

P-糖蛋白在肝脏病变中的表达及其临床意义

宋述梅 毛永荣 周济兰 张先林

摘要 本文应用组织抗原微波修复的 S-P 免疫组化染色法研究了 22 例原发性肝癌 (PHC)、10 例肝内海棉状血管瘤、11 例肝硬化及 11 例正常肝组织中 P-糖蛋白 (P-qP) 的表达。22 例 PHC 中有 19 例 (86%) 不同程度地表达了 P-糖蛋白 阳性。11 例肝硬化中 5 例阳性, 10 例海棉状血管瘤全呈阴性, 11 例正常肝细胞呈低到中度阳性。肝内不同病变中 P-qP 的染色部位和强度有所不同: 肝癌细胞的阳性染色主要位于细胞膜上, 混合性肝癌的腺腔内膜呈阳性, 肝硬化组织以细胞浆染色为主, 而正常肝细胞的染色位于细胞浆内, 膜无明显着色。本文结果提示 P-qP 在肝脏病变中的表达不仅能从分子水平上客观判断肿瘤细胞的化疗敏感性、指导化疗用药而且 P-qP 表达的部位和强度可能与肝癌的恶性进程有关。

关键词 P-糖蛋白; 肝脏病变; S-P 免疫组化; 药物耐受

肿瘤细胞对化疗产生耐药性是化疗失败的主要原因。P-qP 为一能量依赖型单向药物外排泵, 可将进入细胞内的药物排出细胞外, 使细胞内药物积聚减少从而导致肿瘤细胞对化疗不敏感。临幊上我们注意到有的肝癌病人对抗癌药不敏感, 这可能与肝癌组织内存在由 P-qP 表达的内在抗药性有关^[1]。为了了解肝癌及其它肝脏病变中 P-qP 的内在表达是否与肝癌的进程有关及能否作为判断病人化疗敏感性的指标, 本文应用敏感性较高的 S-P 免疫组化法研究了 34 例不同肝脏病变中 P-qP 的表达。

1 材料和方法

1.1 组织标本 标本均来自湖北省肿瘤医院病理科 1992~1995 年的档案标本。全部病例均经高年资病理医师重新确诊。H-E 染色常规诊断, S-P 免疫组化所用的载玻片均经明胶处理以防脱片。

1.2 试剂 JSB-1 (P-qP 的单克隆抗体)、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶 (S-P) 试剂盒为美国 Maxin Biotech Inc. 产品。

1.3 组织抗原微波修复及 S-P 免疫组化 石蜡组织片脱蜡并用 3% H₂O₂ 处理 10 分钟后侵泡于盛有 0.01M 柠檬酸缓冲液 (PH6) 的玻璃缸中, 置于微波炉内于“Defrost”档加热 7~10 分钟, 用正常羊血清减少非特异性染色, 然后依此加 JSB-1、生物素标记的二抗、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶溶液 (S-P), 最后用新鲜配制的 DAB 显微镜下显色 3~10 分钟。苏木素复染、脱水、透明、树胶封片。

1.4 S-P 染色对照实验及 P-糖蛋白染色分级标准 用肾近曲小管正常上皮作阳性对照 (Maxin 公司

提供), 用非免疫鼠血清作替代 JSB-1 对照, 用 PBS 代替 JSB-1 抗体作空白对照。阳性对照为中度阳性 (+), 替代对照及空白对照均为阴性。P-qP 表达分级标准: 根据 P-qP 表达的强度分为四种: 阴性 (-)、弱阳性 (+)、中度阳性 (++)、强阳性 (+++)

2 结果

不同肝脏病变中 P-qP 染色的部位和强度有明显的差异。22 例原发性肝癌 (PHC) 中有 19 例 (86%) 显示不同程度的 P-qP 阳性。19 例阳性病例中有 16 例呈中到强阳性染色。阳性染色为棕黄色颗粒状。肝细胞性肝癌 (HCC) 的阳性染色主要位于细胞膜上, 细胞浆内的着色相对较弱 (图 1)。混合性肝癌 (M-PHC) 其阳性染色主要位于腺腔内源的细胞膜上而细胞浆、核内无明显着色 (图 2)。2 例透明细胞型肝癌染色相对较弱且癌组织完全透明的癌细胞染色基本呈阴性。11 例肝硬化中 5 例阳性, 其阳性主要位于细胞浆内。10 例肝内海棉状血管瘤内皮细胞及间质均呈阴性。11 例相对正常的肝细胞其棕黄色颗粒主要位于细胞浆内, 呈弱阳性及中度阳性, 细胞膜无阳性染色 (图 3)。不同肝脏病变中 P-qP 免疫组化染色结果见表 1。

表 1 不同肝脏病变中 P-qP 的 S-P 组化染色结果

病理类型	例数	染色强度(例数)				阳性部位
		(-)	(+)	(++)	(+++)	
HCC	16	2	2	6	6	细胞膜
PHC	4			1	3	细胞膜
透明型	2	1	1			细胞膜
肝硬变	11	6	2	3		细胞浆为主
肝内血管瘤	10	10				无
正常肝细胞	11		8	3		细胞浆
总 数	54	19	13	13	9	

3 讨论

肿瘤的抗药性主要与 mrd1 基因编码的 P-qP 的过度表达有关。P-qP 的过度表达可因肿瘤暴露于抗癌药而产生即获得性抗药性, 也有自发存在于正常组织如肾、肾上腺、肝脏等上皮细胞或肿瘤细胞, 其主要功能是外排疏水性毒物即内在抗药性。本文探讨的是肝脏病变尤其是 PHC 中的内在抗药性, 本研究表明大多数 PHC 表达了 P-qP 且部分呈强阳性, 这提示 P-qP 表达存在于化疗前的肝癌患者, 这也是大部分肝癌病人化疗初期对化疗缺乏敏感性的原因。

不同肝脏病变中 P-qP 染色的部位明显不同(见表 1), 反映了在肝癌的进展过程中 P-qP 由细胞浆到细胞膜的渐进表达过程。有报道表明当正常细胞转变为恶性细胞时 P-qP 可能被持续表达但表达的部位可能有所改变, 主要体现在细胞膜上^[2]。膜表达强度可能与化疗药物进入癌细胞呈负相关, 胆管细胞性肝癌中膜表达更明显, 临幊上其化疔效果较肝细胞性肝癌差能说明此点。值得一提的是 2 例透明细胞性肝癌 P-qP 表达较弱这与透明细胞性肝癌分化程度较高有关。有人认为 P-qP 表达可能是肿瘤发展过程中的伴随现象, 标志着癌细胞的恶性化程度和生物学特征^[3]。有人在结肠癌中发现 P-qP 在浸润性癌细胞中表达最多并发现 P-qP 表达受 ras

蛋白 P21 和 P53 蛋白调控并和 C-erbB2 表达有相关性, 这些结果为 P-qP 表达与肝癌的恶性进程有关提供了依据, 本文结果也证实了此点。本研究有一定的实际意义: 第一, P-qP 在细胞膜上的表达强度可用来指导选择化疔方案, 使化疔用药个体化。若肿瘤细胞膜上 P-qP 表达较高, 可避免使用 P-qP 耐受药如烷化剂类、植物碱类等分子量大的亲脂类药物或用维拉泊米等逆转类药以提高病人疗效。第二, P-qP 的表达强度可作为判断病人的预后因素。第三, 不同肝脏病变中 P-qP 表达部位和强度的差异反映了正常肝组织—肝硬化—肝癌的发病过程, 为进一步探讨肝癌的发病机制提供了又一实验依据。

总之, P-qP 的表达与肝癌的内在抗药性有关, 应用敏感性较高的 S-P 法检测 P-qP 在肝脏中的表达为指导肝癌化疔提供有价值的参考资料。它的表达强度和部位可能与肝癌的恶性进程有关。

参 考 文 献

- 1 Cheng Cheng Huang, et al. Overexpression of the MDR1 gene and P-Glycoprotein in Hepatocellular Carcinoma. *J. NCI.* 1992, 84(4): 262~ 263
- 2 Fojo, A. T, et al. Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 84: 265~ 269
- 3 Yasuo Kuwazuru, et al. Expression of the multidrug transporter, P-qP, in acute leukemia cell and correlation to clinical drug resistance. *Cancer.* 1990, 66: 868~ 873

Expression of P-qP in Hepatic Pathological Lesions and its Biological Significance

Song Shumei, Mao Yongrong, Zhou Jinan, et al

Hubei Cancer Institute, Wuhan 430079

Using S-P Immunohistochemical methods with micro-ray restoring tissue antigen, we examined the expression of P-qP in 22 primary hepatocarcinoma (PHC), 10 hepatic spongyvascular tumors, 11 cirrhosis and 11 normal hepatic tissues. Among samples analyzed, P-qP positive was detected in 19 (86%) of 22 PHC, 5 of 11 in cirrhosis; P-qP showed minimal and mid positive in 11 normal tissues, while P-qP dyeing in hepatic pathological lesions were different: positive granule of hepatocellular carcinoma (HCC) is mainly in cell membrane; In M-PHC, Gland cavity endo-menbrane was positive; Cell membrane, cytoplasm of cirrhosis were min+mid positive; While location of positive granule is cytoplasm in normal hepatic cells, no positive granule in cell membrane. These results show expression of P-qP in hepatic pathological lesions not only can judge the sensitivity of chemotherapy for cancer patients, but also the location and intensity of P-qP expression might relate with the development of hepatocarcinoma.

Key words: P-qP; hepatic pathological lesion; S-P immunohistochemical method; drug resistance

结肠癌细胞株、癌组织及正常结肠粘膜中 P¹⁶基因异常甲基化的差异

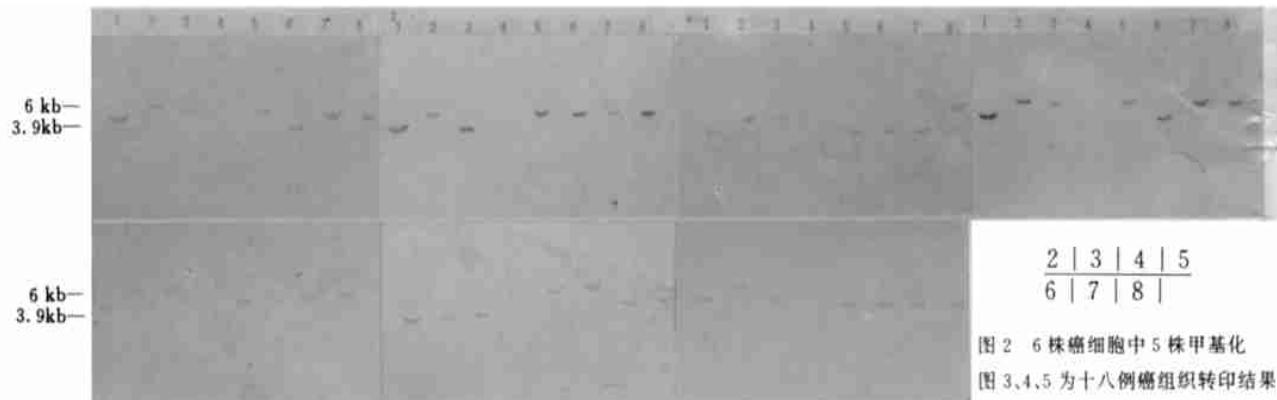


图 2 6 株癌细胞中 5 株甲基化
图 3、4、5 为十八例癌组织转印结果

P—糖蛋白在肝脏病变中的表达及其临床意义

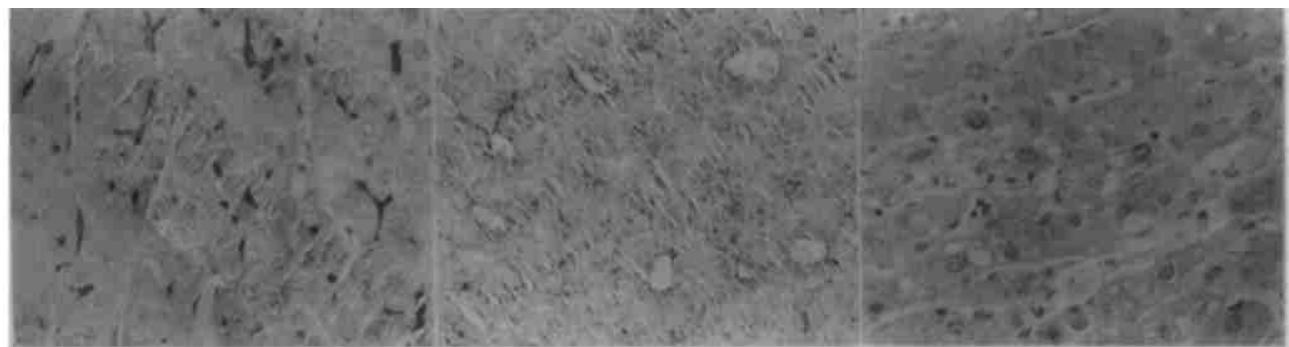


图 1 HCC 的 P-qp 阳性染色主要位于肝癌细胞的细胞膜上 (40×3.3)

图 2 M-PHC. P-qp 阳性染色主要位于腺腔内源的细胞膜上 (20×3.3)

图 3 相对正常的肝细胞. P-qp 的弱阳性染色主要位于细胞浆内. (40×3.3)