

P-GP170、LRP 与 Ki-67 在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义

成继民,贺占国,刘艳丽,郭宏,陈静

Expression and Clinical Significance of P-GP170, LRP and Ki-67 in Thyroid Carcinoma

CHENG Ji-min, HE Zhan-guo, LIU Yan-li, GUO Hong, CHEN Jin-g

Department of Pathology, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang 050082, China

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of P-GP170 (P-glycoprotein, P-GP170), LRP (Lung Resistance Protein, LRP) and anti-nuclear antigen Ki-67 in papillary thyroid tumors. **Methods** SP immunohistochemical technique was used to detect the expression of P-GP170, LRP and Ki-67 in 64 cases of papillary thyroid carcinoma and 20 cases of thyroid adenoma. **Results** P-GP170, LRP and Ki-67 all have high level expression in papillary thyroid carcinoma but low level expression in thyroid adenoma. The difference is statistically significant ($P < 0.01$). The positive rate of P-GP170 and LRP in papillary thyroid carcinoma both were 93.75%. The LI (labeling index, LI) of Ki-67 in thyroid carcinoma was 55.94 ± 37.62 . The relation of P-GP170, LRP and Ki-67 was not statistically significant (LRP vs Ki-67 $r = 0.42$, LRP vs P-GP170, $r = 0.42$, Ki-67 vs P-GP170, $r = 0.65$, $P < 0.01$). **Conclusion** To choose suitable inhibitors of multidrug resistance protein in the clinical chemotherapy of papillary thyroid carcinoma may prove the effect of chemotherapy of thyroid carcinoma for the high level of LI, strong multidrug resistance and poor sensitivity to the chemotherapy of papillary thyroid carcinoma.

Keywords: Papillary thyroid carcinoma; LRP; P-GP170; Ki-67

摘要:目的 检测多药耐药基因蛋白 P-糖蛋白(P-GP170)和肺耐药蛋白(LRP)与抗核抗体 Ki-67 在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义。方法 采用免疫组化 SP 法检测 P-GP170、LRP、Ki-67 在 64 例甲状腺乳头状癌和 20 例甲状腺腺瘤中的表达。结果 3 种抗体在甲状腺乳头状癌中均呈高表达,在甲状腺腺瘤中呈低表达。与甲状腺腺瘤相比有显著性差异($P < 0.01$)。P-GP170、LRP、Ki-67 三者呈显著相关性(LRP 与 Ki-67 $r = 0.42$, LRP 与 P-GP170 $r = 0.42$, Ki-67 与 P-GP170 $r = 0.65$, $P < 0.01$)。结论 甲状腺乳头状癌标记指数高、耐药性强、化疗敏感性低。在化疗中同时给予耐药抑制剂,可以提高化疗敏感性和化疗效果。

关键词: 甲状腺乳头状癌; P-GP170; LRP; Ki-67

中图分类号: R736.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)09-0542-03

0 引言

甲状腺乳头状癌好发于中青年妇女,手术后复发率和转移率较高,对化疗敏感性低。化疗失败的主要原因是癌细胞能产生多药耐药性(multidrug resistance, MDR)。我们应用免疫组化技术检测多药耐药基因蛋白 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-GP170),肺耐药蛋白(lung-resistance-protein, LRP)与抗核抗体 Ki-67(anti-Ki-67 nuclear antigen)在甲状腺乳头状癌中的表达及相互关系,以探讨甲状腺乳头状癌化疗耐药性的原因和逆转耐药性的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

根据 1988 年甲状腺肿瘤组织学 WHO 分类,选用白求恩国际和平医院病理科 2001~2002 年 64 例甲状腺乳头状癌蜡块和 20 例甲状腺滤泡型腺瘤蜡块,二者均做 4 μ m 连续切片。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化试剂 采用 SP 法, DAB 显色。SP 试剂盒和鼠抗人单克隆抗体 LRP 和 Ki-67 均购自北京中山生物技术有限公司分装的美国 Santa Cruz 公司产品。P-GP170 鼠抗人单克隆抗体购自福州迈新生物技术开发公司分装的美国 NeoMarker 公司产品。上述试剂均为即用型。

1.2.2 免疫组化染色结果判定标准 P-GP170 和 LRP 阳性为细胞膜和细胞质呈棕黄色。在光镜下连续观察 10 个高倍视野,阳性细胞数超过 5% 为阳性,否则为阴性。Ki-67 阳性表达为细胞核染成棕黄色。细胞增殖水平以 Ki-67 标记指数(Labeling

收稿日期: 2003-06-13; 修回日期: 2003-10-08

作者单位: 050082 石家庄, 白求恩国际和平医院病理科

index,LI)表示^[1],即每 100 个细胞中的 Ki-67 阳性细胞数,计算方法:每张切片在 400 倍光镜下选定 10 个视野,每个视野计数 100 个细胞,共计 1000 个细胞,计算出每张切片上的阳性表达百分数,作为 Ki-67 标记指数。分别以已知阳性片作阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3 统计学处理

P-GP170 和 LRP 表达结果应用 χ^2 检验;Ki-67 应用 Mann-Whitney 法检验;P-GP170、LRP、Ki-67 表达结果相互关系应用等级相关分析。

2 结果

2.1 P-GP170 在甲状腺肿瘤中的表达

甲状腺乳头状癌阳性率为 93.75% (60/64)。癌旁组织不表达。甲状腺腺瘤阳性率 50.00% (10/20)。甲状腺乳头状癌与甲状腺腺瘤中的表达有显著差异 ($P < 0.01$),见表 1。

表 1 P-GP170 在甲状腺肿瘤中的表达

组织类型	例数	阳性例数 (%)	阴性例数 (%)
甲状腺乳头状癌	64	60 (93.75)	4 (6.25)
甲状腺腺瘤	20	10 (50.00)	10 (50.00)

2.2 LRP 在甲状腺肿瘤中的表达

甲状腺乳头状癌阳性率为 93.75% (60/64)。癌旁组织不表达。甲状腺腺瘤阳性为 60.00% (12/20),其表达与甲状腺乳头状癌有显著差异 ($P < 0.01$),见表 2。

表 2 LRP 在甲状腺乳头状癌中的表达

组织类型	例数	阳性例数 (%)	阴性例数 (%)
乳头状癌	64	60 (93.75)	4 (6.25)
甲状腺腺瘤	20	12 (60.00)	8 (40.00)

2.3 Ki-67 在甲状腺肿瘤中的表达

64 例甲状腺乳头状癌中平均标记指数为 55.94 ± 37.62 。20 例腺瘤平均标记指数为 16.80 ± 17.20 ,二者存在显著差异 ($P < 0.01$),见表 3。癌旁组织几乎不表达。

表 3 Ki-67 在甲状腺肿瘤中的表达

组织类型	例数	平均标记指数
甲状腺乳头状癌	64	55.94 ± 37.62
甲状腺腺瘤	20	16.80 ± 17.20

2.4 P-GP170、LRP、Ki-67 三者的相关性

P-GP170、LRP、Ki-67 三者呈显著性相关,LRP 与 Ki-67 $r = 0.42$,LRP 与 P-GP170 $r = 0.42$,Ki-67 与 P-GP170 $r = 0.65$, $P < 0.01$ 。

3 讨论

化疗是恶性肿瘤治疗的主要方法之一。肿瘤对化疗产生耐药性也是化疗失败的主要原因^[1]。肿瘤耐药分为先天性耐药和获得性耐药。Filipits^[2]认为肿瘤中 MDR 阳性表达率 $>30\%$ 则复发率高,对化疗不敏感,预后差。肿瘤细胞产生 MDR 的主要原因是瘤细胞膜内某些膜蛋白的过多表达。多药耐药蛋白有 3 种:P-GP170、MRP190、LRP。多药耐药蛋白主要存在于肿瘤细胞的质膜中。P-GP170 和 MRP-190 是引起 MDR 的主要耐药蛋白^[3]。其耐药机理有 2 种。(1)通过主动转运的方式把化疗药物从肿瘤细胞质或直接从质膜中把药物转运出去,减少细胞内化疗药物的积聚。(2)多药耐药蛋白的过量表达改变细胞的膜电势或 pH 环境,因此药物在细胞内的分布和滞留发生紊乱,从而使化疗药物不能有效杀伤瘤细胞,从而起到耐药作用^[4]。因此逆转 MDR,减少耐药性,是化疗的成功所在。Cardo^[5]认为 P-GP170 在人类肿瘤中最常表达于直肠、肾脏、肾上腺,其他肿瘤中表达较少。本组甲状腺乳头状癌中 P-GP170 表达较强,阳性率为 93.75%,显著高于甲状腺腺瘤,表明其耐药性明显高于甲状腺腺瘤。

LRP 最早发现在肺癌细胞中,故称为肺耐药蛋白。LRP 引起癌细胞多药耐药性(MDR)的机制有两步:一是使以细胞核为靶位的化疗药物不能通过核孔进入细胞核,或把已经进入细胞核的药物转运到细胞质囊泡。二是通过胞吐机制将药物排出到细胞外^[6]。本研究 LRP 在甲状腺乳头状癌中阳性率较高 93.75%,LRP 在甲状腺腺瘤中表达阳性率 60.00%,与甲状腺乳头状癌差异显著 ($P < 0.01$)。

Ki-67 是 Gerdes^[7]在 1983 年应用何杰金氏病 L428 细胞株的核成分接种小鼠,制备出 Ki-67 单克隆抗体,并发现该抗体不仅与 L428 细胞株结合,而且能与多种细胞株的增生细胞核结合,因此提出 Ki-67 是人类所有增生细胞核中普遍存在的标志性抗原。近些年来,国内外文献报道多种恶性肿瘤中均存在 Ki-67 的过度表达。因此推测 Ki-67 可能是一种原癌基因,过表达可导致肿瘤的发生。肿瘤的增生导致了 Ki-67 的过表达。在本研究中,甲状腺乳头状癌呈过表达状态,平均标记指数为 55.94 ± 37.62 ,显著高于甲状腺腺瘤 (16.80 ± 17.20 , $P < 0.01$),说明 Ki-67 在甲状腺乳头状癌变中发挥重要作用,在癌与腺瘤的鉴别中具有一定意义^[8]。

P-GP170、LRP、Ki-67 经等级相关分析,有显著性相关 ($P < 0.01$)。P-GP170、LRP 和 Ki-67 在甲状腺乳头状癌中均呈高表达,前两者均为 93.75%。而

三者甲状腺腺瘤中均呈低表达。表明甲状腺乳头状癌细胞的耐药性与癌细胞标记指数呈正相关,即细胞标记指数高,耐药性强,导致甲状腺乳头状癌化疗不敏感,与 P-GP170、LRP 过度表达有密切关系。所以在化疗的同时应逆转耐药性,有针对性的给一些化疗增敏剂。目前常用的化疗增敏剂有钙离子拮抗剂维拉帕米、尼非地平,钙调蛋白抑制剂三氟拉嗪,雌激素拮抗剂三苯氧胺,免疫抑制剂环孢菌素 A 等。甲状腺乳头状癌多发生于中年女性,与雌激素水平紊乱有关^[9]。所以在甲状腺乳头状癌化疗前,检测雌激素水平,如过高,在化疗中同时给以雌激素抑制剂三苯氧胺,可提高化疗的敏感性。有助于甲状腺乳头状癌的临床治疗,减少复发和转移。

参考文献:

- [1] Robert J. Multidrug resistance reversal agents[J]. *Drugs Fut*, 1997,22 (2):149-150.
- [2] Filipits M, Jaeger U, Hamid KK, et al. Clinical relevance of lung resistance protein in diffusely large B-cell lymphomas[J]. *Clin Cancer Res*, 2000,6 (9):3417-3423.
- [3] Ling V. Multidrug resistance: molecular mechanisms and clinical relevance[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1997,40 (suppl):S3-8.
- [4] Reddy DS. Development of multidrug resistance protein inhibitors[J]. *Drugs Fut*, 1997,22 (6):653-658.
- [5] Cordoia C, O'Brien JP, Boccalja, et al. Expression of the multidrug resistance gene products (p-glycoprotein) in normal and tumor tissue[J]. *J Histochem Cytochem*, 1990,38 (9):1277-1287.
- [6] Izquierdo M-A, Scheffer GL, Flens M-J, et al. Major vault protein LRPreated multidrug resistance[J]. *Eur J Cancer*, 1996,32A (6):979-984.
- [7] Gerdes J, SchWab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation[J]. *Int J Cancer*, 1983,31 (1):13-20.
- [8] 郭贵龙,姚榛祥.p27 及 Ki67 对鉴别良、恶性甲状腺滤泡状肿瘤的价值[J]. *中国普通外科杂志*, 2002,11 (5):289-292.
- [9] 成继民,贺占国,田玉旺,等.甲状腺肿瘤雌、孕激素受体表达与 DNA 含量分析[J]. *中华病理学杂志*, 1997,26 (3):174-174.

[编辑:周永红;校对:杨卉]

《白血病·淋巴瘤》征订启事

《白血病·淋巴瘤》杂志是经国家科委批准的以白血病、淋巴瘤为主的血液系统恶性肿瘤学科的专业学术期刊,读者对象为从事血液病研究和临床工作的中、高级医务人员。编委会由国内外著名血液学专家、学者组成。

办刊宗旨:促进我国白血病防治事业发展,临床与基础并举,但侧重于临床;提高与普及兼顾,但侧重于提高。

主要栏目有:述评、论著、临床研究、实验研究、专题论坛、综述讲座、调查报告、短篇报道、个案报告等。

《白血病·淋巴瘤》杂志为双月刊,大 16 开本,64 页。国内统一刊号:CN14-1292/R, 国际连续出版物号:ISSN1009-9921, 邮发代号:22-107, 每期定价 6.00 元,全年定价 36.00 元,双月 25 日出版,国内总发行山西省邮政报刊发行局,全国各地邮局均可订阅,也可直接向本刊编辑部邮购(免邮资费)。凡订阅本刊全年刊物的作者,向本刊投稿时可凭 2005 年邮局订阅存根复印件,免交稿件处理费(30 元/篇),稿件发表时版面费适当减免。

编辑部地址:山西省太原市职工新街 3 号 邮政编码:030013

电话:(0351)4650389、4650386

传真:0351-4651415

E-mail:BXBLBL@sina.com