

文章编号:1007-4287(2008)04-0469-02

米非司酮对滋养叶细胞 p-糖蛋白表达的影响

温兰玲^{1*}, 李娜², 钱洪流¹

(1. 厦门大学附属中山医院 妇产科, 福建 厦门 361004; 2. 厦门大学医学院 病理科)

摘要:目的 观察米非司酮对滋养叶细胞 P-糖蛋白(p-glycoprotein P-gp)表达的影响方法 应用免疫组织化学方法,对 30 例药物流产的绒毛组织进行 P-gp 染色,取 30 例人工流产的绒毛组织作为对照。结果 人工流产标本中的绒毛上皮的 P-gp 表达全部呈强阳性。而药物流产的绒毛 90%表($P < 0.01$)达呈弱阳性。结论 米非司酮抑制 P-gp 的表达提示该药可能将作为化疗增效剂试用于临床。

关键词:P-糖蛋白;米非司酮

中图分类号:R714.21

文献标识码:A

The influence of mifepristone on expression of P-gp in trophoblastic cells WEN Lanling, QIAN Hongliu, LI Na. (Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361004, China)

Abstract:Objective To observe the influence of mifepristone on expression of P-gp in trophoblastic cells. Methods Immunohistochemical method was used to detect the expression of p-glycoprotein (P-gp) in chorion obtained from 30 cases of artificial abortion by taking mifepristone, another 30 cases of artificial abortion with aspiration were detected as controls. Results All the trophoblastic cells of chorion from aspiration expressed a stronger staining of p-gp, whereas the expression of P-gp in 90% of those with mifepristone treatment was much weaker ($P < 0.01$). Conclusion The inhibition function of mifepristone on trophoblastic cells suggests that this drug may be used to improve the efficiency of chemotherapy.

Key words p-glycoprotein; mifepristone

(Chin J Lab Diagn, 2008, 12:0469)

有体外研究发现, RU486(米非司酮)可逆转 P-糖蛋白的功能,但尚未见临床应用报道。因此,我们观察了米非司酮对滋养叶细胞上 P-糖蛋白表达的影响,报道如下。

1 临床资料与方法

1.1 病例来源 选择门诊药物流产及人工流产病人各 30 例。年龄 18 - 30 岁,术前均有 B 超确诊为宫内妊娠,孕龄 6 - 7 周,排除生殖器官炎症。人工流产所得绒毛或药物流产排出之绒毛立即放入 10% 的福尔马林中固定。

1.2 实验方法与试剂 免疫组织化学染色:所有甲醛固定的绒毛组织标本,石蜡包埋,采用链酶卵白素-过氧过物酶法(streptavidin-peroxidase, SP 法)进行免疫组织化学染色,一抗为鼠抗人 P-gp 单克隆抗体,抗体及 SP 试剂盒为福建 Maxxin 生物制品开发公司产品,操作步骤严格按说明书进行,切片经抗原修复,染色过程中以 PBS 代替第一抗体作为阴性对照。

1.3 结果判定 采用 Fromowitz 方法^[3],每张切片随

机观察 5 个中倍视野(X200),每个视野计数 100 个细胞,计算每个视野中阳性细胞数的平均百分比作为该切片阳性细胞百分比进行计分,0 - 5%为 0 分,6 - 25%为 1 分,26 - 50%为 2 分,51 - 75%为 3 分,大于 75%为 4 分;阳性着色计分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。两项结果相加,小于 2 分为阴性,2 - 3 分为弱阳性(+),4 - 5 分为中度阳性(++),6 - 7 分为强阳性(+++)。

1.2 统计学方法 采用 χ^2 检验

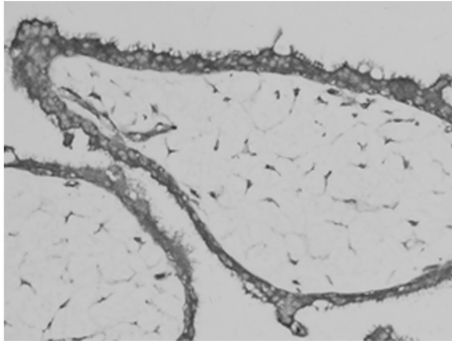
2 结果

人工流产标本中的绒毛上皮的 p-gp 表达全部呈强阳性。而药物流产绒毛中有 90%表达呈弱阳性,只有 10%呈强阳性,有显著统计学意义($P < 0.01$)。表 1 及图 2、图 3。

表 1 绒毛中 p-gp 的表达

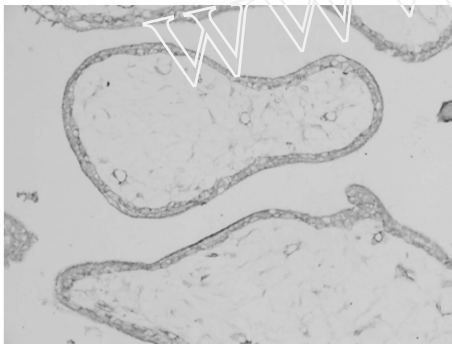
标本	n	P-gp 染色 +	P-gp 染色 +++
人流绒毛	30	0	30
药流绒毛	30	27	3

*通讯作者



P-gp 在滋养细胞膜及胞浆染色 +++。免疫组织化学 X400

图1 人工流产标本中的绒毛上皮的 p-gp 表达



P-gp 在滋养细胞膜及胞浆染色 +。免疫组织化学 X400

图2 药物流产绒毛上皮的 p-gp 表达。

3 讨论

在许多肿瘤组织中, P-gp 通过外流泵作用将进入细胞的化疗药物泵出细胞外, 实现对结构各异, 作用机理各不相同的多种化疗药物的交叉耐受。随着对多药耐药及其产生机理的深入研究, 探索如何逆转临床耐药愈来愈受到重视。对耐药现象的研究一方面在于寻找作用大, 副作用小的新的耐药逆转剂, 抑制耐药产生, 如抑制 P-gp 的外流泵作用, 从而增加了细胞内药物浓度, 抑制细胞内毒性药物的外排, 增加细胞内的药物浓度, 从而达到逆转肿瘤细胞耐药的目的; 另一方面可以利用 P-gp 的外流泵作用, 如将 mdr1 基因转染正常骨髓细胞, 保护其造血功能以实现超大剂量化疗。体外实验证实, 一些药物如异搏定、奎尼丁、环孢霉素 A、等可逆转其介导的多药耐药^[1,2]。又有研究指出, 雌孕激素可逆转 O-VACAR-3 细胞对 ADM 的耐药且作用强于异搏定, 可望成为临床化疗的辅助用药^[3]。另有报道, 化疗结合细胞因子治疗, 可以增强化疗药物的抗肿瘤效应, 在一定程度上调节耐药基因的表达, 但细胞因子的用量必须足够大, 而全身应用大剂量的细胞因子常可发生严重的副反应, 临床应用受到限制^[4]。

体外研究证实米非司酮有逆转 P-gp 的功能。

Payen 等研究发现 RU486 可增加细胞内钙黄绿素的水平, 而后者是由多药耐药蛋白(MRP)转运的, 表明 RU486 可低调(MRP)介导的耐药, RU486 10 microM (接近血浆可达到的浓度)可逆转 MRP 和 P-gp 的功能^[5]。另有作者观察了 RU 486 在高表达 P-gp 的老鼠 RHC1 及人 K562R7 细胞内使阿霉素积聚增加, 可能通过直接干扰了 P-gp 的药物结合部位从而减少了阿霉素的外流^[6]。

近年来, 米非司酮在医学上的应用潜力不断被发掘。米非司酮的临床应用领域不断被拓展。它与孕酮竞争结合受体, 使孕酮无法与受体结合, 至孕酮生化作用下降从而发挥抗孕激素作用, 故它是作用于受体水平的抗孕激素药物, 间有抗糖皮质激素作用, 米非司酮能通过诱导肿瘤细胞凋亡来抑制肿瘤细胞的生长^[7]。

米非司酮作为耐药逆转剂尚未见临床报道, 已证实正常绒毛组织中有 P-gp 的固有表达。为了解米非司酮对其表达的影响我们选择了门诊药物流产排出的绒毛进行观察, 并选择人工流产的新鲜绒毛作为对照, 其病例来源容易。结果表明, 药物流产的绒毛组织中 P-gp 的表达明显减弱。其机理可能作用于基因水平, 已有研究表明米非司酮是一种特异性细胞周期抑制药物^[7]。其主要作用机制是通过抑制细胞 DNA 的合成, 使肿瘤细胞阻止在 G0/G1 期, 不能进入 S 及 G2/M 期, 从而抑制肿瘤细胞的增殖, 因此推测米非司酮在影响 DNA 合成的同时也限制了 mdr1 基因的表达。

参考文献:

[1] 朱玲, 郎景和. P-糖蛋白与多药耐药[J]. 中华妇产科杂志, 1998, 33 (6) :381.

[2] Perez RP, Hamilton TC, et al. Mechanisms and modulation of resistance to chemotherapy in ovarian cancer[J]. Cancer, 1993, 71 :1571.

[3] 孟君艳, 尤宗兵, 郭燕燕. 雌激素与孕激素对卵巢癌耐药细胞系 OVCAR-3 生长及耐药的影响[J]. 中华妇产科杂志, 1999, 34 (11) : 670.

[4] 崔竹梅, 向阳, 杨秀玉, 等. 绒毛膜癌耐药细胞系的建立及人白细胞介素 2 基因转染后对其多药耐药性的逆转作用[J]. 中华妇产科杂志, 2001, 36 (9) :549.

[5] Payen L, FAU - Delugin J, Courtois, A et al. Reversal of MRP - mediated multidrug resistance in human lung cancer cells by the antiprogesterone drug RU486[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 258 (3) :513.

[6] Lecqueur, V, Fardel, O, Fardel OGuillouzo, A. The antiprogesterone drug RU 486 potentiates doxorubicin cytotoxicity in multidrug resistant cells through inhibition of P - glycoprotein function[J]. FEBS Lett, 1994, 355 (2) :187.

[7] 魏爱民, 任慕兰. 米非司酮在妇科肿瘤治疗中的研究进展[J]. 现代医学, 2003, 31 (1) .

(收稿日期:2007 - 08 - 16)