DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.06.014

HCO_3^- 交换蛋白酪氨酸位点磷酸化,用酪氨酸蛋白激酶抑制剂可阻止磷酸化作用。

肾上腺素是体内重要的神经体液因子,可增强心肌细胞兴奋-收缩偶联,具有正性肌力作用。但同时使代谢作用增强,H^+、CO_2 及 HCO_3^- 产生增多,继而导致心肌细胞 pHi 改变。在正常生理情况下,肾上腺素增强 Cl^-/HCO_3^- 交换活性,排出过多的 CO_2 水化产生的 HCO_3^-,具有代偿意义,使心肌细胞的酸碱缓冲容量扩大,有利于细胞应付内外环境 pH 的突然或剧烈变化,以维持心肌收缩力[10]。但在病理情况如心力衰竭时,阴离子交换蛋白表达增加及/或肾上腺素等神经体液因子使 Cl^-/HCO_3^- 交换活性过度增强,将引起细胞内酸中毒,后者可导致细胞内 Ca^{2+} 超负荷,引起心律失常,并导致兴奋—收缩偶联障碍。这可能是心力衰竭发生发展的病理生理机制之一。ATP 是细胞能量的供应者,心衰时 ATP 生成减少,可能减少了对心肌细胞 Cl^-/HCO_3^- 交换活性的增强作用,继而减少了酸碱缓冲容量,但其病理生理意义有待进一步探讨。

参考文献:

[1] Korichneva I, Puceat M, Cassoly R, *et al*. Cl^-/HCO_3^- exchange in developing neonatal rat cardiac cells: Biochemical identification and immunolocalization of band 3-like proteins[J]. Circ Res, 1995, 77(3): 556—564.

[2] Richards S M, Jaconi M E, Vassort G, *et al*. A spliced variant of AE1 gene encodes a truncated form of Band 3 in heart: the predominant anion exchanger in ventricular myocytes[J]. J Cell Sci, 1999, 112(Pt 10): 1 519—1 528.

[3] 黄 坚, 钱桂生, 李隆贵, 等. 大鼠心肌细胞阴离子交换蛋白免疫细胞化学定位的研究[J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(9): 654—657.

[4] Puceat M, Korichneva I, Cassoly R, *et al*. Identification of band 3-like protein and Cl^-/HCO_3^- exchanged in isolated cardiomyocytes[J]. J Biol Chem, 1995, 270(3): 1 315—1 322.

[5] Hoffmann P, Richards D, Heinroth-Hoffmann I, *et al*. Arachidonic acid disrupts calcium dynamics in neonatal rat cardiac myocytes[J]. Cardiovasc Res, 1995, 30(6): 889—898.

[6] Puceat M, Clement O, Vassort G. Extracellular MgATP activates the Cl^-/HCO_3^- exchanger in single rat cardiac cells[J]. J Physiology, 1991, 444: 241—256.

[7] Weill A E, Tisher C C, Conde M F, *et al*. Mechanisms of bicarbonate transport by cultured rabbit inner medullary collecting duct cells[J]. Am J Physiol, 1994, 266(3 Pt 2): F466—F476.

[8] Yamazaki T, Komuro I, Kudoh S, *et al*. Angiotensin Ⅱ partly mediates mechanical stress-induced cardiac hypertrophy[J]. Circ Res, 1995, 77(2): 258—265.

[9] Desilets M, Puceat M, Vassort G. Chloride dependence of pH modulation by β-adrenergic agonist in rat cardiomyocytes[J]. Circ Res, 1994, 75(5): 862—869.

[10] Puceat M, Vassort G. Neurohumoral modulation of intracellular pH in the heart[J]. Cardiovasc Res, 1995, 29(2): 178—183.

(编辑 薛国文)

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)06-0544-01

骨肉瘤 P-糖蛋白表达及其与预后的研究

Expression of P-glycoprotein in osteosarcoma and its prognostic significance

牟江洪, 王 东, 陈 俐, 李增鹏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所病理科, 重庆 400042)

人体多种肿瘤均有 P-gp 的高表达,P-gp 介导的多药耐药性(即经典多药耐药性)[1,2]可能是肿瘤化疗不敏感的重要原因,也是影响预后的重要因素。因此我们用 SP 法检测 80 例骨肉瘤中 P-gp 的表达,以期探讨其与骨肉瘤临床病理及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取我院 1968~1993 年间长骨中央型骨肉瘤 80 例,其中男性52 例,女性 28 例,男女比约为 2∶1,年龄 11~68 岁,平均23 岁;肿瘤大小 5~25 cm,平均 10 cm,其中手术切除标本75 例,活检标本5 例,均为术前未化疗标本。组织学分级参照Price 三级法,组织学分型参照 Dahlin's 分型及 WHO 新分型。全部病例均有随访,随访时间 1~25 年,总体 2 年生存率为 33.8%,5 年生存率为 18.3%。

1.2 免疫组化方法

抗人 P-gp 的鼠单克隆抗体 JSB1 及 S-P 免疫组化试剂盒均为ZYMED 公司产品(购自北京中山生物技术公司)。80 例骨肉瘤标本均经 10%中性福尔马林液固定,常规石蜡包埋,5 μm 石蜡切片。S-P 免疫组化染色,方法及步骤参照试剂盒说明进行,

(下转 548 页)

作者简介:牟江洪(1973—),男,四川省自贡市人,医师,主要从事骨肿瘤方面的研究。电话:(023)68757374

收稿日期:1999-04-19;修回日期:2000-02-28

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

[6] 金冬雁, 黎孟枫, 等译. 分子克隆—实验指南[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 1996. 16—27.
[7] Shenkar R, Schwartz M D, Terada L S, *et al*. Hemorrhage activates NF-κB in murine lung mononuclear cells *in vivo*[J]. Am J Physiol, 1996, 270(5 Pt 1): L729—L735.
[8] 何 新. 山莨菪碱的药理作用及作用机制[J]. 数理医药学杂志, 1998, 11(3): 250—51.
[9] Bernard G R, Artigas A, Brigham K L, *et al*. Report of American-European consensus conference on ARDS: definition, mechanism, relevant outcomes and Clincical trial coordination[J]. Intensive Care Med, 1994, 20(3): 225—232.
[10] 毕爱华 主编. 医学免疫学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1995. 291—292.

(编辑 潘式文)

(上接544页)

DAB显色, 苏木精复染。切片需经微波炉抗原修复, 一抗1∶50稀释, 二、三抗1∶100稀释。用PBS代替一抗作阴性对照。

1.3 统计学处理

P-gp表达与临床病理的关系用χ^2检验, P-gp阳性组与阴性组生存率行Kaplan-meier曲线法分析并经Log-rank检验, $P<0.05$为相差显著。

2 结果

2.1 骨肉瘤P-gp表达

P-gp阳性产物为棕褐色细颗粒状, 主要定位于肿瘤细胞膜, 部分胞浆中亦可见阳性。阳性细胞呈局灶、散在或弥漫分布。80例骨肉瘤P-gp阳性表达者29例(36%)。

2.2 骨肉瘤P-gp表达与临床病理的关系

骨肉瘤P-gp表达经χ^2检验与骨肉瘤患者年龄、性别、肿瘤大小、Price's分级和Dahlin's分型无关($P>0.05$), 但与WHO新分型显著相关, 骨肉瘤骨内高分化型P-gp表达明显低于其它三种类型($P<0.05$)。

2.3 骨肉瘤P-gp表达与预后的关系

将80例骨肉瘤分为P-gp阳性组与阴性组, 分别绘制Kaplan-Meier生存曲线。P-gp阳性组2年生存率24.13%, 5年生存率为0; 阴性组2年生存率49.04%, 5年生存率为21.59%, 经Log-rank检验, 两组生存率相差显著($\chi^2=12.02$, $P<0.01$), P-gp阳性组生存率明显低于阴性组。

3 讨论

多药耐药性(MDR)的产生是肿瘤化疗失败的主要原因之一。自从1970年发现P-gp以来, 人们发现MDR与P-gp、谷胱甘肽S-转移酶(Glutathione stransferases, GST)、DNA拓扑酶Ⅱ(NDA TopoⅡ)等多种细胞内物质有关, 其中P-gp在肿瘤细胞中的高表达是肿瘤产生MDR的重要原因之一[1,2], 已引起广泛的关注。

P-gp是mdr1基因编码的一种能量依赖性转运蛋白, 位于细胞膜, 分子量为170× 10^3。研究表明P-gp在肾、肾上腺和胎盘等正常组织中高表达, 在脑、肺、肝、脾及结肠等中度表达[3], 并主要定位于一些具有分泌排泄功能的细胞, 故认为在正常组织中, P-gp起着对毒性化合物的清除作用[4]。在乳腺癌、肺癌、脑胶质细胞瘤、神经母细胞瘤等多种恶性肿瘤中P-gp均有表达, 并证实P-gp能与亲脂性抗肿瘤药物结合, 在ATP参与下将药物转运到细胞外, 使细胞内药物浓度下降, 而产生P-gp介导的MDR(即经典多药耐药性)[2]。

尽管通过术前化疗及术后辅助化疗的改进, 骨肉瘤患者生存率有所提高, 但5年生存率仍低于50%, 其中多药耐药性是重要原因之一。本文对80例骨肉瘤中P-gp的研究结果表明, P-gp表达者有29例(36%), 提示P-gp表达是骨肉瘤产生MDR的重要因素之一可部分解释骨肉瘤内在抗药性的原因, 并对指导制订化疗方案有一定临床应用价值。对P-gp阳性的骨肉瘤患者, 在化疗中加入抗药性调节剂(或称化学增敏剂), 通过竞争性地与P-gp的特殊位点结合, 抑制P-gp对抗肿瘤药物的转运, 使MDR得以逆转。

Baldini等[5]对92例高分化骨肉瘤的研究表明, 28例骨肉瘤P-gp高表达, P-gp高表达组生存率明显降低, 而P-gp表达与性别、年龄、坏死程度、组织学分型无关。本文对80例骨肉瘤P-gp的研究发现, 29例骨肉瘤有P-gp表达(36%)。P-gp阳性组2年生存率为24.13%, 5年生存率为0; 阴性组2年生存率为49.4%, 5年生存率为21.50%, 两者差异显著($\chi^2=12.02$, $P<0.01$), P-gp阳性组生存率明显低于阴性组, 这一结果提示P-gp可能成为骨肉瘤有价值的预后指标。P-gp表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、Price分级及Dahlin's分型无关($P>0.05$), 但与WHO新分型显著相关, 骨内高分化型骨肉瘤P-gp表达明显低于其它3种类型($P<0.05$), 这可能是骨内高分化型骨肉瘤预后较好的原因之一。总之, 骨肉瘤P-gp的表达是骨肉瘤MDR产生的主要原因之一, 并对患者化疗效果、预后的评估, 指导制定化疗方案有一定临床价值。

关键词: 骨肉瘤; P-糖蛋白; 预后; 多药耐药性
中图法分类号: R738.03 文献标识码: B

参考文献:

[1] Bradley G, Juranka P F, Ling V. Mechanisms of multidrug resistance[J]. Biochim Biophys, 1988, 948(1): 87—128.
[2] Gottesman M M, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter[J]. Annu Rev Biochem, 1993, 63(3): 385—427.
[3] 李 羲, 郭先健, 王 东, 等. P—糖蛋白在正常胎儿组织中的表达[J]. 第三军医大学学报, 1995, 17(6): 473—476.
[4] Kartner N. Cell surface P— glycoprotein in associated with multidrug resistance in mammalian lines[J]. Science, 1983, 221(6): 12 855—12 860.
[5] Baldini N, scotlandi K, Manara M. C, *et al*. Expression of P-glytoprotein in high-grade osteosarcomas in relation to clinical outcome[J]. N Engl J Med, 1995, 333(3): 1 380—1 385.

(编辑 张大春)

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