200-202

维普资讯 http://www.cqvip.com

P-糖蛋白在头颈部恶性肿瘤中的表达及意义

临床学院耳鼻喉科 胡国华*
华西医科大学 林代诚 梁传余 刘柏林

提 要 为探讨mdr_1基因产物在头颈部恶性肿瘤中的表达状况及其与临床耐药性的关系，作者用免疫组化ABC法47例未化疗的头颈部恶性肿瘤进行P-糖蛋白表达的原位检测，同时应用细胞核仁组成区嗜银蛋白技术(A_gNOR)测定了43例肿瘤对8种抗癌药物的敏感性。结果显示，头颈部恶性肿瘤中的P-糖蛋白表达阳性率为57%，肿瘤对VCR、ADM、PY<M、MMC4种药物的敏感率在P-糖蛋白阳性组明显低于阴性组，并有统计学意义。提示P-糖蛋白表达与头颈部恶性肿瘤的临床内在耐药性密切相关。

关键词 头颈部恶性肿瘤；mdr_1基因；P-糖蛋白；免疫组织化学；核仁组成区；多药耐药性
中图分类号 R730.2;R730.5 R739.910.2

肿瘤细胞对抗癌药物的内在性和获得性多药耐药(multidrug resistance)是临床肿瘤学的常见难题。近年来的研究表明，肿瘤多药耐药可能涉及到许多不同的机制[1]，但公认较为关键的是多药耐药mdr_1基因产物P-糖蛋白 (P-glycoproteoten)的过度表达。P-糖蛋白是一种跨膜糖蛋白，其分子量为170kd，它作为能量依赖的排出泵可将细胞内多种化疗药物排出细胞，使细胞内药物蓄积量减少而产生耐药[1-3]。头颈部恶性肿瘤的化疗效果不令人满意，对其耐药机理的研究报道较少，尤其缺乏mdr_1基因表达产物与耐药性关系的研究[4]。本文运用免疫组织化学技术检测P-糖蛋白在头颈部恶性肿瘤中的表达，并测定了肿瘤的体外药物敏感性，以期探讨P-糖蛋白在头颈部恶性肿瘤中的表达状况及其与临床耐药性的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

肿瘤细胞株 人卵巢癌多药耐药细胞株SKVCR与敏感对照株$SKOV_3$由加拿大多伦多大学Victor Ling教授赠送，分别作为阳性和阴性对照。

肿瘤组织 取材于手术和活检的头颈部恶性肿瘤患者，均未经放、化疗。标本取下后立即作5um连续冰冻切片，冷丙酮固定，贮-20°C冰箱，并作HE染色核实诊断。大部分肿瘤标本均取部分组织立即送作体外药敏试验。本组包括喉鳞癌35例、喉腺样囊性癌1例，喉咽鳞癌2例、鼻咽鳞癌6例、鼻腔鳞癌2例、耳廓鳞癌1例。临床病理特征见表1。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 采用ABC法，按标准方法操作[5]。第一抗体为鼠抗人P-糖蛋白单克隆抗体JSB-1(Boehringer公司产品，工作稀释度为1:30)。鼠系ABC药盒为Vector Lab产品。以细胞膜及细胞浆染成棕黄色颗粒者为阳性细胞，不着色者为阴性细胞。高倍镜下计数500个细胞，阳性细胞>1%为标本阳性。

1.2.2 体外药物敏感试验 应用细胞核仁组成区嗜银蛋白技术(A_gNOR)对肿瘤细胞进行药敏测定，按文献操作[7]。共选用8种头颈部常用的化疗药物(见表2)，分别计数对照组与加药组细胞核内棕褐色颗粒数，共50个细胞，计算出每个细胞核内棕褐色颗粒均数及均值下降率。

$$\text{均值下降率}=\frac{\text{对照组平均颗粒数}-\text{加药组平均颗粒数}}{\text{对照组平均颗粒数}}\times 100\%$$

均值下降率<30%为耐药。

1.3 统计分析 各组数据间用Fisher精确概率法计算P值。

2 结果

2.1 头颈部恶性肿瘤P-糖蛋白的表达状况及分布特征

47例肿瘤中发现27例为P-糖蛋白染色阳性(57%)，染色位于细胞膜和细胞浆。P-糖蛋白表达的强度和分布不均，不同标本染色的强弱不一，而同一肿瘤中，强阳性的细胞紧邻形态相同的

* 男，1963-07出生，主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

阴性细胞，染色最深的部位常常在肿瘤与间质的界面和在深面的浸润肿瘤细胞。

2.2 P－糖蛋白表达与临床病理特征的关系

表1 头颈部恶性肿瘤P－糖蛋白表达与临床特征的关系

	肿瘤数	P－糖蛋白(+)(%)	P－糖蛋白(－)(%)
肿瘤分期			
Ⅰ	8	5(63)	3(37)
Ⅱ	14	8(57)	6(43)
Ⅲ	10	7(70)	3(30)
Ⅳ	15	7(47)	8(53)
淋巴结			
有转移	11	5(45)	6(55)
无转移	36	19(53)	17(43)
分化程度			
高	17	13(76)	4(24)
中	20	12(60)	8(40)
低	10	2(20)	8(80)

P－糖蛋白表达与肿瘤分期和淋巴结转移无相关关系。高、中分化程度肿瘤的P－糖蛋白阳性率均高于低分化肿瘤，仅仅在高、低分化肿瘤间统计学上才有显著性差异($P=0.007$)。本组病例绝大多数为鳞癌，无法比较在各种病理类型肿瘤中的表达状况。

2.3 P－糖蛋白表达与肿瘤耐药性的关系

表2 P－糖蛋白表达与头颈部恶性肿瘤内在耐药性的关系

抗癌药		P－糖蛋白(+)	P－糖蛋白(－)	x^2	P
PDD	敏感(%)	18(69)	13(76)	0.2678	0.735
	耐药(%)	8(31)	4(24)		
VCR	敏感(%)	10(38)	13(76)	5.9691	0.027
	耐药(%)	16(62)	4(24)		
ADM	敏感(%)	3(12)	8(47)	6.8124	0.014
	耐药(%)	23(88)	9(53)		
CTX	敏感(%)	12(46)	9(53)	0.1895	0.760
	耐药(%)	14(54)	8(47)		
PYM	敏感(%)	6(23)	12(71)	9.5339	0.004
	耐药(%)	20(77)	5(29)		
MTX	敏感(%)	8(31)	7(41)	0.4901	0.528
	耐药(%)	18(69)	10(59)		
5-Fu	敏感(%)	7(27)	9(53)	2.9782	0.113
	耐药(%)	19(73)	8(47)		
MMC	敏感(%)	3(12)	10(59)	10.8962	0.002
	耐药(%)	23(88)	7(41)		

对47例头颈部恶性肿瘤中的43例标本同时用A_3NOR技术作了体外药物敏感试验。8种抗癌药物的敏感性测试中，P－糖蛋白阳性组的敏感率均低于P－糖蛋白阴性组。其中，对长春新碱(VCR)、阿霉素(ADM)、平阳霉素(PYM)、丝裂霉素(MMC)4种药物的敏感率在两组间统计学上有显著差异。

3 讨论

头颈部恶性肿瘤自发产生P－糖蛋白。人们发现，P－糖蛋白存在较为普遍，许多正常组织均有表达。P－糖蛋白阳性的肿瘤大都起源于过度表达P－糖蛋白的组织，如肾上腺、肾脏、结肠等[1-6]。Fojo认为，此种现象的原因可能为正常细胞转化成肿瘤细胞后，P－糖蛋白的表达继续被维持[2]。P－糖蛋白表达可以自发产生，引起内在性多药耐药;亦可使用化疗药物后继发产生，导致获得性多药耐药。本组47例未行化疗的头颈部恶性肿瘤中，P－糖蛋白阳性27例(57%)。这表明头颈部恶性肿瘤存在自发性的P－糖蛋白表达，与Kelly的结果一致[6]。化疗是否促进头颈部恶性肿瘤的P－糖蛋白表达尚需大量样本作化疗前后的对照观察。

P－糖蛋白倾向在分化高的肿瘤中表达。除分化程度外，P－糖蛋白与肿瘤分期、淋巴结转移无关，其它作者也有类似报道[5]。一般认为，P－糖蛋白在正常组织中具有排出细胞内毒物和化谢产物的功能，可能是细胞的一种自我保护机制，而Kaye推测多药耐药肿瘤细胞中这种保护作用增强[1]。上述P－糖蛋白表达差异的现象是否导致分化不同的肿瘤细胞排出细胞内药物功能的不同，即是耐药性不同，尚需进一步研究。

P－糖蛋白表达与头颈部恶性肿瘤内在耐药性密切相关。临床上，头颈部恶性肿瘤被认为是对初始化疗不敏感的肿瘤，预示其内在耐药性存在。本文结合免疫组化和药敏试验的结果，发现P－糖蛋白表达与长春新碱(VCR)、阿霉素(ADM)、平阳霉素(PYM)、丝裂霉素(MMC)的耐药关系密切，提示P－糖蛋白表达与头颈部恶性肿瘤的内

维普资讯 http://www.cqvip.com

在性多药耐药有关。业已证实，引起多药耐药现象的药物为天然产生的疏水性细胞毒物，如植物碱类、蒽环类、放线菌素类等[1]，对于平阳霉素是否涉及头颈部恶性肿瘤的多药耐药，有必要深入研究。值得注意的是，P－糖蛋白阳性的肿瘤有对药物敏感的病例，少数阴性肿瘤也存在对药物不敏感。可以推测，P－糖蛋白的表达也不是头颈部恶性肿瘤多药耐药性形成的唯一机制。

头颈部恶性肿瘤有自发性的P－糖蛋白表达，并与肿瘤的临床内在性多药耐药关系密切。用免疫组化检测P－糖蛋白的存在，有助于化疗药物筛选，并预测化疗效果。特别是随着P－糖蛋白介导的多药耐药逆转在临床上应用，P－糖蛋白的检测更具意义。

参 考 文 献

1.Kaye SB.Br J Cancer,1988;58:691.
2.Fojo AT,et al.Proc Natl Acal Sci USA,1987;84:265.
3.Chan HSL.et al.J Clin Oncol.1990;8:689.
4.Itsub M,et al.Cancer,1994;73:298.
5.Kelly DJ,et al.Arch Otolaryngol Head Neck Surg,1993;119:411.
6.Ito Y,et al.Cancer,1989;63:1534.
7.顾 平，等.中华肿瘤杂志，1993;15:438

(收稿日期 1996－11－11)

The expression significance of P－glycoprotein in head and neck cancer

Hu Guohua, et al

Department.of Otolaryngology,The College of Clinical Medicine

The expression of P－glycoprotein was detected in 47 cases of untreated head and neck cancer using immunohistochemical ABC method.For comparative purposes.the chemosensitivity tests in vitro to eight kinds of antineoplastic drugs were performed in 43 cases of tumor by means of argyrophilic staining of nucleolar organizer regions (AgNOR).The results showed that the total positive staining of P－glycoprotein was 57%.The chemosensitivities to VCR,ADM,PYM,MMC in the group of P－glycoprotein positive staining were significantly lower than those in the group of P－glycoprotein negative staining($P<0.05$).The results indicate that P－glycoprotein expressing spontaneously in head and neck cancer is associated with intrinsic clinical multidrug resistance.

KEY WORDS Head and neck cancer; Mdr1 gene; P－glycoprotein; Immunohistochemical; AgNOR; Multidrug resistance