

卵巢癌中 PKC 和 P-gp 的表达及其临床意义

夏 婷,吴绪峰,陈惠祯

Expression and Clinical Significance of Protein Kinase C and P-glycoprotein in Ovarian Cancer

XIA Ting, WU Xu-feng, CHEN Hui-zhen

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

Abstract :Objective To study the significance of protein kinase C(PKC) and P-glycoprotein(P-gp) in patients with ovarian cancer. **Methods** The expression of PKC and P-gp in 35 cases of ovarian cancer, 20 cases benign tumor and 20 normal ovarian epithelial tissues was determined by using immunohistochemical S-P method. The relationship between the expression of PKC and clinical pathologic features were analyzed. **Results** (1) Positive expression of PKC and P-gp in malignant was higher than the expression in benignancy and normal tissues; and the positive expression with PKC had significant difference between the initially treated patients and those with tumor recurrence. (2) There was no direct correlation between the expression of PKC and clinical pathological data. (3) The expression of PKC had correlation with P-gp ($P < 0.05$). (4) The response rate to chemotherapy in patients with positive PKC and negative PKC was 23.5%, 66.7% respectively ($P < 0.05$). (5) The PKC positive patients were poorer in prognosis than negative ones ($P = 0.039$). **Conclusion** These results strongly suggested that PKC expression in epithelial ovarian cancer tissues was closely related to the expression of P-gp, and probably played a role in multidrug resistance phenotype in ovarian cancer.

Key words: Protein kinase C(PKC); P-glycoprotein(P-gp); Ovarian cancer; Multidrug resistance

摘 要:目的 探讨卵巢癌组织蛋白激酶 C(PKC)和 P-糖蛋白(P-gp)表达及其临床意义。方法 用免疫组化 S-P 法检测 35 例卵巢癌、20 例卵巢良性肿瘤和 20 例正常卵巢组织中 PKC 和 P-gp 的表达,并进行相关临床因素分析。结果 (1) PKC、P-gp 在卵巢恶性肿瘤中的表达明显高于在良性及正常组织中的表达;初治和复发病例 PKC 阳性表达有显著差异($P < 0.05$)。(2) 卵巢癌 PKC 的表达与临床病理因素无直接关系。(3) 卵巢癌中 PKC 和 P-gp 的表达有显著相关性($P < 0.05$)。(4) 化疗对 PKC 表达阳性和阴性卵巢癌患者的有效率分别为 23.5%、66.7%($P < 0.05$)。(5) PKC 表达阴性患者的预后优于阳性者($P = 0.039$)。结论 PKC 表达与 P-gp 的表达明显相关,可能在卵巢癌多药耐药中起重要作用。

关键词:蛋白激酶 C; P-糖蛋白; 卵巢癌; 多药耐药

中图分类号:R737.31 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2005)03-0152-03

0 引言

在上皮性卵巢癌的治疗中,化疗占据了相当重要的位置,但肿瘤细胞对化疗药物的耐药却大大限制了化疗药物的疗效,导致化疗失败,肿瘤复发。产生耐药的机制是复杂的、多因素的。近年来认为 PKC 可能通过磷酸化 P-gp 来调节其转运功能,从而参与了肿瘤耐药的发生、发展。关于 PKC 与化疗耐药的的关系,国内外已在胃癌、血液系统肿瘤、乳腺癌的多药耐药中有研究,对于卵巢癌的研究较少见。本文旨在探讨 PKC 与卵巢癌多药耐药的的关系和在预后中的作用,分析 PKC 与 P-gp 的相关性,从而为

进一步明确卵巢癌的耐药机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

全部病例来自我院 1997 年 2 月~2003 年 7 月间手术切除的标本,均经我院病理科确诊。卵巢癌 35 例,初治 23 例、复发 12 例,其中浆液性 20 例、黏液性 8 例、混合性癌 3 例、透明细胞癌 2 例、子宫内膜样癌 2 例;按 FIGO 分期标准, 期 4 例、 期 9 例、 期 18 例、 期 4 例;全部病例术前均未接受化疗,术后给予 PC 方案化疗至少 3 个疗程。每次化疗前行妇检,测定 CA125, B 超检查,评价前一疗程的化疗效果。化疗反应的评定方法按国际抗癌联盟(UICC)标准^[1]。全部病例均经随访,随访时间 3~

收稿日期:2004-06-03;修回日期:2004-09-13
基金项目:湖北省教委资助项目(2001A14006)
作者单位:430071 武汉大学中南医院妇科

87 个月。20 例卵巢良性肿瘤中浆液性 13 例、黏液性 7 例。10 例正常卵巢组织均为子宫肌瘤手术时，切除的卵巢组织并经组织学检查为正常者。

1.2 方法

免疫组化采用链酶素抗生物素-过氧化物酶连接法(S-P 法)。PKC 单抗为武汉博士得生物公司产品，P-gp 单抗、S-P 试剂盒购于北京中山公司。免疫组化主要反应步骤按试剂盒说明书操作。PKC、P-gp 检测以人成熟胎盘组织为阳性对照。每次试验以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组化结果判断^[2]

PKC、P-gp 着色部位均在胞膜或胞浆。每张切片计数 100 个肿瘤细胞，阳性细胞数 0 为 -，1%~25% 为 +，26%~50% 为 ++，>50% 为 +++。

1.4 统计学方法

统计学方法采用 Kaplan-Meier 生存曲线法计算患者生存率。Spearman 等级相关计算 PKC、P-gp 表达的相关性。其他采用 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率。

2 结果

2.1 各种卵巢组织中 PKC、P-gp 的表达

卵巢良、恶性组织中 PKC 阳性表达率分别为 48.6% 和 10.0%；正常卵巢组中无 1 例表达。卵巢癌组 P-gp 阳性表达率 42.9%，良性和正常组中均无表达。3 组相比较，PKC、P-gp 表达差异有极显著性 ($P < 0.01$)。另外，23 例初治者中，PKC 表达阳性 8 例，占 34.8%；12 例复发者中，PKC 表达阳性 9 例，占 75%。二者比较，差异有显著性 ($P < 0.05$)。

2.2 卵巢癌组织 PKC 表达与临床病理学参数的关系

PKC 阳性和阴性组的临床病理学参数见表 1。经 χ^2 检验，上述两组各项参数之间的差异均无显著意义 ($P > 0.05$)。

2.3 PKC 的表达与卵巢癌化疗疗效的关系

35 例卵巢癌患者化疗总反应率为 45.7% (16/35)，PKC 表达阴性者和阳性者的化疗有效率(缓解+部分缓解)分别为 66.7%、23.5%，两者比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4 PKC 与 P-gp 表达之间的关系

应用 Spearman 等级相关，PKC 和 P-gp 表达之间的相关系数为 0.429， $P = 0.01$ ，见表 2。

2.5 卵巢癌组织 PKC 表达与预后的关系

对 35 例患者进行随访。应用 Kaplan-Meier 生存曲线法计算患者生存率，见图 1。PKC 表达阳性的患者平均生存时间中位数为 23.94 月，1、3 年生存

表 1 临床病理学因素与卵巢癌 PKC 表达的关系

临床病理学参数	例数	PKC 阳性	PKC 阴性	P
临床分期				
期	4	2	2	>0.05
期	9	4	5	
期	18	8	10	
期	4	3	1	
病理分级				
1	6	3	3	>0.05
2	16	6	10	
3	13	8	5	
组织类型				
浆液性囊腺癌	20	11	9	>0.05
黏液性囊腺癌	8	4	4	
混合性癌	3	0	3	
子宫内膜样癌	2	2	0	
透明细胞癌	2	0	2	

表 2 PKC 与 P-gp 的相关分析

PKC	P-gp		合计
	+	-	
+	11	6	17
-	4	14	18
合计	15	20	35

$r^2 = 0.429, P = 0.01$

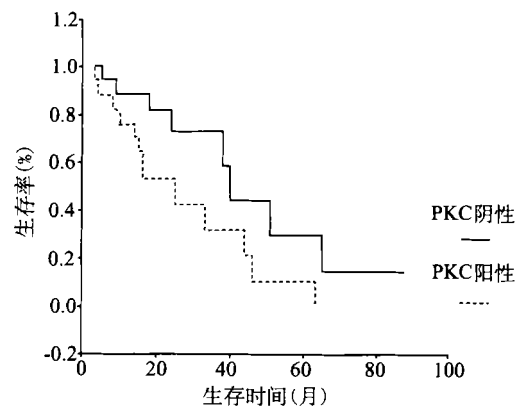


图 1 PKC 表达阳性与阴性患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

率分别为 49.87% 和 10.58%；PKC 表达阴性的患者生存时间中位数为 46.13 月，1、3 年生存率分别为 81.76% 和 45.91%。二者比较，差异有显著性 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 卵巢癌组织中 PKC 表达与临床耐药的关系

蛋白激酶 C 是一组由单一多肽链组成的，磷脂依赖性 Ca^{2+} 激活的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶。目前已发现 PKC 在哺乳动物细胞中有 12 种亚型。PKC 是甘油二酯蛋白激酶 C 信号传导系统的主要信号分子，在生命活动中发挥了广泛而重要的作用。它

参与了信息的传递、分泌、离子通道的调节、细胞增殖分化与癌变等生命过程。研究发现,PKC 还参与了多药耐药的发生、发展。体外实验研究表明,多种肿瘤的耐药细胞系的 PKC 活性较敏感细胞系高数倍^[3,4],提示 PKC 的激活与肿瘤的多药耐药有关。本研究结果显示,卵巢癌组织中 PKC 的阳性表达率明显高于良性组及正常组。同时本研究也发现,肿瘤组织中 PKC 阳性表达的患者对化疗的有效率为 23.5%,而 PKC 表达阴性的患者对化疗的有效率则可达 66.7%。两者比较差异有显著性。这一结果与韩英等人^[5]的体外药敏实验结果一致。这提示 PKC 可能在卵巢癌的化疗耐药中也发挥了重要作用。

肿瘤耐药患者中有一部分为获得性耐药。我们的实验证实,复发患者的肿瘤组织中 PKC 表达阳性率明显高于初治者。提示卵巢癌对化疗药物的获得性耐药,可能与肿瘤组织在接受化疗后出现 PKC 基因的扩增与过度表达有关。Beck 等^[6]分析了 5 位合并腹水的卵巢癌细胞,发现接受化疗后,其中 4 位 *mdr1*、PKC、MRP 和 LRP mRNA 水平升高,可能是由于 PKC 上调了耐药相关基因所致,停止化疗后,所有患者的 *mdr1*、PKC、MRP 和 LRP mRNA 水平下降。这从另一角度说明了这一点。

3.2 PKC 与 P-gp 协同表达的意义

我们在检测 PKC 表达的同时,辅以检测 P-gp 的表达。分析发现 PKC 与 P-gp 表达间存在着明显的相关性($r^2 = 0.429$, $P = 0.01$),二者协同表达。这与王薇等人的体外研究结果是一致的^[7]。这提示 PKC 与 P-gp 之间可能存在调控关系。有人提出 PKC 直接影响了不同耐药蛋白的表达及磷酸化的程度,其中研究得最多的是 PKC 对 P-gp 磷酸化的影响。P-gp 的磷酸化是依赖 ATP 向细胞外转运药物的必要条件,P-gp 的磷酸化状态影响细胞内药物的聚集,磷酸化速度越快,转运药物能力就越强,PKC 可增强 P-gp 的磷酸化,加强药物外排功能,从而导致肿瘤的多药耐药。Beltran 等人^[8]用 PKC 的抑制剂作用于耐多柔比星的人乳腺癌细胞株,结果抑制剂在阻滞 PKC 活性的同时,减少了 P-gp 的磷酸化,增加了药物的细胞内聚集。从而阻断了 P-gp

介导的多药耐药。这有力的证明了 PKC 能增加 P-gp 的磷酸化。关于 PKC 在多药耐药中的作用机制值得进一步深入研究。

3.3 PKC 表达与肿瘤预后的关系

我们的研究结果发现,PKC 表达阳性的卵巢癌患者的中位生存时间是 23.9 月,表达阴性者的中位生存时间是 46.13 月。用 Kaplan-Meier 生存曲线分析,显示 PKC 表达阳性的患者的生存时间比 PKC 表达阴性者明显缩短($P = 0.039$)。提示,PKC 是否表达有可能成为肿瘤预后的重要指标之一。综上所述,PKC 表达与卵巢癌组织化疗耐药明显相关,可能在卵巢癌多药耐药中起重要作用。但对于 PKC 在卵巢癌耐药发生、发展中的机制还须进行深入的研究,这对揭示卵巢多药耐药的发生机制及其逆转、临床上选择高效特异性逆转耐药的药物具有重要意义。

参考文献:

- [1] Miller AB, Hoogstraten B, Stacuet M, et al. Reporting results of cancer treatment. *Cancer*[J]. 1981, 47(A): 207-214.
- [2] 孔垂泽,李泽良,杨涛,等. 肾盂输尿管癌多药耐药与蛋白激酶 C 的相关研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2001, 18(3): 245-246.
- [3] Ratnasinghe D, Phang JM, Yeh GC. Differential expression and activity of phosphatases and protein kinases in adriamycin sensitive and resistant human breast cancer MCF-7 cell [J]. *Int J Oncol*, 1998, 13(1): 79-84.
- [4] Dolfini E, Dasdia T, Arancia G, et al. Characterization of a clonal human colon adenocarcinoma line intrinsically resistant to doxorubicin[J]. *Br J Cancer*, 1997, 76(1): 67-76.
- [5] 韩英,时永全,李玲,等. 蛋白激酶 C 同工酶 PKC- α 及 PKC- β 在胃癌及其耐药细胞中的表达和功能[J]. *中华肿瘤杂志*, 2001, 23(2): 103-106.
- [6] Beck J, Bohnet B, Brugger D, et al. Expression analysis of protein kinase C isozymes and multidrug resistance associated genes in ovarian cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(2A): 704-705.
- [7] 王薇,杨晓葵,邬素芳,等. 不同蛋白激酶 C 同工酶亚型对卵巢癌细胞耐药性的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2003, 12(5): 351-353.
- [8] Beltran PJ, Fan D, Fidler IJ, et al. Chemosensitization of cancer cells by the staurosporinederivative CGP 41251 in association with decrease P-glycoprotein phosphorylation[J]. *Biochem Pharmacol*, 1997, 53(2): 245-247.

[编辑:贺文;校对:刘红武]