

顺铂耳毒性与自噬关系的研究进展

梁峥嵘¹ 程贵¹ 张涛² 贾海英^{2△}

[关键词] 顺铂;耳毒性;自噬

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2020.02.023

[中图分类号] R764 [文献标志码] A

Research progress on the relationship between cisplatin ototoxicity and autophagy

Summary Cisplatin is an anti-tumor drug which is widely used for the treatment of various solid tumors. Unfortunately, serious side-effects have affected patients, such as hearing loss. Up to now, there is no clear and effective measure to protect the cisplatin-induced ototoxicity in the clinical use of cisplatin studies indicated that autophagy may be involved in the whole process of cisplatin-induced hearing loss. In this review, the relationship between cisplatin ototoxicity and autophagy was reviewed. It is hoped that this study can provide reference for further study of cisplatin ototoxicity and intervention of autophagy with autophagy activator or inhibitor.

Key words cisplatin; ototoxicity; autophagy

顺铂是当前临床联合化疗中普遍应用的抗肿瘤药物,但该药具有严重的耳不良反应,可造成听力损失。目前,临床上还没有研制出针对顺铂耳毒性的药物。有研究表明自噬可能参与了顺铂耳毒性的全过程。本文就顺铂耳毒性与自噬关系的研究进展予以综述,希望能够为顺铂耳毒性的进一步研究及使用自噬激活剂或抑制剂干预自噬提供参考。

1 顺铂及其用途

顺铂(顺式-二氯二氨合铂, cisplatin)是铂的金属络合物,为非周期性细胞毒化疗药物,类似于双

功能烷化剂^[1]。顺铂的抗癌性是由美国生理学家 Rosenberg 首次发现的,1978 年在美国临床上使用。研究显示,顺铂对生殖道肿瘤、鼻咽癌、食管癌、恶性淋巴瘤等均有较好的治疗效果^[2]。顺铂被广泛应用于抗癌及其高效的抗癌性的主要原因是其可抑制癌细胞 DNA 的复制过程。顺铂先经过跨膜运转进入细胞,然后在形成核苷酸链内交联及链间交联之前与嘌呤碱基以共价键的方式在 N7 位置结合,靶细胞在共价结合物作用下迁移并被攻击^[3]。而自由基的产生及氧化应激能调节顺铂对癌细胞周期的调控并诱导凋亡^[4-5]。

2 顺铂耳毒性的作用机制

2.1 顺铂耳毒性的发生

耳毒性通常是指化学药物治疗过程中引起的内耳组织功能损害和细胞变性,可出现耳聋、耳鸣、

¹暨南大学第一临床医学院(广州,510000)

²暨南大学附属第一医院耳鼻咽喉科

△ 审校者

通信作者:贾海英, E-mail:1399728486@qq.com

[11] Beyea JA, Parnes LS. Purely vertical upbeat nystagmus in bilateral posterior canal benign paroxysmal positional vertigo: a case report [J]. *Laryngoscope*, 2010, 120:208-209.
[12] 吕恬,王会,姚青秀,等. 伴下跳性眼震的单侧梅尼埃病 2 例 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(22):1751-1753.
[13] Nakamagoe K, Shimizu K, Koganezawa T, et al. Downbeat nystagmus due to a paramedian medullary lesion [J]. *J Clin Neurosci*, 2012, 19(11):1597-1599.
[14] Butragueño Laiseca L, Toledo Del Castillo B, Rodríguez Jimenez C, et al. Downbeat nystagmus due to ranitidine in a pediatric patient [J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2017, 21(4):682-684.
[15] Sato Y, Kawasaki T. Identification of the Purkinje cell/climbing fiber zone and its target neurons responsible for eye-movement control by the cerebellar flocculus

[J]. *Brain Res Rev*, 1991, 16:39-64.
[16] Nakamagoe K, Iwamoto Y, Yoshida K. Evidence for brainstem structures participating in oculomotor integration [J]. *Science*, 2000, 288:857-859.
[17] Halmagyi GH, Leigh RJ. Upbeat about downbeat nystagmus [J]. *Neurology*, 2004, 63:606-607.
[18] Helmchen C, Kirchhoff JB, Göttlich M, et al. Postural Ataxia in Cerebellar Downbeat Nystagmus: Its Relation to Visual, Proprioceptive and Vestibular Signals and Cerebellar Atrophy [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0168808.
[19] Bremova T, Glasauer S, Strupp M. Downbeat nystagmus: evidence for enhancement of utriculo-ocular pathways by ocular vestibular evoked myogenic potentials? [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2015, 272(11):3575-3583.

听力下降等,可能出现在用药过程中,也有可能出现在停药后数日、数周甚至数月^[6-7]。Marsak 等^[8]在对 26 例肿瘤患者使用顺铂治疗的前瞻性研究中发现大部分患者发生听力损伤。也有研究表明,在顺铂的化疗过程中约有 50% 的患者可能出现永久性听力损伤^[9-10]。虽然不同的研究顺铂耳毒性发生的概率不同,但都在一定的程度上明确了顺铂具有明显的中耳毒性。

2.2 顺铂耳毒性的研究发展

以往研究认为,顺铂的耳毒性是部分或完全可逆的。Cardinaal 等^[11]在对猪的研究中观察到耳蜗毛细胞的恢复。顺铂耳毒性在动物实验中可观察到毛细胞的再生,而在人体治疗中是否可再生,一直有争议。但目前大部分的研究认为,顺铂引起耳毒性的改变是不可逆的、进行性的和双侧的感音神经性聋。例如,在对接受铂类药物治疗的 15 例患儿随访中发现有 6 例出现不可逆性的听力损伤,而且可能随着时间的推移而进展^[12]。同样,有研究发现,在顺铂的治疗过程中 90% 以上的患者出现不同程度的听力下降,顺铂导致的耳毒性在不同年龄段都有发现,在儿童更为严重,主要表现为双侧、不可逆性的感音神经性聋^[13-14]。

有研究在验证阿司匹林是否可降低顺铂耳毒性的实验中也发现多达 50% 的患者发生永久性和不可逆性的听力损失^[15]。也就是说,铂类药物诱导的耳毒性具有不可逆性、延迟性、进展性等特征,即肿瘤治疗结束后仍可发生听力损伤或出现听力退化加重^[16-18]。

2.3 顺铂对耳蜗的影响

动物和临床研究发现,顺铂对耳蜗 Corti 器的影响最大,除了可导致部分和(或)全部毛细胞丢失外,还可使内毛细胞发生散在缺少,螺旋神经节细胞、血管纹边缘细胞损伤^[11,13]。例如,Breglio 等^[19]使用离子体质谱检测顺铂在小鼠和人类耳蜗中的药代动力学实验中发现,顺铂在血管纹内的积累难以清除,可保留数月甚至数年。通常是耳蜗底转的毛细胞首先受损,随着剂量的累积,逐步向顶转听毛细胞进展,最后向所有毛细胞及支持细胞进展。这与临床上顺铂导致耳毒性首先出现高频率听力损伤,再出现低频率听力损伤一致。有研究在临床上观察到应用顺铂化疗的患者在 8 kHz 处听力损失最大,并且患者听力损失的严重程度与顺铂的剂量成正比相关^[19-20]。Brock 等^[21]1991 年第 1 次提出顺铂的耳毒性是先损伤高频再损伤低频。对经顺铂治疗的患者进行听力检测,听力损伤的频率在 0.25~20.00 kHz 可能性最大,另外 8 kHz 以上的听力最先受累,然后才到低频听力受累^[22]。

2.4 顺铂耳毒性的机制

Waissbluth 等^[13]在动物实验时发现,顺铂损

害耳蜗的机制是通过结合细胞 DNA、产生活性氧自由基、激活炎症级联反应来诱导细胞凋亡,从而起到抗癌作用的效果,其作用的靶点有血管纹、毛细胞和螺旋神经节。随着分子生物学技术的发展,人们对顺铂导致耳毒性的细胞水平和分子水平的作用机制虽然还没有完全明确,但现在普遍接受的主要有:①哺乳动物的铜离子转运蛋白、有机阳离子转运体等进入耳蜗细胞并在细胞质内形成水性复合物,导致 DNA 损伤和交叉结合,从而使传感器共济失调基因突变并激活抑癌基因 p53,增强 Bax 蛋白的表达,使细胞色素 C 释放增多,最终导致半胱天冬酶激活凋亡。这点在 Thomas 等^[23]对顺铂导致斑马鱼毛细胞损伤的研究中也得到了证实。②增加活性氧簇(ROS)在内耳的积累产生细胞毒性^[24];主要是由顺铂激活 NADPH(还原性辅酶 II)氧化酶,从而降低抗氧化酶。在正常的耳蜗中存在过氧化氢酶、谷胱甘肽等活性氧清除系统,保护耳蜗细胞不被损伤。当顺铂进入耳蜗时,可导致耳蜗内谷胱甘肽浓度降低,抑制抗氧化酶的活性,进一步损伤细胞。③通过促进细胞炎症因子释放,介导耳毒性^[25]。包括 TNF- α 、IL- β 等释放入细胞质。顺铂能够刺激耳蜗细胞中活性氧的过量产生,而活性氧能增加炎症反应,导致耳蜗毛细胞的凋亡^[26]。

3 自噬在顺铂耳毒性中的作用

3.1 自噬

自噬是细胞通过溶酶体(或液泡)降解自身组分以达到维持细胞内正常生理活动及稳态的一种细胞代谢过程^[27],可以回收细胞成分并清除细胞中的异物。根据自噬降解底物的特异性,可将自噬分为选择性和非选择性,其中起主要作用的是选择性自噬^[28-31]。线粒体自噬是自噬中特别的一种,线粒体自噬是受损的线粒体通过自噬机制选择性地清除被损伤的蛋白质和细胞器来保持细胞内环境的动态平衡。线粒体是细胞氧化呼吸的主要场所,同时也是易损和变异的场所,具有这些特点的原因主要是因为线粒体的 DNA 比细胞核的 DNA 更容易发生突变。如果细胞内的有毒物质增加或氧含量减少,细胞抗氧化功能不能清除增多的 ROS,就会导致线粒体 DNA 和蛋白质损伤,线粒体功能丧失,从而诱发线粒体自噬,维持细胞的稳态^[32]。而线粒体不仅负责产生能量,也负责产生基本数量的 ROS,如果线粒体受损导致能量缺乏和 ROS 的过度释放,就会对细胞的正常功能产生威胁。

自噬在人体生理功能中发挥重要的作用,主要表现为:①为细胞提供能量,当细胞缺乏营养或处于应激状态时,细胞自噬会通过分解更多的蛋白质产生能量来维持细胞的能量代谢;②维持细胞稳态,主要是通过降解或清除蛋白质、细胞器等来参

与细胞稳态的维持;③参与细胞的程序性死亡。自噬在肿瘤、自身免疫性疾病中扮演着重要的角色。

自噬是一个动态过程,主要包括:吞噬泡的形成、Atg5-Atg12系统、LC3系统、降解物的选择、自噬溶酶体的形成以及内容物的降解。随着人们对自噬的不断深入研究,目前公认的自噬调控通路有:①mTOR信号通路,mTOR是磷脂酰肌醇激酶相关蛋白激酶(PIKK)的家族成员,它有2种存在形式:对雷帕霉素敏感的mTOR复合物1(mTORC1)、对雷帕霉素不敏感的mTOR复合物(mTORC2)^[33]。研究表明,对顺铂耳毒性起作用的主要是mTORC1。②Beclin-1信号通路,Beclin-1是酵母自噬基因Atg6/Vps30的同源基因,它与自噬在肿瘤等疾病中的作用密不可分,是重要的候选抑癌基因^[34]。Beclin-1蛋白由3个部分组成,分别为中央螺旋区、进化保守区、BH3(Bcl-2-homology3),它们通过与其他因子相互作用来调节细胞自噬的水平。③其他的信号通路,如p53信号通路。

3.2 自噬与顺铂耳毒性的关系

近年来的研究发现,自噬在肿瘤的治疗中有不可忽视的作用。目前有研究显示,顺铂不仅能诱导人癌细胞如肝癌、宫颈癌、皮肤癌等的自噬,而且这种自噬能够通过降低肿瘤对化疗药物如顺铂的敏感性从而保护肿瘤细胞不受损伤。目前,自噬在顺铂耳毒性中的作用尚未完全明确。韩森森(2015)在采用新生大鼠耳蜗基膜体外培养模型探讨细胞自噬与顺铂耳毒性关系时也发现耳蜗细胞也存在顺铂耐药现象。并且发现,在离体耳蜗器官培养条件下低浓度顺铂可以通过细胞凋亡导致耳蜗的毛细胞和螺旋神经节的受损,然而高浓度的顺铂基本不会造成耳蜗毛细胞和螺旋神经节的损伤。研究者猜想这可能是因为高浓度顺铂能够激活耳蜗细胞的自噬所致。说明自噬可能参与了顺铂耳毒性的过程,其激活程度的高低与耳蜗细胞的存亡密切相关。有学者研究通过脂酸阻止ROS的积累保护线粒体的功能,对顺铂诱导的耳毒性有较强的保护作用^[35]。Youn等^[36]通过将培养的HEI-OC1细胞暴露于30 mmol/L顺铂中48 h后发现,在顺铂治疗的8 h内,HEI-OC1细胞的存活率没有下降,随着暴露时间的延长,HEI-OC1细胞存活率逐渐下降。结果表明,自噬在顺铂治疗的早期具有保护作用,在晚期具有促进死亡的作用。自噬是一种参与顺铂诱导细胞毒性的细胞死亡模式。

4 展望

顺铂是第一代铂类化疗药,在临床上已得到普遍使用。但顺铂在发挥抗癌作用的同时导致的肾毒性、耳毒性等不良反应也引起了人们的高度关注。目前临床中尚未有令人满意的预防顺铂耳毒性的药物。虽然对顺铂耳毒性机制的研究不断取

得进展,但顺铂耳毒性仍然是目前临床无法克服的难点之一。现在的研究认为顺铂耳毒性的机制主要为各种原因引起的细胞死亡,其中自噬在顺铂耳毒性中有双重作用。自噬对细胞的存活至关重要,自噬通路机制的研究将为顺铂耳毒性的预防及治疗提供新的靶点。

参考文献

- [1] Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(4):307-320.
- [2] Ruggiero A, Trombatore G, Triarico S, et al. Platinum compounds in children with cancer: toxicity and clinical management [J]. *Anti Drugs*, 2013, 24(10): 1007-1019.
- [3] 王琳. 抗肿瘤药物顺铂的剂型开发研究现状[J]. *海峡药学*, 2018, 30(1):1-5.
- [4] 张慧卿, 方念, 芦珊, 等. 氯喹促进顺铂诱导胃癌SGC7901细胞凋亡及其机制[J]. *中国肿瘤临床*, 2013, 40(16):947-950.
- [5] Xu Y, Yuan J, Lipinski MM. Live imaging and single-cell analysis reveal differential dynamics of autophagy and apoptosis [J]. *Autophagy*, 2013, 9(9): 1418-1430.
- [6] Paken J, Govender CD, Pillay M, et al. Cisplatin-Associated Ototoxicity: A Review for the Health Professional[J]. *J Toxicol*, 2016, 2016:1809394.
- [7] 田勇泉. 耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013:354-355.
- [8] Marsak T, Steiner M, Karminer M, et al. Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss by Intratympanic Dexamethasone: A Randomized Controlled Study[J]. *Otol Head Neck Surg*, 2014, 3(11):983-990.
- [9] Kanzaki S. Feasibility of drug and gene therapy for sensorineural hearing loss [J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2013, 141(4):188-190.
- [10] Frisina RD, Wheeler HE, Fossa SD, et al. Comprehensive Audio-metric Analysis of Hearing Impairment and Tinnitus After Cisplatin-based Chemotherapy in Survivors of Adult-onset Cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(23):2712-2720.
- [11] Cardinaal RM, de Groot JC, Huizing EH, et al. Cisplatin-induced ototoxicity: morphology evidence of spontaneous outer hair cell recovery in albino guinea pigs [J]. *Hear Res*, 2000, 144(1-2):147-156.
- [12] Landier W. Ototoxicity and cancer therapy[J]. *Cancer*, 2016, 122(11):1647-1658.
- [13] Waissbluth S, Daniel SJ. Cisplatin-induced ototoxicity: transporters playing a role in cisplatin toxicity [J]. *Hear Res*, 2013, 299(1):37-45.
- [14] Minasian LM, Frazier AL, Sung L, et al. Prevention of cisplatin-induced hearing loss in children: Informing the design of future clinical trials [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(7):2951-2959.

- [15] Crabb SJ, Martin K, Abab J, et al. COAST (Cisplatin ototoxicity attenuated by aspirin trial): A phase II double-blind, randomised controlled trial to establish if aspirin reduces cisplatin induced[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 12(1):75-83.
- [16] Clemens E, De Vries AC, Am Zehnhoff-Dinnesen A, et al. Hearing loss after platinum treatment is irreversible in noncranial irradiated childhood cancer survivors[J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2017, 34(2):120-129.
- [17] Van As JW, van den Berg H, van Dalen EC. Platinum-induced hearing loss after treatment for childhood cancer[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 3(1):1-74.
- [18] Karasawa T, Steyger PS. An intergrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2015, 237(3):219-227.
- [19] Breglio AM, Rusheen AE, Shide ED, et al. Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):1654.
- [20] Schaefer SD, Post JD, Close LG, et al. Ototoxicity of low-and moderate-dose cisplatin[J]. *Cancer*, 1985, 10(15):1934-1939.
- [21] Brock PR, Bellman SC, Yeomans EC, et al. Cisplatin ototoxicity in children: a practical grading system[J]. *Med Pediatr Oncol*, 1991, 19(4):295-300.
- [22] Landier W, Knight K, Wong FL, et al. Ototoxicity in children with high-risk neuroblastoma: prevalence, risk factors, and concordance of grading scales a report from the children's oncology group[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(6):527-534.
- [23] Thomas AJ, Hailey DW, Stawicki TM, et al. Functional Mechano-transduction is Required for Cisplatin-induced Hair Cell Death in the Zebrafish Lateral Line[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(10):4405-4414.
- [24] Yu X, Fan Z, Han Y, et al. Paeoniflorin Reduces Neomycin-induced Ototoxicity in Hair Cells by Suppression of Reactive Oxygen Species Generation and Extracellularly Regulated Kinase Signalization[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 285(1):9-19.
- [25] So H, Kim H, Kim Y, et al. Evidence that cisplatin-induced auditory damage is attenuated by downregulation of Pro-inflammatory cytokines via Nrf2/HO-1[J]. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2008, 9(3):290-306.
- [26] Sheth S, Mukherjea D, Rybak LP, et al. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Otoprotection[J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11(1):1-12.
- [27] Denny P, Feuermann M, Hill DP, et al. Exploring autophagy with Gene Ontology[J]. *Autophagy*, 2018, 14(3):419-436.
- [28] Feng WZ, Chen Y, Yu L. Process in molecular mechanism of autophagy[J]. *Chin Bull Life Sci*, 2015, 27(7):859-866.
- [29] Nakahira K, Cloonan SM, Mizumura K, et al. Autophagy: a crucial moderator of redox balance, inflammation, and apoptosis in lung disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(3):474-494.
- [30] Randow F, Youle RJ. Self and nonself: how autophagy targets mitochondria and bacteria[J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(4):403-411.
- [31] 胡磊, 戴海明. 线粒体自噬的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(4):594-601.
- [32] Villanueva Paz M, Cotán D, Garrido-Maraver J, et al. Targeting autophagy and mitophagy for mitochondrial diseases treatment[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20(4):487-500.
- [33] 张升, 吴友苹, 顾利强, 等. 细胞自噬进程的分子信号通路研究进展[J]. *生命的化学*, 2018, 38(2):213-223.
- [34] Reggiori F, Ungermann C. Autophagosome maturation and fusion[J]. *J Mol Biol*, 2017, 429(2):486-496.
- [35] Kim KH, Lee B, Kim YR, et al. Evaluating protective and therapeutic effects of alpha-lipoic acid on cisplatin-induced ototoxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(8):827-827.
- [36] Youn CK, Kim J, Park JH, et al. Role of autophagy in cisplatin-induced ototoxicity[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2015, 79(11):1814-1819.

(收稿日期:2019-05-04)