

消化系统肿瘤多耐药基因1和P-糖蛋白的表达与化疗药物耐药的关系

李欣, 林明哲

李欣, 林明哲, 青海大学附属医院肿瘤内科一病区 青海省西宁市 810001

李欣, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤化疗的研究。

作者贡献分布: 此课题由李欣设计; 林明哲指导; 研究过程由李欣与林明哲操作完成; 数据分析由李欣完成; 本论文写作由李欣与林明哲完成。

通讯作者: 李欣, 主治医师, 810001, 青海省西宁市同仁路29号, 青海大学附属医院肿瘤内科一病区。393951566@qq.com

收稿日期: 2014-05-19 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-18

Relationship between multidrug resistance gene 1 and P-gp expression and resistance to chemotherapeutic drugs in gastrointestinal tumors

Xin Li, Ming-Zhe Lin

Xin Li, Ming-Zhe Lin, Oncology Ward, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xi'ning 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Xin Li, Attending Physician, Oncology Ward, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Xi'ning 810001, Qinghai Province, China. 393951566@qq.com

Received: 2014-05-19 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-18

Abstract

AIM: To assess the correlation between expression of multidrug resistance gene 1 (*MDR1*) gene and P-glycoprotein (P-gp) and resistance to chemotherapeutic drugs in gastrointestinal tumors.

METHODS: One hundred and twenty patients with digestive tract tumors were included. Surgical specimens from these patients were used for fluorescence quantitative detection of *MDR1* gene expression level. P-gp expression level was detected by ELISA. One hundred and twenty non-tumor patients treated during the same period were used as controls. ATP bioluminescence *in vitro* susceptibility testing technology was used to assess sensitivity to chemotherapeutic drugs.

RESULTS: The positive rate of *MDR1* mRNA expression was significantly higher in the study group than in the control group (77.5% vs 25.8%, $P < 0.05$). The positive rate of P-glycoprotein expression was also significantly higher in the study group than in the control group (65.0% vs 20.0%, $P < 0.05$). There were 14 cases that were not sensitive to all the 10 chemotherapeutic drugs, 36 cases that were sensitive to 1-3 chemotherapeutic drugs, 28 cases that were sensitive to 4-9 chemotherapeutic drugs, and two cases that were sensitive to all the 10 kinds of chemotherapeutic drugs. There was a significant correlation between *MDR1* gene and P-glycoprotein expression and sensitivity to chemotherapeutic drugs ($P < 0.05$).

CONCLUSION: *MDR1* mRNA and P-gp expression correlates with tumor drug resistance, suggesting that patients with positive expression of P-gp are more likely to develop resistance to chemotherapeutic drugs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal tumors; *MDR1* gene; P-glycoprotein; Chemotherapeutic drugs; Drug resistance

Li X, Lin MZ. Relationship between multidrug resistance gene 1 and P-gp expression and resistance to chemotherapeutic drugs in gastrointestinal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(23): 3527-3530
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3527.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i23.3527>

摘要

目的: 探讨消化系统肿瘤多耐药基因1(multidrug resistance gene 1, *MDR1*)、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的表达与化疗药物耐药的相关关系。

方法: 本次研究选取120例消化系统肿瘤患者

背景资料
消化系统肿瘤常常采取化疗治疗, 长期治疗会导致化疗药物的耐药性发生, 导致治疗效果降低。而多耐药基因1(multidrug resistance gene 1, *MDR1*)、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)在药物耐药性中发挥着重要的作用。本研究重点对*MDR1*、P-gp与化疗耐药之间的相关性进行分析。

同行评议者
何敏, 教授, 广西医科大学医学科学实验中心

研究背景

P-gp主要是作为跨膜糖蛋白, 主要是由MDR1编码, 并且是ATP依赖性的膜转运蛋白, 二者在耐药癌细胞膜表面呈现高表达, 导致化疗效果降低。本研究从分子学的角度分析, 这种研究更具优越性, 是临床中尚比较前瞻性的研究。

的手术标本, 并且采取荧光定量的方法检测MDR1基因表达水平, 而采取ELISA法检测P-gp表达水平, 并选取同期120例非肿瘤患者为对照组。并将其与ATP生物荧光肿瘤体外药敏检测技术(ATP-TCA)化疗药物的敏感性结果进行比较。

结果: 研究组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率为77.5%(93/120), 对照组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率为25.8%(31/120), 研究组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率明显的高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。研究组P-gp表达阳性率为65.0%(78/120), 对照组P-gp表达阳性率为20.0%(24/120), 研究组P-gp表达阳性率明显的高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。10种化疗药物均不敏感14份, 对1-3种化疗药物敏感36份, 对4-9种化疗药物敏感28份, 对10种化疗药物敏感2份。消化系肿瘤MDR1基因、P-gp表达率与化疗药物敏感度呈现负相关性, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 临床中肿瘤MDR1 mRNA、P-gp的表达常常与肿瘤耐药性具有相关性, 且肿瘤MDR1 mRNA、P-gp的阳性表达提示患者很有可能对化疗药物产生耐药性, 临床中应引起足够的重视。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 消化系肿瘤; MDR1基因; P-糖蛋白; 化疗药物; 耐药性

核心提示: 肿瘤多耐药基因1(multidrug resistance gene 1, MDR1)、P-糖蛋白(P-glyco-protein, P-gp)的表达常常与肿瘤耐药性具有相关性, 临床中肿瘤MDR1基因、P-gp的阳性表达, 提示患者很有可能对化疗药物产生耐药性的情况发生, 临床中应引起注意, 并采取控制措施。

李欣, 林明哲. 消化系肿瘤多耐药基因1和P-糖蛋白的表达与化疗药物耐药的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(23): 3527-3530
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i23.3527>

0 引言

恶性肿瘤已经越来越威胁人们的身体健康, 严重降低人们的生活质量。而临床中食管癌和胃癌以及结直肠癌等均是临床中常见的消化系肿瘤, 在临床中具有较高的发病率, 且预后较差, 病死率相对比较高。临床中对于消化系肿瘤主要是采取手术治疗和放疗以及化疗等, 而

化疗是消化系恶性肿瘤治疗的重要方法之一, 并且肿瘤细胞耐药性很容易造成化疗疗效降低, 甚至出现失效的情况^[1]。临床中P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)主要是作为跨膜糖蛋白, 主要是由多耐药基因1(multidrug resistance gene 1, MDR1)编码, 并且是ATP依赖性的膜转运蛋白。临床研究显示, P-gp属于单向药物外输蛋白质, 且耐药癌细胞膜表面呈现高表达, 最终导致化疗效果降低。因此, 本研究重点分析消化系肿瘤MDR1基因、P-gp的表达情况, 并分析其与化疗药物耐药的相关关系, 具体的分析如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-12青海大学附属医院收治的消化系肿瘤患者120例为研究组, 选取手术中癌组织120份标本。本组的对象手术前均未实施放疗或化疗, 免疫治疗。标本分布: 食管癌40份, 结直肠癌40份, 胃癌40份。男性患者60例, 女性患者60例。患者的年龄为33-77岁, 平均年龄为57.3岁 \pm 4.3岁。分化程度: 高分化50例, 中分化50例, 低分化20例。淋巴结转移40例, 无淋巴结转移80例。选取同期消化系出血等疾病行外科手术的120例非肿瘤患者为对照组。男性患者65例, 女性患者55例。患者的年龄为35-79岁, 平均年龄为56.8岁 \pm 4.8岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与化疗药物选取: 本次研究中同一标本采集之后分为3份, 并经过液氮速冻处理, 并置入-80℃环境下保存备用, 其中1份测定肿瘤MDR1基因表达, 而另1份测定P-gp表达, 最后1份主要用ATP-TCA化疗药物的耐药试验。对于化疗药物主要采取临床中具有典型性的药物, 主要包括顺铂、阿霉素、氟脲嘧啶、紫杉醇、甲氨蝶呤、亚叶酸钙和奥沙利铂以及伊立替康与希罗达、足叶乙苷。临床中所需要的化疗用药100%测试药物浓度, 且依据常规用药剂量, 且在药物的药代动力学情况下进行计算出血浆峰值浓度 = $50.0 \times$ 临床每天用药剂量 $\times 2 \times 10^3 / 5000$ 。

1.2.2 肿瘤MDR1基因表达测定: 临床中对于肿瘤MDR1基因主要对MDR1 mRNA进行测定, 主要是采取荧光定量的方法进行检测, 设计引物: 上游引物: 5'-CCCATCATTGCAATAGCAGG-3'、下游引物: 5'-GTTCAAACCTTCTGCTCCTGA-3', 扩增片段的长度为167 bp。反应条件: 30℃ 10 min,

相关报道

临床研究显示, P-gp是单向药物外输蛋白质, 并且由MDR1编码, 且耐药癌细胞膜表面呈现高表达, 导致细胞内的化疗药物不能够充分的发挥其药物浓度。但是, 临床中对于肿瘤MDR1 mRNA与P-gp的表达是否与肿瘤化疗药物敏感性有关尚无明显的显示。因此, 本研究中对这一情况进行探讨。

表 1 不同消化系肿瘤对化疗药物的敏感性

类型	<i>n</i>	均不敏感	1-3种敏感	4-9种敏感	10种敏感
食管癌	40	0	17	17	6
结直肠癌	40	7	17	16	0
胃癌	40	23	12	5	0
合计	120	30	46	38	6

表 2 肿瘤MDR1 mRNA、P-糖蛋白表达与化疗药物敏感性的Spearman相关分析 (*n*)

化疗药物敏感性	<i>n</i>	肿瘤MDR1 mRNA		P-糖蛋白	
		阳性	阴性	阳性	阴性
均不敏感	30	30(100.0)	0(0.0)	21(70.0)	9(30.0)
1-3种敏感	46	35(76.1)	11(23.9)	33(71.7)	13(28.3)
4-9种敏感	38	28(73.7)	10(26.3)	22(57.9)	16(42.1)
10种敏感	6	0(0.0)	6(100.0)	0(0.0)	6(100.0)
<i>r</i> 值	-	-0.573		-0.682	
<i>P</i> 值	-	<0.05		<0.05	

MDR1: 肿瘤多耐药基因1.

48 ℃ 30 min, 99 ℃ 5 min, 5 ℃ 5 min, 1个循环. 主要采取Roche LightCycie 480型全自动荧光定量PCR仪器进行实施, 严格的按照仪器说明书进行操作, 并做好详细的记录^[2].

1.2.3 P-gp表达测定: 对于P-gp表达主要采取ELISA法进行测定, 试剂盒主要是由美国R&D公司所提供的, 且整个操作均严格的按照试剂盒的说明进行实施, 做好详细的记录, 并且依据试剂盒所提供的标准蛋白绘制出曲线^[3].

1.2.4 肿瘤耐药性测定: 临床中对于化疗药物的耐药性情况主要采取ATP-TCA法进行测定, 并且将选取的肿瘤组织剪为0.5-1.0 mm³碎块, 且消化酶消化, 并调整浓度值为 2.0×10^4 mL. 并选取单细胞悬液, 并将其接种在96孔的培养板中, 2×10^4 /孔, 并且介入抗肿瘤药物, 且每种药物设置有5个测试浓度, 并且每个浓度均设置有3个平行孔. 同时, 另外需要设置2个对照, 无药物对照和最抑制对照. 然后依据操作说明进行实施, 并详细的记录. 抑制率 = $[1 - (X - Mi) / (Mo - Mi)] \times 100.0\%$. X、Mo和Mi指荧光强度的抑制率, 并且采取自带的软件进行计算^[4]. 药物对肿瘤作用分为4个等级: (1)强敏感: $IC_{50} < 25.0\%TDC$ 、 $IC_{90} < 100.0\%TDC$; (2)中度敏感: $IC_{50} < 25.0\%TDC$ 、 $IC_{90} > 100.0\%TDC$; (3)轻度敏感: $IC_{50} > 25.0\%TDC$ 、 $IC_{90} < 100.0\%TDC$; (4)耐药: $IC_{50} > 25.0\%TDC$ 、 $IC_{90} > 100.0\%TDC$.

统计学处理 本次研究的数据均采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计数资料采取 χ^2 进行检验, 而对于肿瘤MDR1基因和P-gp与化疗药物耐药性试验的相关性采取Spearman分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肿瘤MDR1 mRNA的表达 通过对研究组和对照组中肿瘤MDR1 mRNA表达情况的对比分析, 研究组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率为77.5%(93/120). 其表达水平为 1.2×10^4 - 5.2×10^6 copies/μg. 对照组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率为25.8%(31/120), 研究组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率明显的高于对照组, 差异有统计学意义($\chi^2 = 7.31, P < 0.05$).

2.2 P-gp的表达 通过对研究组和对照组中P-gp表达对比分析, 研究组P-gp表达阳性率为65.0%(78/120), 对照组P-gp表达阳性率为20.0%(24/120), 研究组P-gp表达阳性率明显的高于对照组, 差异具有统计学意义($\chi^2 = 7.46, P < 0.05$).

2.3 化疗药物耐药试验 通过对研究组的120份消化系肿瘤组织的化疗药物耐药性分析, 对10种化疗药物均不敏感30份, 对1-3种化疗药物敏感46份, 对4-9种化疗药物敏感38份, 对10种化疗药物敏感6份. 其中, 食管癌和结直肠癌以及胃癌

创新盘点

本研究中主要是重点分析肿瘤MDR1 mRNA与P-gp的表达与肿瘤化疗药物敏感性的相关性, 进一步了解肿瘤化疗药物耐药性的作用机制, 为临床中预防化疗药物耐药性提供参考. 同时, 临床中对于这一方面的报道相对较少, 进一步说明其研究的重要性.

应用要点

本研究中重点阐述了肿瘤MDR1 mRNA、P-gp的表达常常与肿瘤耐药性具有相关性, 且肿瘤MDR1 mRNA、P-gp的阳性表达提示患者很有可能对化疗药物产生耐药性, 为临床中预防患者出现药物耐药提供准确的指导.

同行评价
本文设计合理, 研究独特、新颖, 具有较好的临床指导意义.

对化疗药物耐药性分布如表1.

2.4 肿瘤MDR1 mRNA、P-gp表达与化疗药物敏感性的相关分析 经过肿瘤MDR1 mRNA、P-gp表达与化疗药物敏感性的Spearman相关分析, 消化系肿瘤MDR1 mRNA、P-gp表达率与化疗药物敏感度呈现负相关性, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表2).

3 讨论

消化系恶性肿瘤是临床中常见疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 临床中常常采取手术和放疗或者化疗治疗, 对于手术无法彻底的清除病灶的患者常常术后辅以化疗治疗, 从而控制病情的发展^[5]. 但是, 在化疗的过程中, 长期的化疗治疗很容易产生耐药性, 导致化疗的效果大大降低^[6]. 如何有效的降低和了解化疗药物耐药的作用机制是医师们关注的重点.

P-gp属于一种跨膜糖蛋白, 并且由MDR1基因编码, 在耐药癌细胞的表面呈现高表达, 最终导致细胞内的化疗药物不能够充分的发挥其药物浓度^[7,8]. 而临床中肿瘤MDR1 mRNA与P-gp的表达是否与肿瘤化疗药物敏感性有关尚未明确^[9,10]. 经过本次的临床研究分析, 肿瘤MDR1 mRNA、P-gp的表达常常与肿瘤耐药性具有相关性, 且肿瘤MDR1基因、P-gp的阳性表达提示患者很有可能对化疗药物产生耐药性^[11-13]. 数据也显示, 研究组肿瘤MDR1 mRNA表达阳性率为77.5%, 而P-gp表达阳性率为65.0%. 进一步提示消化系肿瘤患者对化疗药物存在有一定的耐药性. 数据还显示, 消化系肿瘤MDR1 mRNA、P-gp表达率与化疗药物敏感度呈现负相关性, 差异有统计学意义($P<0.05$). 由此分析, 肿瘤MDR1基因、P-gp表达与肿瘤耐药性具有相关性, 且肿瘤MDR1基因、P-gp表达阳性提示患者可能对化疗药物存在有耐药性, 应引起足够的重视^[14,15].

总之, 肿瘤MDR1基因、P-gp的表达常常与肿瘤耐药性具有相关性, 且肿瘤MDR1基因、P-gp的阳性表达提示患者很有可能对化疗药物产生耐药性.

4 参考文献

- 1 汪军, 姜建伟, 蔡三军, 彭惠婷, 高艳琴, 曹小定, 吴根诚, 韩丑萍. 电针影响消化道肿瘤患者细胞免疫功能的临床研究. 针灸推拿医学(英文版) 2011; 9: 354-358
- 2 赵蓉, 贾荣娣, 汪华君, 王旭青, 张九如. 胃癌细胞的体外药敏试验与多药耐药基因表达的关系. 抗感染药学 2012; 9: 297-301
- 3 孟珊珊, 贾非, 刘洪文, 赵庆杰, 张杰. P-gp对百草枯诱导慢性帕金森病大鼠模型血脑屏障和多巴胺能神经元的影响. 卒中与神经疾病 2013; 20: 331-335
- 4 任睿, 辛晓燕, 刘淑娟. 紫杉醇耐药的卵巢癌细胞中PKC- α 与P-gp的表达. 第四军医大学学报 2007; 28: 527-529
- 5 Rahi M, Heikkinen T, Hakkola J, Hakala K, Wallerman O, Wadelius M, Wadelius C, Laine K. Influence of adenosine triphosphate and ABCB1 (MDR1) genotype on the P-glycoprotein-dependent transfer of saquinavir in the dually perfused human placenta. *Hum Exp Toxicol* 2008; 27: 65-71 [PMID: 18480151]
- 6 张静, 宁殿宾, 赵玉哲, 邢颖, 曹文庆, 巩涛, 王跃欣. 乳腺癌原发灶及淋巴结转移灶中P-gp、GST- π 、Topo 的表达及临床意义. 肿瘤防治研究 2008; 35: 181-183
- 7 李淑霞, 吕鲜芳. 消化道肿瘤多药耐药基因的表达式与临床相关性的研究. 中国社区医师(医学专业) 2012; 14: 272
- 8 屈洪波, 方力, 段丽丽, 龙孝斌. 化疗后残存乳腺癌组织乳腺癌耐药蛋白和P-糖蛋白的表达及其与上皮间质转化的相关性. 中华病理学杂志 2014; 43: 236-240
- 9 Qian KQ, Ye H, Xiao YW, Bao YY, Qi CJ. Tumor lysis syndrome associated with chemotherapy in primary retroperitoneal soft tissue sarcoma by ex vivo ATP-based tumor chemo-sensitivity assay (ATP-TCA). *Int J Gen Med* 2009; 2: 1-4 [PMID: 20360879]
- 10 韩杰, 檀碧波, 王安峰, 吕炳蓉, 耿玮, 赵建辉, 何春年. 消化道肿瘤淋巴结转移灶P-糖蛋白、谷胱甘肽S转移酶- π 和凋亡抑制蛋白的表达特点. 中华外科杂志 2009; 47: 106-108
- 11 林劲权, 周辉良, 蔡卫平. mdr1 shRNA逆转膀胱癌耐药细胞株BIU-87/ADM对ADM的耐药性. 现代泌尿生殖肿瘤杂志 2013; 5: 356-359
- 12 韩杰, 檀碧波, 赵建辉, 王安峰, 吕炳蓉, 耿玮. 消化道肿瘤转移淋巴结中P糖蛋白和谷胱甘肽S转移酶 π 的表达与肿瘤化疗药物敏感性的关系. 中华普通外科杂志 2009; 24: 573-576
- 13 刘学敏, 王树生. 乳腺癌MDR1基因多态性与其表达及化疗血液毒性的关系. 中国普通外科杂志 2012; 21: 1394-1397
- 14 杨岭, 李克强, 和钢, 俞吉霞, 黄蓉, 傅庆国. 乳腺癌体外化疗敏感性的检测与P-糖蛋白、谷胱甘肽S转移酶- π 及Topo 表达的关系. 中华实验外科杂志 2010; 27: 1881-1883
- 15 师锐赞, 胡晓玲, 范彦英. shRNA抑制c-fos表达对P-gp介导的乳腺癌多药耐药的影响. 中国生物工程杂志 2012; 32: 8-12

编辑 田滢 电编 都珍珍

