

## 新辅助化疗对 期非小细胞肺癌细胞凋亡和增殖的影响 \*

彭忠民 王潍博 罗 静 陈景寒

山东省立医院胸外科 微创胸外-肺移植中心 (济南市 250021)

**摘要** 目的 探讨新辅助化疗对非小细胞肺癌肿瘤细胞凋亡及对肿瘤细胞增殖的影响。方法 选取 期非小细胞肺癌患者 56例行新辅助化疗后并手术,并选取同期 50例直接手术患者作为对照组。两组患者的手术标本,分别采用末端转移酶介导的 dUTP切口末端标记法(TUNEL)行细胞凋亡检测,采用免疫组化标记链菌亲和素生物素法( LSAB)检测细胞增殖抗原 Ki- 67的表达。结果 新辅助化疗组肿瘤细胞凋亡指数(AI)均数为 9.34%,对照组肿瘤细胞凋亡指数均数为 5.27%,两组比较有显著差异( $P<0.001$ )。新辅助化疗组肿瘤细胞增殖抗原 Ki- 67阳性表达率均数为 35.68%,对照组 Ki- 67阳性表达率均数为 59.35%,两组比较差异显著( $P<0.001$ )。新辅助化疗组及对照组中,肿瘤细胞凋亡指数 AI与增殖指数 Ki- 67的阳性表达均成负相关。结论 新辅助化疗能诱导 期非小细胞肺癌肿瘤细胞的凋亡,并能抑制其增殖。

**关键词** 新辅助化疗 非小细胞肺癌 细胞凋亡 细胞增殖抗原

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8179(2005)14-0798-03

## The Effect of Neoadjuvant Chemotherapy on Cell Apoptosis and Proliferation in Stage Non-small Cell Lung Cancer

Peng Zhongmin Wang Weibo Luo Jing et al

Department of Minimal invasive thoracic Surgery&lung transpatation center,  
Shandong Provincial Hospital, Jinan

**Abstract** Objective: To investigate whether neoadjuvant chemotherapy can induce tumor cell apoptosis in non-small cell lung cancer patients, and to study its effect on cell proliferation. Methods: Fifty-six patients with stage non-small cell lung cancer were treated with neoadjuvant chemotherapy, and 50 with the same stage were directly treated with surgery as control. Apoptosis index (AI) of tumor cells was assayed by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) and Cell proliferation antigen (ki-67) was examined using immunohistochemical labeled streptavidin biotin (LSAB) in the cancer samples. Results: Tumor cell AI in neoadjuvant group ( $=9.34\%$ ) was significantly higher compared to control group ( $=5.27\%$ ) ( $P<0.01$ ). Ki-67 positive expression rate in neoadjuvant group ( $=35.68\%$ ) was significantly lower than that in control group ( $=59.35\%$ ) ( $P<0.01$ ). There was a significant negative association between AI and Ki-67 in both neoadjuvant chemotherapy group and control group ( $P<0.01$ ). Conclusions: Neoadjuvant chemotherapy can induce tumor cell apoptosis and can inhibit the tumor cell proliferation in non-small cell lung cancer.

**Key words** Neoadjuvant chemotherapy Non-small cell lung cancer(NSCLC)  
Cell apoptosis Cell proliferation antigen

\* 本文课题受山东省卫生厅青年科学研究基金资助 (编号:2001CA2DBA3)

肿瘤中心 病理科

新辅助化疗对非小细胞肺癌的疗效不断得到肯定,肿瘤的发生及发展是细胞无限制过渡增殖的过程,化疗对肿瘤的作用应包括杀伤肿瘤细胞和抑制肿瘤细胞分裂、增殖及促进凋亡两方面。本文探讨了新辅助化疗对非小细胞肺癌细胞凋亡及增殖的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 1999年 3月至 2003年 3月本院胸外科早期非小细胞肺癌患者 56例为新辅助化疗组,能耐受手术。入组时均有明确的病理或细胞学诊断,并且经胸部及颅脑 CT、骨 ECT、腹部 B超或 CT,部分患者行 PET等检查,确诊为早期可切除的非小细胞肺癌,选取同期同标准 50例患者作为对照组(直接手术)。两组一般资料见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较 例

项目	新辅助化疗组	对照组	P
例数	56	50	
性别			
男	40	36	>0.05
女	16	14	
年龄(岁)			
中位数	55.61±9.32	56.43±10.66	>0.05
范围	32~71	34~70	
病理类型			
鳞癌	36	30	>0.05
腺癌	15	16	
腺鳞癌	4	2	
大细胞癌	1	2	
肿瘤分期			
T <sub>2</sub>	39	32	>0.05
T <sub>3</sub>	11	10	
T <sub>4</sub>	6	8	

1.2 治疗方法

新辅助化疗组患者先接受 1~2周期化疗,34例采用 NP方案(诺维本 25mg/m<sup>2</sup>,第 1、8天;顺铂 40mg/m<sup>2</sup>,第 2~3天),22例采用 GP方案(健择 1 000mg/m<sup>2</sup>,第 1、8天;顺铂 40mg/m<sup>2</sup>,第 2~3天)。化疗后 3周手术治疗,术后 4周再化疗 2周期,方案同上。对照组先手术切除,术后给予 2~3周期化疗,方案同上。新辅助化疗效果判定参考 WHO疗效评价标准。

1.3 免疫组化方法

每例手术石蜡标本选取肿瘤组织制备 3张 4μm厚组织切片,分别行 HE染色、TUNEL及 LSAB法染色。采用末端转移酶介导的 dUTP切口末端标记法(TUNEL)行细胞凋亡检测;采用免疫组化的标记链菌亲和素生物素法(LSAB)检测细胞增殖抗原 Ki-67的单克隆抗体。

凋亡检测试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。细胞核内出现棕褐色沉淀为阳性,阴性对照中无

上述沉淀出现,见图 1、2。凋亡指数(AI)=(凋亡细胞数/计数细胞总数)×100%。细胞增殖抗原 Ki-67的单克隆抗体及试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。PBS代替一抗,阳性结果为细胞核内出现棕黄色颗粒,阴性对照中无上述颗粒出现,见图 3、4。Ki-67染色表达阳性率=(Ki-67阳性细胞数/计数细胞总数)×100%。

图 1 肺鳞癌细胞中 TUNEL染色阳性 SP×200

图 2 肺腺癌细胞中 TUNEL染色阳性 SP×200

1.4 统计学分析

应用 SPSS10.0统计软件,比较两组及之间 AI及 Ki-67表达的差异,采用独立样本 t检验,AI(%)及 Ki-67表达阳性率(%)用均数和标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。分析 AI及 Ki-67表达之间的关系用线性相关分析。

2 结果

2.1 肿瘤细胞凋亡指数及细胞增殖抗原 Ki-67的表达

新辅助化疗组 AI最高为 15.28%,最低为 4.21%,平均为(9.34±3.12)%;对照组 AI最高为 11.03%,最低为 3.31%,平均为(5.27±3.16)%。分析两者之差,结果  $t=8.91, P<0.001$ ,说明新辅助化疗组和对照组肺癌肿瘤细胞凋亡指数之间存在差异。

图 3 Ki-67在肺鳞癌细胞核中的阳性表达 SP×200

图 4 Ki-67在肺腺癌细胞核中的阳性表达 SP×200

新辅助化疗组 Ki-67 最高为 72.32%，最低为 8.18%，平均为  $(35.68 \pm 7.01)\%$ ；对照组 Ki-67 最高为 92.44%，最低为 19.83%，平均为  $(59.35 \pm 11.06)\%$ 。分析两者之差，结果  $t = 10.19, P < 0.001$ ，说明两组肺癌肿瘤细胞增殖指数之间存在差异。

## 2.2 细胞凋亡指数与增殖抗原 Ki-67 表达的关系

对两组患者的 AI 及 Ki-67 阳性率分别进行线性相关分析，结果显示新辅助化疗组两者之间的相关系数  $\gamma = -0.33 (P < 0.05)$ ；对照组中两者的相关系数  $\gamma = -0.48 (P < 0.05)$ 。说明患者化疗与否其肺癌组织中的 AI 及 Ki-67 阳性率之间均存在负相关。

## 3 讨论

通过诱导肿瘤细胞凋亡是抑制肿瘤发展的重要手段，有研究表明化疗可促使肿瘤细胞的凋亡<sup>[1,2]</sup>。本文显示新辅助化疗组较对照组肿瘤细胞的凋亡指数明显提高，从而提示有效的新辅助化疗可促进非小细胞肺癌的凋亡。术前化疗通过诱导细胞死亡，一方面可能消灭远处的微小转移灶<sup>[3,4]</sup>，另一方面可能使肿瘤缩小利于手术彻底切除，减少术后远处转移及局部复发，使患者的生存得以提高<sup>[5]</sup>。

通过诱导降低肿瘤细胞的增殖能力是抑制肿瘤发展的另一重要手段。Ki-67 抗原是目前公认的一种与细胞增殖密切相关的蛋白，Ki-67 增殖指数可

能与多种肿瘤的分期及预后有关<sup>[6,7]</sup>，本研究显示新辅助化疗组患者肿瘤细胞的 Ki-67 表达明显低于对照组，从而提示新辅助化疗可使肿瘤细胞增殖能力降低，细胞活性下降。手术刺激会使残留的肿瘤细胞增殖加速，通过术前化疗使肿瘤细胞的活性降低，从而为术后的辅助治疗赢得时间，减少了术后复发。

AI 及 Ki-67 分别代表了细胞的凋亡及增殖，是衡量肿瘤细胞活性的重要指标。细胞凋亡或增殖任何一方面的变化均可影响肿瘤细胞的活性，治疗的目的是通过各种手段加速细胞凋亡或降低细胞的增殖活性<sup>[8]</sup>。新辅助化疗可通过促进肿瘤细胞凋亡及降低其增殖活性两方面影响非小细胞肺癌的进展。通过术前化疗，AI 增高或 Ki-67 降低的乳腺癌患者较 AI 降低或 Ki-67 增高的患者预后好<sup>[9]</sup>，对于肺癌而言，新辅助化疗使 AI 增高及 Ki-67 降低可能改善非小细胞肺癌的预后<sup>[10]</sup>。

## 参考文献

- Mandziuk S, Dudzisz S, Rybacka-Chabros B, et al. Expression of p21 and bcl-2 proteins and p53 mRNA in surgically resected preparations of non-small cell lung cancer (stage IIIA) after etoposide and cisplatin chemotherapy [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2001, 39(Suppl 2): 175-176
- Junker K, Langner K, Klinker F, et al. Grading of tumor regression in non-small cell lung cancer: morphology and prognosis [J]. *Chest*, 2001, 120(5): 1584-1591
- Rosell R, Felip E, Maestre J, et al. The role of chemotherapy in early non-small-cell lung cancer management [J]. *Lung Cancer*, 2001, 34(Suppl 3): 63-74
- 彭忠民, 陈景寒, 王潍博, 等. 新辅助化疗加手术对早期非小细胞肺癌患者预后的影响 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31(15): 864-866
- Langner K, Thomas M, Klinker F, et al. Neoadjuvant therapy in non-small cell lung cancer. Prognostic impact of "mediastinal downstaging" [J]. *Chirurg*, 2003, 74 (1): 42-48
- Shiba M, Kohno H, Kakizawa K, et al. Ki-67 immunostaining and other prognostic factors including tobacco smoking in patients with resected nonsmall cell lung carcinoma [J]. *Cancer*, 2000, 89 (7): 1457-1465
- Macdonald C, Michael A, Colston K, et al. Heterogeneity of immunostaining for tumour markers in non-small cell lung carcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(3): 461-466
- Shivapurkar N, Reddy J, Chaudhary PM, et al. Apoptosis and lung cancer: A review [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(5): 885-898
- Ellis PA, Smith IE, Detsch S, et al. Reduced apoptosis and proliferation and increased Bcl-2 in residual breast cancer following pre-operative chemotherapy [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1998, 48(2): 107-116
- Junker K, Muller KM, Bosse U, et al. Apoptosis and tumor regression in locally advanced non-small cell lung cancer with neoadjuvant therapy [J]. *Pathologie*, 2003, 24(3): 214-219

(2004-11-30 收稿)

(2005-05-13 修回)

(韩豫生校对)