

# 新辅助化疗对乳腺癌 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$ 表达的影响\*

王志<sup>1</sup>, 黄建军<sup>2\*\*</sup>

(1. 安顺市人民医院 普外科, 贵州 安顺 561000; 2. 贵阳医学院附院 乳腺外科, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 探讨新辅助化疗对乳腺癌 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  表达的影响。方法: 采用免疫组织化学法检测 91 例乳腺癌患者在新辅助化疗前后乳腺癌灶组织 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  的表达。结果: 新辅助化疗前后 ER 有 9 例由阳性转为阴性, 6 例由阴性转阳性,  $P > 0.05$ ; PR 有 9 例由阳性转为阴性, 有 11 例由阴性转为阳性,  $P > 0.05$ ; P-gp 在化疗前后的阳性表达率分别为 41.75% 和 64.83%, 差异有统计意义 ( $P < 0.05$ ); GST- $\pi$  在化疗前后的阳性表达率分别为 49.45% 和 54.94%, 差异无统计意义 ( $P > 0.05$ )。结论: 新辅助化疗对乳腺癌组织 ER、PR 表达状态无显著影响, 新辅助化疗后 P-gp 表达显著升高, 对乳腺癌新辅助化疗疗效有一定预测价值。

**[关键词]** 乳腺肿瘤; 化学疗法, 辅助; 多药耐药相关蛋白类; 谷胱甘肽转移酶

**[中图分类号]** R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2011)04-0344-03

## Effects of Neoadjuvant Chemotherapy on Expression of ER, PR, P-gp and GST- $\pi$ in Breast Cancer

WANG Zhi<sup>1</sup>, HUANG Jianjun<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, People's Hospital of Anshun City, Anshun 561000, Guizhou, China; 2. Department of Breast Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of neoadjuvant chemotherapy on expression of ER, PR, P-glycoprotein (P-gp) and Glutathione S-transferase Pi (GST- $\pi$ ) in breast cancer. **Methods:** Immunohistochemistry method was adopted to measure the expressions of ER, PR, P-gp and GST- $\pi$  in 100 patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy. **Results:** The status of ER and PR changed in 15 and 20 cases respectively; and there was no significant difference before and after neoadjuvant chemotherapy. The positive rate of P-gp before and after chemotherapy were 41.75% and 64.83% respectively, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The positive rates of GST- $\pi$  before and after chemotherapy were 49.45% and 54.94% respectively, and no significant difference was found between them ( $P > 0.05$ ). **Conclusions:** Neoadjuvant chemotherapy has no significant influence on status of ER and PR. The expression of P-gp increased significantly after neoadjuvant chemotherapy. It suggests that P-gp could be used for prediction of therapeutic efficacy of neoadjuvant chemotherapy.

**[Key words]** breast neoplasms; chemotherapy, adjuvant; multidrug resistance-associated proteins; glutathione transferase

肿瘤细胞的多药耐药 (Multidrug resistance, MDR) 是乳腺癌化疗失败的重要原因之一, MDR 的

产生与多药耐药类蛋白 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 和谷胱甘肽转移酶 (Glutathione S-transferase

\* [基金项目] 贵州省卫生厅基金项目: 黔卫发[2007]119 号

\*\* 通讯作者 E-mail: hjj196881hjj@qq.com

Pi, GST- $\pi$ ) 的表达密切相关。新辅助化疗是对非转移性肿瘤局部治疗之前进行的全身性、系统性细胞毒性药物治疗,已越来越多地应用于可切除乳腺癌治疗中<sup>[1,2]</sup>。由于新辅助化疗在杀灭肿瘤细胞的同时,也可能会改变乳腺癌肿瘤分子标记物 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  的表达,而这些肿瘤分子标记物在判断乳腺癌预后、选择化疗方案和预测疗效方面都具有重要临床意义<sup>[3]</sup>。2005 年 10 月~2007 年 10 月行新辅助化疗的 91 例乳腺癌患者化疗前后乳腺癌组织 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  的表达分别进行对比分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

2005 年 10 月~2007 年 10 月收治的乳腺癌患者 100 例入选,其中 9 例术后病理检查表明完全缓解而术后标本无法作 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  检测而剔除,实际共 91 例纳入本次研究。患者均为女性,年龄 24~69 岁,浸润性导管癌 53 例,浸润性小叶癌 29 例,病理特殊类型癌 9 例。临床分期:Ⅱ期 63 例,Ⅲ期 28 例。

### 1.2 病例入选标准

(1) 女性,可手术乳腺癌,化疗前经超声、X 线、骨扫描等检查无远处转移;(2) 入院前未接受任何相关治疗;(3) 有可测量或可评价的肿瘤病灶,钼靶或 B 超可测病变直径  $\geq 2$  cm;(4) 化疗前均在超声引导下行麦默通穿刺活检证实为乳腺癌;(5) 无化疗禁忌证;(6) 化疗前麦默通穿刺活检标本和术后大体标本均行 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  检查。排除标准:术后病理完全缓解不能做 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  检测者。

### 1.3 新辅助化疗方案

采用 AC(或 EC)化疗方案或 TA 方案。其中 AC(或 EC)方案:环磷酰胺 600 mg/m<sup>2</sup> 静脉注射 d1;阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup> 或表阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup> 静脉注射 d1。TA 方案:多西紫杉醇 75 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注 d1;阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup> 或表阿霉素 60 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注 d1。以上方案每 2 周重复。

### 1.4 疗效评价

完成 2 周期化疗后,评价新辅助化疗效果。按实体瘤近期疗效评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)分为:完全缓解(CR),可见肿瘤完全消失;部分缓解(PR),肿瘤最

长径缩小 30% 以上;疾病稳定(SD),肿瘤最长径缩小 30% 以下或增长 20% 以下;疾病进展(PD),肿瘤最长径增加 20% 以上<sup>[4]</sup>。完全缓解、部分缓解及稳定者继续原方案 2 周期化疗,化疗结束后第 14~21 天择期手术;疾病进展者更换化疗方案,治疗 2 周期后再评价化疗效果,完全缓解、部分缓解继续原方案 2 周期化疗,化疗结束后第 14~21 天择期手术;若更换化疗方案疾病继续进展则失去手术机会,转肿瘤内科治疗,本组病例无此情况发生。

### 1.5 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$ 表达及结果判定

所有病例术前活检检取出的癌灶组织和术后标本癌灶组织均行 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  检测,由病理科采用免疫组织化学 Envision 法,ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  抗体为基因公司产品。P-gp 蛋白定位于细胞膜和细胞质,阳性反应显示为棕黄色颗粒,并根据阳性细胞数的多少量化分级<sup>[5]</sup>:阳性细胞数 < 5% 为阴性,阳性细胞数 5%~25% 为+,阳性细胞数 25%~50% 为++,阳性细胞数 50%~75% 为+++,阳性细胞数 > 75% 为++++。ER、PR、GST- $\pi$  阳性以细胞核呈清晰的棕色着色,分级同 P-gp。ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  阳性反应仅有程度改变称量变,由阳性(阴性)变为阴性(阳性)称状态改变。

### 1.6 统计方法

用 SPSS 软件包(13.0)行  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 ER、PR 的表达

化疗前 ER、PR 表达阳性的分别为 51 例(56.04%)和 41 例(45.05%),化疗后 ER、PR 表达阳性的分别为 48 例(52.74%)和 43 例(47.25%),化疗前后 ER、PR 表达量变均为 19 例;化疗前后 ER、PR 表达状态发生改变的分别为 15 例和 20 例;ER 有 9 例由阳性转为阴性,有 6 例由阴性转为阳性;PR 有 9 例由阳性转为阴性,有 11 例由阴性转为阳性。见表 1。统计学分析表明新辅助化疗前后 ER、PR 的表达无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 P-gp、GST- $\pi$ 表达

化疗前后 P-gp 表达阳性的分别为 38 例(41.75%)和 59 例(64.83%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ );其中化疗前后 P-gp 表达量变的为 12 例,表达状态发生改变的为 21 例,均为由阴性转为阳性。化疗前后 GST- $\pi$  表达阳性的分别为 45 例

(49.45%)和50例(54.94%),差异无统计学意义( $P>0.05$ );其中化疗前后 GST- $\pi$  表达量变的为12例,表达状态发生改变的为7例,其中有1例由阳性转为阴性,有6例由阴性转为阳性。见表2。

表1 新辅助化疗前后乳腺癌组织 ER、PR 表达

Tab.1 Changes of ER and PR expression in breast cancer tissues before and after neoadjuvant chemotherapy

免疫学指标	治疗前	治疗后
ER( + )	51	48
ER( - )	40	43
PR( + )	41	43
PR( - )	50	48

注:化疗前后,ER 和 PR 表达  $P>0.05$

表2 新辅助化疗前后乳腺癌组织

P-gp、GST- $\pi$  表达( $n, \%$ )

Tab.2 Changes of P-gp and GST- $\pi$  expression in breast cancer tissues before and after neoadjuvant chemotherapy

免疫学指标	治疗前	治疗后	$P$
P-gp( + )	38(41.75)	59(64.83)	$<0.05$
P-gp( - )	53(58.25)	32(35.17)	
GST- $\pi$ ( + )	45(49.45)	50(54.94)	$>0.05$
GST- $\pi$ ( - )	46(50.55)	41(45.06)	

### 3 讨论

新辅助化疗具有消除全身微转移灶、提高无病生存率、降低乳腺癌分期、减少手术范围、增加保乳手术的机率和减少耐药细胞出现等特点,已越来越广泛的应用于乳腺癌治疗<sup>[6]</sup>。乳腺癌 ER、PR、P-gp、GST- $\pi$  的表达状态对于化疗、内分泌治疗的选择及疗效的预测有重要意义。

ER、PR 的阳性表达说明肿瘤细胞分化程度高,恶性度低,淋巴结转移慢,预后好,对内分泌治疗敏感性高。本研究结果显示,新辅助化疗前后 ER、PR 状态的改变无显著差异,但化疗确能改变部分患者的 ER、PR 表达,这与一些研究结果一致<sup>[6~8]</sup>。有报道提出,化疗后 ER 表达虽无明显改变,但会影响 ER 的功能<sup>[9]</sup>。因此认为,在决定化疗后患者是否行内分泌治疗时,除了新辅助化疗前后 ER、PR 状态均为阴性者外,同时应充分考虑到化疗对 ER 功能的影响。

本研究还显示,新辅助化疗能改变部分患者的

上述肿瘤特异性标记物的表达。有报道指出,新辅助化疗后,肿瘤组织病理形态学的改变给病理医生判断肿瘤特异性标记物的表达带来难度,且肿瘤取材部位也可能会造成新辅助化疗前后肿瘤特异性标记物表达的差异<sup>[10]</sup>。MDR 是指肿瘤细胞接触某一抗癌药物产生耐药性的同时,对其他结构、作用机制不同的抗肿瘤药物亦产生交叉耐药性,它既可表现在化疗开始前就存在的内源性耐药,又可表现在化疗过程中不断出现的获得性耐药。乳腺癌 MDR 的产生与 P-gp 和 GST- $\pi$  的表达密切相关。本研究中,乳腺癌患者 P-gp 表达阴性组化疗有效率高,新辅助化疗前后 P-gp 表达状态的改变也有显著差异,有21例由阴性转为阳性,使新辅助化疗后 P-gp 阳性表达率明显升高,与相关研究一致<sup>[11]</sup>。究其原因可能是:(1)肿瘤细胞存在原发性耐药,P-gp 表达阴性者对含蒽环类和紫杉醇类药物的化疗方案较阳性者敏感;(2)新辅助化疗是通过杀灭对化疗药物敏感的癌细胞,而 P-gp 阳性细胞的比率相对增加,这些残留癌细胞可能对化疗药物存在着原发性耐药,并非完全是化疗诱导的获得性耐药;(3)新辅助化疗前后 P-gp 表达状态的改变均为阴性转为阳性,表明肿瘤细胞在化疗诱导下可能产生获得性耐药。此外,部分患者的 P-gp 表达状态的改变可能与对 P-gp 染色技术的主观性有关,化疗后可能降低了肿瘤细胞对染色的透明度,从而影响判断。研究显示,新辅助化疗前后测定 P-gp 可作为乳腺癌新辅助化疗和术后辅助化疗的疗效预测及选择化疗方案的重要分子生物学指标。

GST 是一个多基因家族,其中 GST- $\pi$  在乳腺癌组织中表达率最高,通过促进化疗药物与谷胱甘肽结合而产生耐药性。目前新辅助化疗对 GST- $\pi$  表达影响的报道结果仍有争议,而且均未做化疗前后 GST- $\pi$  表达的自身对照研究<sup>[12]</sup>。本研究中, GST- $\pi$  表达对化疗反应无明显影响,化疗后 GST- $\pi$  表达率较化疗前虽有升高,但差异无统计学意义,提示在乳腺癌组织中 GST- $\pi$  表达可能不参与新辅助化疗的获得性耐药。

### 4 参考文献

- [1] Deo SV, Bhutani M, Shukla NK, et al. Randomized trial comparing neo-adjuvant versus adjuvant chemotherapy in operable locally advanced breast cancer (T4b N 0-2 M 0) [J]. J Surg Oncol, 2003 (4): 192 - 197.

(下转第 350 页)

代,自发突变率低,对许多化学物作用敏感<sup>[6,7]</sup>。本研究发现阳性对照组丝裂霉素和环磷酰胺可致 CHL 细胞染色体畸变率增加,与溶剂对照组比较差异有统计学意义,畸变类型主要有断裂、缺失和交换,说明试验系统可靠。而 95% 氨氯吡啶酸原药各剂量组,无论是加和不加  $S_9$ mix,其染色体畸变率与溶剂对照组比较,差异无统计学意义,提示在本试验条件下 95% 氨氯吡啶酸原药在体外 CHL 细胞中未发现突变存在。

综上所述,在本试验条件下,本研究对 95% 氨氯吡啶酸原药从体内、体外 2 个试验体系未观察到其存在致突变作用。该结果为判断 95% 氨氯吡啶酸原药的遗传毒性提供了资料,并为其安全使用提供了科学依据。

## 4 参考文献

- [1] 陈贤均,赵祖国. 我国农产品农药残留现状及农药遗传毒性研究进展[J]. 毒理学杂志,2010(4):324-327.
- [2] 杨卫东,曲俊山,尹国龙,等. 24% 氨氯吡啶酸水剂防治林地阔叶杂草试验[J]. 森林工程,2006(3):8-11.
- [3] OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 474. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test[EB/OL][1997-07-21].
- [4] OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 473. In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test[EB/OL][1997-07-21].
- [5] 王心如. 毒理学基础[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2007(5):1-152.
- [6] 何林,吴赤蓬,邹志飞. 亚硝酸钠对中国仓鼠肺细胞染色体畸变率的影响[J]. 现代预防医学,2008(17):3288-3293.
- [7] 罗鹏,张爱华,潘雪莉. 阿嗉米特致中国仓鼠肺细胞体外染色体畸变试验[J]. 实用临床医药杂志,2009(13):63-64.
- (2011-07-07 收稿)
- [1] 陈贤均,赵祖国. 我国农产品农药残留现状及农药遗传
- (上接第 346 页)
- [2] Ganem G, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, et al. Phase II trial combining docetaxel and doxorubicin as neoadjuvant chemotherapy in patients with operable breast cancer[J]. Ann Oncol, 2003(11):1623-1628.
- [3] 沈镇宙,邵志敏. 现代乳腺肿瘤学进展[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2002:87-91,387-392.
- [4] 杨学宁,吴一龙. 实体瘤治疗疗效评价标准—RECIST[J]. 循证医学,2004(2):85-90,111.
- [5] Faneyte IF, Kristel PM, van-de-Vijver, et al. Determining mdrl/P-glycoprotein expression in breast cancer[J]. Int J Cancer, 2001(1):114-122.
- [6] Susan H, Lee MD, Maureen A, et al. The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression and hormone receptor status in breast cancer[J]. Am J Surg, 2003(4):348-350.
- [7] Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL, et al. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome[J]. British journal of Cancer, 2003(3):406-412.
- [8] Piper GL, Patel NA, Malay MB, et al. Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer results in alterations in preoperative tumor marker status[J]. Am J Surg, 2004(12):1103-1106.
- [9] MacGrogan G, Mauriac L, Durand M, et al. Primary chemotherapy in breast invasive carcinoma: predictive value of the immunohistochemical of hormone receptors, p53, c-erbB-2, Mib1, pS2 and GST $\pi$ [J]. British Cancer, 1996(9):1458-1465.
- [10] 费伯健,周士福,金留根,等. 新辅助化疗对乳腺癌激素受体表达和状态的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2005(11):772-774.
- [11] Burger H, Foekens JA, Look MP, et al. RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance-associated protein 1 and 2, and multidrug resistance gene 1 in breast cancer. Correlation with chemotherapeutic response[J]. Clin Cancer Res, 2003(2):827.
- [12] 王立梅,毛慧生,林晓萍,等. 耐药基因 MDR1、GST- $\pi$  在乳腺癌组织中的表达及临床应用[J]. 中国肿瘤临床,2000(11):846-847.
- (2011-03-30 收稿,2011-05-10 修回)