维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)08-0931-04

多药耐药相关蛋白和P-糖蛋白在口腔鳞癌中的表达及其对新辅助化疗敏感性的预测研究

杨 凯,陈 睿,孙德平,张国栋,梅 杰

(重庆医科大学附属第一医院口腔颌面外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨新辅助化疗前后 P- 糖蛋白(P-glycoprotein,P-pg)和多药耐药相关蛋白 1(Multiple resistance-associated protein-1,MRP1)在口腔鳞癌组织中的表达及其与化疗敏感性和相关临床病理因素的关系。方法:采用 SP 免疫组化法,对 106 例口腔鳞癌患者新辅助化疗前后 P-pg 和 MRP1 的表达水平进行检测,分析其表达水平与化疗疗效的关系。结果:(1)化疗后口腔鳞癌组织中 P-pg 阳性表达率为 74.53%,显著高于化疗前 41.51%($P<0.05$);化疗前 P-pg 表达阴性患者有效率为 56.45%,显著高于 P-pg 表达阳性患者的有效率 34.09%($P<0.05$);P-pg 的表达水平与口腔鳞癌的分化程度呈正相关($P<0.05$),但与临床分期和是否有颈淋巴结转移不相关 ($P>0.05$);(2)MRP1 在口腔鳞癌组织中的阳性表达率在化疗前后分别为 49.06%、57.55%,两者间无显著性差异($P>0.05$);化疗前 MRP1 表达阴性患者和阳性患者的有效率分别为 50.00%、44.23%,两者间无显著性差异($P>0.05$);MRP1 的表达水平与口腔鳞癌的分化程度、临床分期和颈淋巴结转移均不相关($P>0.05$)。结论:P-pg 和 MRP1 在口腔鳞癌组织中均有较高的表达水平,但只有 P-pg 的表达水平与新辅助化疗疗效具有显著的相关性,认为 P-pg 的表达水平可作为预测口腔鳞癌对化疗敏感性的分子标记物。

【关键词】新辅助化疗;多药耐药相关蛋白;P- 糖蛋白;口腔鳞癌

【中国图书分类法分类号】R782 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-11-07

Expression of multiple resistance-associated protein and P-glycoprotein in oral squamous cell carcinoma for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy

YANG Kai, et al

(*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expression of Multiple resistance-associated protein-1(MRP1) and P-glycoprotein(P-pg) in oral squamous cell carcinoma(OSCC) before and after neoadjuvant chemotherapy(NACT) and its relation with tumor chemosensitivity and related clinical pathological factors. *Methods*: The specimens of 106 patients with OSCC before and after NACT were examined by SP immunohistochemistry. The correlation between P-pg and MRP1 expression and therapeutic effect was analyzed. *Results*: (1)P-pg positive expression rate in OSCC after NACT was 74.53%, which was significantly higher than thatbefore NACT (41.51%)($P<0.05$); the effective rate of patient with P-pg negative expression before chemotherapy was 56.45%, which was significantly higher than that of patient with P-pg positive expression(34.09%)($P<0.05$); P-pg expression levels were positively relative to the differentiation of the tumor($P<0.05$), but not relative to clinical stages and cervical lymph node metastasis($P>0.05$); (2)MRP1 positive expression rates in OSCC before and after NACT were 49.06%、and 57.55% respectively and the difference was not significant($P>0.05$); the effective rates of patient with MRP1 negative expression in OSCC before chemotherapy were 50.00% and 44.23% respectively and the difference was not significant($P>0.05$); MRP1 expression levels were not relative to clinical stages, differentiation of the tumor or cervical lymph node metastasis($P>0.05$); *Conclusion*: P-pg and MRP1 have high expression in primary oral squamous cell carcinoma, hut only P-pg expression levels are significantly associated with response to chemotherapy and it can be used as a predictive marker of the sensitivity to chemotherapy in patients with OSCC.

【Key words】 Neoadjuvant chemotherapy; Multiple resistance-associated protein(MRP); P-glycoprotein(P-pg); Oral squamous cell carcinoma

作者介绍:杨 凯(1965-),男,主任医师,博士,

研究方向:口腔颌面-头颈肿瘤临床及相关基础研究。

基金项目:重庆市科委应用基础研究项目(2003-43)、重庆市卫生局科研项目(2-073)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

目前对口腔鳞癌公认疗效最理想的治疗方案是:术前诱导化疗(新辅助化疗)+ 手术 + 术后放疗(或术后化疗或免疫治疗),新辅助化疗有效者能显著提高口腔鳞癌术后生存率[1]。但肿瘤细胞对化疗药物产生的多药耐药常导致化疗失败,其中 P-pg 和 MRP1 是 2 个重要的与多药耐药有关的糖蛋白[2,3],本研究通过观察口腔鳞癌在行新辅助化疗前、后其癌组织中 P-pg 和 MRP1 表达水平的变化,探讨化疗疗效与 P-pg 和 MRP1 表达水平的关系,为临床个体化合理用药提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 病例资料

我院口腔颌面外科 2001 年 9 月至 2005 年 6 月收治的 T3 ~ T4 口腔鳞癌患者 106 例,并符合以下条件:①未经化疗、放疗等治疗的初诊患者;②均经病理学确诊;③均给予以卡铂为基础的联合化疗(56 例为 CPM 方案:卡铂 300mg/㎡ iv d_1,平阳霉素 8mg iv $d_{2,4,6,8}$,氨甲碟呤 30mg/m²iv $d_{1,5}$;50 例为CF 方案:卡铂 300mg/m² iv d_1,5- 氟脲嘧啶 500mg/㎡ iv $d_{1,2,3,4,5}$),均完成 2 个新辅助化疗疗程;④化疗前血尿常规、心电图、胸透、肝肾功能检查无明显异常,Karnofsky 评分 > 70;男性 65 例,女性 41 例,年龄 27~81 岁,平均年龄 57.6 岁;分化程度:高分化 57 例,中分化 30 例,低分化 19 例;临床分期:Ⅱ期 31 例,Ⅲ期 51 例,Ⅳ期 24 例;颈淋巴结转移情况:有颈淋巴结转移 39 例,无颈淋巴结转移 67 例。所有患者完成 2 个化疗疗程后 1 ~ 2 周行手术治疗(2 疗程间隔 2 ~ 3 周)。

1.2 化疗疗效评价

所有病例均完成 2 个化疗疗程 1 ~ 2 周后评价其疗效,按 WHO 疗效判定标准评价[4,5],分为 4 级:(1)完全缓解(CR):肿瘤临床完全消失或病理检查阴性;(2)部分缓解(PR):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值缩小 50%以上;(3)无效(NR):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值缩小不及 50%或增大小于 25%;(4)恶化(NC):肿瘤病灶最大两垂直直经之乘积值增大 25%以上。其中 CR 和 PR 称为有效病例。

1.3 P-pg 和 MRP1 免疫组化检测及结果判定

留取化疗前部分活检组织和化疗后手术切除的部分癌组织标本,用 10%中性福尔马林固定后常规石蜡包埋、切片(片厚为 5μm)。免疫组化染色采用 SP 法,一抗单克隆抗体分别是鼠抗人 P-pg 单抗和 MRP1 单抗(美国 Maxim 公司产品),实验严格按 SP 和 DAB 试剂盒(美国 Maxim 公司产品)说明书进行操作。阴性对照用 PBS 液代替一抗,其余试剂和操作步骤相同。免疫组化结果判定:P-pg 和 MRP1 阳性细胞均为分布在胞浆和胞膜上的棕黄色颗粒细胞,根据切片中阳性细胞的百分比分为阴性(< 10%)、阳性(≥10%)。

1.4 统计学方法

采用 χ^2 检验,$P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 新辅助化疗前、后 P-pg 和 MRP1 在口腔鳞癌中的表达比较

化疗后 P-pg 在口腔鳞癌中阳性表达率显著高于化疗前($P < 0.05$);MRP1 在口腔鳞癌中的阳性表达率在化疗前、后无显著性差异($P > 0.05$),见表 1。

2.2 P-pg 和 MRP1 在新辅助化疗前的表达水平与化疗疗效的关系

化疗前口腔鳞癌 P-pg 表达阴性患者有效率显

表 1 P-pg 和 MRP1 在化疗前、后口腔鳞癌中的表达比较

	病例数	P-pg		MRP1	
		阳性率	阴性率	阳性率	阴性率
化疗前	106	44(41.51%)	62(58.49%)	52(49.06%)	54(50.94%)
化疗后	106	79(74.53%)	27(25.47%)	61(57.55%)	45(42.45%)

表 2 P-pg 和 MRP1 化疗前的表达水平与化疗疗效的关系

项目	表达情况	例 数	疗 效			有效率%
			CR	PR	NR	(CR+PR)
P-pg	阳性	44	0	15	29	34.09%
	阴性	62	1	34	27	56.45%
MRP1	阳性	52	0	23	29	44.23%
	阴性	54	1	26	27	50.00%

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 P-pg 和 MRP1 在化疗前的阳性表达水平与口腔鳞癌临床病理因素的关系

临床病理因素		例数	P-pg 阳性率(%)	MRP1 阳性率(%)
分化程度	高分化	57	50.88(29/57)	50.88(29/57)
	中分化	30	36.67(11/30)	46.67(14/30)
	低分化	19	21.05(4/19)	47.37(9/19)
临床分期	Ⅱ期	31	38.71(12/31)	45.16(14/31)
	Ⅲ期	51	43.14(22/51)	49.02(25/51)
	Ⅳ期	24	41.67(10/24)	54.17(13/24)
颈淋巴结转移	有	39	38.46(15/39)	46.15(18/39)
	无	67	43.28(29/67)	50.75(34/67)

※ P-pg 与分化程度显著相关($P<0.05$); 其余($P>0.05$)

著高于 P-pg 表达阳性患者的有效率($P<0.05$);化疗前口腔鳞癌 MRP1 表达阴性患者和阳性患者的有效率无显著性差异($P>0.05$),见表 2。

2.3 P-pg 和 MRP1 的表达水平与口腔鳞癌临床病理因素的关系

P-pg 的表达水平与口腔鳞癌的分化程度显著相关($P<0.05$),但与临床分期和是否有颈淋巴结转移不相关($P>0.05$);MRP1 的表达水平与口腔鳞癌的分化程度、临床分期和颈淋巴结转移均不相关($P>0.05$),见表 3。

3 讨 论

化疗是治疗口腔鳞癌的主要手段之一,新辅助化疗(术前诱导化疗)有效者能显著地提高口腔鳞癌术后生存率[1]。然而肿瘤细胞的耐药性常可导致化疗失败,无效的化疗不仅不能获得治疗疗效,而且可能延误病人的手术治疗时间和带来毒副作用,如何个体化地预测肿瘤对化疗药物的敏感性一直是临床医师所关注的重要问题。目前研究证实[2,3]:由多种基因介导的多药耐药是肿瘤细胞产生耐药性的重要原因,其中 P-pg 和 MRP1 是 2 个重要的与多药耐药有关的糖蛋白。

P-pg 是一种由多药耐药基因编码的位于细胞膜上分子量为 170ku 的跨膜糖蛋白,它能将不同的化疗药物从肿瘤细胞内泵出,致使癌细胞内药物浓度降低而产生耐药。本研究显示:P-pg 在未行化疗的口腔鳞癌中其内源性耐药阳性表达率为 41.51%,经卡铂为基础的联合化疗 2 疗程后,由于药物的诱导作用,阳性表达率上升为 74.53%($P<0.05$),这合符我们在临床上常见到的在多次化疗后肿瘤表现出敏感性逐渐降低的现象;化疗前口腔鳞癌 P-pg 表达阴性患者的有效率为 56.45%,显著高于 P-pg 表达阳性患者的有效率 34.09%($P<0.05$),这提示 P-pg 的表达水平可作为预测口腔鳞癌对化疗药物敏感性的分子标记物之一;在高分化口腔鳞癌组织中 P-pg 的表达水平显著高于低分化口腔鳞癌组织,这与临床上常观察到的低分化口腔鳞癌常比高分化口腔鳞癌对化疗更敏感相符合;本研究还表明 P-pg 的表达水平与口腔鳞癌患者的临床分期和是否有颈淋巴结转移无关($P>0.05$)。

MRP 基因定位于人染色体 16P13.1 区,在肿瘤细胞中,MRP1 蛋白是位于细胞膜上相对分子质量为 190 000ku 的糖蛋白,它与 P-pg 同为 ATP 结合的盒式膜转运蛋白家族成员,目前对 MRP1 的研究远不如 P-pg 深入,但大多数学者认为 MRP1 介导的耐药机制与 P-pg 相似[6]。本研究显示:化疗前、后 MRP1 在口腔鳞癌中的阳性表达率分别为 49.06%、57.55%,两者间无显著性差异($P>0.05$);MRP1 在口腔鳞癌中的阳性表达患者和阴性表达患者其化疗疗效分别为 44.23%、50.00%,两者间无显著性差异($P>0.05$),这表明 MRP1 表达水平与化疗疗效无关,提示 MRP1 的表达水平不能预测口腔鳞癌对化疗药物的敏感性;本研究还证实 MRP1 的表达水平与口腔鳞癌的分化程度、临床分期和是否有颈淋巴结转移均不相关。

参 考 文 献

[1] 杨 凯,李雅冬,张福军,等.新辅助化疗对 OSCC 患者生存率和生存质量影响的研究[J]. 临床口腔医学杂志,2007;23(1):41-42.

(下转第 1015 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

们建议采用直血管钳可能比鼠齿钳更适宜。和直血管钳比较，鼠齿钳有操作臂长，探查范围广，钳夹面积大，前端较钝不易导致膀胱穿孔等优点，所需费用和直血管钳相当，成功率和花费时间均稍优于后者，对于女性留置双J管取管患者，不失为一种简便有效的方法。

参 考 文 献

[1] Ren Hobart MG,Streem SB,Gill IS. Renal transplant complications.Minimally invasive management[J]. Urol Clin North Am, 2000;27(3):787-798.

[2] 顾 炜,徐耀庭,黄汝强,等. 放置双J管治疗孕妇输尿管结石并发顽固性肾绞痛15例报告[J]. 中华泌尿外科,2006;27(11):742-744.

[3] 吕建军.经女性尿道钳取法拔除输尿管内双J管的临床应用[J].实用全科医学,2005;3(6):501-502.

[4] 张 胜.女性双J管两种拔取方法的临床分析[J]. J Modern Urol, 2005;10(11):24.

[5] 郭小峰,李经身,唐昌明.双J管缝线取出女性术后内引流管[J].临床泌尿外科杂志,2004;19(1):49.

[6] 黄海鹏,孟栋梁,林 伟,等.女性适用的B超引导下双J管取出方法[J]. 临床泌尿外科杂志,2004;19(5):296.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 933 页)

[2] Ueda K,Yoshida A,Amachi T.Recent progress in P-glycoprotein research[J]. Anticancer Drug Des,1999;14(2):115-121.

[3] Benderra Z,Trussardi A,Morjani H,et al.Regulation of cellular glutathion modulates nuclear accumulation of daunorubicin in human MCF7 cells overxpressing multidrug resistance associated protein[J]. Eur J Cancer,2000;36(3):428-434.

[4] 杨 凯,陈 睿,喻秀丽.口腔癌时辰化疗[J]. 实用口腔医学杂志,2005;21(3):389-391.

[5] 杨 凯,张福军,李雅冬,等.时辰新辅助化疗治疗老年人口腔鳞癌的临床研究[J].中华老年口腔医学杂志,2005;3(1):23-25.

[6] Stride BD,Valdimarsson G,Cerlach JH,et al.Structure and expression of the messenger RNA encoding the murine multidrug resistance protein,an ATP-binding cassette transporter[J]. Mol Pharmacol,1996;49(6):962-971.

(责任编辑:谭乐勤)

(上接第 1012 页)

性发作其临床效果明确，可作为控制慢性喘息型支气管炎急性发作时的一种辅助治疗方法，但不可忽视慢性支气管炎致病因素的治疗，同时利多卡因的毒性作用亦应引起重视。但因本研究样本量不大的限制，所得结论还需要更大样本研究加以证实。

参 考 文 献

[1] Groeben H,Silvanus MT,Beste M,et al. Both intravenous and inhaled lidocaine attenuate reflex bronchoconstiriction but at different plasma concentrations [J]. Am J Respir Crit Care Med,1999;159:530-535.

[2] Hunt LW,Frigas E,Butterfield JH,et al. Treatment of asthma with nebulized lidocaine:A randomized,placebo-controlled study[J]. J Allergy Clin Immunol,2004;113:853-859.

[3] 张 洁,孙秀珍,刘 昀,等.利多卡因治疗支气管哮喘急性发作疗效观察[J]. 广东医学,2003;24(8):884-885.

[4] 刘春江,张江宇,蔡小灵. 利多卡因雾化吸入对哮喘急性发作疗效的临床观察[J]. 国际医药卫生导报,2006;12(2):26-27.

[5] 陈文彬,慢性阻塞性肺病.呼吸病学[J]. 人民卫生出版社,2003;1:880.

[6] Ohnishi T,Kita H,Mayeno AN,et al. Liolocaine in bronchoalveolarlarage fluial(BALF)is an inhibitor of eosinophil-active cytokines[J]. Clin Exp Immunol,1996;104(2):325.

[7] Decco ML,Neeno TA,Hunt LW,et al. Nebulized lidocaine in thetreatment of severe asthma in children:a pilot study[J].Ann Allergy Asthma Immunol,1999;82:29-32.

[8] 顾经宇,殷凯生,孙培莉,等.吸入利多卡因治疗支气管哮喘的可行性探讨[J]. 临床内科杂志,2002;19(5):342-344.

[9] Chang HYS,Togias A,Brown RH. The effects of systemic lidocaine on airway tone and pulmonary function in asthmatic subjects [J]. Anesth Analg,2007;104(5):1109-1115.

(责任编辑:冉明会)