

# 复发性乳腺癌化疗药物敏感性的体外实验

李 治,刘春萍,明 洁,田 元,黄 韬

关键词:乳腺癌;肿瘤复发;多药耐药;体外研究

中图分类号:R737.9 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)02-0132-02

## 0 引言

虽然近十年来乳腺癌的综合治疗效果有显著提高,但是对于复发的患者,化疗多药耐药性的存在使临床医生在制定解救化疗方案时依然存在困难。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

乳腺癌组织标本来自我院 2003 年 5 月~2006 年 12 月经病理证实的乳腺癌患者,均为女性,年龄 30~71 岁(平均 48.8 岁)。其中原发性乳腺癌患者(未接受过化疗)71 例,复发性乳腺癌患者(均接受过含有蒽环类和(或)紫杉类药物的化疗方案)29 例。

长春瑞滨(盖诺)由豪森制药公司提供,紫杉醇(特素)、多西他赛(艾素)和羟基喜树碱由恒瑞公司提供,表阿霉素、阿霉素以及其他药物由辉瑞公司提供。

### 1.2 原代乳腺癌细胞的分离培养与化疗药物敏感性测定

无菌条件下获取乳腺癌组织后,参照文献<sup>[1]</sup>的方法获得乳腺细胞微球,移入 96 孔板用无血清培养基,37 和 5%CO<sub>2</sub> 下培养。当原代乳腺癌细胞铺满 96 孔板底 70%~80% 时,用 MTT 法测定不同化疗药物的细胞杀伤率,每组设 3 个复孔。

细胞杀伤率(%) =  $[1 - (\text{实验组 OD 值} - \text{阴性组 OD 值}) / (\text{阳性组 OD 值} - \text{阴性组 OD 值})] \times 100\%$ 。

疗效判定标准:IC<sub>50</sub> < 0.5 倍血浆药物浓度(plasma pharmacal concentration, PPC), IC<sub>90</sub> < 1.0 PPC 为高度敏感;IC<sub>50</sub> > 0.5 PPC, IC<sub>90</sub> < 1.0 PPC 为中度敏感;IC<sub>50</sub> < 0.5 PPC, IC<sub>90</sub> > 1.0 PPC 为低度敏感;IC<sub>50</sub> > 0.5 PPC, IC<sub>90</sub> > 1.0 PPC 为耐药。

### 1.3 统计方法

收稿日期:2007-02-07;修回日期:2007-04-18

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院乳腺甲状腺外科

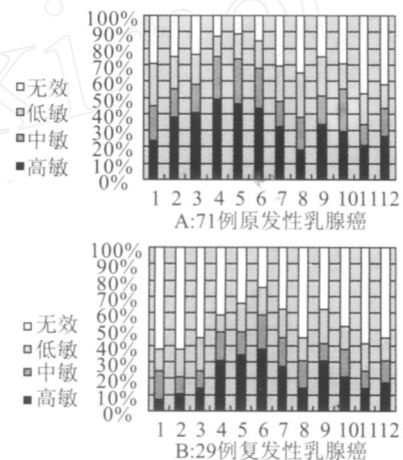
通讯作者:黄韬, E-mail: huangtaowh@163.com

作者简介:李治(1978-),男,博士,主治医师,主要从事乳腺癌研究

应用 SPSS11.0 软件进行配对 *t* 检验。

## 2 结果

对乳腺癌原代细胞的体外药物敏感性检测结果,见图 1。



1~12 分别为 5-Fu、阿霉素、表阿霉素、紫杉醇、多西他赛、吉西他滨、羟基喜树碱、长春新碱、长春瑞滨、丝裂霉素、卡铂、顺铂

图 1 乳腺癌原代细胞体外药物敏感性检测结果

## 3 讨论

耐药能力的获得是导致化疗失败以及肿瘤复发,影响乳腺癌患者预后的重要原因<sup>[2]</sup>,同时与肿瘤发展过程中某些基因突变的累积有关<sup>[3,4]</sup>。并且随着化疗后肿瘤的复发和进展,相关耐药基因突变的累加会导致肿瘤耐药能力的不断增强和肿瘤趋于难治。

由于化疗方案的选择主要依赖于临床医生的经验,缺乏客观有效的指导,所以应用肿瘤原代细胞药敏实验指导临床化疗方案的设计,一直是临床医生渴望得到的重要技术。我们的研究显示用胶原酶消化法能够获取足够数量和活性良好的肿瘤原代细胞,采用特殊培养基的肿瘤细胞原代培养能够很好地确保肿瘤细胞的纯度和增殖活性,此时对原代培养的肿瘤细胞进行化疗药物敏感性检测可以直接反映化疗药物对肿瘤细胞的作用效果<sup>[5]</sup>。

我们的研究结果显示对于原发性乳腺癌患者,蒽环类、紫杉类药物以及吉西他滨比其他化疗药物有更好的疗效( $P < 0.01$ ),提示蒽环类、紫杉类药物

以及吉西他滨是原发乳腺癌患者化疗理想的一线药物,而对于已使用过蒽环类和(或)紫杉类药物化疗的复发性乳腺癌患者,蒽环类、紫杉类药物的疗效会明显下降( $P < 0.01$ ),吉西他滨、羟基喜树碱以及长春瑞滨三种药物的疗效则没有明显下降并且优于其它药物( $P < 0.01$ ),提示对于该类患者,含有吉西他滨、羟基喜树碱、长春瑞滨的化疗方案可能是临床医师较好的选择。

参考文献:

[1] Charlotte K, Tony C, Min Wu, et al. Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice [J]. PNAS, 2004, 101(14): 4966-4971.

[2] Yoshikawa M, Ito A, Ishikawa T, et al. Drug resistance mediated by ABC transporters [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2004, 31(1): 1-6.  
 [3] Moliterni A, Mènard S, Valagussa P, et al. HER2 Overexpression and Doxorubicin Adjuvant Chemotherapy for Resectable Breast Cancer [J]. J Clin Oncol, 2003, 21(3): 458-462.  
 [4] Ayers M, Symmans WF, Stec J, et al. Gene Expression Profiles Predict Complete Pathologic Response to Neoadjuvant Paclitaxel and Fluorouracil, Doxorubicin, and Cyclophosphamide Chemotherapy in Breast Cancer [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(12): 2284-2293.  
 [5] Xu JM, Song ST, Tang ZM, et al. Predictive chemotherapy of advanced breast cancer directed by MTT assay in vitro [J]. Breast Cancer Res Treat, 1999, 53(1): 77-85.

[编辑校对:刘红武]

# 诱导型一氧化氮合酶对进展期胃腺癌凋亡、增殖的影响

吴敏<sup>1</sup>, 徐幼龙<sup>1</sup>, 张世统<sup>1</sup>, 杨大明<sup>1</sup>, 陶琨<sup>2</sup>, 杨华<sup>2</sup>

关键词: 诱导型一氧化氮合酶; 胃腺癌; 进展期; 凋亡; 增殖

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)02-0133-02

## 0 引言

一氧化氮(NO)在肿瘤的发生、发展及转移方面的作用是目前国内外研究的热点之一。诱导型一氧化氮合酶(iNOS)是内源性一氧化氮合成的关键酶。我们通过免疫组化法检测胃腺癌细胞 iNOS、细胞增殖核抗原(Ki-67-LI),用原位末端标记技术 TUNEL 法检测凋亡比例(AI),对 iNOS、Ki-67-LI、AI 与胃腺癌病理学特性,以及 iNOS 与 Ki-67-LI、AI 之间的相互关系和预后进行了探讨,分析了 iNOS 在胃癌发展中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

2000~2002 年在我院肿瘤科行根治性胃癌切除手术进展期患者 58 例。年龄在 28~83 岁,其中男 42 例,女 16 例。术前均未接受放化疗、免疫治疗,影像学检查未发现其他脏器转移。病理诊断均为胃腺癌。术后行 5-氟尿嘧啶、丝裂霉素、表阿霉素静脉或介入化疗 6~8 周期。随访率 86.2%。其中 2

例死于心脑血管疾病,生存统计按 48 例计算。iNOS、Ki-67 表达采用 SP 法染色。TUNEL 法检测胃癌细胞凋亡。PBS 代替一抗作为空白对照。

### 1.2 结果判定

iNOS 阳性细胞为细胞浆或细胞膜呈棕黄色或棕褐色者,根据染色强度和阳性细胞数量两项分数相加<sup>[1]</sup>: 0~2 分(-); 3~6 分(+). Ki-67 阳性细胞为细胞核染成颗粒样或片状棕黄色者。凋亡癌细胞为细胞核呈黄色深染或有明显凋亡形态学改变的细胞。每个标本在同一放大倍数下( $\times 400$ )随机检测 10 个纤维视野。分别计数 Ki-67 阳性细胞及凋亡癌细胞在全部细胞中所占比例。

### 1.3 统计学处理

SPSS11.5 for windows 软件包行统计学分析。

## 2 结果

### 2.1 iNOS 表达、AI、Ki-67-LI 特点

iNOS 阳性表达率为 55.2% (32/58), 凋亡指数范围 0.1%~5%, 平均为 (1.63 ± 1.11)%, Ki-67-LI 范围为 5%~98%, 平均为 (66.78 ± 32.82)%。

### 2.2 iNOS 阳性表达、AI、Ki-67-LI 与胃癌临床病理指标关系

iNOS 阳性表达与年龄、性别、肿瘤分化程度、淋巴结转移、肿瘤浸润深度、TNM 分期、血管浸润、

收稿日期: 2007-01-30; 修回日期: 2007-07-31  
 作者单位: 1. 200336 上海市长宁区中心医院肿瘤科, 2. 病理科  
 作者简介: 吴敏(1963-), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事恶性肿瘤的化疗和超声热疗的研究