

# P 糖蛋白及 p53 基因蛋白在骨肉瘤组织中的表达及相关性

于秀淳, 刘晓平, 周 银, 李开华

## Relationship between expression of P-glycoprotein and p53 protein in osteosarcoma

YU Xiu-chun, LIU Xiao-ping, ZHOU Yin, et al

Ji 'nan Military General Hospital, Ji 'nan 250031, China

**Abstract:** **Objective** To study the expression of P-glycoprotein in osteosarcoma and the correlation with the expression of p53 gene. **Methods** The P-glycoprotein and p53 expressions of 33 osteosarcomas were detected by immunohistochemistry (S-P) method. There were 24 in males, 9 in females and with the mean age of 20.6 years, 5 in A, 23 in B and 5 in C. **Results** 19 patients were followed up with the average time of 1 year and 7 months, 3 recurred and 11 metastated to the lung and 6 died. The positive expression rate of p-glycoprotein and p53 were 45.5% and 57.6%, respectively. Both related with the prognosis of osteosarcoma, there was no relationship between the expressions of P-glycoprotein and p53 gene. **Conclusion** The expression of MDR induced by P-glycoprotein was an important factor of multidrug resistance in osteosarcoma, and affected the prognosis, patients with co-expression of P-glycoprotein and p53 had poorer prognosis. It remains to be proved whether the multidrug resistance is induced by p53 gene in osteosarcoma.

**Keywords:** Osteosarcoma; P-glycoprotein; p53 gene; Immunohistochemistry

**摘要:**目的 探讨多药耐药及 p53 基因蛋白在骨肉瘤组织中的表达及其相关性,以及对骨肉瘤预后的影响。方法 应用免疫组化方法(S-P法)测定由多药耐药基因介导的 P 糖蛋白(Pgp)及 p53 基因蛋白在 33 例骨肉瘤组织中的表达。男 24 例,女 9 例,年龄平均 20.6 岁。A 5 例, B 23 例, C 5 例。结果 19 例获得平均 1 年 7 个月随访,复发 3 例,肺转移 11 例(其中 6 例死亡)。P 糖蛋白阳性表达率为 45.5%, p53 基因蛋白阳性表达率为 57.6%, 两者均与预后有关;P 糖蛋白与 p53 蛋白在骨肉瘤细胞中表达无相关性。结论 Pgp 表达是骨肉瘤产生多药耐药的重要因素,Pgp 及 p53 基因蛋白同时表达的患者预后更差。p53 基因是否参与或介导骨肉瘤多药耐药的发生尚有待于进一步研究和探讨。

**关键词:**骨肉瘤;P 糖蛋白;p53 基因;免疫组化

**中图分类号:** R738.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2003)01-0026-03

### 0 引言

骨肉瘤术后生存率的改善与系统化疗的应用和推广密不可分,而生存率难以进一步提高的原因之一可能与多药耐药基因(MDR)有关。我们应用免疫组化的方法,测定MDR产物P糖蛋白(Pgp)在骨肉瘤组织中的表达。分析其与骨肉瘤预后的关系;并同期应用相同的方法测定p53基因蛋白的表达,以探讨与Pgp表达的相关性及对预后的影响。

### 1 材料与与方法

1.1 病例选择 本组男 24 例,女 9 例,年龄平均 20.6 岁(11~40 岁)。部位:股骨 12 例,胫骨 16 例,

腓骨 4 例,肱骨 1 例。所有病人术前均未行化疗。术式及例数:截肢或关节离断术 22 例,瘤段切除假体置换术 6 例,扩大切除术 5 例。19 例获得平均 1 年 7 个月的随访(6 个月~4 年 7 个月),预后不良 14 例,其中肺转移 11 例(6 例死亡),复发 3 例。预后良好 5 例,无复发、转移、死亡。

所有诊断均经术后病理组织学证实。首先复习原切片,选择含肿瘤细胞丰富切片之对应蜡块为观察标本,连续切片,5μm,待检。

1.2 免疫组化染色 所有试剂均购自福州迈新公司。染色采用链菌素亲生物素-过氧化物酶法(S-P法)。技术操作按规定程序进行。每次试验均设立阳性和阴性对照,以 PBS 置换作空白对照。

1.3 结果判断 Pgp 染色分布于细胞膜和细胞浆中,

收稿日期:2002-02-25;修回日期:2002-09-10

作者单位:250031 济南军区总医院骨病科

呈棕褐色颗粒状,并为片状或灶状分布。p53 蛋白表达于胞核。每张切片观察 10 个高倍镜视野,取其平均数,阳性细胞数小于 5% 为阴性,大于 5% 为阳性。

1.4 统计学处理 采用  $\chi^2$  检验

2 结果

2.1 Pgp 在骨肉瘤中的表达 本组 Pgp 阳性 15 例,阴性 18 例,阳性表达率为 45.5%。在随访的 19 例中,11 例为阳性表达,仅有 1 例预后良好;阴性表达的 8 例中,4 例预后良好,4 例预后不良,经统计学处理发现预后不良组的阳性表达率(71.4%)明显高于预后良好组(20%)。

2.2 p53 蛋白在骨肉瘤中的表达 本组 19 例骨肉瘤标本 p53 表达为阳性,阳性表达率为 57.6%,通过随访发现预后良好组 p53 阳性表达率为 20% (1/5),明显低于预后不良组(78.5%,11/14) ( $P < 0.05$ )。

2.3 Pgp 与 p53 蛋白表达的相关性 通过分析发现 Pgp 与 p53 同时呈阳性表达 10 例,Pgp 与 p53 同时呈阴性表达 8 例,两者表达的一致率为 54.3%,经统计学处理未发现 Pgp 表达与 p53 蛋白间存有相关性,见表 1。同时呈阳性表达的 10 例患者中,6 例获得随访,1 例预后良好,5 例肺转移,4 例死亡;同时呈阴性表达的 8 例患者中,5 例获得随访,3 例预后良好,2 例肺转移并死亡,因此 Pgp 与 p53 同时呈阳性表达的患者预后更差。

表 1Pgp 与 p53 表达的关系

p53	Pgp 表达		阳性率(%)	P
	-	+		
阴性	8	6	42.8	>0.05
阳性	9	10	52.6	

3 讨论

肿瘤细胞对化疗药物的多药耐药性是骨肉瘤治疗的主要障碍之一。P 糖蛋白(Pgp)是多药耐药基因(MDR)编码的蛋白质,它在多种人类恶性肿瘤中均有较高表达。尽管目前有关骨肉瘤细胞 MDR 基因 Pgp 表达的研究尚少,已有结果表明骨肉瘤常表现出内在性的 Pgp 高表达<sup>[1]</sup>。Stein 等用 PCR 技术证实 9 例骨肉瘤中的 7 例有 MDR 基因异常<sup>[2]</sup>。Wunder 等研究发现 15 例骨肉瘤患者的 18 个标本均有不同程度的 MDR 表达<sup>[3]</sup>。Kandel 应用免疫组化技术的研究表明 10 例骨肉瘤中有 50% 为阳性<sup>[4]</sup>,本组应用免疫组化的方法,对 MDR 基因所编码的 Pgp 在骨肉瘤中的表达进行了测定,结果发现在 33 例中,15 例为阳性表达,阳性表达率为 45.5%,与国外相同方法的研究结果相似<sup>[4]</sup>,但低于 PCR 的研究结果<sup>[2,3]</sup>,这与检测方法的敏感性差异有关。

多数学者认为多药耐药基因是影响骨肉瘤预后

的独立因素。Wunder<sup>[3]</sup>的研究结果显示 MDR 高水平表达的患者预后较差。Peabody<sup>[5]</sup>等提出多药耐药基因及其产物 Pgp 的表达是影响骨肉瘤预后重要因素。Hornicek<sup>[6]</sup>发现 P-糖蛋白阳性的骨肉瘤患者的肺转移率(67%)和死亡率(53%)均明显高于阴性组(分别为 28% 和 11%)。郭伟<sup>[7]</sup>认为尽管 Pgp 阳性组的 2 年、5 年生存率较阴性组低,但无明显差异。对本组 19 例患者的随访发现预后良好组的 Pgp 阳性率明显低于预后不良组,表明 Pgp 阳性表达的骨肉瘤患者预后较差。但 MDR 影响骨肉瘤预后的原因是由于 MDR 造成肿瘤细胞产生耐药性还是增强了肿瘤细胞的转移能力尚未定论,近年的研究似乎支持肿瘤细胞早期并不可能转移,由于产生了耐受化疗的能力,后期发生转移<sup>[5]</sup>。

p53 基因为抑癌基因,其蛋白表达与骨肉瘤的发生密切相关。研究发现在肿瘤细胞中 Pgp 与 p53 基因蛋白的表达相关,认为 p53 基因参与或激发肿瘤细胞多药耐药的发生。关于两者在骨肉瘤中表达的相关性目前报道较少。Park 等<sup>[8]</sup>的研究结果发现在 18 例 Pgp 阳性表达的患者中,17 例 p53 基因蛋白为阳性;19 例 Pgp 阴性表达的患者中,18 例 p53 基因蛋白为阴性,显示了 Pgp 与 p53 基因蛋白在骨肉瘤组织中表达的明显一致性;通过随访及生存分析发现 Pgp 和 p53 基因联合表达的患者预后更差。本研究未发现 Pgp 与 p53 同时呈阳性表达 10 例,Pgp 与 p53 同时呈阴性表达 8 例,占样本数的 54.3%,经统计学处理未发现 Pgp 表达与 p53 蛋白间存有相关性;Pgp(+)/p53(+ )表达的 10 例患者中,6 例获得随访,1 例预后良好,5 例肺转移,4 例死亡;Pgp(-)/p53(-)表达 8 例患者中,5 例获得随访,3 例预后良好,2 例肺转移并死亡,表明了 Pgp 与 p53 同时呈阳性表达的患者预后更差。关于 p53 基因与 Pgp 对预后的影响,本组的结果与 Park 等的结果相同,在两者的相关性方面有差异,但本研究也显示了两者的表达有一定的一致性,因此 p53 基因是否参与或介导骨肉瘤细胞的多药耐药性尚有待于进一步研究和探讨。

参考文献:

[1] 应明. 骨肉瘤多药耐药性及其逆转[J]. 中华骨科杂志, 1997, 17(7): 461-463.  
 [2] Stein U, Walther W, Wanderlich V. Point mutations in the mdrl promoter of human osteosarcomas are associated with in vitro resistance to multidrug resistance relevant drugs[J]. Eur J Cancer (Am), 1994, 30(11): 1541-1548.  
 [3] Wunder JS, Bell RS, Wold L, et al. Expression of the multidrug resistance gene in osteosarcoma: a pilot study[J]. J Orthop Res, 1992, 11(6): 396-402.  
 [4] Kandel RA, Campbell S, Noble TS, et al. Correlation of P-glycoprotein detection by immunohistochemistry with mdrl mRNA level



inoosteosarcoma: pioltstud y[J].Dia gnMolPathol,1995,4 (1) :59-65.

[5] PeabodyTD,GibbSCP,SimonMA.Evaluationandsta gingof musculoskeletalneoplasms[J].JBoneJointSur g(A),1998,80 (12) :1204-1218.

[6] HornicekFJ,GebhardtMC,WolfeMW,etal.P -glycoprotein levels predict pooroutcomein patientswithosteoscoma[J].Clin Orthop,2000, (373) :11-17.

[7] 郭伟,肖颖,盛传家,等.P170 和 PCNA 在恶性骨肿瘤中的表达 [J]. 中华骨科杂志.1998,18 (7) :423-425.

[8] ParkYB,KimHS,OhJH,etal.Theco -expressionof p53 protein andP -glycoproteiniscorrelatedtoa poor prognosisinosteosarcoma [J].IntOrtho p,2001,24 (6) :307-310.

(安 凤校对)

## 技术交流

# 老年患者胸部肿瘤术后心血管并发症的防治

李保东

关键词:老年;胸部肿瘤;手术;心律失常;急性心肌梗死;预防

中图分类号:R734.3 文献标识码:B

文章编号:1000-8578(2003)01-0028-01

老年患者胸部肿瘤的手术,对呼吸和循环系统有较大影响,术后常发生心血管并发症。自 1996 年 6 月~1998 年 1 月,我院行胸部肿瘤手术 287 例,术后 50 岁以上老年患者发生心血管并发症 67 例(23.3%)。现就心血管并发症发生的原因及其防治措施讨论如下。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 67 例,男 47 例,女 20 例。年龄 50~72 岁,平均 64.3 岁,其中 60 岁以上 46 例。食管癌 40 例,贲门癌 16 例,肺癌 6 例,纵隔肿瘤 5 例。术前心电图异常者 28 例,其中心肌供血不足 11 例,窦性心动过速 7 例,窦性心动过缓 2 例,左、右束支传导阻滞 2 例,房性期前收缩 2 例,室性期前收缩 4 例;余者心电图正常。手术切除 65 例,其中食管癌切除胃、食管颈部吻合 12 例,胃、食管主动脉弓上吻合 20 例,胃、食管弓下吻合 8 例,贲门癌切除胃、食管弓下吻合 16 例,肺叶切除 4 例,全肺切除 1 例,纵隔肿瘤摘除 4 例;单纯手术探查 2 例。手术顺利。

1.2 方法 术后应用 3F-PMS8110 型多功能生命监护仪连续监护 72~120 小时,记录心律失常出现的时间、类型、治

疗方法及效果。对术前心电图异常,术后出现同样类型心律失常者,不计入结果。急性心肌梗死患者均经心电图及血清心肌酶或肌钙蛋白测定等实验室检查确诊。

### 2 结果

心律失常 57 例,其中窦性心动过速 36 例,阵发性室上性心动过速 3 例,室性心动过速 1 例,室性期前收缩 4 例,房性期前收缩 8 例,心房纤颤 3 例,两种以上复杂心律失常 2 例;急性心肌梗死 7 例,心脏骤停 3 例。术后第 1、2、3 天心血管并发症的发生率分别为 40.3% (27/67)、29.9% (20/67)、7.46% (5/67)。经吸氧、止痛等对症处理大多能很快纠正;死亡 6 例,其中急性心肌梗死 3 例,心脏骤停 3 例,死亡率为 8.96%。

### 3 讨论

随着手术适应证不断扩大及心电图监护的广泛应用,老年患者胸部肿瘤术后心律失常、急性心肌梗死等心血管并发症已引起人们的重视。在心血管并发症中,心律失常最常见。本组心律失常占 85.1%,其中大多数为窦性心动过速(63.2%),致死性心律失常罕见。

胸部肿瘤术后心血管并发症的发生是多种因素综合所致。高龄和术前心血管合并症是心律失常发生的基础,低氧血症是心律失

常发生的主要原因。本组有 35 例窦性心动过速经吸氧得以纠正,3 例心脏骤停患者均经抢救无效死亡,说明术后积极改善机体缺氧情况十分必要,可避免产生严重后果。手术创伤和切口疼痛可使患者体内儿茶酚胺释放增加,从而引起心律失常。术后血粘度升高与急性心肌梗死的发生可能有一定关系。肿瘤患者血液处于高聚、高粘、高凝状态,易并发血栓形成。术后高凝状态进一步增强,加之老年患者多有动脉粥样硬化的病理基础,更易导致急性心肌梗死。据文献报告,围手术期急性心肌梗死的发生率为 0.15%,有冠心病者危险性高达 60%,高龄患者危险性增加 10 倍,约 60% 围手术期急性心肌梗死发生于术后前 3 天内。围手术期急性心肌梗死的死亡率较非手术急性心肌梗死高得多。本组急性心肌梗死 7 例,其中 4 例发生于术后第 1 天,2 例发生于术后第 2 天,1 例发生于术后第 5 天,死亡 3 例(42.9%)。

心血管并发症是胸部肿瘤术后近期死亡的主要原因。心血管并发症多发生于术后前 3 天内(77.6%)。因此,对于老年胸部肿瘤患者,在围手术期可采取如下防治措施:术后早期持续心电图监护和血氧饱和度监测至少 72 小时,以便及时发现、处理;保持呼吸道通畅,术后早期持续低流量吸氧,以纠正低氧血症;患者术前合并冠心病或心电图异常,静滴复方丹参和极化液,改善心肌供血;术后 48 小时内有效止痛;术后 24~72 小时应用小剂量  $\beta$ -受体阻滞剂(如氨酰心安);降低血粘度:适量扩容,应用改善血液流变学特性的药物,如低分子右旋糖酐等;同时术后前 2 天内尽可能不用胶体液。(本文参考文献 9 篇从略)

(贺 文校对)

收稿日期:2002-12-27; 修回日期:2002-03-13

作者单位:453002 河南省新乡市第二人民医院  
肿瘤外科