

多药耐药相关蛋白、P53 蛋白在乳腺癌中的表达

张 馨, 毛大华, 邓英蕾

(贵阳医学院附院 乳腺外科, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 探讨人乳腺癌组织中多药耐药相关蛋白(MRP)与 P53 蛋白的表达及关系。方法: 采用免疫组化方法检测 43 例手术切除的乳腺癌标本中 MRP 与 P53 蛋白的表达, 17 例乳腺纤维腺瘤标本作为对照。结果: 乳腺癌组织中 MRP、P53 蛋白的阳性率显著高于乳腺纤维腺瘤组 ($P < 0.05$); MRP 的表达水平与年龄、月经状况、肿瘤大小、有无淋巴结转移、病理类型及 TNM 分期无关 ($P > 0.05$); P53 蛋白的表达在有淋巴结转移时显著高于无淋巴结转移时, 与年龄、月经状况、肿瘤大小、病理类型及 TNM 分期无关 ($P > 0.05$); MRP 的阳性表达率与 P53 蛋白表达高低呈正相关 ($r = 0.396$)。结论: MRP 表达程度不受乳腺癌病程发展的影响, P53 蛋白与乳腺癌的发生、发展有关, 对评估患者预后可能具有重要意义, P53 蛋白对乳腺癌中 MRP 的表达可能起调控作用。

[关键词] 癌; 乳腺肿瘤; 多药耐药相关蛋白质类; 蛋白质 P53

[中图分类号] R363.21; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)03-0336-04

The Expression of MRP and P53 in Breast Cancer and its Clinical Significance

ZHANG Xin, MAO Dahua, DENG Yinglei

(Department of Breast Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College,
Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate human breast tissue for multidrug resistance-associated protein (MRP) and P53 protein expression, to learn the relationship among their expression and the clinical pathologic parameters. **Methods:** The expressions of MRP and P53 were detected in 43 cases of breast cancer and 17 cases of fibroadenoma by using immunohistochemical SABC method. We analyzed the expression of the two-factors in the two groups and their connections with age, menstruation status, tumor's size, lymph node metastasis, TNM stages and the pathological types and their correlation between each other. **Results:** Positive expression ratios of MRP and P53 in breast cancer were significantly higher than those in fibroadenoma. ($P < 0.05$); MRP expression was not significantly correlated with age, menstruation status, tumor's size, lymph node metastasis, TNM stages, and the pathological types ($P > 0.05$); P53 expression was correlated with lymph node metastasis. ($P < 0.05$). while it was not significantly correlated with age, menstruation status, tumor's size, TNM stages, and the pathological types. ($P > 0.05$). The expression of MRP was positively correlated with P53 expression. ($P < 0.05$), and MRP positive expression in breast cancer was associated with higher P53 expression ($r = 0.396, P < 0.01$). **Conclusions:** These results suggest there may be an intrinsic drug resistance existing in breast cancer, its expression is not influenced by the progression of breast cancer. P53 is correlated with the genesis and progression of breast cancer, it might be a useful marker for predicting the lymph node metastasis and the prognosis of breast cancer. The expression of apoptosis-related gene P53 is significantly related to multidrug resistance factors MRP, it supports the phenomenon of regulating effect of P53 on MRP expression.

[Key words] carcinoma; breast neoplasms; multidrug resistance associated protein; protein P53

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,化疗是乳腺癌的一种重要治疗手段。由于肿瘤耐药的产生,尤其是多药耐药性(multidrug resistance, MDR)的产生是乳腺癌治疗的主要障碍。MDR 是指肿瘤细胞对一种化疗药物产生耐药现象后,会对其他多种结构、作用靶点及作用机制完全不同的抗肿瘤药物产生耐药,这是造成化疗失败的主要原因^[1]。乳腺癌的 MDR 以 P 糖蛋白(P-gp)介导最为普遍,目前,对非 P-gp 介导的 MDR,如多药耐药相关蛋白(MRP)及细胞凋亡相关基因 P53 表达异常对化疗敏感性的影响也正为研究者所关注^[2]。本次试验将探讨 MRP、P53 蛋白在乳腺癌组织中的表达、两者与临床病理参数的关系、相互间的关系,从新的角度去了解乳腺癌 MDR 的发生机制。

1 材料和方法

1.1 材料

收集 2003-2004 年乳腺外科手术切除石蜡标本 60 例,包括乳腺癌组和乳腺纤维腺瘤组。乳腺癌组 43 例,术前未经任何形式的治疗,患者均为女性,年龄 27~79 岁(48.9 ± 12.2 岁);肿瘤直径 1.5~5.5 cm(3.2 ± 0.7 cm);绝经前 25 例,绝经后 18 例;有淋巴结转移 22 例,无转移 21 例;TNM 临床分期 I 期 11 例,II 期 19 例,III 期 13 例;将乳腺癌组分为浸润性导管癌 31 例和其他癌 12 例两组讨论,将乳腺纤维腺瘤组 17 例作为对照。

1.2 方法

1.2.1 试剂 兔抗人 MRP 多克隆抗体,兔抗人 P53 蛋白多克隆抗体,即用型 SABC 免疫组化试剂盒,DAB 显色试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2.2 方法 标本用 10% 福尔马林溶液固定,常规石蜡包埋,连续 4 μ m 厚切片,HE 染色。MRP、P53 蛋白免疫组化染色采用 SABC 方法。

1.3 结果判断

以 MRP 在细胞膜和细胞浆、P53 蛋白在细胞核出现棕黄色颗粒判断为阳性细胞,在光镜下结合阳性细胞比例和免疫组化染色强度两个参数综合判定 MRP、P53 蛋白的阳性染色。在 400 倍视野下计数 5 个视野中的 500 个肿瘤细胞,从以下两方面判断其表达强度:(1)以阳性细胞所占百分比分为 4 级,阴性为 0 分,阳性细胞 < 10% 为 1 分,阳性细胞 11%~50% 为 2 分,阳性细胞 > 51% 为 3 分;

(2)按着色细胞染色强弱评分,0 分为无着色(无色),1 分为着色弱(浅黄色),2 分为着色中等(棕黄色),3 分为着色强(深褐色)。按两方面计分的数值的乘积判断结果,0~2 分为(-),3~4 分为(+),5~7 分为(++),8~9 分为(+++),阳性率以 3 分以上的计数^[3]。

1.4 统计学分析

用 SPSS 11.5 统计软件进行四格表 χ^2 检验、行 \times 列表 χ^2 检验,MRP 与 P53 蛋白的关系用 Spearman 秩相关分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 MRP、P53 蛋白表达

MRP 在乳腺癌中的阳性率为 39.53% (17/43),在乳腺纤维腺瘤中阳性率为 5.88% (1/17),两组差异有统计学意义($P < 0.01$);P53 蛋白在乳腺癌中的阳性率为 44.19% (19/43),在乳腺纤维腺瘤中阳性率为 0 (0/17),两组差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 MRP、P53 表达与临床指标相关性

MRP 在乳腺癌组中的表达与年龄、月经状况、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期及病理类型之间的关系无显著差异($P > 0.05$)。P53 蛋白在腋窝淋巴结转移患者中的阳性率显著高于无腋窝淋巴结转移患者 $P < 0.05$,与年龄、月经状况、肿瘤大小、临床分期及病理类型之间的关系均无显著差异($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 MRP 与 P53 的相关性

MRP 的阳性率在 P53 呈阳性时显著高于 P53 呈阴性时($P < 0.05$),MRP 与 P53 的表达强度呈正相关($r = 0.396, P < 0.01$)。见表 2。

3 讨论

MRP 基因是从具有 MDR 表型,但无 Pg-P 过表达的人小细胞肺癌细胞系 H69/AR 中克隆出来的一种新型耐药基因^[4]。MRP 属于 ABC (ATP binding cassette) 跨膜转运蛋白超家族,通过与细胞内化疗药物结合、借助 ATP 供能将药物“泵”出细胞外,使细胞内化疗药物浓度下降、毒性减低或消失从而达到耐药作用,主要是抵抗蒽环类、长春花生物碱类、抗叶酸药物,对紫杉、烷类不发挥作用。本研究中 MRP 在乳腺癌中的阳性率 (39.53%) 显

表 1 乳腺癌组织中 MRP、P53 与临床病理参数的关系

Tab. 1 Correlation of MRP and P53 expression with clinical pathologic parameters in breast cancer

项目	分组	MRP		<i>P</i>	P53		<i>P</i>
		阳性	阴性		阳性	阴性	
年龄(岁)	<50 岁	11	13	0.342	9	15	0.321
	≥50 岁	6	13		10	9	
月经状况	绝经前	11	14	0.480	10	5	0.515
	绝经后	6	12		9	9	
肿瘤大小(cm)	≤2	5	8	0.883	6	7	0.982
	2~5	9	12		9	12	
	≥5	3	6		4	5	
腋窝淋巴结转移	有	10	12	0.416	13	9	0.044 ⁽¹⁾
	无	7	14		6	15	
临床分期	I	4	7	0.435	4	7	0.831
	II	6	13		9	10	
	III	7	6		6	7	
病理类型	浸润性导管癌	10	21	0.117	13	18	0.633
	其他癌	7	5		6	6	

⁽¹⁾ *P* < 0.05

表 2 乳腺癌组织中 MRP 与 P53 的关系

Tab. 2 Correlation between MRP
and P53 in breast cancers

乳腺癌组	P53			<i>P</i>
	阳性	阴性	阳性率	
MRP 阳性	11	7	61.11%	0.036 ⁽¹⁾
MRP 阴性	8	19	29.63%	

⁽¹⁾ *P* < 0.05

著高于乳腺纤维腺瘤,又因试验所用乳腺癌标本的患者术前未经任何形式的治疗,所以可以认为乳腺癌中 MDR 的表达不一定受化疗药物的诱导,而为先天获得,即癌细胞在突变形成过程中,MRP 基因被激活,使癌细胞获得自我保护。研究还发现乳腺癌中 MRP 的表达与年龄、月经状况、肿瘤大小、淋巴结转移、病理类型及临床分期无关,这提示 MRP 与乳腺癌的发展、转移无关,这与李维权^[5]等的研究结果相符。

野生型 P53 是重要的抑癌基因,有维持基因组稳定、抑制癌变和抗衰老的作用,几乎 50% 以上的肿瘤与 P53 基因的突变有关,突变型 P53 蛋白失去对细胞增殖的负调控作用,导致肿瘤发生^[6-7]。野生型 P53 蛋白的半衰期短(一般在 20~30 min),免疫组化方法不能检测到;突变型 P53 蛋白半衰期延长,稳定性增加,临床用免疫组化方法检测出的都是此型。本试验研究的也是此型,结果显示,乳腺癌 P53 蛋白阳性率(44.19%)显著高于乳腺纤维

维腺瘤,与国外报道相符^[8],说明 P53 蛋白的失活在乳腺癌的发生中起重要作用。另外,P53 蛋白的阳性率在腋窝淋巴结转移阳性者显著高于腋窝淋巴结转移阴性者,与年龄、月经状况、肿瘤大小、临床分期、病理类型无关,与国内外多数研究相符^[9-10]。提示 P53 蛋白能增加乳腺癌的侵袭性,与乳腺癌的发展有关,可对该病预后进行评估。化疗药物治疗肿瘤的机制之一是通过 P53 蛋白依赖途径诱导细胞凋亡,若 P53 基因失活或缺失,其诱导的凋亡途径则不能进行,化疗药物依赖 P53 蛋白诱导的细胞凋亡也不能进行,肿瘤细胞就会对化疗药物不再敏感,即凋亡耐受是导致细胞 DNA 损伤药物产生耐药的原因,如烷化类、氟嘧啶类及放射线类^[11]。

研究发现 P53 蛋白与 MRP 蛋白有相关性,认为 P53 基因突变一方面产生凋亡耐受,另一方面促进 MRP 蛋白过度表达,使肿瘤细胞获得 MDR 表型,导致肿瘤细胞耐药^[5,12-13]。本研究通过对 MRP 的表达与 P53 蛋白相关分析,也发现两者的表达强度呈正相关,提示 P53 蛋白对 MRP 的表达可能起调控作用。Oliver 等^[10]发现一种鼠类突变型 P53 能促进恶性胶质瘤细胞株的 MRP 的表达和活性,本次试验结果支持上述观点。

在提倡人性化、个体化治疗肿瘤的今天,化疗应该依赖于肿瘤自身的生物学特征,在制定化疗方案时,除考虑年龄、TNM 分期、病理类型之外,还应

从基因分子水平区别肿瘤亚群,制定合理化疗方案。因为乳腺癌存在着原发性耐药的特征,P53 对乳腺癌的耐药有协同作用,检测 MRP 与 P53 有着重要意义。MRP 与 P53 的相关性提示两者可能共同介导乳腺癌多药耐药的发生,若进一步研究两者间的作用机制,将为乳腺癌耐药逆转及基因治疗提供了一个新的突破口。

4 参考文献

- [1] Dizdarevic S, Peters AM. Imaging of multidrug resistance in cancer[J]. *Cancer Imaging*, 2011(11):1-8.
 - [2] Marquette C, Nabell L. Chemotherapy-resistant metastatic breast cancer[J]. *Curr Treat Options Onco*, 2012(2):263-275.
 - [3] 许良中. 乳腺病理学[M]. 上海:上海医科大学出版社, 1999:359.
 - [4] Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Over expression of a novel transporter gene in a multidrug resistant human lung cancer cell line[J]. *Science*, 1992(5088):1650-1654.
 - [5] 李维权. 73 例乳腺癌 MRP、P53、ER、PR 蛋白表达及临床意义[J]. *中国病案*, 2011(2):21-22.
 - [6] Ercan C, Diest PJ, Der Ende B, et al. P53 mutations in classic and pleomorphic invasive lobular carcinoma of the breast[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2012(2):111-118.
 - [7] 刘祖宏,倪仰鹏. 乳腺癌新分子分型中的 P53 蛋白表达及临床评估[J]. *新医学*, 2013(3):166-168.
 - [8] 赵江涛. 120 例乳腺癌中 ER、PR、P53、HER2、TOP II 的表达及临床意义[J]. *川北医学院学报*, 2012(3):213-215.
 - [9] Sturm I, Bosanquet AG, Hermann S, et al. Mutation of P53 and consecutive selective drug resistance in B-CLL occurs as a consequence of prior DNA-damaging chemotherapy [J]. *Cell Death and Differentiation*, 2003(10):477-484.
 - [10] Bahr O, Wick W, Weller M. Modulation of MDR/MRP by wild-type and mutant P53 [J]. *Clinical Investigation*, 2001(5):643-645.
 - [11] 杨征,黄志刚,钟琦,等. 喉癌中 p53 与 MDR1 及 MRP 表达的相关性研究[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2008(5):289-292.
 - [12] 项伟,朱贤立,赵洪洋. P53 基因联合顺铂对实验性胶质瘤的治疗作用[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2006(3):154-156.
 - [13] 刘瑞娟,孙长岗,姜真,等. 逆转胶囊对人乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞中 P-gp 和 MRP 表达的影响[J]. *山东中医药大学学报*, 2013(1):47-49.
- (2014-01-24 收稿,2014-03-24 修回)
- 中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: Walid Bin Hosain
-
- (上接第 335 页)
- [4] 韩天雄,夏韵,孔令越,等. 血塞通注射液治疗脑梗死疗效观察和对 ANP、ET 的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2007(1):69-71.
 - [5] Lau KK, Wong YK, Teo KC, et al. Stroke patients with a past history of cancer are at increased risk of recurrent stroke and cardiovascular mortality[J]. *PLoS One*, 2014(2):e88283.
 - [6] 吴育彬,吴映华,庄伟端,等. 灯盏细辛注射液对急性脑梗死患者血管内皮功能的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2006(1):6-8.
 - [7] Chai L, Guo H, Li H, et al. Scutellarin and caffeic acid ester fraction, active components of Dengzhanxin injection, upregulate neurotrophins synthesis and release in hypoxia/reoxygenation rat astrocytes[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013(1):100-107.
 - [8] 张春炳,汪坚敏,朱健,等. 灯盏细辛对老年脑梗死患者血管内皮功能的影响[J]. *中国临床保健杂志*, 2006(6):582-583.
 - [9] 林正豪. 灯盏细辛注射液对急性脑梗死患者血浆 PaO₂ 和 PaCO₂ 的影响[J]. *广东医学*, 2012(15):2339-2340.
 - [10] 曹红,吴丹,葛艳,等. 急性脑梗死患者血清(浆)脂联素、诱生型一氧化氮合酶、内皮素的关系及临床意义[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2014(2):143-146.
 - [11] 李汶霞,李清美,夏作理,等. 脑梗死患者血浆内皮素与一氧化氮浓度的动态观察[J]. *中国微循环*, 1999(3):165-167.
- (2014-04-02 收稿,2014-05-03 修回)
- 中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 赵 毅