维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)06-0798-03

口腔鳞癌对卡铂联合 5-Fu 新辅助化疗方案敏感性的预测研究

杨 凯[1],吴明军[2],孙德平[1],陈 睿[1]

(1.重庆医科大学附属第一医院口腔颌面外科,重庆 400016;2.重庆医科大学基础医学研究所,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨新辅助化疗前增殖细胞核抗原(PCNA)和 P53 在口腔鳞癌组织中的表达水平及其对卡铂联合 5-氟脲嘧啶化疗方案(CF 方案)敏感性预测的价值。方法:采用 SP 免疫组化法,对 50 例 T2~T4 口腔鳞癌患者用 CF 方案行 2 疗程新辅助化疗前后 PCNA 和 P^{53} 的表达水平进行检测,分析其表达水平与化疗疗效的关系。结果:①化疗前口腔鳞癌中 PCNA 和 P^{53} 的表达水平与化疗疗效显著相关($P<0.05$);②化疗前 PCNA 高表达同时 P^{53} 表达阴性患者行 CF 方案化疗有效率为 90.00%,显著高于其它表达类型($P<0.05$),PCNA 低表达同时 P^{53} 表达阳性的患者,CF 方案化疗的有效率为 14.29%,显著低于其它表达类型($P<0.05$)。结论:化疗前 PCNA 和 P^{53} 的表达水平均可作为预测口腔鳞癌对 CF 化疗方案敏感性的分子标记物,但用 PCNA 和 P^{53} 两项指标的表达水平来联合预测显著高于单项指标预测。

【关键词】新辅助化疗;化学治疗;增殖细胞核抗原;P^{53};口腔鳞癌;敏感性;疗效

【中国图书分类法分类号】R782 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-07-04

Prediction of chemosensitivity to combination neoadjuvant chemotherapy with carboplatin and 5-Fu for the patients with oral squamous cell carcinoma

YANG Kai, et al

(*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of P^{53} and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) and its chemosensitive predictive value to neoadjuvant chemotherapy (NACT) with Carboplatin and 5-Fu for the patients with OSCC. *Methods*: 50 patients with T2 ~ T4 OSCC were examined by using SP immunohistochemistry before and after two NACT courses. the correlation between expression level of PCNA and P^{53} and therapeutic effect was analyzed. *Results*: ①Expression level of PCNA and P^{53} was significantly associated with response to chemotherapy ($P<0.05$); ② The effective rates of PCNA high expression and P^{53} negative expression in OSCC before NACT was 90.00%, it was significantly higher than that of other expression types ($P<0.05$), and the effective rates of PCNA low expression and P^{53} positive expression was 14.29%, it was significantly lower than that of other expression types ($P<0.05$). *Conclusion*: Expression level of both PCNA and P^{53} can be used as a chemosensitive predictive marker to neoadjuvant chemotherapy with Carboplatin and 5-Fu for the patients with OSCC, and combined analysis of PCNA and P^{53} expression has higher predictive value than that of either PCNA or P^{53}.

【Key Words】Neoadjuvant chemotherapy; Chemotherapy; PCNA; P^{53}; Oral squamous cell carcinoma; Chemosensitivity; Chemotherapy efficiency

新辅助化疗(术前诱导化疗)有效者由于能降低肿瘤患者 T 分期,有利于全身微转移灶的控制,从而达到显著提高口腔鳞癌术后生存率、减轻手术致残程度和提高生存质量[1,2]。但无效的新辅助化疗不能使患者受益,而且可能延误病人的手术治疗时间和增加患者的经济及心理负担。如何个体化地预测肿瘤对所用化疗方案的敏感性一直是临床医师所关注的重要问题。卡铂(Carboplatin)联合 5-氟脲嘧啶(5-Fluorouracil)化疗方案(CF 方案)是口腔鳞癌最常用的化疗方案之一[3-5],本研究通过观察口腔鳞癌组织中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)和抑癌基因 P^{53} 的表达水平与化疗疗效的关系,旨在从肿瘤细胞凋亡和增殖的角度,探讨口腔鳞癌对 CF 方案的敏感性预测,为临床个体化的合理用药提供依据。

作者介绍:杨 凯(1965-),男,博士,副教授,主要研究方向:口腔颌面-头颈肿瘤临床及相关基础研究。

基金项目:重庆市科委应用基础研究项目(2003-43)和重庆医科大学科技基金(XB200207)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料和方法

1.1 一般资料

我院口腔颌面外科 2001 年 9 月至 2005 年 6 月收治的 T2~T4 口腔鳞癌患者 50 例并符合以下条件:①未经化疗、放疗等治疗的初诊患者;②均经病理学确诊;③均给予 CF 化疗方案:卡铂 300mg/m^2 iv d_1,5- 氟脲嘧啶 500mg/m^2 iv $d_{1,2,3,4,5}$),均完成 2 个新辅助化疗疗程;④化疗前血尿常规、心电图、胸透、肝肾功能检查无明显异常,Karnofsky 评分 >70;男性 31 例,女性 19 例,年龄 27~79 岁,平均年龄 56.7 岁;分化程度:高分化 29 例,中分化 12 例,低分化 9 例;临床分期:Ⅱ期 12 例,Ⅲ期 25 例,Ⅳ期 13 例;颈淋巴结转移情况:有颈淋巴结转移 21 例,无颈淋巴结转移 29 例。所有患者完成 2 个化疗疗程后 1~2 周行手术治疗(2 疗程间隔 2~3 周)。

1.2 化疗疗效评价

所有病例均完成 2 个化疗疗程后 1~2 周评价其疗效,按 WHO 疗效判定标准评价[3-4],分为 4 级:(1)完全缓解(CR):肿瘤临床完全消失或病理检查阴性;(2)部分缓解(PR):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值缩小 50% 以上;(3) 无效(NR):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值缩小不及 50% 或增大小于 25%;(4)恶化(NC):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值增大 25% 以上。其中 CR 和 PR 称为有效病例。

1.3 PCNA 和 P^{53} 免疫组化检测及结果判定

留取化疗前部分活检组织和化疗后手术切除的部分癌组织标本,用 10% 福尔马林固定后常规石蜡包埋、切片(片厚为 4μm)。免疫组化染色采用 SP 法,一抗分别是鼠抗人 P^{53} 单克隆抗体和 PCNA 单克隆抗体(美国 Maxim 公司产品),实验严格按 SP 和 DAB 试剂盒(美国 Maxim 公司产品)说明书进行操作。阴性对照用 PBS 液代替一抗,其余试剂和操作步骤相同。免疫组化结果判定:PCNA 和 P^{53} 阳性细胞均为细胞核出现棕黄色颗粒染色而细胞质不着色为阳性细胞。随机选择 5 个高倍视野,按阳性细胞所占的百分比判断 P^{53} 结果,P^{53} 阳性:阳性细胞百分比≥10%,P^{53} 阴性:阳性细胞百分比 <10%。PCNA 每例切片随机观察 10 个高倍视野,共计数 1000 个癌细胞中 PCNA 阳性细胞数,由此得出阳性细胞数的百分比,以增殖指数(PI)表示,按 PI 判断 PCNA 结果,PCNA 低表达组:PI≤50%,PCNA 高表达组:PI>50%。

1.4 统计学方法

采用 χ^2 检验,$P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 新辅助化疗前、后 PCNA 和 P^{53} 在口腔鳞癌中的表达比较

化疗前 PCNA 在口腔鳞癌中的高表达率为 52.00%,显著高于化疗后 24.00%($P<0.05$);化疗前 P^{53} 在口腔鳞癌中的阳性表达率为 46.00%,显著高于化疗后 22.00%($P<0.05$),见表 1。

表 1 PCNA 和 P^{53} 在化疗前、后口腔鳞癌中的表达比较

	例数	PCNA		P53	
		高表达(高表达率)	低表达(低表达率)	阳性(阳性率)	阴性(阴性率)
化疗前	50	26 (52.00%)	24 (48.00%)	23(46.00%)	27(54.00%)
化疗后	50	12(24.00%)	38(76.00%)	11(22.00%)	39(78.00%)

2.3 PCNA 和 P^{53} 化疗前的表达水平与化疗疗效的关系

化疗前口腔鳞癌 PCNA 高表达患者有效率为 61.54%,显著高于 PCNA 低表达患者的有效率 33.33%($P<0.05$);化疗前口腔鳞癌 P^{53} 表达阴性患者的有效率为 63.00%,显著高于 P^{53} 表达阳性患者的有效率 30.44%($P<0.05$),见表 2。

表 2 PCNA 和 P^{53} 化疗前的表达水平与化疗疗效的关系

项目	表达情况	例数	疗效			有效率(%)
			CR	PR	NR	(CR+PR)
PCNA	高表达	26	1	15	10	61.54
	低表达	24	0	8	16	33.33
P^{53}	阳性	23	0	7	16	30.44
	阴性	27	0	17	9	63.00

表 3 PCNA 和 P^{53} 两项组合的表达水平与化疗疗效的关系 *

组合	表达情况	例数	有效病例(CR+PR)	有效率(%)
1型	P^{53} 阴性 PCNA 高表达	10	9	90.00
2型	P^{53} 阴性 PCNA 低表达	17	7	41.18
3型	P^{53} 阳性 PCNA 高表达	16	7	43.75
4型	P^{53} 阳性 PCNA 低表达	7	1	14.29

* 多组间的两两比较 χ^2 检验。

2.4 PCNA 和 P^{53} 两项组合的表达水平与化疗疗效的关系

PCNA 和 P^{53} 两项组合的表达水平有 4 种类型:PCNA 高表达同时 P^{53} 表达阴性患者有效率为 90.00%,显著高于其它 3 种组合表达水平类型($P<0.05$);PCNA 低表达同时 P^{53} 表达阴性和 PCNA 高表达同时 P53 表达阳性的两组患者有效率为分别为 41.18%、43.75%,两组间无显著性差异($P>0.05$);PCNA 低表达同时 P^{53} 表达阳性的患者有效率为 14.29%,显著低于其它 3 种组合表达水平类型($P<0.05$)见表 3。

3 讨 论

维普资讯 http://www.cqvip.com

化疗是治疗口腔鳞癌的主要手段之一，新辅助化疗(术前诱导化疗)有效者能显著地提高口腔鳞癌术后生存率，但无效的化疗不能使患者在延长生存率方面受益，而且可能延误病人的手术治疗时间和增加患者的经济负担，因此如何有效地预测肿瘤对化疗药物的敏感性一直是肿瘤临床治疗中的重要问题之一。目前研究表明[6,7]：细胞凋亡与增殖在肿瘤发生和发展过程中相互关联，两者之间的平衡与肿瘤的预后和疗效有密切关系。本研究通过从肿瘤细胞凋亡和增殖的角度评估 PCNA 和 P^{53} 的表达水平与口腔鳞癌化疗疗效之间的关系以及能否作为口腔鳞癌对 CF 化疗方案敏感性预测的分子标记物。

增殖细胞核抗原(PCNA)是真核细胞 DNA 合成所必需的一种分子量为 36KD 的核蛋白，它仅在增殖细胞中合成表达并与增殖细胞的增殖周期密切相关，是一种能很好判断细胞增殖状况的标记物，近年来有学者发现 PCNA 的表达水平与肿瘤化疗疗效有关[6]。P^{53} 是分子量为 53KD 的核内磷酸化蛋白，它与细胞 DNA 修复和细胞凋亡密切相关，它是肿瘤抑癌基因家族中重要成员之一[7]。目前 P^{53} 基因分为野生型和突变型，野生型 P^{53} 蛋白可阻止 DNA 受损细胞从 G1 期进入 S 期，抑制异常细胞的过度增殖，因而野生型 P^{53} 能促进细胞凋亡，而突变型 P^{53} 则抑制细胞凋亡，但由于野生型 P^{53} 蛋白半衰期短，积聚水平低，一般不易检测，而突变型 P^{53} 蛋白半衰期长，稳定性强，故用免疫组化方法检测出的 P^{53} 阳性标记物基本均为突变型 P^{53}。本研究结果显示：化疗前口腔鳞癌 PCNA 高表达患者有效率为 61.54%，显著高于 PCNA 低表达患者的有效率 33.33%($P<0.05$)；化疗前口腔鳞癌 P^{53} 表达阴性患者的有效率为 63.00%，显著高于 P^{53} 表达阳性患者的有效率 30.44%($P<0.05$)，这表明 PCNA 和 P^{53} 的表达水平均可作为口腔鳞癌对 CF 化疗方案敏感性预测的分子标记物，但预测率均很低，提示以上单项指标在预测口腔鳞癌对 CF 化疗方案敏感性方面不具有临床应用价值。

进一步将 PCNA 和 P^{53} 两项指标的表达水平来联合预测口腔鳞癌对 CF 化疗方案的敏感性，PCNA 和 P^{53} 两项组合的表达水平有 4 种类型，本实验证明：PCNA 高表达同时 P^{53} 表达阴性的口腔鳞癌患者用 CF 化疗方案行新辅助化疗的敏感性较好，有效率为 90.00%，显著高于其它 3 种组合表达水平类型($P<0.05$)，因此 CF 方案可作为对此类患者的首选化疗方案之一；PCNA 低表达同时 P^{53} 表达阴性和 PCNA 高表达同时 P^{53} 表达阳性的两组患者有效率分别为 41.18%、43.75%，两组间无显著性差异($P>0.05$)，本研究提示该两类患者静脉行 CF 方案化疗的疗效均不高，根据我们的临床经验，此两类患者通过改变给药途径，用 CF 化疗方案行动脉灌注化疗常常会取得较好的疗效[8,9]；对 PCNA 低表达同时 P53 表达阳性的患者由于有效率仅为 14.29%，显著低于其它 3 种组合表达水平类型($P<0.05$)，该类患者则不宜用 CF 化疗方案，尽早手术或试用其它化疗方案。

参 考 文 献

[1] Grau JJ, Domingo J, Blanch JL, et al. Multidisciplinary Approach in Advanced Cancer of the Oral Cavity: Outcome with Neoadjuvant Chemotherapy according to Intention-to-Treat Local Therapy.a phase ii study[J]. Oncology, 2002; 63(4): 338-345.

[2] 邱蔚六，薛晓帆，刘瑗如. 口腔颌面部鳞癌术前辅助化疗的评价[J].华西口腔医学杂志，1991；9(3)：167-172.

[3] 杨 凯，陈 睿，喻秀丽. 口腔癌时辰化疗[J]. 实用口腔医学杂志，2005；21(3)：389-391.

[4] 杨 凯，陈 睿，季 平. 口腔鳞癌 4 种新辅助化疗方案的成本——效果分析[J]. 临床口腔医学杂志，2004；20(2)：87-89.

[5] 杨 凯，张福军，李雅冬，等. 时辰新辅助化疗治疗老年人口腔鳞癌的临床研究[J].中华老年口腔医学杂志，2005；3(1)：23-25.

[6] Ng IO, Lai EC, Fan ST, et al. Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in hepatocellular carcinoma [J].Cancer, 1994; 73: 2268-2274.

[7] Hiranuma H, Jiko A, Maeda T, et al.An analysis of the prognostic significance of P53 status for squamous cell carcinoma of the oral cavity treated by radiotherapy[J].Oral oncol, 1998; 34(6): 513-518.

[8] 陈 睿，杨 凯，李雅冬. 卡铂、5- 氟脲嘧啶联合化疗的不同给药途径对口腔鳞癌行新辅助化疗的疗效及不良反应的对比观察[J]. 重庆医学，2004；33(8)：1216-1218.

[9] 杨 凯，季 平，张劲松，等. MT- 埋植式给药装置行口腔癌术前灌注化疗研究[J]. 临床口腔医学杂志，2003；19(7)：425-426.