

CYP3A 基因在肿瘤中的研究进展

张发良 综述 闵大六 审校

[关键词] 肿瘤; CYP3A; 基因表达调控 肿瘤; 肿瘤/药物疗法; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 730.2 [文献标识码] A

细胞色素氧化酶 P450(CYP450) 作为重要的药物 I 相代谢酶, 广泛参与药物在人体内羟化、氧化、还原、水解等多种 I 相反应。CYP4503A(CYP3A) 是 CYP450 家族中的重要成员, 临床上约有 60% 的药物经由 CYP3A 代谢, 包括许多化疗药物。肿瘤的发生是环境暴露与遗传因素复杂交互作用的结果, 肿瘤耐药性现已成为化疗失败的重要原因之一。而 CYP3A 可能与肿瘤的发生、发展以及肿瘤治疗中发生耐药的现像有着密切的关系。以往对 CYP3A 的研究仅局限在药理学和毒理学等方面, 近年来该酶系家族成员与肿瘤关系逐渐成为研究的热点。本文就 CYP3A 与肿瘤易感性及化疗多药耐药(MDR) 方面的最新研究进展作一综述。

1 CYP3A 基因家族及分布

CYP3A 基因位于人类第 7 号染色体 q21.3 - 22.1。主要有 CYP3A4、CYP3A5、CYP3A7 及 CYP3A43 4 种基因亚型参与药物代谢^[1], 广泛分布于肝、肾、胃肠、肺、乳腺、前列腺、子宫等组织中。在许多实体肿瘤组织中亦有 CYP3A 表达, 包括乳腺癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、淋巴瘤、软组织肉瘤等。CYP3A4 在体内含量最多, 在肝脏和消化道中表达水平最高。与其相关的几个 cDNA 克隆是 NF25、hPCN1 和 NF10。在表达翻译后其蛋白质的氨基酸序列仅有少数几个位点的不同。与 CYP3A5 相关的 cDNA 克隆是 hPCN3 和 HLP2。CYP3A5 是肾脏中的主要 CYP3A 表达酶, 在成人肝脏中的表达具多态性, 仅 10% ~ 30% 的成人肝脏中有其 mRNA 表达。与 CYP3A4 不同, 这一基因与性别无关, 并且在体内及体外不被外源性物质所诱导。通过测定纯化表达的 cDNA 克隆表明, CYP3A5 与 CYP3A4 具有相同的底物结合特性, 但酶活性约比 CYP3A4 低 80%。与 CYP3A7 相关的 cDNA 克隆 HFL33 主要从胚胎肝脏

中分离出来, 出生之后 CYP3A7 表达迅速下调, 以往认为在成人中不存在其酶活性的表达, 但有研究^[2]表明, 其 mRNA 和蛋白质在成人子宫内膜及胎盘中亦有表达。CYP3A43 的氨基酸序列 75% 与 CYP3A4 和 CYP3A5 相似, 71% 与 CYP3A7 相似。其表达水平较低, 分布在肝、肾、骨骼肌、前列腺、胰腺、睾丸及胎儿中。

2 CYP3A 与抗肿瘤药物的代谢

CYP3A 是 CYP450 家族中的重要成员, 含量最多, 再加上它特有的结构特点决定了它拥有广泛的底物, 临床上约有 60% 的药物经由 CYP3A 代谢, 包括抗组胺药、免疫抑制剂、抗生素、抗真菌药、麻醉镇痛药、抗惊厥药等。此外, 临床上用于抗肿瘤治疗的许多化疗药物也是 CYP3A 的作用底物。如长春地辛、长春新碱、长春花碱、紫杉醇、多西紫杉醇、伊立替康等药物经 CYP3A 代谢后细胞毒性消失, 即解毒反应; 阿霉素、依托泊苷、鬼臼噻吩苷、他莫昔芬本身就具有抗癌活性, 通过 CYP3A 代谢后形成的代谢产物抗癌活性得到进一步加强; 甲苄胍、环磷酰胺、异环磷酰胺等^[3] 是抗癌前体药物, 本身并无抗癌活性, 经 CYP3A 代谢后所产生的中间产物方具有抗癌活性。另外 CYP3A 不但具有广泛的作用底物, 对手性化合物还具有立体选择性代谢。异环磷酰胺(IFA) 是一种手性分子, 包含一个非对称磷原子, 存在 2 种对映体形式: R-IFA 和 S-IFA。Chen 等^[4] 研究认为, R-IFA 在表达 CYP3A 酶的肿瘤中能够比 S-IFA 和环磷酰胺发挥更大的抗癌活性。

3 CYP3A 与肿瘤的易感性

致癌过程是一个多阶段的过程。在癌症的启动阶段, 外来化合物代谢酶基因的多态性在决定环境致癌剂的效应中起着关键的作用。不同个体对环境各种前致癌物的活化和解毒能力的遗传差异决定了个体对肿瘤的易感性。CYP3A 参与苯、烷化剂、黄曲霉素等多种致癌剂、毒性化学物质的代谢形成

[收稿日期] 2010-06-20

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤内科 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 张发良(1982-) 男, 硕士研究生。

终致癌物。因此 CYP3A 基因多态性与肿瘤的易感性越来越受到人们关注。

3.1 CYP3A 与白血病 Pakakasama 等^[5] 研究认为, CYP3A56986G 多态性位点可以增加急性髓细胞性白血病的发病风险。其原因可能是该位点突变编码产生异常连接的 mRNA, 这种 mRNA 很快被降解, 所以由其翻译的蛋白量也较少, 对药物及外界毒性物质的清除率降低。黄珍等^[6] 对 139 名急性白血病儿童的研究发现, 携带 CYP3A56986G 等位基因分别可使儿童急性淋巴细胞性白血病和急性髓系白血病发病风险升高至野生型个体的 2.42、2.33 倍。提示这个多态位点可能与儿童白血病的易感性相关。

近年来随着化疗与放疗方法的进步, 肿瘤患者的长期生存率与治愈率大大提高。有些药物经过 CYP3A 灭活后并不是马上就丧失毒性排出体外, 而是转化成致癌物, 因此对于长期存活的肿瘤患者来说有诱发第二肿瘤的危险。Felix 等^[7-8] 研究 CYP3A4 基因型与治疗相关性白血病的关系, 发现野生型 CYP3A4 基因型与化疗引起伴有混合系白血病基因(MLL 基因)移位的白血病密切相关, 而携带突变型 CYP3A4 的化疗相关性白血病的发病率较低。原因可能是由于野生型增加了对 DNA 具有破坏能力的中间型代谢物表鬼臼毒素儿茶酚和表鬼臼毒素醌的含量, 进而诱发继发性白血病。

3.2 CYP3A 与前列腺癌 在前列腺癌患者中发现 CYP3A4 的蛋白活性明显降低。在前列腺细胞生长和功能发挥中起主要调节作用的是双氢睾酮激素, CYP3A4 代谢其生成活性较低的产物: 2 β -6 β -或 15 β -羟化睾酮激素。如果是 CYP3A4 的其他基因型比如 CYP3A4*1B 突变体, 对睾酮激素的代谢能力降低, 导致双氢睾酮激素的蓄积和前列腺癌的发生。近年来发现 CYP3A5、CYP3A43 基因的多态性与前列腺癌也有一定关联性。Leskela 等^[9] 研究发现, CYP3A5 在正常前列腺基底细胞高水平表达, 然而在前列腺癌中表达却明显减少。这一发现支持 CYP3A5 的内在功能和前列腺中睾酮激素的代谢及细胞生长相关, 而且那些影响 CYP3A5 活性的基因突变型可以导致患前列腺癌的风险增加。Stone 等^[10] 进行的一项病例对照研究发现, 拥有 CYP3A43*3 基因型的美国黑人患前列腺癌的风险是对照组的 2.6 倍, CYP3A43*3 基因型可以增加患前列腺癌的风险。可能因为这种变异基因降低了 CYP3A43 蛋白的活性, 游离睾酮的氧化灭活减少。

3.3 CYP3A 与肝癌 CYP3A4 是黄曲霉素 B 的一

种激活剂, 可代谢环境里的黄曲霉素 B, 产生的致突变物会引起 p53 基因的突变频率增加, 因而导致肝癌的诱发^[11]。Noreault 等^[12] 研究认为, 亚硝酸盐通过降低孕烷 X 受体的活性及核受体 RXR 的表达, 进而抑制人肝细胞 CYP3A4 的转录, 最终导致肝脏肿瘤和其他肝病的形成。

3.4 CYP3A 与其他肿瘤 多环芳烃是有机物(包括卷烟)在不完全燃烧过程中形成的。目前已证实多环芳烃具有致癌性, 如可引起肺癌、膀胱癌、上消化道肿瘤等。多环芳烃可诱导 CYP450(CYP1A1、CYP1A2、CYP2E、CYP3A) 基因活性, 提高这些酶的表达水平, 将多环芳烃代谢成终末致癌物^[13-14]。

4 CYP3A 与 MDR

4.1 肿瘤的 MDR 机制 MDR 是一种常见的化疗耐药现象, 也是肿瘤内科治疗失败与肿瘤复发的主要原因。MDR 是指肿瘤细胞长期接触某一化疗药物, 不仅对此种化疗药物产生耐药, 而且对其他结构和功能不同的多种药物产生交叉耐药性。这种交叉耐药性多针对各种天然来源的亲脂性药物, 包括长春碱类、蒽环类、表鬼臼毒素类、放线菌素 5、普卡霉素、丝裂霉素、秋水仙碱以及紫杉醇等。研究^[15] 表明, MDR 的产生主要与肿瘤细胞过表达相关耐药基因有关, 目前已发现的主要耐药基因有 MDR-1、MRP、LRP、GST- π 、TOPO II α 等。另外, CYP3A 与部分肿瘤 MDR 的发生也密切相关。它们在肿瘤组织中常常过表达, 而在正常组织中则常常低表达甚至不表达。可通过增强抗肿瘤药物的代谢作用从而减弱药物的抗肿瘤作用甚至使其灭活, 使肿瘤发生耐药现象。

4.2 CYP3A 与肿瘤的 MDR CYP450 引起的肿瘤耐药现象正逐渐被重视, 成为目前的研究热点。Dhaini 等^[16] 在研究中发现, CYP3A4/CYP3A5 在有远处转移患者的骨肉瘤组织中的表达水平明显高于无远处转移的患者。在骨肉瘤中, CYP3A4/5 高水平表达预示着转移和预后不良。因此它可以作为骨肉瘤治疗反应的生物标志物。而 Yao 等^[17] 研究也发现, CYP3A4/CYP3A5 不但参与致癌物质的代谢活化, 而且还对长春新碱等多种抗肿瘤药物具有灭活作用, 使长春新碱在治疗骨肉瘤的过程中发生耐药现象。这说明, CYP3A4/CYP3A5 可能是骨肉瘤在化疗过程中发生耐药现象的重要原因。

Cristina 等^[18] 研究发现在外周 T 细胞淋巴瘤中, 高表达 CYP3A4 组化疗反应率低、生存期短, 并

且与 MDR-1 的表达具有相关性,提示二者可能具有某种相同的作用机制。进一步研究证实,高表达 CYP3A4 的肿瘤细胞对依托泊苷和阿霉素的耐药性明显增加。总之,CYP3A4 在外周 T 细胞淋巴瘤中高表达预示着对标准化疗方案反应率低。这种情况下,改变化疗方案或剂量是必须的。

一些外源性药物可诱导细胞色素 P450 发生高表达,进而促进其自身代谢。例如紫杉烷类物质可以通过诱导 CYP3A 和 CYP2C8 的表达来介导自身的降解。Synold 等^[19]研究发现,紫杉烷类物质诱导 CYP450 发生高表达的这种现象是通过一种外源性受体 SXR 的作用。SXR 受体在调节 CYP3A 和 CYP2C8 发生转录激活的过程中起着关键作用。紫杉烷类物质的这种可调节自身代谢机制的发现对于认识 CYP450 在抗肿瘤药物代谢中的作用具有重要的临床意义。

全反式维 A 酸是治疗急性早幼粒细胞白血病及一些实体瘤的有效药物,也是 CYP3A 的底物之一。但不幸的是,近年来其临床应用却受到限制,因为耐药现象在迅速增加。主要机制是全反式维 A 酸的自身诱导代谢,此代谢主要受维 A 酸-CYP26 通路的调节,但是肿瘤的治疗通常以联合用药为主,包括数个化疗药及一些支持用药,药物的相互影响也很重要。Wang 等^[20]研究表明,PXP 的配体如利福平、地塞米松可以激活 PXP-CYP3A 通路,从而增加 CYP3A 对全反式维 A 酸的氧化代谢,这可能是全反式维 A 酸耐药的机制之一。随着对此药耐药机制研究的深入,我们有信心找出预防和减少耐药的办。

CYP3A 的基因多态性会影响其表达酶的活性。Dai 等^[21]研究发现 CYP3A4 有 28 种突变型,其中 5 种可使 CYP3A4 的酶活性增强。CYP3A4 在人体内的表达水平较高,它与肿瘤发生尤其是骨肉瘤的发生密切相关。同时,CYP3A4 又对依托泊苷等多种抗肿瘤药物均有代谢作用。由于 CYP3A4 基因多态性的存在,导致在肿瘤的化疗过程中对不同个体的疗效差异明显。因此,在选择肿瘤化疗药物前对患者的 CYP3A 酶活性进行检测,将有助于肿瘤化疗临床用药的正确选择,并减少肿瘤治疗过程中耐药现象的发生。

5 CYP3A 基因介导的药物治

利用部分 CYP450 在肿瘤组织中特异性高表达的这一特性,可以开发以 CYP450 为治疗靶点的药物,这样不但可以增强抗肿瘤药物的靶向作用及药

物的疗效,而且可以减少对正常组织细胞的毒副作用。此外,基于 CYP450 研发的基因治疗方法为肿瘤治疗开创了一个新的方向,对肿瘤的治疗具有巨大的临床意义。

5.1 CYP3A 基因介导的酶前药物治疗 基于肿瘤组织和正常组织 CYP3A 表达的差异,可以通过优化与抗肿瘤药物代谢相关的基因以提高 CYP3A 对抗肿瘤药物的选择性和敏感性。目前研究较多的是 CYP3A 基因介导的酶前药物治疗。使 CYP3A 在肿瘤细胞内超量表达,从而使一些通过 CYP3A 降解的前体药物在肿瘤内活化,提高肿瘤细胞内药物的相对浓度,同时也为抗肿瘤药物选择性地作用于机体提供依据,使药物作用局限于肿瘤组织。拓扑异构酶抑制剂前药 AQ4N 由美国 Novacea 公司研发,目前正进入 I b/II a 期临床试验。在体内基本没有毒性,但在缺氧的实体瘤组织和转移的组织内 CYP3A4 能够促进 AQ4N 的代谢,使其生物降解转化为 AQ4^[22]。AQ4 是 Topo II 有力的抑制剂,从而促进 DNA 断裂和细胞死亡。甲氧基吗啉代多柔比星(MMDX)是多柔比星的衍生物,通过 DNA 拓扑异构酶 I 与肿瘤细胞 DNA 交叉联结,诱导 DNA 链断裂而死亡。MMDX 为化疗前体药物,该化合物在肝脏通过 CYP3A4 的生物转化后细胞毒性会进一步增强^[23]。Lu 等^[24]通过小鼠动物模型检测 MMDX 由 CYP3A4 代谢后在体内的抗肿瘤活性及 MMDX 本身的毒性,证实通过诱导 CYP3A4 的催化可提高该药物的疗效。Lu 等^[25]进而用小剂量 MMDX 静脉注射或直接肿瘤内注入免疫缺陷荷瘤小鼠后,表达 CYP3A4 的肿瘤生长明显延迟,CYP3A4 缺陷者却无变化。还发现腹腔内注入 MMDX 却没有抗肿瘤活性。可能因为经肝脏强大首过效应后,激活的 MMDX 已经很难到达肿瘤内。表明人 CYP3A4 对 MMDX 有强大的激活潜力,而且体内肿瘤细胞表达 CYP3A4 是癌症患者对 MMDX 治疗反应的关键,而非肝脏 CYP3A4。

5.2 反义核酸方法 反义核酸方法是利用一个高度特异的寡核苷酸(主要是 DNA)通过其互补序列结合靶 mRNA 从而导致 mRNA 失活。随着反义核酸技术的不断发展与完善,一些特异且高效地针对 CYP3A 基因的药物也可用于肿瘤的基因治疗。AVI 公司开发的第三代反义寡核苷酸药物 AVI-4557 已经进入临床研究阶段。研究^[26]表明,AVI-4557 可以有效并特异地抑制 CYP3A4 的表达,因此对于提高药物的抗肿瘤活性是有潜力的。

6 问题与展望

到目前为止,仅有部分学者对 CYP3A 在肿瘤发生与治疗中的作用进行了研究,虽然已取得一定的成果,但仍有许多问题有待解决。首先,CYP3A 在许多肿瘤耐药中的作用还没有明确,如果明确 CYP3A 在这些肿瘤组织中的表达情况,就可以作为抗肿瘤治疗的新靶点,开发抗肿瘤治疗药物;其次,对于肿瘤的基因治疗,还没有找到合适的载体和准确的调控方法,以准确地作用于肿瘤所在部位,发挥治疗作用。但是,CYP3A 与肿瘤 MDR 关系的发现,为临床抗肿瘤药物的研发以及抗肿瘤治疗新方法的研究提供了可靠依据,为肿瘤的治疗带来了新的希望。

[参 考 文 献]

- [1] Gibson GG,Plant NJ,Swailes KE,et al. Receptor-dependent transcriptional activation of cytochrome P450A genes: induction mechanisms,species differences and interindividual variation in man[J]. *Xenobiotica* 2002 32(3):165-206.
- [2] Lamba JK,Lin YS,Schuetz EG,et al. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism [J]. *Adv Drug Deliv Rev* 2002 54(10):1274-1294.
- [3] Nicola FS,William DF,Alex S,et al. Recent advances in pharmacogenetic approaches to anticancer drug development[J]. *Drug Dev Res* 2004 62(3):233-253.
- [4] Chen CS,Jounaidi Y,Waxman DJ,et al. Enantioselective metabolism and cytotoxicity of R-IFOSFAMIDE and S-IFOSFAMIDE by tumor cell-expressed cytochromes P450 [J]. *Drug Detab Dispos* 2005 33(9):1261-1267.
- [5] Pakakasama S,Mukda E,Sasanakul W,et al. Polymorphisms of drug metabolizing enzymes and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Am J Hematol* 2005 79(3):202-205.
- [6] 黄珍,柴忆欢,岑建农,等. CYP3A5 基因多态性与儿童急性白血病的相关性研究[J]. *中华儿科杂志* 2007 45(7):546-548.
- [7] Felix CA,Walker AH,Lange BJ,et al. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998 95(22):13176-13181.
- [8] Lopes LF,Piccoli Fde S,Paixao VA,et al. Association of CYP3A4 genotype with detection of V γ /J β trans-rearrangements in the peripheral blood leukocytes of pediatric cancer patients undergoing chemotherapy for ALL[J]. *Leuk Res* 2004 28(4):1281-1286.
- [9] Leskela S,Honrado E,Montero-Conde C,et al. Cytochrome P450 3A5 is highly expressed in normal prostate cells but absent in prostate cancer[J]. *Endocr Relat Cancer* 2007 14(3):645-654.
- [10] Stone A,Ratnasinghe LD,Emerson GL,et al. CYP3A43 Pro (340) Ala polymorphism and prostate cancer risk in African Americans and Caucasians [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005 14(5):1257-1261.
- [11] Miyata M,Takano H,Guo LQ,et al. Grapefruit juice intake does not enhance but rather protects against aflatoxin B1-induced liver DNA damage through a reduction in hepatic CYP3A activity[J]. *Carcinogenesis* 2004 25(2):203-209.
- [12] Noreault TL,Kostrubsky VE,Wood SG,et al. Arsenite decreases CYP3A4 and RXRa in primary human hepatocytes [J]. *Drug Metab Dispos* 2005 33(7):993-1003.
- [13] Vyskocil A,Viau C,Camus M. Risk assessment of lung cancer related to environmental PAH pollution sources [J]. *Hum Exp Toxicol* 2004 23(3):115-127.
- [14] Schneider K,Roller M,Kalberlah F,et al. Cancer risk assessment for oral exposure to PAH mixtures [J]. *J Appl Toxicol* 2002 22(1):73-83.
- [15] Valera ET,Scrideli CA,Queiroz RG,et al. MDR-1,MRP,LRP expression in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Sao Paulo Med J* 2004 122(4):166-171.
- [16] Dhaini HR,Thomas DG,Giordano TJ,et al. Cytochrome P450 CYP3A4/5 expression as a biomarker of outcome in osteosarcoma [J]. *Clin Oncol* 2003 21(13):2481-2485.
- [17] Yao D,Ding S,Burchell B,et al. Detoxication of vinca alkaloids by human P450 CYP3A4-mediated metabolism: implications for the development of drug resistance [J]. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 294(1):387-395.
- [18] Cristina RA,Susanna L,Magdalena Z,et al. Expression of CYP3A4 as a predictor of response to chemotherapy in peripheral T-cell lymphomas [J]. *Blood* 2007 110(9):3345-3351.
- [19] Synold TW,Dussault I,Forman BM. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux [J]. *Nat Med* 2001 7(5):584-590.
- [20] Wang T,Ma X,Krausz KW,et al. Role of pregnane x receptor in control of all-trans retinoic acid metabolism and its potential contribution to ATRA resistance [J]. *Pharmacol Exp Ther* 2008 324(2):648-684.
- [21] Dai D,Tang J,Rose R,et al. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos [J]. *Pharmacol Exp Ther* 2001 299(3):825-831.
- [22] Patterson AV,Samndes MP,Greco O,et al. Prodrugs in genetic chemoradiotherapy [J]. *Curr Pharm Des* 2003 9(26):2131-2154.
- [23] Quintieri L,Rosato A,Napoli E,et al. *In vitro* antitumor activity and host toxicity of methoxymorpholinyl doxorubicin: role of cytochrome P450 3A [J]. *Cancer Res* 2000 60(12):3232-3238.
- [24] Lu H,Waxman DJ. Antitumor activity of methoxymorpholinyl doxorubicin: potentiation by cytochrome P450 3A metabolism [J]. *Mol Pharmacol* 2005 67(1):212-219.
- [25] Lu H,Chen CS,Waxman DJ,et al. Potentiation of methoxymorpholinyl doxorubicin antitumor activity by P450 3A4 gene transfer [J]. *Cancer Gene Ther* 2009 16(5):393-404.
- [26] Arora V,Cate ML,Ghosh C,et al. Phosphorodiamidate morpholino antisense oligomers inhibit expression of human cytochrome P450 3A4 and alter selected drug metabolism [J]. *Drug Metab Dispos* 2002 30(7):757-762.