维普资讯 http://www.cqvip.com

98,23(4)
329-331
第23卷 第4期
1998\91955X\023\004
重庆医科大学学报
329-436
Vol.23 No.4
1998 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1998

肝细胞癌P－gp定量分析与生物学特性的关系*

R735.702

临床学院外科 孔宪炳**
中山医科大学 梁力建 黄洁夫 林汉良

提 要 研究肝细胞癌MDR1基因产物P－gp的表达及临床意义。方法:应用免疫组化结合图像分析定量测定47例肝癌组织和33例癌旁组织P－gp含量,并与肝癌生物学特性比较。结果:肝癌组织和癌旁组织均有P－gp表达,且主要位于肝细胞膜上。肝癌组织和癌旁组织P－gp含量均高于正常肝组织($P<0.01$)。高分化肝癌和肝内复发肝癌P－gp含量分别高于低分化肝癌和未复发肝癌($P<0.01$),侵袭性肝癌P－gp含量也高于非侵袭性肝癌($P<0.05$)。结论:P－gp表达可能成为肝癌预后判断的生物学指标。

肝肿瘤

关键词 肝细胞癌; P－gp; 图像分析; 免疫组织化学; 生物学特性
中图分类号 R735.7

P－糖蛋白

P－糖蛋白(P－glycoprotein,P－gp)是一种分子量为170KD的跨膜蛋白质,系肿瘤多药耐药(MDR1)基因的编码产物。近来发现,P－gp在多种肿瘤中过度表达,除了与MDR有关外,且与肿瘤的生物学行为有一定关系[1-3]。但P－gp含量与肝细胞癌(HCC)生物学特性的研究甚少。本文采用计算机显微图像分析仪对肝癌P－gp免疫组化产物进行定量分析,并着重探讨P－gp含量与肝癌生物学特性的关系。

1 材料与方法

1.1 标本

1996年6月至1997年7月手术切除且病理证实的HCC标本47例,其中33例带癌旁组织。男39例,女8例,年龄25－74岁,平均49岁。所有患者术前均未化疗。取11例正常肝组织作对照。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

标本福尔马林固定、石蜡包埋,4μm切片。P－gp检测采用免疫组化SABC法。小鼠抗人P－gp单抗JSB－1为德国Boehringer mannheim公司产品,生物素标记的羊抗小鼠Ig G与ABC试剂盒为武汉博士德公司产品。

1.2.2 定量分析

采用IBAS显微图像分析仪(德国Kontron)测定监视野A区域的灰度(GA)、阳性产物(α相)的灰度(Gα)及面积密度(AAα),计算监视野中P－gp的相对含量PU值[4]。计算公式为:$PU=100\times|G\alpha-GA|/(1-AA\alpha)\times Gmax$(其中Gmax为仪器最大灰度级)。每张切片随机测5个监视野,求PU均值。PU值越大,P－gp相对含量越高。

1.2.3 统计学处理

数据用$\bar{x}\pm s$表示,两组均数差别显著性用t检验。

2 结果

2.1 P－gp染色在肝癌组织、癌旁肝组织及正常肝组织中的表达

P－gp染色阳性物质主要定位于肝细胞膜邻近胆小管或肝窦的腔上皮表面,呈粗细不等,深浅不一的杆状、半环状、颗粒状。肝癌组织P－gp阳性率72%(34/47),癌旁肝组织阳性率66%(22/33),正常肝组织仅3例呈弱阳性。肝癌组织和癌旁肝组织P－gp含量均高于正常肝组织($P<0.01$),但肝癌组织与癌旁组织P－gp含量差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

*本课题受美国中华医学基金会(CMB)资助、编号90534

**男,1961－10出生,主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 P－gp在肝癌和癌旁肝组织的表达

	例数	PU值($\bar{x}\pm s$)
肝癌组织	47	22.61±10.96*
癌旁组织	33	18.75±9.90*
正常肝组织	11	1.67±1.38

*与正常肝组织比较$P<0.01$，两者比较$P>0.05$

2.2 P－gp表达与HCC生物学特性的关系

根据肝癌有无血管癌栓和卫星癌灶，将47例肝癌分为侵袭性和非侵袭性两组，侵袭性肝癌P－gp含量高于非侵袭性肝癌($P<0.05$)。按分化程度分为高分化(Ⅰ～Ⅱ)和低分化(Ⅲ～Ⅳ)两组，结果高分化肝癌P－gp含量高于低分化肝癌($P<0.01$)。肝内复发组P－gp含量也高于非复发组($P<0.01$)，P－gp含量与肝癌直径大小和包膜状况无关($P>0.05$)(表2)。

表2 P－gp表达与肝癌生物学特性的关系

	例数	PU值($\bar{x}\pm s$)	P值
肿直径(cm)			
<=5	13	25.86±10.95	>0.05
>5	34	21.30±11.46	
肿瘤包膜			
完整	14	26.03±10.98	>0.05
不完整	33	21.14±11.27	
肿瘤侵袭性			
侵袭性	19	26.99±10.53	<0.05
非侵袭性	28	19.60±11.32	
Edmonson分级			
Ⅰ～Ⅱ	17	33.70±9.26	<0.01
Ⅲ～Ⅳ	30	16.28±12.04	
肝内复发			
复发组	12	35.97±9.02	<0.01
未复发组	35	17.95±11.46	

3 讨论

P－gp是MDR1基因编码的一种依赖ATP酶的跨膜转运蛋白，具有药物外排泵的功能，可将进入细胞内的碳水化合物、药物和色素等泵出细胞外，从而阻止其在细胞内聚积发挥细胞毒作用[6]。现已证实，MDR1基因和P－gp在许多人体正常组织和肿瘤组织均有表达[6]。Chou等[7]报道肝癌组织存在P－gp的过度表达，并与肝癌的MDR有关。我们发现肝癌P－gp阳性率72%，癌旁肝组织P－gp阳性率66%，肝癌组织和癌旁肝组织P－gp含量均高于正常肝组织($P<0.01$)。提示肝癌在化疗前P－gp阳性表达较高，可能有较强的原发性耐药，这也可能是肝癌临床化疗效果差的重要原因。

有关研究表明，MDR1及P－gp的表达受到癌的发生、发展和分化等因素的调控[2]。Mickley等[8]发现肝癌P－gp过度表达伴随着癌的发生而出现，且P－gp表达水平与肿瘤的发展阶段密切相关。Itsubo等[9]观察到P－gp表达与肝癌的组织学分级呈负相关。本组发现高分化肝癌P－gp含量高于低分化肝癌($P<0.01$)。说明高分化肿瘤P－gp的表达能力较强，易产生耐药；而低分化肿瘤P－gp的表达能力较弱，耐药性相对较低。这与临床化疗结果和文献报道相符。

肝癌的不良预后与其早期肝内播散，转移和术后易复发等生物学特性有关。Tang[9]报道，即使是小肝癌根治切除术后5年复发率仍高达43.5%。近来发现，肿瘤复发病例伴有P－gp表达增高[10]。Jain等[11]发现复发性口腔鳞癌P－gp表达值高于原发性口腔鳞癌和正常对照组。目前尚无P－gp表达与肝癌复发的报道。我们的结果表明，肝内复发肝癌P－gp含量高于未复发肝癌($P<0.01$)，这提示肝癌复发后可能易获得耐药。

新近研究表明，P－gp表达与肿瘤侵润转移有关[1]，Sinicrope等[3]观察到结肠癌组织边缘部P－gp含量高于癌中央组织，作者对52例B2期结肠癌患者手术后随访5年，发现P－gp阳性组肿瘤复发及转移高于P－gp阴性组。Bradley等[2]的结果表明，Fischer大鼠肝癌治疗前的P－gp表达水平与肝癌的转移潜能密切相关。我们发现侵袭性肝癌P－gp含量高于非侵袭性肝癌($P<0.05$)，提示较高水平的P－gp表达与肝癌侵袭性有关。

一般来说，低分化肿瘤恶性程较高，易侵袭、转移和复发。本实验结果发现低分化HCC的P－gp表达水平与侵袭性和复发性HCC不相一致，其可能原因有：一、P－gp表达受多水平调节，肿瘤分化程度仅是多种影响因素之一；二、肝癌总

维普资讯 http://www.cqvip.com

体来讲恶性程度很高，预后差。其转移和复发要经过诸多环节，包括癌细胞侵袭性相关因子和分化程度、细胞外基质(ECM)、肿瘤血管、机体免疫等；三、与肿瘤的异质性有关。总之，P－gp表达不仅与肝癌的多药耐药有关，而且与肝癌的分化、侵袭、转移和复发等有关，有可能成为肝癌病人预后判断的生物学指标。

参 考 文 献

1.Suwa H, et al. Jpn J Cancer Res 1996;87;641
2.Bradley G, et al. Cancer 1992;52;5154
3.Sinicrope F, et al. Cancer 1994;74(11);2908
4.申 洪.中国组织化学与细胞化学杂志 1995;4(1):89
5.Goldstein LJ. Eur J Cancer 1996;32A:1039
6.Itsubo M, et al. Cancer 1994;73:298
7.Chou YY, J Gastroenterol Hepatol 1997;12(8):569
8.Mickley LA, et al. J Biol Chem 1989;264:18031
9.Tang ZY. Hepatol Rapid Literat Rev 1996;26:XI
10.Gregorcyk S, et al. Ann Surg Oncol 1996;3(1):8
11.Jain V, et al. Int J Cancer 1997;74:128

(收稿日期 1998－04－20)

Relationship between expression of P－glycoprotein and biological character in hepatocellular carcinoma

Kong Xianbing, et al
Department of surgery, college of clinical medicine

Objective: To study the clinical significance of the expression of P－glycoprotein (P－gp) in hepatocellular carcinoma (HCC). Methods: Quantitative analysis of P－gp was made by using immunohistochemical method and microimage analysis technique in 47 tumor tissues and 33 tumor－adjacent tissues of the patient with HCC. The biological character was also analyzed. Results: Anti－P－gp immunostaining was observed both in 72% of cases with tumor tissue and in 66% of cases with adjacent to tumor tissue. When P－gp was detected in HCC, it was mainly localized on the cellular membrane. A significant increase in P－gp level was observed in tumor tissue ($P<0.01$) and tumor－adjacent tissue($P<0.01$) as compared with normal liver tissue. P－gp expression level was significantly higher in HCC of the well differentiated type than in that of poorly differentiated type ($P<0.01$). HCC with intrahepatic recurrence had a significantly higher P－gp expression level than that without intrahepatic recurrence ($P<0.01$). P－gp overexpression level correlated well with the invasiveness of HCC ($P<0.05$). Conclusion: P－gp expression is Probably a biological marker of Prognostic value to HCC.

KEY WORDS HCC; P－gp; Image analysis; Immunohistochemistry biological character