DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.022
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
1176 2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)12-1176-03

# 膀胱移行细胞癌P-糖蛋白的表达及其在肿瘤复发中的意义

袁建林[1],王 禾[1],王鹏飞[1],胡沛臻[2],马福成[2] (第四军医大学附属西京医院:[1]泌尿外科;[2]病理科;西安 710033)

提 要:目的 研究P-糖蛋白在膀胱移行细胞癌中的表达及其在肿瘤复发中的意义。方法 应用S-ABC免疫组织化学方法检测80例膀胱移行细胞癌组织和20例正常膀胱粘膜组织中P-糖蛋白的表达。结果 膀胱移行细胞癌组织P-糖蛋白表达阳性率明显高于正常膀胱粘膜组织($P<0.01$),灌注化疗后复发肿瘤P-糖蛋白的阳性表达率明显高于初发肿瘤($P<0.01$)。结论 P-糖蛋白介导的多药耐药是膀胱癌腔内灌注化疗失败、肿瘤复发的重要原因。

关键词:膀胱肿瘤;多药耐药;P-糖蛋白;免疫组织化学
中图法分类号:R737.14;R341.32 文献标识码:A

# Expression of P-glycoprotein in transitional cell carcinoma of urinary bladder and its significance in tumor recurrence

YUAN Jian-lin, WANG He, WANG Peng-fei, HU Pei-zhen, MA Fu-cheng (Department of Urological Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China)

**Abstract**: Objective To explore the expression of P-glycoprotein in bladder transitional cell carcinoma and the significance in tumor recurrence. Methods The expression of P-glycoprotein in specimens of 80 cases of urinary bladder transitional cell carcinoma and 20 normal bladder samples were detected with stroptavidin-biotin-peroxidase complex (S-ABC) methods. Results The expression of P-glycoprotein in bladder transitional cell carcinoma was higher than that in normal bladder samples ($P<0.01$). Recurrent bladder cancer is more likely to express the protein than primary tumor ($P<0.01$). Conclusion The P-glycoprotein-mediated MDR may be an important cause of recurrent of bladder cancer after treated by perfusion chemotherapy.

**Key word**: bladder neoplasm; MDR; P-glycoprotein; immunochemistry

膀胱肿瘤具有易复发的生物学特征,术后应用化疗药物膀胱腔内灌注治疗能明显提高预后。但化疗仍存在许多问题,其中多药耐药性(Multidrug resistance, MDR)是化疗失败的重要因素。目前人们已认识到肿瘤产生MDR的机制有多种,其中由P-糖蛋白(P-glycoproteiin, P-gp)过度表达介导的MDR尤其受到重视。为探讨P-糖蛋白的表达在膀胱移行细胞癌中的意义及其与肿瘤复发的关系,对80例临床膀胱移行细胞癌标本和20例正常膀胱粘膜组织用S-ABC免疫组化方法检测P-gp170。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源

将我院1992~1996年间经手术证实的膀胱移行细胞癌石蜡块标本为研究对象,标本经10%甲醛固定,常规石蜡包埋,HE染色证实均为移行细胞癌。按WHO 1978年UICC分级标准:$G_1$~$G_2$ 50例,$G_3$ 30例。Ta~$T_1$ 56例,$T_2$~$T_4$ 24例,其中60例为初发膀胱癌,20例为腔内丝裂霉素C灌注化疗失败的复发肿瘤,另选正常肾组织标本5例及正常膀胱粘膜组织20例(均来源于手术患者)作为正常对照。全部石蜡块行5 μm连续切

基金项目:全军"九五"医药卫生科研基金资助项目(96Q083);陕西省自然科学基金资助项目(96SM50)
作者简介:袁建林(1964—),男,陕西省西安市人,博士,主治医师,讲师,主要从事膀胱肿瘤诊治方面的研究,发表论文18篇。电话:(029)3375321
收稿日期:2000-09-20;修回日期:2000-11-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

片, 60 ℃烘烤 2 h, 待免疫组化 S-ABC 染色用。

### 1.2　试剂

P-gp170 单克隆抗体($UIC_2$), P-gp170 检测试剂盒及 DAB 显色剂均购自博士德公司, 按说明, $UIC_2$ 单抗经微波修复 30 min。

### 1.3　结果判定

根据 P-gp170 表达部位及表达形态, 据 DAB 阳性染色物反应程度分为: (一)阴性反应, (+)阳性反应, (++)强阳性反应, 以正常鼠血清代替一抗为阴性对照, 以 PBS 代替一抗为空白对照, 以正常肾组织表达染色 P-gp170 为阳性对照。

### 1.4　统计学方法

统计阳性标本例数计算阳性率, 各组阳性率的比较应用 $\chi^2$ 检验。

## 2　结果

### 2.1　P-糖蛋白 (P-gp170)的定位与分布

P-糖蛋白阳性物质呈棕黄色颗粒状, 主要位于膀胱移行细胞癌细胞的胞浆中, 在肿瘤组织中阳性细胞以弥散性分布为主, 见图 1, 部分呈局灶性分布, 少数散在分布。

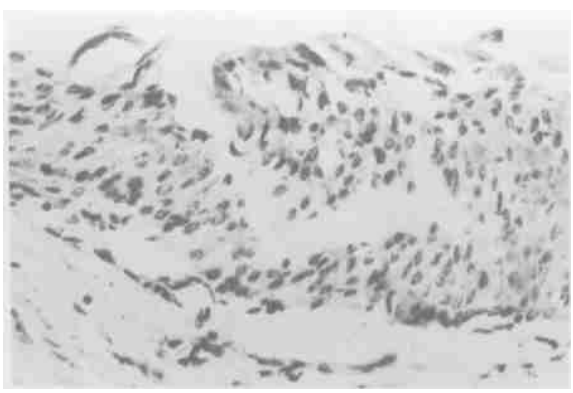


图 1　P-gp 阳性反应物质位于膀胱移行细胞癌细胞胞浆中　(S-ABC×400)

**Fig 1　P-gp immuno positive substance in cytoplasm of bladder transitional cell carcinoma**　(S-ABC×400)

### 2.2　P-糖蛋白 (P-gp170)的表达阳性率

80 例膀胱移行细胞癌中有 34 例呈阳性染色, 阳性表达率为 42%; 20 例正常膀胱粘膜组织中仅 3 例呈阳性反应, 阳性表达率为 15%(3/20), 两者间比较差异非常显著($P<0.01$)。P-糖蛋白(P-gp170)表达阳性率在初发和复发性膀胱癌间的比较: 60 例初发膀胱癌中 33%(20/60)呈 P-gp170阳性或强阳性表达; 20 例腔内丝裂霉素 C 灌注化疗失败后复发肿瘤中 70%(14/20)呈 P-gp170 阳性或强阳性表达, 初发与复发性膀胱癌间比较差异非常显著($P<0.01$)。

P-糖蛋白(P-gp170)表达阳性率在病理各级间的比较按肿瘤组织病理学分级, $G_1$ ~ $G_2$ 级肿瘤 P-gp170 阳性表达率为 32%(16/50), $G_3$ 级肿瘤 P-gp170 阳性表达率为 60%(18/30), 两组间比较差异显著($P<0.05$); P-糖蛋白(P-gp170)表达阳性率在临床分期间的比较按组织学分期, Ta ~ $T_1$ 期肿瘤 39%(22/56)呈阳性表达, $T_2$ ~ $T_4$ 期肿瘤 50%(12/24)呈阳性表达, 两组间比较差异不显著($P>0.05$)。实验结果提示, 膀胱癌 P-gp170 的表达明显高于正常膀胱粘膜($P<0.01$), 化疗后复发性膀胱癌 P-gp170 的表达率明显高于初发肿瘤($P<0.01$), 膀胱移行细胞癌 P-糖蛋白(P-gp170)的表达率与肿瘤病理组织学分级有显著相关性, 由此表明, P-gp170 介导的 MDR 是膀胱癌化疗后复发的重要原因。

## 3　讨论

1970 年 Biedler 与 Riehm 首先在小鼠白血病细胞 P388 及中国仓鼠肺细胞中发现多药耐药(MDR)现象, MDR 是指由 1 种药物诱发, 而同时对其他多种结构和作用机制完全不同的抗癌药物产生交叉耐药的现象, 它能导致某些联合化疗方案的失败。随后的研究相继发现 P-糖蛋白(P-gp170)与 MDR 有关, 并成功地克隆了 mdr1 基因, 使 MDR 发生机制的研究取得了突破性的进展[1]。

P-糖蛋白是一个由 mdr1 基因编码的分子量为 170 $\times 10^3$ 的细胞膜糖蛋白, 由 1 280 个氨基酸组成, 与细菌膜转运蛋白具有高度同源性, 是 ATP 结合盒(ATP-Binding cassette, ABC)转运蛋白超家族成员之一。P-糖蛋白是一种能量依赖的药物外排泵, 即将药物由细胞内泵到细胞外, 使细胞内药物浓度减少, 于是作用到药物靶位——细胞核上的药物浓度相应减少, 从而产生耐药现象。最近发现的两个新药排出泵, 多药耐药相关蛋白(MRP)和乳腺癌耐药蛋白(BCRP)也同属 ABC 超家族[2,3]。

以往人们认为, P-糖蛋白主要存在于具有分泌功能的细胞中, 特别是肝、胰、肾、肾上腺等组织, 而膀胱组织中 mdr1 基因表达水平较低。近年的研究提示, 膀胱癌组织, 特别是复发性膀胱癌组织亦有高水平的 mdr1 基因表达。Clifford 等[4] 应用 RT-PCR 方法在 32 例膀胱癌标本中检测到了 mdr1 基因; Beson 等[5] 应用流式细胞仪检测到 P-糖蛋白在膀胱癌中的阳性率约为 71%; Gao 等[6] 应用免疫组织化学方法和计量 RT-PCR 方法发现 mdr1 基因在蛋白水平的阳性率为 77%, 在 mRNA 水平的阳性率为 52%。

本研究结果显示: 丝裂霉素 C 化疗后复发膀胱癌 P-糖蛋白的表达率明显高于初发肿瘤, 说明 P-糖蛋白的高表达是膀胱肿瘤丝裂霉素 C 化疗失败的重要原因。对于肿瘤 MDR 的机制现在有两种假说: 一是化疗药物本身具有对肿瘤细胞的选择作用, 即在化疗药物存在下, 具有耐药性的细胞存活而不具有耐药性的细胞死亡; 二是化疗药物对 P-糖蛋白低水平的细胞诱导

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

mdr1 基因的表达。Hu 等[7] 的研究表明, mdr1 基因可以被抗癌药物如长春新碱, 阿霉素等激活, 化疗药物本身可能在转录水平直接促进 mdr1 基因的表达。本实验中 P-糖蛋白在正常膀胱粘膜表达水平较低, 而在膀胱移行细胞癌表达较高, 且复发与初发性膀胱移行细胞癌中的表达有明显差异, 这些资料提示, 膀胱移行细胞癌多药耐药的获得与后一种假说的关系可能更大。

本实验中, P-糖蛋白的阳性表达率与膀胱移行细胞癌的分级之间差异显著, 而与临床分期无显著相关性, 这与 Beson 等[5] 的结果一致, 而韩瑞发等[8] 认为 P-gp170 的阳性表达率与肿瘤的分级分期相关, 而且在 Clifford 等[4] 的实验中, mdr1 mRNA 的水平与肿瘤的分级分期有显著的相关性。这些差异可能与样本例数及检测方法等原因有关。

P-糖蛋白过度表达介导的 MDR 可能是导致化疗失败及膀胱癌复发的重要原因, 联合采用耐药拮抗剂逆转 MDR 是克服肿瘤临床耐药、提高化疗效果的重要手段, 钙离子阻断剂如维拉帕米和红霉素均为局部用药毒性极低的耐药拮抗剂, 它们与抗癌药物联合应用, 可能在膀胱癌治疗中有广阔的应用前景, 这些是本研究目前正在开展的工作。

参考文献:

[1] Gottesman M M, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter[J]. Annu Rev Biochem, 1993, 62: 385—427.

[2] 王鹏飞, 袁建林, 于茂生, 等. 肿瘤多药耐药相关蛋白及其在膀胱肿瘤中的研究[J]. 国外医学: 泌尿系统分册, 1998, 18(增刊): 125—129.

[3] Doyle L A, Yang W, Abruzzo L V, *et al*. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(26): 15 665—15 670.

[4] Clifford S C, Thomas D J, Neal D E, *et al*. Increased mdr1 gene transcript levels in high-grade carcinoma of the bladder determined by quantitative PCR-basede assay[J]. Br J Cancer, 1994, 69(4): 680—686.

[5] Benson M C, Giella J, Whang I S, *et al*. Flow cytometric determination of the multidrug resistant phenotype in transitional cell cancer of the bladder implications[J]. J Urol, 1991, 146(4): 982—987.

[6] Gao L, Duchrow M, Windhovel U, *et al*. Expression of MDR1 Mrna and encoding P-glycoprotein in archival formalin-fixed paraffin-embedded gall bladder cancer tissues[J]. Eur J Cancer, 1998, 34(10): 1 612—1 617.

[7] Hu X F, Slater A, Wall D M, *et al*. Rapid up-regulation of mdr1 expression by anthracyclines in a classical multidrug-resistant cell line[J]. Br J Cancer, 1995, 71(5): 931—936.

[8] 韩瑞发, 吴长利, 张广利, 等. 膀胱癌多向耐药基因 P-gp170 的研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 1994, 15(6): 419—421.

(编辑 谢义霞)

# 经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2000)12-1178-01

## 下腔静脉后输尿管 3 例报告

## Report of 3 case of postcaval ureter

程 伟 (安徽省安庆市立医院泌尿外科, 安庆 246004)

例 1, 男, 38 岁, 右侧腰部胀痛 2 年, 绞痛伴血尿共发作 4 次, 于 1995 年 5 月入院。体检无异常发现, B 超示右肾中度积水, 泌尿系 X 线平片右肾盂区可见一不透光阴影, 约 1.2 cm×1.0 cm 大小, 排泄性尿路造影示右肾盂肾盏中度积水, 中下段输尿管未显影, 左肾正常。肾图示右肾呈梗阻曲线伴中度功能损害, 未做逆行造影。诊断为右肾盂结石伴中度肾积水。按肾盂结石进行手术, 术中发现肾盂以下的输尿管紧贴腰椎, 平第 3~4 腰椎处右输尿管环绕下腔静脉, 分离肾盂与输尿管连接部位上方 1 cm 处切断, 将肾盂结石向下挤移, 取出结石 1 枚, 拉出断端, 将输尿管移至腔静脉前使之复位, 行对端常规吻合, 在吻合口处置引流, 术后恢复顺利, 3 周痊愈出院。

例 2, 女, 30 岁。右腰痛、尿频、血尿于 1997 年 9 月入院。逆行尿路造影表现为右肾及上段输尿管明显扩张, 并向中线移位呈鱼钩状。在硬膜外麻醉下手术复位输尿管, 采用 Harrill 方

(下转 1182 页)

作者简介: 程 伟(1972—), 男, 安徽省安庆市人, 医师。电话: (0556)5542664

收稿日期: 2000-05-01; 修回日期: 2000-09-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net