

# P-gp、MRP1、GST- $\pi$ 与新疆维吾尔族宫颈癌新辅助化疗疗效的相关性研究 \*

吕锡芳 李文婷 许跃勋 王英红<sup>△</sup>

(石河子大学医学院第一附属医院妇产科 新疆 石河子 832008)

**摘要** 目的 探讨新疆维吾尔族宫颈癌新辅助化疗前后 P-gp、MRP1 和 GST- $\pi$  的表达及其与化疗疗效的关系。方法 运用 S-P 法分别检测维吾尔族妇女宫颈鳞癌组织 22 例新辅助化疗前后及正常宫颈组织 20 例 P-gp、MRP1 和 GST- $\pi$  的表达水平。结果 ①新疆维吾尔族正常宫颈、初治宫颈鳞癌组织中 P-gp 的阳性表达率分别为 10%、40.9% ;MRP1 的阳性表达率分别为 15%、31.8% ;GST- $\pi$  的阳性表达率分别为 45%、9.01%。P-gp 和 GST- $\pi$  在各组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ) MRP1 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。②NACT 后宫颈鳞癌组织中 P-gp 阳性表达显著上升( $P<0.05$ ) ,有统计学意义。NACT 后宫颈鳞癌组织中 MRP1、GST- $\pi$  阳性表达上升但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。③新疆维吾尔族妇女新辅助化疗前宫颈鳞癌组织中 P-gp、MRP1 及 GST- $\pi$  表达阴性和阳性患者 NACT 有效率无显著性差异( $P>0.05$ )。结论 P-gp、MRP1、GST- $\pi$  无法作为化疗敏感性指标预测维吾尔族宫颈鳞癌新辅助化疗疗效。

**关键词** 维吾尔族 新辅助化疗 宫颈癌 P-糖蛋白 多药耐药相关蛋白 1 谷胱甘肽 S-转移酶

**中图分类号** R737.33 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2011)20-3912-04

## Relationship Among the Expression of P-Glycoprotein ,Multiple Resistance-Associated Protein-1,and GST- $\pi$ in Cervical Squamous Cancer for Prediction of Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Uigur Women\*

LV Xi-fang, LI Wen-ting, XU Yue-xun, WANG Ying-hong<sup>△</sup>

(Obstetrics and gynecology department of the First Affiliated hospital of the Medical college of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang, 832008)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the Relationship among the expression of P-glycoprotein ,Multiple Resistance-associated Protein-1,and GST- $\pi$  in Cervical Squamous Cancer for Prediction of Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Uigur woman. **Methods:** The specimens of 22 cases with cervical squamous Cancer before and after NACT are examined by S-P immunohistochemistry in ethnic Uigur women with 20 cases of normal control. **Results:** ①In ethnic Uigur women:P-gp positive expression rate in normal and cervical squamous cancer before NACT are 10% and 40.9% ;MRP1 positive expression rate in normal and cervical squamous cancer before NACT are 15%、31.8% ;GST- $\pi$  positive expression rate in normal and cervical squamous cancer before NACT are 45%、9.01%。The positive expression rate of P-gp and GST- $\pi$  in cervical squamous cancer before NACT have a significantly higher than in normal cervical ( $P<0.05$ )。②In ethnic Uigur women: P-gp positive expression rate after NACT was a significantly higher than that before NACT( $P<0.05$ )。③In ethnic Uigur women: P-gp MRP1 and GST- $\pi$  expression negative rate before NACT had no higher effective rate than the positive groups( $P>0.05$ )。 **Conclusion:** P-glycoprotein,Multiple Resistance-associated Protein-1 and GST- $\pi$  can not be used as predictive markers of NACT effective in cervical squamous cancer in Uigur and han women.

**Key words:** Neoadjuvant Chemotherapy; Cervical cancer; Multidrug resistance gene 1; P-glycoprotein; Multidrug resistance-associated protein; GST- $\pi$

**Chinese Library Classification(CLC):** R737.33 **Document code:** A

**Article ID:**1673-6273(2011)20-3912-04

宫颈癌是妇科常见的恶性肿瘤,全世界每年约有 466000 例新发病例,其中我国约占新发病例的 1/3,其发病有上升及年轻化的趋势<sup>[1]</sup>。我国宫颈癌的分布有一定的地域性、种族性。我国宫颈癌主要分布在中西部地区,并且农村高于城市,山区

高于平原。据 90 年代死亡抽样调查结果显示,宫颈癌死亡率超过 5/10 万以上的省区有甘肃、山西、陕西、湖南、新疆和内蒙,形成一个自北向南的高死亡率的条形地带<sup>[2]</sup>。新疆是宫颈癌的高发地区之一,尤其维吾尔族妇女宫颈癌的发生率明显高于其

\* 基金项目:石河子大学重大攻关专项(500002213403)

作者简介:吕锡芳(1981-),女,硕士研究生,住院医师,研究方向:妇科肿瘤及内镜

<sup>△</sup>通讯作者:王英红,电话:0993-2858413 E-mail:wyhxj920@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-03-14 接受日期:2011-04-09)

他民族,且患病年龄较低,诊断时临床分期较晚,5年生存率低<sup>[3]</sup>。近年来,新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NACT)后手术已经成为中青年宫颈癌患者治疗的发展趋势<sup>[4]</sup>。虽然新辅助化疗可消除亚临床病灶,提高手术切除率,减少子宫颈癌的术后复发和转移<sup>[5,6]</sup>,但部分对化疗无效者如果接受新辅助化疗,既增加了经济负担,又延误了最佳治疗时机。肿瘤细胞对化疗药物产生的多药耐药(multidrug resistance, MDR)是导致化疗失败的重要原因之一<sup>[7]</sup>,其中P-Pg、MRP1和GST-π是3个重要的与汉族多药耐药有关的糖蛋白,目前国内外尚未见其与维吾尔族宫颈鳞癌多药耐药的相关性研究。本研究主要通过研究P-gp、MRP-和GST-π表达水平在新疆维吾尔族宫颈鳞癌新辅助化疗前、后组织中的变化,探讨其对维吾尔族宫颈鳞癌新辅助化疗疗效的预测价值,为维族宫颈鳞癌患者选择更加合理的个性化化疗方案提供参考依据,以提高治疗效果和延长生存期。

1 材料和方法

1.1 组织标本

1、2007年12月~2010年5月石河子大学医学院第一附属医院和喀什地区人民医院收治22例维吾尔族宫颈鳞癌患者。全部病例均经病理确诊,为初治病例(未接受过化疗或放疗),均符合:1、按照国际妇产科联盟(FIGO)1985年修订的临床分期标准选择b~b期宫颈鳞癌,2所有病例在NACT前均未行化疗及放疗,3宫颈活检确定病理类型及分化程度,4年龄<75岁,5无严重合并症者及化疗的禁忌症。

2、维族正常宫颈组织20例,做研究对照病例。

1.2 方法

所有标本均经体积分数10%的中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋,4μm连续切片,鼠抗人P-gp单克隆抗体,鼠抗人多药耐药相关蛋白单克隆抗体,鼠抗人GST-π单克隆抗体及SP试剂盒均购于北京中杉金桥生物科技有限公司,具体步骤按试剂盒说明进行,切片需先经微波抗原修复。用已知阳性切片作阳性对照,用PBS代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判定

1.3.1 免疫组化结果判断标准 P-pg、MRP1阳性颗粒位于胞膜和(或)胞浆中,GST-π阳性颗粒位于胞浆和(或)胞核中,阳性结果为癌细胞中出现黄色颗粒。将阳性细胞按其染色数量和显色强度分为4级:高倍镜下取4个视野各计数200个细胞,阳性细胞数<10%计0分,10%~25%计1分,25%~50%计2分,50%~75%计3分,>75%计4分。染色强度按无着色、浅黄色、棕黄色和棕褐色分别计0、1、2和3分。以最后以阳性细胞百分率计分和染色强度计分相加所得的总分进行结果判定:0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~5分为阳性(++),6~7分为强阳性(+++),免疫组化评分,评分分为低表达(0-3分)、中度表达(4-5分)和高表达(6-7分)。阳性率以"中度+高度表达"计,阴性率以"低度表达"计。所有结果均由有病理科有经验的病理专家判定。

1.3.2 疗效判定 结合妇检、B超、CT和MRI检查观察治疗前及治疗后2周肿瘤大小及盆腔情况。按WHO实体肿瘤疗效判定标准:完全缓解(CR):所有病变完全消失并持续4周以上,部分缓解(PR):肿瘤病灶最大垂直两径乘积缩小≥50%,并维持4周以上,稳定(SD):肿瘤缩小<25%或增大<25%,进展(PD):肿瘤病灶最大垂直两径乘积≥25%,或出现新病灶,总缓解(有效率)=完全缓解(CR)+部分缓解(PR)。

1.4 统计学方法

实验数据采用SPSS13.0统计软件进行统计学处理。不同组间表达率的比较采用X<sup>2</sup>检验及Fisher's确切概率法,以P<0.05为显著差异水平。

2 结果

2.1 P-gp、GST-π和MRP1在正常宫颈组织和化疗前宫颈鳞癌组织中表达

新疆维吾尔族正常宫颈、初治宫颈鳞癌组织中P-gp的阳性表达率分别为10%、40.9%,MRP1的阳性表达率分别为15%、31.8%,GST-π的阳性表达率分别为45%、9.01%。P-gp和

表1 P-gp、GST-π和MRP1在正常宫颈组织和化疗前宫颈鳞癌组织中表达  
Table 1 P-gp GST-π and MRP1 positive expression in normal and cervical squamous cancer before NACT

| 病例数<br>Caselaod     |    | Pg-P  |    | MRP1 |    | GST-π |    |
|---------------------|----|-------|----|------|----|-------|----|
|                     |    | +     | -  | +    | -  | +     | -  |
| 正常 Normal           | 20 | 2     | 18 | 3    | 17 | 9     | 11 |
| 宫颈癌 Cervical cancer | 22 | 9     | 13 | 7    | 15 | 2     | 20 |
| x <sup>2</sup>      |    | 5.18  |    | 0.84 |    | 6.99  |    |
| P                   |    | 0.023 |    | 0.36 |    | 0.008 |    |

GST-π在各组间比较差异均有统计学意义(P<0.05),MRP1差异无统计学意义(P>0.05),具体见表1。

2.2 新辅助化疗前后宫颈鳞癌组织中P-pg、MRP1和GST-π的表达:

结果表明:①在新疆维吾尔族宫颈鳞癌中,NACT后宫颈鳞癌组织中P-pg阳性表达显著上升(P<0.05),有统计学意义。NACT后宫颈鳞癌组织中MRP1、GST-π阳性表达上升但差异

无统计学意义(P>0.05)。具体见表2。

2.3 新辅助化疗前P-gp、GST-π和MRP1表达与NACT疗效关系:

结果表明:①新疆维吾尔族妇女化疗前宫颈鳞癌组织中P-gp、MRP1及GST-π表达阴性和阳性患者NACT有效率无显著性差异(p>0.05)。具体见表3。

2.4 P-gp、GST-π和MRP1的表达与宫颈鳞癌组织病理分级的

关系：

本实验组维族宫颈癌组织，高 - 中分化 18 例，低分化 4 例 统计学结果显示 P-gp、GST-π 和 MRP1 表达水平与宫颈癌的病理分级无统计学意义。具体见表 4。

2.5 P-gp、GST-π 和 MRP1 的表达与宫颈鳞癌临床分期的关

系：

本实验组维族宫颈癌患者 b2 期 4 例， a 期 3 例， b 期 15 例，统计学结果显示 P-gp、GST-π 和 MRP1 表达水平与宫颈鳞癌的临床分期无统计学意义。具体见表 5。

表 2 新辅助化疗前、后 P-gp、GST-π 和 MRP1 在维族宫颈鳞癌中的表达

Table 2 The expression of P-gp,GST-π ,MRP1 in cervical squamous cancer before and after NACT

| 病例数 Caseload    |    | Pg-p  |    | MRP1  |    | GST-π |    |
|-----------------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
|                 |    | +     | -  | +     | -  | +     | -  |
| 化疗前 Before NACT | 22 | 9     | 13 | 7     | 15 | 2     | 20 |
| 化疗后 After NACT  | 22 | 3     | 19 | 12    | 10 | 2     | 20 |
| X <sup>2</sup>  |    | 4.13  |    | 2.32  |    | 0.00  |    |
| P               |    | 0.042 |    | 0.128 |    | 1.00  |    |

表 3 P-gp、GST-π 和 MRP1 表达与 NACT 疗效关系

Table 3 The relations between the expression of P-gp,GST-π ,MRP and the efficiency of NACT

| 指标 Sign |   | 阳性例数 Positive | 总有效数(例) efficiency | x <sup>2</sup> | P     |
|---------|---|---------------|--------------------|----------------|-------|
| Pg-p    | + | 9             | 8                  | 0.538          | 0.616 |
|         | - | 13            | 10                 |                |       |
| MRP-1   | + | 7             | 5                  | 0.745          | 0.565 |
|         | - | 15            | 13                 |                |       |
| GST-π   | + | 2             | 2                  | 0.489          | 0.484 |
|         | - | 20            | 16                 |                |       |

表 4 P-gp、GST-π 和 MRP1 表达与与宫颈鳞癌病例分级的关系(维族)

Table 4 Relationship among expression of P-gp, GST-π and MRP1 and pathological degree in Uigur women

| 分化 pathology |                     | n  | Pg -p   |   | MRP1    |   | GST-π   |   |
|--------------|---------------------|----|---------|---|---------|---|---------|---|
|              |                     |    | +       | - | +       | - | +       | - |
| 分化           | 高 - 中 (high-middle) | 18 | 13      | 5 | 15      | 3 | 11      | 7 |
|              | 程度 低(low)           | 4  | 4       | 0 | 4       | 0 | 1       | 3 |
| P            |                     |    | P=0.254 |   | P=0.380 |   | P=0.427 |   |

表 5 P-gp、GST-π 和 MRP1 表达与与宫颈鳞癌临床分期的关系(维族)

Table 5 Relationship among expression of P-gp, GST-π and MRP1 and clinical stage in Uigur women

| 分期 Pathology |  | n  | Pg -p   |   | MRP1    |   | GST-π   |    |
|--------------|--|----|---------|---|---------|---|---------|----|
|              |  |    | +       | - | +       | - | +       | -  |
| 分期           |  | 4  | 3       | 1 | 1       | 3 | 4       | 0  |
| Stag         |  | 18 | 13      | 5 | 17      | 1 | 8       | 10 |
| P            |  |    | P=0.910 |   | P=0.061 |   | P=0.054 |    |

宫颈癌占女性恶性肿瘤的 12% ,也是女性生殖道恶性肿瘤中发病率最高的肿瘤<sup>[8]</sup> ,我国新疆南部地区维吾尔族妇女宫颈癌患病率和死亡率均远高于全国汉族水平<sup>[9]</sup>。手术和放疗是宫颈癌常用的治疗手段 ,但是中、晚期患者的治疗效果迄今仍较差 ,5 年生生存率约 50 %<sup>[10]</sup>。

为进一步提高宫颈癌患者的治疗效果 ,新辅助化疗已成为

其重要治疗手段<sup>[11,12]</sup>。虽然新辅助化疗可消除亚临床病灶 ,提高手术切除率 ,减少子宫颈癌的术后复发和转移<sup>[13,14]</sup>。但部分对化疗无效者如果接受新辅助化疗 ,既增加了经济负担 ,又延误了最佳治疗时机<sup>[15]</sup>。本研究采用以顺铂为主的联合化疗(化疗方案 :顺铂(PPD)80mg+ 表阿霉素(ADM)40mg + 氟尿嘧啶(5.FU) 1.0 g)<sup>[16]</sup>对符合纳入标准的新疆维吾尔族宫颈癌患者进行术前

动脉介入栓塞治疗,通过检测新疆维族宫颈鳞癌患者新辅助化疗前后 P-gp、MRP1、GST- $\pi$  在宫颈鳞癌组织中的表达,得出结论 P-gp、MRP1、GST- $\pi$  无法作为化疗敏感性指标预测维吾尔族宫颈鳞癌新辅助化疗疗效。由于本研究属小样本研究,故仍需进行大样本及深层次研究,以期更好的对不同种族新辅助化疗疗效进行更加全面有效的评估。

#### 参考文献(References)

- [1] 狄荣军,王志萍,李景艳,等.承德市已婚育龄妇女宫颈癌发病率调查[J].中国妇幼保健,2008,23(5):683-684  
Di Rong-jun,Wang Zhi-ping,Li Jing-yan,et al. The Morbidity of Cervical Cancer of multure women in Cheng De [J].Maternal and Child Health Care of China,2008,23(5):683-684
- [2] 连利娟,林巧稚.妇科肿瘤学.第3版[M].北京:人民卫生出版社,2000,213-246  
Lian Li-juan,Lin Qiao-zhi. Gynelogy oncology [M].Bei jing :Dumb millions health publishing company,2000,213-246
- [3] 拉来·苏祖克,彭玉华,周康,等.新疆不同民族子宫颈癌发病趋势分析[J].新疆医科大学学报,2006,29(7):569-571  
Lai la.Su zu ke,Pen Yu-hua,Zhou Kang, et al.The morbidity of Cervical Cancer between different Nationalities in XinJiang Region [J].Journal of Xinjiang Medical University,2006,29(7):569-571
- [4] Tiemey J.Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancel: a systematic renew and meta-analysis of individual patient data from 21 randomised trials [J]. Eur J Cancer,2003,39(17):2470-2486
- [5] DAgostimG, DistefanoM, GreggiS,etal Neondjuvant treatment of locally advanced carcinoma Of the uteerin cervix with epiru bicin, paclitaxel and cisplatin [J].Cancer Chemother Pharmacol, 2002, 49(3):256-260
- [6] Napolitano U,Imperato F, Mossa B, et al. The role of neoadjuvant chemnotherapy for squamous cell cancer (Ib-IIIb): long term randomized trial[J].Eur Gynaecol Oncol, 2003, 24(1): 51-59
- [7] 张凡,常永霞,张九鸿.早期宫颈癌耐药基因与临床预后关系回顾性研究[J].河北北方学校学报(医学版),2006,23(1):1-6  
Zhang Fan, Chang Yong-xia, Zhang Jiu-hong. Retrospective research on the relationship between earlier period cervical cancer drug resistance gene and clinical prognosis [J]. Journal of Heibei North School(Medicinal), 2006, 23(1):1-6
- [8] 田学武,陈淑英.子宫颈癌 P-糖蛋白表达及其意义[J].汕头大学医学院学报,2006,19(2):98-99  
Tian Xue-wu,Cheng Shu-ying. The signicance and expression of P-gp in cervical cancer[J]. Journal of Shantou University Medical College, 2006,19(2):98-99
- [9] 陈继明,王英红,郭晓青.宫颈癌动脉介入新辅助化疗近期疗效分析[J].农垦医学,2007,29(1):27-28  
Chen Ji-ming,Wang Ying-hong,Guo Xiao-qing. Artery neoadjuvant chemotherapy in patients with cervical cancer[J]. Journal of Nongken Medicine,2007,29(1):27-28
- [10] 陈拉妮,曾燕,李维强等.中晚期宫颈癌超选择动脉灌注化疗栓塞的临床疗效[J].广东医学,2005,26(4):444-445  
Chen La-ni,Zeng Yan,Li Wei-qiang,et al. Artery neoadjuvant chemotherapy in patients with later cervical cancer [J]. Guangdong Medicine, 2005, 26(4):444-445
- [11] 姜淑清,王涛.新疆策勒县宫颈癌的流行病学调查研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2006,20(5):379-381.  
Jiang Shu-qing,Wang Tao. The cervical cancer epidemiology investigation of Cele county in Xinjiang [J]. Chinese Journal of Practical Medicine, 2006,20(5):379-381
- [12] 彭君臣,张组娟,刘娜,乔力甫,王英红. P-gp、MRP1 及 GST- $\pi$  在宫颈鳞癌中的表达及对新辅助化疗敏感性的预测研究[J].中国医药指南,2009,5,(10):41-43  
Peng Jun-cheng,Zhang Juan, Liu-na,Qiao Li-fu,et al. Expression of P-glycoprotein,Multiple Resistance-associated Protein-1 and GST- $\pi$  in Cervical Squamous Cancer for Prediction of Respome to Neoauvant Chemotherapy [J]. Guide of China Medicine,2009,5,(10):41-43
- [13] DAgostimG, DistefanoM, GreggiS,etal Neondjuvant treatment of locally advanced carcinoma Of the uteerin cervix with epirubicin, paclitaxel and cisplatin [J].Cancer Chemother Pharmacol, 2002, 49(3):256-260
- [14] Napolitano U,Imperato F,Mossa B,et al. The role of neoadjuvant chemnotherapy for squamous cell cancer (Ib-IIIb) long term randomized trial[J].Eur Gynaecol Oncol, 2003,24(1):51-59
- [15] 彭君臣,张组娟,刘娜,王英红. P-gp、MRP1、GST- $\pi$  在宫颈鳞癌新辅助化疗中的表达及意义[J].医学理论与实践,2009,22(3):260-262  
Peng Jun-cheng,Zhang Juan,Liu Na,et al. Expression of P-glycoprotein,Multiple Resistance-associated Protein-1 and GST- $\pi$  in Cervical Squamous Tissues before and after Neoadjuvant Chemotherapy(NACT)[J].Med Theor&Prac, 2009,22(3):260-262
- [16] 杨宏英,卢玉波,董菊颖,魏万里. BCL-2 和 Bax 表达在宫颈癌新辅助动脉化疗疗效评价中的作用探讨 [J]. 中国妇幼保健,2008,23:4451-4452  
Yang Hong-ying ,Lu Yu-bo ,Dong Ju-ying et al. The role of Bcl-2 and Bax in artery neoadjuvant chemotherapy in patients with cervical cancer [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2008, 23:4451-4452