

· 临床研究 ·

谷胱甘肽-S 转移酶  $\pi$  在膀胱移行细胞癌中的表达及其意义张荣贵, 姜 庆, 徐光勇, 张唯力, 刘 川, 于圣杰, 胡自力, 林艳君  
(重庆医科大学附属第二医院泌尿外科 400010)

**摘要:**目的 探讨谷胱甘肽 S-转移酶  $\pi$ (GST- $\pi$ ) 的表达与膀胱移行细胞癌的关系。方法 应用免疫组化 SP 法检测 81 例膀胱移行细胞癌 GST- $\pi$  的表达。结果 GST- $\pi$  在正常膀胱黏膜无表达, 膀胱移行细胞癌中表达水平为 76.54%; 初发和复发膀胱移行细胞癌患者 GST- $\pi$  阳性表达率分别为 70.97% 和 94.74%, 二者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); GST- $\pi$  阳性表达率与膀胱移行细胞癌分级和分期呈正相关 ( $P < 0.05$ )。结论 GST- $\pi$  的高表达与膀胱癌的病理分级、分期有关, 且可能与肿瘤的耐药性有关。

**关键词:**膀胱肿瘤; 谷胱甘肽转移酶; 免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.33.014

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)33-3361-02

Expression and significance of glutathione s-transferase  $\pi$  in human transitional cell carcinoma of bladder

Zhang Ronggui, Jiang Qing, Xu Guangyong, Zhang Weili, Liu Chuan, Yu Shengjie, Hu Zili, Lin Yanjun

(Department of Urology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract:** Objective To investigate the expression and biological significance of glutathione s-transferase  $\pi$ (GST- $\pi$ ) in human transitional cell carcinoma of bladder. Methods Immunohistochemical SP method was used to detect expression of GST- $\pi$  in 81 transitional cell carcinoma of bladder. Results The total positive rate of GST- $\pi$  was 76.54% (62/81). The positive rate of GST- $\pi$  in incipient and relapse transitional cell carcinoma of bladder patients were 70.97% and 94.74%, respectively. The positive rate of GST- $\pi$  was positively correlated to pathological grade and clinical stage ( $P < 0.05$ ). Conclusion The expression of GST- $\pi$  is correlated with pathological grade and clinical stage, and may be related to anti-tumor drug resistance.

**Key words:** urinary bladder neoplasms; glutathione transferase; immunohistochemistry

膀胱癌约 90% 为移行上皮癌, 新确诊的膀胱癌病例, 大约 70%~80% 为非肌层浸润, 即使在有效的内镜及腔内治疗下, 但仍有 50%~70% 患者术后复发, 10%~30% 还有可能发展为肌层浸润, 疾病大多数 5 年内复发, 并向高级进展<sup>[1-2]</sup>。虽然以手术为主, 卡介苗等化疗药物腔内灌注等为辅的综合治疗措施取得了显著的疗效, 但是膀胱移行细胞癌的高复发性仍是临床面临的一大难题, 其中腔内灌注化疗在其治疗中占有相当重要的地位, 但是膀胱移行细胞癌对抗肿瘤药物的耐药却限制了这些药物的疗效。据美国癌症协会估计, 每年恶性肿瘤患者约 49 万例死亡, 其中 90% 以上存在肿瘤对药物的耐药, 多药耐药是导致肿瘤化疗失败的重要原因。近年来探索肿瘤细胞多药耐药机制并对其加以有效逆转已成为肿瘤研究领域亟待解决的问题。研究证明, 膀胱移行细胞癌多药耐药机制是一个复杂的多因素参与的过程, 与许多生物学指标密切相关, 其中谷胱甘肽-S 转移酶  $\pi$ (glutathione S-transferase- $\pi$ , GST- $\pi$ ) 的过度表达是肿瘤耐药的原因之一, 鉴于此, 本研究应用免疫组化法对膀胱移行细胞癌进行研究, 旨在探讨 GST- $\pi$  的表达与肿瘤的耐药和临床分期、病理分级的关系, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 5 月至 2011 年 5 月 81 例膀胱癌开放手术或经尿道电切患者, 其中男 60 例, 女 21 例; 年龄 37~82 岁, 平均 48 岁; 切除组织标本均经过病理检查证实为膀胱移行细胞癌。按 WHO 国际病理组织学分级为 G<sub>1</sub> 级 23 例、G<sub>2</sub> 级 28 例、G<sub>3</sub> 级 30 例; 临床分期按国际癌症联合会 (UICC) 标准, 表浅 (T<sub>a</sub>~T<sub>1</sub>) 27 例、浸润 (T<sub>2</sub>~T<sub>4</sub>) 54 例。其中 62 例为初发膀胱移行细胞癌, 19 例为术后膀胱内灌注化疗药物失败的复发膀胱移行细胞癌; 另取 10 例正常膀胱黏膜组织进行检查。

**1.2 免疫组化法** 将新鲜标本固定于 4% 甲醛 24 h, 常规脱

水、透明和石蜡包埋, 切片厚度为 5  $\mu$ m, 常规 HE 染色进行病理诊断。免疫组化染色采用 SP 法, 染色试剂盒购于美国 Promega 公司, PV-9000 试剂盒及 DAB 显色剂购于上海宝曼生物科技有限公司。免疫组化染色程序按照试剂盒说明书进行操作, 阴性对照采用磷酸二氢盐缓冲液 (PBS) 代替一抗, 而阳性对照为已知膀胱癌阳性切片。

**1.3 结果判断标准** GST- $\pi$  阳性产物呈棕色颗粒, 主要定位于肿瘤细胞膜和(或)细胞质。阳性肿瘤细胞表达数小于 5% 为阴性,  $\geq 6\%$  为阳性。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 进行统计学处理, 计数资料采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 正常膀胱黏膜组织 GST- $\pi$  的表达** 10 例正常膀胱组织黏膜 GST- $\pi$  均为阴性表达。

**2.2 GST- $\pi$  在膀胱移行细胞癌中的表达** 81 例膀胱移行细胞癌患者中有 62 例 (76.54%) GST- $\pi$  呈阳性表达; 19 例复发膀胱移行细胞癌患者中 18 例 (94.74%) GST- $\pi$  呈阳性表达, 62 例初发膀胱移行细胞癌患者中 44 例 (70.97%) GST- $\pi$  呈阳性表达, 复发膀胱移行细胞癌患者 GST- $\pi$  阳性表达率明显高于初发膀胱移行细胞癌患者 ( $P < 0.05$ )。GST- $\pi$  阳性表达与膀胱移行细胞癌分级和分期的关系见表 1。

表 1 GST- $\pi$  阳性表达与膀胱移行细胞癌分级和分期的关系 [n(%)]

分级和分期	n	GST- $\pi$ 阳性表达情况
分级		
低级 (G <sub>1</sub> )	23	13 (56.52)*
高级 (G <sub>2</sub> +G <sub>3</sub> )	58	49 (84.48)

续表 1 GST- $\pi$  阳性表达与膀胱移行细胞癌  
分级和分期的关系[n(%)]

分级和分期	n	GST- $\pi$ 阳性表达情况
分期		
表浅(T <sub>a</sub> ~T <sub>1</sub> )	27	15(55.56)*
浸润(T <sub>2</sub> ~T <sub>4</sub> )	54	47(87.04)

☆:  $P < 0.05$ , 与高级比较; \* :  $P < 0.05$ , 与浸润比较。

### 3 讨 论

膀胱癌发病率居男性恶性肿瘤的第 4 位,膀胱癌在男性恶性肿瘤引起的死亡中占第 9 位,据统计膀胱癌男、女患者发病的比例大约是 3 : 1<sup>[3]</sup>。在中国,男性膀胱癌发病率位居全身肿瘤的第 8 位,女性排在第 12 位以后,发病率远低于西方国家。

细胞质中的谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)可以催化许多内源性和外源性亲电化合物与谷胱甘肽结合,并可与亲脂性细胞毒药物结合增强其水溶性,以保护正常细胞的酶类超家族。

GST- $\pi$  是肿瘤细胞中表达量最为普遍、最常见的 GSTs 同工酶,可见于大多数耐药细胞中,尤其是具有多药耐药基因表型的细胞中。GST- $\pi$  在机体参与有毒化合物的代谢,在保护细胞免受急性毒性化学物质攻击中起重要作用,所以可以保护正常细胞免受癌和促癌因素的影响,抑制细胞癌变,在抗诱变及抗肿瘤中起重要作用,但同时也可以造成肿瘤细胞对化疗药物的耐药。

大量研究都表明很多人类肿瘤都存在 GST- $\pi$  的过度表达,而在相应的正常增殖细胞或成熟细胞中该基因活性很低,组织中无该蛋白表达或表达很少,GST- $\pi$  的过度表达大多与肿瘤的耐药性有着重要关系<sup>[4-9]</sup>。

在对膀胱移行细胞癌患者的研究中,国外学者发现 GST- $\pi$  的表达异常升高,能增加移行细胞癌抗氧化能力<sup>[10]</sup>。GST- $\pi$  酶活性水平在膀胱移行细胞癌组织样品中较正常组织增高 4.6 倍,使肿瘤对治疗药物有较强的解毒能力,从而表现出药物耐受性<sup>[11]</sup>。当导入外源性 GST- $\pi$  基因或在诱导癌细胞耐药过程中细胞表达 GST- $\pi$  时,细胞内的化疗药物的储留量明显减少。所以认为 GST- $\pi$  可能是抗药性的标志之一,与肿瘤细胞对抗癌药物耐受性的获得有关。

本研究对 81 例膀胱移行细胞癌患者 GST- $\pi$  表达进行了免疫组化检测,结果显示膀胱移行细胞癌患者中 GST- $\pi$  阳性表达阳性率为 76.54%,而正常膀胱黏膜组织未见表达,膀胱移行细胞癌中 GST- $\pi$  的表达随肿瘤分期、分级升高有明显增加的趋势,而且发现复发膀胱移行细胞癌患者中 GST- $\pi$  的表达明显高于初发膀胱移行细胞癌患者,提示随着细胞的恶性转化和肿瘤的进展,GST- $\pi$  在膀胱移行细胞癌患者中的表达可能随之升高,接触抗癌药物的化疗有可能进一步促进其过表达。因此推测 GST- $\pi$  阳性表达可能与膀胱移行细胞癌恶性度及其进展有关,也是导致肿瘤易复发或对化疗耐药的重要原因之一。

关于 GST- $\pi$  在膀胱移行细胞癌中的研究结果不一,陈明等<sup>[12]</sup>研究提示膀胱移行细胞癌患者对化疗耐药可能与 GST- $\pi$  异常表达有关,其表达与肿瘤病理分级明显相关,与分期无关;Thomas 等<sup>[13]</sup>报道在 49 例膀胱移行细胞癌患者中 GST- $\pi$  的表达与病理分级无关,不能作为化疗敏感性的预测指标;张新

国等<sup>[14]</sup>认为 GST- $\pi$  的高表达与膀胱移行细胞癌的病理分级有关,在 G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、G<sub>3</sub> 中的表达率逐渐上升,呈明显的正相关性,且可能与肿瘤的耐药有关;周辉良等<sup>[15]</sup>报道 GST- $\pi$  阳性与膀胱移行细胞癌的病理分级、分期和术后腔内化疗复发有关,认为 GST- $\pi$  表达情况是预测原发性膀胱移行细胞癌腔内化疗疗效的有效标志物。

总之,GST- $\pi$  可能可以作为膀胱移行细胞癌耐药性及其他生物学行为的监测指标,同时对化疗有一定的指导作用。

### 参考文献:

- [1] 吴阶平. 吴阶平泌尿外科学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 919-980.
- [2] Vikram R, Sandler CM, Ng CS. Imaging and staging of transitional cell carcinoma; part 1, lower urinary tract[J]. AJR Am J Roentgenol, 2009, 192(6): 1481-1487.
- [3] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300.
- [4] Yu ST, Chen TM, Chern JW, et al. Downregulation of GSTpi expression by tryptanthrin contributing to sensitization of doxorubicin-resistant MCF-7 cells through c-jun NH2-terminal kinase-mediated apoptosis[J]. Anticancer Drugs, 2009, 20(5): 382-388.
- [5] Oliveira AL, Rodrigues FF, Santos RE, et al. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms and chemotherapy response in locally advanced breast cancer[J]. Genet Mol Res, 2010, 9(2): 1045-1053.
- [6] Mizutani Y, Okada Y, Yoshida O, et al. Doxorubicin sensitizes human bladder carcinoma cells to Fas-mediated cytotoxicity[J]. Cancer, 1997, 79(6): 1180-1189.
- [7] Economopoulos KP, Sergeantanis TN, Vlahos NF. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and ovarian cancer risk: a meta-analysis[J]. Int J Gynecol Cancer, 2010, 20(5): 732-737.
- [8] OBrien ML, Tew KD. Glutathione and related enzymes in multidrug resistance[J]. Eur J Cancer, 1996, 32(6): 967-978.
- [9] Moffat GJ, McLaren AW, Wolf CR. Transcriptional and post-transcriptional mechanisms can regulate cell-specific expression of the human Pi-class glutathione S-transferase gene[J]. Biochem J, 1997, 324(1): 91-95.
- [10] Savic-Radojevic A, Mimic-Oka J, Pljesa-Ercegovac M, et al. Glutathione S-transferase-P1 expression correlates with increased antioxidant capacity in transitional cell carcinoma of the urinary bladder[J]. Eur Urol, 2007, 52(2): 470-477.
- [11] Berendsen CL, Peters WH, Scheffer PG, et al. Glutathione S-transferase activity and subunit composition in transitional cell cancer and mucosa of the human bladder[J]. Urology, 1997, 49(4): 644-651.
- [12] 陈明, 眭元庚, 尤国才, 等. 膀胱癌谷胱甘肽转移酶  $\pi$  的表达及其临床意义[J]. 中华泌尿外科杂志, 1997, 18(8): 478-481.

(下转第 3364 页)

胖、心肺基础疾病则可能增加并发症的发生率。本研究中肋下通道组有 4 例(2%)患者术后严重出血行输血治疗,2 例患者行选择性肾血管栓塞止血,肋间通道患者无接受输血治疗者,严重出血的发生率与文献报道(1%~10%)相符<sup>[3]</sup>,绝大多数出血可通过暂时夹闭肾造瘘管止血,有 0.5% 患者由于形成、动、静脉瘘或者假性静脉瘤需要行肾血管栓塞止血。而建立通道路径从肾盂穹窿进入集合系统避免从肾盂颈进入是减少严重出血的重要因素,分析本研究中肋间通道组患者无发生严重出血并发症原因除选择 F 18 微造瘘的通道外,肋间路径更容易直接从肾盂穹窿进入目标集合系统。术后出现高热(体温大于 39℃)患者,肋间通道与肋下通道分别为 5(4%)、2(1%)例,均加强抗感染治疗后控制,肋间通道因使用微创通道造成集合系统内压力升高,增加感染的发生概率,建立通道后若发现集合系统内感染严重,可选择Ⅱ期碎石,而本研究两组患者术后严重感染发生率无明显差别。肋间通道结石清除率为 78%(91/117),肋下通道结石清除率为 71%(138/193),两组患者结石清除率比较,差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.48, P = 0.223$ ),肋间通道可以获得满意结石清除率,结果与文献报道(78%~86%)相当<sup>[4-7]</sup>。12 肋上通道最大的潜在风险是胸腔器官损伤,引发气胸或血气胸,其发生率为 1.7%~15%<sup>[8-11]</sup>,发生后大多需要行胸腔闭式引流处理。壁层胸膜在第 12 肋中点处反折,在完全呼气状态下脏层胸膜不会到达 12 肋的中点处,所以在呼气状态下于 12 肋外沿选择 11~12 肋间穿刺建立通道相对安全,大大减少胸腔损伤可能<sup>[12-13]</sup>,本研究中肋间通道组无患者出现胸腔并发症。但选择 11 肋以上肾造瘘通道会增加胸腔损伤的可能<sup>[14]</sup>,选择 11 肋以上胸腔损伤发生率是 12 肋下途径的 46 倍<sup>[15]</sup>,应尽量避免 11 肋上通道的建立。

通过对本组资料分析及文献复习,超声引导下 11~12 肋间通道经皮肾微造瘘碎石安全、有效,但应尽量避免建立 11 肋以上通道,以减少胸腔损伤的发生。

#### 参考文献:

- [1] Rehman J, Chughtai B, Schulsinger D, et al. A percutaneous subcostal approach for intercostal stones[J]. *J Endourol*, 2008, 22(3): 497-502.
- [2] Muslumanoglu AY, Tefekli A, Karadag MA, et al. Impact of percutaneous access point number and location on complication and success rates in percutaneous nephrolithotomy[J]. *Uro Int*, 2006, 77: 340-346.
- [3] Kukreja R, Desai M, Patel S, et al. Factors affecting blood loss during percutaneous nephrolithotomy: prospective study[J]. *J Endourol*, 2004, 18: 715-722.
- [4] Hossain M, Ullah AT, Regmi S, et al. Safety and efficacy of the supracostal access for percutaneous nephrolithotomy: our initial experience[J]. *Bangladesh Med Res Counc Bull*, 2011, 37(1): 34-38.
- [5] Sukumar S, Nair B. Supracostal access for percutaneous nephrolithotomy: less morbid, more effective[J]. *Int Urol Nephrol*, 2008, 40: 263-267.
- [6] Lang E, Thomas R, Davis R, et al. Risks, advantages, and complications of intercostal vs subcostal approach for percutaneous nephrolithotripsy[J]. *Urology*, 2009, 74(4): 751-755.
- [7] Kim SC, Ng JC, Matlaga BR, et al. Use of lower pole nephrostomy drainage following endorenal surgery through an upper pole access[J]. *J Urol*, 2006, 175(2): 580-584.
- [8] Maheshwari PN, Mane DA, Pathak AB. Management of pleural injury after percutaneous renal surgery[J]. *J Endourol*, 2009, 23(10): 1769-1772.
- [9] Radecka E, Brehmer M, Holmgren K, et al. Complications associated with percutaneous nephrolithotripsy: supra- versus subcostal access. A retrospective study[J]. *Acta Radiol*, 2003, 44(4): 447-451.
- [10] Gupta R, Kumar A, Kapoor R, et al. Prospective evaluation of safety and efficacy of the supracostal approach for percutaneous nephrolithotomy[J]. *BJU Int*, 2002, 90(9): 809-813.
- [11] Kekre NS, Gopalakrishnan GG. Supracostal approach in percutaneous nephrolithotomy: experience with 102 cases [J]. *J Endourol*, 2001, 15(8): 789-791.
- [12] Yadav R, Gupta NP, Gamanagatti S, et al. Supra-twelfth supracostal access: when and where to puncture[J]. *J Endourol*, 2008, 22(6): 1209-1212.
- [13] Falahatkar S, Enshaei A, Afsharimoghaddam A. Complete supine percutaneous nephrolithotomy with lung inflation avoids the need for a supracostal puncture[J]. *J Endourol*, 2010, 24(2): 213-218.
- [14] Muzrakchi AA, Szmigielski W, Omar AJ, et al. Is the 10th and 11th intercostal space a safe approach for percutaneous nephrostomy and nephrolithotomy[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2004, 27(5): 503-506.
- [15] Shaban A, Kodera A, El Ghoneimy MN, et al. Safety and efficacy of supracostal access in percutaneous renal surgery[J]. *J Endourol*, 2008, 22(1): 29-34.

(收稿日期: 2011-09-13 修回日期: 2011-10-12)

(上接第 3362 页)

- [13] Thomas DJ, Birch PJ, Vickers J, et al. Glutathione S-transferase- $\pi$  expression in transitional cell carcinoma of bladder[J]. *Br J Urol*, 1993, 72(5): 740-743.
- [14] 张新国, 李建峰, 薄爱华, 等. GST- $\pi$  在膀胱移行细胞癌中的表达和意义[J]. *河北北方学院学报*, 2004, 21(5): 46-

47.

- [15] 周辉良, 罗义麒, 张声, 等. 谷胱甘肽-S 转移酶  $\pi$  在膀胱移行细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *癌症*, 2011, 20(1): 72-75.

(收稿日期: 2011-09-13 修回日期: 2011-10-20)