

文章编号:1005-6947(2005)09-0702-03

· 综述 ·

乳腺癌耐药蛋白的研究现状

高砚春 综述 吴诚义 审校

(重庆医科大学附属第一医院 普通外科, 重庆 400016)

摘要:乳腺癌耐药蛋白是一种新发现的耐药蛋白,其介导的多药耐药与P-糖蛋白(P-gp)不同,在肿瘤组织中的表达情况差异较大。笔者就乳腺癌耐药蛋白的结构特性及其介导的多药耐药及在肿瘤中的表达情况等研究现状作一综述。

关键词:乳腺肿瘤/药物治疗; 乳腺癌耐药蛋白; 综述文献

中图分类号:R737.9; R44

文献标识码:A

乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)是20世纪90年代末发现的一种新的耐药蛋白。本文就BCRP及其介导的多药耐药(MDR)的研究现状作一综述。

1 BCRP的结构及特性

1998年Doyle等^[1]首次用差异显示杂交技术比较MCF-7/AdrVp细胞系与其父系细胞MCF-7细胞系的全部mRNA序列,发现MCF-7/AdrVp细胞中有一种2.4kb大小的mRNA过度表达。该基因编码一种含655个氨基酸残基、72.6kD大小的跨膜转运蛋白,并带有一ABC半转运子的“特定结构域”,将之命名为BCRP。随后Allikmets等^[2]和Miyake等^[3]分别从人胎盘组织和耐米托蒽醌的结肠癌细胞系S1-M1-80中分别克隆到BCRP基因,因而BCRP又叫胎盘特异性ATP结合盒蛋白(ABCP)及米托蒽醌耐药相关蛋白(MXP)。BCRP与P-gp和MRP同属ABC转运蛋白超家族的成员,具有ATP依赖性药物外排功能。其基因定位于人染色体4q22,是1半转运蛋白,最大特点是只有1个ATP/GTP结

合区域和1个疏水结合区域。主要分布于细胞膜表面,可能主要参与膜内外药物转运,而不是改变药物在胞内细胞器间的分布。转染BCRPcDNA的细胞系可造成对米托蒽醌、柔红霉素、阿霉素耐药,但对长春新碱、紫杉醇和顺铂敏感^[4-6]。其mRNA的表达水平在胎盘及部分中脑区最高,而在成人及胎儿脑、前列腺、小肠、睾丸、卵巢、结肠、肝等相对较低,在心、肺、骨骼、肾、胰、脾、胸腺及外周血白细胞则很低^[7],临床难于检获。

2 BCRP的药物结合位点

目前关于BCRP的药物结合位点还不完全清楚。BCRP显型包括野生型和突变型。野生型482位点是精氨酸(R482A),突变型482位点上发生苏氨酸或甘氨酸突变(分别为R482T和R482G)。Honjo等^[8]从牛痘病毒表达系统中证实,突变型BCRP可使细胞内若丹明和阿霉素外排,而野生型无此表现;两种显型均可转运米托蒽醌。与野生型BCRP相比,R482T对蒽环类抗肿瘤药耐药程度更高,R482G对米托蒽醌更耐药,而对SN-38和拓扑替康耐药程度降低。

Volk等^[9]分析了大量的BCRP过表达细胞系。过表达野生型的细胞系对氨甲喋呤及米托蒽醌耐药,高表达突变型的细胞系,如MCF7/AdrVp1000,S1-M1-3.2和S1-M1-80对

米托蒽醌耐药性增加,而对氨甲喋呤无交叉耐药性;且高表达野生型的细胞系MCF/MX其耐药作用可被BCRP抑制剂GF120918逆转。上述结果显示,BCRP的482位氨基酸残基的点突变能改变BCRP底物的特异性。由此推测,BCRP位于第3跨膜区内482位的氨基酸残基可能是BCRP药物结合位点的一部分。

3 BCRP介导的多药耐药

临床上,过表达突变型BCRP提示对喜树碱(CPT)类似物拓扑替康耐药。Rajendra等^[10]稳定转染哺乳动物细胞,建立表达各种外排蛋白的细胞系,进行对9-氨基喜树碱(9-AC)、9-硝基喜树碱(9-NC)耐药性的研究。结果显示,过表达p-gp,MRP1和MRP2均与9-AC及9-NC细胞毒性无关,但过表达野生型、突变型BCRP均可减少细胞内9-AC含量,导致对9-AC耐药,而不是9-NC。在对9-NC耐药的细胞系中均无BCRP表达。提示CPT A环上9,10位点的基团容易与BCRP发生关系。

Brangi等^[4]利用乳腺癌细胞系MCF-7/AdrVp3000和结肠癌细胞系S1-M1-80,采用多聚酶链反应(PCR)、免疫印染和免疫组化技术检测BCRP的过表达情况。BCRP过表达亚系与P-gp,MRP介导的耐药细胞株相比,对米托蒽醌、阿霉素、蒽二腈、

收稿日期:2004-10-19;

修订日期:2005-03-19。

作者简介:高砚春(1976-),女,四川南充人,重庆医科大学附属第一医院研究生,主要从事乳腺癌基础与临床方面的研究。

通讯作者:吴诚义 电话:023-89011160(O)。

拓扑替康存在交叉耐药。减少米托蒽醌用量,高表达 BCRP 的两种细胞亚系中均可见阿霉素、蒽二腙、拓扑替康、若丹明 123 和盐酸哌啶嗪,不外排 P-gp 底物长春新碱、泰素、异搏定及钙黄绿素-AM 和 MRP 底物钙黄绿素。因此认为,BCRP 是介导多药耐药的新的有效机制,其介导的多药耐药既与 P-gp 有重叠,又有区别。

BCRP 迄今未被直接证实是依托泊苷耐药原因之一。Allen 等^[11]选择对依托泊苷耐药的 P-gp 缺陷小鼠成纤维细胞和肾细胞 5 例作标本,所有细胞均出现野生型 BCRP 过表达和扩增,细胞内依托泊苷累积减少,且其耐药性可被 BCRP 抑制剂 Ko143, GF120918 逆转。提示 BCRP 可能影响依托泊苷的药代动力学和抗肿瘤活性。用 GF120918 治疗 P-gp 缺陷小鼠,依托泊苷口服活性并未提高。说明 BCRP 活性不是主要的限制因素;相反,使用 GF120918 抑制野生型小鼠中 P-gp 将使依托泊苷血浆浓度增加 4~5 倍。

4 BCRP 耐药性的逆转

传统的 MDR 逆转剂如维拉帕米、环孢菌素 A 和三苯氧胺等对 BCRP 介导的 MDR 无逆转作用。以下介绍近年新发现的几种 BCRP 逆转剂。

4.1 真菌霉素 C (FTC) 类

FTC 是最早发现的 BCRP 特异性抑制剂,但其神经毒性限制了其临床应用。Allen 等^[12]证实新的 FTC 类似物 Ko143 能显著增加细胞内药物累积,逆转 BCRP 介导的多药耐药,显著提高拓扑替康口服利用度,而对其他耐药蛋白活性很低。FTC 体外有效剂量无毒性,提高小鼠口服、肌注剂量也无毒性反应。FTC 是迄今发现的第一个高潜能、高特异性的 BCRP 体内抑制剂。

4.2 GF120918

GF120918 既是 P-gp 又是 BCRP 的抑制剂。Kruijtzter 等^[13]具体研究了 GF120918 对 BCRP 作用底物拓扑替康的系统清除率的影响。将患者分为

口服拓扑替康组(口服组)和静脉拓扑替康组(静脉组),使用 GF120918 后,口服组血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)显著上升($P = 0.008$),拓扑替康最高血药浓度升高明显($P = 0.008$),生物有效率由 40% 提高到 97.1% ($P = 0.008$)。静脉组使用 GF120918 后对 AUC 及系统清除率影响小,但有统计学意义;而对最高血药浓度及拓扑替康半衰期影响不大。提示 BCRP 抑制剂 GF120918 能显著提高拓扑替康的口服生物利用度。

4.3 新生霉素

Yang 等^[5]用对米托蒽醌、拓扑替康耐药的乳腺癌细胞系 MCF7/TPT300 (BCRP 过表达细胞系)的研究证实,新生霉素在有效浓度下,能增加患者细胞中拓扑替康积聚,减少外排,增强 MCF7/TPT300 细胞中米托蒽醌、拓扑替康的细胞毒性。提示新生霉素可能在临床上逆转 BCRP 介导的耐药。

4.4 雌激素及其拮抗剂

Imai 等^[14]发现雌酮、17-雌二醇可减弱 BCRP 转染的 K562 细胞(K562/BCRP)中米托蒽醌、SN-38 和拓扑替康的药物外排,增强药物毒性,而对亲代 K562 细胞作用较弱或无作用。提示雌激素能抑制 BCRP 介导的药物外排和逆转耐药。后续的研究证实^[7],己烯雌酚可增加 K562/BCRP 细胞内拓扑替康积聚,雌激素及己烯雌酚对米托蒽醌的耐药逆转性比 SN-38 强;他莫昔芬和托若米芬能增加细胞对拓扑替康的吸收。该作者同时检测了不同的他莫昔芬衍生物的抗 BCRP 活性。第一轮 14 种化合物中, TAG-11 效果最强;第二轮 25 种与 TAG-11 相关的化合物中, TAG-139 最有效,其对 SN-38、米托蒽醌耐药性逆转的作用比雌激素强 5 倍,且均呈剂量依赖性。提示雌激素和其拮抗剂他莫昔芬衍生物在 BCRP 上的结合位点相同。

5 BCRP 在肿瘤中的表达

BCRP 在各种肿瘤中的表达水平差

异很大,在多种实体肿瘤新鲜标本中表达很低或不表达,是否具有预测作用各家报道不一。现将近几年的临床资料总结如下。

5.1 急性髓细胞性白血病 (AML)

Steinbach 等^[15]对 59 例儿童型 AML 进行 BCRP 基因检测,其中 9 例复发。第一阶段未获缓解的患者($n = 24$)比获缓解患者($n = 21$)的 BCRP 基因表达水平高 10 倍($P = 0.012$),首次复发者比最初诊断者的 BCRP 基因表达高($P = 0.038$)。虽然在预后较好组 BCRP 高表达的较多,但 BCRP 高表达的患者预后相对较差($P = 0.023$)。Van den Heuvel Eibrink 等^[16]对 20 例初诊和复发或难治性 AML 标本进行 MDR1, MRP1, LRP/MVP 和 BCRP mRNA 表达水平的检测,发现复发与初诊时比,BCRP 表达增高 1.7 倍, ($P = 0.04$), LRP/MVP 表达降低 ($P = 0.02$), MDR1 和 MRP1 表达无明显差异。提示 BCRP 在 AML 中与临床耐药有关,表达增高提示疾病复发的可能性较大。

5.2 急性淋巴母细胞性白血病 (ALL)

Sauerbrey 等^[17]报道 67 例儿童 ALL 中 BCRP 基因表达情况,其中初诊 47 例,复发 20 例;同时检测健康成人骨髓、外周血中单核细胞 BCRP 的表达。结果提示 BCRP 表达与年龄、性别、原始细胞数、对强的松龙反应及骨髓反应均无关;T 细胞系 ALL 患者 BCRP 表达较低 ($P = 0.044$);初诊和复发 ALL 患者 BCRP 表达无差异,在正常人骨髓中单核细胞和 ALL 患者单核细胞中 BCRP 表达水平差异亦不明显。提示在儿童 ALL 中 BCRP 呈低表达,BCRP 与临床特性及体内耐药性不相关。但 BCRP 在 ALL 患者中的表达水平显著高于健康成人外周血。

5.3 乳腺癌

BCRP 在乳腺癌中的表达情况报道结果尚不一致。Faneyte 等^[6]检测 25 例未化疗及 27 例接受阿霉素为主新辅助化疗的乳腺癌患者标本中 BCRP 基因及蛋白表达情况。其 mRNA 表达

水平差异很大(0.01~0.86),恶性程度越高的肿瘤BCRP表达越低,未接受化疗较接受化疗者BCRP表达水平高。究其原因,可能与BCRP主要存在于血管内皮细胞上,化疗后肿瘤血管密度降低有关。该作者同时用免疫组化方法检测到BCRP蛋白存在于血管和正常乳腺上皮,而肿瘤细胞中无BCRP表达。提示BCRP可能是细胞分化程度的标志物之一,也能解释相对于高分化肿瘤,恶性程度高的乳腺癌BCRP表达较低。Burger等^[18]检测了59例乳腺癌患者新辅助化疗后肿瘤标本中BCRP,LRP,MRP1,MRP2,MDR1的mRNA表达情况,除MRP2外,耐药基因mRNA表达高者对FAC/FEC化疗效差,而在CMF方案组无此相关性。BCRP高表达者对FAC/FEC效果较差,PFS相对较短,但差异无统计学意义。提示BCRP在预测对化疗的反应效果时作用有限。BCRP在乳腺癌化疗中介导的耐药作用还需进一步研究证实。

5.4 膀胱癌

Diestra等^[19]观察了83例MDR,P-gp,MRP1,BCRP和LRP/MVP在晚期膀胱癌新辅助化疗中的预测作用及其与预后的关系。P-gp,MRP1,BCRP和LRP/MVP的表达分别为53%,59%,28%和70%;MRP1表达高者对新辅助化疗敏感及与保留膀胱手术有关($P=0.005$)。高表达LRP/MVP提示对新辅助化疗效差,保留膀胱手术可能性小($P=0.035$)。虽然在诊断时有28%的患者BCRP呈强表达,但其表达水平与化疗反应及预后无关。由此推测,铂剂不是BCRP的作用底物,BCRP在以铂剂为主的新辅助化疗中对晚期膀胱癌无疗效预测价值。

参考文献:

- [1] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LA, *et al.* A multidrug transporter from human MCF-7 breast cancer cells [J]. *Proc Natl Sci USA*, 1998, 95 (26): 15665 - 15670.
- [2] Allikmets R, Schriml LM, Hutchinson A, *et al.* A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance [J]. *Cancer Res*, 1998, 58 (23): 5337 - 5339.
- [3] Miyake K, Mickley L, Litman T, *et al.* Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes [J]. *Cancer Res*, 1999, 59 (1): 8 - 13.
- [4] Brangi M, Litman T, Hudson E, *et al.* The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2) [J]. *Ann Oncol*, 2000, 11 (Suppl 2): 13.
- [5] Yang CH, Chen YC, Kuo ML, *et al.* Novobiocin sensitizes BCRP/MXR/ABCP overexpressing topotecan-resistant human breast carcinoma cells to topotecan and mitoxantrone [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23 (3B): 2519 - 2523.
- [6] Faneyte IF, Kristel PM, Maliapaard M, *et al.* Expression of the breast cancer resistance protein in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8 (4): 1068 - 1074.
- [7] Sugimoto Y, Tsukahara S, Imai Y, *et al.* Reversal of breast cancer resistance protein-mediated drug resistance by estrogen antagonists and agonists [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2 (1): 105 - 112.
- [8] Honjo Y, Hrycyna CA, Yan QW, *et al.* Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61 (18): 663 - 6639.
- [9] Volk EL, Farley KM, Wu Y, *et al.* Overexpression of wild-type breast cancer resistance protein mediates methotrexate resistance [J]. *Cancer Res*, 2002, 62 (17): 5035 - 5040.
- [10] Rajendra R, Gounder MK, Saleem A, *et al.* Differential effects of the breast cancer resistance protein on the cellular accumulation and cytotoxicity of 9-aminocamptothecin and 9-nitrocamptothecin [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (12): 3228 - 3233.
- [11] Allen JD, Van-Dort SC, Buitelaar M, *et al.* Mouse breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) mediates etoposide resistance and transport, but etoposide oral availability is limited primarily by P-glycoprotein [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (6): 1339 - 1344.
- [12] Allen JD, van-Loezeijn A, Lakhai JM, *et al.* Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter in vitro and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C [J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1 (6): 417 - 425.
- [13] Kruijtzter CMF, Beijnen JH, Rosing H, *et al.* Increased oral bioavailability of topotecan in combination with the breast cancer resistance protein and P-glycoprotein inhibitor GF120918 [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20 (13): 2943 - 2950.
- [14] Imai Y, Tsukahara S, Ishikawa E, *et al.* Estrone and 17beta-estradiol reverse breast cancer resistance protein-mediated multidrug resistance [J]. *Jpn J Cancer Res*, 2002, 93 (3): 231 - 235.
- [15] Steinbach D, Sell W, Voigt A, *et al.* BCRP gene expression is associated with a poor response to remission induction therapy in childhood acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2002, 16 (8): 1443 - 1447.
- [16] Van-den-Heuvel-Eibrink MM, Wiemer EA, Prins A, *et al.* Increased expression of the breast cancer resistance protein (BCRP) in relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML) [J]. *Leukemia*, 2002, 16 (5): 833 - 839.
- [17] Sauerbrey A, Sell W, Steinbach D, *et al.* Expression of the BCRP gene (ABCG2/MXR/ABCP) in childhood acute lymphoblastic leukaemia. [J]. *Br J Haematol*, 2002, 118 (1): 147 - 150.
- [18] Burger H, Foekens JA, Look MP, *et al.* RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer: correlation with chemotherapeutic response [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9 (2): 827 - 836.
- [19] Diestra J E, Condom E, Del muro X G, *et al.* Expression of multidrug resistance proteins p-glycoprotein, multidrug resistance protein 1, breast cancer resistance protein and lung resistance related protein in locally advanced bladder cancer treated with neoadjuvant chemotherapy: biological and clinical implications [J]. *J Urol*, 2003, 170 (4): 1383 - 1387.