

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.08.026

Topo II α 、GST- π 、P-gp 对卵巢癌患者化疗反应及预后预测的体内外实验

蔡鸿宁¹, 陈慧君¹, 吴绪峰¹, 龚玲玲², 曾俊²

Value of Topo II α , GST- π and P-gp in Predicting Chemotherapeutic Response and Prognosis of Ovarian Cancer *in vivo* and *in vitro*

Cai Hongning¹, Chen Huijun¹, Wu Xufeng¹, Gong Lingling², Zeng Jun²

1. Department of Gynecologic Oncology, Hubei Provincial Maternal and Child Health Hospital, Wuhan 430070, China; 2. Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University

Corresponding Author: Wu Xufeng, E-mail: zwxufeng@163.com

Abstract: Objective To assess the role of Topo II α , GST- π and P-gp in drug-resistance of ovarian cancer and their value as predictors of chemotherapeutic response and prognosis. **Methods** The expression of GST- π , P-gp and Topo II α in the surgical specimens were detected by immunohistochemistry and their relationship with the chemotherapeutic response and prognosis of the patients were analyzed. The expression of GST- π and MDR-1/P-gp in human ovarian cancer cells was silenced by RNAi; to evaluate the feasibility of reversal MDR phenotype in the cells. **Results** Chemotherapeutic response was no difference with negative Topo II α and positive. Chemotherapeutic response was more favorable in patients with negative GST- π than in those with positive expression ($P=0.009$). Similar trend occurred with P-gp, though the difference was not significant ($P=0.059$). Although log-rank test showed a longer survival in patients with negative GST- π or P-gp ($P=0.012$; $P=0.000$), Cox hazard analysis did not indicate they could be regarded as prognostic predictors ($P=0.682$; $P=0.101$). However, when their co-expression status was taken into account, it was found that 100.0% patients with co-negative GST- π /P-gp responded well to chemotherapy and 85.7% patients were still alive until the evaluation. Co-negative GST- π /P-gp presented better chemotherapeutic response and prognosis ($P=0.001$; $P=0.000$). Furthermore, decreased drug sensitivity accompanied with overexpressed GST- π and P-gp level was found in MDR ovarian cancer cell lines. **Conclusion** GST- π and P-gp are involved in the forming of MDR in ovarian cancer. The reliability of MDR-1 and GST- π alone as indicators of chemotherapeutic response and prognosis is limited, and co-detection of their expression may provide a higher predictive value. After silencing the expression of GST- π and P-gp by RNAi, the drug sensitivity of the MDR cells were increased.

Key words: Multidrug resistance; Ovarian cancer; Glutathione S-transferase- π ; P-glycoprotein; Topoisomerase II α

摘要: 目的 研究 Topo II α 、GST- π 、P-gp 在卵巢癌耐药中的作用及其对化疗反应及预后的预测价值。**方法** 免疫组织化学 SP 法检测 Topo II α 、GST- π 、MDR-1/P-gp 在 80 例上皮性卵巢癌组织中的表达, 分析它们与化疗反应及预后的关系; RNA 干扰封闭 GST- π 、MDR-1/P-gp 在人卵巢癌耐药细胞中的表达, 检测其逆转细胞耐药的可能性。**结果** Topo II α 阴性和阳性患者的化疗反应无差异。GST- π 阴性患者的化疗疗效显著优于阳性者 ($P=0.009$); P-gp 阴性患者也较阳性者疗效好, 但差异无统计学意义 ($P=0.059$)。尽管 Log-rank test 显示 GST- π 或 P-gp 阴性患者的生存时间显著长于相应指标阳性患者, 但 Cox 分析并未指示两者为独立预后因素 ($P=0.682$; $P=0.101$)。根据 GST- π 、P-gp 的共同表达情况进一步分组分析显示, 两者共同阴性的患者化疗有效率 100%、85.7% 生存至末次随访, GST- π 、P-gp 共同阴性预示较好的化疗反应及预后 ($P=0.012$; $P=0.000$)。体外实验显示, 卵巢癌耐药细胞对多种化疗药物敏感度降低, 同时 GST- π 、MDR-1/P-gp mRNA 表达增高。**结论** GST- π 及 MDR-1/P-gp 在卵巢

癌耐药中具重要作用, GST- π 或 P-gp 单独预测化疗反应及预后的效用有限, 联合检测可提供较高临床价值, 封闭两者表达可一定程度逆转卵巢癌细胞的耐药性。

关键词: 多药耐药; 卵巢癌; 谷胱甘肽-S-转移酶- π ; P-糖蛋白; 拓扑异构酶 II α

中图分类号: R737.31 文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2012)08-0985-07

收稿日期: 2011-09-16; 修回日期: 2012-01-17
基金项目: 湖北省科技厅自然科学基金一般项目 (2010CDB10902); 湖北省妇幼保健院院课题基金资助项目 (20922004)
作者单位: 1. 430070 武汉, 湖北省妇幼保健院妇瘤科; 2. 武汉大学中南医院病理科
通信作者: 吴绪峰, E-mail: zwxufeng@163.com
作者简介: 蔡鸿宁 (1982-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤的临床及基础研究

0 引言

尽管肿瘤细胞减灭术及联合化疗已成为上皮性卵巢癌治疗的标准模式,但其生存率仍保留在 30%左右的低水平^[1]。化疗耐药是治疗失败的主要原因之一,卵巢癌首次化疗有效率达 76%,但复发后降至 20%,80%患者最终出现耐药^[2-3]。因此,寻找预测化疗反应及预后的合适指标,将有助于个体化治疗方案的制定。研究显示多种因子与肿瘤耐药形成有关,其中以多药耐药基因(multi-drug resistance gene-1,MDR-1)及其产物 P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)过表达所致的细胞内药物外泵、谷胱甘肽-S-转移酶- π (glutathione-S-transferase- π ,GST- π)等细胞解毒酶功能的增强以及药物靶酶拓扑异构酶 II α (topoisomerase,Topo II α)活性的改变最为典型,分别介导经典多药耐药和非典型多药耐药^[4]。耐药的产生是多基因综合作用的结果,而以往的研究多局限于单因素,为此我们同步检测了上述三种典型耐药相关指标的表达,分析其与化疗反应及预后的关系,并通过体外实验进一步验证 RNAi 封闭相关基因表达后逆转卵巢癌细胞耐药的可能性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以武汉大学中南医院妇瘤科 1999 年 1 月—2001 年 12 月收治的上皮性卵巢癌患者 80 例为实验组,入选标准:(1)年龄 ≤ 75 岁;(2)ECOG 状态评分 ≤ 2 ;(3)肝肾功能正常;(4)无复杂合并症。80 例患者中,年龄 ≤ 51 岁者 41 例, > 51 岁者 39 例。以 20 例子宫肌瘤患者的手术切除卵巢为正常对照组;20 例良性卵巢肿瘤为良性对照组。术后病检证实浆液性腺癌 42 例,黏液性腺癌 12 例,子宫内膜样癌 14 例,透明细胞癌和未分化者各 6 例,病理分级未分化者 24 例,中分化者 26 例,低分化者 30 例,手术病理分期 I 期 12 例,II 期 10 例,III 期 42 例,IV 期 16 例。早期患者行全面分期探查术,晚期患者行肿瘤细胞减灭术,术后均给予顺铂+环磷酰胺方案化疗,其中 16 例因肿瘤进展而更换为紫杉醇+顺铂(或卡铂)方案。按 WHO 标准评价化疗反应,分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD),CR 和 PR 合计为化疗有效,SD 和 PD 合计为化疗无效。随访至 2008 年 12 月,生存期的计算为从手术日期到末次随访或死亡日期。

1.2 主要试剂与细胞株

P-gp 单抗购自美国 ABR Affinity BioReagents,GST- π 多抗来自 MBL 公司。Topo II α 以

及 β -actin 单抗来自美国 Santa Cruz 公司。载体 pSilencer1.0-U6 由武汉大学免疫系提供。人卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 及其敏感株 COC1 来自中国典型物种储藏中心,SKOV3/DDP 及其敏感株 SKOV3 由美国乔治亚医科大学赠送。细胞培养于含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液、37℃、5% CO₂ 温箱中。耐药株培养液中加 0.5 μ g/ml 顺铂,以维持耐药性。

1.3 免疫组织化学

标本经 10%福尔马林固定,石蜡包埋,3 μ M 厚连续切片,SP 法免疫组织化学染色,DAB 显色后用 HIPAS-1000 病理图像测量系统分析。Topo II α 阳性表达为胞核明显棕黄色颗粒,GST- π 阳性为胞质棕黄色颗粒,P-gp 阳性以胞膜呈棕黄染色为准,阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为(-),10%~29%为(+),30%~49%为(++), $\geq 50\%$ 为(+++)。

1.4 RNA 干扰封闭 GST- π 及 P-gp 的表达

用美国 Invitrogen 公司软件选择干扰序列:MDR-1:上游引物:5'-AACTT TGGCTGCCATCATCCA-3'(586-606),下游引物:5'-AAGGCCTAATGCCGAACACA-3'(3495-3514);GST- π :上游引物:5'-GCCCTACACCG TGGTCTATTT-3'(42-62),下游引物:5'-GCAAATACGTCTCCCTCATCT-3'(341-361)。合成靶序列及其互补链,退火形成双链,克隆至载体 PSilencer1.0-U6。用 lipofectamine 2000 (Invitrogen)将重组质粒转入耐药细胞,以空质粒为对照,48 h 后半定量 RT-PCR 及 Western blot 检测基因沉默效果。RT-PCR:提取 2 μ g 总 RNA 行 RT-PCR 反应,凝胶成像仪分析目的基因与 β -actin 的条带亮度,以其比值表示基因表达量。Western blot:取 50 μ g 细胞蛋白行 SDS-PAGE 电泳,转膜、封闭,用抗 GST- π (1:1 000)和 P-gp (1:200)抗体检测相关蛋白表达。

1.5 四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色法检测细胞耐药性

取对数生长期细胞接种于 96 孔板(1×10^4 个/孔),加入不同浓度的顺铂、阿霉素及紫杉醇培养 48 h,再加入 20 μ l MTT(5 mg/ml)继续培养 4 h,DM-SO 100 μ l 溶解紫色结晶。检测 570 nm 处吸光度值,绘制剂量效应曲线计算半数抑制浓度(IC₅₀)。耐药指数为耐药株与敏感株的 IC₅₀ 比值。

1.6 统计学方法

用 SPSS(14.0)软件行统计分析,各组间比较采用 Chi-square 检验和 Fisher's 精确检验,Kaplan-Meier 绘制生存曲线,Log rank 检验比较生存时间的差异,多因素生存分析采用 Cox 风险回归模型。

2 结果

2.1 Topo II α,GST-π,P-gp 在正常卵巢上皮及卵巢肿瘤组织中的表达

GST-π 及 P-gp 在实验组中的表达均显著高于正常及良性对照组 ($P = 0.000$; $P = 0.001$)。Topo II α 在三组中的表达差异无统计学意义 ($P = 0.603$)。

Topo II α,GST-π,P-gp 在卵巢癌组织中的表达如图 1 所示。GST-π 的表达与分化程度及分期有关,分化越差、期别越高则阳性率越高 ($P < 0.05$); Topo II α 的表达与分化程度有关,分化越差则阳性率越高 ($P < 0.05$);P-gp 的表达与分期有关,期别高的患者阳性率较高 ($P < 0.05$),见表 1。

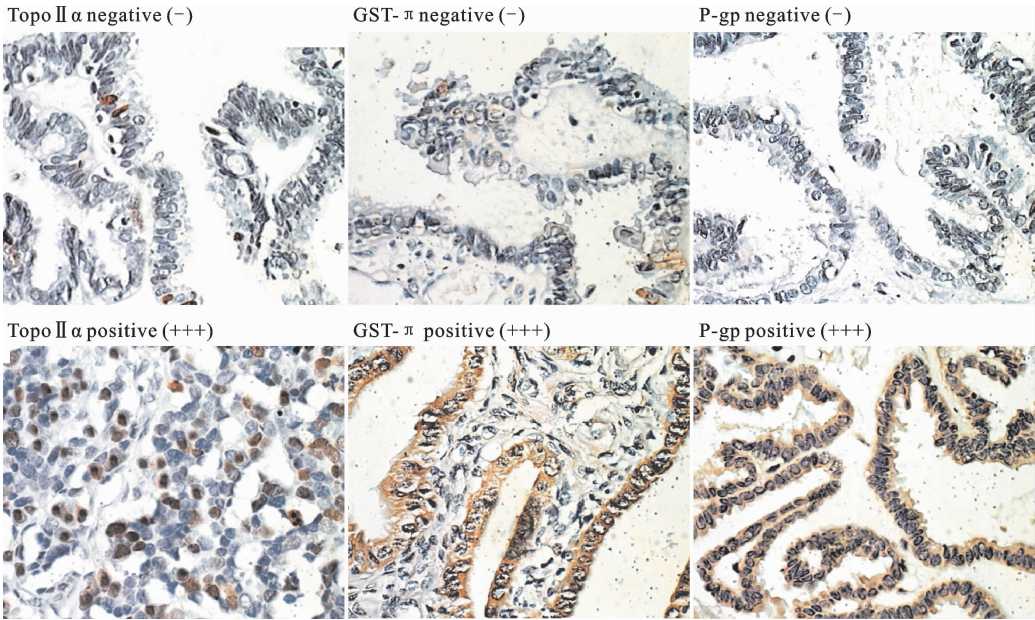


图 1 Topo II α,GST-π 及 P-gp 在卵巢癌组织中的免疫组织化学染色 (DAB × 200)

Figure 1 Immunohistochemically stained of Topo II α,GST-π and P-gp in ovarian cancer(DAB × 200)

表 1 卵巢癌组织中 Topo II α,GST-π,P-gp 的表达与临床病理特征之间的关系

Table 1 Correlations between the expression of Topo II α,GST-π and P-gp with the clinicopathologic parameters of ovarian cancer patients

Clinicopathologic parameters	<i>n</i>	GST- π			Topo II α			P-gp		
		Negative	Positive	<i>P</i>	Negative	Positive	<i>P</i>	Negative	Positive	<i>P</i>
Age(years)										
≤ 51	41	10	31		19	22		24	17	
> 51	39	8	31	0. 678	15	24	0. 476	24	15	0. 784
Histologic types										
Serous	42	6	36		14	28		24	18	
Mucinous	12	4	8		8	4		8	4	
Endometroid	14	4	10	0. 472	8	6	0. 203	10	4	0. 555
Clear cell	6	2	4		2	4		2	4	
Undifferentiated	6	2	4		2	4		4	2	
Pathologic grade										
Well differentiated	24	12	12		18	6		18	6	
Moderately differentiated	26	4	22	0. 000	12	14	0. 000	16	10	0. 106
Poorly differentiated	30	2	28		4	26		14	16	
Stage										
I	12	6	6		8	4		10	2	
II	10	4	6		2	8		8	2	
III	42	6	36	0. 023	16	26	0. 164	24	18	
IV	16	2	14		6	10		6	10	0. 048

2.2 Topo II α、GST-π、P-gp 的表达与化疗疗效的关系

实验组中 50 例(62.5%)患者化疗有效,其中 CR 32 例、PR 18 例;30 例患者化疗无效,SD 14 例、PD 16 例。如表 2 所示,Topo II α 阴性与阳性组患者的化疗反应差异无统计学意义(58.8% vs. 65.2%, $P=0.559$);GST-π 阴性患者的化疗有效率显著高于阳性患者(88.9% vs. 54.8%, $P=0.009$);P-gp 阴性患者的化疗有效率也高于阳性患者,但差异无统计学意义(70.8% vs. 50.0%, $P=0.059$)。ROC 曲线显示 GST-π 用于判断化疗反应性有统计学意义($P=0.027$),阳性表达越高则化疗反应越差,曲线下面积 0.648;P-gp 及 Topo II α 对化疗反应性的判断差异均无统计学意义($P=0.074$, $P=0.330$)。为进一步评价 GST-π、P-gp 的疗效预测作用,将患者根据两者的共同表达情况分组分析,结果显示 GST-π、P-gp 均为阴性的患者化疗有效率显著高于两者均为阳性的患者,差异有统计学意义(100.0% vs. 50.0%, $P=0.001$)。GST-π、P-gp 共同阴性对化疗有效的预测值为 100%。

表 2 Topo II α、GST-π、P-gp 的表达与化疗疗效的关系
Table 2 Correlations between the expression of Topo II α, GST-π and P-gp with the chemotherapeutic response

Variables	<i>n</i>	Response to the chemotherapy		Response rate(%)	<i>P</i>
		CR + PR	SD + PD		
GST- π					
Negative	18	16	2	88.9	0.009 *
Positive	62	34	28	54.8	
P-gp					
Negative	48	34	14	70.8	0.059
Positive	32	16	16	50.0	
TopoII α					
Negative	34	20	14	58.8	0.559
Positive	46	30	16	65.2	
Co-expression of GST- π /P-gp					
Negative	14	14	0	100.0	0.001 [#]
Positive	28	14	14	50.0	

Note: * : response rate in patients with negative GST-π was higher than the patients with positive expression, $P<0.05$; # : response rate in GST-π/P-gp co-negative group was much higher than in the co-positive group, $P<0.01$

2.3 Topo II α、GST-π、P-gp 的表达与预后的关系

在 50 例初治达完全缓解的患者中有 22 例复发。Topo II α 阴性与阳性组患者的复发率差异无统计学意义(40.0% vs. 46.7%, $P=0.642$)。P-gp 阳性患者的复发率(87.5%)显著高于阴性患者(23.5%), $P=0.000$ 。GST-π 阳性者也较阴性者显示更高的复发趋势,但差异无统计学意义(52.9% vs. 25.0%, $P=0.063$)。

截至末次随访,有 52 例患者死于卵巢癌,5 年生存率为 35.0%。如图 2 所示,GST-π 阴性患者较阳性患者术后生存时间明显延长($P=0.009$);在 P-gp 中也显示出同样趋势($P=0.000$);TopoIIα 阴性与阳性患者的生存时间则差异无统计学意义($P=0.844$)。ROC 曲线显示 P-gp、GST-π 对术后生存的判断差异有统计学意义($P=0.000$, $P=0.005$);TopoIIα 对术后生存的判断无意义($P=0.614$)。

由于 TopoIIα、GST-π、P-gp 的表达与多种临床病理因素有关,故不能排除其他因素对生存分析的影响,需采用 Cox 回归进一步确定上述基因表达是否影响预后的独立因素。如表 3 所示,仅临床分期、术后残余瘤大小、化疗反应性是影响患者术后生存的独立预后指标,TopoIIα、GST-π、P-gp 的表达差异并无统计学意义($P=0.687$; $P=0.682$; $P=0.101$)。然而,将患者根据 GST-π、P-gp 的共同表达情况进一步分组后,分析显示 14 例 GST-π、P-gp 共同阴性的患者中有 12 例(87.5%)生存至末次随访,而 28 例 GST-π、P-gp 共同阳性的患者中仅 2 例(7.1%)生存,两组患者生存时间差异有统计学意义($P=0.000$)。

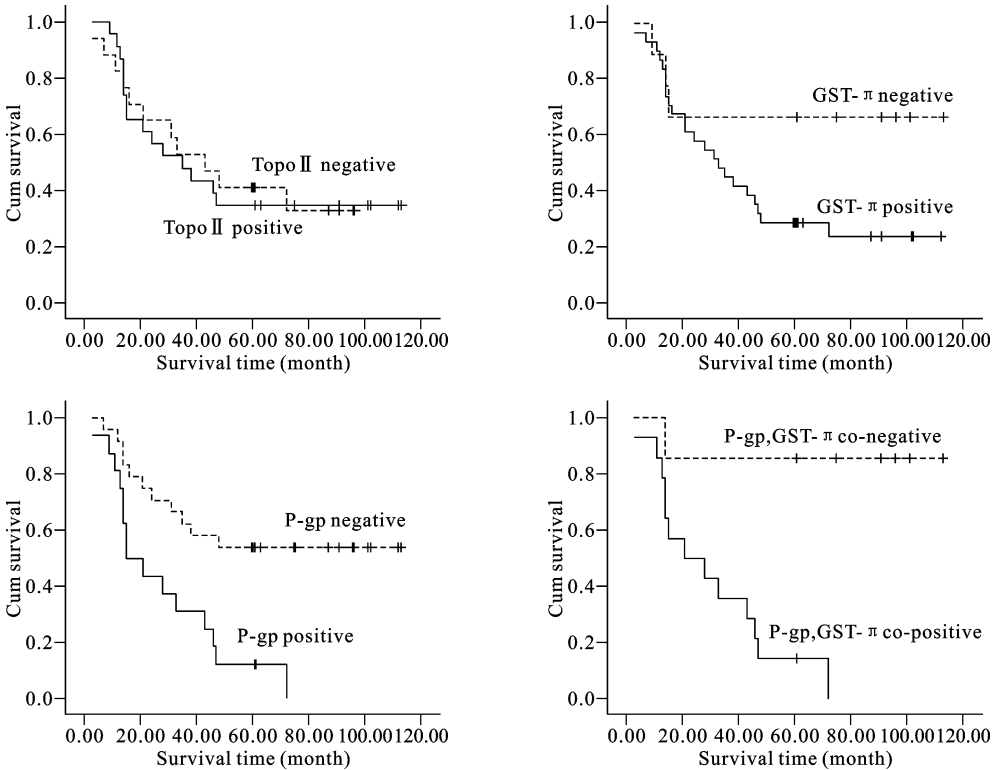
表 3 卵巢癌患者的单因素及多因素生存分析
Table 3 Univariate and multivariate analysis of overall survival of ovarian cancer patients

Variable	Univariate analysis (Log rank test) P	Multivariate analysis (Cox's model)		
		P	Hazard ratio (HR)	95% CI for HR
Age	0.137	0.230	0.676	0.357~1.280
Histological type	0.001	0.412	1.094	0.883~1.355
Histological grade	0.002	0.508	0.817	0.448~1.487
FIGO stage	0.000	0.004	2.043	1.248~3.344
Chemotherapeutic response	0.000	0.000*	5.747	2.743~12.041
Size of residual disease	0.000	0.000	2.116	1.406~3.186
TopoIIα expression	0.844	0.687	1.175	0.535~2.582
GST-π expression	0.012	0.682	0.797	0.270~2.355
P-gp expression	0.000	0.101	1.669	0.905~3.076

Note: * : FIGO stage, response to chemotherapy and size of residual disease were independent predictors of survival time, $P<0.05$

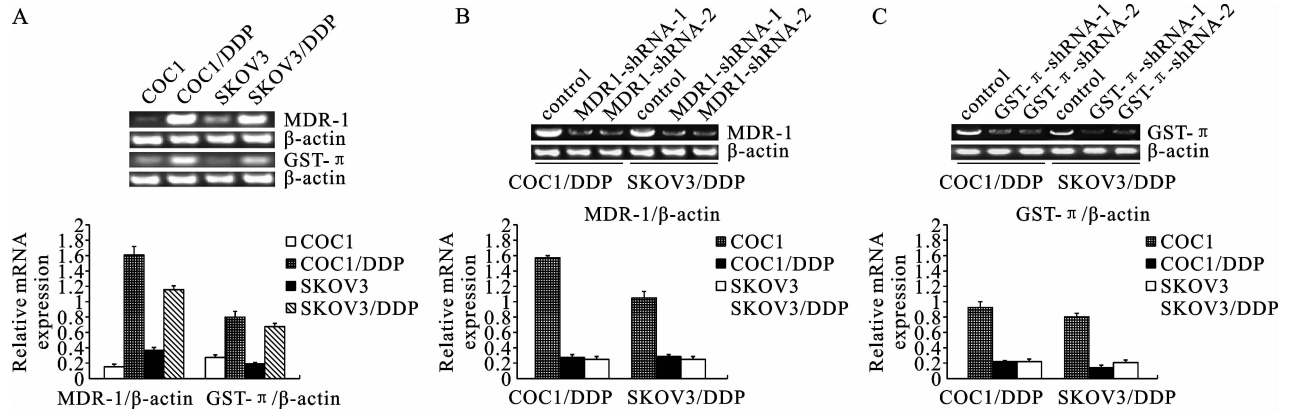
2.4 RNA 干扰封闭 MDR-1/P-gp 及 GST-π 在卵巢癌细胞中的表达

MDR-1 及 GST-π mRNA 在卵巢癌耐药细胞株中的表达显著高于相应敏感株,而这一过表达可被分别以相关基因为靶向的 shRNA 抑制,见图 3。蛋白水平的检测也显示相同结果:P-gp 及 GST-π 蛋白在耐药细胞中表达增高,经 RNAi 后表达量降低,见图 4。



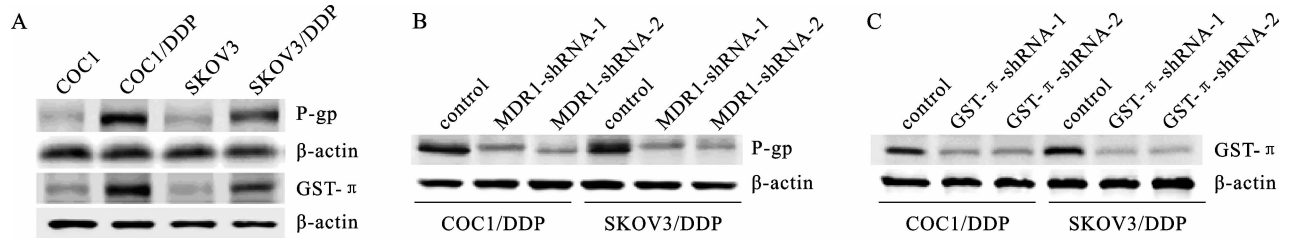
Patients with negative GST- π or P-gp had longer survival than those with positive expression, $P < 0.05$. Patients with co-negative GST- π /P-gp showed significant longer survival than those with co-positive expression, $P < 0.01$

图 2 根据 TopoII α 、GST- π 及 P-gp 的表达绘制 Kaplan-Meier 生存曲线
Figure 2 The Kaplan-Meier survival curve based on the expression of Topo II α , GST- π and P-gp



The mRNA expression of MDR-1 and GST- π in the drug-resistance cell lines such as COC1/DDP and SKOV3/DDP was much higher than in their parental sensitive cell lines such as COC1 and SKOV3. After transfection with shRNA construct, the overexpressed mRNA in drug-resistance cells significantly decreased

图 3 半定量 RT-PCR 检测 MDR-1、GST- π 的 mRNA 表达
Figure 3 The expression of MDR-1, GST- π mRNA detected by semi-quantitative RT-PCR



The expression of MDR-1 and GST- π protein in the drug-resistance cell lines(COC1/DDP and SKOV3/DDP) was much higher than in their parental sensitive cell lines(COC1 and SKOV3). After transfection with shRNA construct, the overexpressed protein in drug-resistance cells significantly decreased

图 4 Western blot 检测 P-gp、GST- π 蛋白的表达
Figure 4 The expression of MDR- and GST- π protein from the results of Western blot

2.5 RNA 干扰封闭 MDR-1/P-gp、GST-π 表达对卵巢癌细胞化疗敏感度的影响

卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 和 SKOV3/DDP 对顺铂、阿霉素及紫杉醇的 IC_{50} 显著高于相应敏感株。经 RNA 干扰处理后,其 IC_{50} 及耐药指数降低,封闭 MDR-1/P-gp 和 GST-π 的表达可一定程度恢复耐药细胞对药物的敏感度,见表 4。

3 讨论

尽管以往国内外多项研究表明,在卵巢癌耐药细胞株以及临床耐药患者的肿瘤标本中均有典型耐药相关蛋白 Topo II α、GST-π 及 P-gp 表达增高或活性增强,但其是否能作为临床化疗反应的预测指标尚无定论。部分学者认为这些指标的高表达是肿瘤侵袭性强、化疗反应差的有效预测指示^[5-6],但也有学者持相反意见^[7-8]。本研究中,Topo II α 的表达与患者化疗反应无关,与有关报道结果不一致^[9],这可能与本研究未采用以 Topo II 为靶向的药物有关。此外,GST-π 或 P-gp 阴性的患者其化疗疗效显著优于阳性患者,根据 GST-π 及 P-gp 的共同表达情况进一步分组后,两指标同为阴性的患者均化疗有效,GST-π/P-gp 共同阴性对化疗有效的预测值达 100%。鉴于此,我们认为

GST-π、P-gp 的共同检测可对化疗反应的预测提供更有价值的参考。

近年来,一些学者对 GST-π、P-gp 及 Topo II α 的表达与卵巢癌预后的关系进行了探讨,但尚有争议。Khalifa 等^[10]发现 P-gp 阳性的患者两年内死亡的风险比阴性患者高 3 倍,认为 P-gp 可作为卵巢癌的独立不良预后指标。Ferrandina 等^[11]在对 Topo II α 的研究中也得出相似结论。但也有学者对此提出质疑^[12-14]。本研究中,Topo II α 阴性与阳性患者的复发率、生存时间差异无统计学意义,不能指示患者预后。对于 GST-π 及 P-gp,尽管单因素分析显示 GST-π 或 P-gp 阴性患者的生存时间显著长于阳性患者,但 Cox 多因素分析并未指示两者为卵巢癌患者的独立预后因素。然而,将患者根据该两项指标的共同表达情况进一步分组后,分析表明两者共同阴性患者的生存时间显著长于两者共同阳性患者,故而认为两者的联合检测更有助于预后的预测。

随后,我们通过体外实验对 GST-π 及 MDR-1/P-gp 在卵巢癌耐药中的作用进行了验证。结果表明,与其母系敏感株相比,卵巢癌耐药细胞株对多种作用机制各异的化疗药物均表现耐药。此外,耐药细胞株中,GST-π 及 MDR-1/P-gp 无论在 mRNA 还是蛋白水平表达均明显增加;肿瘤细胞多药耐药

表 4 RNA 干扰封闭 MDR-1/P-gp、GST-π 表达对卵巢癌细胞化疗敏感度的影响
Table 4 Effects of MDR-1/P-gp and GST-π RNAi on the chemosensitivity of the cells

Cell lines	Cisplatin		Adriamycin		Taxol	
	IC_{50} (μg/L)	Resistance index	IC_{50} (μg/L)	Resistance index	IC_{50} (μg/L)	Resistance index
COC1	261.44 ± 0.074		26.52 ± 0.008		7.69 ± 0.036	
COC1/DDP mock	1860.71 ± 0.061	7.12	86.28 ± 0.051	3.52	39.70 ± 0.097	5.16
COC1/DDP-MDR1-shRNA-1	459.70 ± 0.062	1.76	43.96 ± 0.040	1.66	17.19 ± 0.061	2.24
COC1/DDP-MDR1-shRNA-2	382.31 ± 0.092	1.46	38.33 ± 0.026	1.45	13.83 ± 0.077	1.80
COC1/DDP-GST-π-shRNA-1	575.56 ± 0.047	2.20	33.11 ± 0.083	1.25	21.65 ± 0.080	2.82
COC1/DDP-GST-π-shRNA-2	643.72 ± 0.068	2.46	46.01 ± 0.035	1.73	24.47 ± 0.079	3.18
SKOV3	156.71 ± 0.025		21.48 ± 0.056		11.97 ± 0.057	
SKOV3/DDP mock	2047.31 ± 0.037	13.06	97.77 ± 0.015	4.55	59.81 ± 0.053	5.00
SKOV3/DDP-MDR1-shRNA-1	529.38 ± 0.017	3.38	50.90 ± 0.092	2.37	27.20 ± 0.044	2.27
SKOV3/DDP-MDR1-shRNA-2	424.79 ± 0.042	2.71	41.21 ± 0.087	1.92	21.74 ± 0.020	1.82
SKOV3/DDP-GST-π-shRNA-1	754.29 ± 0.054	4.81	39.67 ± 0.061	1.85	25.29 ± 0.064	2.11
SKOV3/DDP-GST-π-shRNA-2	917.98 ± 0.064	5.86	44.44 ± 0.076	2.07	33.56 ± 0.022	2.85

表型的形成与 GST- π 及 MDR-1/P-gp 的表达增加相伴出现;抑制 GST- π 、MDR-1/P-gp 的表达可明显增加细胞对药物的敏感度,从而进一步证明两者在卵巢癌耐药的形成中具有重要作用,与有关报道一致^[15]。

即便是在临床病理参数均相同的情况下,不同卵巢癌患者对同一药物的反应也各异。因此,术后标本的免疫组织化学检测将会对治疗方案的选择提供关键的参考依据。然而,在目前已确认的多种耐药相关指标中,尚无一种指标的临床价值被肯定,这可能与既往的研究样本数量不足、检测手段各异以及缺乏长期随访资料有关。在本研究中,所有患者均接受了标准的评估、规范的治疗以及长期随访,并对典型耐药相关指标进行了同步检测,还通过体外实验对结果进行了验证,从而有效减少了系统误差。我们认为,鉴于肿瘤耐药机制的复杂性,GST- π 或 P-gp 独立作为化疗反应及预后预测指标的价值有限,联合检测可提供较高临床价值,并有助于以个体为单位选择适当化疗药物。

参考文献:

[1] Vaughan S,Coward JI,Bast RC Jr,et al. Rethinking ovarian cancer;recommendations for improving outcomes[J]. Nat Rev Cancer,2011,11(10):719-25.

[2] Bookman MA. Developmental chemotherapy and management of recurrent ovarian cancer[J]. J Clin Oncol,2003,21(10 sup- pl):149s-67s.

[3] Modesitt SC,Jazaeri AA. Recurrent epithelial ovarian cancer; Pharmacotherapy and novel therapeutics [J]. Expert Opin Pharmacother,2007,8(14):2293-305.

[4] Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance[J]. Annu Rev Med,2002,53:615-27.

[5] Penson RT,Oliva E,Skates SJ,et al. Expression of multidrug resistance-1 protein inversely correlates with paclitaxel response and survival in ovarian cancer patients;a study in serial samples[J]. Gynecol Oncol,2004,93(1):98-106.

[6] Lu D,Shi HC,Wang ZX,et al. Multidrug resistance-associated biomarkers PGP,GST- π ,Topo-II and LRPas prognostic factors in primary ovarian carcinoma[J]. Br J Biomed Sci,2011,68(2):69-74.

[7] Van der Zee AG,van Ommen B,Meijer C,et al. Glutathione S-transferase activity and isoenzyme composition in benign ovarian tumours,untreated malignant ovarian tumours,and malignant ovarian tumours after platinum/cyclophosphamide chemotherapy[J]. Br J Cancer,1992,66(5):930-6.

[8] Lu YB,Zhang L,Chen Y,et al. Topoisomerase expression and clinical significance in ovarian tumor tissue[J]. Yunnan Yi Yao,2001,22(2):84-6. [卢玉波,张林,陈芸,等. 卵巢肿瘤组织中拓扑异构酶的表达及其临床意义[J]. 云南医药,2001,22(2):84-6.]

[9] Koshiyama M,Fujii H,Kinezaki M,et al. Correlation between Topo II alpha expression and chemosensitivity testing for Topo II-targeting drugs in gynaecological carcinomas[J]. Anticancer Res,2001,21(2A):905-10.

[10] Khalifa MA,Abdoh AA,Mannel RS,et al. P-glycoprotein as a prognostic indicator in pre- and postchemotherapy ovarian adenocarcinoma[J]. Int J Gynecol Pathol,1997,16(1):69-75

[11] Ferrandina G,Petrillo M,Carbone A,et al. Prognostic role of topoisomerase-IIalpha in advanced ovarian cancer patients[J]. Br J Cancer,2008,98(12):1910-15.

[12] Saip P,Tuzlali S,Demir K,et al. Value of glutathion-S transferase pi as a prognostic factor in epithelial ovarian carcinoma [J]. Eur J Gynaecol Oncol,2005,26(1):90-4.

[13] Ikeda K,Sakai K,Yamamoto R,et al. Multivariate analysis for prognostic significance of histologic subtype,GST- π ,MDR-1, and p53 in stages II-IV ovarian cancer[J]. Int J Gynecol Cancer,2003,13(6):776-84.

[14] Ozalp SS,Yalcin OT,Tanir M,et al. Multidrug resistance gene-1 (Pgp) expression in epithelial ovarian malignancies[J]. Eur J Gynaecol Oncol,2002,23(4):337-40.

[15] Zhang T,Guan M,Jin HY,et al. Reversal of multidrug resistance by small interfering double-stranded RNAs in ovarian cancer cells[J]. Gynecol Oncol,2005,97(2):501-7.

[编辑:黄国玲;校对:安 凤]