

Topo β 、GST α 、P-gp 在卵巢癌化疗耐药中的作用

陈慧君, 吴绪峰, 陈惠祯

The Role of Topo β , GST α , P-gp Played in the Multidrug Resistance of the Epithelial Ovarian

CHEN Hui-jun, WU Xu-feng, CHEN Hui-zhen

Department of Gynecology Oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Corresponding Author: WU Xu-feng, E-mail: karrel@etang.com

Abstract: **Objective** To investigate the role Topo β , GST α , P-gp played in multidrug resistance of the epithelial ovarian carcinoma. **Methods** The expression of Topo β , GST α , P-gp in 80 cases of ovarian carcinoma, 20 cases of benign ovarian tumor and 20 cases of normal control were determined by SP immunohistochemical technique. **Results** The positive expression rate of Topo β , GST α , P-gp in ovarian carcinoma was significantly higher than in benign tumors and normal tissues, $P < 0.05$. A significant relationship was shown between Topo β , GST α expression and pathologic grade as well as clinical stage, respectively, $P < 0.05$; No significant differences with P-gp expression were found in relation to the histopathology, pathologic grade and clinical stage, $P > 0.05$. The GST α , P-gp positive expressions in cases received chemotherapy before surgery were significantly higher than in cases who didn't, $P > 0.05$. **Conclusion** These data suggested that Topo β , GST α , P-gp played an important role in the multidrug resistance of the ovarian carcinoma.

Key words: Topo β ; GST α ; P-gp; Drug-resistance; Ovarian carcinoma

摘要: **目的** 探讨 Topo β 、GST α 、P-gp 在卵巢癌化疗耐药中的作用。 **方法** 采用免疫组化 SP 法、计算机图像分析技术对 80 例卵巢癌、20 例良性上皮性卵巢肿瘤、20 例正常卵巢组织中 Topo β 、GST α 、P-gp 的表达进行检测。 **结果** 卵巢癌中 Topo β 、GST α 、P-gp 的表达显著高于正常组及良性肿瘤组, $P < 0.05$ 。 Topo β 、GST α 的表达与肿瘤分化程度有关, 分化越差表达越高, $P < 0.05$; P-gp 的表达与多种病理因素无关, $P > 0.05$ 。 术前化疗组 GST α 、P-gp 的阳性表达率显著高于术前未化疗组, $P < 0.05$ 。 **结论** Topo β 、GST α 、P-gp 在卵巢癌耐药中发挥重要作用, 这三项指标的联合检测对制定合理的化疗方案具有积极的指导意义。

关键词: Topo β ; GST α ; P-gp; 卵巢癌; 耐药

中图分类号: R730.53; R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2006)03-0197-03

0 引言

卵巢癌是妇科常见恶性肿瘤之一, 5 年生存率仅占 30% 左右^[1]。化疗药物耐受是其治疗失败的主要原因之一。检测肿瘤耐药标志物, 有助于了解卵巢癌化疗耐药机制。本研究采用免疫组化 SP 法及计算机图像分析技术对卵巢良、恶性肿瘤组织中经典耐药标志物 Topo β 、GST α 、P-gp 的表达进行检测, 结合临床资料加以分析, 旨在从临床病理的角度揭示卵巢癌多药耐药现象, 为卵巢癌化疗疗效的判断及药物的选择提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选择武汉大学中南医院妇瘤科 1999 年 1 月 30 日~2001 年 11 月 30 日收治的上皮性卵巢癌患者 80 例为实验组。实验组患者中位年龄 51 岁 (27~69 岁), 早期患者行全子宫、双侧附件及大网膜切除术, 晚期患者行肿瘤细胞减灭术, 术后经组织学确诊。其中, 术前化疗者 20 例, 未化疗者 60 例。以 20 例双附件无病理情况子宫肌瘤患者的手术切除卵巢为正常对照组, 20 例良性上皮性卵巢肿瘤患者手术标本作为良性对照组。

1.2 试剂及实验方法

Topo β 、GST α 、P-gp 鼠抗人单克隆抗体 (即用型) 及 SP 免疫组化试剂购自福州迈新公司 (Maxim)。

收稿日期: 2005-08-09; 修回日期: 2005-12-27

作者单位: 430071 武汉大学中南医院妇瘤科

通讯作者: 吴绪峰, E-mail: karrel@etang.com

作者简介: 陈慧君 (1981-), 女, 硕士在读, 主要从事妇科肿瘤专业

所有标本经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,3μm 厚连续切片,分别进行常规 HE 染色核诊断和 SP 法免疫组化染色,染色步骤按操作说明书进行,DAB 显色,以 PBS 代替一抗作为阴性对照,相同条件下已知阳性片作阳性对照。用 HIPAS-1000 高清晰度彩色病理图像免疫组化测量系统进行图像分析。

1.3 染色结果的判断

Topo 阳性表达为胞核明显棕黄色颗粒,阳性细胞数 < 10% 为 (-), 10% ~ 29% 为 (+), 30% ~ 49% 为 (++) , 50% 为 (+++) [2,3]。GST- 以胞浆明显棕黄色颗粒为阳性表达,阳性细胞数 < 30% 为 (-), 30% ~ 49% 为 (+), 50% ~ 69% 为 (++) , 70% 为 (+++) [4]。P-gp 的阳性表达以胞膜呈明显棕黄染色为准,阳性细胞数 < 10% 为 (-), 10% ~ 29% 为 (+), 30% ~ 49% 为 (++) , 50% 为 (+++) [5,6]。

1.4 统计学处理

用 SPSS 软件包进行统计处理,各组间比较采用 Chi-square 检验和 Fisher's 精确检验法。

2 结果

2.1 Topo、GST-、P-gp 在正常卵巢上皮及良、恶性卵巢肿瘤组织中的表达,见表 1。Topo、GST-、P-gp 在卵巢癌中的阳性表达,见图 1~3。

Topo、GST-、P-gp 在卵巢癌中存在共同表达,GST- 与 Topo、P-gp 与 GST-、P-gp 与 Topo 共同表达的阳性率分别为 40%、32.5%、22.5%,三者共同表达的阳性率为 10.8%。

表 1 Topo、GST-、P-gp 在正常卵巢上皮及良、恶性卵巢肿瘤组织中的表达

组别	例数	Topo 阳性 (%)	P	GST- 阳性 (%)	P	P-gp 阳性 (%)	P
正常组	20	0(0)		2(10)		0(0)	
良性肿瘤组	20	0(0)	0.000	6(30)	0.000	0(0)	0.000
卵巢癌组	80	46(57.5)		62(77.5)		32(40.0)	

Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test

2.2 卵巢癌中 Topo、GST-、P-gp 的表达与临床病理特征之间的关系

Topo 及 GST- 的表达与肿瘤分化程度有关,分化越差表达越高, P < 0.05,而与年龄、组织类型和临床分期均无关, P > 0.05; P-gp 表达与卵巢癌组织类型、分化程度、临床分期及患者年龄均无关, P > 0.05,见表 2。

2.3 化疗对 Topo、GST-、P-gp 表达的影响

术前化疗组与未化疗组中 Topo 的阳性表达无显著差异, P < 0.05; 术前化疗组 GST-、P-gp

的阳性表达率显著高于术前未化疗组, P < 0.05,见表 3。

表 2 卵巢癌组织中 Topo、GST-、P-gp 的表达与临床病理特征之间的关系

临床病理特征	例数	Topo 阳性 (%)	P	GST- 阳性 (%)	P	P-gp 阳性 (%)	P
年龄	80	46(57.5)		62(77.5)		32(40)	
			0.073		0.593		0.651
51	42	20(46.6)		34(81.0)		18(42.9)	
>51	38	26(68.4)		28(73.7)		14(36.8)	
病理类型			0.904		0.315		0.874
浆液性	42	13(61.9)		18(85.7)		9(42.9)	
粘液性	12	3(50)		3(50)		2(33.3)	
子宫内膜样	14	3(42.9)		5(71.4)		2(28.6)	
透明细胞癌	6	2(66.7)		2(66.7)		2(66.7)	
未分化癌	6	2(66.7)		2(66.7)		1(33.3)	
病理分级			0.000		0.000		0.106
高分化	24	6(25.0)		12(50)		6(25)	
中分化	26	14(53.8)		22(84.6)		10(46.2)	
低分化	30	26(86.7)		28(93.3)		16(46.7)	
临床分期			0.644		0.128		0.318
/	22	8(36.4)		12(54.5)		6(27.3)	
	42	26(61.9)		36(85.7)		18(42.9)	
	16	12(75)		14(87.5)		8(50)	

Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test

表 3 术前化疗与 Topo、GST-、P-gp 的表达

组别	例数	Topo 阳性 (%)	P	GST- 阳性 (%)	P	P-gp 阳性 (%)	P
术前未化疗组	60	38(63.3)		42(70.0)		14(23.0)	
术前化疗组	20	8(40)	0.068	20(100)	0.005	18(90)	0.000

Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test

3 讨论

化疗在卵巢癌的治疗中占有重要的地位,但其远期效果并不理想。药物耐受是卵巢癌化疗难以取得实质性进展的主要障碍。

拓扑异构酶 是参与 DNA 复制、转录、修复的重要工具酶,分为、同功酶。研究表明 Topo 既可作为细胞增殖的标志,亦为许多抗癌药物的作用靶点,是一种多药耐药指标 [2]。Topo 所介导的耐药与细胞内药物靶酶活性改变或 DNA 修复有关,称非典型多药耐药 (atypical MDR, at MDR)。Koshiyama 等 [7] 的研究显示 Topo 指数与化疗反应的符合率高达 87.5%,结合组织学分型和分化程度有助于选择化疗药物。本资料中,Topo 在低分化肿瘤组织内的表达水平明显高于中、高分化组织,分化差的肿瘤因增殖快可能会引起 Topo 表达升高,提示 Topo 可成为细胞增殖的标志物。此外,Topo 的表达在术前未化疗组较低 (56.7%),术前化疗组与未化疗组相比其表达无显著差异,提示 Topo 可能与原发性耐药有关,与

获得性耐药无关。

谷胱甘肽转移酶是一组家族性的多功能酶,其中以 GST- 与肿瘤耐药的的关系最为密切,可催化 GSH 与亲电子药物如铂类、烷化剂结合,增强细胞解毒能力,从而介导耐药。在卵巢及卵巢癌组织中, GST- 是优势亚型,肿瘤组织中高表达反映了其胚胎特征^[4]。研究发现 GST- 在卵巢癌中的表达明显高于正常组织,表达率约在 54.1% ~ 89% 之间^[8,9],本资料显示出相似结果。本研究中 GST- 的表达与肿瘤分化程度有关,分化越差表达越强,分析可能与 GST- 在肿瘤恶性化转变过程中被诱导激活而获得较多的表达量有关,可成为指示肿瘤恶性程度的有用指标。是否肿瘤恶性程度越高,则由 GST- 介导的细胞解毒能力越强,有待进一步研究证实。GST- 在术前未化疗组中亦有较高表达,但在术前化疗组表达更高,说明 GST- 不仅与卵巢癌的原发性耐药有关,还与获得性耐药有关。

P-gp 是由多药耐药基因 MDR1 的编码的 ATP 依赖性转膜运载体,可将抗肿瘤药物泵出而使细胞内药浓度降低,主要介导天然来源和脂溶性药物的耐药,称为经典多药耐药。本资料显示良性卵巢肿瘤组织中无 P-gp 的阳性表达,说明卵巢并非 P-gp 的富集器官。卵巢癌组织中 P-gp 的阳性率仅为 40%,进一步证实了卵巢癌组织中 P-gp 并非优势表达,与有关报道结果一致^[5,6,10]。P-gp 在术前未化疗组中的低表达以及在术前化疗组中的高表达说明 P-gp 可能与卵巢癌的获得性耐药关系更大。

本资料中 Topo α 、GST-、P-gp 的共同表达反映了卵巢癌多药耐药机制是复杂的、多因素的,了解这一点,对临床上进行化疗及耐药逆转治疗非常重要。检测这些耐药标志,一方面我们可以初步预测化疗反应;另一方面,在选择化疗方案时,可避开与此有关联的抗癌药物;此外,我们还可有针对性的

进行耐药逆转治疗。多种耐药基因的表达如何调控以及各不同耐药机制之间的交互作用尚需进一步研究探讨。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Parker SL, Tong T, Bolden S, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 1997, 47(1): 5-7.
- [2] Tanoguchi K, Sasano H, Yabuki N, et al. Immunohistochemical and two-parameter flow cytometric of DNA topoisomerase alpha in human epithelial ovarian carcinoma and germ cell tumor[J]. Mod Pathol, 1998, 11(2): 186-193.
- [3] Gotlieb WH, Goldberg I, Weisz B, et al. Topoisomerase immunostaining as a prognostic marker for survival in ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2001, 82(1): 99-104.
- [4] Hamada SI, Kamada M, Furumoto H, et al. Expression of glutathione-S-transferase in human ovarian cancer as an indicator of resistance to chemotherapy[J]. Gynecol Oncol, 1994, 52(3): 3134.
- [5] Baekelandt MM, Holm R, Nesland JM, et al. P-glycoprotein expression is a marker for chemotherapy resistance and prognosis in advanced ovarian cancer[J]. Anticancer Res, 2000, 20(2B): 1061-1067.
- [6] Mayr D, Pannekamp U, Baretton GB, et al. Immunohistochemical analysis of drug resistance-associated protein in ovarian carcinomas. Pathol Res Pract, 2000, 196(7): 469-475.
- [7] Koshiyama M, Fujii H, Kinezaki M, et al. Correlation between Topo α expression and chemosensitivity testing for Topo α -targeting drugs in gynecological carcinomas. Anticancer Res[J]. 2001, 21, (2A): 905-910.
- [8] Chalia AA, Robboh NA, Shalakani A, et al. Estimation of glutathione-S-transferase and its pi isoenzyme in tumor tissues and sera of patients with ovarian cancer[J]. Anticancer Res, 2000, 20: 1229-1235.
- [9] 马琳, 欧阳玲. 卵巢癌 GST- 基因的表达及其临床意义[J]. 实用肿瘤学杂志, 2000, 14(4): 258-259.
- [10] Ozalp SS, Yalcin OT, Tanir M, et al. Multidrug resistance gene-1 (P-gp) expression in epithelial ovarian malignancies[J]. Eur J Gynecol Oncol, 2002, 23(4): 337-340.

[编辑:刘红武]

结直肠癌中 PTEN 蛋白的表达

(正文见 183 页)

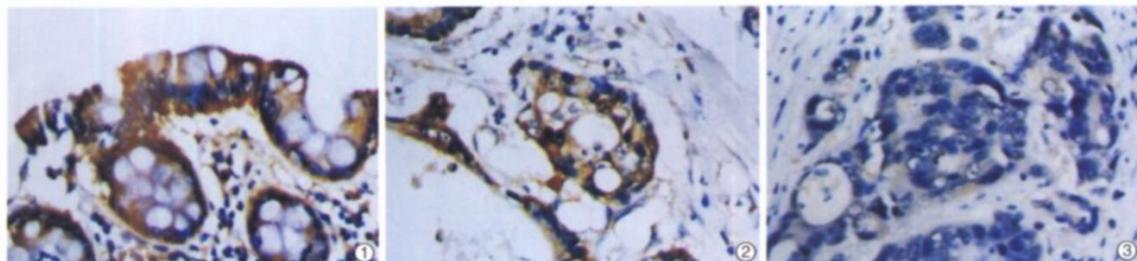


图1 正常大肠粘膜 PTEN 表达 (SP × 400) 图2 结直肠癌 (高分化) PTEN 表达 (SP × 400)
图3 结直肠癌 (低分化) PTEN 表达 (SP × 400)

姜黄素诱导人结肠癌细胞株 SW480 凋亡及其 bcl-2 表达相关性研究

(正文见 185 页)



图1 姜黄素诱导 SW480 细胞凋亡的情况(TUNEL × 400)

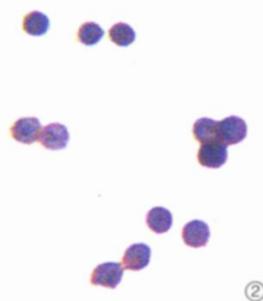


图2 bcl-2 蛋白在 SW480 细胞中的阳性表达(SABC × 200)

TopoII α 、GST- π 、P-gp 在卵巢癌化疗耐药中的作用

(正文见 197 页)

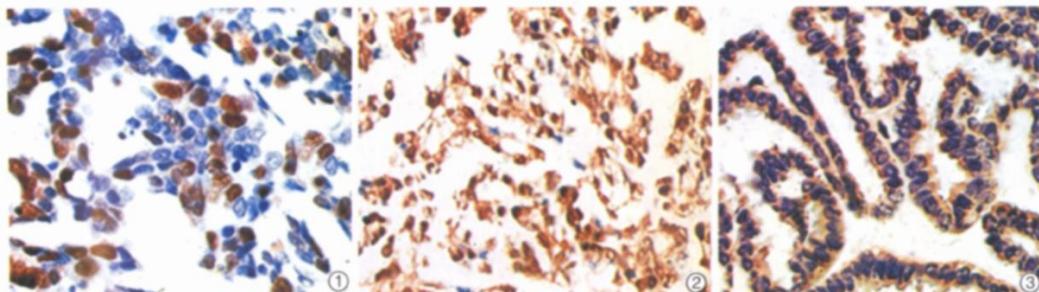


图1 卵巢癌组织 TopoII α 的表达 (++) 图2 卵巢癌组织 GST- π 的表达 (+++)
图3 卵巢癌组织 P-gp 的表达 (+++)