

# 乳腺癌原发灶及淋巴结转移灶中 P-gp、GST-、Topo 的表达及临床意义

张 静, 宁殿宾, 赵玉哲, 邢 颖, 曹文庆, 巩 涛, 王跃欣

Expression and Clinical Significance of P-gp, GST- and Topo in Breast Cancer and Their Lymph-node Metastasis Tumors

ZHANG Jing, NING Dian-bin, ZHAO Yu-zhe, XING Ying, CAO Wen-qing, GONG Tao, WANG Yue-xin

Department of General Surgery, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the protein expressions and relationship of P-gp, GST- and Topo in breast cancer and their lymph-node metastasis tumor. **Methods** High sensitive SP immunohistochemical method was used to detect the protein expressions of P-gp, GST- and Topo in 70 breast cancers and their lymph-node metastasis tumors (36 with lymphatic metastasis). **Results** (1) The expressions of P-gp, GST- in breast cancers with lymphatic metastasis was higher than those without lymphatic metastasis ( $P=0.043$ ,  $P=0.012$ ), but the expression of Topo had no difference between the two groups. (2) The expressions of GST-, Topo were significantly associated with lymphatic metastasis ( $P=0.001$ ,  $P=0.01$ ). However, the expression of P-gp was not associated with lymphatic metastasis. **Conclusion** (1) There was a significant relationship between the higher expression of P-gp, GST- and the axillary lymph node involvement. (2) The drug-resistance of breast cancers was not as same as their lymph-node metastatic tumors.

**Key words:** Multidrug resistance; P-glycoprotein; Glutathione-S-transferase; Topoisomerase

**摘 要:** **目的** 探讨乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶中 P-gp、GST-、Topo 的表达及相关性。**方法** 选择 2005 年 1~12 月所有在我科行手术治疗的乳腺癌患者 70 例,其中有腋下淋巴结转移的 36 例,无腋下淋巴结转移的 34 例,用免疫组化 SP 法检测原发灶和淋巴结转移灶 P-gp、GST-、Topo 的表达。**结果** (1)有腋下淋巴结转移的乳腺癌中 P-gp、GST- 的表达高于无腋下淋巴结转移的乳腺癌 ( $P=0.043$ 、 $P=0.012$ ),Topo 的表达两者间差异无统计学意义。(2)乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶的 GST-、Topo 表达有相关性 ( $P=0.001$ 、 $P=0.01$ ),P-gp 的表达无相关性。**结论** (1)P-gp、GST- 高表达与腋下淋巴结转移显著相关。(2)乳腺癌原发灶与淋巴结转移灶的耐药性不尽一致。

**关键词:** 多药耐药; P-糖蛋白; 谷胱甘肽-S-转移酶; 拓扑异构酶

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)03-0181-03

## 0 引言

乳腺癌为女性恶性肿瘤发病的第一位,化疗在乳腺癌治疗中占据着不可替代的地位,而肿瘤细胞多药耐药的存在是造成化疗失败的一个重要原因。目前对乳腺癌原发灶的 P-gp、GST- 和 Topo 已经作了大量的研究,而缺乏对淋巴结转移灶的探讨。我们应用 SP 法检测乳腺癌患者原发灶和淋巴结转移灶的 P-gp、GST- 以及 Topo 的表达,分析其相关性,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选择我院 2005 年 1~12 月所有行手术治疗且术前均未行抗癌治疗的乳腺癌患者 70 例,其中无淋巴结转移的 34 例,伴有同侧腋下淋巴结转移的 36 例,均为女性,年龄 34~72 岁,平均年龄 52 岁。经 2 名以上病理医师确认为乳腺浸润癌(其中导管癌 56 例、小叶癌 10 例、髓样癌 3 例、硬癌 1 例)。

**1.2 标本的采集** 切除的乳腺和淋巴结标本经 10% 甲醛溶液固定,做 4  $\mu\text{m}$  连续切片,进行 HE 及免疫组织化学染色,保存待测。

**1.3 标本的检测** 免疫组织化学染色方法采用 SP 法。P-gp、GST-、Topo 单克隆抗体及 SP 超敏试

收稿日期: 2007-03-27; 修回日期: 2007-07-25

作者单位: 050051 石家庄, 河北省人民医院腺体外科

作者简介: 张静(1965-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事乳腺肿瘤的研究

剂盒、DAB 显色液均购于北京中山生物技术有限公司。严格按照说明书操作。

1.4 结果判断 每张切片由两名医生双盲观测。结果参照许良中等的评定标准<sup>[1]</sup>,对染色强度打分:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。再将阳性细胞所占的百分比打分:0 分为阴性,1 分为阳性细胞 10%,2 分为 11%~50%,3 分为 51%~75%,4 分为 >75%。染色强度与阳性细胞百分比乘积 >3 分时为免疫反应(+).

1.5 统计学方法 应用 SPSS11.5 统计软件行统计分析,组间比较用  $\chi^2$  检验,组间关系用相关性分析。

## 2 结果

2.1 有腋下淋巴结转移乳腺癌患者原发灶的 P-gp、GST-、Topo 阳性表达率分别为 83.3%、83.3%、63.9%,淋巴结转移灶的 P-gp、GST-、Topo 阳性表达率分别为 100%、61.1%、44.4%。无腋下淋巴结转移乳腺癌原发灶的 P-gp、GST-、Topo 阳性表达率分别为 61.8%、55.9%、67.6%,见表 1。

2.2 有腋下淋巴结转移的乳腺癌原发灶中 P-gp、GST- 的表达高于无腋下淋巴结转移的乳腺癌( $\chi^2 = 3.113, P = 0.043$ ;  $\chi^2 = 6.275, P = 0.012$ ),而 Topo 的表达两者间差异无统计学意义。

2.3 乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶 P-gp、GST-、Topo 表达的相关性分析 两者之间 P-gp 的表达无相关性,而 GST-、Topo 有相关性,相关系数分别为 0.706 ( $P = 0.001$ ) 和 0.564 ( $P = 0.01$ )。

## 3 讨论

### 3.1 肿瘤演进过程中的异质性

影响肿瘤治疗效果的一个重要因素是肿瘤演进过程中的异质性,它引起肿瘤生物化学的明显差异,从而导致蛋白质表达的差异,我们可以通过对不同部位的转移灶甚至同一肿块中不同细胞的检查证

明。郝希山等<sup>[2]</sup>通过对乳腺癌原发灶和转移灶基因表达的研究表明:其筛选出的 57 个基因在至少 5 对样本中有 1.5 倍以上相同的差异表达,实时定量 RT-PCR 检测 30 例乳腺癌原发癌与配对的淋巴结转移癌中纤维粘连蛋白(FN)的 mRNA 表达,转移癌中 FN 的 mRNA 表达平均相对表达量较原发癌下调 3.6 倍,差异有统计学意义。何龙等<sup>[3]</sup>通过研究发现喉鳞状细胞癌原发灶 PTEN、survivin 的表达与淋巴结转移灶存在差异。本研究发现有腋下淋巴结转移的乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶的 GST- 和 Topo 表达相同,P-gp 表达不同,表明肿瘤在演进过程中基因表达可能发生了变异。

3.2 本研究显示 有腋下淋巴结转移的乳腺癌中 P-gp、GST- 的表达明显高于无腋下淋巴结转移的乳腺癌( $P = 0.031, P = 0.038$ ),而 Topo 的表达与无腋下淋巴结转移的乳腺癌差异无统计学意义。说明 P-gp、GST- 高表达与腋下淋巴结转移显著相关,因此检测 P-gp 和 GST- 对于判断淋巴结转移情况及预后有一定的指导意义。

### 3.3 乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶中 P-gp、GST-、Topo 表达的相关性

P-gp 是 MDRI 基因的蛋白产物,在 ATP 的参与下,P-gp 发生能量依赖性变构,将细胞内药物“泵出”细胞外,造成细胞内药物浓度下降,细胞毒作用降低或完全丧失,细胞产生耐药性<sup>[4]</sup>。本研究发现乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶之间 P-gp 无相关性,这可能是乳腺癌细胞在淋巴结转移的过程中由于体内某种机制的作用,导致肿瘤淋巴结转移灶细胞的耐药性发生了异质性改变,因此既往只根据原发灶的病理情况选择的化学治疗失败成为必然,这提示我们在选择化疗时不仅要考虑原发灶还需兼顾淋巴结转移灶,选择有针对性的化疗方案,以提高化疗效果。

GST- 可通过催化方式降解药物来减弱化疗药物对肿瘤的杀伤作用,非特异性 GST- 的结合作用可协助药物通过 P-gp 形成的药物排流泵,还可通

表 1 P-gp、GST-、Topo 表达情况

部位	例数	P-gp			GST-			Topo		
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)
有淋巴结转移										
原发灶	36	30	6	83.3 <sup>*</sup>	30	6	83.3 <sup>*#</sup>	23	13	63.9 <sup>#</sup>
转移灶	36	36	0	100	22	14	61.1	16	20	44.4
无淋巴结转移										
原发灶	34	21	13	61.8	19	15	55.9	23	11	67.6

<sup>\*</sup>代表有淋巴结转移组与无淋巴结转移组原发灶 P-gp、GST- 表达有明显差异; <sup>#</sup>代表有淋巴结转移组原发灶与转移灶 GST-、Topo 表达有相关性

过酶结合方式将各种潜在的毒性化学药物、致癌、抗癌药物及亲脂性化合物从体内排出,从而造成癌细胞耐药,与肿瘤预后和耐药关系密切。Brotherick 等<sup>[5]</sup>发现 GST- 在进展期乳腺癌或转移性乳腺癌表达显著升高。

Topo 又称回旋酶,是与细菌 DNA 回旋酶具有同源的二聚体蛋白,经过一种完整的 DNA 螺旋结构在分裂的 DNA 螺旋中产生双链断裂,改变核酸的局部状态,控制核酸生理功能<sup>[6]</sup>。Topo 可介导 MDR 形成,以细胞内药物积聚障碍和对所有抗 Topo 药物交叉耐药为特征<sup>[7]</sup>。细胞内 Topo 表达水平越高则对抗癌药敏感性越高,反之越低。本研究发现,乳腺癌和淋巴结转移灶中 GST-、Topo 有明显相关性,说明乳腺癌原发灶和淋巴结转移灶对某些化疗药物具有相同的耐药性。

由于乳腺癌在从原发灶向淋巴结转移的过程中出现变异,导致肿瘤转移灶的生物行为的变化,引起化疗的失败。目前研究主要集中在化疗药物对乳腺癌原发灶的效果上,而本研究通过检测原发灶及转移灶的 P-gp、GST- 和 Topo 及其相关性,探讨了化疗药物对乳腺癌转移灶的作用,使化疗更具针对

性,对临床治疗具有一定的指导意义。

#### 参考文献:

- [1] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229-231.
- [2] 郝希山,冯玉梅,张亮,等. 采用单引物扩增法标记的基因芯片技术筛选乳腺原发癌与淋巴结转移癌的差异表达基因[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(6): 385-390.
- [3] 何龙,王继群,山艳春. 喉鳞状细胞癌原发灶和淋巴结转移灶中 PTEN 和 Survivin 的表达及意义[J]. 临床耳鼻咽喉杂志, 2005, 19(9): 412-416.
- [4] Endicott J A, Ling V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance[J]. Annu Rev Biochem, 1989, 58: 137-171.
- [5] Brotherick I, Shenton BK, Egan M, et al. Examination of multidrug resistance in cell lines and primary breast tumours by flow cytometry[J]. Eur J Cancer, 1996, 32A(13): 2334-2341.
- [6] Bakshi RP, Galande S, Muniyappa K. Functional and regulatory characteristics of eukaryotic type II DNA topoisomerase[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2001, 36(1): 1-37.
- [7] Liu B, Staren ED, Iwamura T, et al. Mechanisms of taxotere-related drug resistance in pancreatic carcinoma[J]. J Surg Res, 2001, 99(2): 179-186.

[编辑校对:贺文]

## · 简讯 ·

### 《肿瘤防治研究》杂志网站开通公告

《肿瘤防治研究》杂志网站于 2008 年 1 月 1 日正式开通。网站包括作者投稿、作者查稿、编辑远程办公、审稿专家在线审稿、读者直接在网上查阅本刊等多种功能。

网站的开通,为读者、作者、审者和编者搭建了一个崭新的沟通平台,为国内外广大的医务、科研和医学教育工作者提供了又一个全新的学术园地。我们将充分利用好这一崭新的互动平台,为关心和支持我们的广大读者、作者和审者提供最好的服务。

今后与论文有关的事宜请直接通过本刊网站和我们联系。此外,编辑部的有关公告和通知也将直接在网站上发布。如有疑问,请及时与编辑部联系。

网址: <http://www.zlfzyj.com>

电话: 027 - 87670126, 87670117

《肿瘤防治研究》编辑部