维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2004)06-0786-03

放射治疗对鼻咽鳞癌 P 糖蛋白的影响

刘 宇[1], 张幸平[1], 陈鸿雁[2], 邓红彬[1], 徐 曼[3], 李圆圆[3]

(重庆医科大学临床学院,1.肿瘤科;2.耳鼻喉科;3.重庆医科大学基础医学院病理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:初步探讨鼻咽鳞癌多药耐药基因(mdr-1)产物 p-糖蛋白(pgp)在放疗前、后的表达及其临床意义。方法:应用免疫组化 SP 法单克隆抗体 JSB-1 检测 48 例初治的鼻咽鳞癌患者放疗前及放疗后 pgp 的表达。结果:鼻咽鳞癌组织在放疗前 pgp 阳性表达率为 18.75%(9/48),放疗后 pgp 阳性表达率为 75.00%(36/48)。放疗后 pgp 阳性率和放疗前相比有显著性差异($P<0.001$)。结论:放射治疗明显地诱导或加强鼻咽鳞癌组织中 pgp 表达,这可能是引起放、化疗交叉耐药的原因之一。

【关键词】鼻咽癌/放射治疗;多药耐药性;P-糖蛋白;免疫组织化学

【中国图书分类法分类号】R739.63 【文献标识码】A 【收稿日期】2004-03-31

Effect of radiotherapy on P-glycoprotein expression in nasopharyngeal squamous carcinoma

LIU Yu, et al

(*Department of Oncology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate preliminarily the expression of P-glycoprotein(pGp), a multi-drug resistance gene-1 product, in patients with nasopharyngeal squamous carcinoma(NPSC) before and after radiotherapy. *Methods*: pGp was detected by immunohistochemistry with one monoclonal antibody JSB-1 before and after radiotherapy in fourty-eight patients with NPSC. None of them had received neoadjuvant chemotherapy or radiotherapy. *Results*: The positive rate of pGp expression in the patients with NPSC before radiotherapy was 18.75%(9/48). But the positive expression rate of pGp after radiotherapy was 75.00%(36/48). pGp expression rate after radiotherapy was significantly higher than that before radiotherapy($P<0.001$). *Conclusion*: pGp expression in NPSC is significantly induced by radiation and radiotherapy increases the overexpression of pGp. Also radiotherapy may be one of the reasons for resistance to chemotherapy after radiotherapy.

【Key words】Nasopharyngeal carcinoma/Radiotherapy; Multi-drug resistance; P-glycoprotein; Immunhistochemistry

化疗药物可以诱导肿瘤细胞多药耐药基因(mdr-1)过度表达 p 糖蛋白(p-glycoprotein,pgp 或 P170)而产生耐药性,导致化疗失败。在肿瘤综合治疗中常采用的放射治疗是否对 mdr-1 的表达有影响,国内外尚少有报道。体外实验已经证实放射治疗可以诱导肿瘤细胞株的 mdr-1 过度表达[1~4]。笔者应用免疫组织化学 SP 法检测了 48 例初治的鼻咽鳞癌患者放射治疗前、后鼻咽部活检组织标本中 pgp 的状况,旨在初步探讨放射治疗对鼻咽鳞癌 mdr-1 的影响,间接推测放射治疗对鼻咽鳞癌患者后续化疗的影响。

作者介绍:刘 宇(1974-),男,住院医师,硕士,主要研究方向:肿瘤综合治疗。

1 材料和方法

1.1 研究对象

2001 年 3 月至 2002 年 8 月共收初治的鼻咽鳞癌患者 80 例,于放射治疗前及放射至 2/3 根治剂量时取鼻咽部活检。其中放射治疗后病理阳性者 53 例,有 5 例因活检组织太少或染色太重而被剔除,故最后得到 48 例放射治疗前、后共 96 份鳞癌组织标本。另取鼻咽部慢性炎症组织 10 例作为对照。

1.2 放射治疗

选用$^{60}C_o\gamma$射线或 6MV-X 射线进行常规分割外放射治疗。鼻咽部放疗 D_T64Gy~74Gy/32 次~37 次/6.5~7.5 周。颈部及锁骨上区行预防性放射治疗 D_T50Gy~54Gy/25 次~27 次/5.0~5.5 周。如果有颈部淋巴结转移者,再局部缩小野加量放射达根治量。

维普资讯 http://www.cqvip.c

1.3 免疫组织化学染色(SP 法)

每例均行 pgp 的免疫组织化学及常规 HE 染色,所用 SP 试剂盒及抗体均购自福州迈新生物技术有限公司。由专人采用双盲法阅片,光学显微镜高倍视野下以细胞浆或膜出现浅黄色、棕黄色颗粒而细胞核无着色者为阳性染色。随机选择 5 个视野,每个视野计数至少 200 个细胞,阳性细胞数≥10%者为 pgp 表达阳性,<10%者为 pgp 表达阴性[5]。

1.4 近期疗效评价

于放射治疗结束 3 月后进行。包括复查间接鼻咽镜或纤维鼻咽镜、鼻咽及颅底 CT 检查等。按实体瘤的疗效标准,近期疗效分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)及无明显变化(NC)。

1.5 统计学处理

实验结果采用 SAS 系统分析软件进行分析,所有数据均采用 Fisher's 精确概率法检验。

2 结 果

2.1 放射治疗前后鼻咽鳞癌组织中 pgp 表达:见表 1

表 1 放射治疗前后 p 糖蛋白的表达情况

病理类型	例数	放射治疗前		P 值	放射治疗后		P 值
		阳性数	阳性率(%)		阳性数	阳性率(%)	
低分化鳞癌	34	6	17.65	1.000*	27	79.41	0.294*
中高分化鳞癌	14	3	21.43		9	64.29	
合计	48	9	18.75		36	75.00	<0.001**

注:*低分化鳞癌与中高分化鳞癌比较;**放射治疗前、后比较

表 2 放射治疗前后 p 糖蛋白的表达与近期疗效

近期疗效	例数	放射治疗前		P 值	放射治疗后		P 值
		阳性数	阴性数		阳性数	阴性数	
完全缓解	19	5	14	0.450	15	4	0.440
部分缓解	29	4	25		21	8	

从表 1 中可以看出,放疗前 pgp 在鼻咽低分化、中高分化鳞癌中的阳性表达率分别为 17.65%(6/34)、21.43%(3/14),经统计学分析,两者之间无显著性差异($P=1.000$)。放疗后 pgp 在鼻咽低分化、中高分化鳞癌中的阳性表达率分别为 79.41%(27/34)、64.29%(9/14)。经统计学分析,两者之间亦无显著性差异($P=0.294$)。以上结果提示鼻咽鳞癌细胞的分化程度与 pgp 表达无关。但放疗前总的 pgp 表达阳性率为 18.75%(9/48),放疗后升高为 75.00%(36/48)。经统计学分析,两者之间存在显著性差异($P<0.001$)。此结果提示放疗后鼻咽癌组织中的 pgp 阳性表达率明显增高,并且放疗后 pgp 阳性表达强度较放疗前呈增高趋势。

2.2 pgp 表达与鼻咽鳞癌近期疗效:见表 2

从表 2 可看出放疗前、放疗后鼻咽癌组织中 pgp 的表达状况与患者的近期疗效(CR 和 PR)之间无明显相关性($P>0.05$)。

3 讨 论

肿瘤细胞对化疗药物产生耐药的方式有很多,其中,以多药耐药性(multi-drug resistance, MDR)较常见。pgp 是一种分子量为 170kD 的糖蛋白,它的过度表达是 MDR 的主要机制之一。分子生物学的研究表明,pgp 是一种能量依赖性药物排出泵,一旦与化疗药物结合后,可通过 ATP 供应能量而将药物从细胞内泵出细胞外,导致细胞内化疗药物浓度不断降低,细胞毒性作用减弱,于是逐渐出现耐药现象。化疗药物对多种肿瘤细胞 pgp 表达的影响已有大量文献报道,普遍认为肿瘤细胞具有天然耐药性(primary resistance)和接受化疗药物后产生的获得性耐药性(acquired resistance)[5,6]。放射治疗对肿瘤细胞 mdr-1 基因表达有无影响,目前国内尚少见报道。国外的报道也多限于体外实验,一般认为放射线可以诱导肿瘤细胞 mdr-1 基因过表达 pgp。Mc Cleans 等[7]用中国仓鼠卵巢癌细胞进行体外 X 线分次放射实验研究,结果发现放射后的细胞 pgp 表达明显增加,并且对长春新碱、秋水仙碱和依托泊甙等化疗药物产生耐药性。Hill BT 等[3]用两种耐长春新碱和依托泊甙的人卵巢癌细胞株 SK-OV-3 和 JA-T 建立的细胞系进行体外放射实验研究,用单克隆抗体 C219 和 C494 检测,也证实放射后的

维普资讯 http://www.cqvip.com

细胞 pgp 表达明显增加。随后他们又将一系列哺乳动物细胞株建立的细胞模型用 X 线分次放射，结果也表现出对长春新碱、依托泊甙和顺铂耐药[4]。但是放射治疗对鼻咽鳞癌患者 mdr－1 基因表达是否有影响，目前国内外尚未见报道。

本研究表明，未经治疗的鼻咽鳞癌存在原发性 MDR 表型，pgp 阳性率为 18.75%，说明鼻咽癌是属于 mdr－1 轻度表达的肿瘤。当放射至 2/3 根治剂量时复查鼻咽部癌组织 pgp 表达情况，发现放射治疗后 pgp 阳性表达率明显增高至 75.00%，与放射治疗前相比较，pgp 表达阳性率有显著性差异（$P<0.001$），并且放疗后 pgp 阳性表达强度较放疗前亦呈增高趋势。因此，笔者认为放射治疗可能诱导 mdr－1 基因表达，这可能是放射线“赋予”了肿瘤细胞耐药表型。放射线在体内明显地诱导或加强了鼻咽癌组织中 mdr－1 表达 pgp，这可以部分地解释患者在放射治疗后再接受化疗其疗效不佳的现象，这也可能是引起放疗后化疗耐药的原因之一。

放射治疗是如何诱导 mdr－1 基因表达 pgp？其机制是合成增加还是降解减少的结果？目前尚不清楚。有作者认为肿瘤化疗和放疗后产生的耐药机制不同[8]，也有研究认为某些肿瘤细胞具有相同的抗肿瘤药物、抗放射线的机制，还可能与 DNA 拓扑异构酶水平、基因扩增及突变、DNA 修复有关[9]。放射治疗的生物学基础是由电离性射线引发的“直接作用”和通过水电离而产生自由基的“间接作用”造成肿瘤细胞关键靶的损伤而导致细胞死亡。一般认为放射损伤的关键靶是 DNA，由于 DNA 的损伤可能引起肿瘤细胞 DNA 的损伤修复反应，这一过程促使其抗损伤基因的表达。MDR 的形成可能正是肿瘤细胞抗损伤的反应之一。这可能提示，pgp 过度表达是引起放射治疗后化疗交叉耐药的原因之一[10]。

关于 pgp 表达与鼻咽鳞癌患者预后的关系，目前尚无长期随访资料。本研究的初步结论是放射治疗前、后 pgp 表达状况与患者近期疗效之间无显著差异。但 pgp 表达是否可作为鼻咽鳞癌患者独立的预后因素，尚需大宗样本、长期随访进一步研究。

参 考 文 献

[1] Hill BT. Interactions between antitumour agents and radiation and the expression of resistance[J]. Cancer Treat Rev, 1991;18(3):149－190.

[2] Mc Clean S, Whelan RDH, Hosking LK, et al. Characterization of the P－glycoprotein over－expressing drug resistance phenotype exhibited by Chinese hamster ovary cells following their in－vitro exposure to fractionated X－irradiation[J]. Biochim Biophsy Acta, 1993;1177(2):117－126.

[3] Hill BT, Whelan RD, Hurst HC, et al. Identification of a distinctive P－glycoprotein mediated resistance phenotype in human ovarian carcinoma cells after their in vitro exposure to fractionated X－irradiation[J]. Cancer, 1994;73(12):2990－2999.

[4] Hill BT, Moran E, Etievant C, et al. Low－dose twice－daily fractionated X－irradiation of ovarian tumor cells in vitro generates drug－resistant cells overexpressing two multidrug resistance－associated proteins, P－glycoprotein and MRP 1[J]. Anticancer Drugs, 2000;11(3):193－200.

[5] Leonardo E, Valente G, Cappia S, et al. Immunohistochemical evaluation of P－glycoprotein in human malignancies by monoclonal antibody MC57[J]. Int J Cancer, 1994;57(6):841－846.

[6] Tanigaw N, Fujii H. Detection of p－glycoprotein and its clinical significance[J]. Nippon Rinsho, 1997;55(5):1064－1068.

[7] Mc Clean S, Hosking LK, Hill BT. Dominant expression of multiple drug resistance after in vitro X－irradiation exposure in intraspecific Chinese hamster ovary hybrid cells[J]. J Natl Cancer Inst, 1993;85(1):48－53.

[8] Duchesne GM. Fundamental bases of combined therapy in lung cancer: Cell resistance to chemotherapy and radiotherapy[J]. Lung Cancer, 1994;10(s):S67－S72.

[9] Zubova SG, Danilov AO, Myshkow AI, et al. The MDR gene and cellular sensitivity to Various effects[J]. Vopr Onkol, 2000;46(2):199－201.

[10] 惠延平，郭国祯，黄高升，等. 人宫颈癌放射治疗前后 P－170 的表达[J]. 第四军医大学报，2002;23(6):546－548.