

· 临床研究与应用 ·

结直肠癌中 ABCG2 表达与伊立替康为基础化疗疗效相关性研究*

孙志伟 王晰程 高 静 李艳艳 张晓东 沈 琳

摘要 目的:明确结直肠癌组织中 ABCG2(ATP-binding cassette superfamily G member 2, ABCG2)的表达及其与患者临床病理特征、以伊立替康(CPT-11)为基础化疗疗效的相关性,从而为结直肠癌患者实现个体化治疗提供理论依据。**方法:**筛选 1996 年 1 月至 2011 年 12 月于北京大学肿瘤医院行 CPT-11 化疗的晚期结直肠癌患者,收集患者完整病史资料及肿瘤组织样本。用免疫组织化学的方法检测样本中 ABCG2 蛋白表达情况。分析 ABCG2 蛋白表达与患者临床病理特征、CPT-11 化疗疗效的相关性。**结果:**1)免疫组织化学染色显示 ABCG2 在结直肠癌组织中表达阳性率达 93.2%,癌旁正常肠黏膜 ABCG2 蛋白阳性表达率为 43.6%,癌组织较癌旁正常黏膜组织的表达水平明显增高($P<0.05$)。ABCG2 表达与患者年龄、性别、病理分化程度、病变部位、肝转移均无明显相关性。2)ABCG2 蛋白表达与 CPT-11 化疗疗效无显著相关($P>0.05$)。**结论:**在应用伊立替康为基础方案化疗的结直肠癌患者中,癌组织中 ABCG2 蛋白表达水平与患者化疗疗效无明显相关。

关键词 ABCG2 伊立替康 结直肠癌

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20132030

Correlation of ABCG2 expression with the efficacy of irinotecan chemotherapy in colorectal cancer patients

Zhiwei SUN, Xicheng WANG, Jing GAO, Yanyan LI, Xiaodong ZHANG, Lin SHEN

Correspondence to: Xicheng WANG; E-mail: xicheng.wang@gmail.com

Department of Oncology, Peking University Cancer Hospital & Institute, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Beijing 100142, China.

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81101878).

Abstract Objective: To identify the ABCG2 expression levels in colorectal cancer patients and its relationship with clinicopathological features and the efficacy of irinotecan-based chemotherapy and to provide further theoretical basis for individualized treatment. **Methods:** Clinical data and tumor samples from patients with metastatic CRC who have received irinotecan-based chemotherapy at the Department of Gastroenterological Oncology, Peking University Cancer Hospital from January 1996 to December 2011 were collected. The immunohistochemical method was used to detect ABCG2 expression levels both in colorectal carcinoma and tumor-adjacent normal tissues. The correlations of the expression of ABCG2 with clinicopathological features and the efficacy of irinotecan-based chemotherapy were statistically analyzed. **Results:** 1) Immunohistochemical staining shows that the positive rate of ABCG2 expression in the colorectal cancer samples is 93.2%, which is significantly higher than that in normal colon mucosa at 43.6% ($P<0.05$). No significant associations were observed between ABCG2 expression and age, gender, tumor differentiation, primary tumor sites, or liver metastasis. (2) ABCG2 expression has no significant correlation with the efficacy of irinotecan-based chemotherapy ($P>0.05$). **Conclusion:** ABCG2 expression has no significant correlation with the efficacy of irinotecan chemotherapy in patients with colorectal cancer.

Keywords: ABCG2, CPT-11, colorectal cancer

伊立替康(CPT-11)作为一种喜树碱衍生物,是晚期结直肠癌患者主要化疗药物之一,在临床上发现不同个体的疗效差异很大,且以骨髓抑制、腹泻为主的不良反应限制了其在临床上的应用,如何为患者个体化地选择化疗方案,提高化疗疗效,减轻化疗不良反应成为结直肠癌领域的研究方向。ABCG2是

近些年来发现的一种多药耐药转运蛋白,属于ABC转运超家族,可依靠ATP水解的能量将很多底物泵出膜外^[1]。研究证实ABCG2在伊立替康的耐药上发挥了重要作用,如Takara等^[2]在用伊立替康活性代谢产物SN-38筛选的HeLa细胞系中发现,耐药细胞系中ABCG2的mRNA和蛋白表达水平较敏感细胞系明

作者单位:北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所,恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室(北京市100142)

*本文课题受国家自然科学基金项目(编号:81101878)资助

通信作者:王晰程 xicheng.wang@gmail.com

显增加。Sun等^[3]指出,用拓扑替康筛选的细胞系中也有 ABCG2 的过表达,并导致其对伊立替康及 SN-38 产生获得性耐药。而 Mo 等^[4]发现在转移性结肠直肠癌患者中,患者对伊立替康的耐药程度与 ABCG2 基因的扩增度相关。这些都表明 ABCG2 参与了体内伊立替康的耐药。因此,本研究探讨了结肠直肠癌组织中 ABCG2 的表达与患者伊立替康为基础化疗疗效的相关性,以期对结肠直肠癌患者的个体化治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

1996年1月至2011年12月于北京大学肿瘤医院消化内科住院治疗的74例患者。入选标准:病理组织学确诊为结肠直肠癌;行CPT-11为基础方案化疗;有明确疗效评价;有肿瘤组织标本。收集患者完整病史资料及组织标本。

74例结肠直肠癌患者中,男性46例,女性28例(男女比例1.6:1),中位年龄54(20~79)岁;结肠癌44例,直肠癌30例;分化程度好者49例,分化程度差者24例(表1)。

74例患者均使用CPT-11为基础方案化疗,其中使用FOLFIRI方案者38例(51.4%),FOLFIRI联合贝伐珠单抗14例(18.9%),FOLFIRI联合泰欣生8例(10.8%),FOLFIRI联合爱必妥4例(5.4%),CPT-11单药者3例(4.1%),CPT-11联合爱必妥3例(4.1%),CPT-11联合恩度2例(2.7%),CPT-11联合希罗达、爱必妥1例(1.4%),FOLFOXIRI 1例(1.4%)。

疗效判定:根据RECIST 1.0实体瘤疗效统一评价标准将疗效分为:完全缓解(CR),部分缓解(PR),病情稳定(SD)和疾病进展(PD),每3周期评效1次,若出现可能为疾病进展的表现可提前评效。

1.2 实验方法

应用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(strepta-vidin-peroxidase, SP),切片经二甲苯脱蜡及梯度乙醇逐步水化后,3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶,0.01 M 枸橼酸盐缓冲液(pH=6.0)进行抗原修复,再滴加5%BSA封闭液,室温10 min。滴加一抗,4℃孵育过夜,取出在37℃复温20 min,滴加二抗,室温孵育30 min,DAB显色,苏木素复染细胞核,以PBS缓冲液为一抗作阴性对照,不滴加一抗及任何其他一抗替代液作空白对照,以已知阳性组织切片作阳性对照。ABCG2鼠单克隆(BXP-21)抗体(ab3380),购于英国Abcam公司。免疫组织化学结果由医院病理科医师按以下原则判定:ABCG2蛋白阳性信号定位于细胞膜和细胞质,出现黄至棕褐色颗粒为阳性。参照1996年全国免疫组织化学技术与诊断标准化专

题研讨会意见,以连续观察10个高倍视野(10×40),免疫反应阳性细胞数超过25%作为组织阳性诊断标准。免疫反应阳性细胞数占总细胞数<25%(-),25%~50%为(+),51%~75%为(++),>75%为(+++)。应用此方法对入选患者结肠直肠癌肿瘤组织标本及相应癌旁组织进行免疫组织化学染色。

1.3 统计学分析

采用统计学分析软件SPSS 13.0,分析结肠直肠癌组织中 ABCG2 蛋白表达与患者CPT-11为基础化疗疗效之间的相关性,并分析 ABCG2 表达与患者性别、年龄、肿瘤原发部位等临床病理特征之间的相关性,卡方检验检测结果是否具有统计学意义。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠直肠癌组织样本中 ABCG2 的表达情况

免疫组织化学染色显示 ABCG2 在结肠直肠癌组织中有普遍的表达。74例样本中表达阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++)者分别有5例(6.8%)、5例(6.8%)、38例(51.3%)、26例(35.1%),阳性率高达93.2%(图1)。

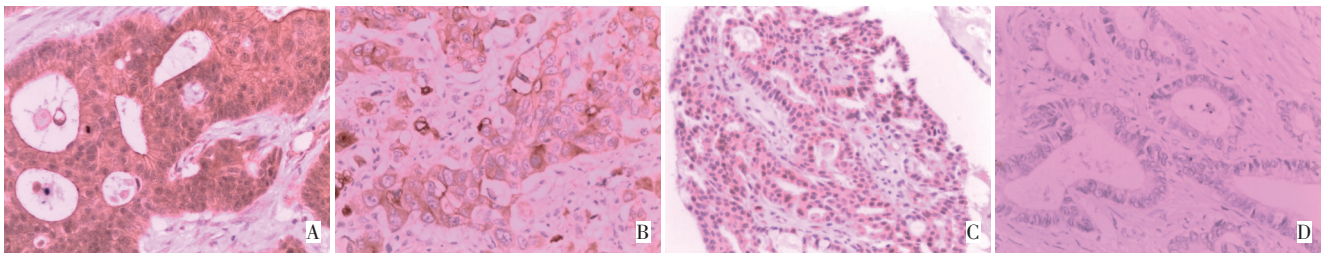
在74例样本中,其中的43例有配对的癌旁正常肠黏膜组织标本,ABCG2蛋白表达阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++)者分别有23例(53.5%)、11例(25.6%)、8例(18.6%)、1例(2.3%),阳性率达46.5%。癌组织较癌旁正常黏膜组织 ABCG2 的表达水平明显增高,两者差异有统计学意义($P<0.05$)。

表1 患者基本资料

Table 1 Basic data of the patients

Clinicopathological Features	n	%
Gender		
Male	46	62.2
Female	28	37.8
Age (years)		
<65	51	68.9
≥65	23	31.1
Tumor Location		
Colon	44	59.5
Rectum	30	40.5
Differentiation		
Well	49	66.2
Poor	24	33.8
Liver metastases		
No	32	43.2
Yes	42	56.8

Note: Well differentiation includes well-differentiated adenocarcinoma and moderately differentiated adenocarcinoma; Poor differentiation includes poorly differentiated adenocarcinoma, signet ring cell carcinoma and mucinous adenocarcinoma.



A. Strongly positive(+++); B. Positive(++); C. Weakly positive(+); D. Negative(-)

图1 结直肠癌组织 ABCG2 免疫组化染色结果 (SP×100)

Figure 1 Immunohistochemical staining of the ABCG2 protein expression in colorectal cancer (SP×100)

2.2 结直肠癌组织样本中 ABCG2 表达与患者临床病理变量的关系

本研究分析了结直肠癌组织中 ABCG2 的表达与患者临床病理变量之间的相关性。由表 2 所示, ABCG2 表达与患者的年龄、性别、病理分化程度、病变部位、有无肝转移均无显著相关。

表 2 结直肠癌组织 ABCG2 表达与临床病理变量的关系

Table 2 Association of the ABCG2 protein with the clinicopathological features of colorectal cancer

Clinicopathologic Features	ABCG2		P
	-/+	++/+++	
All	10	64	
Age (years)			0.715
<65	8	43	
≥65	2	21	
Gender			0.880
Male	6	40	
Female	4	24	
Differentiation			0.720
Well	6	43	
Poor	4	20	
Tumor Location			1.000
Colon	6	38	
Rectum	4	26	
Liver metastases			0.737
No	5	27	
Yes	5	37	

2.3 结直肠癌组织样本中 ABCG2 表达与伊立替康为基础化疗疗效的相关性

按照 RECIST 1.0 标准评价化疗疗效,入选的 74 例结直肠癌患者中,其中 17 例(23.0%)患者最佳疗效达到 CR/PR, 36 例(48.6%)为 SD, 21 例(28.4%)为 PD。统计结果显示 ABCG2 表达与化疗疗效无显著相关($P>0.05$,表 3)。

此外,本研究中,38 例(51.4%)患者采用的 FOLFIRI 方案化疗,将这部分患者单独进行统计分析,其

中 6 例(15.8%)患者最佳疗效达到 CR/PR, 21 例(55.3%)为 SD, 11 例(28.9%)为 PD。统计结果显示 ABCG2 表达与 FOLFIRI 方案化疗疗效亦无显著相关($P>0.05$,表 4)。

表 3 结直肠癌组织 ABCG2 表达与伊立替康为基础化疗疗效的相关性

Table 3 Association of the ABCG2 protein with the efficacy of irinotecan-based chemotherapy

Expression of ABCG2	CR/PR/SD n(%)	PD n(%)	P
-/+	6(60.0)	4(40.0)	0.456
++/+++	47(73.4)	17(26.6)	

表 4 结直肠癌组织 ABCG2 表达与 FOLFIRI 方案化疗疗效的相关性

Table 4 Association of the ABCG2 protein with the efficacy of FOLFIRI chemotherapy

Expression of ABCG2	CR/PR/SD n(%)	PD n(%)	P
-/+	3(50.0)	3(50.0)	0.329
++/+++	24(75.0)	8(25.0)	

3 讨论

自发现 ABCG2 与肿瘤耐药相关以来,国内外很多学者致力于研究 ABCG2 在各种肿瘤中的表达与功能,为肿瘤的治疗寻找出路。

研究证实 ABCG2 在大多数肿瘤中都有表达,特别是消化道、子宫内膜、肺^[5]。关于 ABCG2 蛋白在结直肠癌肿瘤组织及邻近正常肠黏膜组织中的表达情况,目前研究较少,且结论不一^[6-10]。有研究^[7]示 ABCG2 在癌组织及正常组织中的表达率相近(66.2% vs. 50%)。而有研究^[9]示癌组织中 ABCG2 表达率较正常组织明显增高(68.3% vs. 0)。本研究中肠癌组织 ABCG2 表达率高达 93.2%,而癌旁正常组织为 46.5%,癌组织与正常组织相比 ABCG2 表达水平明显增高($P<0.05$),同时发现肿瘤组织中 ABCG2 的表达与患者年龄、性别、病理分化程度、病变部位、有无肝转移均无明显相关性。本研究结论不同的原

因可能与样本量大小不一、实验方法不同有关。

很多研究示肿瘤组织中ABCG2的表达可能与临床结果有一定的相关性^[7,11-17]。如赵亚超等^[11]研究发现,在非小细胞肺癌中,ABCG2表达阳性的病例对阿霉素、拓扑替康等的敏感性均降低。Wang等^[7]发现ABCG2在结直肠癌中是一个预后差的指征。但也有研究认为肿瘤中ABCG2的表达与患者临床情况并无相关^[18-19]。总之,ABCG2与肿瘤患者化疗疗效及预后的相关性仍存在争议,且尚无关于结直肠癌中ABCG2表达与化疗疗效相关性的报道。本研究显示结直肠癌组织中ABCG2蛋白表达与CPT-11化疗疗效无显著相关($P>0.05$),但本研究样本量较少,有待加大样本量进一步证实此结论。

综上所述,本研究提示ABCG2在结直肠癌组织中普遍表达,且癌组织较癌旁正常组织表达水平明显增高。ABCG2表达与患者年龄、性别、病理分化程度、病变部位、有无肝转移均无明显相关。肠癌组织中ABCG2表达与伊立替康为基础化疗疗效无明显相关,由于样本量有限,且本研究中混杂多种化疗方案,今后仍需扩大样本量开展前瞻性研究对上述研究结果做进一步的验证,期望可通过ABCG2的检测优化以伊立替康为基础的化疗,实现结直肠癌患者的个体化治疗。

参考文献

- 1 Robey RW, Ierano C, Zhan Z, et al. The challenge of exploiting ABCG2 in the clinic[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12(4):595-608.
- 2 Takara K, Kitada N, Yoshikawa E, et al. Molecular changes to HeLa cells on continuous exposure to SN-38, an active metabolite of irinotecan hydrochloride[J]. *Cancer Lett*, 2009, 278(1):88-96.
- 3 Sun YL, Patel A, Kumar P, et al. Role of ABC transporters in cancer chemotherapy[J]. *Chin J Cancer*, 2012, 31(2):51-57.
- 4 Mo W, Zhang JT. Human ABCG2: structure, function, and its role in multidrug resistance[J]. *Int J Biochem Mol Biol*, 2012, 3(1):1-27.
- 5 Natarajan K, Xie Y, Baer MR, et al. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(8):1084-1103.
- 6 Gupta N, Martin PM, Miyauchi S, et al. Down-regulation of BCRP/ABCG2 in colorectal and cervical cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 343(2):571-577.
- 7 Wang X, Xia B, Liang Y, et al. Membranous ABCG2 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival[J]. *Cancer Biomark*, 2013, 13(2):81-88.
- 8 Liu HG, Pan YF, You J, et al. Expression of ABCG2 and its significance in colorectal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11(4):845-848.
- 9 Li GQ, Zhu R, Zhou HY, et al. Expression of ABCG2 and

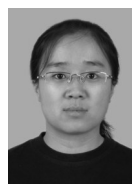
CD44V6 in the colorectal cancer and clinical significance[J]. *The Practical Journal of Cancer*, 2012, 27(1):27-29. [李刚强,朱瑞,周海亚,等.ABCG2和CD44V6在大肠癌中的表达及临床意义[J].实用癌症杂志,2012,27(1):27-29.]

- 10 Hu XH, Sha WH, Lin F, et al. The correlation between the expressions of ABCG2 and clinicopathological parameters of colorectal cancer[J]. *Chin J Clinicians*, 2011, 5(12):3436-3460. [胡潇红,沙卫红,林锋,等.大肠癌组织中ABCG2的表达及临床病理意义[J].中华临床医师杂志,2011,5(12):3436-3460.]
- 11 Zhao YC, Zhang ZP, Han Y, et al. Relationship between expressions of BCRP and GST- π in non-small cell lung cancer and drug sensitivity[J]. *Chin J Cancer Prev Treat*, 2008, 15(12):897-900. [赵亚超,张志培,韩勇,等.非小细胞肺癌组织BCRP和GST- π 表达及其与化疗敏感性关系的研究[J].中华肿瘤防治杂志,2008,15(12):897-900.]
- 12 Damiani D, Tiribelli M, Michelutti A, et al. Fludarabine-based induction therapy does not overcome the negative effect of ABCG2 (BCRP) over-expression in adult acute myeloid leukemia patients [J]. *Leuk Res*, 34(7):942-945.
- 13 Kim YH, Ishii G, Goto K, et al. Expression of breast cancer resistance protein is associated with a poor clinical outcome in patients with small-cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2009, 65(1):105-111.
- 14 Omran OM. The prognostic value of breast cancer resistance protein (BCRB/ABCG2) expression in breast carcinomas[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2012, 31(4):367-376.
- 15 Zhang G, Wang Z, Luo W, et al. Expression of Potential Cancer Stem Cell Marker ABCG2 is Associated with Malignant Behaviors of Hepatocellular Carcinoma[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2013, 2013:782581.
- 16 de Lima LT, Vivona D, Bueno CT, et al. Reduced ABCG2 and increased SLC22A1 mRNA expression are associated with imatinib response in chronic myeloid leukemia[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(3):851.
- 17 Zhang Q, Li K, Xu JH, et al. Role of ABCG2 expression driven by cisplatin in platinum-containing chemotherapy for gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(39):6630-6636.
- 18 Mo W, Zhang JT. Human ABCG2: structure, function, and its role in multidrug resistance[J]. *Int J Biochem Mol Biol*, 2012, 3(1):1-27.
- 19 Svirnovski AI, Shman TV, Serhiyenko TF, et al. ABCB1 and ABCG2 proteins, their functional activity and gene expression in concert with drug sensitivity of leukemia cells[J]. *Hematology*, 2009, 14(4):204-212.

(2013-11-29收稿)

(2014-02-24修回)

(本文编辑:周晓颖)



作者简介

孙志伟 博士,住院医师。研究方向为消化道肿瘤药物治疗。

E-mail: sunny2004zw@163.com