维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)06－0769－03

大肠癌组织中肺耐药蛋白和多药耐药相关蛋白的表达及临床病理意义

罗文军[1]，易永芬[2]，于冬青[2]，亓荣华[2]，唐　博[1]

(1.重庆医科大学第二临床学院普外科，重庆　400016；2.重庆医科大学基础医学院病理教研室，重庆　400016)

【摘　要】目的：检测肺耐药蛋白(LRP)和多药耐药相关蛋白(MRP)在60例大肠癌组织中的表达，探讨其与组织学类型、浸润深度、淋巴结转移的关系。方法：应用免疫组化S－P法，检测60例大肠癌组织，10例正常大肠粘膜中MRP和LRP的表达情况。结果：MRP、LRP在60例大肠癌组织中的阳性表达率分别为68.3%和70%，均高于正常大肠粘膜中阳性表达率($P<0.05$)，在各组织学类型之间的表达无明显差异($P>0.05$)，不同浸润深度及是否有淋巴结转移间表达率无差异($P>0.05$)。结论：MRP、LRP在大肠癌中均呈高表达，在大肠癌原发性多药耐药中起重要作用，这可能是大肠癌对化疗不敏感的原因之一。

【关键词】大肠肿瘤；药物耐受性；多药耐药相关蛋白；肺耐药蛋白

【中国图书分类法分类号】R345.2　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2003－05－09

The expression and significance of MRP and LRP in carcinoma of large intestine

LUO Wenjun, et al

(*Department of gecral Surgery, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the expression and clinical significance of MRP and LRP in carcinoma of large intestine. *Methods*: Immunohistochemistry is used to examine the MRP and LRP expression in 60 cases of large intestine carcinoma and 10 cases of normal large intestine tissues. *Results*: The positive expression rates of MRP and LRP in the 60 cases of large intestine carcinoma are 68.3% and 70% respectively and are all significantly higher than those in normal large intestine tissues ($P<0.05$). The expression of them has no discrepancy between different depth of invasion or between lymph nodes with metastasis or without($P>0.05$). *Conclusion*: MRP and LRP are both highly expressed in large intestine carcinoma and play an important role in the primary multidrug resistence (MDR) of large intestine carcinoma.

【Key words】Large intestine neoplasms; Drug resistance; Multidrug resistance－associated protein; Lung resistance protein

大肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一，对化疗多不敏感。多药耐药(milltidrug resistance. MDR)现象是影响化疗疗效的重要因素之一。MDR产生机理非常复杂，它可由不同的机制单独或联合作用引起。多药耐药相关蛋白(multidrug resiStance－associated protein，MRP)和肺耐药蛋白(lung resistance protein，LRP)是近年来发现的能引起MDR的蛋白。应用免疫组化S－P染色方法，检测MRP和LRP在正常大肠粘膜及大肠癌组织中的表达情况，探讨它们在大肠癌中所起的作用及临床病理学意义。

作者介绍：罗文军(1954－　)，男，副教授，主要研究方向：普通外科。

1　材料与方法

1.1　研究对象

收集重庆医科大学病理学教研室1995年1月～1996年1月期间，术前未行化疗的大肠癌组织蜡块60例，男性患者38例，女性22例，年龄24～78岁，中位年龄51岁。根据全国大肠癌协作组的诊断标准分为管状腺癌27例，乳头状腺癌8例，粘液腺癌15例(其中印戒细胞癌10例)。未侵及浆膜层者35例(浅肌层、中肌层、深肌层)，侵及浆膜层及浆膜外25例。有淋巴结转移37例，未发生转移23例。另取正常大肠粘膜组织蜡块10例做对照。60例患者的5年生存率为56.7%(34/60)。

1.2　试剂与方法

采用免疫组化S－P法，鼠抗人MRP浓缩型单克隆抗体MRPrl由荷兰大学自由医学院scheper教授惠赠。鼠抗人LRP即用型单克隆抗体LRP_{56}，即用型免疫组织化学超敏S

维普资讯 http://www.cqvip.com

-P 试剂盒均购自北京中山公司。DAB 为显色剂，MRPr1 用前用 PBS 稀释成 1:40 的稀释液，LRP 在脱蜡水化后要预先进行高压抗原热修复。用已知染色阳性的胃癌组织切片作阳性对照，PBS 代替 I 抗作阴性对照。

1.3 结果判断

以光镜下细胞质和/或细胞膜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率判断结果，分为阴性：无阳性染色细胞；弱阳性：阳性细胞数占 10% ~ 25%；中度阳性：阳性细胞数占 26% ~ 50%；强阳性：阳性细胞数>50%。

1.4 统计学处理

采用 Ridit 分析和 Spearman 相关分析。

2 结 果

MRP 阳性染色定位于细胞质和细胞膜上（图 1），其中细胞质丰富的细胞染色强，为均匀一致的棕黄色颗粒。60 例大肠癌中 41 例呈阳性，阳性率为 68.3%，其中 10 例弱阳性，16 例中度阳性，15 例强阳性。MRP 在正常大肠粘膜中也呈高表达，10 例正常大肠粘膜中 3 例呈阳性，阳性率为 30%，其染色强度明显弱于大肠癌，其中 2 例弱阳性，1 例中度阳性。

LRP 阳性表达定位于细胞质，呈棕黄色细颗粒状（图 2），60 例大肠癌组织中 42 例呈阳性，阳性率为 70.0%，其中 14 例弱阳性，12 例中度阳性，16 例强阳性。LRP 在正常大肠粘膜呈低表达，10 例正常大肠粘膜中 3 例呈阳性，阳性率为 30.0%，其中 1 例弱阳性，2 例中度阳性。



图 1 MRP 在大肠腺癌细胞质及细胞膜上强阳性表达（S-P 法 × 100）

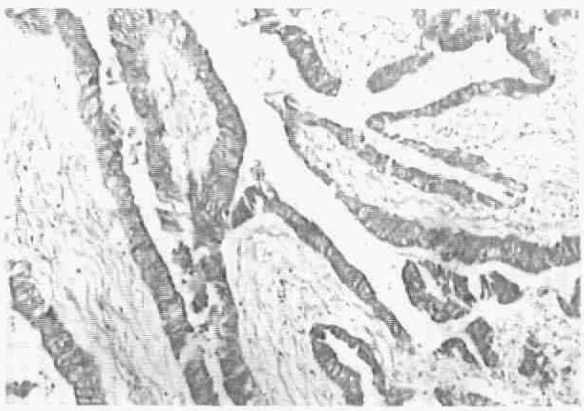


图 2 LRP 在大肠腺癌细胞质中强阳性表达（S-P 法 × 100）

表 1 MRP、LRP 在大肠癌组织及正常粘膜中的表达与临床病理因素之关系

病理因素	例数	MRP 阳性表达（例）				LRP 阳性表达（例）			
		+	+ +	+ + +	阳性率（%）	+	+ +	+ + +	阳性率（%）
正常肠粘膜	10	2	1	0	30.0	1	2	0	30.0
大肠癌	60	10	16	15	68.3	14	12	16	70.0
组织学类型									
管状腺癌	27	5	6	8	70.0	8	5	7	74.0
乳头状腺癌	8	1	2	2	62.2	0	2	3	62.2
粘液腺癌	15	2	5	4	73.3	3	3	4	66.7
印戒细胞癌	10	2	3	1	60.0	3	2	2	70.0
浸润程度									
未及浆膜层	35	6	9	7	62.8	8	7	9	68.6
浆膜及膜外	25	4	7	8	76.0	6	5	7	72.0
淋巴结转移									
有	37	5	12	12	78.1	9	8	9	70.0
无	23	5	4	3	52.1	5	4	7	69.6

由表可见 MRP 和 LRP 在大肠癌中表达均高于正常大肠粘膜（$P<0.05$）；各组织学类型之间的表达无明显差异（$P>0.05$）。MRP 和 LRP 在大肠癌不同浸润深度及是否淋巴结转移间的表达均无明显

维普资讯 http://www.cqvip.com

差异($P>0.05$)。

经 Spearman 相关分析显示 MRP 与 LRP 表达间无相关性(相关系数 $r=-0.014$, $P=0.075$)。

3 讨 论

3.1 MRP 及其介导的多药耐药

MRP 是 1990 年由 Cole 等在一株对阿霉素耐药的小细胞肺癌细胞系 H_{69AR} 中最先发现的。其基因定位于人染色体 6p13.1,长约 7.8~8.2kb,编码 1531 个氨基酸,相对分子量为 190000 的糖蛋白。MRP 属 ABC 转运蛋白超家族成员,与由 MDR1 基因编码的 P-gP 的 NH2-及 COOH-末端极少相同,其氨基酸的同源性<15%。它在人类正常组织及肿瘤中广泛存在,是引起多药耐药的因素之一[1]。Giaccone 等发现 MRP 可介导肺癌细胞株对 ADR、VP-16、VAS 等耐药。但它介导多药耐药的机理还未完全阐明,推测它可能通过将谷光甘肽(GSH)与药物的结合物(GS-X)或者是未修饰的药物(但需要 GSH 的存在)跨膜移位到细胞外,使细胞内药物浓度减少而导致细胞耐药[2]。另外 MRP 还可在细胞内隔离药物,使药物不能与靶位点结合,从而间接导致耐药[3]。

本实验结果显示 10 例正常直肠粘膜中,阳性染色 3 例(30.0%),而在 60 例大肠癌中阳性表达 41 例(68.3%),显著高于在正常大肠粘膜中的表达,提示 MRP 是引起大肠癌原发性耐药的原因之一。

3.2 LRP 及其介导的多药耐药

肺耐药蛋白(LRP)是 1993 年 Scheper 等在一株无 P-糖蛋白(P-gP)表达的对多种药物耐药的肺癌细胞株中最先发现的一种与多药耐药有关的蛋白。其基因定位于人染色体 16p13.1~11.2 之间,定位在核孔复合物上。作为核孔复合物的转运单位,控制着多种底物的双向核质转运。Izquierdo 等曾用免疫组化方法研究发现 LRP 在正常组织和肿瘤细胞中广泛分布[4]。Izquierdo 等对 61 株多类型的瘤细胞株的 LRP 基因的表达作了检测,发现其介导药物耐药非常广泛,它包括一些 P-gP 和 MRP 不能介导的药物的耐药,如铂类、烷化剂等[5],其确切机理还不明确,它可能是通过调节囊泡和核质的药物转运,将化疗药物贮存于囊泡,并减少化疗药物在核与胞质间的比例而导致耐药[6,7]。

本结果示 10 例正常大肠粘膜中 LRP 阳性表达 3 例(30.0%)。60 例大肠癌组织中 LRP 阳性表达 42 例(70.%),显著高于在正常大肠粘膜中的表达。提示 LRP 在大肠癌的原发性耐药中亦发挥重要作用,这可能是大肠癌对化疗不敏感的重要原因之一。

本组结果还显示 MRP、LRP 在不同浸润程度及是否有淋巴结转移间表达无差异,表明其表达与浸润程度及是否有淋巴结转移无关。MRP 与 LRP 表达无相关性,这说明它们各自基因的激活和表达可能各有其机制,在 MDR 中的作用不同。

参 考 文 献

[1] Flens MJ, Zaman GJR, Valk PVD, et al. Tissue distribution of the multidrug resistance protein[J]. Am J Pathel, 1996; 148(4): 1237-1247.

[2] Loe DW, Deeley RG, Cole SPC. Biology of the multidrug resistance-associated protein MRP[J]. Euro J Cancer, 1996; 32(6): 945-947.

[3] Lautier D, Canitor Y, Deeley RG, et al. Multidrug resistance mediated by the multidrug resistance protein(MRP) gene [J]. Biochem Pharm, 1996; 52(7): 967-977.

[4] Izquierdo MA, Scheffer GL, Flens MJ, et al. Broad distribution of multidrug resistance-related vault lung resistance protein in normal tissues and tumors[J]. Am J Pathol, 1996; 148(3): 877-887.

[5] Izuquierdo MA, Scheffer GL, Flens MJ, et al. Major vault protein LRP-related multidrug resistance[J]. Euro J Cancer, 1996; 32: 979-984.

[6] Chugani DC, Rome LH, Kedersha NL. Evidence that vault ribonucleo-protein particles locatize to the nuclear pore complex[J]. J cell Sci, 1993; 106(Ptl): 23-28.

[7] Kitazono M, Sumizawa T, Takebayashi Y, et al. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-120 cells[J]. J Natl Cancer Inst, 1999; 91(19): 1647-1653.