

论著 · 临床研究

P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌化疗耐药性的相关性研究

张婷婷

(广州中医药大学祈福医院妇产科, 广东广州 511495)

摘要:目的 探讨 P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌化疗耐药性的相关性。方法 选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月该院的 100 例卵巢癌患者的手术切除标本作为研究对象,同时选取同期该院健康卵巢组织 100 例作为对照。采用免疫组织化学法检测 P65、P50 和 IκBα 蛋白水平。分析 P65、P50 和 IκBα 蛋白水平与卵巢癌化疗耐药性的关系。结果 卵巢癌患者组织中 P65 蛋白表达阳性率(66.00%)、P50 蛋白表达阳性率(68.00%)、IκBα 蛋白表达阳性率(62.00%)高于健康卵巢组($P<0.05$)。P65 蛋白表达与卵巢癌临床分期密切相关($P<0.05$)；P50 蛋白表达与卵巢癌的肿瘤大小密切相关($P<0.05$)；IκBα 蛋白表达与卵巢癌的病理分级密切相关($P<0.05$)。化疗敏感组 P65 阳性表达率(68.18%)、P50 阳性表达率(69.12%)和 IκBα 阳性表达率(67.74%)高于化疗耐药组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 P65、P50 及 IκBα 表达水平与卵巢癌化疗耐药相关,P65、P50 及 IκBα 有望成为判断卵巢癌化疗疗效的指标。

关键词: P65; P50; IκBα; 卵巢癌; 化疗耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.21.024

中图法分类号: R446.6; R737.31

文章编号: 1673-4130(2018)21-2689-03

文献标识码: A

Expressions of P65, P50 and IκBα proteins and its relationship with drug resistance in ovarian cancer

ZHANG Tingting

(Department of Obstetrics and Gynecology, Qifu Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 511495, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of P65, P50 and IκBα proteins and its relationship with drug resistance in ovarian cancer. **Methods** From January 2016 to January 2017, 100 patients with ovarian cancer were selected as the research objects, meanwhile, 100 healthy ovarian tissues in the same period were selected as control. The levels of P65, P50 and IκBα protein were detected by immunohistochemistry. The relationship between P65, P50 and IκBα protein levels and chemoresistance in ovarian cancer was analyzed. **Results**

The positive rate of P65 protein expression (66.00%), the positive rate of P50 protein expression (68.00%) and the positive rate of IκBα protein expression (62.00%) in ovarian cancer tissues were higher than that in healthy ovarian tissues ($P<0.05$). The expression of P65 protein was closely related to the clinical stage of ovarian cancer ($P<0.05$), the expression of P50 protein was closely related to the tumor size ($P<0.05$), and the expression of IκBα protein was closely related to the pathological grade of ovarian cancer ($P<0.05$). The positive expression rate of P65 (68.18%), P50 (69.12%) and IκBα (67.74%) in chemotherapy sensitivity group were higher than those in chemotherapy resistance group ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of P65, P50 and IκBα are correlated with chemotherapy resistance in ovarian cancer. P65, P50 and IκBα may be used as indicators to judge the efficacy of chemotherapy in ovarian cancer.

Key words: P65; P50; IκBα; ovarian cancer; chemotherapy resistance

恶性卵巢癌是临床上较为常见的妇科肿瘤疾病,其具有较高的发病率和病死率,严重影响患者的生活质量和身体健康^[1]。对于妇科恶性卵巢癌,临床上主要采用手术与化疗联合治疗,但患者的长期生存率较低,且有时不能完全治愈,甚至化疗药物的耐药性问题也随之出现^[2],这是临床上恶性卵巢癌治疗失败的主要原因之一,故研究卵巢癌化疗耐药性尤为重要。研究显示,肿瘤细胞的凋亡敏感性低是卵巢癌化疗耐药性产生的原因之一^[3-5]。核因子 κB(NF-κB)家族蛋白

是近年来研究较多的核转录因子,NF-κB 家族蛋白可能与肿瘤细胞的增殖、凋亡等息息相关^[6-8]。P65、P50 及 IκBα 蛋白是常见的 NF-κB 家族蛋白成员,本研究将选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月本院的 100 例卵巢癌患者作为研究对象,探讨 NF-κB 家族蛋白 P65、P50 及 IκBα 蛋白表达水平与卵巢癌化疗耐药性关系,旨在研究卵巢癌化疗疗效的预测指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月本

作者简介:张婷婷,女,主治医师,主要从事妇产科疾病研究。

本文引用格式:张婷婷. P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌化疗耐药性的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(21):2689-2691.

院的手术切除标本作为研究对象。纳入标准:(1)符合《妇科肿瘤学》中卵巢癌的诊断标准;(2)均含有下腹疼痛、下腹包块、不规则子宫出血等临床症状。排除标准:(1)合并心理疾病、精神疾病患者;(2)合并慢性感染性疾病、心肺功能障碍患者。100 例卵巢癌患者包括卵巢上皮性癌 65 例,卵巢良性囊腺瘤 35 例;100 例均为女性;临床分期:I 期 12 例,Ⅱ期 30 例,Ⅲ期 38 例,Ⅳ期 20 例;平均年龄(45.8±3.5)岁;病程 1 个月至 7 年,平均病程(3.8±0.5)年;囊肿直径 0.4~3.5 cm,平均(2.0±0.5)cm。100 例卵巢癌患者在手术前,均未进行任何治疗,术后进行 6 个月化疗,静脉给予铂类加紫杉醇类药物作为化疗方案,100 例卵巢癌患者分为化疗敏感组 75 例和化疗耐药组 25 例。同时选取同期本院健康卵巢组织 100 例作为对照研究,对照来源于行子宫及附件切除术的子宫肌瘤患者的健康卵巢标本,并经病理检查为正常。本研究获得本院伦理委员会批准,所有患者自愿签署知情同意书。

1.2 方法 采用免疫组织化学法检测 P65、P50 及 IκBα 表达水平,分析 P65、P50 及 IκBα 表达水平与卵巢癌化疗耐药性的相关性,具体如下:常规方法制备 5 μm 厚的石蜡切片,进行免疫组织化学染色,10 mmol/L 枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)热激 30 min 介导抗原复性,采用抗 P65、P50 及 IκBα 单克隆抗体孵育,4 ℃过夜。洗涤后孵育二抗,加显色液后进行曝光。参考文献[9],确定本实验的判定标准,计数 5 个高倍视野,以阳性细胞>5%为阳性。阳性显色为棕黄色颗粒,位于细胞质、细胞核。

1.3 评价标准 根据 B 超及糖类抗原(CA)125 水平、腹部及盆腔检查、二次探查术或 CT 检查结果来判

断。化疗耐药:初次化疗的疗效达不到临床证实的缓解(临床症状消失,血清 CA125 下降至正常,B 超和盆腔检查结果证实无包块),或初次化疗短时间内有效,但在化疗结束后 6 个月相对较短时间内出现复发现象。根据此标准将患者分为化疗敏感组和化疗耐药组。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 P65、P50 及 IκBα 蛋白在健康卵巢组织、卵巢癌组的表达 卵巢癌组中 P65、P50 和 IκBα 蛋白表达阳性率均高于健康卵巢组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 P65、P50 及 IκBα 蛋白在健康卵巢组、卵巢癌组的表达[n(%)]				
组别	n	P65 表达	P50 表达	IκBα 表达
健康卵巢组	100	13(13.00)	16(16.00)	10(10.00)
卵巢癌组	100	66(66.00)*	68(68.00)*	62(62.00)*

注:与健康卵巢组相比,* $P<0.05$

2.2 P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌患者临床病理学特征关系分析 不同肿瘤分期患者的卵巢癌组织间 P65 蛋白表达阳性率相比,差异有统计学意义($\chi^2=2.961,P=0.041$);不同肿瘤大小的卵巢癌组织间 P50 蛋白表达阳性率,差异有统计学意义($\chi^2=3.949,P=0.0047$);不同病理分级患者的卵巢癌组织中,IκBα 蛋白表达阳性率,差异有统计学意义($\chi^2=6.781,P=0.012$),见表 2。

表 2 P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌患者临床病理学特征关系分析[n(%)]									
因素	n	P65			P50			IκBα	
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	P
年龄			0.483	0.487		1.250	0.263	0.073	0.786
≤45 岁	54	34(62.96)			33(61.11)			35(64.81)	
>45 岁	46	32(69.57)			35(76.09)			27(58.70)	
肿瘤大小			0.018	0.892		3.949	0.047	0.311	0.577
≤2 cm	52	34(65.39)			20(38.46)			33(63.46)	
>2 cm	48	32(66.67)			30(62.50)			29(60.62)	
临床分期			2.961	0.041		0.761	0.116	0.861	0.216
I	12	6(50.00)			8(66.67)			8(66.67)	
Ⅱ	30	20(66.67)			20(66.67)			20(66.67)	
Ⅲ	38	30(78.95)			26(68.42)			22(57.89)	
Ⅳ	20	10(50.00)			14(70.00)			12(60.00)	
病理分级			0.532	0.652		0.601	0.563	6.781	0.012
G1	12	8(66.67)			8(66.67)			6(50.00)	
G2	24	16(66.67)			16(66.67)			6(25.00)	
G3	64	42(65.63)			44(68.75)			50(78.13)	

2.3 P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌化疗耐药的关系 与化疗耐药组相比,化疗敏感组的 P65、P60 和

IκBα 阳性表达率均升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 P65、P50 及 IκBα 表达与卵巢癌化疗耐药的关 系[$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	P65 阳性	P50 阳性	IκBα 阳性
化疗耐药组	25	7(28.00)	8(32.00)	7(28.00)
化疗敏感组	75	45(60.00)*	47(62.67)*	42(56.00)*

注:与化疗耐药组相比,* $P<0.05$

3 讨 论

卵巢癌是实体肿瘤中对化疗中度敏感的肿瘤之一,其对铂类药物为基础的联合化疗有 70%~80% 的反应率。然而,绝大多数晚期患者容易复发,并在化疗初期及化疗过程中产生耐药,导致预后不良。因此,如何预防及克服肿瘤化疗耐药是当今研究的热点及难点。耐药产生的机制非常复杂,包括药物泵的作用、药物解毒增加及 DNA 分子修复系统的改变等。

NF-κB 家族蛋白是近年来研究较多的核转录因子,已有研究表明^[10-12],NF-κB 家族蛋白与结肠癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞的化疗耐药性等息息相关,但 NF-κB 家族蛋白是否与卵巢癌的化疗耐药性相关,尚未有大样本研究加以证实。目前,国内外均有研究表明,化疗药物耐药性产生的重要机制可能就是 NF-κB/IκB 信号通路过度活化,CUSACK 等^[13]证实化疗药物能够启动凋亡反应、激活 NF-κB/IκB 信号通路活性,从而抑制细胞凋亡,维持细胞活性,国内何凯等^[14]发现顺铂耐药癌细胞株内 NF-κB 活性明显增强,由此可见,NF-κB/IκB 信号通路过度激活可能通过抑制细胞凋亡等途径诱导并参与癌细胞化疗耐药性形成,但具体作用机制和途径仍有待证实。P65、P50 及 IκBα 蛋白是常见的 NF-κB 家族蛋白成员。NF-κB 是一类核转录因子,在非刺激状态的时候,NF-κB 与它的抑制物 IκBα 结合,此时 NF-κB 是以一种未被激活的形式,存在于细胞质中。当细胞受到损伤等条件的刺激后,与 NF-κB P65 结合的 IκBα 发生降解,P65 释放并且被激活,最终转移至细胞核中参与调控各类相关蛋白的转录。而 NF-κB P50 亦参与调控各类相关蛋白的转录。本研究将探讨 NF-κB 家族蛋白 P65、P50 及 IκBα 蛋白表达水平与卵巢癌化疗耐药性关系。本研究发现,卵巢癌患者组织中 P65、P50 和 IκBα 蛋白表达阳性率高于健康卵巢组,结果提示,NF-κB 家族蛋白 P65、P50 及 IκBα 蛋白可能促进卵巢癌的发生、发展过程;研究还发现,P65 蛋白表达与卵巢癌的临床分期密切相关,P50 蛋白表达与卵巢癌的肿瘤大小密切相关,IκBα 蛋白表达与卵巢癌的病理分级密切相关。研究还发现,化疗耐药组和化疗敏感组的 P65、P60 和 IκBα 阳性表达率相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。

4 结 论

P65、P50 及 IκBα 表达水平与卵巢癌化疗耐药相关,它们有望成为判断卵巢癌化疗疗效的指标。

参考文献

[1] 冯雪,郑建华. 卵巢癌化疗耐药相关细胞信号转导通路的研究进展[J/CD]. 妇产与遗传(电子版),2012,2(1): 35-38.

[2] 刘明艳. 卵巢癌化疗耐药的发生机制及应对措施[J]. 国际妇产科学志,2016,43(4):416-419.

[3] 贾敏利,宋晓彤. 上皮性卵巢癌 P53、Livin 和 PARP 表达检测及其对卵巢癌化疗耐药、临床预后的影响研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(4):452-454.

[4] 张莹,岳瑛,王东娇,等. 浆液性卵巢癌组织中 P53 的表达与化疗敏感性及其临床预后研究[J]. 中国妇幼保健,2015,30(2):290-292.

[5] 张小华,陈开杰,张海伟,等. P53、Livin 和 PARP 在上皮性卵巢癌中的表达及其对卵巢癌患者化疗耐药、临床预后的影响[J]. 中国生化药物杂志,2017,37(2):294-296.

[6] 张惠湘,李鲲鹏,钟慧军. NFκB1 基因启动子区插入/缺失多态性与卵巢上皮性癌的相关性[J]. 宁夏医科大学学报,2013,35(3):296-298.

[7] 徐信兰,张玲玲,卢丹,等. 卵巢上皮性肿瘤组织中黏蛋白抗原 4 和核因子-κB/p65 蛋白表达及临床意义[J]. 实用临床医药杂志,2011,15(11):8-10.

[8] 冯玉环,易建平,陈莹,等. 四硝酸戊赤藓醇和小鼠核因子 κB 亚基 p65 亲和肽在上皮性卵巢癌中的表达及与顺铂耐药性的研究[J]. 中国妇幼保健,2017,32(12):2735-2739.

[9] 郭冰沁,俞岚,武世伍. HE4、NF-κbp65 和 MMP-9 在卵巢上皮性肿瘤中的表达及其临床意义[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2011,20(6):578-583.

[10] 王丽丽,崔慧敏,曹晓静,等. 原发性上皮性卵巢癌组织中核因子 κB p65 的表达与化疗耐药相关性研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015(10):968-971.

[11] 王越,杨洁,高燕,等. IL-6、IL-8 上调卵巢癌细胞雄激素受体表达的作用分别依 MAPK 途径和 Src 活化[J]. 免疫学杂志,2014,24(4):424-429.

[12] 王越,杨洁,高燕,等. 雌激素与 IL-6、IL-8 在卵巢癌细胞中的调节作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2008,28(9):799-804.

[13] CUSACK J C, LIU R, BALDWIN A S. Inducible Chemoresistance to 7-Ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin (CPT-11) in colorectal cancer cells and a xenograft model is overcome by inhibition of nuclear factor-κB activation[J]. Cancer Res,2000,60(9):2323-2330.

[14] 何凯,雷娟,卢战凯,等. NF-κb 在卵巢癌顺铂耐药株 COC1/DDP 中的表达及意义[J]. 中国实验诊断学,2008,12(9):1113-1114.