

乳腺癌 P-gp、HSP70 和 GST- π 表达及其临床意义

张剑权, 黄桂林, 吴海红, 刘永江, 李志刚 (石河子大学医学院一附院, 新疆 石河子 832008)

摘要: [目的] 研究 P-gp、HSP70、GST- π 在乳腺癌中的表达及临床意义。[方法] 根治乳腺癌库存石蜡包埋且随访资料完整组织 60 例行 SP 法免疫组化法染色。[结果] P-gp 阳性率为 37.33%, P-gp 阳性率随乳腺癌组织分化程度下降而升高($P<0.01$)。与 10 年生存率呈负相关($P<0.05$)。与年龄、临床分期、淋巴结转移数无明显相关($P>0.05$)。HSP70 阳性率为 33.33%, HSP70 阳性率随乳腺癌组织分化程度下降而升高($P<0.01$)。与 10 年生存率呈负相关($P<0.05$)。与年龄、临床分期、淋巴结转移数无明显相关($P>0.05$)。GST- π 阳性表达率高达 56.67%。在乳腺癌临床 III、IV 期中其阳性表达率高达 75%、66.67%, 与临床 I、II 期相比差异有显著性($P<0.05$)。其阳性表达率与淋巴结转移数相关($P<0.05$)。与年龄、组织分化程度、10 年生存率无明显相关($P>0.05$)。MDR1 和 GST- π 存在明显的共表达。[结论] 判断临床耐药时应同时检测 MDR1、HSP70 和 GST- π 三个耐药相关基因的表达, 才能得到较全面的耐药信息, 并且要把 MDR1 当作主要方面来对待。

关键词: 乳腺肿瘤; 多药耐药基因; 谷胱甘肽 S 转移酶; 热休克蛋白

中图分类号: R737.9; R730.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2004)03-0136-03

Expression of Mdr1, HSP70 and GST- π in Breast Carcinoma Tissue and their Clinical Significance

ZHANG Jian-quan, HUANG Gui-lin, WU Hai-hong, et al.

(The Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Shihezi 832008, China)

Abstract: [Purpose] To explore expression of P-gp, HSP70 and GST- π , and to evaluate their clinical significance in breast cancer. [Method] Routine section preparation from 60 cases with breast cancer patients with perfect follow-up data were measured with SP Immunohistochemistry method to evaluate the clinical significance of P-gp, HSP70 and GST- π . [Results] The expression rate of MDR1 was 37.33%. The positive expression rate of MDR1 was increased along with malignant degree ($P<0.01$) and decrease along with 10-year survival rate ($P<0.05$). The expression rate of MDR1 was not related to age, positive lymph node number and clinical tumor stage ($P>0.05$). The expression rate of HSP70 was 33.33%. The positive expression rate of HSP70 was increased along with malignant degree ($P<0.01$) and decrease along with 10-year survival rate ($P<0.05$). The expression rate of HSP70 was not related to age, positive lymph node number and clinical stage ($P>0.05$). The expression rate of GST- π was 56.67%. The expression of GST- π was correlated with clinical stage (IV, III > II, I) and positive lymph node number. The expression rate of GST- π was not related to age, malignant degree, positive lymph node number and 10-year survival rate ($P>0.05$). Co-expression of P-gp and GST- π in breast cancer was found in evidence. [Conclusion] A combined analysis of the expression of P-gp, HSP70 and GST- π in breast cancer may contribute to the selection of drug in chemotherapy. Among them the expression of P-gp is of special importance.

Key words: breast neoplasms; MDR1; HSP70; GST- π

乳腺癌治疗强调围绕手术进行放疗、化疗、激素治疗、生物治疗等多手段治疗, 提倡个性化治疗。化疗在其中占重要地位, 而肿瘤细胞对化学药物治疗

产生耐药性是肿瘤治疗不能取得治愈性疗效的主要原因。许多学者致力于乳腺癌的多药耐药性研究, 试图揭示其本质和作用机理。近年研究发现乳腺癌多药耐药基因(multidrug resistance, MDR1)及其编码的糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、谷胱甘肽 S 转移酶

(GST- π)及热休克蛋白(HSP70)是引起乳腺癌耐药的主要原因。为了探讨乳腺癌的耐药机制,本研究采用免疫组化 SP 法对 60 例乳腺癌组织进行 P-gp、GST- π 、HSP70 检测,并对该组病人进行 10 年随访,旨在为乳腺癌患者术后选择更加合理的个性化化疗方案提供参考依据,以提高治疗效果和延长患者的生存期。

1 材料与方 法

本文收集 1993 年间,石河子大学医学院一附院肿瘤外科乳腺癌根治库存石蜡包埋且随访资料完整组织 60 例。全部组织经病理确诊,均为女性患者,患者年龄在 26 岁~70 岁之间(平均 50.1 岁)。所有病例均进行 10 年随访。其中浸润性导管癌 38 例,单纯癌 10 例,腺癌 3 例,硬癌 4 例,导管内癌 5 例。按照病理学分级,Ⅰ级 7 例,Ⅱ级 41 例,Ⅲ级 12 例。按国际临床分期标准,Ⅰ期 8 例,Ⅱ期 37 例,Ⅲ期 12 例,Ⅳ期 3 例。

免疫组化染色:抗 P-gp 单克隆抗体、抗 GST- π 单克隆抗体、抗 HSP70 多克隆抗体均为美国 Zymed 公司产品。

免疫组化染色结果判断:标本以 10%福尔马林固定,石蜡包埋切片,分别作 HE 染色和 SP 免疫组织化学染色,已知阳性片作阳性对照。P-gp 阳性棕黄色颗粒分布于胞膜和胞浆。GST- π 阳性棕黄色颗粒分布于胞浆,极少数伴核染色。HSP70 以细胞浆或细胞核出现棕黄色颗粒为阳性细胞。阳性判断标准:无阳性细胞反应为阴性;切片中阳性细胞>10%为阳性;阳性细胞<25%:++;阳性细胞 25%~50%:+++;阳性细胞>50%:++++。

统计学处理:所有数据的显著性差异经 χ^2 检验判断。

2 结 果

乳腺癌中 P-gp 蛋白的表达: 乳腺癌 P-gp 阳性率为 40%, P-gp 阳性率随乳腺癌组织分化程度下降

而升高($P<0.01$)。与 10 年生存率呈负相关($P<0.05$),与年龄、临床分期、淋巴结转移数无明显相关($P>0.05$)。

乳腺癌中 HSP70 蛋白的表达: 乳腺癌 HSP70 阳性率为 33.33%, HSP70 阳性率随乳腺癌组织分化程度下降而升高($P<0.01$)。与 10 年生存率呈负相关($P<0.05$),与年龄、临床分期、淋巴结转移数无明显相关($P>0.05$)。

乳腺癌中 GST- π 蛋白的表达: GST- π 阳性表达率高达 56.67%。在乳腺癌临床Ⅲ、Ⅳ期中其阳性表达率高达 75%、66.67%,与临床Ⅰ、Ⅱ期相比差异有显著性($P<0.05$)。GST- π 阳性表达率与淋巴结转移数相关($P<0.05$),与年龄、组织分化程度、10 年生存率无明显相关($P>0.05$)。见表 1。

表 1 60 例乳腺癌中 P-gp、HSP70 和 GST- π 表达

		P-gp		P	HSP70		P	GST- π		P
		例数	阳性		阳性	阴性		阳性	阴性	
年龄(岁)	≥50	33	13	20	>0.05	12	21	18	15	>0.05
	<50	27	11	16		8	19	16	11	
临床分期	Ⅰ期	8	3	5	>0.05	2	6	3	5	>0.05
	Ⅱ期	37	15	22		13	24	20	17	
	Ⅲ期	12	5	7		4	8	9	3	
	Ⅳ期	3	1	2		1	2	2	1	
组织分化程度	Ⅰ	6	2	4	>0.05	1	5	4	2	>0.05
	Ⅱ	41	17	24		11	30	24	17	
淋巴结转移数	Ⅲ	13	5	8	>0.05	8	5	6	7	>0.05
	≤3	9	4	5		3	6	2	7	
	<10	39	15	24		14	25	24	15	
生存期(年)	≥10	12	5	7	>0.05	3	9	8	4	>0.05
	<10	17	11	6		9	8	12	5	
	≥10	43	13	30		11	32	22	21	

乳腺癌组织中 P-gp 和 GST- π 存在明显的共表达($P<0.05$),而 P-gp 和 HSP70 不存在明显的共表达($P>0.05$)。见表 2、3。

表 2 乳腺癌组织中 P-gp 和 GST- π 的共表达

P-gp 表达	GST- π 表达		总计
	+	-	
+	20	4	24
-	14	19	33
总计	34	23	57

表 3 乳腺癌组织中 P-gp 和 HSP70 的共表达

P-gp 表达	HSP70 表达		总计
	+	-	
+	9	15	24
-	11	20	33
总计	20	35	57

3 讨 论

乳腺癌尤其是晚期乳腺癌化疗成功的主要障碍

是癌细胞对化疗产生耐药性。越来越多的研究发现乳腺癌耐药为多基因、多步骤耐药,涉及 P-gp、HSP70 及 GST- π 等。许多学者发现乳腺癌多药耐药基因及其编码的糖蛋白,在乳腺癌多药耐药中起主要作用,具有重要临床意义^[1]。它针对亲脂类药物,如阿霉素、长春新碱等多种药物产生耐药性。由于它们产生的机制相同,只要细胞对其中的一种药物产生耐药性,即同时对许多化学结构不同的全部的亲脂类药物产生耐药性即多药耐药性,对化疗极为不利。MDR1 可以在治疗一开始就出现即天然耐药性,也可以在治疗过程中由一种药物诱导而产生即获得性耐药。化疗的应用可导致 MDR1 抗药性肿瘤的出现,这已经成为临床治疗肿瘤的一大障碍。在治疗前检测肿瘤的耐药性,对选择合适的治疗手段,尤其是行之有效的化疗方案具有重要参考价值。本研究涉及患者化疗方案为 CAF,该方案中阿霉素即为 P-gp 耐药药物,P-gp 阳性组 10 年生存率明显下降,这就从临床角度证实了 P-gp 耐药导致的化疗失败是 10 年生存率下降的主要原因。P-gp 表达与组织分化程度有关,P-gp 高表达的乳腺癌病人其术后易复发,生存期明显短于低表达的病人,因此 P-gp 又可作为乳腺癌的一个预后指标。

乳腺癌耐药中除了 MDR1 基因及其产物 P-gp 外,近年研究发现 GST- π 、HSP70 与乳腺癌耐药亦密切相关,MDR1 在乳腺癌耐药中可能发挥了主导作用。GST- π 是 GST 家族中的一种主要的同工酶,具有解毒功能。目前认为是肿瘤细胞产生耐药的一种标记,所介导的抗癌药物主要为顺铂等。GST- π 是一种催化谷胱甘肽和各种亲电子化合物(包括致癌剂和抗癌剂)结合的多功能酶系^[2]。在正常组织中低表达,而在许多耐药细胞株中高表达,特别是在有多药耐药(MDR1)表型的细胞系中。其作用是通过降解化疗药物的杀伤作用,造成癌细胞耐药。由于许多肿瘤组织中 GST- π 异常高表达,支持 GST- π 为一种新的肿瘤标志物。本研究中其阳性表达率高达 56.67%,说明 GST- π 是导致肿瘤耐药的重要催化剂,也是导致化疗失效的重要原因之一。检测乳腺癌组织中的 GST- π 对预后的判断有参考价值。

同时,我们注意到本组 MDR1 和 GST- π 有 35.09% 的共表达率,远高于单独表达 MDR1 和 GST- π 的阳性率,说明乳腺癌中耐药单基因的作用较弱,协同作用可能是乳腺癌耐药相关基因表达的主要特征。肿瘤原发耐药的机理异常复杂,单机制和多机制可以同时存在。有假说认为在耐药产生的早期阶段 GST- π 比 MDR1 重要,GST- π 非特异性的结合作用可协助药物通过 P-gp 形成的药物排流泵^[3]。我们的研究表明,GST- π 和 P-gp 表达水平呈明显正相关

($P < 0.05$),提示 GST- π 和 P-gp 是否参与了肿瘤的形成还值得进一步研究。

HSP 是细胞受应激源刺激后诱导产生的一组应激蛋白,与肿瘤发生、增殖及分化有关。按其分子量不同可分为 3 种类型,每组的 HSPs 的分布及功能有所不同。HSP70 主要用于乳腺癌的研究,可能具有预后的意义。有研究表明,HSP70 与恶性肿瘤的关系密切,参与控制肿瘤细胞的增殖和凋亡。在肿瘤发生发展中充当分子伴侣,防止异常蛋白积聚而产生异常折叠,维持细胞的自稳态,使细胞维持增生状态免于凋亡^[4]。我们的实验数据显示 HSP70 与肿瘤病理学分级呈负相关,随着乳腺癌分化程度的降低,HSP70 的阳性率明显升高,提示 HSP70 与乳腺癌的恶性程度有关。Lazaris 等^[5]也发现,HSP70 与乳腺癌的低分化有关,由此可见,HSP70 在乳腺癌的发生发展中扮演了一定的角色。

综上,由于乳腺癌中 P-gp、HSP70 和 GST- π 的表达均较高,所以在判断临床耐药时应同时检测 MDR1、HSP70 和 GST- π 三个耐药相关基因的表达,才能得到较全面的耐药信息。同时,由于 MDR1 和 GST- π 存在明显的共表达,所以在临床耐药逆转时要同时考虑到 MDR1 和 GST- π 两方面的因素,并且要把 MDR1 当作主要方面来对待。鉴于目前尚无较为理想的可用于临床的耐药逆转药物,当出现明显的肿瘤耐药时,寻找其它类抗癌药物是切实可行的。我们观察发现,江苏启东制药厂生产的槐耳颗粒对耐药及复发乳腺癌显示良好的临床效果,值得进一步总结临床资料,深入研究其治疗机制。

参考文献:

- [1] Takebayashi Y, Nakayama K, Fujioka T, et al. Expression of multidrug resistance associated transporters (MDR1, MRP1, LRP and BCRP) in porcine oocyte [J]. *Int J Mol Med*, 2001, 7(4):397-400.
- [2] Chung HC, Rha SY, Kim JH, et al. P-glycoprotein: the intermediate end point of drug response to induction chemotherapy in locally advanced breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1997, 42(1):65-72.
- [3] Lee WP, Lee CL, Lin HC, et al. Glutathione S-transferase and glutathione peroxidase are essential in the early stage of adriamycin resistance before p-glycoprotein in overexpression in HOB1 lymphoma cells[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1996, 38(1):45-51.
- [4] Wei YQ, Zhao X, Kariya Y, et al. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis by abrogation of heat shock protein (HSP) 70 expression in tumor cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1995, 40(2):73.
- [5] Lazaris Ach, Chatzigianni EB, Panoussopoulos D, et al. Proliferating cell nuclear antigen and heat shock protein 70 immunolocalization in invasive ductal breast cancer not otherwise specified[J]. *Breast Res Treat*, 1997, 43(1):43.