DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.04.021
第24卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 4
2002年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2002

文章编号:1000-5404(2002)04-0425-03

论著

胎盘型谷胱甘肽-S-转移酶和DNA拓朴酶在人骨肉瘤中的表达及其与预后的关系

殷育松[1],郭乔楠[1],郭德玉[1],冯俊明[1],向德兵[2],辛 榕[1] (第三军医大学:[1]附属西南医院病理学研究所;[2]附属大坪医院野战外科研究所病理科;重庆 400038)

提 要:目的 探讨骨肉瘤组织中胎盘型谷胱甘肽-S-转移酶(GST-π)和DNA拓朴酶Ⅱ(Topo Ⅱ)的表达及其与预后的关系。方法 应用免疫组化SP法检测GST-π、Topo Ⅱ在40例骨肉瘤中的表达,并结合临床资料分析其对预后的影响。结果 40例骨肉瘤中GST-π和Topo Ⅱ的阳性表达率分别为82.5%(33/40)和52.5%(21/40),其中术前化疗组Topo Ⅱ阳性表达率为38.5%(5/13),显著低于术前无化疗组77.8%(21/27)($P<0.05$),GST-π的阳性表达率在两组间无显著差异;GST-π和Topo Ⅱ的阳性表达率与患者的预后显著相关。结论 GST-π主要参与骨肉瘤原发性耐药,Topo Ⅱ不仅参与骨肉瘤原发性耐药,同时也参与骨肉瘤继发性耐药;GST-π和Topo Ⅱ是影响骨肉瘤预后的重要因素,可能成为评估骨肉瘤预后的有价值的指标。

关键词:骨肉瘤;多药耐药;预后
中图法分类号:R345;R738.1 文献标识码:A

The expression of glutathione-S-transferases-π and DNA topoisomerase in human osteosarcoma and their relationship to prognosis

YIN Yu-song, GUO Qiao-nan, GUO De-yu, FENG Ju-min, XIANG De-bing, XIN Rong (Pathology Institute, Southwestern Hospital, Third Military University, Chongqing 400038, China)

Abstract Objective To explore the expression of glutathione-S-transferases-π (GST-π) and DNA topoisomerase(ToPo Ⅱ) in human osteosarcoma and their relationship to prognosis. Methods The expressions of GST-π and DNA ToPo Ⅱ were measured by immunohistochemistry. Their relationship to prognosis was analysed statistically. Results The expression rates of GST-π and DNA ToPo Ⅱ in human osteosarcoma were 82.5% (33/40) and 52.5% (21/40), respectively. The expression of DNA ToPo Ⅱ in the group with chemotherapy before operation was 38.5% (5/13). It was significantly lower than that in the group without chemotherapy before operation. There was no significant difference between the expression of GST-π with chemotherapy before operation and that of the group without chemotherapy before operation. The positive expression rate of GST-π and DNA ToPo Ⅱ were significantly correlated to the prognosis of patients with osteosarcoma. Conclusion Over expression of GST-π were related to the primary multidrug resistance, while the ToPo Ⅱ might not only take part in the primary multidrug resistance, but also in the secondary multidrug resistance. GST-π and DNA ToPo Ⅱ could be prognostic factors in human osteosarcoma.

Key words Osteosarcoma; multidrug resistance; prognosis

骨肉瘤是青少年常见的骨恶性肿瘤。骨肿瘤对化疗不敏感,预后差,其机制较为复杂,可能与肿瘤多药耐药性(Multi-drug resistance, MDR)有关。近年研究表明,胎盘型谷胱甘肽-S-转移酶(GST-π)和DNA拓朴酶Ⅱ(Topo Ⅱ)等多种细胞内酶是恶性肿瘤产生MDR的物质基础[1,2],但其在骨肉瘤中的表达及其与预后的关系国内外报道较少。为此,本研究用S-P法检测40例骨肉瘤中GST-π和Topo Ⅱ的表达,以期探讨其与预后的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源

选取本校附一、二院及重庆市肿瘤医院1985—1994年间骨肉瘤标本40例,其中包括骨母细胞型22例,软骨母细胞型10例及纤维母细胞型8例。所有标本均经10%中性福尔马林液固定,常规石蜡包埋,5 μm连续切片,分别行HE及S-P免疫组化染色。

1.2 临床资料

40例骨肉瘤患者,男性28例,女性12例。年龄13~64岁。术前化疗13例,术前未化疗27例。

1.3 免疫组化染色

5 μm连续石蜡切片,行S-P免疫组化染色,具体步骤参照试剂盒说明书进行。鼠抗人GST-π和Topo Ⅱ单克隆抗体,S-P免疫组化、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂均购自北京中山生物技术公司。进行S-P免疫组化染色前切片需经微波炉修复抗原。阴性对照用PBS代替一抗,阳性对照由公司提供。

1.4 统计学处理

计数资料两组间比较采用χ^2检验,用SPSS8.0统计软件计算,$P<0.05$表示相差显著,$P<0.01$表示相差非常显著。

2 结果

2.1 病例随访结果

本组全部病例均有随访资料[11],随访最长时间为12年,最

基金项目:第三军医大学基础医学部青年科研基金资助项目(1999)
作者简介:殷育松(1970—),男,安徽省太湖县人,助理实验师,主要从事病理学技术方面的研究。电话:(023)68752246
通信作者:郭乔楠,电话:(023)68754497
收稿日期:2001-08-11;修回日期:2001-12-03

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

短为 1 年, 平均为 3.35 年。2 年总生存率为 65%。随访病例中, GST-π、Topo Ⅱ在骨肉瘤内呈高表达型者, 其复发转移和生存时间短, 而低表达型者, 其复发转移和生存时间有相对延长的趋势。

2.2 GST-π 和 Topo Ⅱ在骨肉瘤中的表达

GST-π 阳性产物定位于胞浆和胞膜, 部分瘤细胞胞核中亦可见阳性产物; Topo Ⅱ阳性产物主要定位于胞核, 部分瘤细胞胞浆中亦可见阳性产物, 见图 1, 2。骨肉瘤 GST-π 和 Topo Ⅱ阳性率分别为 82.5%(33/40)和 52.5%(21/40)。



图 1 人骨肉瘤中 **GST-π** 的表达, 主要位于胞浆和胞膜 (S-P× 400)

Fig 1 Expression of GST-π mainly in the cytoplasma and membrane of human osteosarcoma cell (S-P× 400)

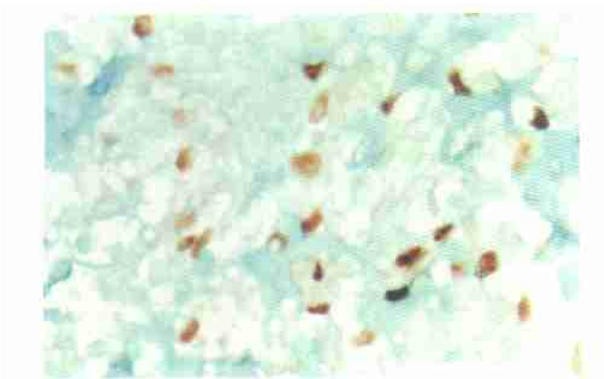


图 2 人骨肉瘤中的表达, 主要位于胞核 (S-P× 400)

Fig 2 Expression of DNA ToPo Ⅱ mainly in the nuclei of human osteosarcoma cells (S-P× 400)

2.3 骨肉瘤 GST-π 和 Topo Ⅱ表达与化疗的关系

见表 1, 术前未化疗组(Npre) GST-π 阳性表达率为 88.9%(24/27), 高于术前化疗组(Tpre) 69.2%(9/13), 但无显著性差异($P>0.05$); 术前化疗组 Topo Ⅱ阳性表达率为 38.5%(5/13), 显著低于术前未化疗组 77.8%(21/27)($P<0.05$)。

表 1 骨肉瘤 **GST-π** 和 **Topo** Ⅱ表达与化疗的关系

Tab 1 Relationship of chemotherapy pre- or post-operation with the expressions of GST-π and Topo Ⅱ in human osteosarcoma

Group	*n*	GST-π			Topo Ⅱ		
		+	−	Positive rate	+	−	Positive rate
Tpre	13	9	4	69.2%	5	8	38.5% *
Npre	27	24	3	88.9%	21	6	77.8%

*: $P<0.05$ *vs* Npre

2.4 骨肉瘤 GST-π 和 Topo Ⅱ表达与预后的关系

见表 2, 骨肉瘤患者存活 2 年以内组(Group 2^-)阳性表达率分别为 92.3%(24/26)、69.2%(18/26), 均显著高于存活 2 年以上组(Group 2^+) 64.3%(9/14)、21.4%(3/14)。

各型骨肉瘤中 GST-π 和 Topo Ⅱ表达没有显著差异, 见表 3。

表 2 骨肉瘤 **GST-π** 和 **Topo** Ⅱ表达与预后的关系

Tab 2 Relationship of the prognosis with the expressions of GST-π and Topo Ⅱ

Group	*n*	GST-π			Topo Ⅱ		
		+	−	Positive rate	+	−	Positive rate
Group 2^-	26	24	2	92.3% *	18	8	69.2% **
Group 2^+	14	9	5	64.3%	3	11	21.4%

*: $P<0.05$ **: $P<0.01$ *vs* Group 2^+

表 3 骨肉瘤分型 **GST-π** 和 **Topo** Ⅱ表达的关系

Tab 3 Relationship of human osteosarcoma types with the expressions of GST-π and Topo Ⅱ

Type	GST-π	Topo Ⅱ
Osteoblastoma	19/22(86.4%)	12/22(54.5%)
Chondroblastoma	8/10(80%)	5/10(50%)
Fibroblastoma	6/8(75%)	4/8(50%)

3 讨论

术后新辅助化疗已经成为治疗骨肉瘤的重要手段之一, 一定程度上改善了骨肉瘤的治疗效果, 提高了患者 5 年生存率, 但随之而来的是肿瘤细胞对化疗药物的耐药问题, 目前认为是化疗失败的重要原因之一, 而有关其机制, 国内外研究较少。

肿瘤细胞在药物诱导条件下的各种改变都是为了抵抗药物杀灭、保护自身生存而改变的结果, 因此, 一般认为耐药是多种机制共同作用的结果。Wunder 等[3,4]发现骨肉瘤及骨肉瘤细胞株中 MDR1 高表达, 提示骨肉瘤存在耐药。

MDR 有两种不同的表型, 一种是对第一次化疗就产生耐药, 称之为原发性耐药; 另一种是在化疗过程中产生耐药, 称之为继发性耐药。

研究表明, MDR 与 GST-π 和 Topo Ⅱ等多种细胞内酶有关。GST 是一组具有多种生理功能的蛋白质超基因家族, 可分为 α、μ、θ、π 及膜结合微粒体 5 种类型, 其中 GST-π 与恶性肿瘤 MDR 关系最密切。在结肠癌、胃癌、膀胱癌、卵巢癌等恶性肿瘤中 GST-π 表达均增高, 而在肝癌、肾癌、前列腺癌等表达极低或不表达[5]。本研究发现骨肉瘤 GST-π 阳性表达率为 82.5%(33/40), 各型骨肉瘤中 GST-π 的表达没有明显差异, 而术前未化疗组 GST-π 阳性表达率为 88.9%(24/27), 高于术前化疗组 69.2%(9/13)($P>0.05$), 说明 GST-π 表达不受化疗药诱导, 主要参与原发性耐药。谷贵山等通过实验得到的结果与本实验结果相似。

ToPo Ⅱ是一种核酸酶, 可促进肿瘤细胞的 DNA 合

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

成,提高增殖能力,与肿瘤恶性程度有关。同时,ToPo Ⅱ是多种抗癌药物的靶酶,耐药细胞通过不同环节调节其酶的表达量和活性,维持耐药表型[6]。在一些恶性肿瘤,如肺癌、宫颈癌、结肠癌中 ToPo Ⅱ高表达,并且在前列腺、结肠组织中可根据其表达程度不同区分非肿瘤性病变、腺瘤及癌[7,8]。本研究发现骨肉瘤 Topo Ⅱ阳性率为 65.0%(26/40),且各型骨肉瘤中的 ToPo Ⅱ表达没有明显差异,而术前化疗组 Topo Ⅱ阳性表达率为 38.5%(5/13),显著高于术前未化疗组 77.8%(21/27)($P<0.05$)。提示 Topo Ⅱ表达与化疗药物诱导激活有关,不仅参与原发性耐药,同时也参与继发性耐药。牟江洪等通过实验得到的结果与本实验结果相似。

在多种恶性肿瘤中,耐药基因的高表达与患者的生存率密切相关。Linn 等[9]发现 MDR1 基因表达产物 P 糖蛋白高表达是乳腺癌预后差的指标之一。王华英等[10]研究表明宫颈癌 MDR 和 GST-π 表达组化疗有效率明显低于未表达组。本研究显示骨肉瘤患者存活 2 年以内组 GST-π、Topo Ⅱ阳性表达率分别为 92.3%(24/26)、69.2%(18/26),均显著高于存活 2 年以上组 64.3%(9/14)、21.4%(3/14)($P<0.05$, $P<0.01$),另外,骨肉瘤内 GST-π、Topo Ⅱ表达的高低与其复发转移和生存时间的长短呈负相关,提示 GST-π、Topo Ⅱ是影响骨肉瘤预后的重要因素,可能成为评估骨肉瘤预后有价值的指标。

参考文献:

[1] Gottesman M M, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter[J]. Annu Rev Biochem, 1993, 63: 385-427.
[2] Coles B, Ketterer B. The role of glutathione and glutathione transferases in chemical carcinogenesis[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 1990, 25: 47.
[3] Wunder J S, Bull S B, Aneliunas V, *et al*. MDR1 gene expression and outcome in osteosarcoma: a prospective, multicenter study[J]. J Clin Oncol, 2000, 18(14): 2685-2694.
[4] Maraldi N M, Zini N, Santi S, *et al*. P-glycoprotein subcellular localization and cell morphotype in MDR1 gene-transfected human osteosarcoma cells[J]. Biol Cell, 1999, 91(1): 17-28.
[5] Toffoli G, Viel A, Tumiotto L, *et al*. Expression of glutathione-S-transferase-π in human tumors[J]. Eur J Cancer, 1992, 28A: 1441.
[6] Scgbeuder E, Hsiang Y H, Liu L F. DNA topoisomerase as anticancer drug targets[J]. Adv Pharmacol, 1990, 21: 149-183.
[7] Iino K, Sasano H, Yabuki N, *et al*. DNA topoisomerase Ⅱ alpha and Ki-67 in human adrenocortical neoplasms: a possible marker of differentiation between adenomas and carcinomas[J]. Mod Pathol, 1997, 10: 9901-9907.
[8] Fogt F, Nikulasson S T, Holden J A, *et al*. Topoisomerase Ⅱ alpha expression in normal, inflammatory, and neoplastic conditions of the gastric and colonic mucosa[J]. Mol Pathol, 1997, 10: 4296-4302.
[9] Linn S C, Honkoop A H, Hoekman K, *et al*. p53 and P-glycoprotein are often co-expression and are associated with poor prognosis in breast cancer[J]. Br J Cancer, 1996, 74(1): 63-68.
[10] 王华英, 施达仁, 陆洪芬. MDR、GST-π 与宫颈癌化疗敏感性及预后的关系[J]. 中国癌症杂志, 2001, 11(4): 305-308.
[11] 郭乔楠, 陈意生. 96 例人骨肉瘤预后影响因素的研究[J]. 第三军医大学学报, 1999; 21(2): 116-118.

(编辑 张大春)

文章编号: 1000-5404(2002)04-0427-01

个案与短篇

宫颈小细胞癌 1 例

A case report of small cell carcinoma of the cervix

王 军[1], 徐惠成[2], 常青[2] ([1]解放军 78425 部队卫生所, 重庆 400074; [2]第三军医大学附属西南医院妇产科, 重庆 400038)

患者, 女, 29 岁, 孕 2 产 1 存 1, 月经史 13/9-10/24-28。因无痛性阴道出血 1 月于 2000 年 8 月 31 日就诊于中山医科大学肿瘤医院, 行宫颈活检示宫颈小细胞未分化癌, 于 2000 年 9 月 9 日就诊于本科。入院查体心、肺、腹部均无异常。妇科检查: 外阴无异常, 阴道前后穹隆均可扪及硬结, 与宫颈关系密切, 阴道上端 1 cm 有硬结, 其余部分正常, 宫颈重度糜烂, 呈菜花状, 质硬, 触血, 宫旁无增厚, 双附件未扪及。初步诊断为子宫颈癌累及阴道上 1/3, 宫旁无浸润, 临床分期为Ⅱa 期。于 2000 年 9 月 12 日在全麻下行次广泛子宫切除术和盆腔淋巴结清扫术, 术中见腹腔内无腹水, 子宫大小正常, 表面光滑, 双侧附件正常, 宫旁无增厚, 直肠窝未扪及结节。手术后剖开标本见宫颈上唇病变组织硬, 3 cm×2 cm 大小, 病变深 1.5 cm, 达宫颈边缘。病理检查示宫颈糜烂处见癌细胞, 癌细胞体积小, 短梭形, 胞浆少, 大小较一致, 排列呈巢团状及乳头状, 浸润至肌层。宫体内膜显增生期改变。右髂外淋巴结 4 枚, 一枚有癌细胞浸润, 左髂内淋巴结 3 枚为慢性炎症, 左髂外、左右腹股沟、右闭孔组织为纤维脂肪组织。免疫组化染色: 细胞角蛋白(CK)低分子量局部细胞阳性, 铬粒素(CgA)阳性。病理诊断为宫颈小细胞癌伴右髂外淋巴结转移 1/4(病理号 20007508)。手术后半月予 5FU 和顺铂化疗。2000 年 10 月 9 日开始盆腔放疗。后分别于 2001 年 1 月和 2000 年 2 月化疗一次, 使用药物为顺铂和 VP-16, 期间未发现明显转移征象。2001 年 5 月患者双下腹出现肿块, 并迅速增长, 伴腹部胀痛, 后相继出现左侧肢体麻木、静脉淤血、活动受限等症状。2001 年 6 月就诊于本院, 查腹软, 左下腹扪及 3 cm×2 cm 大小包块, 边界不清, 质硬, 不活动, 无压痛, 右下腹扪及 7 cm×6 cm 包块, 性质同左下腹包块, 肝脾均未扪及, 左下肢静脉曲张。查 CT 平扫示右侧髂骨前方见 6.8 cm×8 cm 大小软组织块影, 密度不均, 右侧髂肌受累, 邻近骨质未见破坏征象, 左侧髂骨前方见结节状软组织块影, 左侧腰大肌增粗, 与外侧界限不清。胸片正常。考虑为宫颈癌术后复发、转移。因经济原因, 患者放弃治疗。

(下转 430 页)

作者简介: 王 军(1974), 女, 陕西省西安市人, 医师, 主要从事妇产科学方面的研究。电话: (023)62851450

收稿日期: 2001-08-07; 修回日期: 2001-11-03

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net