

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.35.019

化学治疗对 NSCLC 血清 ABCG2 水平的影响

王大星¹, 谢彤^{1△}, 茅乃权¹, 左传田¹, 朱波², 潘琪¹, 王守峰¹

(广西医科大学附属肿瘤医院:1. 胸外科;2. 检验科, 南宁 530021)

摘要:目的 观察非小细胞肺癌(NSCLC)患者化学治疗前后血清乳腺癌耐药基因 ABCG2 水平的变化,探讨其临床意义。方法 收集 15 例健康者和 50 例 NSCLC 患者化学治疗前后的血清,用 ELISA 方法检测血清中 ABCG2 水平,并分析其与化学治疗疗效的关系。结果 NSCLC 患者化学治疗前血清 ABCG2 水平高于健康者($P < 0.05$);血清 ABCG2 水平与 NSCLC 患者 TNM 分期无关($P < 0.05$);化学治疗后血清 ABCG2 水平高于化学治疗前($P < 0.05$);化学治疗有效者化学治疗前后血清 ABCG2 水平差异无统计学意义($P > 0.05$);化学治疗无效者化学治疗前后血清 ABCG2 水平高于化学治疗前($P < 0.05$);有胸水患者血清 ABCG2 水平高于无胸水患者,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 NSCLC 患者血清 ABCG2 水平高于健康者;血清 ABCG2 水平可能成为预测 NSCLC 化学治疗疗效的有用指标。

关键词:癌,非小细胞;ABCG2;酶联免疫吸附测定;化学治疗

中图分类号:R734.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)35-4764-02

Effect of chemotherapy on serum ABCG2 level of non-small cell lung cancer

Wang Daxing¹, Xie Tong^{1△}, Mao Naiquan¹, Zuo Chuantian¹, Zhu Bo², Pan qi¹, Wang Shoufeng¹

(1. Department of Thoracic Surgery; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Tumor Hospital, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract: Objective To observe the change of the serum ABCG2 level of patients with non-small cell lung cancer(NSCLC) before and after chemotherapy, and explore its clinical significance. **Methods** Venous blood specimens of 15 healthy adults and 50 patients with NSCLC were collected before and chemotherapy, the serum ABCG2 level of these specimens were detected by ELISA. the relation between the ABCG2 level and the chemosensitivity was investigated. **Results** The serum ABCG2 level of patients with NSCLC before chemotherapy was significantly higher than that in healthy adults($P < 0.05$); the serum ABCG2 level was not related with TNM stage in NSCLC($P < 0.05$); The serum ABCG2 level of patients with NSCLC after chemotherapy was significantly higher than that of before($P < 0.05$); in chemosensitive patients, the different of serum ABCG2 level was not significantly before and after chemotherapy($P > 0.05$); among chemoresistant patients, the serum ABCG2 level of patients with NSCLC after chemotherapy was significantly higher than that of before($P < 0.05$); the serum ABCG2 level was higher in patients with pleural effusion than the patients without pleural effusion, but the different was not significantly($P > 0.05$). **Conclusion** The serum ABCG2 level of patients with NSCLC is higher than that of healthy adults; serum ABCG2 level may become a useful indicator in predicting the effect of NSCLC chemotherapy.

Key words: carcinoma, non-small cell lung; ABCG2; enzyme-linked immunosorbent assay; chemotherapy

肺癌在早期并无特异的典型症状,75%的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者就诊时已属晚期,错过了手术机会,因此化学治疗成为主要的治疗手段,然而肺癌的多药耐药一直是导致化学治疗失败的主要原因。越来越多的研究表明,肿瘤干细胞是肿瘤发生的始动细胞^[1-3],并且是肿瘤多药耐药的主要原因^[4]。ATP-binding cassette(ABC)转运蛋白超家族的跨膜蛋白是引起这种多药耐药的最重要因素,而 ABCG2 作为肿瘤干细胞的标志基因以及 ABC 转运超家族的重要成员^[5-7],受到了人们的广泛关注。本研究通过测定 NSCLC 患者化学治疗前后血清中 ABCG2 水平的变化,探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 试验组血清取自本院化学治疗 2 科 2009 年 7 月至 2010 年 9 月 NSCLC 化学治疗患者,共 50 例,入选患者均经病理确诊,以往未经任何治疗。50 例患者中,男 35 例,女 15 例;年龄 39~77 岁,中位年龄 60 岁。组织学分型:腺癌 20

例,鳞癌 15 例,其他 15 例(其中大细胞癌 3 例,类癌 2 例以及病理类型不明确的低分化癌 10 例)。TNM 分期:Ⅲ期 18 例(其中Ⅲa 期 4 例,Ⅲb 期 14 例),Ⅳ期 32 例(其中 M1a 10 例, M1b 22 例)。所有患者均使用含铂两药方案(GP 方案:顺铂 75 mg/m²,第 1 天;吉西他滨 1 000 mg/m²,第 1、8 天。TP 方案:顺铂 75 mg/m²,第 1 天;多西他赛 75 mg/m²,第 1 天)化学治疗 2 周期以上。对照组血清取自与实验组同时时间段的 15 例健康者,其中男 9 例,女 6 例;年龄 31~59 岁,中位年龄 46 岁。

1.2 方法

1.2.1 疗效评定标准 化学治疗 2 周期后评价疗效,治疗前后行病灶部位 CT 断层扫描,疗效评价按 RECIST 实体瘤疗效评价方法判定^[8],分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD),将 CR+PR 判定为化学治疗有效,SD+PD 为化学治疗无效。

1.2.2 主要试剂和仪器 ABCG2 酶联免疫分析试剂盒,美国 cusabio 公司产品。Thermo Multiskan MK3 酶标仪,美国

作者简介:王大星(1985—),硕士,住院医师,主要从事肺癌基础与临床研究工作。△ 通讯作者, Tel: (0771)5310057; E-mail: xietong3000@163.com。

Thermo 公司产品。

1.2.3 实验方法 采集所有受检者清晨空腹静脉血 5 mL, 放置 2 h 后离心取上层血清, 置于 -80°C 保存。患者血液分别于化学治疗前、化学治疗 2 个周期后各抽取 1 次。按说明书操作, 用 ELISA 方法检测血清中 ABCG2 的水平。以标准物的水平为横坐标(正常坐标), 光密度(OD)值为纵坐标(对数坐标)作出标准曲线, 根据测得的血清 OD 值由标准曲线查出相应的水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 进行数据处理, 试验组患者与对照组、不同分期、患者化学治疗前后血清 ABCG2 水平比较以及血清 ABCG2 水平与化学治疗疗效关系的比较采用 t 检验; 有无胸水与化学治疗疗效关系的比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组与试验组患者化学治疗前血清 ABCG2 水平的比较 试验组患者化学治疗前血清 ABCG2 水平为 $(223.3 \pm 7.2)\text{ng/mL}$, 明显高于对照组的 $(97.3 \pm 7.8)\text{ng/mL}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 不同分期试验组患者血清 ABCG2 水平的比较 III 期患者血清 ABCG2 水平为 $(227.5 \pm 6.9)\text{ng/mL}$, IV 期患者血清 ABCG2 水平为 $(220.3 \pm 7.5)\text{ng/mL}$, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 试验组患者化学治疗前后血清 ABCG2 水平的比较 试验组患者化学治疗前血清 ABCG2 水平为 $(223.3 \pm 7.2)\text{ng/mL}$, 化学治疗后血清 ABCG2 水平为 $(253.0 \pm 7.4)\text{ng/mL}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 血清 ABCG2 水平与化学治疗疗效的关系 化学治疗有效的患者, 化学治疗前后血清 ABCG2 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 化学治疗无效的患者, 化学治疗后血清 ABCG2 水平较化学治疗前升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 试验组化学治疗有效者与无效者血清 ABCG2 水平的比较 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	化学治疗前	化学治疗后	t	P
有效	16	201.8 ± 9.4	204.5 ± 8.2	0.507	0.619
无效	34	233.4 ± 9.2	275.7 ± 7.4	7.333	0.000

2.5 血清 ABCG2 水平与胸水的关系 有胸水患者化学治疗有效率 (12.5%, 1/8) 低于无胸水患者 (35.7%, 15/42), 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。有胸水患者化学治疗前血清 ABCG2 水平 $(246.0 \pm 9.2)\text{ng/mL}$ 高于无胸水患者 $(219.0 \pm 8.3)\text{ng/mL}$, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨 论

2004 年 Goodell 等^[9]报道经流式细胞仪分选的弱染 Hoechst33342 的小鼠骨髓细胞具有造血干细胞的特点。用这种方法分选出来的细胞称为 SP 细胞, 一般认为侧群细胞富集了干细胞。而多药耐药基因 ABCG2 则是决定不同组织来源 SP 细胞排出 Hoechst33342 特性的成因^[10]。ABCG2 也因此逐渐成为分离干细胞的候选标志。ABCG2 基因是 1998 年从耐药的乳腺癌细胞中发现的耐药基因^[11], 它能够借助 ATP 水解的能量, 将细胞内的多种药物分子主动地“泵”到细胞外, 使肿瘤细胞内毒性药物的水平降低而逃避多种药物的杀伤作用^[11]。Hirshmann-Jax 等^[12]研究发现只有部分肿瘤细胞具有 SP 表型, 表达 ABCG2, 肿瘤非 SP 细胞对常用的抗癌药物敏感性要大于 SP 细胞, 表明 ABCG2 的表达是导致肿瘤细胞对化学治

疗药物敏感性下降的直接原因。谢彤等^[13]成功分选出人肺腺癌 A-549 细胞系 SP 细胞亚群, 并发现 SP 细胞亚群对多种化学治疗药物的敏感性以及细胞内化学治疗药物的水平均显著低于非 SP 细胞, 提示 ABCG2 可能在介导上述化学治疗药物排出细胞外的过程中起着重要作用, 由于外排化学治疗药物能力增强, 直接导致了 SP 细胞对化学治疗的耐受性。ABCG2 也分布于正常组织中, 在健康者的血清中亦有表达^[14]。目前少见有关 ABCG2 在 NSCLC 患者血清中水平的研究报道。作者之前的研究对 NSCLC 患者手术前后血清中 ABCG2 的检测发现, 患者术后血清中 ABCG2 明显下降, 且与健康者无明显差异, 说明 ABCG2 的表达与肿瘤病灶的存在有关^[15]。本研究发现 NSCLC 患者血清 ABCG2 水平明显高于健康者, 这与胡毅等^[16]的研究相符。肿瘤耐药模式有天生耐药和获得性耐药, 前者是由于肿瘤干细胞通常处于静止期、有较强的 DNA 修复能力、表达 ABC 转运体超家族蛋白而获得的。而后者则是基于正常干细胞积累突变的同样机制, 由于长期暴露于辐射以及致癌物后, 干细胞及其相近的子代细胞通过点突变、基因激活、基因扩增等而出现新的耐药性^[4]。本研究对试验组患者化学治疗前后血清 ABCG2 水平变化进行比较, 发现化学治疗后血清 ABCG2 水平升高, 两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。究其原因, 可能是化学治疗药物引起了肿瘤干细胞上 ABCG2 基因的突变, 从而导致其过表达; ABCG2 基因的变化直接影响到癌细胞对抗癌药物的外排能力, 从而改变了患者对药物的敏感性; 也可能是化学治疗杀死了肿瘤非干细胞, 因而表达 ABCG2 的肿瘤干细胞比例增多, 血清中的 ABCG2 蛋白水平也因而升高。李德龙等^[17]的研究也发现, 肝癌细胞系经 5-FU 作用后肝癌干细胞标志物 EpCAM、ABCG2、ICAM-1 阳性细胞和 G_0/G_1 期细胞比例较对照组明显增加, 表明应用 5-FU 的确可以富集肝癌干细胞。这种富集作用是由于肝癌干细胞逃逸化学治疗药物的杀伤实现的。

亚组分析显示, 化学治疗有效者血清 ABCG2 水平较化学治疗前差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但化学治疗无效者化学治疗后血清 ABCG2 水平则明显高于化学治疗前 ($P < 0.05$); 化学治疗无效者血清 ABCG2 水平无论化学治疗前及化学治疗后均较化学治疗有效者高。换言之, 血清 ABCG2 水平高者化学治疗疗效差。这一结果提示血清 ABCG2 水平可能可以作为化学治疗疗效的预测指标。

本研究还发现, 有胸水患者化学治疗前血清 ABCG2 水平有高于无胸水患者的趋势; 而有胸水患者化学治疗有效率为 12.5% (1/8), 无胸水患者化学治疗有效率为 35.7% (15/42), 尽管差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但前者化学治疗有效率亦有低于后者的趋势, 符合血清 ABCG2 水平高者化学治疗疗效差这一结论。

参考文献:

- [1] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(7): 3983-3988.
- [2] Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells [J]. Nature, 2004, 432(715): 396-401.
- [3] Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells (下转第 4768 页)

用甲磺酸齐拉西酮采用先进辅料技术,应用 β -环糊精钠作为增溶剂,便于齐拉西酮药物分子快速进入血液循环,快速提高其生物利用度使其在肌内注射给药后 1~2 h 达峰,即出现较强镇静作用。本研究中两组在治疗后 6 h 各时间点 PANSS 总分、PANSS-EC 评分及 CGI-SI 评分结果与治疗前比较均出现显著降低,随治疗时间延长,降低更为显著,效果更加明显,说明两种药物对精神分裂症急性激越症状均有较好的疗效;各观察点平行对照研究显示,两组间 PANSS-EC 评分比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),提示两组药物疗效相当,与熊伟等^[7] Meta 分析结果一致。

本研究中对照组总体不良反应发生率显著低于观察组。对照组常见的药物不良反应为嗜睡、头痛、恶心、口干,多为轻度,患者一般能耐受;而观察组的不良反应主要以锥体外系症状为主,发生率较高,且症状较重,常需对症处理。分析齐拉西酮较少引起锥体外系症状的机制可能与甲磺酸齐拉西酮对 5-HT_{2A} 受体的亲和性强于对 DA 受体的亲和性有关^[4]。

综上所述,注射用甲磺酸齐拉西酮能有效治疗精神分裂症急性激越症状,疗效与氟哌啶醇相当,不良反应发生率更低,安全性好,有助于提高患者治疗依从性,为后续治疗提供可靠保障,值得在临床推广使用。

参考文献:

[1] Caine ED. Clinical perspectives on atypical antipsychotics for treatment of agitation[J]. *J Clin Psychiatry*, 2006, 67 (Suppl 10):S22-31.

(上接第 4765 页)

in the C6 glioma cell line[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(3):781-786.

[4] Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4):275-284.

[5] Robey RW, Polgar O, Deeken J, et al. ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(1):39-57.

[6] Apáti A, Orbán TI, Varga N, et al. High level functional expression of the ABCG2 multidrug transporter in undifferentiated human embryonic stem cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778(12):2700-2709.

[7] Polgar O, Robey RW, Bates SE. ABCG2: structure, function and role in drug response[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008, 4(1):1-15.

[8] Therasse P, Arbuck AG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the responds of treatment in solid tumer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(3):205-216.

[9] Goodell MA, Brose K, Paradis G, et al. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo[J]. *J Exp Med*, 1996, 183(4):1797-1806.

[10] Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, et al. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype[J]. *Nat Med*, 2001, 7(9):1028-1034.

[2] Greenberg WM, Citrome L. Ziprasidone for schizophrenia and bipolar disorder: a review of the clinical trials[J]. *CNS Drug Rev*, 2007, 13(2):137-177.

[3] Cutler AJ, Kalali AH, Weiden PJ, et al. Four-week, double-blind, placebo-and ziprasidone-controlled trial of iloperidone in patients with acute exacerbations of schizophrenia[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2008, 28 (2 Suppl 1):S20-28.

[4] 房茂胜, 赵靖平, 陈红辉, 等. 精神分裂症急性激越症状的药物治疗[J]. *国际精神病学杂志*, 2010, 37(3):171-174.

[5] Ratner Y, Gibel A, Yorkov V, et al. Effectiveness, safety, and tolerability of ziprasidone for treating schizophrenia patients undergoing usual care: a 12-month, open-label, flexible-dose, naturalistic observational trial [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2007, 31 (7):1401-1409.

[6] 陈琦, 薄奇静, 迟勇, 等. 齐拉西酮合并氯硝西泮治疗急性期伴激越精神分裂症患者的对照研究[J]. *临床精神医学杂志*, 2012, 22(4):217-219.

[7] 熊伟, 阳中明. 齐拉西酮注射液治疗精神分裂症急性期对照研究的 Meta 分析[J]. *中国实用医药*, 2013, 24(16):31-32.

(收稿日期:2014-06-12 修回日期:2014-08-11)

[11] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF27 breast cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(26):15665-15670.

[12] Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, et al. A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(39):14228-14233.

[13] 谢彤, 李力, 黎丹戎, 等. 人肺腺癌 A549 细胞系干细胞相关亚群的分离与鉴定[J]. *中华肿瘤杂志*, 2011, 33(2):84-90.

[14] Doyle LA, Ross DD. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP(ABCG2)[J]. *Oncogene*, 2003, 22(47):7340-7358.

[15] 王大星, 谢彤. 手术前后 NSCLC 血清 ABCG2 表达水平的变化及临床意义[J]. *中国癌症防治杂志*, 2011, 3(1):56-58.

[16] 胡毅, 冯奉仪, 程书钧, 等. NSCLC 患者血清中乳腺癌耐药蛋白的表达及与化学疗法疗效的关系[J]. *中华肿瘤杂志*, 2006, 28(10):750-752.

[17] 李德龙, 朱雯静, 韩旭, 等. 肝癌干细胞逃避 5-氟尿嘧啶单药杀伤可能是造成化学疗法失败的重要原因[J]. *实用肝脏病杂志*, 2012, 15(2):126-129.

(收稿日期:2014-06-06 修回日期:2014-08-20)