,例如不同类型、不同剂量的超声对于不同组织、不同细胞表现的生物学效应会不同,以至于很难对其进行治疗标准的量化。目前体内研究较少,其安全性需要进一步的研究,因此要将其应用于临床还有一段距离。

参考文献:

[1] Mayur YC, Peters GJ, Rajendra P, et al. Design of new drug molecules to be used in reversing multidrug resistance in cancer cells[J]. *Can Res*, 2000, 60(4):1014-1020.

[2] Kremkau FW, Kaufmann JS, Walker MM, et al. Ultrasonic enhancement of nitrogen mustard cytotoxicity in mouse leukemia[J]. *Cancer*, 1976, 37(4):1643-1647.

[3] Harrison GH, Balcer-Kubiczek EK, Eddy HA. Potentiation of chemotherapy by low-level ultrasound[J]. *Int J Radiat. Biol*, 1991, 59(6):1453-1466.

[4] Yu T, Li SL, Zhao JZ, et al. Ultrasound: a chemotherapy sensitizer[J]. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 2006, 5(1):51-60.

[5] Saad AH, Hahn GM. Ultrasound enhanced drug toxicity of Chinese hamster ovary cell in vitro[J]. *Cancer Res*,

1989, 49(21):5931-5934.

- [6] Takada E, Sunagawa M, Ohdaira E, et al. Ultrasonic effect on anti-cancer drugs[J]. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 1997, 23(1):132-132.
- [7] Yu T, Yang Y, Liu S, et al. Ultrasound increases DNA damage attributable to cisplatin in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells[J]. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2009, 33(3):355-359.
- [8] 周艳清. 超声微泡造影剂在肿瘤靶向治疗中的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2010, 23(3):246-247.
- [9] Lentacker I, Geers B, Demeester J, et al. Design and evaluation of doxorubicin-containing microbubbles for ultrasound-targeted doxorubicin delivery: cytotoxicity and mechanisms involvrd [J]. *Molecular Therapy*, 2010, 18(1):101-108.
- [10] Pitt WG, Husseini GA, Roeder BL, et al. Preliminary results of combining low frequency low intensity ultrasound and liposomal drug delivery to treat tumors in rats[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11(3):1866-1870.
- [11] 陈志强. 声动力学疗法机制的研究[J]. *航空航天医药*, 2010, 21(2):135-137.
- [12] 欧霞. 高强度聚焦超声生物学效应的研究进展[J]. *中国医学影像技术*, 2010, 26(5):974-976.
- [13] Yu T, Wang Z, Jiang S. Potentiation of cytotoxicity of adriamycin on human ovarian carcinoma cell line 3AO by low-level ultrasound[J]. *Ultrasonics*, 2001, 39(4):307-309.
- [14] Matthews JC, Harder WL, Richardson WK, et al. Inactivation of firefly luciferase and rat erythrocyte ATPase by ultrasound[J]. *Membr Biochem*, 1993, 10(4):213-220.
- [15] Ashush H, Rozenszain LA, Blass M, et al. Apoptosis induction of human myeloid leukemic cells by ultrasound exposure[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(4):1014-1020.
- [16] 袁淑兰, 王修杰, 王艳萍. HIFU 诱导人肺癌细胞凋亡及其可能机制[J]. *实用肿瘤杂志*, 2003, 18(5):375-378.
- [17] Honda H, Zhao QL, Konda T. Effect of dissolved gases and an echo contrast agent on apoptosis induced by ultrasound and its mechanism via the mitochondria-caspase pathway[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2002, 28(5):673-682.
- [18] 翟宝进, 邵泽勇, 伍烽. HIFU 逆转人肝癌细胞 HepG2/Adm 多药耐药的实验研究[J]. *癌症*, 2003, 22(12):1284-1288.
- [19] 翟宝进, 郭玉棉, 左保廷. 超声波体内逆转肿瘤多药耐药基因表达的实验研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2007, 34(19):1092-1096.
- [20] Wu F, Shao ZY, Zhai BJ, et al. Ultrasound reverses multidrug resistance in human cancer cells by altering gene expression of ABC transporter proteins and Bax protein[J]. *Ultrasound in Med Biol*, 2011, 37(1):151-159.