

性氧引起的脂质过氧化反应的终产物之一，是反映氧化损伤最简洁、可靠的指标^[4]；而 T-AOC 是机体防御体系之一，该能力的强弱与健康程度存在着密切联系，这种机能的降低常常导致各种疾病的产生^[5]。镍进入机体可产生自由基^[6]，蓄积在脾脏组织中，引起脾细胞膜脂质过氧化，导致脾脏抗氧化能力受损，T-AOC 水平降低，脂质过氧化产物 MDA 含量升高。

NO 作为一种重要信使分子，参与机体各种复杂的病理生理过程，体内 NO 的合成不足必然引起机体许多生理功能的丧失，从而导致许多疾病^[7]。镍所致的 SOD 活力的降低可进一步引起超氧自由基的大量堆积，而超氧自由基可催化 NO 生成超氧亚硝酸根离子 (ONOO⁻)，其活性强于超氧自由基，从而加重脂质过氧化^[8]。因此，Ni²⁺ 抑制脾脏组织细胞 NOS 活力，使 NO 合成减少，引起细胞信息传递障碍和细胞内 Ca²⁺ 浓度升高及对 Ca²⁺ 敏感度增加^[9]，从而导致脾脏毒性。

参考文献:

[1] 刚葆琪, 庄志雄. 我国镍毒理学研究进展 [J]. 卫生毒理学杂志, 2000 14: 129-135.

[2] Kyungtae Kim, Sang Han Lee, Young Rok Seo, et al. Nickel (II) - induced apoptosis in murine T cell hybridoma cells is associated with

increased fas ligand expression [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2002, 185: 41-47.

[3] 向荣, 王鼎年. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1990 17: 24.

[4] Lee KU. Oxidative stress markers in korean subjects with insulin resistance syndrome [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2001, 54: 29-33.

[5] 陈瑗, 周玫. 自由基医学基础与病理生理 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 50-149.

[6] Misra M, Rodriguez RE, Kasprzak KS. Nickel induced lipid peroxidation in the rat; Correlation with nickel effect on antioxidant defense systems [J]. Toxicology, 1990 64: 1-17.

[7] 钟慈声, 孙安阳. 一氧化氮的生物医学 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 8.

[8] Rubbo H, Radi R, Trujillo M, et al. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives [J]. J Biol Chem, 1994, 269 (42): 26066-26075.

[9] Donald JW, Robert AN. Inhibition of nitric oxide synthase isoforms by prothorins [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1996, 333 (1): 27-34.

乳腺癌组织中 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶的表达

Expression of O⁶-Methylguanine-DNA Methyltransferase in breast cancer

谭纪伏¹, 孙茂民^{2*}, 夏春林²

TAN Ji-fu¹, SUN Mao-min^{2*}, XIA Chun-lin²

(1. 苏州市第二人民医院, 江苏 苏州 215002; 2. 苏州大学医学院解剖学教研室, 江苏 苏州 215007)

摘要: 采用原位杂交方法检测 30 例乳腺癌组织 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (MGMT) 表达水平。结果显示, MGMT 阳性率为 93.4% (28/30), 其中高表达 28.6% (8/28), 中、低表达 71.4% (20/28)。乳腺癌组织 MGMT 的表达与临床分期无关。

关键词: 乳腺癌; O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶

中图分类号: R655.8 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X (2005)05-0296-02

乳腺癌是损害女性健康的主要恶性肿瘤之一，目前治疗主要以外科手术切除为主，辅以化疗或放疗，但许多患者在手术后化疗过程中对化学药物产生耐药性而影响预后，所以乳腺癌的耐药性研究受到越来越多的重视。肿瘤细胞内 O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶 (MGMT) 能修复亚硝胺类药物 (CNU_s) 对肿瘤细胞 DNA 的烷基损伤，是阻止 CNU_s 杀伤肿瘤细胞的主要障碍，它可以使肿瘤细胞耐药^[1]。本研究通过原

位杂交方法检测乳腺癌组织中 MGMT 的表达，探讨乳腺癌组织中 MGMT 表达与 CNU_s 耐药的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

乳腺癌标本为我院 1999~2004 年外科乳腺癌根治术标本，共 30 例，均经病理诊断证实，其中浸润性导管癌 18 例，腺癌 8 例，低分化癌 4 例。患者年龄 31~65 岁，平均 51 岁。

1.2 方法

MGMT 原位杂交试剂盒由武汉博士德生物技术公司提供，乳腺癌石蜡切片常规脱蜡至水 (DEPC 处理)，胃蛋白酶室温消化 30 min，预杂交液 20 μl 预杂交室温 2 h (勿洗)，滴加 50 μl 含地高辛标记 MGMT 探针的杂交液，采用原位杂交专用盖玻片 42℃ 40 h，滴加封闭液室温 20 min (不洗)，滴加兔抗地高辛室温 60 min，滴加生物素化羊抗兔 IgG，室温 30 min，滴加 SABC 室温 30 min，DAB 显色，常规乙醇脱水，封片。用 TBS 代替一抗作阴性对照，用已知阳性的结肠癌组织作阳性对照。

1.3 结果判定

MGMT 阳性细胞为细胞浆染色，高倍视野下，计数 100 个癌细胞中阳性细胞达 10% 为高表达，低于 10% 为中低表达。

收稿日期: 2005-03-10; 修回日期: 2005-05-08

作者简介: 谭纪伏 (1957-), 男, 副主任医师, 研究方向: 乳腺癌的耐药机制。

无阳性细胞为阴性表达。

2 结果

2.1 乳腺癌组织中 MGMT 的表达

乳腺癌组织中 MGMT 的表达 93.4% (28/30), 其中高表达 28.6% (8/28), 中、低表达 71.4% (20/28), 检测不到 MGMT 为 6.6% (2/30)。

2.2 乳腺癌组织中 MGMT 表达与病理分类的关系

由表 1 可见, MGMT 的表达与病理分类的关系无显著性, $P > 0.05$ 。

表 1 MGMT 的表达与病理分类的关系

病理类型	例数	阳性		阴性 (-)
		(+++)	(++~+)	
浸润性导管 I 型	4	1	3	0
浸润性导管 II 型	12	2	9	1
浸润性导管 III 型	2	0	2	0
腺癌 I 型	6	2	4	0
腺癌 II 型	2	1	0	1
低分化癌	4	1	3	0

3 讨论

化疗药物 CNUs 能在体内分解氯乙基偶氮离子, 作用于 DNA 形成 O⁶-氯乙基鸟嘌呤, 进一步与互补 DNA 形成交联, 影响 DNA 复制, 从而杀伤肿瘤细胞。MGMT 是 DNA 损伤后修复系统中的重要成员, 能将鸟嘌呤氧六位的烷化基团转移至自身的半胱氨酸残基上, 使烷基化 DNA 修复, 同时其自身失活, 因而 MGMT 在肿瘤对 CNUs 耐药中起重要作用^[2]。

根据 MGMT 活性, 可将肿瘤细胞分为 2 种 DNA 修复表型, 没有或几乎没有 MGMT 活性 (50 pmol/mg) 的细胞称为 Mer⁻细胞, 表现出 MGMT 活性的细胞称为 Mer⁺细胞。2 种细胞对烷化剂的细胞毒作用具有不同的敏感性^[3]。

国外学者认为, 乳腺癌组织中 MGMT 含量差异很大, 最高可达 863 pmol/mg, 最低可检测不到 MGMT 含量, 并且其表达与病理分类无相关性^[4]。国内章杨培分析了 20 株中国人肿

瘤细胞 MGMT 活性, 发现乳腺癌处于中间型; 而在研究 74 例不同类型的肿瘤组织中 MGMT 活性时, 却发现乳腺癌组织中 MGMT 含量最高^[4], 其结果差别主要由研究对象不同引起。本研究也证实乳腺癌组织中 MGMT 的表达高低不一, 其中高表达为 28.6%, 中、低表达为 71.4%, 与国内外结果相一致。

理论上, MGMT 表达越高, 肿瘤细胞应越耐药。然而有研究显示 MGMT 表达与 CNUs 耐药之间并没有线性相关^[6]。Miohael 等采用 MGMT 底物抑制剂六氧苯甲基鸟嘌呤 (O⁶-BG) 阻断 MGMT 的作用, 发现并不能逆转所有肿瘤细胞对 CNUs 的耐药性, 而且, 有些 Mer⁻的肿瘤同样表现出明显的耐药^[6]。以上事实提示肿瘤对 CNUs 耐药还有其他机制参与, MGMT 只在部分肿瘤的耐药中起作用。有研究证实多药耐药阴性 (mdr⁻) 型肿瘤细胞缺少 MGMT 活性或测不出, 而多药耐药阳性 (mdr⁺) 型肿瘤细胞则相反^[6]; 这似乎说明多药耐药基因表达与 MGMT 活性之间存在某种相关性, 我们将在以后的工作中深入研究乳腺癌耐药与 MGMT 的关系。

参考文献:

- [1] 章杨培, 季守平, 陈建敏, 等. O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶与肿瘤预见性化疗 [J]. 生理科学进展, 1999, 30 (3): 279-282.
- [2] Pegg, AE. O⁶-methylguanine DNA methyltransferase activity in breast and brain tumors [J]. Cancer Res, 1990, 50: 6199.
- [3] 王亮, 吴旻. O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶与肿瘤 [J]. 国外医学肿瘤学分册, 1994, 21 (3): 129-131.
- [4] Preuss I, Eberhagen I, Haas S, et al. Mammalian O⁶alkylguanine DNA alkyltransferase: regulation and importance in response to alkylating carcinogenic and therapeutic agents [J]. Int J Cancer, 1995, 61 (3): 321-326.
- [5] 陈忠平, Mohr G, Panasci LC, 等. 六氧甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶基因表达与肿瘤耐药 [J]. 癌症, 1998, 17 (3): 182-185.
- [6] Bobok MS, Blank A, Berger MS, et al. Contribution of O⁶-to resistance to 1, 3-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea in human brain tumor-derived cell lines [J]. Mol Carcinogenesis, 1995, 13: 81.

中华预防医学会职业病专业委员会第三届委员会学组组建工作启动

中华预防医学会职业病专业委员会第三届委员会学组组建工作全面启动, 有意参加学组工作的单位和个人请直接与牵头单位及牵头人联系。

- (1) 应急救援学组: 牵头单位军事医学科学院, 牵头人何跃忠主任医师;
- (2) 健康监护学组: 牵头单位广州市职业病防治院, 牵头人江朝强教授;
- (3) 尘肺影像学组: 牵头单位山东省劳动卫生职业病研究院, 牵头人曲金平院长;
- (4) 职业病信息学组: 牵头单位广东省职业病院, 牵头人黄汉林院长;
- (5) 职业病诊断鉴定学组: 牵头单位广东省职业病院, 牵头人黄汉林院长;
- (6) 物理因素学组: 牵头单位上海华山医院, 牵头人邹和建教授。

中华预防医学会职业病专业委员会