

# 支气管肺癌患者血清和癌组织中瘦素水平的表达及临床意义

柴春艳<sup>1</sup>, 王甜<sup>1</sup>, 刘娅萍<sup>1</sup>, 徐邦强<sup>1</sup>, 赵媛<sup>1</sup>, 李雅莉<sup>2</sup>

(1. 陕西省人民医院西院一病区, 西安 710068; 2. 西安交通大学第二附属医院呼吸内科, 西安 710004)

**摘要:** 目的 研究瘦素 (Leptin) 在支气管肺癌患者血清和肺癌组织中的表达及临床意义。方法 118 例肺癌患者 (肺癌组) 和 24 例正常人 (对照组) 的血清 Leptin 水平采用酶联免疫法 (ELISA) 测定, 118 例手术切除的肺癌标本及 24 例正常肺组织中的 Leptin 表达情况采用免疫组织化学 SP 法检测。结果 肺癌组患者血清瘦素 ( $3.6 \pm 1.5 \mu\text{g/L}$ ) 水平显著高于对照组 ( $1.6 \pm 0.7 \mu\text{g/L}$ ), 差异有统计学意义 ( $t=3.485, P=0.002$ )。肺癌患者肺组织中瘦素表达的阳性率为 75.42% (89/118), 正常肺组织瘦素表达的阳性率为 25.0% (6/24), 两者比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。男性肺癌患者瘦素的表达阳性率为 95.0% (57/60), 女性为 55.17% (32/58), 两者相比差异有统计学意义 ( $t=25.237, P=0.000$ )。支气管肺癌患者的年龄、病理类型对 Leptin 表达阳性率的影响无显著性差异 ( $\chi^2=0.095, 0.013$ , 均  $P>0.05$ )。肺癌患者的组织分化程度、临床分期、有无淋巴结转移对 Leptin 表达阳性率的影响有显著性统计学差异 ( $\chi^2=7.249, P<0.05$ )。吸烟指数  $\geq 400$  的肺癌患者瘦素表达阳性率 68.54% (61/89), 吸烟指数  $< 400$  的患者为 31.46% (28/89), 两者相比差异有统计学意义 ( $\chi^2=12.44, P=0.000$ )。结论 肺癌患者的血清 Leptin 水平显著高于正常人的血清 Leptin 水平。支气管肺癌组织中 Leptin 蛋白高表达, Leptin 的表达与肺癌患者的年龄、病理类型无关, 与肺癌患者性别、组织的分化程度、临床分期、有无淋巴结转移、吸烟指数密切相关。

**关键词:** 肺肿瘤; 免疫组织化学; 瘦素; 蛋白表达

中图分类号: R734.2; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-018-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.005

## Expression and Clinical Significance of Leptin in Serum and Cancer Tissues of Patients with Bronchial Lung Cancer

CHAI Chun-yan<sup>1</sup>, WANG Tian<sup>1</sup>, Liu Ya-ping<sup>1</sup>, XU Bang-qiang<sup>1</sup>, ZHAO Yuan<sup>1</sup>, LI Ya-li<sup>2</sup>

(1. Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China; 2. Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

**Abstract: Objective** To study the expression and clinical significance of leptin in the serum and lung cancer tissues of patients with bronchial lung cancer. **Methods** Serum leptin levels in 118 patients with lung cancer (lung cancer group) and 24 normal persons (control group) were measured by radioimmunoassay (ELISA). The expression of leptin in 118 paraffin specimens of surgically removed lung cancer and 24 normal lung tissues Immunohistochemical SP method. **Results** The level of serum leptin ( $3.6 \pm 1.5 \mu\text{g/L}$ ) in patients with lung cancer was significantly higher than that in control group ( $1.6 \pm 0.7 \mu\text{g/L}$ ), and the difference was statistically significant ( $t=3.485, P=0.002$ ). The positive rate of leptin expression in lung tissue of patients with lung cancer was 75.42% (89/118) and 25.0% (6/24) in normal lung tissue, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The positive rate of leptin expression in male lung cancer patients was 95.0% (57/60) and 55.17% (32/58) in females, and there was significant difference between the two groups ( $t=25.237, P=0.000$ ). The age and pathological type of patients with bronchial lung cancer had no significant statistical difference in the positive rate of Leptin expression ( $\chi^2=0.095, 0.013$ , all  $P>0.05$ ). The degree of tissue differentiation, clinical stage, and presence or absence of lymph node metastasis in lung cancer patients had significant statistics on the positive rate of leptin expression academic difference ( $\chi^2=7.249, P<0.05$ ). The positive rate of leptin expression in lung cancer patients with smoking index  $\geq 400$  was 68.54% (61/89), and that in patients with smoking index  $< 400$  was 31.46% (28/89). The difference between the two was statistically significant ( $\chi^2=12.44, P=0.000$ ). **Conclusion** The level of serum leptin in patients with lung cancer was significantly higher than that in normal people. Leptin protein was highly expressed in bronchial lung cancer tissues. The expression of leptin had nothing to do with the age and pathological type of lung cancer patients, and was closely related to gender, tissue differentiation degree, clinical stage, lymph

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (项目编号: 2020SF100); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (项目编号: 2018JM3035)。

作者简介: 柴春艳 (1982-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 肺癌的早期诊断及治疗, E-mail: swallowchai3412@163.com。

通讯作者: 赵媛 (1973-), 女, 博士, 主任医师, 研究方向: 老年内分泌代谢性疾病的诊治, E-mail: 383638940@qq.com。

node metastasis, and smoking index of lung cancer patients.

**Keywords:** lung tumor; immunohistochemistry; leptin gene; protein

近年来,肺癌的发病率与死亡率呈上升趋势,有研究证实随着体重指数升高,肺癌发生率、死亡率显著增高。瘦素(Leptin)是人类1994年发现的由肥胖基因编码的多功能肽类激素,传递肥胖信号到大脑,参与动物繁殖、造血和血管生成等重要生理过程<sup>[1]</sup>。Leptin参与调节能量代谢,在调控饮食、平衡机体能量等过程中发挥重要作用,和恶性肿瘤导致的营养不良存在显著的联系,可作为评估肿瘤患者整体状况和预后的一个新指标<sup>[2]</sup>。有研究发现<sup>[3-4]</sup>,Leptin是一种新的促肿瘤生长因子,能激活肿瘤细胞的分化增殖,增强肿瘤细胞的侵袭力。本研究通过检测肺癌患者血清及肺癌组织中Leptin的表达,证实Leptin在肺癌发生发展中可能的作用及临床意义,为肺癌的早期诊断、基因靶向治疗、预后评估提供一定的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 选取陕西省人民医院支气管肺癌标本118例,均为2012~2019年手术切除并经病理证实的标本,24例癌旁正常肺组织。男性支气管肺癌患者60例,女性支气管肺癌患者58例。依据WHO肺癌的分型标准进行组织学分类:鳞癌43例,腺癌45例,小细胞肺癌30例。依据2015年国际肺癌研究学会(International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC)标准分期:I期28例,II期30例,III期32例,IV期28例。有肺门和(或)纵隔淋巴结转移及远处转移(简称转移)70例,无淋巴结转移48例。

**1.2 仪器与试剂** 血清Leptin应用酶联免疫法(ELISA),采用Phoenix Pharmaceuticals Inc试剂盒;免疫组化SP法采用鼠抗人Leptin单克隆抗体及SP染色试剂盒均购于西安腾智医学诊断试剂有限公司。

### 1.3 检测方法

**1.3.1 所有病例均禁食12h后**,抽取清晨空腹静脉血5ml,分离血清-20℃保存待测。血清标本在检测前室温复融,为消除批间差异,实验为一次性完成。血清Leptin严格按试剂盒说明进行操作。

**1.3.2 支气管肺癌组织中Leptin的表达** 采用免疫组化SP法检测,用已知阳性切片作阳性对照,PBS代替一抗作阴性对照。

**1.3.3 结果判定** 在肺癌组织中,Leptin主要表达在肿瘤细胞的胞浆中,出现明显的棕黄色颗粒判定为阳性细胞,每张切片连续观察,选取5个高倍视野,在每个高倍视野计数1000个癌细胞,观察阳性细胞染色强度,计数阳性细胞百分数。由2位病理科医师采用双盲法判定阳性细胞和阴性细胞。

**1.4 统计学分析** 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析,采用Pearson  $\chi^2$  检验、Fisher's 精确检验、成组配对 *t* 检验比较不同临床特征、病理类型等的免疫组化阳性比例。 $P < 0.05$  判定为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Leptin在肺癌患者血清中的表达** 见表1。Leptin在肺癌组患者血清中的浓度为 $3.6 \pm 1.5 \mu\text{g/L}$ ,明显高于对照组( $1.6 \pm 0.7 \mu\text{g/L}$ ),差异有统计学意义( $t=3.485, P=0.002$ ),两组营养状况参数比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表1 两组血清Leptin及营养状况参数的比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组	肺癌组	<i>t</i>	<i>P</i>
瘦素( $\mu\text{g/L}$ )	$1.6 \pm 0.7$	$3.6 \pm 1.5$	3.485	0.002
体重指数( $\text{Kg/m}^2$ )	$20.1 \pm 2.8$	$18.3 \pm 1.5$	0.853	0.400
ALB( $\text{g/L}$ )	$40.0 \pm 2.2$	$38.6 \pm 2.1$	0.686	0.500
TSF(mm)	$9.5 \pm 1.6$	$7.3 \pm 1.5$	1.321	0.200

### 2.2 Leptin在肺癌组织中的表达

**2.2.1 Leptin表达阳性率** Leptin表达主要位于肿瘤细胞的胞浆中,阳性产物呈棕黄色弥漫分布。在118例肺癌患者中Leptin的表达阳性率为75.42%(89/118),在癌旁正常肺组织Leptin表达阳性率为25.00%(6/24),两组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.2.2 Leptin蛋白表达与支气管肺癌一般临床特征的关系** 见表2。Leptin在60例男性患者中阳性表达率为95.00%(57/60),在58例女性患者中阳性表达率为55.17%(32/58),两者相比差异有统计学意义( $\chi^2=25.237, P < 0.05$ )。提示支气管肺癌患者性别对Leptin蛋白表达的影响具有统计学意义,产生此现象的原因可能与吸烟指数有关,本研究证实Leptin在吸烟指数 $\geq 400$ 的患者中高表达,可作为Leptin与其他理化因素协同致癌的有力证据。随着肺癌患者分化程度的降低,Leptin蛋白表达阳性率随之升高,差异有统计学意义,I+II期与III+IV期肺癌患者中Leptin表达阳性率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。在有淋巴结转移的肺癌患者中Leptin蛋白表达阳性率高于无淋巴结转移的患者,差异有统计学意义( $\chi^2=9.831, P=0.002$ )。本研究证实Leptin表达与支气管肺癌患者分化程度、临床分期、有无淋巴结转移密切相关,可作为评估肺癌预后的指标。研究证实Leptin蛋白表达与支气管肺癌患者的年龄、病理类型无明显关系,差异无统计学意义。

表2 Leptin 蛋白表达与支气管肺癌临床基本特征及病理、TMN 分期期间的关系

类别	n	阳性例数	阳性率(%)	$\chi^2$	P	
年龄(岁)	≤ 60	50	37	74.00	0.095	0.758
	> 60	68	52	76.47		
性别	男性	60	57	95.00	25.237	0.000
	女性	58	32	55.17		
组织类型	鳞癌	43	33	76.74	0.013	0.908
	腺癌	45	35	77.78		
	小细胞癌	30	21	70.00		
分化	高分化	37	20	54.05	7.249	0.007
	中分化	40	33	82.50		
	低分化	41	36	87.80		
TNM分期	I期	28	18	64.29	0.312	0.577
	II期	30	19	63.33		
	III期	32	27	84.38		
	IV期	28	25	89.29		
淋巴结转移	无	48	29	60.42	9.831	0.002
	有	70	60	85.71		
吸烟指数	≥ 400	70	61	87.14	12.44	0.000
	< 400	48	28	58.33		

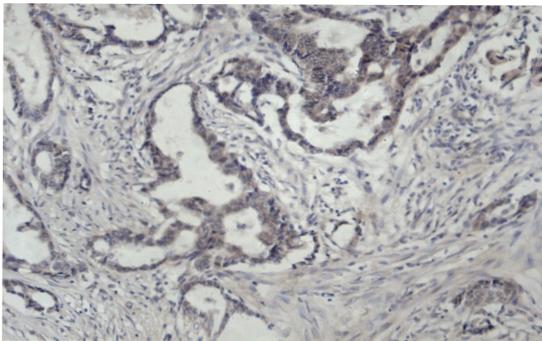


图1 Leptin 在腺癌中阳性表达 SP × 200

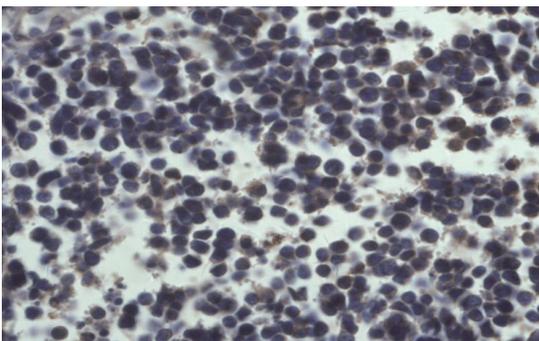


图2 Leptin 蛋白在小细胞癌阳性表达 SP × 400

### 3 讨论

Leptin<sup>[5]</sup>是含146个氨基酸的肽类激素,由位于7q31.3的肥胖基因编码。瘦素作为一种肽类激

素,它的生物学效应是由瘦素受体介导的。Leptin mRNA作为细胞因子,在下丘脑、肺、肝脏、肾脏、卵巢、胎盘、骨骼肌等组织中表达。Leptin反映的靶器官是胎儿和成人肺组织,Leptin参与促进胎儿肺发育和成熟,并维持肺功能处于稳态,在成人肺泡细胞的生理性和病理性增殖中发挥作用<sup>[6]</sup>。Leptin-LepR系统作为内分泌腺可以促进良、恶性肿瘤上皮细胞内的血管生成,体外实验发现<sup>[7]</sup>,Leptin受体在动物和人细胞系中的高表达促使肿瘤细胞增殖。越来越多的研究证明Leptin-LepR系统参与了肺癌的发生、进展和免疫应答过程。

Leptin诱导肺癌细胞抵抗凋亡的机制:

①Leptin通过抑制CCAAT/增强子结合蛋白的激活,降低了磷酸化的蛋白激酶R样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase,PERK)和活化转录因子6(activating transcription factor 6,ATF6)的信号通路活性,从而阻断内质网应激所介导的凋亡,激活肿瘤细胞增殖<sup>[8]</sup>。②肺癌患者体内Leptin-LepR系统激活后,血管内皮细胞生长因子(VEGF)表达上调,或直接作用于血管内皮细胞,肺癌患者的血管内皮细胞增殖和血管的重塑被激活,肺癌的浸润和转移增加<sup>[9]</sup>。③促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)、细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of

rapamycin,mTOR) Akt/mTOR 等信号通路的活化进一步促进 Leptin 表达<sup>[10]</sup>。有研究证实<sup>[11]</sup>, Akt, mTOR 等磷酸化在肺癌组织中表达明显增高, 血管内皮生长因子、Akt 和 mTOR 基因的 mRNA 表达水平在肺癌组织中也较癌旁肺组织明显升高, 在肺癌组织中 Leptin 特异性高表达的特性, 在肿瘤的基因诊断及靶向治疗中具有潜在的应用价值<sup>[12]</sup>。本实验结果显示, 在肺癌组织中 Leptin 表达阳性率显著高于癌旁组织, 也进一步印证了这一观点。

本研究证实肺癌患者血清 Leptin 明显高于对照组, 差异有统计学意义, 提示肺癌患者体内存在显著的能量消耗、脂肪分解。这与 WERYNSKA 等<sup>[13]</sup>研究结果一致, 认为肿瘤患者出现食欲减退、恶病质等消耗症状与多种炎性细胞因子诱导 Leptin 生成增加有关, 即“细胞因子-瘦素”学说。但陶晓南等<sup>[14]</sup>研究结果却显示肺癌患者组的血清 Leptin 水平低于对照组, 造成研究结果不一致的原因可能是入组患者临床资料差异性, 及晚期肺癌患者处于恶病质状态后的 Leptin 水平调节突破了正常的生理范围, 肺癌并发恶病质的患者体内 Leptin 水平调节具体机制尚需进一步研究探索。

支气管肺癌患者临床病理参数与 Leptin 表达之间的关系目前仍存在争议, 本研究显示支气管肺癌患者的年龄、病理类型与 Leptin 表达无关, 性别与 Leptin 表达显著相关。肺癌患者的分化程度、临床分期、有淋巴结转移与 Leptin 表达有关, 这与冯和林<sup>[15]</sup>等的研究结论一致, 说明 Leptin 参与了肺癌的进展过程, 可以作为评价肺癌预后的指标之一。

本研究结果证实, 支气管肺癌患者伴有淋巴结转移 Leptin 表达率明显高于无淋巴结转移者, 说明淋巴结作为局部免疫器官, 在支气管肺癌的转移中发挥了重要作用。Leptin 表达在重度吸烟患者中明显高于不吸烟或少量吸烟者, 提示 Leptin 可能是吸烟致癌的重要分子标志之一, 而长期密切接触烟草可能是启动 Leptin 高表达的重要物理因素之一, 这在国内研究领域尚未涉及。

支气管肺癌的早期症状大多不典型, 放化疗的临床效果差, 因此早期诊断及治疗一直是个难题, 考虑到“Leptin-Leptin 受体系统”在肺癌发生、进展均发挥重要作用, 烟草等外界理化因素可能导致其过表达而参与肿瘤的发生发展, 可以为肿瘤的早期诊断和治疗提供新思路和新途径。目前 Leptin-LepR 系统在肿瘤局部微环境中发挥作用的机制尚未完全阐明, 进一步探讨肺癌患者 Leptin 表达对肿瘤微环境调节的机制, 有利于发现并逆转肿瘤细胞免疫逃逸, 发现杀伤肿瘤细胞更高效的治疗方法。

## 参考文献:

- [1] 胡森安, 艾红红, 严丽花, 等. 维生素 D 及日照量对单纯性肥胖儿童血清瘦素水平影响的研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6): 143-146.  
HU Senan, AI Honghong, YAN Lihua, et al. Effect of vitamin D and sunlight on serum leptin levels in simple obese children[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6): 143-146.
- [2] RODRIGUES P R, MAIA L L, SANTOS M, et al. Leptin receptor expression and Gln223Arg polymorphism as prognostic markers in oral and oropharyngeal cancer[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 14979-14988.
- [3] NTIKOU DI E, KIAGIA M, BOURA P, et al. Hormones of adipose tissue and their biologic role in lung cancer[J]. Cancer Treatment Reviews, 2014, 40(1): 22-30.
- [4] FENG Helin, LIU Qingyi, ZHANG Ning, et al. Leptin promotes metastasis by inducing an epithelial-mesenchymal transition in A549 lung cancer cells[J]. Oncology Research, 2013, 21(3): 165-171.
- [5] RAGHU A, TAN B K, RANDEVA H S. Differential effects of leptin and adiponectin in endothelial angiogenesis[J]. Journal of Diabetes Research, 2015, 2015: 648239.
- [6] VAN DEN BORST B, SOUREN N Y P, LOOS R J F, et al. Genetics of maximally attained lung function: a role for leptin[J]. Respir Med, 2012, 106(2): 235-242.
- [7] LEE S M, CHOI H J, OH C H, et al. Leptin increases TNF- $\alpha$  expression and production through phospholipase D1 in raw 264.7 cells[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e102373.
- [8] 李明安, 司丽媛, 吴红波, 等. 哮喘患儿外周血单个核细胞瘦素及 Foxp3 的表达 [J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(4): 58-61, 64.  
LI Mingan, SI Liyuan, WU Hongbo, et al. Expression of leptin and Foxp3 in peripheral blood mononuclear cells in children with bronchial asthma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(4): 58-61, 64.
- [9] 胡森安, 艾红红, 梁惠霞, 等. 早发冠心病患者红细胞分布宽度与血清瘦素水平及其相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 91-94.  
HU Senan, AI Honghong, LIANG Huixia, et al. Analysis of the relationship between red blood cell distribution width and serum leptin level in patients with premature coronary artery disease[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(1): 91-94.
- [10] PATHAK R R, GROVER A, MALANEY P, et al. Loss of tumor suppressor PTEN induces leptin mediated leptin gene expression, A feed-forward loop operating in the lung[J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(41): 29821-29835.
- [11] WANG Wei, YAN Haicheng, DOU Changwu, et al. Human leptin triggers proliferation of A549 cells via blocking endoplasmic reticulum stress-related apoptosis[J]. Biochemistry, 2013, 78(12): 1333-1341.