DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.03.024



论著

文章编号:1000-5404(2000)03-0262-03

# 多药耐药相关蛋白基因表达与食管癌病理特征关系的临床研究

王延明[1],王爱民[2],蒋仁述[3],李险波[1],臧玉林[1],张国平[1],宋宇宏[1] (北京军区252中心医院:[1]胸心外科;[2]中心实验室;保定 071000;[3]白求恩国际和平医院,石家庄 050081)

提 要 目的:探讨食管癌组织中多药耐药相关蛋白基因(MRP)表达与其病理特征的关系。方法:应用逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)方法,对51例食管癌、癌旁及33枚淋巴结组织中MRP基因的表达进行检测分析。结果:食管癌组织中MRP阳性率(35.3%)高于癌旁组织(3.9%)。MRP表达阳性与肿瘤大小、病理类型及淋巴转移与否无明显关系,但TNMⅢ、Ⅳ期和肿瘤侵犯深肌层以上的MRP阳性率增高;低分化食管癌的MRP阳性分布明显高于高分化肿瘤($P<0.05$)。来自13例患者的21枚转移淋巴结中,5例癌组织MRP表达阳性的6枚转移淋巴结组织MRP均阳性,12枚非转移淋巴结中未见MRP阳性表达;对部分病例随访发现,MRP阳性者肿瘤复发、转移的发生率(42.9%)高于MRP阴性者(19%)。结论:食管癌组织中存在着原发性MRP基因表达,转移淋巴结组织的MRP基因表达与原发灶具有一致性,MRP的阳性表达除了表现肿瘤的多药耐药外,还可能是食管癌恶性行为的观察指标,提示预后不良。

关键词 食管癌;MRP表达;病理特征
中图法分类号 R735.102 文献标识码 A

# Relationship between expression of MRP gene and pathological features in esophageal carcinoma

WANG Yan-ming, WANG Ai-min, Jiang Ren-shu, LI Xian-bo, ZANG Yu-lin, ZHANG Guo-ping, SONG Yu-hong (Department of Thoracic Surgery, 252 Hospital of PLA, Baoding 071000, China)

**Abstract** Objective: To investigate the expression of multidrug resistance associated protein MRP gene and its relation to pathological features of esophageal carcinoma. Methods: The samples of tumor tissue, paracancerous tissue and 33 lymph node from 51 patients with esophageal carcinoma were analyzed for MRP gene expression by RT-PCR. Results: The MRP-positive rate of the tumor tissue was significantly different from that of the paracancerous tissue ($P<0.05$). The expression of MRP gene was not associated with tumor size, pathomorphology and lymph node metastasis. The MRP positive rate was higher in patients with tumor of stages Ⅲand Ⅳand deep-musclaris or fibro-membrane invaded by tumor than in those with tumor at stages I and II and shallow-musclaris invasion. The positive expression of MRP was markedly higher in undifferentiated tumor than in the well-differentiated one ($P<0.05$). The MRP-positive rate of metastatic lymph nodes in MRP-positive tumor tissues was 100%. There was no positive MRP expression in non-metastatic lymph nodes. The follow-up showed that the relapse or metastatic rate in MRP-positive cases was higher than that in MRP-negative ones. Conclusion: Overexpression of MRP gene in untreated esophageal carcinoma is in accordance with its metastasis to lymph nodes. It can be regarded as a prognostic marker of esophageal carcinoma.

**Key words** esophageal carcinoma; MRP gene expression; pathological feature

1992年,Cole等[1]研究发现非糖蛋白(P-gp)介导的肿瘤耐药细胞中多药耐药相关蛋白基因(Multidrug resistance-associated protein, MRP)呈过度表达。之后,MRP基因表达作为肿瘤多药耐药性的又一重要影响因素引起了人们的关注。从1996年12月至1998年12月,我们采用逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)技

作者简介:王延明(1961),男,山东省人,主治医师,主要从事胸部肿瘤多药耐药方面的研究,发表论文45篇。电话:(0321)2039968

收稿日期:1999-06-07;修回日期:1999-12-21

?1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

术, 检测了 51 例食管癌组织、癌旁及 33 枚肿大淋巴结组织的 MRP 基因表达, 以探讨 MRP 表达与食管癌病理特征的关系。

## 1　资料与方法

### 1.1　一般资料

51 例食管癌中, 男 35 例, 女 16 例, 均为汉族, 平均年龄 58 岁。全部经病理检查为食管鳞状上皮细胞癌。标本取自手术结束时肿瘤组织, 癌旁组织(距离肿瘤 3~5 cm)及 20 例患者的 33 枚肿大淋巴结组织各一块, 迅速投入液氮保存。

### 1.2　主要试剂及仪器

AMV 逆转录酶、MRP 酶抑制剂等均购自 Promega 公司; 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。

### 1.3　RT-PCR 方法

按照 Chomczynski[2] 方法提取组织 RNA, cDNA 的合成采取用 20 μl 逆转录反应体系, 42°C 反应 1 h, 95°C 5 min 灭活 AMV。RT-PCR 参照 Noonan[3] 方法, PCR 反应体系内含 cDNA 2 μl, 10× buffer 2 μl, 4× dNTP 2 μl, MRP、β-actin 引物各 2 μl, Taq 酶 1 μl, 用水补至 20 μl。PCR 反应在 0.2 ml 薄壁管中进行, 毛细管 PCR 仪扩增反应参数为: 94°C 预变性 2 min, 94°C 变性 20 s, 55°C 退火 20 s, 72°C 延伸 30 s; 30 个循环; 72°C 后延伸 7 min。

### 1.4　电泳及成像

PCR 扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳, 凝胶成像系统定量分析, MRP/β-actin 比值表示 MRP 的相对表达水平, 比值大于 0.5 为阳性。

### 1.5　统计学方法

组间阳性率比较行 $\chi^2$ 检验。

## 2　结果

如图 1 显示了不同组织中 MRP 的 RT-PCR 扩增产物凝胶电泳结果, 其扩增产物分别为 234 bp 和 336 bp。另外, 在食管癌组织中 MRP 阳性 18 例(35.3%), 癌旁组织 MRP 阳性 2 例(3.9%), 癌组织的 MRP 阳性率与癌旁组织比较具有显著性差异($P<0.05$); 从表 1 得知, 肿瘤大小、病理类型及淋巴结转移与否的 MRP 阳性率相近; 但在肿瘤侵犯粘膜下和深肌层或纤维层的阳性率(38.1%)高于肿瘤侵犯浅肌层以下者(22.2%); TNM Ⅲ、Ⅳ期食管癌的 MRP 阳性率(42.1%)高于Ⅰ、Ⅱ期(15.4%); 在不同分化食管癌组织中, MRP 阳性分布分别是: 高分化鳞癌 6 例(24%), 中度分化鳞癌 4 例(33.3%)和低分化鳞癌 8 例(57.1%)。低分化食管癌的 MRP 阳性率与高分化者比较差异显著($P<0.05$)。

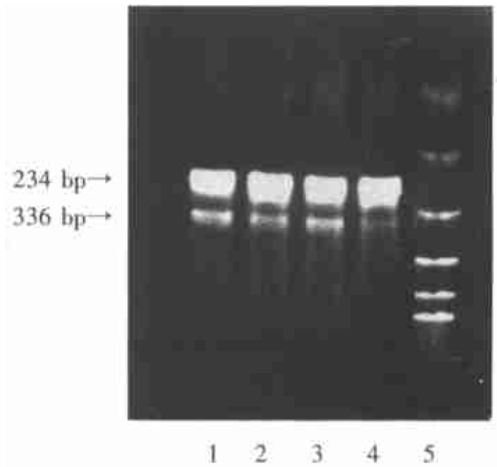



图 1　不同组织 MRP RT-PCR 产物凝胶电泳照片

1、3: 癌组织; 2、4: 相应癌旁组织; 5: 分子量标准

**Fig 1　Electrophoretic photograph of MRP RT-PCR prducts of different tissues**

1、3: Cancer tissues; 2、4: Responsive paracancerous tissues; 5: Molecular marker

**表 1　食管癌组织 MRP 表达与临床病理特征的关系**

**Tab 1　Relationship between MRP-positive rate and pathological features of esophageal carcinoma**

| Factors | *n* | No. of positive | % |
|---|---|---|---|
| Tumor size | | | |
| <3 cm | 8 | 3 | 37.5 |
| ≥3 cm≤5 cm | 20 | 7 | 35 |
| >5 cm | 23 | 8 | 34.8 |
| Infiltration depth | | | |
| Mucous membrane or shallow-muscularis | 9 | 2 | 22.2 |
| Deep-muscularis or fibro-membrane | 42 | 16 | 38.1 |
| Lymph node metastasis | | | |
| Yes | 22 | 8 | 36.3 |
| No | 29 | 10 | 34.5 |
| Pathology shape | | | |
| Medullary | 21 | 8 | 38.1 |
| Ulcerative | 19 | 7 | 36.8 |
| Constrictive | 1 | 0 | 0 |
| Fungting | 10 | 3 | 30 |
| TNM grade | | | |
| Ⅰ + Ⅱ | 13 | 3 | 23.1 |
| Ⅲ + Ⅳ | 38 | 15 | 39.5 |
| Differentiation degree | | | |
| Well-defferentiation | 25 | 6 | 24 |
| Moderate-differentiation | 12 | 4 | 33.3 |
| Poor-differentiation | 14 | 8 | 57.1* |

*: $P<0.05$ *vs* well-differentiation

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

在 33 枚肿大淋巴结组织中，病理证实为癌转移的 21 枚（取自 13 例患者），其中 5 例癌组织 MRP 阳性的 6 枚转移淋巴结组织均阳性，而 12 枚非转移淋巴结组织（其中 5 枚来自癌组织 MRP 阳性者）未检测到 MPR 阳性表达。35 例经术后 1～2 年追踪随防，14 例食管癌组织 MRP 阳性者，1 例复发、5 例远处转移，发生率为 42.9%。其中转移淋巴结组织 MRP 阳性 4 例，3 例在术后 1 年内发生肿瘤复发或转移死亡。而同期随访的 21 例 MRP 阴性者，4 例复发或转移，发生率为 19%。

## 3 讨论

肿瘤细胞的多药耐药性（MDR）机制复杂，多药耐药基因（MDR1）作为重要的耐药原因已被公认。而 MRP 作为影响 MDR 表型的又一重要因素，特别是在血液肿瘤中的研究较多。但在食管癌组织中，MRP 基因表达与其病理特征关系的研究甚少。本研究发现，食管癌组织中 MRP 表达增高，与癌旁组织比较具有显著性差异（$P<0.05$），说明病情发展过程中，肿瘤细胞自身 MRP 基因扩增的结果，并可能是食管癌化疗效果不佳的原因之一。

有人认为 MRP 在晚期肿瘤中表达增高，并可反应肿瘤的浸润、转移及预后差的生物学特性[4]。本组资料显示，肿瘤大小和大体类型不同的食管癌组织中 MRP 阳性率相近，但在肿瘤侵犯深肌层以上的 MRP 阳性率（38.1%）高于侵犯粘膜下和浅肌层者（22.2%），Ⅲ、Ⅳ期食管癌的 MRP 阳性率（39.5%）也高于Ⅰ、Ⅱ期（23.1%），这一结果符合上述报道。另外，MRP 阳性还较多分布于低分化肿瘤中，这说明 MRP 基因表达不仅表现了食管癌的多药耐药性，还可能反映了肿瘤细胞的恶性行为。

由本组资料的整体分析看，癌组织中 MRP 阳性与淋巴结转移与否并无明显关系，但转移淋巴结组织 MRP 基因表达与相应癌组织具有一致性。本组取自 5 例癌组织 MRP 阳性患者的 6 枚转移淋巴结均阳性，而且这 5 例转移淋巴结阳性患者，经随访 4 例，3 例在术后 1 年内肿瘤复发或转移死亡。这提示转移淋巴结中 MRP 阳性是肿瘤侵犯淋巴组织的信号，可致肿瘤术后早期复发和转移。并且术后随访结果还显示，癌组织 MRP 表达阳性的肿瘤复发、转移率（42.9%）高于 MRP 阴性者（19%），其转移淋巴结组织 MRP 阳性患者，肿瘤的复发或转移发生早。

## 参考文献


[1] Cole S P C, Bhardwaj G, Gerlach J H, *et al*. Overexpression of a transporter gene in multidrug-resistant human lung cancer cell line[J]. Science, 1992, 258(10): 1 650－1 654.

[2] Chomczynski P, Sacchi N. Singe-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyante-phenol-chloroform extraction[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 162(1): 156－157.

[3] Noonan K E, Bech C, Holzmayer T A, *et al*. Quantitative analysis of MDR1 gene expression in human tumor by polymerase chain reaction[J], Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(18): 7 160－7 163.

[4] Krishnamachary N, Center M S. The MRP gene associated with a non-p-glycoprotein multidrug resistance encodes a 190-KDa membrane bound glycoprotein[J]. Cancer Res, 1993, 53(7): 3 658－3 662.


（编辑 冯崇英）

# 经验与短篇

文章编号：1000-5404(2000)03-0264-01

# 体部 X 线刀实施治疗的质量控制

# Quality assurance and control in trank x-ray stereotactic radiotherapy

张玉萍，李启明 （第三军医大学附属新桥医院全军肿瘤中心，重庆 400037）

近几年来，立体定向放射治疗特殊形式——体部 X 线刀治疗在临床应用中显示出其优越性，但体部 X 线刀与头部 X 线刀相比较有其特殊性[1]，同时，因新方法实施不当易出现偏差，影响疗效。因此，如何提高操作者控制误差的意识，规范操作是确保体部 X 线刀治疗计划成功的关键。以下是我们在定位、摆位中控制误差的操作方法及要点。

## 1 定位的准备

体部 X 线刀主要用于肿瘤首程放疗后的补充照射和复发病灶的再照射或早期较小病灶的治疗。为了准确地掌握适应症，保证治疗质量，我们对首次治疗的病人要求在常规外照射 50 Gy 后，若患者无远处或多处转移时，经过 7～10 d 休息后，血象正常，方可进行 X 线刀治疗。

（下转 271 页）

作者简介：张玉萍（1955.7），女，山西省阳城市人，主管技师，主要从事肿瘤放射治疗方面的研究，发表论文 5 篇。电话：（023）68755356

收稿日期：1999-09-30；修回日期：2000-01-26

?1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net