

P-gp、GST- α 、p53 和 CD44v6 在肺癌中的表达

周英琼, 曾思恩, 侯巧燕, 陆明深, 张美艳

The Expression and Clinical Significance of P-gp、GST- α 、p53 and CD44v6 Gene Protein in Lung Cancer

ZHOU Ying-qiong, ZENG Si-en, HOU Qiao-yan, LU Ming-shen, ZHANG Mei-yan

Department of Pathology, Guilin Medical College, Guilin 541001, China

Abstract: **Objective** To explore the expression and clinical significance of P-gp, GST- α and p53 and CD44v6 gene protein in human lung cancer. **Methods** The expression of P-gp, GST- α , p53 and CD44v6 protein were detected in 60 cases of lung cancer tissue with SP immunohistochemical method and analyzed. **Results** The result showed that: the positive expression of P-gp and GST- α separately were 69.8% and 73.6% in NSCLC, which were much higher than the positive expression in SCLC (14.3%) ($P < 0.05$), compared with adenocarcinoma and squamous carcinoma, SCLC, the positive rate of P-gp and GST- α in adenocarcinoma were higher ($P < 0.05$). The positive rate of CD44v6 gene production is 65.0%, which has a significant positive correlation with lymph node metastasis ($P < 0.05$). The co-expression rate of P-gp and GST- α is 41.7%, P-gp significantly positively correlated with GST- α . The co-expression rate of P-gp and p53 is 48.3%, P-gp had obviously positive correlation with p53. **Conclusion** The over-expression of P-gp, GST- α and p53 in human lung cancer made it important to influence tumor resistance. The over-expression of CD44v6 may be the good indicator for predicting metastasis and prognosis of lung cancer.

Key words: Lung cancer; Immunohistochemistry; P-gp; GST- α ; p53; CD44v6 gene protein

摘要: **目的** 探讨多药耐药基因(MDR)产物 P-糖蛋白(P-gp)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST- α)及 p53、CD44V6 在肺癌组织中的表达及其相互关系。 **方法** 采用免疫组化 SP 方法检测 60 例肺癌组织中 P-gp、GST- α 和 p53、CD44v6 的表达情况。 **结果** 肺癌组织中 P-gp、GST- α 阳性表达率分别为 63.3%、66.7%。 GST- α 和 P-gp 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达率分别为 69.8% 和 73.6%, 在小细胞肺癌(SCLC)的阳性表达率均为 14.3%, 两者比较均有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。 GST- α 和 P-gp 在肺腺癌中的表达明显高于肺鳞癌和小细胞癌组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。 CD44v6 在肺癌的阳性表达率为 65.0%, 在有淋巴结转移组的表达明显高于无淋巴结转移组($P < 0.05$)。 P-gp 和 GST- α 在肺癌中的共表达率为 41.7%, P-gp 表达和 GST- α 表达呈正相关性($P < 0.05$)。 P-gp 和 p53 在肺癌中的共表达率为 48.3%, P-gp 表达和 p53 表达呈显著正相关性($P < 0.01$)。 **结论** P-gp、GST- α 和 p53 在肺癌组织中的表达对肿瘤的耐药起重要作用, CD44v6 是预测肺癌侵袭转移及估计预后的一个重要指标。

关键词: 肺癌; 免疫组织化学; P-糖蛋白、谷胱甘肽-S-转移酶; p53; CD44v6 蛋白

中图分类号: R734.202 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)11-0699-03

0 引言

目前普遍认为多药耐药基因 MDR1 及其产物 P-糖蛋白(P-gp)在癌细胞中过度表达是引起化疗失败的主要原因,其耐药机制是多方面的,除已知的细胞外泵作用外,还与谷胱甘肽酶系统及细胞凋亡相关基因 p53、bcl-2 的改变有关。近年来的研究资料显示,细胞表面黏附分子 CD44v6 与肿瘤的发展和转移有关。本文采用免疫组化方法同时检测 60 例肺癌组织中 P-gp、谷胱甘肽-S-转移酶(GST- α)、

p53 和 CD44v6 蛋白表达,探讨 P-gp 与 GST- α 、p53 和 CD44v6 在肺癌的表达变化与肺癌临床病理特征的关系及它们表达间的相关性。

1 材料与方法

1.1 标本 收集桂林医学院附属医院病理科 1993 年 1 月~2000 年 12 月确诊为肺癌的手术标本 60 例。男性 45 例,女性 15 例,年龄在 32~78 岁(平均年龄 58 岁),肿瘤 ≤ 3 cm 26 例, > 3 cm 34 例;组织学类型(WHO 分类):鳞状细胞癌 18 例,腺癌 30 例,大细胞癌 3 例,肉瘤样癌 2 例,小细胞癌 7 例;病理

收稿日期:2004-11-15;修回日期:2005-04-14

作者单位:541001 广西桂林医学院病理教研室

学分级: 级 7 例, 级 23 例, 级 30 例;转移情况: 无淋巴结转移 34 例, 癌转移到附近或远处淋巴结及其他组织器官 26 例。所有标本均为 10% 的中性甲醛液固定, 石蜡包埋。4μm 厚连续切片, 常规 HE 染色。

1.2 免疫组织化学染色 采用 SP 法, 所用一抗 P-gp (JSB1)、GST-、p53、CD44v6 及 SP 试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司。按 SP 试剂盒说明书进行操作, 最后用苏木精复染, 脱水, 封固。每批染色均设阴性对照 (以 PBS 液代替第一抗体) 和阳性对照 (以已知为阳性标本作为对照)。染色过程中切片按要求均经高压加热进行抗原修复。

1.3 结果判定 阳性细胞呈棕褐色细颗粒状 P-gp 阳性物质定位于癌细胞质和细胞膜, GST- 定位于癌细胞核或细胞质, p53 定位于细胞核, CD44v6 定位于细胞膜, 少部分分布于细胞质。用高倍镜视野随机计数 500 个肿瘤细胞中的阳性细胞所占的比例, 切片内无阳性细胞或阳性细胞 < 10% 为阴性 (-); 阳性细胞 10% ~ 30% 为弱阳性 (+); 31% ~ 50% 为中度阳性 (++); > 50% 为强阳性 (+++)。

1.4 统计学分析 采用卡方²检验及四格表确切概率法分析各组间差异。

2 结果

2.1 肺癌组织中 P-gp、GST-、p53 和 CD44v6 的表达情况 P-gp 阳性率为 63.3% (38/60), 并以中等强度表达多见, 见图 1; GST- 阳性率为 66.7% (40/60), 以中等强度表达多见, 见图 2; p53 阳性率为 61.7% (37/60), 以中、强阳性表达多, 见图 3; CD44v6 阳性表达率为 65.0% (39/60), 见图 4。P-gp 与 GST- 共表达率为 41.7% (25/60), P-gp 与

p53 的共表达率为 48.3% (29/60), 见表 1。

表 1 60 例肺癌中 P-gp、GST-、p53 和 CD44v6 的表达

标记物	阳性数	阳性表达例数		
		+	++	+++
P-gp	38	7 (18.4)	24 (63.2)	7 (18.4)
GST-	40	10 (25.0)	19 (47.5)	11 (27.5)
p53	37	9 (24.3)	8 (21.6)	20 (54.1)
CD44v6	39	15 (38.5)	14 (35.9)	10 (25.6)

2.2 P-gp、GST-、p53 和 CD44v6 蛋白表达与肺癌临床病理特征的关系 P-gp、GST- 在非小细胞癌组的阳性表达率明显高于小细胞癌组 ($P < 0.05$), 在肺腺癌组的阳性表达率明显高于肺鳞癌组和小细胞癌组 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。P-gp 在肿瘤级组织中的表达明显低于级 ($P < 0.05$)。CD44v6 在有淋巴结转移肺癌组的表达明显高于无淋巴结转移肺癌组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.3 肺癌组织中 P-gp、GST-、p53、CD44v6 表达的相关性 由表 3 可见 P-gp 的阳性表达与 GST- 的阳性表达呈显著正相关性 ($P < 0.01$)。P-gp 的阳性表达与 p53 的阳性表达呈正相关性 ($P < 0.05$)。P-gp 的阳性表达与 CD44V6 的阳性表达无相关性 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 P-gp、GST- 的表达与肺癌的关系 P-gp 是多药耐药基因 MDR1 的表达产物, 它具有 ATP 依赖性跨膜转运泵功能, P-gp 一旦与抗肿瘤药物结合, 通过 ATP 提供能量, 将多种抗肿瘤药物泵出细胞外使细胞内药物浓度降低, 细胞毒作用减弱而出现耐药。GST- 以催化方式降解药物, 它不但可催

表 2 P-gp、GST-、p53 和 CD44v6 蛋白表达与肺癌临床病理特征的关系

临床病理因素	例数	P-gp		P	GST-		P	p53		P	CD44v6		P
		阳性例数 (%)			阳性例数 (%)			阳性例数 (%)			阳性例数 (%)		
组织学类型													
非小细胞肺癌	53	37 (69.8) *			39 (73.6) *			31 (58.5)			39 (73.6)		
鳞状细胞癌	18	9 (50.0)			10 (55.6)			10 (55.6)			14 (77.8)		
腺癌	30	25 (83.3) **			26 (86.7) **			17 (56.7)			21 (70.0)		
大细胞癌	3	2 (66.7)			1 (33.3)			2 (66.7)			2 (66.7)		
肉瘤样癌	2	1 (50.0)			2 (100)			2 (100)			2 (100)		
小细胞肺癌	7	1 (14.3) ***			1 (14.3) ***			6 (85.7)			0 (0)		
组织学分级													
级	7	5 (71.4)	> 0.05		3 (42.9)	> 0.05		4 (57.1)	> 0.05		4 (57.1)	> 0.05	
级	23	18 (78.3)			18 (78.3)			11 (47.8)			17 (73.9)		
级	30	15 (50.0) ****			19 (63.3)			22 (73.3)			18 (60.0)		
淋巴结转移													
无	34	21 (61.8)	> 0.05		22 (64.7)	> 0.05		19 (55.9)	> 0.05		18 (52.9)	< 0.05	
有	26	17 (65.4)			18 (69.2)			18 (69.2)			21 (80.8)		

注: * 非小细胞肺癌组与小细胞癌组之间的比较 $P < 0.05$ 、GST- $P < 0.01$; ** 腺癌组与鳞状细胞癌组比较 $P < 0.05$; *** 小细胞肺癌组与腺癌组比较 $P < 0.01$; **** 级与级比较 $P < 0.05$

表 3 肺癌组织中 P-gp、GST-、p53、CD44v6 表达的相关性

P-gp 例数	GST-		P	p53		P	CD44v6		P	
	阳	阴		阳	阴		阳	阴		
	性	性		性	性		性	性		
阳性	38	33	5	<0.01	27	11	<0.05	25	13	>0.05
阴性	22	7	15		10	12		14	8	

化亲电物质与谷胱甘肽结合,还可以和亲脂性细胞毒物结合增加其水溶性,促进其代谢,降低抗肿瘤药物的细胞毒作用而产生耐药^[1,21]。本组病例术前均未采用过化疗,P-gp 和 GST- 在非小细胞肺癌组中的阳性表达率分别为 69.8% 和 73.6%,在小细胞癌的阳性率均为 14.3%,两者比较均有显著性差异 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。P-gp 和 GST- 在肺腺癌组的表达均明显高于肺鳞癌和小细胞癌 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),与国内外文献报道相似^[3-5]。提示 GST-

和 P-gp 的高表达是非小细胞肺癌组织产生耐药性的主要原因,其中腺癌最易产生耐药,鳞癌次之,小细胞癌最不易产生耐药,其结果与临床小细胞癌化疗最敏感,鳞癌次之,腺癌最差相符。P-gp 和 GST- 在肺癌中的共表达率为 41.7% (25/60),P-gp 表达与 GST- 表达呈显著正相关性 ($P < 0.01$)。提示在肺癌组织的耐药机制中 P-gp 和 GST- 可能有相互的调节机制,相互依赖,协同作用,P-gp 和 GST- 的高表达可能是非小细胞肺癌化疗效果不佳的重要原因之一。

3.2 CD44v6 表达与肺癌的关系 CD44v6 是细胞表面黏附分子 CD44 的一种拼接变异体,CD44v6 表达可能改变肿瘤细胞表面黏附分子的构成和功能,使癌细胞获得转移能力,通过与远隔的淋巴管和血管内某一配体结合,使转移至那里的癌细胞更稳定地寄宿和生长,形成转移灶。近年来,国内外许多的研究表明,CD44v6 的异常表达与多种人体恶性肿瘤(如乳腺癌、胃癌、结肠癌、膀胱癌等)的发生、发展和侵袭转移及预后密切相关^[6-9]。Penno 等^[10]的研究结果显示 CD44v6 表达同肺癌的临床分期及组织分化程度无关,与淋巴结转移密切相关。孙莉等^[11]认为 CD44v6 表达与肺癌淋巴结转移、临床分期有显著关系,但与原发癌分期、远处转移及组织学类型无关。本研究结果显示,CD44v6 在肺癌中的高表达与淋巴结转移密切相关 ($P < 0.05$),提示检测 CD44v6 是预测肺癌侵袭转移及估计预后的一个重要指标。

3.3 肺癌中 p53 与 P-gp 表达的关系 p53 基因分野生型和突变型两种,野生型 p53 是一种抑癌基因,具有抑制肿瘤细胞增殖和促进肿瘤细胞凋亡,并能抑制 MDR 基因转录作用,使 P-gp 生成减少;而突变型 p53

基因则相反,它能诱导 MDR 基因的表达,并通过抑制肿瘤细胞的凋亡使肿瘤细胞产生耐药。Oka 等^[12]的研究结果表明,突变的 p53 能够激活 MDR1 基因,两者共存于同一组织中。Benhattar 等^[13]研究结果也表明,p53 基因突变者肿瘤细胞耐药性增加。我们的结果显示突变型 p53 蛋白表达与 MDR1 基因表达产物 P-gp 的共表达率为 48.3%,P-gp 表达与 p53 表达呈密切正相关 ($P < 0.05$),提示 p53 蛋白的高表达可能会增加 MDR1 基因表达耐药糖蛋白,而使肺癌对阿霉素、长春新碱、紫杉醇等脂性、生物碱类及萘环类药物耐药,因而临床对肺癌组合用药化疗时,有耐药倾向的此类药物可能不是首选药物,临床耐药逆转应考虑到多个基因的作用与表达。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] Volm M, Kastec M, Matten J, et al. Expression of resistance factors (P-glycoprotein, Glutathione S-Transferase and Topoisomerase) and their interrelationship to proto-oncogene products in renal cell carcinomas[J]. Cancer, 1993, 71 (12): 3981-3987.
- [2] 施作霖. 多药耐药基因免疫组化研究近况[J]. 诊断病理学杂志, 1997, 4(2): 122-124.
- [3] 刘玉洪, 罗宜人, 沈毅, 等. 多药耐药基因 1P-糖蛋白在肺癌中的表达及其临床意义[J]. 山东医药, 2002, 42(17): 12-13.
- [4] Volm M, Matten J, Samsel B. Overexpression of P-glycoprotein and glutathione transferase in resistant non-small cell lung carcinomas of smokers[J]. Br J Cancer, 1991, 64(5): 700-704.
- [5] 聂坤荣, 李春海, 诸亚君, 等. 肺癌谷胱甘肽转移酶表达的免疫组化研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1993, 16(3): 141-143.
- [6] Arch R, With K, Hofmann M, et al. Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant of CD44[J]. Science, 1992, 257(5070): 682-685.
- [7] 谷化平, 尚培, 倪灿荣. CD44v6 和 E-cadherin 表达与结肠癌浸润转移关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2003, 19(3): 270-272.
- [8] 许励, 徐文娟, 汤琪乐, 等. 钙粘附分子和 CD44v6 表达与膀胱移行细胞癌生物学特性的关系[J]. 中华泌尿外科杂志, 2002, 23(8): 494-496.
- [9] Kurozumi K, Nishida T, Nakao K, et al. Expression of CD44 variant V6 and lymphatic invasion: importance to lymph node metastasis in gastric cancer[J]. World J Surg, 1998, 22(4): 853-858.
- [10] Penno Mb, August J T, Baylin SB, et al. Expression of CD44 in human lung tumors[J]. Cancer Res, 1994, 54(5): 1381-1387.
- [11] 孙莉, 韩军, 姚俊涛, 等. CD44v6 和 nm23-H1 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. 实用肿瘤杂志, 2002, 17(3): 161-163.
- [12] Oka M, Kounoura K, Narasaki F, et al. P-glycoprotein is positively correlated with p53 protein accumulation in human colorectal cancers[J]. Jpn J Cancer Res, 1997, 88(8): 738-742.
- [13] Benhattar G, Cerottini P, Saraga E, et al. p53 mutation as a possible predictor of response to chemotherapy in metastatic colorectal carcinoma[J]. Int J Cancer, 1996, 69(3): 190-192.

[编辑:安 凤]

P-gp、GST-JI、p53 和 CD44v6 在肺癌中的表达

(正文见 699 页)

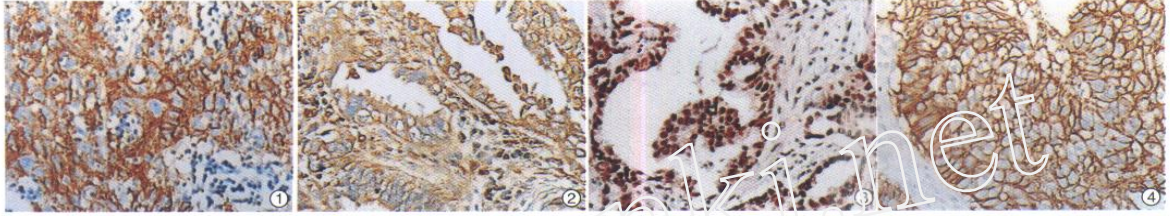


图1 P-gp 在肺癌组织中的表达 (SP × 200) 图2 GST-JI 在肺癌组织中的表达 (SP × 200)
图3 p53 在肺癌组织中的表达 (SP × 200) 图4 CD44v6 在肺癌组织中的表达 (SP × 200)

survivin 基因在乳腺癌组织中的表达及其与 HER-2、p53 的关系

(正文见 707 页)

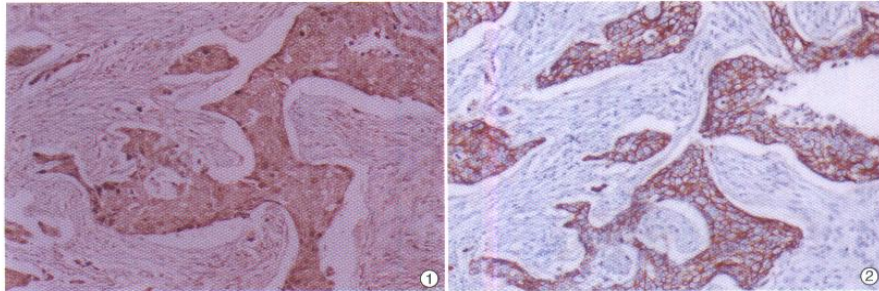


图1 乳腺癌中 survivin 蛋白棕黄色阳性颗粒位于胞浆内 (SP × 200) 图2 乳腺癌中HER-2蛋白棕黄色阳性颗粒位于胞膜 (SP × 200)

非小细胞肺癌 p53、VEGF、MVD 的表达及其相关性

(正文见 702 页)

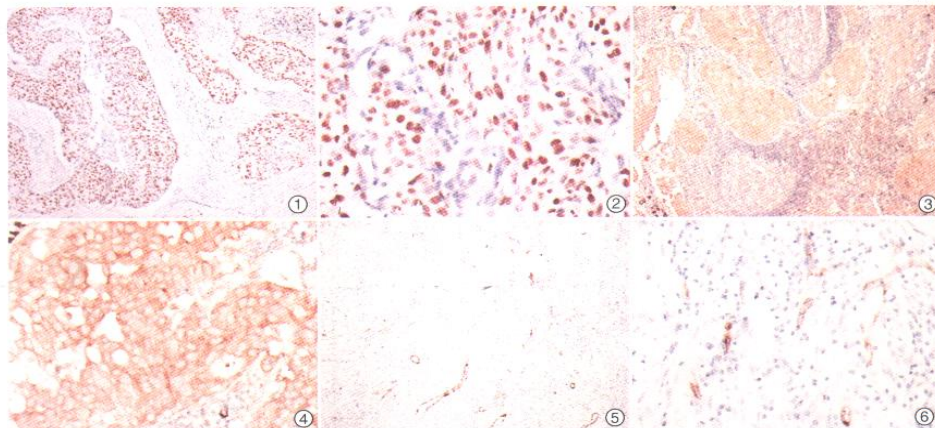


图1 肺鳞癌 p53 免疫组化染色阳性 (SP × 100) 图2 肺鳞癌 p53 免疫组化染色阳性 (SP × 400)
图3 肺鳞癌 VEGF 免疫组化染色阳性 (SP × 100) 图4 肺鳞癌 VEGF 免疫组化染色阳性 (SP × 400)
图5 肺鳞癌微血管 (VIII 因子相关抗体标记, SP × 100) 图6 肺鳞癌微血管 (VIII 因子相关抗体标记, SP × 400)