

晚期非小细胞肺癌组织中 LRP 表达与铂类耐药性及预后的相关性研究

刘 琼, 黄昌杰, 黄文锋, 湛永滋, 黄剑锋, 王湘萍

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:2010GXNSFA013260); 南宁市科学研究与技术开发计划项目(编号:201003045C-6)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学研究生学院(刘 琼); 530031 南宁, 广西医科大学第三附属医院肿瘤科(南宁市第二人民医院)(黄昌杰, 黄文锋, 湛永滋, 黄剑锋, 王湘萍)

作者简介: 刘 琼(1986-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 肿瘤综合治疗。E-mail: 18249993052@126.com

通讯作者: 黄昌杰(1960-), 男, 医学硕士, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤综合治疗。E-mail: changjie_huang@126.com

[摘要] 目的 探讨晚期非小细胞肺癌(NSCLC)组织中肺耐药蛋白(LRP)的表达与铂类化疗耐药及其预后的关系。方法 采用免疫组织化学 SP 法对 89 例晚期 NSCLC 蜡块进行免疫组织化学染色, 检测 LRP 的表达水平, 并分析其与患者的性别、年龄、吸烟史、组织分型、分化程度、远处转移、淋巴结转移及含铂化疗方案疗效的关系。结果 在 NSCLC 患者组织中, LRP 的阳性表达率为 77.5%, 与年龄、吸烟史、组织分型、分化程度和淋巴结转移无关(P 均 >0.05), 而 LRP 表达阳性组和阴性组的含铂类方案化疗疗效、有效率、总反应率、无进展生存时间和总生存时间比较差异无统计学意义(P 均 >0.05)。女性患者肿瘤组织 LRP 表达阳性率(95.5%)高于男性患者(71.6%)($P=0.043$); 在远处转移的患者中, LRP 阳性表达率为 87.3%, 而无远处转移的患者 LRP 阳性表达率为 61.8%, 差异有统计学意义($P=0.005$)。结论 LRP 基因的阳性表达与远处转移有关, 且 LRP 阳性表达患者无疾病进展时间及总生存时间均低于 LRP 阴性表达患者, 提示其可能作为判断预后指标。

[关键词] 非小细胞肺癌; 肺耐药蛋白; 顺铂; 耐药; 预后

[中图分类号] R 730 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)01-0001-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.01.01

Study on correlation among expression of LRP and platinum resistance and prognosis in advanced non-small cell lung cancer LIU Qiong, HUANG Chang-jie, HUANG Wen-feng, et al. Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the expression of lung resistance protein (LRP) in non-small cell Lung Cancer (NSCLC) and its correlation with Platinum resistance and prognosis. **Methods** The expression of LRP in 89 NSCLC patients was detected by the way of immunohistochemical method. The relationship between LRP and clinicopathological feature and the others (age, sex, smoking history, histological type, differentiation, distant metastasis, lymphatic metastasis and so on) were studied. **Results** In the tissues of patients with NSCLC, the positive expressing rate of LRP was 77.5%, and was not related with age, sex, smoking history, histological type, differentiation, distant metastasis, lymphatic metastasis ($P > 0.05$). In the platinum contained chemotherapy regimens, there were not statistical significant difference in RR, DCR, PFS, and OS between the LRP positive expression group and the LRP negative expression group (all $P > 0.05$). The positive expression rate of LRP in female patients (95.5%) was higher than that in male patients (71.6%; $P = 0.043$). The positive expression rate in the patient with distant metastasis (87.3%) was higher than that in the patients without distant metastasis (61.8%) ($P = 0.005$). **Conclusion** The positive expression of LRP is related to the diagnosis distant metastasis of NSCLC. The PFS, OS in LRP-positive patients are lower than those in LRP negative patients. These results suggest LRP may be an evaluating indicator of the prognosis of NSCLC.

[Key words] Non-small cell Lung Cancer (NSCLC); Lung resistance protein (LRP); Platinum; Drug resistance; Prognosis

肺癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占了肺癌总数的80%以上,每年全球约有120万新发病例,其中约30%~40%的患者诊断时已出现远处转移,2/3的患者已失去了最佳手术治疗时机,对于这些患者主要采取以化疗为主的综合治疗^[1,2]。目前以铂类药物为基础的化疗方案仍是NSCLC的最佳治疗方案^[3,4],但其在化疗过程中产生的耐药问题严重影响患者的化疗有效率及预后。既往有多项研究^[5,6]证明肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)与胃癌、卵巢癌的化疗耐药有一定的关联,但目前针对LRP与NSCLC临床关系的研究较少,本研究分析了89例晚期NSCLC患者病理组织中LRP基因的表达及其与含铂类化疗方案治疗的NSCLC患者的临床关系,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集广西医科大学第三附属医院肿瘤科2006~2011年收治的有病理组织学诊断的初治晚期NSCLC患者病理标本89例,每例患者至少有1个可测量病灶,化疗前均未接受任何治疗,每例患者至少接受2个周期的含铂类方案化疗,化疗结束后未接受其他抗肿瘤治疗。其中男性67例,女性22例;鳞癌46例,腺癌34例,腺鳞癌9例。TNM分期为ⅢA期15例,ⅢB期19例,Ⅳ期55例。所有的标本都是通过4%多聚甲醛液固定,然后由石蜡包埋。自确诊之日起,通过返院病例、门诊病历、电话随访每例患者的生存状态、复发及进展情况、复查情况及死亡病例的死亡原因(肺癌相关死亡或非相关死亡)和死亡时间。本组中80例有完整的随访资料,9例失访。

1.2 免疫组化实验方法 采用免疫组织化学SP法,取NSCLC石蜡包埋组织制成4 μm厚的切片,常规脱蜡、水化,用过氧化氢室温孵育5 min以灭活内源性过氧化物酶,然后微波修复抗原,再以血清封闭,滴加一抗(LRP鼠抗人单克隆抗体, MAB0319)4℃孵育过夜, PBS液冲洗,滴加二抗(福建迈新公司即用型快捷免疫组化Maxvision™鼠/兔-HRP广谱检测试剂盒),室温下孵育30 min,冲洗后再滴加SP溶液,室温下孵育30 min,冲洗后DAB显色,苏木素-伊红(HE)复染,封片,然后在光镜下观察。同时用已知的阳性切片在同条件下染色作为阳性对照,用PBS液代替一抗作为阴性对照。

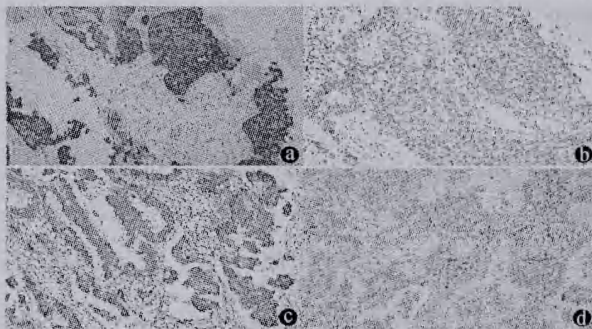
1.3 结果的判定 LRP阳性定位于细胞浆,做半定量分析,镜下观察各组免疫组化片进行综合评分。

阳性判断根据染色程度和免疫阳性细胞占肿瘤细胞总数百分比综合记分。按切片中癌细胞染色强度计分:0分细胞无显色;1分呈淡黄色;2分呈棕黄色;3分呈棕褐色(染色深浅需与背景着色相对比)。再按切片中阳性癌细胞数所占的百分比打分:0分为阴性,1分为阳性癌细胞≤10%;2分为11%~50%,3分为50%~75%,4分为75%以上。染色强度与阳性细胞百分比的乘积>3分判断免疫反应阳性。化疗疗效评价按1.1版RECIST标准进行判定^[7]。完全缓解(CR):全部病灶消失,至少维持4周;部分缓解(PR):肿瘤最大径总和缩小至少30%,至少维持4周;稳定(SD):介于PR和PD之间;进展(PD):肿瘤最大径总和增加超过20%,或出现新病灶。年龄以60岁为界限, TNM分期按NCCN2010版进行判定,客观有效率(RR)为CR+PR,疾病控制率(DCR)为CR+PR+SD;无疾病进展时间(PFS)为治疗开始至肿瘤复发或进展的时间;总生存时间(OS)为治疗开始至死亡或末次随访的时间。

1.4 统计学方法 应用SPSS16.0统计软件进行统计学分析。分析LRP表达与NSCLC使用含铂类方案化疗的有效率、缓解期及其他临床指标(年龄、性别、组织学类型、分化程度、原发灶范围、淋巴结转移情况、疾病分期)之间的关系。样本率的比较和关联性分析采用 χ^2 检验,样本量的比较采用 t 检验,等级资料比较采用秩和检验;采用Kaplan-Meier法计算生存率,用Log-Rank法进行差异显著性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LRP在NSCLC组织中的表达情况 SP法检测显示,LRP表达位于细胞浆,阳性表达表现为棕黄色颗粒染色。见图1。在本研究中LRP阳性表达者69例(77.5%)明显高于LRP阴性表达者20例(22.5%)。



①:肺鳞癌阳性;②:肺鳞癌阴性;③:肺腺癌阳性;④:肺腺癌阴性

图1 NSCLC组织中LRP的表达情况(SP, ×100)

2.2 LRP的表达与NSCLC患者化疗前临床病理特

征的关系 LRP 表达与年龄、吸烟史、组织类型、分化程度、淋巴结转移均无关($P > 0.05$);女性患者肿瘤组织 LRP 表达阳性率(95.5%)明显高于男性患者(71.6%),两组比较差异有统计学意义($P = 0.043$);在远处转移的患者中,LRP 阳性表达率为 87.3%,而无远处转移的患者 LRP 阳性表达率为 61.8%,两组差异有统计学意义($P = 0.005$)。见表 1。

表 1 NSCLC 患者各项临床病理特征与 LRP 表达的关系

临床特征	例数	LRP 蛋白表达		阳性率 (%)	χ^2	P
		阳性	阴性			
性别						
男	67	48	19	71.6	4.110	0.043
女	22	21	1	95.5		
年龄						
≥60 岁	34	24	10	70.6	1.521	0.217
<60 岁	55	45	10	81.8		
吸烟史						
吸烟者	39	29	10	74.4	0.400	0.527
非吸烟者	50	40	10	80.0		
分化程度						
低分化	78	58	20	74.4	3.055	0.184
中分化	9	9	0	100		
高分化	2	2	0	100		
远处转移						
M1	55	48	7	87.3	7.847	0.005
M0	34	21	13	61.8		
淋巴结转移						
N1 ~3	85	66	19	77.6	0.000	1.000
N0	4	3	1	75.0		
组织类型						
鳞癌	46	34	12	73.9	0.800	0.714
腺癌	34	28	6	82.4		
腺鳞癌	9	7	2	77.8		

2.3 LRP 表达与化疗疗效的关系 LRP 的表达阳性组与阴性组含铂类方案化疗的疗效比较差异无统计学意义($P = 0.980$),有效率($P = 0.771$)、疾病控制率($P = 0.586$)均无统计学意义。LRP 阳性表达的 61 例患者中,化疗有效率为 54.1% (33/61);LRP 阴性表达的 19 例患者中,化疗有效率为 57.9% (11/19)。LRP 阳性患者疾病控制率为 73.8% (45/61),阴性患者疾病控制率为 68.4% (13/19)。见表 2。

表 2 NSCLC 组织中不同 LRP 表达与含铂类方案化疗疗效的比较(n)

LRP	例数	CR	PR	SD	PD	RR (%)	DCR (%)
阳性	61	0	33	12	16	33(54.1)	45(73.8)
阴性	19	0	11	2	6	11(57.9)	13(68.4)
Z/χ^2	-		0.025			0.084	0.208
P	-		0.980			0.771	0.648

2.4 NSCLC 组织中 LRP 不同表达的患者生存情况 LRP 阳性患者 PFS 为(3.11 ± 3.71)个月,LRP 阴性患者 PFS 为(3.69 ± 4.09)个月,差异无统计学意义($P = 0.581$);LRP 阳性患者 OS 为(11.13 ± 8.91)个月,LRP 阴性患者 OS 为(13.52 ± 8.94)个月,差异无统计学意义($P = 0.326$)。见图 2。

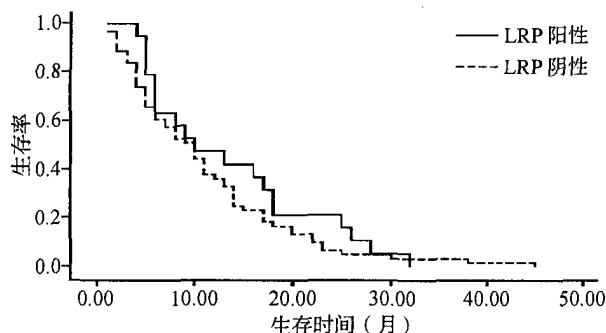


图 2 LRP 表达与 NSCLC 患者生存曲线的关系

3 讨论

3.1 LRP 是从人肺癌 MDR 的细胞株 SW 1573/2R 120 中克隆出来的新的基因,定位于染色体 16p13.1 ~ 16p11.2,其编码的基因为 2 688 bp,是含有 896 个氨基酸的蛋白质,相对分子质量为 110×10^3 [8]。作为人体的主要穹窿蛋白,广泛分布于细胞器上,是一种核糖蛋白复合物,其在 MDR (mult-drug resistance) 中发挥着重要作用,通过控制着许多药物在细胞核和细胞质间的双向转运而产生多药耐药。既往有研究发现 LRP 基因与多种化疗药物如顺铂、阿霉素、长春新碱、丝裂霉素等耐药有关,并主要介导癌细胞对顺铂的耐药 [9]。LRP 能够介导铂类及烷化剂等药物产生耐药 [10]。

3.2 宋晓荣等 [11] 应用肿瘤细胞体外培养和 MTT 法对 91 例未经化疗的 NSCLC 进行体外化疗药物敏感性测试,观察 NSCLC 分别对环磷酰胺、阿霉素、顺铂 + 氟尿嘧啶三种单药和联合用药方案耐药情况和总的耐药情况,并用免疫组织化学方法对其进行 LRP 表达的检测,并将其表达情况与对应的化疗耐药性进行相关分析。结果发现 NSCLC 存在着固有

的化疗耐药性,而且 LRP 的表达与 NSCLC 的耐药性呈明显的相关性并与表达程度呈正相关,提示 LRP 参与作用了 NSCLC 的固有的化疗耐药性。谢勉等^[12]通过免疫组化方法检测 43 例Ⅲ期 NSCLC 化疗前后肺癌标本 LRP 的表达,发现在化疗前后的成对标本中,化疗后肺癌标本 LRP 的表达明显高于化疗前,且 LRP 表达与化疗有效率呈负相关,表明Ⅲ期 NSCLC 化疗前 LRP 表达有助预测含铂方案新辅助化疗的疗效。本研究通过免疫组化 SP 法对 89 例晚期 NSCLC 患者病理组织进行 LRP 基因检测,发现 NSCLC 组织中 LRP 阳性表达率(77.5%)明显高于 LRP 阴性表达率(22.5%),研究结果显示 LRP 在 NSCLC 中有较高的阳性表达,与宋晓荣及谢勉研究结果相一致。同时本研究还发现,有远处转移组 LRP 的阳性表达率明显高于无远处转移组($P = 0.008$),女性 NSCLC 患者 LRP 的阳性表达率高于男性 NSCLC 患者($P = 0.049$)。LRP 阳性患者 PFS 为(3.11 ± 3.71)个月,LRP 阴性患者 PFS 为(3.69 ± 4.09)个月;LRP 阳性患者 OS 为(11.13 ± 8.91)个月,LRP 阴性患者 OS 为(13.52 ± 8.94)个月,差异虽无统计学意义,但 LRP 阳性表达患者 PFS 及 OS 均低于 LRP 阴性表达患者,提示 LRP 可能与化疗有效率呈负相关,与铂类耐药呈正相关。LRP 表达与 NSCLC 患者的年龄、有否吸烟史、组织分型、分化程度、淋巴结转移无关。

3.3 通过本研究,我们发现 LRP 基因的阳性表达与远处转移有关,且 LRP 阳性表达患者 PFS 及 OS 均低于 LRP 阴性表达患者,提示其可能作为判断预后指标,表明进一步证实 LRP 在铂类耐药中的作用对于提供逆转耐药靶点,提高 NSCLC 的化疗疗效及改善预后具有重要意义。LRP 的表达与含铂类化疗方案的有效率、疾病控制率虽无统计学意义,但仍需加大样本量进一步研究。

参考文献

- 1 Meschini S, Marra M, Calcabrini A, et al. Role of the lung resistance-correlated protein(LRP) in the drug sensitivity of cultured tumor cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2002, 16(4):389.
- 2 Ettinger DS, Bepler G, Bueno R, et al. Non-small cell lung cancer clinical practice guidelines in oncology[J]. *Nat'l Compr Canc Netw*, 2006, 4(6):548-582.
- 3 Ohe Y, Ohashi Y, Kubota K, et al. Randomized phaseⅢ study of cisplatin plus irinotecan versuscaroplatin plus paclitaxel, cisplatin plus vinorelbine for advanced non-small-cell lung cancer: Four-Arm Cooperative Study in Japan[J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(2):317-323.
- 4 Imaizumi M. Study Group of Adjuvant Chemotherapy for Lung Cancer (Chubu, Japan). Postoperative adjuvant cisplatin, vindesine, plus uracil-tegafur chemotherapy increased survival of patients with completely resected p-stage I non-small-cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2005, 49(1):85-94.
- 5 Hu WQ, Peng CW, Li Y. The expression and significance of P-glycoprotein, lung resistance protein and multidrug resistance-associated protein in gastric cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2009, 28:144.
- 6 Zhang J, Chen AP, Wang B. Correlations of EGFR and LRP to chemotherapy resistance and prognosis of ovarian cancer [J]. *Ai Zheng*, 2008, 27(12): 1331-1336.
- 7 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumour: Revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2):228-247.
- 8 张全安, 徐瀚峰. 非小细胞肺癌 LRP、c-erbB-2 蛋白表达与辅助化疗疗效相关性的研究[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2008, 27(6):451-453.
- 9 Jiao JW, Wen F. Tanshinone II A acts via P38 MAPK to induce apoptosis and the downregulation of ERCC1 and lung-resistance protein in cisplatin-resistant ovarian cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(3):781-788.
- 10 王俊先, 张开先, 王巧民, 等. COX-2 与 LRP 在胃癌组织中的表达及其意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 17(22):2312-2316.
- 11 宋晓荣, 姬明丽. LRP 的表达与非小细胞肺癌耐药性的关系[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2006, 27(4):393-395.
- 12 谢 勉, 何朝生. 非小细胞肺癌组织 LRP 和 p53 表达及其与新辅助化疗关系的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2008, 15(4):262-264.

[收稿日期 2013-08-13][本文编辑 黄晓红 韦 颖]

《中国临床新医学》杂志编辑部启事

为了加强与市、县医疗单位的交流与合作,提高广大业务技术人员医学论文的写作水平,《中国临床新医学》杂志编辑部的有关专家将分期分批赴各市、县医疗卫生单位进行“医学论文写作”、“医学文献检索”和“医学统计学应用”等有关方面的学术讲课。各医疗卫生单位如有这方面的需求,敬请与编辑部联系。联系电话:0771-2186013。

· 本刊编辑部 ·