

# 新辅助化疗对乳腺癌 P-gp、GST- $\pi$ 的影响及意义

杨海松, 黄建军

## Effects of Neoadjuvant Chemotherapy on P-gp, GST- $\pi$ Expression in Breast Cancer

YANG Hai-song, HUANG Jian-jun

Department of Mastopathy, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China

**Abstract: Objective** To explore the expression of P-gp and GST- $\pi$  in breast cancer tissue receiving neoadjuvant chemotherapy and explore its clinical significance. **Methods** Expressions of P-gp; GST- $\pi$  in 100 breast cancer patients before and after neoadjuvant chemotherapy were measured by immunohistochemistry Envision method. The relationship between P-gp, GST- $\pi$  and the effect of neoadjuvant chemotherapy was analyzed by chi-square test. **Results** The overall response rate to neoadjuvant chemotherapy was 79%. In patients with P-gp, GST- $\pi$  positive expression, the response rate to chemotherapy were 69.04%, and 77.08%, and in patients with P-gp, GST- $\pi$  negative expression, the response rate to chemotherapy were 86.20% ( $P < 0.05$ ) and 80.76% ( $P > 0.05$ ). The positive expression of P-gp before and after chemotherapy were 41.75% and 64.83%, respectively, and their difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The positive expression of GST- $\pi$  before and after chemotherapy were 49.45% and 54.94%, respectively, and no difference was found between them ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The expression of P-gp increased significantly after neoadjuvant chemotherapy. It suggested that P-gp could be used to predict the therapeutic efficacy of neoadjuvant chemotherapy.

**Key words:** Breast cancer; Neoadjuvant chemotherapy; P-gp; GST- $\pi$

**摘要:目的** 探讨 P-糖蛋白(P-gp)和谷胱甘肽转移酶(GST- $\pi$ )在新辅助化疗乳腺癌组织的表达及临床意义。**方法** 采用免疫组织化学方法检测 100 例乳腺癌患者新辅助化疗前后肿瘤组织中 P-gp 及 GST- $\pi$  的表达,并与疗效作相关性分析。**结果** 新辅助化疗总有效率 79%, P-gp、GST- $\pi$  阳性者化疗有效率分别为 69.04% 和 77.08%, 阴性者分别为 86.20% ( $P < 0.05$ ) 和 80.76% ( $P > 0.05$ )。P-gp 在化疗前后的阳性表达率分别为 41.75% 和 64.83%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); GST- $\pi$  在化疗前后阳性表达率分别为 49.45% 和 54.94%, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** 新辅助化疗后 P-gp 表达显著升高, P-gp 对乳腺癌新辅助化疗疗效有一定预测价值。

**关键词:** 乳腺癌; 新辅助化疗; P-gp; GST- $\pi$

**中图分类号:** R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2009)02-0147-03

## 0 引言

目前新辅助化疗已越来越多地应用于可切除乳腺癌的治疗中<sup>[1-2]</sup>, 而肿瘤细胞的多药耐药 (Multi-drug resistance, MDR) 是导致乳腺癌化疗失败的重要原因之一, MDR 的产生与多药耐药类蛋白 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 和谷胱甘肽转移酶 (Glutathione S-transferase Pi, GST- $\pi$ ) 的表达密切相关<sup>[3-4]</sup>。目前乳腺癌新辅助化疗与肿瘤耐药性的关系尚不明确<sup>[5-6]</sup>。我们对可手术的乳腺癌采用剂量密集疗法行新辅助化疗, 了解其对 P-gp 和 GST-

$\pi$  表达的影响并探讨二者表达与化疗疗效的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

我院 2005 年 10 月~2007 年 10 月收治的乳腺癌患者 100 例入选, 患者均为女性, 年龄 24~69 (平均 47.5) 岁。其中病理分型: 浸润性导管癌 53 例, 浸润性小叶癌 29 例, 特殊类型癌 9 例。临床分期: II 期 63 例, III 期 28 例。

### 1.2 病例入选标准

(1) 女性, 可手术乳腺癌, 化疗前经超声、X 线、骨扫描等检查无远处转移; (2) 入院前未接受任何相关治疗; (3) 有可测量或可评价的肿瘤病灶, 钼靶或 B 超可测病变直径  $\geq 2$ cm; (4) 化疗前均在超声引导下行麦默通穿刺活检证实为乳腺癌; (5) 无化疗禁忌

收稿日期: 2008-02-28; 修回日期: 2008-06-16

基金项目: 贵州省卫生厅基金项目 (黔卫发 [2007] 119 号)

作者单位: 550004 贵阳医学院附属医院乳腺外科

作者简介: 杨海松 (1974-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事乳腺癌外科治疗及综合治疗工作

证;(6)化疗前麦默通穿刺活检标本和术后大体标本均行 P-gp 和 GST- $\pi$  检查。

### 1.3 新辅助化疗方案及疗效评价

采用 AC 化疗方案或 TA 方案。其中 AC 方案:环磷酰胺 600 mg/m<sup>2</sup>,静脉注射,第 1 天;阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup>或表阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup>,静脉注射,第 1 天。TA 方案:多西紫杉醇 75 mg/m<sup>2</sup>,静脉滴注,第 1 天;阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup>或表阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup>,静脉滴注,第 1 天。以上方案每 2 周重复 1 次。疗效评价依据世界卫生组织(WHO)实体瘤近期疗效评价标准分为:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD)。每例术前化疗均在完成 2 周期后评价。完全缓解、部分缓解及稳定者继续原方案 2 周期,化疗结束后 14~21 天择期手术。进展者换方案再化疗 2 周期后评价,14~21 天择期手术。总有效 = CR + PR,其中 CR 包括病理完全缓解(pCR)和临床完全缓解(cCR)。

### 1.4 P-gp、GST- $\pi$ 蛋白表达及结果判定

所有病例术前活检枪取出的组织和术后的标本均行 P-gp、GST- $\pi$  检测,由我院病理科采用免疫组化 Envision 法。P-gp、GST- $\pi$  抗体为基因公司产品。P-gp 蛋白定位于细胞膜和细胞质,阳性反应者显示为棕黄色颗粒,并根据阳性细胞数的多少量化分级:阳性细胞数 < 5% 为阴性;阳性细胞数 5%~25% 为 +;阳性细胞数 25%~50% 为 ++;阳性细胞数 50%~75% 为 +++;阳性细胞数 > 75% 为 ++++。GST- $\pi$  以细胞质呈清晰的棕色着色为阳性,分级同 P-gp。P-gp、GST- $\pi$  阳性反应仅有程度改变称量变;由阳性(阴性)变为阴性(阳性)称状态改变。

### 1.5 统计方法

用 SPSS(13.0)软件包行  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 疗效评估

100 例乳腺癌患者中新辅助化疗总有效率为 79%,其中 CR 21 例(pCR 9 例,cCR 12 例,21%),PR 58 例(58%),SD 21 例(21%),无 PD 病例。

### 2.2 新辅助化疗前 P-gp 和 GST- $\pi$ 表达与化疗疗效的关系

100 例接受新辅助化疗的乳腺癌患者中,P-gp 阳性表达组化疗临床有效率为 69.04%,阴性组为 86.20%,P-gp 阴性表达组化疗效果高于阳性组,两组间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。GST- $\pi$  阳性表达组化疗临床有效率为 77.08%,阴性组为 80.76%( $P > 0.05$ ),两组间的差异无统计学意义( $P$

$> 0.05$ ),见表 1。

表 1 新辅助化疗前 P-gp、GST- $\pi$  表达与化疗疗效的关系

免疫组化指标	例数	新辅助化疗疗效			P	
		有效	无效	有效率(%)		
P-gp	阳性	42	29	13	69.04	$< 0.05$
	阴性	58	50	8	86.20	
GST- $\pi$	阳性	48	37	11	77.08	$> 0.05$
	阴性	52	42	10	80.76	

### 2.3 新辅助化疗前后 P-gp、GST- $\pi$ 表达及其改变

100 例接受新辅助化疗的乳腺癌患者中有 9 例术后病理完全缓解,术后标本无法作 P-gp、GST- $\pi$  检测而排除。实际共 91 例纳入本项研究中。91 例患者中化疗前 P-gp 表达阳性为 38 例(41.75%),化疗后 P-gp 表达阳性的为 59 例(64.83%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ );其中化疗前后 P-gp 表达量变的为 12 例;表达状态发生改变的为 21 例,均为由阴性转为阳性。GST- $\pi$  在化疗前阳性表达为 45 例(49.45%),化疗后表达阳性为 50 例(54.94%),差异无统计学意义( $P > 0.05$ );其中化疗前后 GST- $\pi$  表达量变为 12 例;化疗前后 GST- $\pi$  表达状态发生改变的为 7 例。其中 GST- $\pi$  有 1 例由阳性转为阴性,有 6 例由阴性转为阳性,见表 2。

表 2 新辅助化疗前后 P-gp、GST- $\pi$  表达变化

免疫组化指标	新辅助化疗前	新辅助化疗后	P	
P-gp	阳性	38	59	$< 0.05$
	阴性	53	32	
	阳性率(%)	41.75	64.83	
GST- $\pi$	阳性	45	50	$> 0.05$
	阴性	46	41	
	阳性率(%)	49.45	54.94	

## 3 讨论

新辅助化疗具有消除全身微转移灶、提高无病生存率、降低乳腺癌的分期、减少手术范围、增加保乳手术的机率和减少耐药细胞出现等特点,已越来越广泛地应用于乳腺癌患者。但肿瘤细胞的 MDR 依然是影响化疗疗效的一大原因,MDR 是指肿瘤细胞接触某一抗癌药物产生耐药性的同时,对其他结构、作用机制不同的抗肿瘤药物亦产生交叉耐药性。它既可表现在化疗开始前就存在的内源性耐药,又可表现在化疗过程中不断出现的获得性耐药。乳腺癌 MDR 的产生与 P-gp、GST- $\pi$  的表达密切相关,而新辅助化疗为临床医生和研究人员提供了一个理想的体内药敏模型,使进一步研究上述生物学指标的预期意义成为可能。

剂量密集疗法是指在每次用药剂量不变的情况

下,缩短用药间隔时间,以达到提高疗效、延长生存期,改善患者生活质量的目的。目前密集化疗在乳腺癌辅助治疗中的作用和地位已经得到验证<sup>[7]</sup>,近年来密集化疗在乳腺癌的新辅助化疗中也广泛应用,其优势在于可以提高有效率,缩短治疗时间,争取早日手术,并增加保乳手术的机会<sup>[8]</sup>。我们在本研究中应用剂量密集双周方法,采用含蒽环类药物和(或)紫杉醇联合化疗,其原发灶临床有效率为 79%,其中完全缓解 21%,具有较高的临床疗效,且患者耐受性好、安全、有效。

有研究表明,P-gp 在乳腺癌的 MDR 中起着关键作用,P-gp 作为能量依赖性“药泵”,定位于细胞膜,P-gp 的高表达主要造成肿瘤对几种亲脂性药物耐受,其中对生物碱类高度耐受,对蒽环类中度耐受,对 VP-16 等低度耐受,对烷化剂或抗代谢类药物不耐受<sup>[9]</sup>。本研究中,乳腺癌患者 P-gp 表达阴性组化疗有效率高,新辅助化疗前后 P-gp 表达状态的改变也有显著差异,有 21 例由阴性转为阳性,使新辅助化疗后 P-gp 阳性表达率明显升高,与相关报道一致<sup>[10]</sup>。究其原因可能是:①肿瘤细胞存在原发性耐药,P-gp 表达阴性者对含蒽环类和(或)紫杉醇类药物的化疗方案较阳性者敏感;②新辅助化疗是通过杀灭对化疗药物敏感的癌细胞而出现 P-gp 阳性细胞的比率相对增加,这些残留癌细胞可能对化疗药物存在着原发性耐药,并非完全是化疗诱导的获得性耐药;③新辅助化疗前后 P-gp 表达状态的改变均为由阴性转为阳性,表明肿瘤细胞在化疗诱导下可能产生获得性耐药。此外部分患者的 P-gp 表达改变可能与对 P-gp 染色技术的主观性有关;化疗后可能降低了肿瘤细胞对染色的透明度,从而影响判断及肿瘤样本差异(术前的活检标本和术后用于检测 PR 和 ER 的肿瘤标本只能是整个肿瘤组织的一部分,整个肿瘤组织内部存在生物学差异)。

GST 是一个多基因家族,其中 GST- $\pi$  在乳癌组织中表达率最高,通过促进化疗药物与谷胱甘肽结合而产生耐药性。目前新辅助化疗对 GST- $\pi$  表达影响的报道结果仍有争议<sup>[11-12]</sup>,而且均未做化疗前后 GST- $\pi$  表达差异的自身对照研究。本研究中,GST- $\pi$  表达对化疗反应无明显影响;化疗后 GST- $\pi$  表达率较化疗前虽有升高,但差异无统计学意义,提示在乳癌组织中 GST- $\pi$  表达可能不参与新辅助化疗的获得性耐药。

从本研究结果看新辅助化疗前后测定 P-gp 蛋白的表达可作为预测乳腺癌对新辅助化疗的反应以及选择化疗方案的重要分子生物学指标。当然,该

研究仅为初步探讨,而肿瘤的化疗敏感与耐受是一个受多种因素影响的过程,下一步我们需要增加病例数并设立对照组结合其他基因表达如 ER、PR、HER-2 等进行多指标的多因素综合分析,可能更有利于预测肿瘤的化疗效果。

#### 参考文献:

- [1] Deo SV, Bhutani M, Shukla N K, et al. Randomized trial comparing neo-adjuvant versus adjuvant chemotherapy in operable locally advanced breast cancer (T4b N 0-2 M 0) [J]. *J Surg Oncol*, 2003, 84(4): 192-197.
- [2] Ganem G, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, et al. Phase II trial combining docetaxel and doxorubicin as neoadjuvant chemotherapy in patients with operable breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2003, 14(11): 1623-1628.
- [3] Chung HC, Rha SY, Kim JH, et al. P-glycoprotein in: the intermediate end point of drug response to induction chemotherapy in locally advanced breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1997, 42(1): 65.
- [4] Goto S, Lida T, Cho S, et al. Overexpression of glutathione S-transferase Pi enhances the adduct formation of cisplatin with glutathione in human cancer cells [J]. *Free Radic Res*, 1999, 31(6): 549-558.
- [5] Mamounas EP. NSABP breast cancer clinical trials: recent results and future directions [J]. *Clin Med Res*, 2003, 1(4): 309-326.
- [6] Norman W, Jiping W, Eleftherios M, et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2001, 30(2): 96-102.
- [7] Citron ML, Berry DA, Cirincione C. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741 / Cancer and Leukemia Group B Trial 9741 [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(8): 1431-1439.
- [8] Jackisch C, von Minckwitz G, Eidtmann H, et al. Dose-dense biweekly doxorubicin/docetaxel versus sequential neoadjuvant chemotherapy with doxorubicin/cyclophosphamide/docetaxel in operable breast cancer: second interim analysis [J]. *Clin Breast Cancer*, 2002, 3(4): 276-280.
- [9] Trock BJ, Leonessa F, Clarke R. Multidrug resistance in breast cancer. a meta-analysis of MDR1/gp170 expression and its possible functional significance [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89(13): 917.
- [10] Burger H, Foekens JA, Look MP, et al. RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated protein 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer. correlation with chemotherapeutic response [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(2): 827.
- [11] 王立梅, 毛慧生, 林晓萍, 等. 耐药基因 MDR1、GST- $\pi$  在乳腺癌组织中的表达及临床应用 [J]. *中国肿瘤临床*, 2000, 27(11): 846-847.
- [12] 李杰, 许良中, 吴旻. 三种耐药基因蛋白表达在乳腺癌中的临床意义 [J]. *癌症*, 2001, 20(12): 866-868.