DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.08.025
第22卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 8
2000年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2000

文章编号:1000-5404(2000)08-0773-03

论著

肺癌 MDR1 基因表达与临床病理特征的关系

王延明[1],王爱民[2],陈志霞[1],李 卫杰[2] (解放军252医院:[1]胸外科;[2]试验中心;保定 071000)

提 要:目的 探讨MDR1基因表达与肺癌病理特征的关系。方法 应用逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)技术对原发性肺癌,癌旁组织及淋巴结中MDR1基因的表达进行检测分析。结果 肺癌组织及癌旁组织中MDR1阳性率分别为54%和10%,两者比较差异显著($P<0.001$);转移淋巴结组织MDR1阳性率为53%,而非转移淋巴结组织未见MDR1阳性表达;各病理类型中不同分化程度肿瘤的MDR1阳性分布不同,高分化腺癌的MDR1阳性率较高(73%)。术前化疗病例的MDR1阳性率(78%)高于未化疗者(47%)。随诊发现,MDR1阳性者肿瘤复发、转移的发生率(50%)高于MDR1阴性者(13%)。结论 肺癌组织中MDR1基因表达增高,术前化疗可能起诱导作用;MDR1的过度表达与其肿瘤大小、临床分型,TNM分期无明显关系($P>0.05$);转移淋巴结中的MDR1基因表达与其对应癌组织具有一致性。

关键词:肺癌;MDR1表达
中图法分类号:R394;R734.2 文献标识码:A

Relationship of MDR1 gene expression and clinical pathological features of lung cancer

WANG Yan-ming, WANG Ai-min, CHEN Zhi-xia, LI Wei-jie (Department of Thoracic Surgery, No. 252 Hospital of PLA, Baoding 071000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of MDR1 (multidrug resistance receptor) gene expression and clinical pathological features of lung cancer. Methods The expression of MDR1 gene was detected with reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) in lung cancer and paracancerous tissues and lymph node tissues. Results Positive expression rates of MDR1 were 54% in lung cancer tissues and 10% in paracancerous tissues ($P<0.01$). The expression rate in metastasized lymph node tissues was 53%, while no expression was found in non-metastasized lymph node tissues. Positive expression rate was correlated to the differentiation of lung tumors. MDR1 positive rate was higher in pre-operative chemotherapy cases (78%) as compared with the non-chemotherapy cases (47%). The rates of tumor incidence, relapse and metastasis were higher in those with MDR1 expression (50%) than in those with negative expression (13%). Conclusion The over-expression of MDR1 in lung cancer tissues might be induced by pre-operative chemotherapy and it is not related with the tumor sizes, clinical types and TNM stages. However, the expression of MDR1 gene in metastasized lymph nodes is consistent with the relative cancer tissues.

Key words: lung cancer; MDR1 expression

肺癌的多药耐药(Multidrug resistance, MDR)机制复杂,是临床化疗失败的常见原因之一,而肿瘤组织中多药耐药基因(Multidrug resistance gene, MDR1)的表达增高是影响MDR的主要因素。为此,从1996年12月至1998年12月,我们采用逆转录-多聚酶链反应(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)方法,检测了41例原发性肺癌组织、癌旁组织及34枚肿大淋巴结组织的MDR1基因表达,以探讨肺癌组织中

作者简介:王延明(1961—),男,山东省人,副主任医师,主要从事胸部肿瘤的多药耐药性方面的研究,发表论文46篇。电话:(0312)2025245—58216

收稿日期:1999-10-11;修回日期:2000-05-20

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

MDR1 基因表达与其病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

男26例，女15例，平均年龄59岁。9例手术前短程化疗，其它病例术前未接受任何形式的抗肿瘤治疗。检测标本取自上述病例中手术切除之肺癌组织、癌旁组织（距离肿瘤3~5 cm处）和21例患者的34枚淋巴结组织各1块，迅速投入液氮保存。全部病例病理检查为腺癌22例、鳞癌17例，小细胞肺癌2例。

1.2 主要仪器及试剂

毛细管PCR仪为美国Idaho公司产品，凝胶成像系统：Kodak digital science system dc-40，AMV逆转录酶、RNA酶抑制剂、dig(di)15primers、taq酶和PCR markers等购自Promega公司。

1.3 RNA提取及RT-PCR

按照Chomczynski[1]的方法提取组织总RNA，cDNA的合成采用20 μl逆转录反应体系，42 ℃反应1 h，95 ℃ 5 min灭活AMV。RT-PCR参照Noonan[2]的方法，PCR反应体系内含cDNA 2 μl，10× buffer 2 μl，4× dNTP 2 μl，MDR1和β-actin引物各2 μl，Taq酶1 U，用水补至20 μl，PCR反应在0.2 ml薄壁管当中进行，毛细管PCR仪扩增反应参数为：94 ℃预变性2 min；94 ℃变性20 s；55 ℃退火20 s；72 ℃延伸30 s；30个循环；72 ℃后延伸7 min。MDR1和β-actin进行扩增PCR。

1.4 电泳及成像

MDR1和β-actin扩增产物在2%琼脂糖凝胶上电泳，凝胶成像系统进行分析，MDR1和β-actin的比值表示MDR1的相对表达水平，MDR1∶β-actin> 0.05为阳性。

1.5 统计学处理

癌组织与癌旁组织的MDR1阳性率比较行χ^2检验。

2 结果

图1显示了肺癌组织、癌旁组织RT-RCR产物的凝胶电泳结果，MDR1和β-actin的扩增产物分别为536 bp和336 bp。在肺癌组织中MDR1基因表达的阳性率为54%(22/41)，癌旁组织是10%(4/41)，两者比较差异非常显著($P<0.001$)；在34枚肿大淋巴结组织中，病理证实有癌转移的19枚(源自9例病人)，反应性增生15枚，MDR1阳性率为53%(10/19)，其中癌组织MDR1阳性的转移淋巴结组织均阳性；由表1发现MDR1的阳性表达与肺癌的临床分型、肿瘤大小、TNM分期及淋巴结转移与否各指标间癌组织MDR1表达的阳性率相近；但不同病理类型肺癌的MDR1阳性分布不同，见表2，高中分化腺癌的MDR1阳性率分别占73%(8/11)和60%(3/5)，低分化腺癌为17%(1/6)，而鳞癌的MRP阳性分布是：高分化鳞癌为63%(5/8)，中度分化鳞癌为50%(2/4)，低分化鳞癌为60%(3/5)。

从表1还可以看出术前化疗肺癌的MDR1阳性率占78%(7/9)，未化疗者为47%(15/32)。对1998年1月以前手术的31例患者进行6个月至2年随访发现，16例MDR1阳性者中，8例复发或转移，发生率高达50%；而MDR1阴性的15例中，2例复发，发生率为13%。

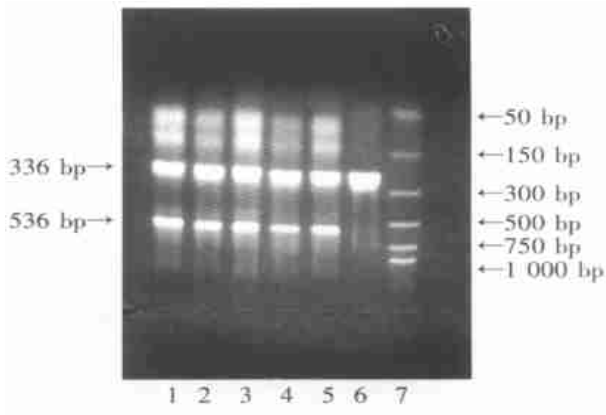


图1 不同组织中MDR1 RT-PCR产物的凝胶电泳
1，3，5：癌组织；2，4，6：相关癌旁组织；7：标准分子量

Fig 1 Products of gel electrophoresis of MDR1 RT-PCR of different tissues

1，3，5：Cancer tissues；2，4，6：Relative paracancerous tissues；7：Molecular marker

表1 MDR1表达与肺癌临床病理特征的关系

Tab 1 Ralationship between MDR1-positive rate and pathological features of lung cancer

Factors	*n*	No. positive	%
Clinical type			
Central	12	6	50
Peripheral	29	16	55
Tumor size			
T1 2	29	15	52
T3 4	12	7	58
Lymph node metastasis			
No	22	12	55
N1-2	19	10	53
TNM grade			
Ⅰ+Ⅱa	27	15	56
Ⅱb+Ⅲ	14	7	50
Preoperative chemotherapy			
Y	9	7	78
N	32	15	47

Y：Chemotherapy；N：Without chemotherapy

表2 不同分化肺癌组织中MDR1表达分布

Tab 2 Expressin of MDR1 gene in different differentiated lung cancer

Groups	*n*	No. positive	%
Adenocarcinoma			
Well-differentiation	11	8	73
Moderate-differentiation	5	3	60
Poor-differentiation	6	1	17
Squamous cell carcinoma			
Well-differentiation	8	5	63
Moderate-differentiation	4	2	50
Pool-differentiation	5	3	60
Small cell lung cancer	2	0	0

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

3　讨论

多药耐药是指肿瘤对几种结构、功能不同的抗癌药物的耐受, 其产生的生物基础是位于人类第 7 号染色体上的 MDR1 基因表达增高, 导致其编码产物糖蛋白 P-170 大量增加, 使药物泵出细胞的功能加强, 降低了肿瘤细胞内抗癌药物浓度, 从而影响临床化疗效果。近年来虽然人们对肿瘤 MDR 进行的很多探讨[3~5], 但以往的报道大多是对病理保存标本的回顾性研究。我们应用 RT-PCR 方法对 41 例肺癌组织、癌旁组织及部分淋巴结组织的新鲜标本进行检测, 结果表明: MDR1 在肺癌组织中表达增高, 癌旁组织中也有 MDR1 表达, 癌组织的 MDR1 阳性率与癌旁组织比较差异显著($P<0.001$)。癌旁组织中 MDR1 阳性说明癌旁肺组织可能有肿瘤细胞浸润。本研究也发现肺癌组织中 MDR1 表达与肿瘤的临床分型、肿瘤大小、TNM 分期无相关关系, 这与文献[5] 报道相符。单从 MDR1 表达与淋巴结转移与否分析亦无直接关系, 然而对淋巴结组织的检测显示, 10 枚 MDR1 阳性之转移淋巴结组织均为癌组织 MDR1 阳性的肺癌标本, 而 9 枚 MDR1 阴性的转移淋巴结, 其相应肺癌组织中未见 MDR1 表达; 在取自 3 例 MDR1 阳性病人的各 2 枚癌转移淋巴结中, MDR1 均呈阳性, 而上述相同病人的多枚反应性增生淋巴结组织中未检测到 MDR1 表达。这表明转移淋巴结组织中的 MDR1 阳性与相应癌组织具有一致性, 而非转移淋巴结组织与肺癌原发灶中的 MDR1 表达无关。其转移淋巴结组织与肺癌组织中的 MDR1 共同表达, 可能是肿瘤化疗失败, 乃致复发, 扩散的根源。

本研究还显示, 肺腺癌中 MDR1 表达多分布于肿瘤分化良好的病例, 分化差者 MDR1 阳性少; 肺鳞癌的 MDR1 阳性分布似于腺癌不同, 不同分化程度的鳞癌中 MDR1 阳性分布相近; 2 例小细胞肺癌未发现 MDR1 表达, 而且经过术后化疗和放疗, 均已分别无癌生存 1 年以上。这种原发性肺癌组织的 MDR1 阳性分布状况符合临床上低分化腺癌和小细胞肺癌对化疗药物敏感的规律。在本组化疗后病例, 虽为术前短期给药, 但其 MDR1 阳性表达高于未化疗者, 这表明化疗药物可能诱导 MDR1 的产生。部分病例术后随访结果显示, 癌组织 MDR1 阳性病人的肿瘤复发、转移发生率高于 MDR1 阴性者, 这现象在其他恶性肿瘤的研究中也得到了同样结论[6]。说明 MDR1 表达阳性不仅是病情发展过程中肿瘤细胞自身 MDR1 基因扩增以及化疗后肿瘤细胞产生了获得性耐药的结果, 而且还可能反映肿瘤易复发、转移的恶性生物学特性。

参考文献:

[1] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction[J]. Anal Bioch, 1987, 162(1): 156—159.

[2] Noonan K E, Bech C, Holzmayer T A, *et al*. Quantiative analysis of MDR1 gene expression in human tumor by polymcrasc chain reaction[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(8): 7 160—7 164.

[3] Linn S C, Pined H M, Van A O, *et al*. Expression of drug resistance proteins in breast cancer, in relation to chemotherapy[J]. Int J Cancer, 1997, 71(4): 787—791.

[4] Zhou C, Zittoun R, Marie J P, Expression of multidrug resistanced-associated protein (mrp) and multidrug resistance(mdr-1) gene in acute myeloid leukemia[J]. Leukemia, 1995, 9(5): 1 661—1 665.

[5] 陈克能, 邢海平, 程邦昌, 等. 食管癌多药耐药基因的表达与病理学的关系[J]. 中华医学杂志, 1998, 78(6): 462—463.

[6] Gottesman M M. How cancer cells evade chemotherapy: sixteenth Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture[J]. Cancer Res, 1993, 53(4): 747—754.

(编辑　陈聪连)

(上接 772 页)

2　结果

20 例褥疮中, 显效 13 例, 占 65%; 有效 7 例, 占 35%。

显效的 13 例患者全身营养状况良好, 能自动变换体位。有效的 7 例患者全身营养状况均较差、消瘦、生活不能自理, 不能自动变换体位, 其中 4 例患者神志不清, 大小便失禁。

3　讨论

近年来人们十分重视冷沉淀的应用研究, 已有报道将其用于烧伤、胃溃疡等疾病的治疗[2,3]。本研究表明, 冷沉淀在促进褥疮创面的愈合方面也有良好的疗效。

用冷沉淀治疗褥疮面能很快控制炎症和渗出, 具有治愈时间短, 恢复迅速等特点。但从 7 例治疗有效患者的观察中发现, 冷沉淀疗效与患者的全身情况、褥疮的分期及局部的受压情况有直接的关系。在药物治疗的同时, 还需加强全身营养, 防止局部长时间受压, 保持局部的干燥清洁, 以促使褥疮尽快愈合。

关键词: 冷沉淀; 褥疮; 组织修复
中图法分类号: R632.105　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 甘兰君 主编. 护理学基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 97.

[2] 安万新, 明凤琴. 冷沉淀促进烧烫伤创面愈合的实验研究[J]. 中国输血杂志, 1995, 8(2): 74—75.

[3] 王云贤, 徐世芳. 胃镜下冷沉淀治疗胃部疾病初步小结[J]. 中国输血杂志, 1992, 5(1): 18.

(编辑　冯崇英)

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