

1 题名：简明确切地反映论文的特定内容，鲜明而有特色，阿拉伯数字不宜开头，不用副题名，一般 20 个字。避免用“的研究”或“的观察”等非特定词。

2 作者：作者署名的次序按贡献大小排列，多作者时姓名间用逗号。英文摘要中，先名后姓，首字母大写，如：Ying-Qiu Huang, Ming Li.

3 单位：作者后写单位的全称空 1 格后再写省市及邮政编码，不同作者单位分别写出。

4 基金资助项目：可以增加省市级以上基金资助项目，并加基金号。英文摘要中翻译为准确的英文。

5 通讯作者：本刊只设一位通讯作者，不设共同通讯作者，需增加职称。

6 摘要：应包括中英文摘要，结构式摘要，内容应包括：目的(一般用探讨，研究，观察，评价，比较等引领整个句子，25 字)，方法(一般包含四要素，即分组，造模，给药，指标检测，<200 字)，结果(根据方法中的检测指标得出结果，尽量将原始数据体现出来，如果原始数据过多检验值是一种很好的选择，<200 字)，结论(精练、尽量采用一句话式表达，25 字)。

7 关键词：应包括中英文关键词，作者应在关键词列表中提供 3-10 个关键词，来反映论文中的核心内容。请尽量使用美国国立医学图书馆编辑的最新版 *Index Medicus* 中医学主题词表 (MeSH) 内所列的词。必要时可采用惯用的自由词。每个关键词之间用“;”分隔。格式如：肠道菌群；急性胰腺炎；慢性胰腺炎；自身免疫性胰腺炎。每个英文关键词第一个字母大写。每个关键词之间用“;”分隔。

8 正文：文章层次为：0 引言；1 材料和方法，1.1 材料，1.2 方法；2 结果；3 讨论；4 参考文献。序号一律左顶格写，后空 1 格写标题；2 级标题后空 1 格接正文；3 级标题为 1.2.1 等；4 级标题为(1)，(2)，(3)；尽量不要出现更小的分级。

9 图表：图表的数量要精选。表应有表序和表题，并有足够具有自明性的信息，使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头，表内非公知通用缩写应在表注中说明，表格一律使用三线表(不用竖线)，在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注，以使其容易被读者理解，所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、

黑白图、线条图，统一用一个注解分别叙述。如：图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用：^a*P*0.05, ^b*P*0.01 (*P*>0.05 不注)。如同一表中另有一套 *P* 值，则^c*P*0.05, ^d*P*0.01；第 3 套为^e*P*0.05, ^f*P*0.01。

10 参考文献：本刊采用“顺序编码制”的著录方法，即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映，并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名，则需在“Pang 等”的右上角注角码号；若正文中仅引用某文献中的论述，则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……，潘伯荣等^[2-5]认为……；PCR 方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时，用与正文同号的数字并排，如本实验方法见文献[8]。文献量达 15 条，可以参考本刊相关文献。

11 名词术语：应标准化，前后统一，如原词过长且多次出现者，可于首次出现时需要包含中英文全称，以后直接用简称。

写作格式实例 ●临床实践●

胃癌淋巴结转移灶与原发灶 P-糖蛋白的表达及意义

李勇莉, 李红军, 张 敏, 高建凯, 高福莲
李勇莉, 高建凯, 高福莲, 新乡医学院组织胚胎学教研室 河南省新乡市 453003
李红军, 新乡医学院第一附属医院内科 河南省卫辉市 453100

作者贡献分布：李勇莉与李红军对此文所作贡献均等；此课题由李勇莉, 李红军及高福莲设计；研究过程由李勇莉, 李红军, 张敏, 高建凯及高福莲操作完成；研究所用新试剂及分析工具由高福莲提供；数据分析由李勇莉, 张敏及高福莲完成；本论文写作由李勇莉, 李红军及高福莲完成。

通讯作者：高福莲, 教授, 453003, 河南省新乡市, 新乡医学院组织胚胎学教研室. gfl@xxmc.edu.cn

收稿日期：

修回日期：

接受日期：

在线出版日期：

Expression of P-glycoprotein and its significance in metastatic lymph nodes and primary lesions of gastric carcinoma

Yong-Li Li, Hong-Jun Li, Min Zhang, Jian-Kai Gao, Fu-Lian Gao
Yong-Li Li, Min Zhang, Jian-Kai Gao, Fu-Lian Gao, Department of Histology and Embryology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan Province, China
Hong-Jun Li, Department of Internal Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, Henan

Province, China

Correspondence to: Professor Fu-Lian Gao, Department of Histology and Embryology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan Province, China. gfl@xxmc.edu.cn

Received:

Revised:

Accepted:

Published online:

Abstract

AIM: To explore the different levels of P-glycoprotein (P-gp) expression in metastatic lymph nodes and primary lesions of gastric carcinoma and its relation with the biological behaviors of gastric cancer.

METHODS: Tissue specimens from 19 cases of gastric carcinoma with lymph node metastases were collected. The expression of P-gp was examined by immunohistochemistry in tissues of metastatic lymph nodes, primary lesions and normal gastric mucosa.

RESULTS: P-gp expression in metastatic lymph nodes was higher than that in the primary cancers (84.20% vs 52.63%, $P < 0.05$). The expression of P-gp in lymph node metastatic tissues had no significant association with the sex and age of patients, gastric carcinoma differentiation and infiltration, but P-gp expression in primary tumors was markedly associated with cancer differentiation degree and infiltration depth ($P < 0.05$). The positive rate of P-gp expression in patients without serosal invasion or with high and moderate differentiation was higher than that in those with serosal invasion or with low differentiation ($P < 0.05$).

CONCLUSION: P-gp expression in metastatic lymph nodes is higher than that in primary gastric cancers. The relation of P-gp expression with the biological behaviors is different between metastatic lymph nodes and primary lesions of gastric cancer.

Key Words: Gastric carcinoma; Lymph nodes; Metastasis; Multidrug resistance; P-glycoprotein

Li YL, Li HJ, Zhang M, Gao JK, Gao FL. Expression of P-glycoprotein and its significance in metastatic lymph nodes and primary lesions of gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008;

摘要

目的: 探讨 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)在胃癌淋巴结转移灶与原发性灶表达水平的差异及其与胃癌临床病理特征的关系。

方法: 应用免疫组化的方法检测 19 例伴有淋巴结转移的胃癌患者的淋巴结转移灶、胃癌原发性灶和正常胃黏膜的 P-gp 表达。

结果: 淋巴结转移灶 P-gp 表达的阳性率高于原发灶(84.20% vs 52.63%, $P<0.05$); 淋巴结转移灶 P-gp 表达与患者性别、年龄、肿瘤分化程度和浸润深度无关; 胃癌原发灶 P-gp 的表达与胃癌组织分化程度和浸润深度有关($P<0.05$), 与性别和年龄无关. P-gp 表达阳性率在高、中分化者较低分化者高, 肿瘤浸润未达浆膜者高于已穿越浆膜者.

结论: 胃癌淋巴结转移灶的 P-gp 表达高于原发灶, 淋巴结转移灶与原发灶 P-gp 表达和胃癌临床病理特征的关系不同.

关键词: 胃癌; 淋巴结; 转移; 多药耐药; P-糖蛋白

李勇莉, 李红军, 张敏, 高建凯, 高福莲. 胃癌淋巴结转移灶与原发灶 P-糖蛋白的表达及意义. 世界华人消化杂志 2008;

0 引言

在胃癌化疗过程中, 多药耐药(multidrug resistance, MDR)严重影响患者的疗效和生存质量. MDR 是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性同时, 对结构和作用机制完全不同的其他抗肿瘤药物也出现耐药性. 多药耐药基因 1(multidrug resistance gene1, mdr1)编码的 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)^[1]过度表达是引起 MDR 的主要机制. 恶性肿瘤转移灶中肿瘤细胞 MDR 的异质性是影响化疗效果的主要障碍^[2, 3], 淋巴结是胃癌重要的转移途径, 目前对胃癌 P-gp 表达水平的研究多限于原发灶, 较少涉及淋巴结转移灶与原发灶比较, 对比研究胃癌淋巴结转移灶和原发灶 P-gp 表达的差异, 可为胃癌的化疗提供理论依据. 本研究应用免疫组化的方法检测同一患者的淋巴结转移灶、胃癌原发灶及正常胃黏膜的 P-gp 表达, 共 19 例, 探讨胃癌发生和转移中 P-gp 表达的变化及其意义.

1 材料和方法

1.1 材料

2006-02/2006-08 新乡医学院第一附属医院手术治疗的胃癌患者中, 病理确诊为胃腺癌、均伴有淋巴结转移、手术标本的切缘组织为正常胃黏膜的部分, 共 19 例. 其中男性 12 例, 女性 7 例; 年龄 35-84 岁. 患者术前未接受放、化疗以及非甾体类抗炎药治疗. 一抗为兔抗人 P-gp 多克隆抗体(Mdr(H-241): sc-8313), 购自 Santa Cruz 公司; 即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自武汉 Boster 公司.

1.2 方法

取手术标本的切缘组织、胃癌原发灶和转移淋巴结标本分别设为正常胃黏膜、胃癌原发和淋巴结转移三组, 经中性甲醛固定, 常规石蜡包埋、切片. 采用 SABC 法对组织切片进行 P-gp 免疫组织化学染色, SABC 包含有辣根过氧化物酶, 底物选择 DAB. 染色步骤严格按试剂盒说明书进行. 由两位病理医师双盲法对正常胃黏膜、胃癌原发灶及相应转移淋巴结切片进行观察. 每种切片随机取 5 个($\times 400$)高倍视野, 每视野计数 100 个细胞. 以细胞膜及(或)细胞质呈棕黄色为 P-gp 阳性细胞, 阳性细胞数 $\geq 10\%$ 为 P-gp 表达阳性.

统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行处理. 阳性率的比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$. $P<0.05$ 为差异有统计

学意义.

2 结果

2.1 胃癌淋巴结转移灶、原发灶及正常胃黏膜的 P-gp 表达

P-gp 在胃癌淋巴结转移灶、原发灶及正常胃黏膜均有不同水平表达(图 1), 表达强度由高到低依次为淋巴结转移灶、原发灶及正常胃黏膜($P < 0.05$, 表 1).

2.2 胃癌转移淋巴结灶 P-gp 表达与临床病理特征的关系

转移淋巴结 P-gp 表达与胃癌患者的性别、年龄以及肿瘤分化程度和浸润深度均无关($P > 0.05$, 表 2).

2.3 胃癌原发灶 P-gp 表达与胃癌临床病理特征的关系

胃癌原发灶 P-gp 的表达与肿瘤分化程度和浸润深度有关, 高、中分化胃癌的 P-gp 阳性率高于低分化胃癌; 肿瘤浸润未达浆膜者高于已穿越浆膜者($P < 0.05$, 表 2); 而与性别和年龄无关.

3 讨论

胃癌是我国十大恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率均居恶性肿瘤首位, 且呈上升趋势^[4]. 化疗仍是胃癌治疗的主要手段, 在胃癌的原发 MDR 中有 P-gp 参与. P-gp 是具有转运功能的跨膜糖蛋白, 其疏水区结合药物, 能量依赖性地将药物泵出细胞外, 使细胞内药物蓄积减少导致 MDR^[5]. 本研究结果显示, P-gp 在正常胃黏膜、胃癌原发灶及相应淋巴结转移灶的表达率分别是 21.10%、52.63%、84.20%. P-gp 在正常胃黏膜和胃癌原发灶的表达率, 文献报告相差悬殊^[6, 7], 造成不同结果的原因可能与应用的检测方法及操作技术不同有关; 关于胃癌淋巴结转移灶的表达率未见报道. P-gp 在正常胃黏膜、胃癌原发灶及相应淋巴结转移灶表达差异有统计学意义, 淋巴结转移灶中 P-gp 表达阳性率最高. 韩杰等^[8, 9]对消化系肿瘤包括胃癌和大肠癌的淋巴结转移灶与原发灶的 P-gp 表达进行了研究, 在淋巴结转移灶与原发灶的 P-gp 表达与我们的结果一致. 高福莲等^[10]对胃上皮永生化细胞 ges-1、来自胃腺癌原发灶和淋巴结转移灶的胃癌细胞系 BGC823 和 SGC7901 的 P-gp 表达研究显示, P-gp 表达在胃上皮永生化细胞 ges-1 就存在, BGC823 增强, SGC7901 介于二者之间, 但 SGC7901 少数细胞 P-gp 表达极强; P-gp 表达在胃上皮永生化细胞 ges-1 和来自胃腺癌原发灶 BGC823 的变化趋势与本研究的正常胃黏膜和胃癌原发灶的结果一致, 但来自胃腺癌原发灶和淋巴结转移灶的胃癌细胞 BGC823 和 SGC7901 的 P-gp 表达变化趋势方面与本研究胃癌原发灶和淋巴结转移灶的结果不同, 这种不同可能为高福莲等使用的是建系细胞, 在肿瘤细胞演进中, P-gp 表达极强的肿瘤细胞可能生命力更强, 形成了高表达 P-gp 的转移灶, 本实验的淋巴结转移灶 P-gp 表达检测只是肿瘤转移灶生长的某个时段, 难反应肿瘤转移灶 P-gp 表达的发展过程.

胃癌淋巴结转移灶 P-gp 表达与临床病理特征的关系研究尚未见报道, 针对胃癌原发灶 P-gp 表达与临床病理特征关系的报道较多. 本实验结果表明, 胃癌原发灶 P-gp 表达与性别和年龄无关, 与肿瘤分化程度和浸润深度有关, 在肿瘤分化程度、浸润深度以及性别和年龄等方面与高福莲等^[11]综述众多研究的如下结果一致: 原发灶 mdrl 表达和肿瘤分化程度、浸润程度关系不肯定性; 和患者性别、年龄无相关性. 高中分化胃癌的 P-gp 阳性率高于低分化胃癌, 与 Choi 等^[12]研究结果一致, 肿瘤浸润未达浆膜者高于已穿越浆膜者, 与刘忠民等^[13]的研究结果一致.

恶性肿瘤尽管由一个发生恶性转化的细胞单克隆增殖而来,但在其演进过程中可能出现基因或大分子的改变,表现为有各自特性的“亚克隆”,对抗癌药敏感性等方面呈现异质性.本研究 P-gp 表达在正常胃黏膜、胃癌原发灶和淋巴结转移灶有差异,淋巴结转移灶中 P-gp 表达阳性率高于原发灶,说明正常胃黏膜具有抵抗药物的特性,肿瘤细胞只是增加了这种抗药性呈现原发耐药,淋巴结转移灶的耐药性有异质性变化,原发灶 P-gp 表达水平难反映淋巴结转移灶的 P-gp 参与的 MDR,检测淋巴结转移灶和胃癌原发灶 P-gp 表达对于指导临床制定合理的化疗方案有重要参考价值, P-gp 表达主要对生物碱类、蒽环类和鬼臼类耐药,对烷化剂较敏感,临床上可根据肿瘤 P-gp 表达结果来选择化疗方案,尽量避免使用与 P-gp 相关的药物以提高化疗效果;化疗时应将转移灶与肿瘤原发灶区别对待,尤其肿瘤切除术后的患者,针对淋巴结转移灶化疗将为提高综合治疗效果具有重要的临床意义.

本研究显示胃癌原发灶 P-gp 表达与否和临床病理特征的关系与淋巴结转移灶 P-gp 表达与否与临床病理特征关系不同,也是胃癌淋巴结转移灶发生异质性的佐证.由于本研究涉及病例较少,胃癌淋巴结转移灶和原发灶 P-gp 表达其能否成为预后指标尚需商榷,有待于进一步扩大样本例数进行深入研究.

4 参考文献

- 1 Haus-Cohen M, Assaraf Y G, Binyamin L, Benhar I, Reiter Y. Disruption of P-glycoprotein anticancer drug efflux activity by a small recombinant single-chain Fv antibody fragment targeted to an extracellular epitope. *Int J Cancer* 2004; 109: 750-758 [PMID: 14999785] doi:10.1002/ijc.20037
- 2 Donnenberg VS, Donnenberg AD. Multiple drug resistance in cancer revisited; the cancer stem cell hypothesis. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 872-877 [PMID: 16027397]
- 3 Bahr O, Rieger J, Duffner F, Meyermann R, Weller M, Wick W. P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein mediate specific patterns of multidrug resistance in malignant glioma cell lines, but not in primary glioma cells. *Brain Pathol* 2003; 13: 482-494 [PMID: 14655754]
- 4 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率 20 年变化情况分析及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2004; 26: 4-9
- 5 Lacueva FJ, Calpena R, Medrano J, Teruel A, Mayol MJ, Graells ML, Camarasa MV, Perez-Vazquez MT, Ferragut JA. Changes in P-glycoprotein expression in gastric carcinoma with respect to distant gastric mucosa may be influenced by p53. *Cancer* 2000; 89: 21-28 [PMID: 10896996] doi: 10.1002/1097-0142(20000701)89:1<21: AID-CNCR4>3.0.CO; 2-T
- 6 黄爱民, 刘景丰. 胃癌多药耐药基因的表达及其意义. *第四军医大学学报* 2002; 23: 1952-1954
- 7 Lacueva J, Perez-Ramos M, Soto JL, Oliver I, Andrada E, Medrano J, Perez-Vazquez T, Arroyo A, Carrato A, Ferragut JA, Calpena R. Multidrug resistance-associated protein (MRP1) gene is strongly expressed in gastric carcinomas. Analysis by immunohistochemistry and real-time quantitative RT-PCR. *Histopathology* 2005; 46: 389-395 [PMID: 15810950] doi:10.1111/j.1365-2559.2005.02100.x
- 8 韩杰, 吕炳蓉, 檀碧波, 何春年, 吕柏楠, 赵建辉. 消化道肿瘤淋巴结转移灶多药耐药性的变化及其意义. *中华实验外科杂志* 2006;23(12): 1495-1496.

9 檀碧波, 韩杰, 吕炳蓉, 吕柏楠, 何春年, 赵建辉, 耿伟. 消化道肿瘤原发灶、淋巴结转移灶中 p53、P-糖蛋白的表达及意义. 山东医药 2007; 47: 83

10 高福莲, 岳保红, 马开颜, 乐晓萍, 张钦宪. 胃上皮永生细胞、胃腺癌细胞和胃腺癌淋巴结转移细胞多药耐药基因 1 和 P-糖蛋白的表达. 郑州大学学报(医学版)2006; 41: 514-517

11 高福莲, 王永霞, 张钦宪. 胃癌多药耐药基因 1 表达及其与生物学行为的关系. 新乡医学院学报 2006; 23: 305-306

12 Choi JH, Lim HY, Joo HJ, Kim HS, Yi JW, Kim HC, Cho YK, Kim MW, Lee KB. Expression of multidrug resistance-associated protein1, P-glycoprotein, and thymidylate synthase in gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil and doxorubicin-based adjuvant chemotherapy after curative resection. *Br J Cancer* 2002; 86: 1578-1585 [PMID: 12085207] doi:10.1038/sj.bjc.6600305

13 刘忠民, 寿楠海. 胃癌组织 *mdr1* 基因表达的临床意义. 世界华人消化杂志 1999; 7: 145-146

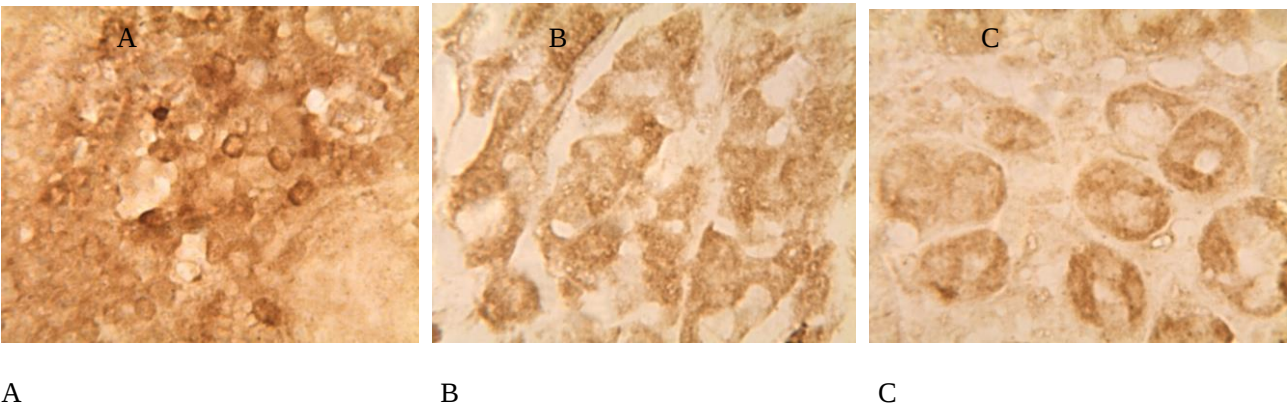


图 1 胃癌淋巴结转移灶、原发灶和正常胃黏膜 P-gp 表达(×400). A: 淋巴结转移灶; B: 原发灶; C: 正常胃黏膜.

表 1 胃癌转移淋巴结灶、原发灶和正常胃黏膜 P-gp 的表达(*n* = 19)

临床病理特征	阳性(%)	阴性(%)
正常胃黏膜	4(21.10)	15(78.90)
胃癌原发灶	10(52.63)	9(47.37)
转移淋巴结	16(84.20)	3(15.80)

表 2 转移淋巴结和胃癌原发灶 P-gp 表达与临床病理特征的关系

临床病理特征		<i>n</i>	转移淋巴结 阳性(%)	转移淋巴结 阴性(%)	<i>P</i> 值	胃癌原发灶 阳性(%)	胃癌原发灶 阴性(%)	<i>P</i> 值
性别	男	12	10(83.30)	2(16.70)	7(58.33)	5(41.67)	0.526	0.891
	女	7	6(85.70)	1(14.30)	3(42.86)	4(57.14)		

年龄	≤50 岁	7	5(71.40)	2(28.60)	4(57.10)	3(42.90)	0.770	0.256
	>50 岁	12	11(91.70)	1(8.30)	6(50.00)	6(50.00)		
肿瘤分化程度	高、中分化	11	9(81.80)	2(18.20)	8(72.70)	3(27.30)	0.045	0.737
	低分化	8	7(87.50)	1(12.50)	2(25.00)	6(75.00)		
浸润深度	浆膜内	7	6(85.70)	1(14.30)	6(85.70)	1(14.30)	0.032	0.891
	浆膜及浆膜外	12	10(83.30)	2(16.70)	4(33.30)	8(66.70)		