

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2005.06.08

# 临床研究 #

# 耐药基因相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义

李昌林 侯梅 赵宇 周清华

**摘要** **背景与目的** 肿瘤的多药耐药是肺癌化疗失败和导致患者死亡的重要原因之一。本研究目的是探讨 P2糖蛋白 (P2gp)、多药耐药相关蛋白 (MRP)、肺耐药蛋白 (LRP)、拓扑异构酶 $\text{\textcircled{0}}$  (Topo $\text{\textcircled{0}}$ )、谷胱甘肽S转移酶 P (GST2P) 在肺癌中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组织化学染色链亲和素 $\text{\textcircled{2}}$ 生物素 $\text{\textcircled{2}}$ 过氧化物酶法 (streptavidin $\text{\textcircled{2}}$ biotin immunoperoxidase, SP) 检测 98 例非小细胞肺癌组织中 5 种耐药蛋白的表达。**结果** P2gp、MRP、LRP、Topo $\text{\textcircled{0}}$ 、GST2P 的阳性表达率分别为 27.6%、11.2%、75.5%、50.0% 和 64.3%。LRP、Topo $\text{\textcircled{0}}$  在鳞癌、腺癌、腺鳞癌间的表达有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。5 种耐药蛋白的表达与临床分期无明显关系 ( $P > 0.05$ )。47 例接受化疗的非小细胞肺癌患者中, P2gp、LRP、GST2P 的表达与化疗疗效有密切关系 ( $P < 0.05$ )。**结论** 肺癌的耐药由多种耐药蛋白介导, 联合检测肺癌组织中耐药蛋白的表达有助于选择合理的化疗方案及判断化疗疗效。

**关键词** P2糖蛋白 多药耐药相关蛋白 肺耐药蛋白 拓扑异构酶 $\text{\textcircled{0}}$  谷胱甘肽S转移酶 P 肺肿瘤

**中图分类号** R734.2

Expression of multiple drug resistance-associated proteins in non-small cell lung cancer tissues and its clinical significance LI Changlin\*, HOU Mei, ZHAO Yu, ZHOU Qinghua. \* Department of Medical Oncology, Cancer Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China

Corresponding author: HOU Mei, E-mail: houml18@msn.com

**Abstract** **Background and objective** Multiple drug resistance is one of the important reasons that patients failed to chemotherapy and died of tumors. The aim of this study is to investigate the expression of resistance-related proteins, P2glycoprotein (P2gp), multidrug resistance-associated protein (MRP), lung resistance-related protein (LRP), topoisomerase $\text{\textcircled{0}}$  (Topo $\text{\textcircled{0}}$ ) and glutathioneStransferaseP (GST2P) in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues and their clinical significance. **Methods** Expression of P2gp, MRP, LRP, Topo $\text{\textcircled{0}}$  and GST2P was measured in 98 NSCLC tissues by immunohistochemistry SP method. **Results** The positive rate of P2gp, MRP, LRP, Topo $\text{\textcircled{0}}$  and GST2P was 27.6%, 11.2%, 75.5%, 50.0% and 64.3% respectively. Significant relationship was observed between expression of LRP and Topo $\text{\textcircled{0}}$  and histological classification. No remarkable difference in expression of multiple drug resistance-related proteins was found among different TNM stages. A total of 47 patients with NSCLC were treated with chemotherapy. There was significant relationship between expression of P2gp, LRP and GST2P and chemotherapy response ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** NSCLC has overexpression of multiple drug resistance-related proteins. Combined detection of these proteins may be useful to guide chemotherapy and predict the response for lung cancer.

**Key words** P2glycoprotein Multidrug resistance-associated protein Lung resistance-related protein Topoisomerase $\text{\textcircled{0}}$  GlutathioneStransferaseP Lung neoplasms

化疗在肺癌的治疗中占有重要地位。目前肺癌化疗疗效差的原因有多种, 其中肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性是主要因素<sup>[1]</sup>。耐药性发生的机制为多基

因、多步骤综合作用的结果<sup>[2]</sup>。本研究利用 SP 法检测 P2糖蛋白 (p2glycoprotein, P2gp)、多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance-associated protein, MRP)、肺耐药蛋白 (lung resistance-related protein, LRP)、拓扑异构酶 $\text{\textcircled{0}}$  (topoisomerase $\text{\textcircled{0}}$ , Topo $\text{\textcircled{0}}$ )、谷胱甘肽S转移酶 P (glutathioneStransferaseP, GST2P) 这

作者单位: 610041 成都, 四川大学华西医院肿瘤中心化疗科(李昌林、侯梅), 胸外科(周清华); 绵阳市肿瘤医院(赵宇)(通讯作者: 侯梅, E-mail: houml18@msn.com)

5 种耐药蛋白在非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 组织中的表达, 探讨其临床相关性, 以期为化疗方案的选择和疗效的预测提供帮助。

### 1 资料与方法

1.1 研究对象 98 例 NSCLC 组织均取自化疗前活检或手术切除标本。男性 73 例, 女性 25 例; 年龄 30 ~ 74 岁, 中位年龄 50 岁。其中腺癌 52 例, 鳞癌 33 例, 腺鳞癌 12 例, 大细胞癌 1 例。TNM 分期(1997 年肺癌国际分期修正系统): N 期 19 例, 0 期 23 例, 0 期 51 例, 0 期 5 例。其中 47 例接受以顺铂为基础的联合化疗, 化疗时间至少 2 周期。

1.2 研究方法 标本经福尔马林固定, 石蜡包埋, 常规切片 5 Lm 厚。免疫组织化学染色用链亲和素生物素过氧化物酶法 (streptavidin-biotin immunoperoxidase, SP)。SP 试剂盒为 Zymed 公司产品, 购自北京中山生物技术公司。

1.3 结果判断标准 结果判定以细胞膜/细胞质/细胞核出现棕黄色着色颗粒者为阳性细胞。P2gp、GST2P、MRP、LRP 的判断标准为观察 500 个肿瘤细胞, 阳性细胞数 > 10% 为阳性。Topo 0 的判断标准为观察 500 个肿瘤细胞, 阳性细胞数 > 25% 为阳性。以已有

的呈阳性反应的肿瘤组织做阳性对照。化疗疗效根据 WHO 标准确定, 达完全缓解或部分缓解者为化疗有效, 稳定或疾病进展者为化疗无效。

1.4 统计学处理 数据处理采用  $\chi^2$  检验。

### 2 结果

2.1 耐药蛋白在 NSCLC 组织中的表达 P2gp、MRP、LRP、Topo 0、GST2P 在 NSCLC 组织中的表达率分别为 27.6% (27/98)、11.2% (11/98)、75.5% (74/98)、50.0% (49/98) 和 64.3% (63/98)。

2.2 耐药蛋白在 NSCLC 各亚型中的表达(表 1) 其中 LRP 与 Topo 0 在腺癌、鳞癌、腺鳞癌间表达差异具有统计学意义。

2.3 耐药蛋白表达与临床分期的关系(表 2) 5 种耐药蛋白在肺癌各期中均有表达, 但其差异无统计学意义 (P > 0.05)。

2.4 耐药蛋白表达与化疗疗效的关系(表 3) 完成 2 周期化疗的 47 例 NSCLC 患者中 16 例化疗有效, 31 例无效。P2gp、LRP、GST2P 阴性组化疗有效率显著高于阳性组 (P < 0.05)。Topo 0 阴性组化疗有效率有低于阳性组的趋势, MRP 阴性组化疗有效率有高于阳性组的趋势, 但差异均无统计学意义 (P > 0.05)。

表 1 5 种耐药蛋白在不同组织学类型 NSCLC 中的表达情况

Tab 1 Expression of 5 multiple drug resistance-associated proteins in different histological classification of NSCLC

Histology	n	P2gp	MRP	LRP	Topo 0	GST2P
Adenosquamous carcinoma	12	2(16.7%)	1(8.3%)	9(75.0%)	8(66.7%)	7(58.3%)
Adenocarcinoma	52	16(30.8%)	7(13.5%)	47(90.4%)	16(30.8%)	33(63.5%)
Squamous cell carcinoma	33	9(27.3%)	3(9.1%)	17(51.5%)	24(72.7%)	23(69.7%)
$\chi^2$ value		0.489	0.507	16.381	15.835	0.608
P value		0.783	0.898	< 0.0001	< 0.0001	0.738

表 2 耐药蛋白表达与肺癌临床分期的关系

Tab 2 Relationship between expression of multiple drug resistance-associated proteins and TNM stages in NSCLC

Stage	n	P2gp	MRP	LRP	Topo 0	GST2P
N	19	5(26.3%)	2(10.5%)	15(78.9%)	10(52.6%)	13(68.4%)
0	23	6(26.1%)	3(13.0%)	19(82.6%)	13(56.5%)	15(65.2%)
0	51	14(27.5%)	5(9.8%)	37(72.5%)	24(47.1%)	31(60.8%)
0	5	2(40.0%)	1(20.0%)	3(60.0%)	2(40.0%)	4(80.0%)
$\chi^2$ value		0.696	1.269	1.793	0.917	0.847
P value		0.931	0.762	0.636	0.864	0.860

### 3 讨论

耐药性是影响肺癌化疗疗效的主要因素。研究表明 P2gp、MRP、LRP、GST2P 过度表达及 Topo 0 表达减少与肺癌耐药有关<sup>[1,3]</sup>。P2gp 为跨膜转运蛋白, 通

过消耗 ATP 将化疗药物从细胞内泵出到细胞间隙, 使胞质内药物浓度降低, 从而降低药物对肿瘤细胞的毒性作用, 导致耐药。它对天然疏水性抗肿瘤药物如长春花碱、萘环类等具有较强的外泵作用<sup>[4]</sup>。MRP 是谷胱甘肽 2S 共轭物 (GSX) 转运泵, 主要通过转运有机

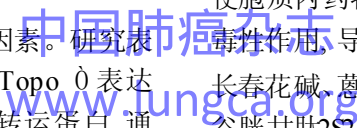


表 3 47 例 NSCLC 患者耐药蛋白表达与化疗疗效的关系

Tab 3 Relationship between expression of multiple drug resistance-associated proteins and responses to chemotherapy in 47 NSCLC patients

Protein	n	Efficacy		V <sup>2</sup> value	P value
		Response (%)	Non-response (%)		
P2gp				4.208	0.004
Positive	15	2(13.3)	13(86.7)		
Negative	32	14(43.8)	18(56.2)		
MRP				0.532	0.466
Positive	5	1(20.0)	4(80.0)		
Negative	42	15(35.7)	27(64.3)		
LRP				4.476	0.034
Positive	34	8(23.5)	26(76.5)		
Negative	13	8(61.5)	5(38.5)		
Topo 0				3.058	0.08
Positive	27	12(44.4)	15(55.6)		
Negative	20	4(20.0)	16(80.0)		
GST2P				3.948	0.047
Positive	27	6(22.2)	21(77.8)		
Negative	20	10(50.0)	10(50.0)		

阴离子如 G<sub>2</sub>X 复合物及参与胞质囊泡运输介导耐药,其次它还可改变细胞内药物分布从而产生耐药。MRP 的表达与柔红霉素、阿霉素等耐药有关<sup>[5]</sup>。LRP 能阻止以细胞核为靶点的药物进入细胞核,降低核内药物浓度,免除药物对 DNA 靶点的影响,并以囊泡转运和胞吐方式将胞浆内药物排出细胞外,降低药物的浓度,从而介导顺铂、卡铂等一些 P2gp 和 MRP 所不能介导的耐药<sup>[6]</sup>。Topo 0 是一种存在于细胞核基质内的酶蛋白,许多抗癌药物以 Topo 0 为靶,形成药物-DNA 复合物,影响酶活性,干扰 DNA 复制及基因的表达而发挥抗癌作用,如葱环、鬼臼类等。Topo 0 介导的耐药机制包括: 1 Topo 0 含量减少; 2 Topo 0 活性降低<sup>[7]</sup>。GST 是一组多基因家族蛋白,主要通过将谷胱甘肽偶联到化疗药物上,增加毒性药物的外流而减少化疗药的细胞毒作用。此外,谷胱甘肽还是 MRP 泵的底物,参与调节 MRP 的耐药<sup>[7]</sup>。GST 与长春新碱、阿霉素等的耐药有关。本组研究表明,未化疗过的 NSCLC 全部表达了这 5 种耐药蛋白,其中以 LRP 和 GST2P 表达含量较高。

不同组织学类型间耐药蛋白表达存在一定差异。LRP 在腺癌中的表达高于鳞癌,而 Topo 0 则为鳞癌高于腺癌,且二者的差异均有统计学意义。由于 P2gp、MRP、LRP、GST2P 的表达使肿瘤对相关药物的耐药性增加,而 Topo 0 的表达使肿瘤对相关药物的敏感性增加,耐药蛋白表达上的这种差异与临床上鳞癌较腺癌对化疗更敏感相一致。

P2gp、MRP、LRP、Topo 0、GST2P 在 TNM 各分

期中的表达无显著性差异,提示各期肺癌均可发生耐药,TNM 只代表肿瘤进展程度,而不能代表耐药性差异,而耐药蛋白的表达程度也不能预示病期。

有研究报道多药耐药相关基因的表达与肿瘤化疗疗效相关<sup>[3,8]</sup>。本组资料显示 P2gp、LRP、GST2P 阴性组与阳性组间有效率的差异存在统计学意义(P < 0.05),即这 3 种蛋白的表达与化疗疗效相关。Schroeijsers 等<sup>[9]</sup>的研究亦认为 LRP 表达与化疗疗效相关,可作为预测 NSCLC 患者化疗敏感性的指标。另有研究认为,LRP 在实体瘤中比 P2gp、MRP 具有更高的耐药诊断价值,是一种更好的耐药指标<sup>[10]</sup>。关于 GST2P 与肺癌疗效的关系,Arai 等<sup>[3]</sup>的研究和 Nakashima 等<sup>[11]</sup>的研究都表明 NSCLC 中 GST2P 的表达与化疗疗效相关。本组资料 Topo 0 阴性组化疗有效率为 20.0%,低于阳性组的 44.4%,但二者差异无统计学意义,与 Dingemans 等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。关于 MRP 与化疗疗效的关系,Oshika 等<sup>[8]</sup>的研究显示 MRP 阳性患者化疗反应率较 MRP 阴性者差,差异有统计学意义。这与我们的研究结果不同。产生差异的原因可能与研究所选择化疗药物及检测 MRP 的抗体敏感性不同有关。由于各种耐药蛋白预测化疗疗效的敏感性不一,不同组织学类型肺癌在耐药蛋白的表达上有一定的特点,联合检测多种耐药蛋白有助于预测 NSCLC 患者化疗的敏感性。对有多种耐药蛋白高表达的患者,化疗的同时应考虑运用逆转多药耐药的相

关治疗,以提高疗效。

参 考 文 献

1 Kreisholt J, Sorensen M, Jensen PB, et al. Immunohistochemical detection of DNA topoisomerase  $\alpha$ , P2glycoprotein and multidrug resistance protein (MRP) in small cell and non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 1998, 77(9) B 146921473.

2 Tan B, Piwnicka-Worms D, Ratner L. Multidrug resistance transporters and modulation. *Curr Opin Oncol*, 2000, 12(5) B 4502458.

3 Arai T, Yasuda Y, Takaya T, et al. Immunohistochemical expression of glutathione transferase $\pi$  in untreated primary non-small cell lung cancer. *Cancer Detect Prev*, 2000, 24(3) B 2522257.

4 Nishio K, Nakamura T, Koh Y, et al. Drug resistance in lung cancer. *Curr Opin Oncol*, 1999, 11(2) B 102115.

5 Berger W, Elbling L, Hauptmann E, et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) and chemoresistance of human non-small cell lung cancer cells. *Int J Cancer*, 1997, 73 (1) B 8493.

6 Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Overexpression of a Mr 110, 000 vesicular protein in non-P2glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res*, 1993, 53(7) B 147521479.

7 Chauncey TR. Drug resistance mechanisms in acute leukemia. *Curr Opin Oncol*, 2001, 13(1) B 21226.

8 Oshika Y, Nakamura M, Tokunaga T, et al. Multidrug resistance-associated protein and mutant p53 protein expression in non-small cell lung cancer. *Mod Pathol*, 1998, 11(11) B 10521063.

9 Schroeijers AB, Scheffer GL, Reurs AW, et al. Detection of the Mr 110, 000 lung resistance-related protein LRP/MVP with monoclonal antibodies. *J Histochem Cytochem*, 2001, 49(11) B 13721385.

10 Trussardi A, Poitevin G, Gorisse MC, et al. Sequential overexpression of LRP and MRP but not Pgp 170 in VP16-selected A549 adenocarcinoma cells. *Int J Oncol*, 1998, 13(3) B 5432548.

11 Nakanishi Y, Kawasaki M, Bai F, et al. Expression of p53 and glutathione S-transferase $\pi$  relates to clinical drug resistance in non-small cell lung cancer. *Oncology*, 1999, 57(4) B 312323.

12 Dingemans AC, van Arkel J, Span S, et al. Topoisomerase  $\alpha$  and other drug resistance markers in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2001, 32(2) B 1172128.

(收稿: 20041225 修回: 20052024)  
(本文编辑 李蓓兰)

# 病例报告 #

双肺粘液表皮样癌一例报告

宫姝宁 朴商 王孝廉 赵富新 袁福祥

=中图分类号> R 734. 1; R 730. 261

**患者** 男性, 63 岁, 因咳嗽、咳痰、痰中带血 3 年入院。胸部 X 线及 CT 片示双肺弥漫性结节状阴影, 多为椭圆形、球形, 边缘光滑, 密度均匀。患者体温正常, 曾在外院按/ 肺泡癌给予化疗(环磷酰胺、阿霉素、顺铂、去甲长春碱)。入院时查体: 体温 36. 8e, 脉搏 75 次/分, 呼吸频率 23 次/分, 血压 12. 0/8. 0 kPa。患者神志清楚, 营养中等, 浅表淋巴结未扪及, 口唇无紫绀, 气管居中, 双肺无叩浊, 双下肺可闻少许干湿性罗音。心律齐, 未闻及杂音, 肝脾未扪及, 双下肺无水肿。血常规: 血红蛋白 129 g/l, 红细胞计数 4. 70@10<sup>12</sup>/l, 白细胞计数 3. 7 @10<sup>9</sup>/l, 血小板计数

154 @10<sup>9</sup>/l。肝肾功能正常。电子支气管镜检查显示: 各段支气管开口好, 未见新生物, 刷片及肺泡灌洗液中未见瘤细胞及抗酸杆菌, 查见中度不典型增生上皮细胞, 血气分析示 pH 7. 24, PCO<sub>2</sub> 4. 72 kPa, PO<sub>2</sub> 7. 16 kPa。于 2005 年 4 月 22 日在 CT 引导下用穿刺枪(麦迪科特公司产)行经皮肺穿刺, 病理报告为低度恶性的粘液表皮样癌。肿瘤主要由粘液细胞构成, 排列呈腺腔及囊样腔隙, 并有增生的粘液细胞乳头突入其中, 囊内有粘液及脱落的粘液细胞, 表皮样细胞成熟, 无核分裂, 中间细胞较少。免疫组化: 角蛋白、波形蛋白、抗基底膜抗体、S100 蛋白均阴性。

具有不完整的包膜, 切面灰白色, 部分可为囊性。镜下可见癌巢居于中央, 周边区域为含有粘液的鳞状上皮, 瘤细胞轻度异型, 粘液细胞较多, 可呈腺腔样结构并扩张成小囊, 内含粘液。肿瘤易复发, 可分为低度恶性和高度恶性。本例属低度恶性, 而且本例患者的免疫组化结果显示该肿瘤不是单一的肺上皮来源的肿瘤。

肺的粘液表皮样癌较少见, 肿瘤可单发多发。本例为双肺弥漫性多发, 仅凭影像学资料易误诊, 经皮肺活检取材可靠且较安全, 较开胸肺活检损伤小, 患者易于接受, 因此可用来确诊。低度恶性的粘液表皮样癌预后较好, 文献报道最长者已生存超过 10 年。

**讨论** 粘液表皮样癌来源于支气管混合腺的大导管上皮, 多发于大支气管, 属于涎腺型肿瘤, 其肉眼观察常为圆形,

(收稿: 20052026)  
(本文编辑 张世雯)

作者单位: 037006 大同, 解放军 322 医院呼吸科(通讯作者: 宫姝宁)