维普资讯 http://www.cqvip.com

Specific IgE and specific IgG subclasses in allergic rhinitis

Hong Sulin, et al
Department of otolaryngology, collegeg of clinical medicine

Using enzyme-linked immunosorbent assay,we detected the levels of total IgE,Japanese cedar specific IgE,and Japanese cedar specific IgG subcalass in 120 patients with Japanese cedar allergic rhinitis.The results showed that the levels of $SIgG_4$(478.88±120.60ng/ml) of patients were significantly higher than those of the controls($P<0.01$),and the same results were found for concentrations of specific IgG_2 and IgG_4.The differece between before-treatment and after-treatment levels of specifie IgE and specific IgG_4 was also significant(specific IgE before treatment:30.60±0.78iu/ml,after treatment:1.58±0.44iu/ml $P<0.01$;specific IgG_4 before treatment:478.88±120.60ng/ml,after treatment:292.10±101.18ng/ml $P<0.01$).We conclude that specific IgG subclasses have obvious etiological specificity and sensitivity.

KEY WORDS Japanese cedar; Specific IgE: Specific IgG subclass

272-275 (18) R739.91

头颈肿瘤P-糖蛋白检测及临床意义

临床学院耳鼻喉科 陈鸿雁* 陈佩君
肿瘤科 张幸平

提 要 头颈肿瘤对化疗效果较差、多药耐药性(Multidrug Resistance,MDR)是肿瘤耐药的主要机理之一，由MDRI基因编码的p-糖蛋白是能量依赖性膜输出泵且在MDR表型中起重要作用。本文对82例未经治疗的鼻咽癌喉癌用免疫组化方法测定p-糖蛋白,并研究了p-糖蛋白表达与化疗、放疗以及临床分期的关系。82例未经治疗的鼻咽癌、喉癌中,53.7%(44/82)p-糖蛋白表达阳性;其中50%(23/46)鼻咽癌和55.6%(20/36)喉癌分别显示出阳性;14例接受化疗的病例其化疗敏感性与p-糖蛋白表达有明显相关性($P<0.05$);26例接受放疗的肿瘤,其放疗敏感性与p-糖蛋白表达无显著相关关系($P>0.05$);p-糖蛋白的表达与临床分期亦无显著相关关系。用免疫组织化学方法测定p-糖蛋白可为制订治疗计划和选择适当的抗癌药物提供有用的资料。

关键词 头颈肿瘤;免疫组织化学;多药耐药性;p-糖蛋白
中图分类号 R979.62

头颈恶性肿瘤对化疗效果较差,主要原因是癌细胞对抗癌药物的耐受性;多药耐药性(Multidrug resistance, MDR)是产生耐药性的主要机理之一。正常及肿瘤细胞MDRI基因表达产物p-糖蛋白(p-gP)是能量依赖的药物输出泵,它将进入细胞的非生理性化合物泵出细胞,降低这些物质在细胞内的浓度。MDRI基因扩增或p-gP过度表达的癌细胞中,抗癌药物的浓度不能达到杀灭癌细胞的水平,癌细胞就产生了对抗癌药物的耐药性。Kelley等(1993)[1]首先观察了头颈鳞癌p-gP表达,以后类似报道甚少。本文检测了82例鼻咽癌、喉癌组织p-gP,并观察了部分被测者对化疗和放疗的敏感性。

1 材料和方法

1.1 **病例来源** 1995年到1996年期间,任意选择在我科初诊的82例头颈肿瘤患者为观察对象,男性68例、女性14例,中位年龄55岁(30岁～75岁)。其中鼻咽癌46例,喉癌36例。所有病例在检测前均未接受任何治疗并均经组织病理学证实。46例鼻咽癌中,鳞癌45例(高分化2例、低分化43例),腺癌1例。36例喉癌中,鳞癌34例(高分化33例,低分化1例),腺

* 女,1963-11出生,主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

癌2例,均为低分化。按照国际抗癌协会(UICC)通过的头颈部恶性肿瘤TNM分期第四次修订案,46例鼻咽癌中,Ⅰ期4例,Ⅱ期13例、Ⅲ期17例, Ⅳ期12例;36例喉癌中、Ⅰ期1例,Ⅱ期6例,Ⅲ期15例,Ⅳ期14例。

1.2 标本采集 取患者鼻咽部或喉部活检标本2份,其中1份送组织病理学检查,另1份立即放入-70℃冻存。任意选择组织病理学证实为鼻咽癌或喉癌的冻存活检标本作p-gP免疫组织化学检测。阳性对照为3例外科手术切除之肾癌组织,与癌症患者标本同样条件保存。

1.3 p-gP免疫组化检测 将冻存组织标本作厚度为5um的冰冻切片,冷丙酮固定10分钟,冷风吹干。其中1张切片做H—E染色,另1张切片加1%H_2O_2—甲醇溶液,抑制内源性过氧化物酶,磷酸缓冲液(PBS)洗5min共3次;滴加3%非免疫马血清,37℃保湿20min,阻断非特异性免疫结合反应,PBS洗3次,每次5min;滴加抗p-gP单克隆抗体溶液JSB—1(Boehringer公司产品),稀释度为1:20,37℃孵育60min,置4℃冰箱过夜,次日用PBS液洗涤5min,共3次;滴加生物素化羊抗鼠IgG单克隆抗体(北京中山生物技术有限公司产品,1:50稀释),37℃40分钟保湿后,PBS洗涤(同前);再滴加ABC复合物(北京中山生物技术有限公司产品,稀释度1:50),37℃保湿40min,用PBS洗涤(同前);滴加新鲜配制的酶底物二氨基联苯二胺盐酸盐(DAB)显色(0.5mgDAB加入1.0mlPBS,避光过滤,显色前滴加1滴30%H_2O_2),静置15min,蒸馏水终止显色;0.5%苏木素复染。

阳性对照的肾癌组织标本,按上述方法检测,阴性对照标本除以PBS代替抗p-gP单克隆抗体外,其它步骤与被测标本相同。

结果判断:光镜下观察到细胞膜或胞液内出现红棕色颗粒为p-gP阳性,不染色为阴性。高倍镜下随机选择视野,计数200个细胞,p-gP阳性细胞数≥10%者为p-gP表达阳性;阳性细胞数<10%者为p-gP表达阴性。

1.4 化疗方案 顺铂20—25mg/ml,静脉滴注,连续3天(第1、2、3天),5-氟尿嘧啶600~700mg/m2,静脉滴注,共4天(第2、3、4、5天),平阳霉素8mg肌肉注射,共3天(第1、2、5天)。共1~2疗程,适当休息后,再行手术或放疗。

疗效判断完全反应(CR):肿块完全消失,CT正常;部分反应(PR):肿瘤缩小50%,并无新病灶出现;无反应(N):肿瘤体积无明显缩小;恶化(P):肿瘤增大50%。

1.5 放疗方案 放疗疗效判断与化疗相同。

26例鼻咽癌患者中,5例用60Co外照射,21例用加速器的高能X线,高能电子束照射。

鼻咽部6mV—X线或60Co垂照,剂量:60GY/30次/42天-74GY/37次/54天。(其中外照射剂量<65GY的3例配合192Ir后装放射治疗,剂量为6GY/次×2)。颈部/60Co前切野+高能电子束垂照。剂量为:55GY/28次/38天—65GY/33次/45天。

1.6 统计学处理 p-gP检测结果与化疗或放疗敏感性关系用Fisher精确概率法检验。鼻咽癌、喉癌各临床分期P-gp表达有无显著性差异,用X^2检验和Fisher精确概率法进行比较。

2 结果

2.1 **鼻咽癌、喉癌p-gP表达阳性率** 82例鼻咽癌和喉癌组织中p-gP表达阳性者44例(53.7%),阴性38例(46.3%);46例鼻咽癌中,p-gP表达阳性者23例(50%),阴性23例(50%);36例喉癌中,p-gP表达阳性者20例(55.6%),阴性16例(44.4%)。观察的标本中,p-gP均位于细胞膜表面或胞液。

2.2 **鼻咽癌、喉癌p-gP表达与化疗敏感性的关系** 82例病例中,有14例进行了术前或放疗前的诱导化疗,其中鼻咽癌6例,喉癌8例。由于病例数少,将两组合并进行统计学分析,结果见表1。

表1 鼻咽癌、喉癌P-gp表达与化疗敏感性的关系

	化疗敏感性		合计
	有效(例数)Δ	无效(例数)○	
P-gp表达阳性	1(20)※	4(80)	5
P-gp表达阴性	8(88.9)	1(11.1)	9
合计	9(64.3)	5(35.7)	14

$P<0.05$ ※括号内数字为百分比

Δ化疗有效: CR+PR ○化疗无效. N+P

由表1可见,p-gP表达阴性患者对化疗较敏感,有效率为88.9%(8/9),而p-gP表达阳性者化疗敏感性较差,有效率仅为20%(1/5)。

2.3 **鼻咽癌、喉癌p-gP与放疗敏感性的关系** 本组有26例鼻咽癌进行了放疗,而且放疗前未作过其它治疗。放疗敏感性与p-gP表达的关系见表2。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 鼻咽癌P－gp表达与放疗敏感性的关系

	放疗敏感性		合 计
	CR(例数)	PR(例数)	
P－gp表达阳性	8(61.5)	5(38.5)	13
P－gp表达阴性	10(76.9)	3(23.1)	13
合 计	18(69.2)	8(30.8)	26

$P>0.05$ 括号内数字为百分比

由表2可见,p－gP表达与放疗敏感性无明显关系。

2.4 鼻咽癌、喉癌表达与临床分期的关系 82例鼻咽癌、喉癌p－gP表达与临床分期的关系见表3.

表3 82例鼻咽癌、喉癌P－gp表达与临床分期的关系

临床分期	例 数	P－gp表达(例数)	
		阳 性	阴 性
Ⅰ	5	1(20)※	4(80)
Ⅱ	19	11(57.9)	8(42.1)
Ⅲ	32	17(53.1)	15(46.9)
Ⅳ	26	15(57.7)	11(42.3)
合 计	82	44(53.7)	38(46.3)

※括号内数字为百分比

从表3可以看出,临床各期之间p－gP表达无明显关系。

3 讨论

p－gP是由MDRI基因编码的跨膜糖蛋白是能量依赖的膜输出泵,可将非生理性化合物泵出细胞[2]。但至今尚未发现任何具有生理作用的物质可能通过p－gP排出细胞外。用免疫组化的方法已在正常的支气管、乳腺导管上皮、胆囊上皮、小肠和结肠上皮、胆管、皮肤汗腺、肾近曲小管、子宫内膜、肾上腺、中枢神经系统毛细血管、睾丸和真皮乳突等组织检测出p－gP[3]。但由于p－gP主要在分泌和排泄功能上皮细胞中表达,因而推测它的生理功能是把毒性物质从人体内排出。

由p－gP介导的MDR表现型,其主要特点是肿瘤细胞与某种抗癌药物接触后,癌细胞产生了对此种抗癌药和其它多种化学结构和性质不同有抗癌药的耐药性[4,5,6]。可能诱导MDR现象的抗癌药有:长春碱、葸环类化合物、鬼白毒素和放线菌D。体外实验证实:MDR细胞中有p－gP存在,而且p－gP表达与MDR基因扩增有密切的关系[7]。临床应用检测MDR细胞的方法有:免疫组织化学法测定p－gP;Northern或Western印渍或多聚酶链反应(PCR)法测定MDRI mRNA[8]。免疫组化法灵敏度较差。但其优点是能观察到p－gP在细胞中的定位,而且标本用量少[9],Charpin等[10]发现免疫组化定量测定p－gP与MDRI mRNA扫描分析(PCR)法检测结果有显著相关关系。该作者认为,免疫组化测定p－gP能够提供极为有用的临床信息,是筛选对化疗敏感患者的良好工具。

本组对82例鼻咽癌、喉癌患者标本采用免疫组化ABC法检测p－gP表达。结果显示未治疗肿瘤患者p－gP表达阳性率为53.7%,此结果与其他作者相似。Pavelic等[11]用UIC2、JSB—1、HYB—241和C219 4种抗p－gP单克隆抗体检测23例头颈鳞癌,发现P－gp阳性率为60%;Kelley等[1]用UIC2为第1抗体对53例未经治疗的头颈鳞癌进行检测,p－gP阳性率为60%。该作者发现p－gP表达与肿瘤的临床分期无明显关系,这与我们所得结果相同;该作者所收病例中,有8例接受了MDRI相关抗癌药的化疗,p－gP阳性者5例中有4例对化疗无反应,1例部分反应(PR);p－gP阴性3例,完全反应(CR)2例,部分反应(PR)1例,其化疗反应与p－gP表达的符合率为89%(7/8)。本组有14例进行了化疗,p－gP阳性者5例中,化疗有效者(CR＋PR)20%(1/5),无效者(N＋P)为80%(4/5);p－gP阴性者9例,化疗有效者88.9%(8/9),无效者11.1%(1/9)。但值得提出的是,本组化疗药物是以非MDRI相关抗癌药(顺铂、5—氟尿嘧啶)为主要成份,但其化疗敏感性仍与p－gP表达有关。本组病例中有26例鼻咽癌进行了放疗,其敏感性(CR或PR)与p－gP表达无明显关系。此结果与Heerron—M所观察的结果相似[11]。

文献报道,未治疗的乳腺癌很少有p－gP阳性,卵巢癌和白血病仅在进行化疗之后才检测到p－gP存在[1]。这种由于化疗药物诱导产生的MDR,

维普资讯 http://www.cqvip.com

称为获得性多药耐药性(Acquired Multidrug Resistance),而有些肿瘤是由具有中度或高度MDRI基因表达的正常细胞癌变而来,未经化疗即表现p-gP表达阳性,这种自发产生的耐药性称为内生性多药耐药性(Intrinsical Multidrug Resistance)。本文的82例未经治疗的喉癌、鼻咽癌中,内生性p-gP阳性为53.7%,阴性为46.3%。Kelley[1]检测的53例未治疗性p-gP阴性的患者对化疗的敏感性应该较高,本文和Kelley观察的结果都证实了这种推测的正确性。Charpin指出[10],为了选择适当的病例进行辅助治疗并减少不必要的治疗费用,现在已经建立了可能预测效果的综合性观察指标。其中p-gP免疫测定法是淋巴结阴性的乳腺癌制订术后治疗计划的最有用的工具。Kelley[11]认为:头颈肿瘤易于扩散,在他所观察的病例中,有31%患者p-gP表达阴性,因而建议对这些病人采用p-gP转运的抗癌药化疗,并配合手术和放疗,使治疗获得更好的预期效果。

综上所述:用免疫组化法测定p-gP,可以检测出头颈肿瘤MDR表现型;治疗前测定p-gP,可能为制订治疗计划和选择适当的抗癌药提供有用的资料。

参考文献

1. Kelley DJ, et al. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1993; 119:411
2. Gerlsch, et al. Nature 1986;324:485
3. Pavelicip, et al. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1993; 119: 753
4. Kessal DB, et al. Cancer Res 1968;28:938
5. Biedler JL, et al. Cancer Res 1970;30:1174
6. Beck W. T. Cancer Treat. 1983;Rep 67:875
7. Adrianl H, et al. Acta Oncologia 1992;31:205
8. Rominson IB. Molecular and Cellular Biology of Multidrug Resistance in Tumor Cell. plenum press, New York; 1991, 319
9. 韩 军,等.实用肿瘤杂志 1995;10:118
10. Charpin C, et al. J Natl Cancer Inst. 1994;86:1539
11. Heerron M, et al. Cytotechnology 1996;19(3):237

(收稿日期 1998-11-06)

Clinical significance and immunohistochemical assays of multidrug resistance gene expression product p-glycoprotein in patients with head and neck cancers

Cheng Hongyan, et al
Department of otolaryngology, college of clinical medicine

Head and neck tumors show poor response to chemotherapy. One well-known mechanism of anti-neoplastic drug resistance in human tumor cell is the Multidrug Resistance(MDR) pheonomenon. P-glycoprotein (P-gp) encoded by the MDRI gene is the active effluxpump and plays important roles in MDR phenotype.In this paper. P-gp expression was detected with immunohistochemical assays in 82 untreated patients with nasopharyngeal carcinoma and laryngeal cancer. The correlations of P-gp expression to the responses of chemotherapy and radiotherapy and to the clinical stages of tumor were investigated. Among 82 untreated patients with nasopharyngeal carcinoma and larynegal cancer,53.7%(44/82) were P-gp positive 50%(23/46) of nasopharyngeal carcinoma and 55.6%(20/26)of laryngeal cancer had detectable P-gp.The P-gp expression of 14 patients who received chemotherapy was correlated significantly to the responses of chemotherapy($P<0.05$),but no correlations existed between P-gp expression and the response of radiotherapy in 26 patients underwent radiotherapy($P>0.05$). There were no correlations of P-gp expression to clinical stages of tumor($P>0.05$). Detection of P-gp expression may be useful in planning chemotherapy regimens for patients with nasopharyngeal carcinoma or laryngeal cancer.

KEY WORDS Head and Neck Cancer; Immunohistochemistry; P-glycoprotein(P-gp); Multidrug Resistance(MDR)