文章编号:1000-5404(2007)17-1699-03

论著

# 人非小细胞肺癌与外周血淋巴细胞表达LRP的相关性研究

闵发胜,陈正堂 (第三军医大学新桥医院全军肿瘤研究所,重庆 400037)

**提 要:目的** 探讨肺耐药相关蛋白(lung resistance-related protein, LRP)在人非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)癌组织、癌旁组织和外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocytes, PBL)中的表达及其相关性。**方法** 采用S-P免疫组织化学方法检测49例人NSCLC癌组织、癌旁组织和PBL中LRP的表达及10例正常人PBL中LRP的表达。**结果** NSCLC癌组织、癌旁组织和PBL的LRP表达阳性率分别为78.2%、46.4%和66.8%,其中癌组织的LRP表达阳性率明显高于癌旁组织($P<0.05$),且与PBL的LRP表达呈正相关。在各病理类型的NSCLC中,腺癌表达阳性率最高(90.9%),鳞癌次之(55.6%),差异显著($P<0.01$)。10例正常人PBL的LRP表达阳性率(20%)显著低于NSCLC患者($P<0.05$)。**结论** 检测NSCLC患者PBL的LRP表达可间接反映癌组织的LRP表达状况。

**关键词:** 肺耐药相关蛋白;非小细胞肺癌;外周血淋巴细胞
**中图法分类号:** R341; R730.23; R734.2 **文献标识码:** A

# Correlation between expression of lung resistance-related protein in non-small cell lung cancer and that in peripheral blood lymphocytes

MIN Fa-sheng, CHEN Zheng-tang (Cancer Research Center, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract:** Objective To explore the correlation between the expression of lung resistance-related protein (LRP) in non-small cell lung cancer (NSCLC) and that in peripheral blood lymphocytes (PBL). Methods The S-P immunohistochemistry was used to detect the expression of LRP in specimens and PBL of 49 patients with NSCLC. Para-carcinoma tissues and PBL of 10 normal people were used as controls. Results The positive expression rate of LRP was 78.2%, 46.4% and 66.8% in carcinoma tissues, para-carcinoma tissues and PBL, respectively. The expression rate of LRP in carcinoma tissues was higher than that in para-carcinoma tissues ($P<0.05$), and positively correlated with that in PBL of the patients. The expression rate of LRP in adenocarcinomas was higher than that in squamous cell carcinomas ($P<0.01$). The expression rate of LRP in the normal people was lower than in NSCLC patients($P<0.05$). Conclusion The expression of LRP in PBL of NSCLC patients may indirectly represent the expression of LRP in carcinoma tissues.

**Key words:** lung resistance-related protein; non-small cell lung cancer; peripheral blood lymphocytes

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是我国最常见的恶性肿瘤之一。虽然手术切除是其主要治疗手段,但大部分患者在确诊时已失去手术机会。这些患者多需采取以化疗为主的综合治疗。然而,NSCLC对化疗不够敏感,其主要原因是其对化疗药物产生原发或继发耐药[1]。现已明确,肺耐药相关蛋白(lung resistance-related protein, LRP)是引起肿瘤多药耐药的重要原因之一,且表达于人类多种癌组织中。最近研究表明,人外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)亦有LRP的表达。本研究试图探讨NSCLC患者癌组织和PBL中LRP表达的相关性,以期为临床判断NSCLC耐药情况提供一种简单、方便的手段。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本来源 选取第三军医大学西南医院和本院胸外科2006年9月至2007年2月期间NSCLC患者手术切除标本,并且术前晨空腹采取静脉血。术前均未进行放化疗。其中男性34例,女性15例,年龄38~80岁,中位年龄54岁;腺癌22

作者简介:闵发胜(1977-),男,江西省奉新县人,硕士研究生,主治医师,主要从事肺癌化疗耐药方面的研究。现在国防科技大学第二干休所门诊部,长沙 410003。电话:(0731)4228718, E-mail: 88min@sina.com
通讯作者:陈正堂,电话:(023)68755626,E-mail:czt05@163.com
收稿日期:2007-01-15;修回日期:2007-02-05

例，鳞癌18例，大细胞癌5例，腺鳞癌4例。取上述患者癌旁组织和10例正常人静脉血作为对照，所取肺组织距离病灶切端2 cm以上。术中所取标本均于30 min内冻存于-70 ℃冰箱备用。

1.1.2 试剂 鼠抗人LRP单克隆抗体(LRP-56)、S-P免疫组织化学试剂盒和DAB试剂盒均购于北京中杉生物技术有限公司。淋巴细胞分离液购自中国医学科学院生物工程研究所。

### 1.2 方法

1.2.1 PBL分离和涂片 采用密度梯度离心法分离PBL。将外周静脉血2 ml加入等体积的D-Hanks液混匀，沿管壁缓慢加入预先盛有4 ml淋巴细胞分离液的离心管中，2 000 r/min，离心20 min。取试管中间白色层，用D-Hanks液4 ml冲洗，离心(1 000 r/min，5 min)2次，弃上清，然后用PBS液配制成单细胞悬液，台盼蓝计数活细胞达90%以上，调细胞浓度为$1\times10^6$/ml。取50 μl细胞悬液于20 cm高度垂直滴在-20 ℃预冷的载玻片(预先用多聚赖氨酸包被)上，50 ℃烤干，冰丙酮固定10 min，4 ℃保存(不超过7 d)。

1.2.2 组织处理和切片制备 10%甲醛固定组织。常规石蜡包埋和切片(厚度5 μm)，常温下保存。

1.2.3 免疫组织化学染色 采用S-P法。阳性表达定位于细胞膜及细胞质内[2]，呈棕黄色。取5个视野，每个视野观察100个肿瘤细胞，阳性细胞数>5%为阳性[3,4]。染色的瘤细胞数少于整个过视野的1/3为弱阳性(+)，1/3~2/3为阳性(++)，大于2/3为强阳性(+++)。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件对计数资料进行$\chi^2$检验。

## 2 结果

### 2.1 NSCLC癌组织、癌旁组织和PBL的LRP表达

NSCLC癌组织、癌旁组织和PBL的LRP表达阳性率分别为78.2%、46.4%和66.8%，其中癌组织的LRP表达阳性率明显高于癌旁组织($\chi^2=6.52$，$P<0.05$)，而与PBL表达LRP无显著性差异($\chi^2=1.45$，$P>0.05$)，见图1~4。NSCLC患者癌组织和PBL的LRP表达阳性率均高于正常人($P<0.05$)。

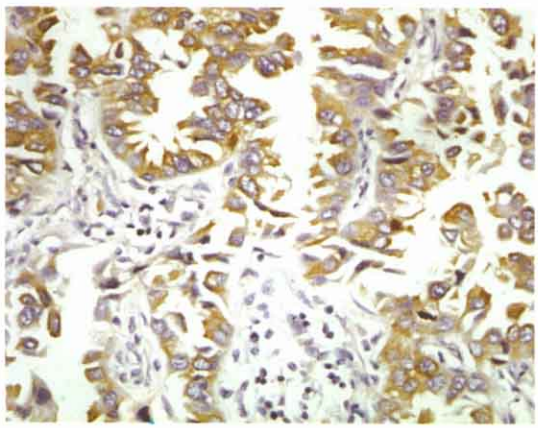


**图1 肺腺癌中LRP阳性表达** (S-P×400)

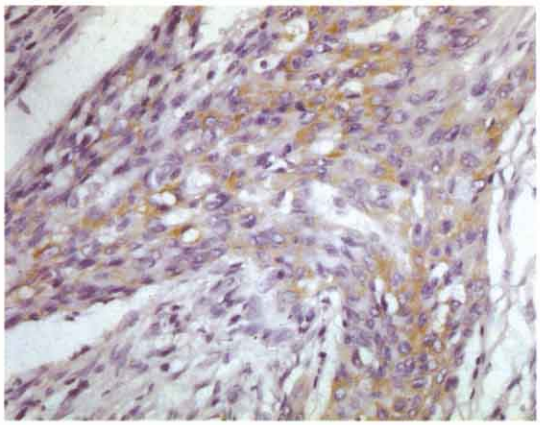


**图2 肺鳞癌中LRP阳性表达** (S-P×400)

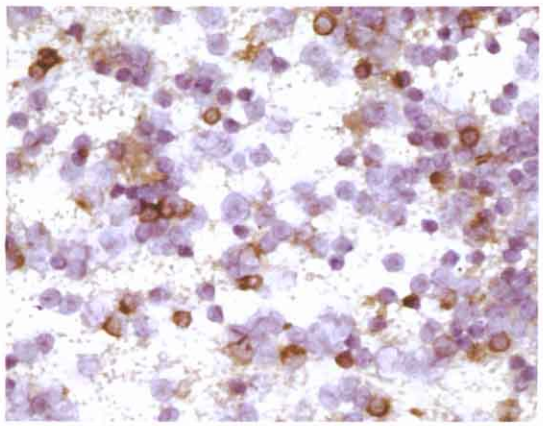


**图3 PBL中LRP阳性表达** (S-P×400)

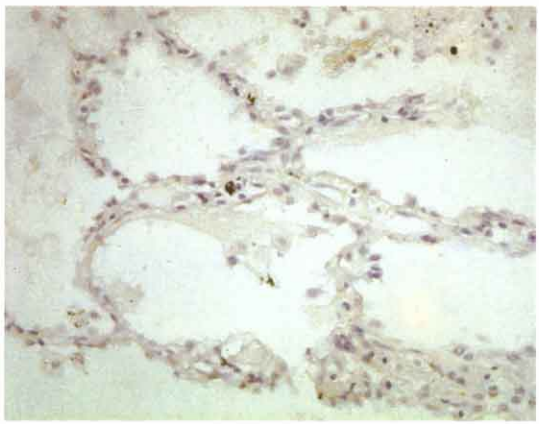


**图4 癌旁组织中LRP阴性** (S-P×400)

### 2.2 NSCLC癌组织与PBL表达LRP的相关性

NSCLC癌组织和PBL表达LRP均为阳性者22例，均为阴性者12例；NSCLC癌组织表达LRP阳性而PBL表达阴性者10例；NSCLC癌组织表达LRP阴性而PBL表达阳性者5例。经统计学分析，NSCLC癌组织与PBL表达LRP呈正相关($\chi^2=1.67$，$P>0.05$)。

### 2.3　各病理类型患者癌组织的 LRP 表达

腺癌、鳞癌和其他病理类型患者 LRP 表达阳性率分别为 90.9%(20/22)，55.6%(10/18)和 22.2%(2/9)，具有显著性差异($\chi^2=14.49$，$P<0.01$)。

## 3　讨论

NSCLC 耐药机制较复杂，其中 LRP 过度表达是主要机制之一[5,6]。LRP 是 1993 年发现的一种非 ATP 依赖性耐药相关转运蛋白，相对分子质量为 $110\times10^3$，参与核与细胞质间的药物转运。它可使以细胞核为靶点的药物不能通过核孔进入细胞核，即使进入也在发生药效前被泵出核外。也可使细胞质中药物进入囊泡，并通过胞吐作用排出细胞外，导致肿瘤细胞内药物浓度下降，细胞毒作用减弱或丧失[2]。在经过阿霉素、阿糖胞苷、米托蒽醌、甲氨蝶呤、足叶乙甙和长春新碱等广泛的细胞稳定药选择的细胞系中，LRP 表达升高。术前化疗亦会增加 LRP 的表达[7]。LRP 不仅能介导与 MDR 相关的药物耐药，而且对某些 P-gp 和 MRP 不能介导的药物耐药，如卡铂、顺铂、烷化剂和马法蓝等[8,9]。进一步研究 LRP 的正常生理功能、寻找其抑制剂及其临床应用有重要意义。

NSCLC 中的 LRP 表达状况，目前国内外报道极不一致，检测方法主要是免疫组化法。Rybarova 等[10]对 41 例人 NSCLC 癌组织进行检测，LRP 阳性表达率为 88.0%。姬明丽等[11]亦用免疫组化法检测 NSCLC 癌组织 LRP 表达为 53.8%。LRP 在血细胞亚群中也有表达。在 NSCLC 患者 PBL，化疗前 LRP 阳性率在 60%～70%，化疗后表达率可达 89%[12]。目前，关于人 NSCLC 与 PBL 表达 LRP 的相关性研究在国内外尚少见报道。研究表明，肺癌患者 PBL 及其癌细胞对卡铂、顺铂和烷化剂等化疗药物的敏感性有很好的相关性，而上述药物耐药是 P-gp 和 MRP 不能介导的，提示肺癌患者 PBL 及其癌细胞存在相关性较好的另外的多药耐药蛋白[13]。

本研究显示：NSCLC 癌组织与 PBL 的 LRP 表达具有正相关；NSCLC 癌组织 LRP 表达阳性率显著高于癌旁细胞；腺癌 LRP 表达阳性率显著高于鳞癌；NSCLC 患者 PBL 的 LRP 表达阳性率显著高于正常人。NSCLC 患者 PBL 的 LRP 表达率与癌组织一致，具有较好的相关性。因此，检测 NSCLC 患者 PBL 中 LRP 的表达，有助于间接反映 NSCLC 癌组织 LRP 的表达，提示可以用 PBL 来预测 NSCLC 癌组织的部分耐药。至于监测 NSCLC 患者 PBL 中 LRP 表达情况对临床选用化疗方案及预测预后是否有重要意义有待进一步研究。

## 参考文献：


[1] 姬明丽，宋晓荣，干智斌，等. 非小细胞肺癌组织 Bcl-2 蛋白的表达和多药耐药检测[J]. 郑州大学学报：医学版，2006，41(5)：919－920.

[2] Meschini S，Marra M，Calcabrini A，*et al*. Role of the lung resistance-related protein (LRP) in the drug sensitivity of cultured tumor cells [J]. Toxicol In Vitro，2002，16(4)：389－398.

[3] Rybarova S，Hodorova I，Hajdukova M，*et al*. Expression of MDR proteins in breast cancer and its correlation with some clinical and pathological parameters[J]. Neoplasma，2006，53(2)：128－135.

[4] Sunnaram B L，Gandemer V，Sebillot M，*et al*. LRP overexpression in monocytic lineage[J]. Leuk Res，2003，27(8)：755－759.

[5] Harada T，Ogura S，Yamazaki K，*et al*. Predictive value of expression of P53，Bcl-2 and lung resistance-related protein for response to chemotherapy in non-small cell lung cancers[J]. Cancer Sci，2003，94(4)：394－399.

[6] Volm M，Koomagi R，Mattern J，*et al*. Protein expression profiles indicative for drug resistance of non-small cell lung cancer[J]. Br J Cancer，2002，87(3)：251－257.

[7] Rudas M，Filipits M，Taucher S，*et al*. Expression of MRP1，LRP and Pgp in breast carcinoma patients treated with preoperative chemotherapy [J]. Breast Cancer Res Treat，2003，81(2)：149－157.

[8] Horvath V，Blanarova O，Svihalkova-Sindlerova L，*et al*. Platinum (Ⅳ) complex with adamantylamine overcomes intrinsic resistance to cisplatin in ovarian cancer cells[J]. Gynecol Oncol，2006，102(1)：32－40.

[9] Wang W，Ke S，Chen G，*et al*. Effect of lung resistance-related protein on the resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines [J]. Oncol Rep，2004，12(6)：1365－1370.

[10] Rybarova S，Hajdukova M，Hodorova I，*et al*. Expression of the multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) and the lung resistance-related protein (LRP) in human lung cancer[J]. Neoplasma，2004，51(3)：169－174.

[11] 姬明丽，千智斌，宋晓荣. LRP 及 GST-π 的表达与非小细胞肺癌的耐药性关系[J]. 肿瘤防治研究，2006，33(5)：317－320.

[12] 吴　莉，文小平. 非小细胞肺癌外周血淋巴细胞 CD54、LRP 的表达及其意义[J]. 第三军医大学学报，2005，27(11)：1136－1138.

[13] 王艳萍，陈晓禾，周清华，等. 肺癌患者外周血淋巴细胞与癌细胞体外化疗药敏实验研究[J]. 中国肺癌杂志，2004，7(6)：480－482.


（编辑　陈聪连）