维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)03-0317-03

P-gp、GST-π 在大肠癌中的表达及意义

徐巧元,张幸平

(重庆医科大学附属第一医院肿瘤科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨 P- 糖蛋白(P-glycoproteins,P-gp)和谷光甘肽 -S- 转移酶 -π(Glutathione-s-transferase-π,GST-π)在大肠癌中的表达及意义。方法:应用免疫组化 MaxVision™ 二步法,检测 78 例大肠癌、31 例癌旁正常肠黏膜中 P-gp 和 GST-π 的表达。结果:P-gp、GST-π 在 78 例大肠癌组织中的阳性表达率分别为 83.3% 和 85.9%,均高于正常肠黏膜组织($P<0.05$)。P-gp 的表达与浸润深度存在正相关($P<0.05$)。P-gp、GST-π 的表达存在正相关($P<0.05$)。结论:P-gp 和 GST-π 在大肠癌中均高表达,在大肠癌原发性多药耐药中起重要作用。联合检测 P-gp 和 GST-π 在大肠癌中的表达对判断预后及临床用药有重要意义。

【关键词】大肠癌;P- 糖蛋白;谷光甘肽 -S- 转移酶 -π

【中国图书分类法分类号】R735.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-09-19

The expression and significance of P-gp and GST-π in colorectal carcinoma

XU Qiao-yuan, et al

(*Department of Oncology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To study the expression and significance of P-gp and GST-π in colorectal carcinoma. *Methods*: Immunohistochemistry was used to examine the P-gp and GST-π expression in 78 cases of colorectal carcinoma and 31 cases of normal colorectal tissues. *Results*: The positive expression rates of P-gp and GST-π in colorectal carcinoma were 83.3% and 85.9% respectively, higher than those in normal colorectal tissues. The expression of P-gp was related to the degree of invasion ($P<0.05$). Some correlation was found between P-gp and GST-π. *Conclusions*: P-gp and GST-π play important roles in the primary multidrug resistance of colorectal carcinoma. Detecting the expression of P-gp and GST-π in colorectal carcinoma has the referential significance with regard to the choice of drugs and plan in colorectal carcinoma chemotherapy.

【Key words】 Colorectal carcinoma; P-glycoproteins; Glutathione-s-transferase-π

大肠癌是我国常见的恶性肿瘤之一。联合化疗是治疗中晚期大肠癌的重要手段,能够降低患者术后局部复发率及远处转移率。大肠癌对化疗药物往往不敏感,限制化疗疗效发挥的重要因素之一就是产生了多药耐药。所谓多药耐药,即肿瘤细胞对化学结构完全不同,作用机理各异的抗癌药物产生交叉耐药的现象。其产生机理非常复杂,目前尚未完全阐明,它可由不同的机制单独或联合作用引起。本研究应用免疫组化 MaxVision™ 二步法,检测 P-gp、GST-π 在正常肠粘膜及大肠癌中的表达情况及其相关性,旨在探讨它们在大肠癌多药耐药中所起作用及它们与大肠癌生物学行为的关系,为临床化疗用药提供指导。

作者介绍:徐巧元(1971-),女,主治医师,硕士,研究方向:肿瘤化疗。

通讯作者:张幸平,女,教授,E-mail:zhang.xinping@163.com。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集我院 2002 年 1 月 ~ 2007 年 5 月手术切除的术前未经化疗的大肠癌标本 78 例。男性 42 例,女性 36 例,年龄 30 ~ 86 岁,平均年龄 58 岁。根据大肠癌的 TNM 临床分期(UICC 1997)分为:Ⅰ期 20 例,Ⅱ期 37 例,Ⅲ期 15 例,Ⅳ期 6 例。侵润深度:T_1 1 例,T_2 21 例,T_3 39 例,T_4 17 例。淋巴结转移:N_0 61 例,N_1 7 例,N_2 10 例。同时收集 31 例癌旁正常肠粘膜组织作为正常对照组。

1.2 试剂与方法

采用免疫组织化学 MaxVision™ 二步法。鼠抗人 P170/P-

维普资讯 http://www.cqvip.com

糖蛋白 /MDR 单克隆抗体，鼠抗 GST-π 免疫组化单克隆抗体，即用型快速免疫组化 MaxVision™ 试剂盒，DAB 显色剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司。用已知染色阳性的大肠癌组织切片作阳性对照，PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断

光镜下以细胞浆/膜或核中出现粗细一致的棕黄色颗粒为阳性染色，根据切片中阳性细胞的百分比分为阴性（无阳性细胞染色），弱阳性（阳性细胞 1%～5%），阳性（阳性细胞 26%～50%），强阳性（阳性细胞 >50%）。

1.4 统计学处理

采用 SAS 统计软件进行统计学处理。两组阳性率的比较采用 χ^2 检验，大肠癌中 P-gp、GST-π 在男、女之间表达的差异用 Wilcoxon 秩和检验，与其它临床病理特征的关系采用 Spearman 相关分析。

2 结 果

2.1 P-gp 在正常肠黏膜及结肠癌、直肠癌中的表达

P-gp 阳性染色定位于细胞膜和细胞浆上（图 1）。本实验大肠癌 P-gp 的阳性率为 83.3%（65/78），正常肠粘膜的阳性率 54.8%（17/31）。卡方检验分析示 P-gp 在结肠癌组织中的表达显著高于正常肠组织（$P<0.05$）。Wilcoxon 秩和检验，大肠癌中 P-gp 的表达在男、女之间无统计学差异。Spearman 秩相关分析示 P-gp 在大肠癌中的表达与年龄、临床分期、淋巴结转移无关（$P>0.05$），与侵润深度存在正相关（见表 1）。

2.2 GST-π 在正常肠粘膜及大肠癌中的表达

GST-π 阳性染色定位于细胞浆（图 2）。本实验大肠癌 GST-π 的阳性率为 85.9%（67/78），正常肠粘膜的阳性率为 90.3%（28/31）。卡方检验分析示两组总体阳性率无差别（$P>0.05$）。Wilcoxon 秩和检验示大肠癌中 GST-π 的表达在男、女之间无统计学

表 1 P-gp 和 GST-π 在大肠癌组织及正常黏膜中的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	P-gp 阳性表达（例）				统计量	GST-π 阳性表达（例）				统计量
		−	+	++	+++		−	+	++	+++	
正常肠粘膜	31	3	11	4	13	$\chi^2=9.67$	1	2	9	19	$\chi^2=0.09$
大肠癌	78	5	8	20	45		4	7	10	57	
性别						$Z=-0.55$					$Z=0.25$
男	42	1	5	11	25		3	2	7	30	
女	36	4	3	9	20		1	5	3	27	
年龄						$r_s=-0.03$					$r_s=0.19$
<50	13	1	1	3	8		1	1	3	8	
50~70	39	2	5	9	23		2	6	4	27	
>70	26	1	2	9	14		1	0	3	22	
临床分期						$r_s=0.22$					$r_s=0.18$
Ⅰ	20	2	4	6	8		2	2	6	10	
Ⅱ	37	0	3	12	22		3	2	2	30	
Ⅲ	15	1	1	2	11		0	1	2	12	
Ⅳ	6	1	0	1	4		0	2	0	4	
侵润深度						$r_s=0.24$					$r_s=0.19$
T_1	1	0	1	0	0		0	0	1	0	
T_2	21	2	3	6	10		1	2	5	13	
T_3	39	1	4	12	22		3	4	2	30	
T_4	17	1	0	3	13		0	1	2	14	
淋巴结转移						$r_s=0.07$					$r_s=0.05$
N_0	61	1	8	19	33		4	6	8	43	
N_1	7	0	0	1	6		0	0	1	6	
N_2	10	2	1	1	6		0	2	1	7	

*++ 以上为阳性

维普资讯 http://www.cqvip.com



图 1 P-gp 在大肠癌中的强阳性表达
(MaxVision™ 二步法,×10)

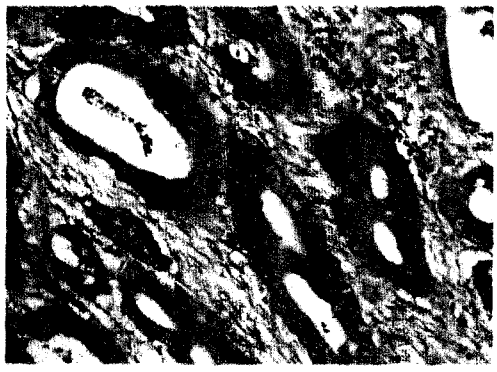


图 2 GST-π 在大肠癌中的强阳性表达
(MaxVision™ 二步法,×10)

差异。Spearman 秩相关分析示 GST-π 在大肠癌中的表达与年龄、临床分期、侵润深度、淋巴结转移无关(P>0.05)(见表 1)。

2.3 P-gp 和 GST-π 间的相关性

Spearman 相关分析示 P-gp 的表达和 GST-π 的表达相关,两组存在正相关(r_s=0.44,P<0.001)。

3 讨 论

3.1 P-gp 及其介导的多药耐药

大肠癌是 P-gp/MDR1 表达水平及频率最高的肿瘤之一。编码 P-gp 的基因称为 mdr1 基因,位于 7q211,属于多药耐药基因组成员。该基因表达的蛋白是属于 ABC(ATP-binding cassette)家族的转运因子,是一种跨膜糖蛋白,由 1 280 个氨基酸残基组成。氨基端与羧基端两段氨基酸序列对称,同源性达 78%,每一部分各有 6 个 α —螺旋横跨细胞膜和 1 个胞内 ATP 结合点,分子量为 170ku[1,2]。P-gp 的 2 个亲水结构域各含 1 个 ATP 结合位点[3]。多药耐药发生的机制十分复杂,其中,多药耐药基因 mdr1 编码的 P- 糖蛋白高表达是耐药的主要机制。mdr1 表达产物 P-gp 是具有能量依赖性"药泵"功能的跨膜糖蛋白,可将带正电荷的疏水亲脂性的化疗药物泵出细胞外从而出现耐药特性[4]。研究表明,P-gp 水平随 mdr1 基因扩增及 mRNA 增加而增加,细胞耐药性亦随之增加。P-gp 可能同时存在多种药物结合点,因而具有多种药物泵出功能。P-gp 的表达与蒽环类化合物、长春碱类、紫杉醇类和鬼臼毒素类、放线菌素 D 的耐药相关[3]。大量研究显示 P-gp 高表达伴随肿瘤预后不良,可作为肿瘤患者预后评价指标[5]。

本实验 78 例大肠癌中 65 例阳性,阳性率为 83.3%,31 例正常肠粘膜中 17 例阳性,阳性率 54.8%。P-gp 在大肠癌组织中的表达显著高于正常肠组织。这提示 P-gp 高表达是引起大肠癌多药耐药的原因之一。

3.2 GST-π 及其介导的多药耐药

谷胱甘肽转移酶是由 2 个同源或异源二聚体组成的超基因家族,到目前为止,共发现 5 类,即 α、μ、π、ζ、θ。其中 4 种在胞质中,另一种为结合于胞膜的微粒体[6]。在各种 GST 中,GST -π 活性占 90%,主要分布于泌尿系统、消化系统及呼吸道上皮。Shen 等[7]研究发现 GST-π 的功能在于催化各种内外源性亲电子物质如白三烯,及某些抗癌药物与 GSH 结合形成 GSH- 药物结合物(GSH-X),然后由跨膜存在的 GSH-X 泵类(如 MRP)泵出细胞外或改变其胞内分布,从而降低药物在细胞内的有效蓄积,使肿瘤对某些抗癌药物敏感性降低,最终导致多药耐药。GST-π 本身亦可与亲脂性药物结合,使其水溶性增加,更易排出体外,它还具有过氧化物酶活性,从而有力地减少抗癌药物的损害,导致细胞对化疗药物耐药,并可保护正常细胞免受细胞毒药物的损害。

本实验 78 例大肠癌中 67 例阳性,阳性率为 85.9%,31 例正常肠粘膜中 28 例阳性,阳性率90.3%,两组总体阳性率无差别(P>0.05),这提示 GST -π 亦是引起大肠癌原发耐药的因素之一,它可能在大肠癌原发耐药中起重要作用。并且 GST-π 在正常肠粘膜中阳性率高达 90.3%,表明 GST-π 在保护正常肠粘膜免受毒物损害方面发挥重要作用。

GST-π 的过度表达与肿瘤对烷化剂、阿霉素、铂类及丝裂霉素等药物的耐药明显相关,与长春碱

(下转第 381 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

[3] Hamahata N,Nagino M,Nimura Y. APACHEIII,unlike APACHEII,predicts posthepactectomy mortality in patients with biliary tract carcinoma[J]. Crit Care Med,1998;26(10):1671.

[4] Poon RT,Fan ST,Lo CM,et al. Improving perioperative outcome expands the role of hepatectomy in management of benign and malignant hepatobiliary diseases:analysis of 1 222 consecutive patients from a prospective database[J]. Ann Surg,2004;240(4):698.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 319 页)

耐药无关。故对于 GST-π 阳性表达的病人,在选择化疗药物时,应尽量避免使用环磷酰胺、阿霉素及顺铂等药物,而应选择长春碱类药物[8]。

另外,本实验显示 P-gp 在大肠癌中的表达与肿瘤侵润深度存在正相关,与临床分期越晚化疗效果越差相符。P-gp 和 GST-π 在大肠癌中的表达与性别、年龄、临床分期、淋巴结转移无关。P-gp 和 GST-π 的表达存在正相关,联合检测 P-gp 和 GST-π 在大肠癌的表达对判断预后及临床用药有重要意义。

参 考 文 献

[1] Jason A,Bush,Gang Li.Cancer chemoresistance:The relationship between P53 and multidrug transporters[J]. Int. J. Cancer,2002;98(3):323-327.

[2] Gregory D,Leonard,Tito F,et al. The role of ABC transporters in clinical practice[J]. The Oncologist,2003;8(5):411-416.

[3] Chang G.Multidrug resistance ABC transporters[J]. FEBS Letters,2003;555(1):102-105.

[4] Ricardo PT. Multidrug resistance retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment[J]. Current Medicinal Chemistry,2006;13(16):1859-1863.

[5] Stein W D,Bates S E,Fojo T. Intractable cancer:The many faces of multidrug resistance and the many targets it presents for therapeutic attack[J]. Current Drug Targets,2004;5(4):333-336.

[6] Carla F.Glutathione transferases in the genomics era: New insights and perspectives [J]. Biomolecular Engineering,2006;23(4):149-169.

[7] McIlwain CC,Townsend DM,Tew KD. Glutathione S-transferase polymorphisms: cancer incidence and therapy[J]. Oncogene,2006;25(11):1639-1648.

[8] 张 燕,金先庆,赵珍珍,等.5 种耐药基因在成人常见恶性肿瘤中的表达特点[J]. 重庆医科大学学报,2007;32(10):1023-1027.

(责任编辑:冉明会)

(上接第 348 页)

行孕期保健指导,让孕妇适当控制营养的摄入,改变不良的饮食习惯,适量的运动,定期产前检查,控制体质量的增幅,预防巨大儿的发生。

参 考 文 献

[1] 李 辉,于 洋,夏秀兰,等. 出生体重与儿童期肥胖[J]. 中国儿童保健杂志,2002;10(3):145.

[2] Ogden CL,Troiano RP,Briefel RR,et al. Prevalence of overweight among preschool children in the United States,1971 through 1994[J]. Pediatrics,1997;99(4):635.

[3] Hediger ML,Overpeck MD,McGlynn A,et al. Growth and fatness at three to six years of age children born smaller large-for-gestational age[J]. Pediatrics,1999;104(1):33.

[4] 司利钢,白馨芝,李 芳.单纯性肥胖儿童的血压和血脂与脂肪肝的关系[J]. 中国优生与遗传杂志,2002;10(3):114.

[5] 王 丽.巨大胎儿对母婴影响的相关因素分析[J]. 中国误诊学杂志,2005;7(5):1248-1249.

[6] 叶 丹,陈全娘.孕妇体重指数与新生儿体重及分娩方式关系的探讨[J].实用医学杂志,1997;10(13):651-652.

[7] 熊 庆,梁家智.正常孕妇体重增加监测模式[J]. 中华妇产科杂志,1998;33(3):142.

[8] 孙宝治,李 娟.妇女孕前身高、体重及孕期体重增加对妊娠结局的影响[J]. 中华妇产科杂志,1998;33(2):71.

[9] 杜丽敏.特大胎儿 191 例分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志,1997;13(3):169

(责任编辑:谭乐勤)

(上接第 378 页)

to myocardial bridging and atherosclerosis:intracoronary ultrasound and pressure measurements[J]. Br Heat J,1995;73(5):462-465.

[6] 张国辉,葛均波,王克强,等.心肌桥对冠状动脉内皮细胞形态和动脉粥样硬化的作用[J]. 中华心血管杂志,2003;31(4):293-295.

[7] Kodama K,Morika N,Hara Y,et al. Coronary vasospasm at the site of myocardial bridge-report of two cases[J]. Angiology,1998;49(8):659-663.

[8] 刘 新. 冠状动脉 CTA 诊断心肌桥的临床价值[J]. 中国医学影像学杂志,2006;14(4):262-265.

(责任编辑:冉明会)