

晚期非小细胞肺癌患者血清酸性谷胱甘肽-S 转移酶的表达及临床意义

韩志刚, 单利, 刘春玲

Expression of the Serum GST Level in Patients with Advanced NSCLC and Its Clinical Significance

HAN Zhi-gang, SHAN Li, LIU Chun-ling

Department of chemotherapy, Affiliated Tumor Hospital, Xingjiang, Wulumuqi 830011, China

Abstract Objective To detect the expression of serum glutathione S-transferase (GST) level in patients with NSCLC, and to investigate its clinical significance. **Methods** GST levels in serum of 46 patients with NSCLC, 19 patients with benign lung diseases and 60 health subjects were detected with ELISA. Forty-six NSCLC patients were given 2 cycles of NVB + DDP chemotherapy and clinical response was evaluated. **Results** The mean serum GST level was significantly higher in patients with NSCLC than in those with benign lung disease and health subjects ($P < 0.05$). Twenty-five of 46 patients with NSCLC (54.34%) showed elevated serum GST levels above a cutoff value of 166.14 ng/ml (mean + two standard deviations in 60 healthy control subjects). The positive rate was significantly higher in patients with NSCLC than in those with benign lung disease 36.84% and healthy subjects 3.33% ($P < 0.05$). The positive rate of serum GST were 57.14% in squamous cell carcinoma and 52.00% in adenocarcinoma ($P > 0.05$). No correlation was observed between the GST level and stage, sex, pathohistology. Of the 46 patients treated with NVB + DDP chemotherapy, 19 patients responded to chemotherapy (overall response rate, 41.30%). For the 25 patients with positive GST expression, 5 patients responded to chemotherapy, response rate was 20%. In the 21 patients with negative GST expression, 14 patients responded to chemotherapy, response rate was 66.67%. This difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum GST level may be a valuable tumor marker for NSCLC, There was no correlation between expression of serum GST and stage, sex, pathohistology. The response rate of NSCLC patients with GST-negative expression was higher than those with GST-positive. GST may be a useful predictor of chemotherapy response.

Key words: Nonsmall cell lung cancer; Serum; Glutathione S-transferase

收稿日期:2006-03-30;修回日期:2006-07-25
作者单位:830011 乌鲁木齐,新疆医科大学附属肿瘤医院化疗二科

作者简介:韩志刚(1973-),男,硕士,主治医师,主要从事胸部肿瘤的化疗研究

摘要:目的 通过测定非小细胞肺癌(Nonsmall cell lung cancer, NSCLC)患者血清中酸性谷胱甘肽-S 转移酶(GST)的含

由此推断:EphA2 在 NSCLC 的新生血管形成中可能起非常关键的作用。NSCLC 中对肿瘤的恶性生物学作用,可能是通过影响 EphA2 进行信号转导而发挥作用。

综上所述,EphA2 和 VEGF 在 NSCLC 中高表达,两者均与其恶性生物学行为有关,且两者密切相关,这种现象提示 EphA2 蛋白在肿瘤的血管生成方面发挥了一定的作用。目前已有报道证实,阻断 EphA2 受体的活性可以抑制肿瘤的血管生成。因此,EphA2 有望成为抗肺癌治疗的新靶点,因为在抑制肿瘤细胞生长的同时,也直接影响了肿瘤的血管生成。

参考文献:

- [1] 曾益新. 肿瘤学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,2003. 139-140.
- [2] Kinch MS, Moore MB, et al. Predictive value of the EphA2 receptor tyrosine kinase in lung cancer recurrence and survival[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(2):613-618.
- [3] 王靖华,李桂圆,陈龙邦,等. VEGF、p53、MMP-2 在非小细胞肺癌的表达及与肿瘤血管生成和淋巴结转移关系的研究[J]. 肿瘤防治研究, 2003, 30(1):39-41.
- [4] Cheng N, Brantley DM, Liu H, et al. Blockade of EphA receptor tyrosine kinase activation inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis[J]. Mol Cancer Res, 2002, 1(1):2-11.
- [5] Kataoka H, Igarashi H, et al. Correlation of EphA2 overexpression with high microvessel count in human primary colorectal cancer[J]. Cancer Sci, 2004, 95(2):136-141.

[编辑:贺文]

量,探讨 GST- 在临床的应用价值。方法 应用 ELISA 法检测 46 例 NSCLC, 19 例肺良性病变者(Benign lung diseases, BLD)及 60 例健康人血清 GST- 含量,对 46 例 NSCLC 患者行诺维本加顺铂方案化疗两周期并判断疗效。结果 非小细胞肺癌患者血清中 GST- 含量明显高于肺良性病变者($P < 0.05$)及健康对照组($P < 0.05$)。以正常对照组($\bar{x} \pm 2s$, 166.14ng/ml)为正常上限,NSCLC 患者阳性率为 54.34%,明显高于肺良性病变组 36.84% ($P < 0.05$)及正常对照组 3.33% ($P < 0.05$)。血清 GST- 含量在鳞癌中的阳性表达率为 57.14%,腺癌为 52.00%,两者间的差别无统计学意义($P > 0.05$)。血清 GST- 表达与 NSCLC 组织学类型、分期、性别无关($P > 0.05$)。46 例接受了以顺铂为基础的化疗的 NSCLC 中,19 例对化疗有效,总有效率 41.30%。其中 25 例 GST- 表达阳性的 NSCLC 患者中 5 例对含铂方案化疗有效,有效率 20%。21 例 GST- 表达阴性的 NSCLC 患者中 14 例对含铂方案化疗有效,有效率 66.67%。两组间化疗效果的差别有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血清 GST- 可作为 NSCLC 的肿瘤标志物,血清 GST- 表达与 NSCLC 组织学类型、分期、性别无关。NSCLC 患者血清中 GST- 的表达阳性者对含铂化疗方案的敏感性低于 GST- 的表达阴性者。GST- 的含量是一个有价值的可预测患者对含铂化疗方案的敏感性的指标。

关键词:非小细胞肺癌;血清;谷胱甘肽-S-转移酶

中图分类号:R734.2 文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2007)05-0336-04

0 引言

在肺癌中,非小细胞肺癌对化疗的敏感性不如小细胞肺癌,两种类型肺癌对化疗敏感性的不同其中一个重要的差异就是谷胱甘肽-S-转移酶基因表达的差异^[1]。因而,近几年 GST- 介导的多药耐药越来越引起人们的重视。GST- 在非小细胞肺癌的组织及血清中均有表达,目前关于 GST- 在组织中表达的研究较多,但血液学检测标本获取方便,检测方法简单易行。本文希望通过研究非小细胞肺癌患者血清 GST- 的含量及其对化疗效果的影响以探讨 GST- 在临床的应用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取我院 2004 年 3 月~2005 年 7 月化疗二科收住的初诊肺癌并经病理证实的住院病人(34 例为组织学证实,12 例为细胞学证实)。其中非小细胞肺癌 46 例(其中腺癌 25 例,鳞癌 21 例;III 期 15 例,IV 期 31 例),男 33 例,女 13 例。年龄 33~78 岁,中位年龄 62 岁。肺良性病变患者 19 例(肺结核 7 例,炎性假瘤 4 例,肺部感染 8 例),中位年龄 61 岁。健康成人对照组 60 例,中位年龄 57 岁。上述

肺癌患者在化疗前均行头、胸部及肝肾(肾上腺)CT、胸部 X 片,全身骨扫描检查。

1.2 血清 GST- 测定

化疗前抽取空腹静脉血 3ml,颠倒混匀,然后 2~8℃ 孵育 15~30min,1800 转速离心 10min,吸取血清于 -20℃ 冰箱保存。实验试剂盒由北京岳泰生物制品有限公司提供,采用 ELISA 法检测。试剂盒中有高值、低值质控血清。严格按试剂盒说明进行试验。

1.3 治疗措施

46 例非小细胞肺癌患者给予诺维本加顺铂(NP)化疗方案:盖诺(国产诺维本,连云港豪森制药有限公司生产)25mg/m²,静推,第 1、8 天,顺铂(齐鲁制药厂生产)30mg/m²静滴,第 1、2、3 天,3 周为一周期。上述方案给予常规止吐,水化治疗。以上病例用相同方案化疗至少两周期,于第 2 周期化疗结束后 4 周进行疗效评价。

1.4 疗效评价标准

采用 WHO 通用的实体瘤评价方法分为完全缓解(CR),部分缓解(PR),稳定(SD),进展(PD)。

1.5 统计分析

采用 SPSS 11.0 统计软件,采用 *t* 检验,检验水准 = 0.05。

2 结果

2.1 血清 GST- 含量测定结果

血清 GST- 含量测定结果,非小细胞肺癌患者血清 GST- 含量(320.71 ± 286.66)ng/ml,明显高于肺良性病变患者组(174.3 ± 142.24)ng/ml($t = 2.13, P < 0.05$)及正常对照组(91.37 ± 36.71)ng/ml($t = 4.32, P < 0.05$)。以正常对照组($\bar{x} \pm 2s$, 166.14ng/ml)为正常上限,非小细胞肺癌患者阳性率为 54.34%,明显高于正常对照组 3.33% ($P < 0.05$)及肺良性病变组 36.84% ($P < 0.05$)。非小细胞肺癌中血清 GST- 含量在鳞癌中的阳性表达率为 57.14%,腺癌为 52.00%,两者间的差别无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 血清 GST- 含量测定结果

| 组别 | n | GST- 含量(ng/ml) | GST- 阳性例数(%) |
|--------|----|-----------------|--------------|
| 正常人 | 60 | 89.28 ± 38.43 | 2(3.33) |
| NSCLC | 46 | 320.71 ± 286.66 | 25(54.34) |
| 鳞癌 | 21 | 335.67 ± 323.31 | 12(57.14) |
| 腺癌 | 25 | 320.77 ± 265.25 | 13(52.00) |
| 肺良性病变组 | 19 | 174.3 ± 142.24 | 7(36.84) |

46 例非小细胞肺癌患者中,血清 GST- 表达阳性组与阴性组在性别、病理类型及 TNM 分期上

的差别无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 血清 GST 表达与性别、病理类型、TNM 分期的关系

| | GST- 阳性 | GST- 阴性 | P |
|------|---------|---------|----------|
| 病例数 | 25 | 21 | |
| 性别 | | | > 0.05 |
| 男 | 18 | 15 | |
| 女 | 7 | 6 | |
| 病理类型 | | | > 0.05 |
| 腺癌 | 13 | 12 | |
| 鳞癌 | 12 | 9 | |
| 分期 | | | > 0.05 |
| | 8 | 7 | |
| | 17 | 14 | |

2.2 化疗效果与 GST- 表达、病理类型、TNM 分期的关系 见表 3。

表 3 化疗效果与 GST 表达、病理类型、TNM 分期的关系

| | 化疗有效 | 化疗无效 | P |
|---------|------|------|----------|
| 病例数 | 19 | 27 | |
| GST- 表达 | | | < 0.05 |
| 阳性 | 5 | 20 | |
| 阴性 | 14 | 7 | |
| 病理类型 | | | > 0.05 |
| 腺癌 | 11 | 14 | |
| 鳞癌 | 8 | 13 | |
| 分期 | | | > 0.05 |
| | 6 | 9 | |
| | 13 | 18 | |

3 讨论

3.1 GST- 在非小细胞肺癌的表达

谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 是一组具有解毒和结合蛋白功能的同工酶, 与癌症的发生发展及抗药性有密切关系^[2]。根据其不同等电点可分为 (碱性)、 μ (中性), (酸性)。其中酸性谷胱甘肽-S 转移酶 (GST-) 是一种具有高度敏感性和广泛反应性的酶类, 主要分布在于消化道、呼吸道、肾脏、胎盘和胎儿肝脏中。GSTs 特别是 GST- 在多种肿瘤细胞和组织中高度表达。GST- 在肺癌组织中的表达首次由 Eimoto 等^[3] 于 1988 年报道, 该研究结果表明在所研究的肺鳞癌及腺癌组织中 GST- 表达高于小细胞肺癌。非小细胞肺癌血清中 GST- 阳性率高于小细胞肺癌和正常人, 但低于组织中 GST- 阳性率。GST- 表达与肺癌 TNM 分期, 病理类型无关而与分化程度有关^[4]。本研究中, 46 例非小细胞肺癌患者血清 GST- 阳性率为 54.34%, 明显高于正常组的 3.33% 及肺良性病变组的 36.84%。其中, 鳞癌 57.14%、腺癌 52.00%。但两者间的差别无

统计学意义 ($P > 0.05$)。说明 GST- 表达与非小细胞的病理类型无关, 而且血清 GST- 的表达与患者性别、分期也无关 ($P > 0.05$)。有资料显示 GST-

表达与非小细胞肺癌分化程度有一定关系, 高分化者阳性率高于低分化者, 即细胞分化程度越高, GST- 表达也高, GST- 在较接近正常分化的肺癌组织中表达高于明显异常的肺癌组织^[3]。由于本研究中有些病例的诊断 of 细胞病理学诊断, 无法判断肿瘤的分化程度, 故研究过程中未做 GST- 表达与肿瘤分化程度关系的研究。

目前认为 GST- 含量增高与转录水平 mRNA 表达增高有关, GST- 受基因控制, 当致癌物作用于机体细胞引起细胞变异时, 同时诱导 GST- 基因表达, 故 GST- 的表达在肿瘤发生起始阶段就已决定, 而与病变进展无关, 与分期无关, 这表明 GST- 可作为早期癌变的标志酶。

3.2 GST- 与非小细胞肺癌的耐药性

目前临床肺癌的化疗多以顺铂为基础的联合化疗。顺铂在肺癌的化疗中一直被认为是最有效、最具活性的抗癌药物之一, 是肺癌联合化疗中的核心成份。诺维本 (国产诺维本商品名为盖诺) 为第三代长春碱类抗肿瘤药物。1974 年由法国学者 Potiere 半合成, 是抗有丝分裂的细胞周期特异性药物。诺维本加顺铂 (NP) 方案是国际推荐的治疗晚期非小细胞肺癌的一线方案之一。

本研究中 46 例接受了 NP 化疗的非小细胞肺癌中, 19 例化疗有效 (PR17 例、CR2 例), 27 例无效, 有效率 41.30%。其中 25 例接受化疗的 GST- 表达阳性者中, 5 例有效、20 例无效, 有效率 20.00%; 21 例接受化疗的 GST- 表达阴性者, 14 例有效、7 例无效, 有效率 66.67%, GST- 表达阴性组化疗有效率明显高于 GST- 表达阳性组, 两组间化疗有效率的差别有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果与国外研究相类似^[5,6]。且本研究中化疗疗效与患者的病理类型、分期无关 ($P > 0.05$)。但国内有研究报告用 NVP + DDP 治疗非小细胞肺癌, 结果该方案对腺癌的疗效优于鳞癌^[7]。本研究中, NP 化疗方案对鳞癌与腺癌有效率无明显差别, 考虑与本研究中病例数较少有关, 而且本研究中患者为晚期非小细胞肺癌, 肿瘤负荷大, 处于 G₀ 期的肿瘤细胞数量多, 故两种类型非小细胞肺癌对化疗的敏感性无明显差异。

非小细胞肺癌产生耐药性的原因有多种, 如: P-糖蛋白过度表达、拓扑异构酶表达下降、GST- 表达增高, 在未治疗的非小细胞肺癌中, 45% 有 P-糖蛋白过度表达, 47% 有拓扑异构酶表达下降, 62% 有

GST- 表达增高。在许多研究中还发现上述 3 种因子如没有改变,抗药性为 40 %;如一种改变,抗药性为 56 %;如两种改变,抗药性为 90 %;如三种改变,抗药性为 100 %^[8]。这说明 GST- 在非小细胞肺癌的耐药中起重要作用,GST- 的含量影响近期化疗效果^[9-14]。GST- 是人体内一种 II 相代谢酶,其介导肿瘤多药耐药的机制为:(1)催化谷胱甘肽(GSH)与亲电子的药物如各种烷化剂的结合。GST- 能催化机体内化疗药物与 GSH 相结合,增加药物的水溶性,加速其排泄而使药效减低;(2)清除蒽环类药物等产生的自由基,减轻药物自由基对细胞的损伤;(3)通过直接与药物结合的形式降低药物的活性;(4)GST- 还具有 GSH 过氧化物酶活性,可将有毒的过氧化物转变为低毒的醇类物质,即有阻断脂质过氧化物的作用。国外多项有关 GST- 与多药耐药的的研究结果均表明,GST- 在化疗前表达高者对化疗的敏感性差^[5,6,15-18]。

近 10 年来在肺癌对铂类的耐药问题上的研究结果显示,p53、肺耐药蛋白(LRP)、GST- 被认为与铂类耐药有关,尤其是 GST- 表达阳性者对顺铂的敏感性明显下降,可以用于临床预测肺癌对铂类药物的耐药性。而 P-糖蛋白、多药耐药相关蛋白在预测肺癌对铂类药物的耐药性方面的意义不大^[19]。因此,GST- 是耐药相关基因中最主要的标志之一。GST- 是 CDDP 类药物的代谢酶,当 GST- 升高时在非小细胞肺癌则对以 CDDP 为主的化疗方案耐药。GST- 表达增加就意味着肿瘤耐药性升高。GST- 的表达在肺癌尤其是非小细胞肺癌对顺铂的耐药性中起重要作用^[16,17,20,21]。因而 GST- 的表达从一定程度上反映了患者对包括顺铂在内的化疗方案的敏感性。

本研究表明血清 GST- 可作为临床诊断非小细胞肺癌的一项指标,GST- 表达与患者性别、病理类型、分期无关。在临床使用时如能将血清 GST- 与其他肺癌标记物检测联合起来,对非小细胞肺癌的诊断会有很大帮助。

通过本课题的研究结果,我们可以发现非小细胞肺癌患者血清 GST- 表达还是一项有价值的预测对含铂化疗方案敏感性,指导化疗的可参考指标。当然,由于肺癌耐药机制很复杂,所以要想了解病人是否对含铂化疗方案产生耐药性,需从多方面进行检测才能提高预测的灵敏度和准确度。

参考文献:

- [1] Wang AL, Fadok VA, Lee JS, et al. Increased GST- activity in a cell line with acquired resistance to nitrogen mustards[J]. *Cancer Treat Rep*, 1985, 69(7):677-679.
- [2] 李玉华. 谷胱甘肽 S-转移酶与癌症研究新进展[J]. *国外医学肿瘤学分册*, 1990, (3):129-132.
- [3] Eimoto H, Tsutsumi M, Nakajima A, et al. Expression of the glutathione S-transferase placental form in human lung carcinomas[J]. *Carcinogenesis*, 1988, 72(9):2325-2327.
- [4] 薛奇, 汪良骏, 罗贤懋, 等. 血清 GST- 在非小细胞肺癌诊断中的应用价值[J]. *肿瘤研究与临床*, 2002, 14(4):242-243.
- [5] Bai F, Nakanishi Y. Immunohistochemical expression of GST-Pi can predict chemotherapy response in patients with NSCLC[J]. *Cancer*, 1996, 78(3):1025-1027.
- [6] Arai T, Yasuda Y. Immunohistochemical expression of GST-Pi in untreated primary NSCLC[J]. *Cancer Detect Prev*, 2000, 24(3):1411-1423.
- [7] 张湘如, 孙燕, 孔维红, 等. 去甲长春花碱加顺铂治疗晚期 NSCLC 分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 1998, 20(1):60-61.
- [8] 高振强, 高志萍, 张晓斌. 肺癌分子生物学研究进展[J]. *国外医学呼吸分册*, 1996, 17(1):37-39.
- [9] 秦芳, 秦露, 张霞, 等. P-GP, GSTs, topo 在胃癌组织中的表达[J]. *癌症*, 2002, 21(2):363-365.
- [10] 扬林, 李学汤, 诸亚君, 等. 卵巢癌 P-GP, GST- p53, p185 表达对近期化疗效果的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 1998, 25(4):412-414.
- [11] 张转, 汪辉. GSTs 与肿瘤及其化疗耐药之间的关系[J]. *肿瘤防治研究*, 2000, 27(6):408-410.
- [12] 陈瑜, 李明仁, 盛健, 等. 乳腺癌患者血清及组织中谷胱甘肽转移酶活性检测的临床价值[J]. *福建医科大学学报*, 2001, 35(4):254-256.
- [13] 龙延旗, 韩希望, 王建华, 等. 结肠癌患者外周血淋巴细胞内 GSTs 活性变化的临床价值研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2000, 27(5):398-400.
- [14] 郑宇, 戴广海, 李春海, 等. 肿瘤组织中 GST- 基因的 RT-PCR 定量研究[J]. *解放军医学杂志*, 2001, 26(4):329-330.
- [15] Jayasurya A, Yap W M, Tan N G, et al. Glutathione S-transferases-Pi expression in nasopharyngeal cancer[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2002, 128(12):1396-1399.
- [16] Schipper D L, Wagenmans M J, Peters W H, et al. Glutathione S-transferases and Iododeoxyuridine Labelling Index during Chemotherapy of Gastric Cancer[J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(3):1705-1710.
- [17] 张帆, 漆林涛, 陈惠帆, 等. P-GP 与 GST- 的表达对化疗耐药的预测价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2001, 7(23):313-316.
- [18] Tzyhr-Chyuan H, Jun C, Chao Y H, et al. Characterization of Chemoresistance Mechanisms in a Series of Cisplatin-Resistant Transitional Carcinoma Cell Line[J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(6):3221-3226.
- [19] 李榕, 韩宝惠. 肺癌化疗中铂类药物耐药性检测的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2004, 3(9):310-313.
- [20] Rlou G, Barrois M, Sheng ZM, et al. Somatic deletions and mutations of the c-Ha-ras gene in human cervical cancers[J]. *Oncogene*, 1983, 78(3):329-333.
- [21] Jayasurya A, Yap W M, Tan N G, et al. Glutathione S-transferases-Pi expression in nasopharyngeal cancer[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2002, 128(12):1396-1399.

[编辑:安 凤]