

胶质母细胞瘤耐药机制研究进展*

王建民 综述 王慧云 审校

(济宁医学院药学院,日照 276826)

摘要 胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)是一种发病率较高的恶性脑肿瘤。虽然针对 GBM 的治疗手段不断改进,但目前患者预后仍然较差。化疗是 GBM 综合治疗策略中的重要措施,由于 GBM 化疗耐药性的存在,影响临床治疗效果的提升。本文主要从多药耐药、GBM 干细胞、自噬、上皮细胞间充质转化、O⁶-甲基鸟嘌呤脱氧核糖核酸甲基转移酶、脱氧核糖核酸损伤修复等几个方面对 GBM 的耐药机制进行阐述,为提高 GBM 化疗效果提供重要的参考。

关键词 胶质母细胞瘤;化疗耐药;耐药机制

中图分类号:R739.4 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2018)12-426-06

Research progress on the mechanism of drug resistance in glioblastoma

WANG Jianmin, WANG Huiyun

(College of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Glioblastoma (GBM) is a malignant brain tumor with a high incidence. Although the treatment of GBM has been continuously improved, the prognosis of patients is still poor. Chemotherapy is an important measure in the comprehensive treatment strategy of GBM. Due to the presence of GBM chemotherapy resistance, it will affect the improvement of clinical treatment effect. The drug resistance mechanism of GBM is described in several aspects, such as multidrug resistance, GBM stem cell, autophagy, epithelial to mesenchymal transition, O⁶-methylguanine deoxyribonucleic acid methyltransferase, deoxyribonucleic acid damage repair and so on, which provides an important reference for improving the effect of chemotherapy on GBM.

Keywords: Glioblastoma; Chemotherapy resistance; Drug resistance mechanism

胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)是成人当中发病率最高的原发性中枢神经系统肿瘤,多起源于脑实质部位的胶质细胞^[1-2]。GBM 是最常见、恶性程度最高的原发性脑肿瘤,预后较差,每年的发病率为 3~4 人/10 万人^[1,3]。目前,针对 GBM 患者的标准治疗方案主要包括神经外科手术切除,然后联合外部放疗,以及全身性化疗^[1-2,4]。GBM 作为一种具有较强侵袭性的恶性脑肿瘤,主要通过干细胞样肿瘤细胞的增殖,导致其迅速恶化,现有治疗方法不能有效治疗^[5]。由于 GBM 弥漫性生长,造成肿瘤侵袭性的特点,手术不能完全切除肿瘤组

织^[6]。另外,GBM 中一群称作 GBM 干细胞(Glioblastoma stem cell, GSC)的干细胞样细胞,使肿瘤具有遗传异质性和微血管异常增生的特征,使其对放疗和化疗具有较强的治疗耐受性^[1,6]。临床上新确诊的 GBM 患者,虽然采取多种高强度的治疗措施,但是 GBM 患者的平均生存期仅为 12.1~14.6 个月,仅有 3%~5% 的患者生存期超过 3 年^[1]。GBM 预后较差,复发率高,除了与其侵袭性强和恶化程度高,造成手术难以完全切除外,重要的原因是 GBM 的化疗耐药造成化疗失败。目前,针对 GBM 耐药机制的研究主要涉及以下几个方面。

1 多药耐药机制

GBM 耐药是其化疗失败的重要原因,特别是

*[基金项目] 山东省自然科学基金(ZR2017BC098);山东省医药卫生科技发展计划项目(2015WS0414);济宁医学院博士科研基金(JY2015BS09)

多药耐药性 (MDR), 是造成化疗药物有效率低的主要因素。MDR 是 GBM 耐药的常见方式, 主要表现为 GBM 细胞对一种化疗药物产生耐受以后, 它们就会对结构不同、作用机制各异的多种其它化疗药物产生交叉耐受。MDR 主要通过肿瘤细胞膜上的排液泵对化疗药物的主动泵出、肿瘤细胞内靶点的改变、抗肿瘤药物前体激活失败、肿瘤细胞对化疗药物解毒能力增强以及癌基因突变等多种途径, 导致患者机体产生 MDR。

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的生理功能是调节上皮组织的发育和体内平衡。EGFR 是肺癌、乳腺癌、胶质母细胞瘤等肿瘤发生的重要驱动因素。基因组位点的扩增和点突变导致肿瘤 EGFR 的不当激活, 自分泌/旁分泌也会引起 EGFR 的转录上调及其配体的过度生成。在化疗过程中, 伴随 EGFR 的扩增或二次突变, 肿瘤产生耐药性。所以, EGFR 被认为是肿瘤耐药的生物标志物之一^[2,7]。

骨形成发生蛋白 4 (bone morphogenetic proteins 4, BMP4) 是转化生长因子- β 家族中的一员, 可以抑制 GBM 的生长^[8]。BMP4 对肿瘤化疗耐药的调节, 可能主要通过其对 B 细胞白血病/淋巴瘤-2 (B cell leukemia/lymphoma-2, Bcl-2) 和胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell derived neurotrophic factor, GDNF) 的调节来实现的。BMP4 在 GBM 中表达降低, 可能会促进肿瘤的发生和发展, 且化疗耐药性增加。所以, BMP4 的低表达可能是化疗过程中 MDR 发生的原因之一^[9]。BMP4 可以通过抑制肿瘤中 Bcl-2 和 GDNF 表达, 逆转多药耐药, 提高 GBM 的化疗敏感性。GBM 细胞中 BMP4 处于高表达水平, Bcl-2 和 GDNF 的表达被明显抑制, 从而会使肿瘤的多药耐药受到抑制; 如果 GBM 细胞中 BMP4 表达降低或缺失, Bcl-2 和 GDNF 表达水平升高, 从而导致肿瘤细胞产生多药耐药。

2 GSC 机制

GBM 的放化疗耐受和治疗后复发主要由肿瘤内细胞的遗传和表型异质性特征所引起, 这主要与 GSC 的干细胞样细胞有关, GSC 影响肿瘤的增殖、耐药以及复发等过程^[5]。具有自我更新、无限增殖、多潜能分化特性的 GSC 被认为比分化的肿瘤细胞更耐受药物^[10]。GBM 中耐药 GSC, 以一种“干细胞样”状态的细胞群, 大量存在于肿瘤中, 它

们在体外可以形成神经球并表现出稳定的、较快的生长速率, 呈现“癌症干细胞样”特征^[11]。与非耐药细胞相比, GSC 细胞表现出较强的侵袭性^[6,12]。GSC 细胞能够产生促血管生成因子, 它们具有诱导内皮细胞增殖和迁移的能力, 在 GBM 向周围组织侵袭的过程中可促进血管生成, 为肿瘤组织的侵袭转移提供必要的营养条件。在 GSC 细胞中处于高表达状态的三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2 (ABCG2) 具有 ATP 依赖性的药物外排功能, 能够将药物泵出细胞, 这是 GSC 本身以及诱导 GBM 产生耐药的重要原因^[13]。另外, Notch、KDM、RTK-Akt、Wnt- β -catenin、TGF- β 等都与 GSC 的稳定、维持以及化疗耐药相关。GBM 耐药以及难治疗的特点可能也与 GSC 中具有慢循环表型的肿瘤细胞群有关, 它们具有先天性的耐受治疗特点, 具有干细胞特性的慢循环细胞能够促进肿瘤细胞的增殖和耐药过程的发生, 而且治疗后往往会复发^[5]。GSC 作为 GBM 中具有强致癌性的细胞类群, 被认为介导了 GBM 的细胞异质性特征、对化疗药物的耐受性以及 GBM 患者的预后不良现象。功能失活的抑癌基因 PTEN 能够诱发神经干细胞发生致癌性转化, 而抑癌基因 p53 的缺乏, 能够增强 PTEN 缺失细胞的致癌性^[14]。

3 自噬机制

自噬是细胞 (包括肿瘤细胞) 将受损或退化的细胞器等亚细胞结构降解的动态过程, 是一种细胞应激反应。细胞过度自噬引起的自噬性细胞死亡, 又被称作细胞程序性死亡。在癌症治疗的过程中, 化学治疗剂和放射治疗都可能将肿瘤细胞的自噬过程激活, 该过程也成为肿瘤治疗的潜在靶标过程。自噬在肿瘤的化疗和放疗过程中的具体作用, 是促进肿瘤的存活, 还是促进肿瘤的死亡, 不同研究获得的结果截然相反。也就是说, 自噬在化疗过程中具有双重作用, 其可以增强化疗药物的抑癌功效, 也可以产生治疗耐受。在 GBM 中, 化疗药物诱导的自噬可能导致肿瘤细胞死亡, 也可能具有肿瘤细胞保护作用, 这主要取决于肿瘤细胞所处的环境或状态^[15]。在 GBM 发生以及发展的早期阶段, 自噬主要起抑制肿瘤生长的作用, 所以在放疗和化疗过程中, 能够促进 GBM 细胞自噬的治疗方案, 可以抑制肿瘤的形成; 但是在肿瘤形成后, GBM 细胞的自噬过程作为对抗肿瘤实体内缺氧、缺少营养环

境等应激条件的保护机制,自噬反应在 GBM 组织内是上调的^[16]。因此,化疗药物诱导的自噬反应,有可能引起 GBM 的耐药。研究表明^[15,17],替莫唑胺治疗可以诱导对 GBM 细胞中 Akt-mTOR 通路的持续抑制,并产生短暂的自噬诱导,导致肿瘤细胞对治疗产生抵抗。

自噬作为肿瘤细胞的一种分解代谢过程,现正成为 GBM 耐药的关键参与因素。RAS 家族(特别是 KRAS)中的基因突变或改变将会促进细胞自噬,这将增强肿瘤的生长速度,并引起肿瘤细胞产生治疗耐受性^[18]。替莫唑胺治疗 GBM 的功效,通常受到肿瘤复发以及肿瘤细胞耐药性的限制^[19]。替莫唑胺处理肿瘤细胞后,自噬作用主要是作为促进其生存的主要机制,抑制自噬可改善基于替莫唑胺的癌症治疗效果^[15]。MicroRNA-30a(miR-30a)通过直接靶向 beclin1 并抑制自噬来增加胶质母细胞瘤细胞对替莫唑胺的化学敏感性^[20]。用替莫唑胺和 ERK1/2 激酶信号通路的特异性抑制剂同时处理 GBM 细胞时发现,肿瘤细胞对替莫唑胺的耐受作用得到一定程度的逆转^[15]。在 vemurafenib 存在的情况下,在体外持续培养黑色素瘤细胞,会使肿瘤细胞产生获得性耐药,但通过抑制肿瘤细胞的自噬作用,可以逆转这种获得性的耐药。BRAF 突变型脑肿瘤患者接受 vemurafenib 治疗后,发现患者获得耐药性,用自噬抑制剂治疗后,该患者对化疗敏感。联合使用激酶抑制剂和自噬抑制剂,而不是单一使用自噬抑制剂,可以控制肿瘤的生长,说明临床疗效主要是由于克服耐药,而不是由于抑制自噬而重新获得了敏感性^[18]。自噬可能在肿瘤的发生、发展以及耐受化疗药物中具有重要作用。基于自噬和化疗耐受之间的重要关系,肿瘤细胞的自噬无疑将成为癌症治疗的一个很有前景的治疗靶点^[15-16,18,20]。

4 上皮细胞间充质转化(EMT)机制

GBM 是最具侵袭性(WHO 分级 IV 级)的、常见的、恶性原发性脑肿瘤。GBM 的侵袭性特征,很大程度上与肿瘤的高迁移能力有关,从而造成肿瘤侵入周围组织。EMT 是 GBM 高侵袭性的关键调节因素,与 GBM 恶性程度密切相关^[6]。

微小 RNA(miRNA)是由非编码的 18~25 个核苷酸组成的单链,往往通过靶向 mRNA 的降解和/或抑制翻译来调节基因表达,导致编码蛋白质

的基因部分或完全沉默。miRNA 在细胞增殖、分化和凋亡过程中发挥关键作用^[6]。在 GBM 中,miRNA-203 靶向 Slug 并抑制 EMT,从而降低其对化学疗法的抗性。miRNA-203 在耐药的 GBM 细胞中显著下调,而且这些耐药细胞表现出间充质特征,例如 E-钙粘蛋白表达减少,间充质基因 ZEB1 和波形(弹性)蛋白上调,侵袭性增强,细胞活力增高^[6,21]。

转录因子 ZEB1 在 GBM 的发生、侵袭和耐药中发挥重要作用,影响 GBM 患者的生存质量和预后。ZEB1 是高度保守的含有锌指结构域的转录因子,与调控区域的 E-box 结合,有助于抑制上皮细胞基因以及间充质基因的激活。与正常表达 ZEB1 的 GBM 细胞相比,将 ZEB1 敲低的肿瘤细胞接种到小鼠的脑内,所形成的肿瘤侵袭性较小,且 ZEB1 低表达的细胞表现出对化疗药物的敏感性增加^[6]。

EMT 细胞形状发生改变而且对化疗产生耐受性^[6]。在利用人胶质母细胞瘤 U87 细胞系进行实验的过程中发现,巨噬细胞集落刺激因子(MCSF)在上皮细胞间充质转化细胞中产生耐药的过程中发挥重要作用。用 5-氟尿嘧啶(5-FU)处理细胞,过度表达前癌细胞因子 MCSF 的 U87 细胞相比正常培养的 U87 细胞更耐药,同时这些细胞表现出间充质化表型,而且与上皮细胞间充质转化诱导的形态变化一致^[6,22]。除 U87 细胞系外,其它的耐药 GBM 细胞系,也同样表现出与上皮细胞间充质转化相关的改变,如成纤维细胞样改变,迁移和侵袭能力增强等^[11]。

5 O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(O⁶-methyl-guanine-DNA-methyltransferase, MGMT)机制

GBM 对化疗药物耐药是造成 GBM 患者化疗后生存期较短和预后较差的主要原因,而 MGMT 介导的 GBM 耐药是化疗失败的重要机制之一^[23]。对 MGMT 启动子甲基化的 GBM 患者治疗后,其生存期较 MGMT 启动子非甲基化的 GBM 患者明显延长^[24]。MGMT 是一种 DNA 烷基化损伤修复酶,可同时发挥转移酶与甲基受体的作用,将烷基基团(如甲基、氯乙基)从 O⁶-甲基鸟嘌呤的六位氧转移到 MGMT 的半胱氨酸残基活性位上,形成 S-烷基半胱氨酸,使受到烷基化损伤的 DNA 分子上的鸟嘌呤脱去烷基, DNA 损伤则得到修复。由于 MG-

MT 介导的修复过程能够消除烷化剂类化疗药物对 GBM 细胞造成的 DNA 烷基化鸟嘌呤的形成,防止了药物对 DNA 造成的损伤,增强了 GBM 细胞对烷化剂类化疗药物的耐受性。GBM 细胞的 MGMT 活性能够反映肿瘤细胞对烷化剂类化疗药物产生的细胞毒作用的敏感性,而且 MGMT 活性与肿瘤细胞对烷化剂类药物的耐药性呈正相关,如果降低 GBM 细胞的 MGMT 活性可以逆转肿瘤细胞的耐药程度,从而提高化疗药物的抗肿瘤效果。

GBM 细胞中 MGMT 的活性水平与肿瘤细胞对化疗药物的耐药性呈正相关,主要表现为 MGMT 活性水平低的肿瘤细胞对化疗药物较敏感,而 MGMT 活性水平高的肿瘤细胞对化疗药物具有较明显的耐药性。化疗药物多次治疗诱导 MGMT 表达,可能是由 GBM 细胞的异质性所导致,GBM 的细胞群体是由不同的肿瘤细胞亚群所组成,不同的肿瘤细胞亚群对化疗药物的敏感性不同。在治疗初期,大多数肿瘤细胞对化疗药物敏感,治疗效果明显,但也不排除在肿瘤细胞群体中存在少量对化疗药物耐受的细胞亚群(如 GSC 细胞)。所以,在化疗过程中,大部分肿瘤细胞被杀死,而少量药物耐受的细胞得以存活,为耐药肿瘤细胞以后大量增殖提供可能的基础,从而导致肿瘤复发。

MGMT 的表达影响 GBM 的耐药性,其中肿瘤细胞 MGMT 基因启动子的甲基化状态是影响 MGMT 表达量的决定性因素,并可能对患者的化疗效果及其预后产生重要影响。MGMT 基因的 DNA 启动子甲基化,降低了 MGMT 的表达水平,从而提高了 GBM 患者的化疗疗效^[2]。MGMT 的表达较低或缺失,不是由于 GBM 细胞中 MGMT 基因丢失,而是由于肿瘤细胞中 MGMT 基因的表达处于关闭状态。DNA 的甲基化是细胞调节基因表达的重要形式之一。MGMT 基因的启动子区域富含 CpG 序列(又称 CpG 岛),而 CpG 岛的甲基化状态可以使 MGMT 基因的表达下调或关闭,从而导致 MGMT 的表达量下降或缺失,肿瘤细胞处于对化疗药物较敏感的状态。当肿瘤细胞在化疗药物的长期诱导下,使 GBM 细胞中原来处于表达关闭状态的 MGMT 基因重新表达,MGMT 处于较高的表达水平,肿瘤细胞从而产生耐药。但是在临床中,一些 MGMT 处于低表达状态的肿瘤仍然会对化疗药物产生较强的耐药性,说明在 MGMT 能够导致肿瘤对化疗药物产生耐药的机制之外,还有其他机制也在

该过程中发挥作用。

6 DNA 损伤修复机制

目前,针对大部分肿瘤的治疗方案主要通过损伤肿瘤细胞 DNA,杀死肿瘤细胞,这一过程主要包括干扰细胞 DNA 的复制和转录,并最终激活肿瘤细胞的死亡途径来实现。化疗药物对肿瘤细胞 DNA 的损伤,细胞可以高效修复,使其抵抗药物的杀伤,产生药物耐受性。化疗药物可能诱发几种不同类型的 DNA 损伤,肿瘤细胞可以通过多种 DNA 修复途径,如错配修复(Mismatch repair, MMR)^[25]、核苷酸切除修复(Nucleotide excision repair, NER)、碱基切除修复(Base excision repair, BER)、同源重组(Homologous recombination, HR)等路径参与 DNA 损伤的修复过程。参与获得性耐药机制的 DNA 修复途径因药物而异,并且所有主要的 DNA 修复途径都可以改变肿瘤细胞对 DNA 损伤剂的敏感性^[26]。化疗药物损伤肿瘤细胞的 DNA,造成 DNA 链间形成交联,达到杀伤肿瘤的目的,如果肿瘤细胞通过调动细胞的 NER、BER 等 DNA 损伤修复系统修复 DNA 损伤的能力增强,则会导致肿瘤组织对化疗药物产生耐受性^[15]。

7 结语与展望

化疗耐药是目前癌症治疗过程中普遍存在的问题,而肿瘤耐药的原因仍然不十分清晰。许多肿瘤最初可以通过化疗等手段进行有效治疗,但是随着化疗的进行,大多数患者会对化疗药物产生耐受。部分肿瘤有内在的、先天性的耐受药物治疗的特性,但是大部分肿瘤是在治疗的过程中获得的治疗耐受^[26]。GBM 细胞对化疗药物产生耐受是一个复杂的多种因素相互影响、相互作用的生物学过程,肿瘤细胞产生耐药与多种因子及其受体、癌基因及抑癌基因有关,且这些因子相互关联、相互影响。另外,肿瘤细胞对药物的应激反应、肿瘤微环境^[27]、凋亡调控通路异常、药物的渗透性、药物外排等因素都会影响 GBM 细胞对化疗产生耐受的过程。因此,单方面考虑某一个或某几个因素的作用很难充分阐述 GBM 化疗耐药的具体机制,其耐药是一个综合的、多种因素共同作用的结果。对 GBM 化疗耐药及其机制的研究,最终目的是寻找能够克服其耐药的相关解决方案,为 GBM 患者的合理用药和精准治疗提供新思路,提高 GBM 的化

疗效果。

参考文献:

- [1] Polivka J, Holubec L, Kubikova T, et al. Advances in experimental targeted therapy and immunotherapy for patients with glioblastoma multiforme[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(1): 21-33. DOI:10. 21873/anticancer. 11285.
- [2] Shao HL, Chung J, Lee K, et al. Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6999. DOI: 10. 1038/ncomms7999.
- [3] He YC, Meng H, Xu HD, et al. Regulation of integrated stress response sensitizes U87MG glioblastoma cells to temozolomide through the mitochondrial apoptosis pathway[J]. *Anat Rec*, 2018, 301(8): 1390-1397. DOI:10. 1002/ar. 23839.
- [4] Lohitesh K, Saini H, Srivastava A, et al. Autophagy inhibition potentiates SAHA-mediated apoptosis in glioblastoma cells by accumulation of damaged mitochondria[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(6): 2787-2796. DOI: 10. 3892/or. 2018. 6373.
- [5] Liao BB, Sievers C, Donohue LK, et al. Adaptive chromatin remodeling drives glioblastoma stem cell plasticity and drug tolerance[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(2): 233-246. DOI:10. 1016/j. stem. 2016. 11. 003.
- [6] Iser IC, Pereira MB, Lenz G, et al. The epithelial-to-mesenchymal transition-like process in glioblastoma: an updated systematic review and in silico investigation[J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(2): 271-313. DOI: 10. 1002/med. 21408.
- [7] Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer[J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 3-20. DOI:10. 1002/1878-0261. 12155.
- [8] Piccirillo SGM, Reynolds BA, Zanetti N, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 761-765. DOI:10. 1038/nature05349.
- [9] Lu C, Shervington A. Chemoresistance in gliomas[J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 312(1-2): 71-80. DOI: 10. 1007/s11010-008-9722-8.
- [10] Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(2): 293-299. DOI:10. 1111/j. 1349-7006. 2009. 01419. x.
- [11] Yan YR, Xie Q, Li F, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is involved in BCNU resistance in human glioma cells[J]. *Neuropathology*, 2014, 34(2): 128-134. DOI:10. 1111/neup. 12062.
- [12] Piao Y, Liang J, Holmes L, et al. Acquired resistance to anti-VEGF therapy in glioblastoma is associated with a mesenchymal transition[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(16): 4392-4403. DOI: 10. 1158/1078-0432. ccr-12-1557.
- [13] Gong X, Schwartz PH, Linskey ME, et al. Neural stem/progenitors and glioma stem-like cells have differential sensitivity to chemotherapy[J]. *Neurology*, 2011, 76(13): 1126-1134. DOI: 10. 1212/WNL. 0b013e318212a89f.
- [14] Duan SL, Yuan GH, Liu XM, et al. PTEN deficiency reprogrammes human neural stem cells towards a glioblastoma stem cell-like phenotype[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 10068. DOI:10. 1038/ncomms10068.
- [15] Yan YL, Xu ZJ, Dai S, et al. Targeting autophagy to sensitive glioma to temozolomide treatment[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35: 23. DOI: 10. 1186/s13046-016-0303-5.
- [16] Lefranc F, Facchini V, Kiss R. Proautophagic drugs: a novel means to combat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas[J]. *Oncologist*, 2007, 12(12): 1395-1403. DOI: 10. 1634/theoncologist. 12-12-1395.
- [17] Huang H, Song J, Liu Z, et al. Autophagy activation promotes bevacizumab resistance in glioblastoma by suppressing Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 1487-1494. DOI:10. 3892/ol. 2017. 7446.
- [18] Levy JMM, Towers CG, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(9): 528-542. DOI:10. 1038/nrc. 2017. 53.
- [19] Syro LV, Rotondo F, Ortiz LD, et al. 65 years of the double helix treatment of pituitary tumors with temozolomide: an update[J]. *Endocr-Relat Cancer*, 2018, 25(8): T159-T169. DOI:10. 1530/erc-18-0015.
- [20] Xu J, Huang H, Peng RJ, et al. MicroRNA-30a increases the chemosensitivity of U251 glioblastoma cells to temozolomide by directly targeting beclin 1 and inhibiting autophagy[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(6): 4798-4804. DOI:10. 3892/etm. 2018. 6007.
- [21] Liao HZ, Bai YF, Qiu SC, et al. MiR-203 downregulation is responsible for chemoresistance in human glioblastoma by promoting epithelial-mesenchymal transition via SNAI2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(11): 8914-8928. DOI:10. 18632/oncotarget. 3563.

(下转第 434 页)

- DOI:10.1016/j.foodchem.2015.02.041.
- [4] Salutia G, Diamantial I, Giusepponi D, et al. Simultaneous determination of aminoglycosides and colistins in food [J]. Food Chem, 2018, 266: 9-16. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.113.
- [5] Husniye I, Elmas OO. Analysis of veterinary drug and pesticide residues using the ethyl acetate multiclass/multiresidue method in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Meth Chem, 2016; 1-17.
- [6] Chen M, Ding SY, Wen k, et al. Development of a fluorescence-linked immunosorbent assay for detection of avermectins using a fluorescent single-domain antibody [J]. Anal Method, 2015, 7(9): 3728-3734.
- [7] 谭棕, 陈达. 牛奶中三聚氰胺的显微拉曼光谱检测新方法研究[J]. 分析仪器, 2016(S1): 51-53.
- [8] 魏玉娟, 李琳, 杨笑亚, 等. 近红外光谱模式识别三聚氰胺掺假牛奶[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(10): 48-51.
- [9] Jadhav MR, Pudale A, Raut P, et al. A unified approach for high-throughput quantitative analysis of the residues of multi-class veterinary drugs and pesticides in bovine milk using LC-MS/MS and GC-MS/MS [J]. Food Chem, 2019, 272: 292-305. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.08.033.
- [10] Rong LL, Wu XH, Xu J, et al. Determination of pydiflumetofen residues in some foods of plant and animal origin by QuEChERS extraction combined with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass [J]. Food Anal Method, 2018, 11(10): 2682-2692.
- [11] Zhou PP, Chen K, Gao M, et al. Magnetic effervescent tablets containing ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for determination of pyrethroids in milk [J]. Food Chem, 2018, 268: 468-475. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.06.099.
- [12] Gao Y, Sun P. Determination of five pyrethroid pesticides residue in liquid milk by gas chromatography using multi-walled carbon nanotubes as dispersion solid phase extraction sorbent [J]. Acta Chromatogr, 2018, 30(2): 141-146.
- [13] 范志影, 刘庆生, 常碧影. 液相色谱串联质谱法测定牛奶中的内源性雌激素 [J]. 分析实验室, 2016, 7(34): 751-755.
- [14] 尤亮亮, 魏巍, 刘海燕, 等. 固相萃取-高效液相色谱串联质谱测定牛奶中 9 种性激素残留 [J]. 中国测试, 2016, 5(42): 46-49, 55.
- [15] Zhou XW, Qu XY, Zheng N, et al. Large scale study of the within and between spatial variability of lead, arsenic, and cadmium contamination of cow milk in China [J]. Sci Total Environ, 2019, 65(2): 3054-3061. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.094.
- [16] Qu XY, Zheng N, Zhou XW et al. Analysis and risk assessment of seven toxic element residues in raw bovine milk in China [J]. Bio Trace Element Res, 2018, 183(1): 92-101. DOI: 10.1007/s12011-017-1116-x.
- (收稿日期 2018-09-10)
(本文编辑: 石俊强)

+++++
(上接第 430 页)

- [22] Chockalingam S, Ghosh SS. Amelioration of cancer stem cells in macrophage colony stimulating factor-expressing U87MG-Human glioblastoma upon 5-fluorouracil therapy [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e83877. DOI: 10.1371/journal.pone.0083877.
- [23] Teng J, Hejazi S, Hiddin L, et al. Recycling drug screen repurposes hydroxyurea as a sensitizer of glioblastomas to temozolomide targeting de novo DNA synthesis, irrespective of molecular subtype [J]. Neuro-Oncology, 2018, 20(5): 642-654. DOI: 10.1093/neuonc/nox198.
- [24] Hegi ME, Diserens A, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma [J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 997-1003. DOI: 10.1056/NEJMoa043331.
- [25] Stritzelberger J, Distel L, Buslei R, et al. Acquired temozolomide resistance in human glioblastoma cell line U251 is caused by mismatch repair deficiency and can be overcome by lomustine [J]. Clin Transl Oncol, 2018, 20(4): 508-516. DOI: 10.1007/s12094-017-1743-x.
- [26] Nagel ZD, Kitange GJ, Gupta SK, et al. DNA repair capacity in multiple pathways predicts chemoresistance in glioblastoma multiforme [J]. Cancer Res, 2017, 77(1): 198-206. DOI: 10.1158/0008-5472.can-16-1151.
- [27] 韩庆芳, 徐丁, 吴江. 胶质母细胞瘤和胶质瘤干细胞 [J]. 四川解剖学杂志, 2012, 20(3): 21-25. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1457.2012.068.
- (收稿日期 2018-08-26)
(本文编辑: 石俊强)