

IGF-1 在胃癌组织中的表达及其与浸润转移的关系

罗祖炎, 李博, 徐文娟, 赵仲生
(浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014)

摘要: [目的] 探讨胃癌中 IGF-1 蛋白的表达及其与肿瘤浸润转移的关系。 [方法] 免疫组织化学技术分析 436 例胃癌组织及 92 例邻近正常胃黏膜组织石蜡标本中 IGF-1 的表达。 [结果] IGF-1 在正常胃黏膜组织的表达低于胃癌组织 (0 vs 49.5%, $\chi^2=77.132, P<0.001$); IGF-1 表达与胃癌患者肿瘤大小、分化、侵犯深度、分期、淋巴结转移、远处转移、脉管侵犯、Lauren 分型相关, 而与组织学类型、性别无关。胃癌患者中肿瘤大小 $\geq 5\text{cm}$ 患者的 IGF-1 阳性表达率为 64.4%, 明显高于 $<5\text{cm}$ 的患者 (39.1%, $\chi^2=27.238, P<0.001$); 弥漫型胃癌患者 IGF-1 的阳性表达率明显高于肠型患者 (85.0% vs 15.7%, $\chi^2=209.184, P<0.001$); T_3 、 T_4 期胃癌患者的 IGF-1 阳性表达率分别为 62.7%、92.3%, 明显高于 T_1 、 T_2 期的 10.5%、30.3% ($\chi^2=86.830, P<0.001$); 脉管侵犯患者的 IGF-1 阳性表达率明显高于无脉管侵犯者 (71.5% vs 19.1%, $\chi^2=116.710, P<0.001$); 淋巴结转移患者的 IGF-1 阳性表达率为 70.0%, 明显高于无淋巴结转移者 (16.3%, $\chi^2=118.740, P<0.001$); 远处转移患者的 IGF-1 阳性表达率为 95.1%, 明显高于无远处转移者 (42.1%, $\chi^2=58.841, P<0.001$)。 [结论] IGF-1 与胃癌的发生发展有关, 参与胃癌的浸润转移进程。检测 IGF-1 的表达可作为判断胃癌生物学行为的重要参考指标。

关键词: 胃肿瘤; 肿瘤浸润; 肿瘤转移; 胰岛素样生长因子-1

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)04-0254-05

Expression of IGF-1 in Gastric Cancer and Its Relationship with Cancer Invasion and Metastasis

LUO Zu-yan, LI Bo, XU Wen-juan, et al.
(Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of IGF-1 and its relationship with invasion and metastasis in gastric cancer. [Methods] IGF-1 expression in sample tissues of 436 cases with gastric cancer and 92 cases of cancer adjacent gastric mucosa was detected immunohistochemically. [Results] IGF-1 expression in cancer adjacent gastric mucosa was significantly lower than that in gastric cancer tissues (0 vs 49.5%, $\chi^2=77.132, P<0.001$). IGF-1 expression was related to tumor size, differentiation, depth of invasion, stage, lymph node metastasis, distant metastasis, vascular invasion, Lauren classification of gastric cancer, except the histologic type and gender. IGF-1 positive expression rate in gastric cancer patients with tumor size $\geq 5\text{cm}$ (64.4%) increased significantly than that in patients with tumor size $<5\text{cm}$ (39.1%, $\chi^2=27.238, P<0.001$). IGF-1 positive expression rate in patients with diffusing type cancer (85.0%) increased significantly than that in intestinal-type cancer (15.7%, $\chi^2=209.184, P<0.001$). IGF-1 positive expression rate in patients stage T_3 and T_4 (62.7% and 92.3%) increased significantly than that in T_1 and T_2 stage patients (10.5% and 30.3%, $\chi^2=86.830, P<0.001$). IGF-1 positive expression rate in patients with vascular invasion (71.5%) increased significantly than that in patients without vascular invasion (19.1%, $\chi^2=116.710, P<0.001$). IGF-1 positive expression rate in patients with lymph node metastasis (70.0%) increased significantly than that in patients without lymph node metastasis (16.3%, $\chi^2=118.740, P<0.001$). IGF-1 positive expression rate in patients with distant metastasis (95.1%) increased significantly than that in patients without distant metastasis (42.1%, $\chi^2=58.841, P<0.001$). [Conclusion] IGF-1 relates to the carcinogenesis of gastric cancer, and involves in the process of invasion and metastasis of gastric cancer. IGF-1 expression could be used as an important reference indicator for biological behavior for gastric cancer.

Subject words: gastric neoplasms; neoplasm invasion; neoplasm metastasis; insulin-like growth factor-1

胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factors-

1, IGF-1) 是 1957 年由 Daughudy 首先发现的, 因其结构与胰岛素类似而得名, 也被称为生长激素介质 (somatomedins, SM)。研究发现, IGF-1 是一种神经营

基金项目: 国家卫生公益性行业专项经费资助 (200802112)
收稿日期: 2012-01-11; 修回日期: 2012-03-01

养因子,能够促进雪旺细胞增殖和存活,抑制其凋亡,促进神经损伤后的轴突再生和髓鞘化,参与神经元的保护,抑制失神经肌肉萎缩,在神经系统中有重要的营养保护作用^[1]。IGF-1通过丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)途径和磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)途径促进肿瘤细胞的增殖、存活及迁移,并抑制细胞凋亡。我们采用免疫组化方法分析IGF-1蛋白的表达与胃癌浸润转移的关系,为临床胃癌的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源

标本来自浙江省人民医院1998年1月~2004年12月期间资料完整的436例胃癌患者病例,所有病例均经病理学证实,术前未经任何治疗。并取同期距癌边缘5cm以上的邻近无增生或不典型增生的正常胃黏膜92例作对照组。

1.2 实验方法

1.2.1 切片制作

切片后60℃烘箱中烘烤120min或过夜;二甲苯15min×2次;100%×3次、95%×2次、80%×1次、75%×1次酒精各5min;蒸馏水冲洗5min×1次;0.01mol/L、pH7.4 PBS洗5min×2次。

1.2.2 免疫组织化学SP法染色

枸橼酸盐缓冲液(0.01mol/L、pH6.0)高压修复3min,自然冷却后,PBS冲洗5min×3次;3% H₂O₂中室温下避光孵育15min,PBS冲洗5min×3次;山羊血清工作液室温下孵育10min;倾去血清,直接滴加一抗工作液(IGF-1稀释比1:50),4℃过夜。PBS冲洗3min×3次;滴加广谱二抗试剂,室温孵育30min。PBS冲洗3min×3次;DAB光镜下控制显色、自来水充分冲洗;苏木素复染,盐酸酒精分化;切片脱水、透明、封片:将上述切片依次经85%酒精2~5min;95%酒精2~5min;100%酒精5min×2次;二甲苯10min×2次;中性树胶封片,光镜下观察结果。

1.2.3 免疫组化染色结果判定

以细胞质出现棕黄色颗粒为阳性,根据染色程度和染色细胞百分率进行评定和分析:基本不着色者为0分,着色淡者为1分,着色适中者为2分,着

色深者为3分;着色细胞占计数细胞的百分率≤5%计0分,6%~25%计1分,26%~50%计2分;≥51%计3分。将每张切片的染色程度与染色细胞百分率得分相乘,其乘积为最后得分。0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~6分为中等阳性(++),>6分为强阳性(+++)。以++~+++表达为阳性表达,-/+为阴性表达。

1.3 统计学处理

数据采用SPSS16.0进行分析,各组间的IGF-1阳性表达率比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF-1在正常胃黏膜组织和胃癌组织中的表达

在92例正常胃黏膜组织中,IGF-1蛋白阳性信号分布于胃小凹表层上皮及固有膜腺体的胞质内,无弱阳性表达,均为阴性表达(图1)。

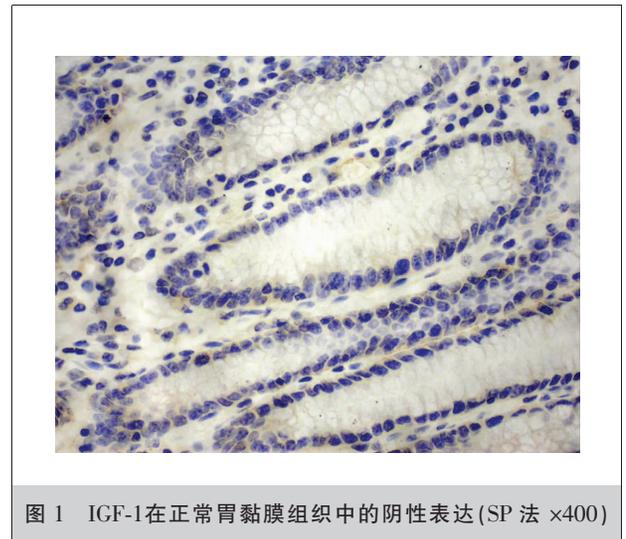


图1 IGF-1在正常胃黏膜组织中的阴性表达(SP法×400)

胃癌IGF-1表达阳性颗粒主要位于肿瘤细胞的胞质中(图2)。在436例胃癌组织中,IGF-1蛋白强阳性(图3、4)表达117例,占26.8%(117/436);中等阳性表达99例,占22.7%(99/436);弱阳性168例(38.5%);阴性52例(11.9%)。在胃癌组织中IGF-1的阳性率为49.5%(216/436)。IGF-1在正常胃黏膜组织和胃癌组织中的表达差异有统计学意义(0 vs 49.5%, $\chi^2=77.132$, $P=0.000$)。

2.2 IGF-1蛋白表达与胃癌病理学指标间的关系

IGF-1 蛋白表达与胃癌病理学指标间的关系见表 1。可见,胃癌患者中肿瘤大小 $\geq 5\text{cm}$ 的 IGF-1 阳性表达率为 64.4%, 明显高于 $< 5\text{cm}$ 患者的 39.1% ($\chi^2=27.238, P<0.001$); 弥漫型胃癌患者 IGF-1 的阳性表达率明显高于肠型患者 (85.0% vs 15.7%, $\chi^2=$

209.184, $P<0.001$); T_3 、 T_4 期胃癌患者的 IGF-1 阳性表达率分别为 62.7%、92.3%, 明显高于 T_1 、 T_2 期的 10.5%、30.3% ($\chi^2=86.830, P<0.001$); 脉管侵犯患者的阳性表达率明显高于无脉管侵犯者 (71.5% vs 19.1%, $\chi^2=116.710, P<0.001$); 淋巴结转移患者的阳性表达率为 70.0%, 明显高于无淋巴结转移者

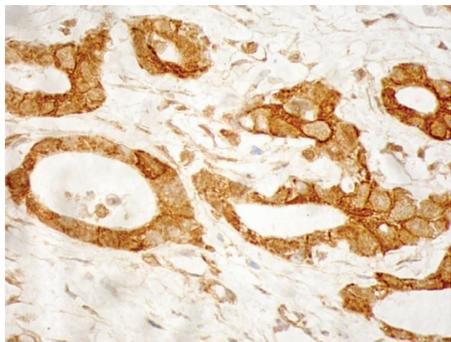


图 2 IGF-1 在胃中分化腺癌中的强阳性表达 (SP 法 $\times 400$)

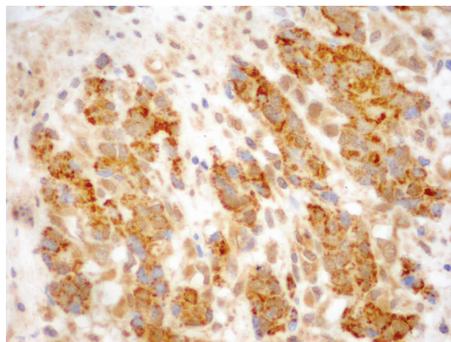


图 3 IGF-1 在胃低分化腺癌中的强阳性表达 (SP 法 $\times 400$)

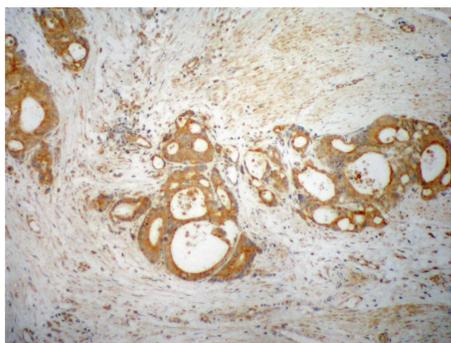


图 4 IGF-1 在胃中分化腺癌中的强阳性表达 (SP 法 $\times 100$)

表 1 IGF-1在胃癌组织中的表达及与胃癌病理指标间的关系

临床病理特征	例数	IGF-1 表达		阳性率 (%)	χ^2	P
		阴性	阳性			
性别						
男性	311	157	154	49.5	0.000	0.988
女性	125	63	62	49.6		
肿瘤大小(cm)					27.238	<0.001
< 5	256	156	100	39.1		
≥ 5	180	64	116	64.4		
Lauren 分型					209.184	<0.001
肠型	223	188	35	15.7		
弥漫型	213	32	181	85.0		
组织学分型					4.825	0.185
乳头状腺癌	16	6	10	62.5		
管状腺癌	326	173	153	46.9		
黏液腺癌	29	15	14	48.3		
印戒细胞癌	65	26	39	60.0		
组织分化					6.135	0.105
高	13	10	3	23.1		
中	128	66	62	48.4		
低	293	142	151	51.5		
其他	2	2	0	0.0		
侵犯深度					86.830	<0.001
T_1	57	51	6	10.5		
T_2	109	76	33	30.3		
T_3	244	91	153	62.7		
T_4	26	2	24	92.3		
分期*					197.321	<0.001
I	90	82	8	8.9		
II	104	86	18	17.3		
III	173	50	123	71.1		
IV	69	2	67	97.1		
脉管侵犯					116.710	<0.001
无	183	148	35	19.1		
有	253	72	181	71.5		
淋巴结转移					118.740	<0.001
无	166	139	27	16.3		
有	270	81	189	70.0		
远处转移					58.841	<0.001
无	375	217	158	42.1		
有	61	3	58	95.1		

*:分期根据 WHO 2002 年 TNM 分期标准

(16.3%, $\chi^2=118.740, P<0.001$); 远处转移患者的阳性表达率为 95.1%, 明显高于无远处转移者(42.1%, $\chi^2=58.841, P<0.001$); III 期、IV 期患者的阳性表达率分别为 71.1%、97.1%, 明显高于 I 期、II 期的 8.9%、17.3% ($\chi^2=197.321, P<0.001$)。

3 讨论

IGF-1 是由 70 个氨基酸组成的单链多肽, 主要由肝脏合成和分泌, 具有强烈促有丝分裂效应, 既可刺激细胞增殖、分化成熟, 又能抑制细胞凋亡。IGF-1 通过细胞周期中增加 DNA 的合成, 上调周期素 D1 (cyclin D1) 的表达, 从而加速细胞周期中 $G_1 \rightarrow S$ 期过程^[2]; 同时 IGF-1 还切断细胞凋亡的途径, 并促进细胞增殖。目前研究 IGF-1 抗细胞凋亡的机制为: ①PI3K/Akt 信号途径, IGF-1 通过激活由 PI3K 及其下游的 Akt 介导的信号通路阻止细胞凋亡, 维持细胞存活^[3]。②MAPK 信号途径, 大量研究证明 IGF-1 活化 MAPK 信号转到细胞核, 调控基因转录系统, 抑制细胞凋亡通路^[4]。③联合 Bcl-2 蛋白家族产生抑制细胞凋亡, Akt 能协调 Bcl-2 蛋白 (即 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 原癌基因) 的表达和增强其活性, IGF-1 通过该路径阻止了线粒体膜的去极化和细胞色素 C 的释放^[5]。④下调抑癌蛋白 p53, Akt 使 Ser196 磷酸化, 直接阻止了 caspase-9 (天冬氨酸残基特异性半胱氨酸蛋白酶-9) 活化抑制凋亡 IGF-1 依赖 PI3K 途径, 通过激活 NF- κ B 转录因子, 下调抑癌蛋白 p53 而实现抗凋亡作用^[6]。IGF-1 也可以明显提高肿瘤细胞 VEGF 的浓度, 促进肿瘤血管的形成。同时研究也表明大多数肿瘤细胞都需 IGF-1 来维持其增殖和生长。IGF-1 对前列腺癌、绝经前妇女乳腺癌、肺癌及食管癌等^[7]肿瘤细胞系均有强丝裂原效应。

何晶晶等^[8]对 104 例结肠直肠癌患者的研究表明, 癌组织中 IGF-1 表达的阳性率显著高于癌旁组织及正常组织。胡俊峰等^[9]收集 20 例正常乳腺组织、20 例乳腺良性肿瘤和 86 例乳腺癌组织石蜡切片, 通过免疫组化的方法检测 IGF-1R 的表达, 结果显示乳腺恶性肿瘤的 IGF-1R 的阳性率及表达率明显高于乳腺良性肿瘤 ($\chi^2=10.512, P=0.001$), 同样也高于正常乳腺组织 ($\chi^2=29.341, P<0.05$); IGF-1R 在伴淋巴结转移的乳腺癌中的表达明显高于无淋巴结转移的乳腺

癌 ($\chi^2=4.241, P=0.120$); IGF-1R 的表达与患者年龄、绝经情况、肿瘤大小、ER 和 PR 表达情况、临床分期、病理类型无明显相关性。曾敬等^[10]应用免疫组化法检测 57 例不同病理级别人胶质瘤组织中 IGF-1、IGF-1R 表达, 并分析 IGF-1、IGF-1R 表达、病理分级以及患者生存时间之间的相关性。结果显示不同级别胶质瘤 IGF-1、IGF-1R 表达水平不同, 高级别(III、IV 级)与低级别(I、II 级)胶质瘤之间 IGF-1、IGF-1R 表达水平的差异有统计学意义, 且 IGF-1、IGF-1R 表达水平与患者术后生存时间呈负相关性。吴晓宇等^[11]分析 87 例直肠癌患者, 应用免疫组织化学和逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测直肠癌放疗前活检标本及相应的术后标本中 IGF-1R 蛋白和 mRNA 的表达, 结果显示与放疗前活检标本相比, 配对的放疗后标本中残留的直肠癌肿瘤细胞中 IGF-1R 表达水平明显升高 ($P<0.001$)。放疗前直肠癌活检标本中 IGF-1R 蛋白强表达与放疗耐受有显著相关性 ($r=0.401, P<0.001$); RT-PCR 结果同样显示, IGF-1R mRNA 阴性表达者具有更高的放疗敏感性 ($r=0.497, P<0.001$)。众多研究表明 IGF-1 在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用。我们通过免疫组化研究发现: 胃癌组织中 IGF-1 蛋白的表达水平与患者的肿瘤大小、Lauren 分型、浸润深度、脉管侵犯、淋巴结转移、远处转移及肿瘤分期显著相关 ($P<0.05$)。IGF-1 高表达组肿瘤浸润较深, 较易侵犯血管, 而且也较易发生淋巴结转移及远处转移, 与低表达组相比, 差异有显著统计学意义。从 TNM 分期看, IGF-1 高表达组多为 III、IV 期, 而低表达组则多处于 I、II 期, 这些结果提示 IGF-1 的升高表达可促进肿瘤的生长、侵袭及转移。

综上, IGF-1 在肿瘤的发病及恶化进展过程中发挥一定的作用, 可能是一个重要的肿瘤相关基因^[12], 在胃癌的预后判断中有一定的参考价值, 并为肿瘤的有效治疗提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 陈瑶, 伍亚民, 龙在云, 等. IGF-1 对受损血管内皮细胞存活和增殖的影响及其机制[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(5): 784-786.
- [2] Bai H, Pollman MJ, Inishi Y, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell apoptosis. Modulation of bad by a

- phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway [J]. *Circ Res*, 1999, 85(3):229-237.
- [3] Badr G, Garraud O, Daghestani M, et al. Human breast carcinoma cells are induced to apoptosis by samsun ant venom through an IGF-1-dependant pathway, PI3K/AKT and ERK signaling[J]. *Cell Immunol*, 2012, 273(1):10-16.
- [4] Ness JK, Scaduto Jr RC, Wood TL. IGF-1 prevents glutamate-mediated bax translocation and cytochrome C release in O⁺ oligodendrocyte progenitors[J]. *Glia*, 2004, 46(2):183-194.
- [5] Harrington EA, Bennett MR, Fanidi A, et al. c-Myc induced apoptosis in fibroblasts inhibited by specific cytokines [J]. *EMBO J*, 1994, 13(14):3286-3295.
- [6] Misawa A, Hosoi H, Arimoto A, et al. N-Myc induction stimulated by insulin-like growth factor I through mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human neuroblastoma cells[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(1):64-69.
- [7] Doyle SL, Donohoe CL, Finn SP, et al. IGF-1 and its receptor in esophageal cancer: association with adenocarcinoma and visceral obesity [J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 107(2):196-204.
- [8] 何晶晶, 黄甜, 刘丽, 等. 结直肠癌组织 IGF1R 和 IGF1 与 IGF2 表达及其意义的研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2008, 15(13):976-980.
- [9] 胡俊峰, 邵钦树. 胰岛素样生长因子 I 型受体在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2008, 14(2):970-973.
- [10] 曾敬, 侯景辉, 张惠忠, 等. 胰岛素样生长因子及其受体在不同级别胶质瘤中表达意义及与预后关系[J]. *肿瘤学杂志*, 2004, 10(6):404-406.
- [11] 吴晓宇, 姚学权, 陈彻, 等. 胰岛素样生长因子 1 受体高表达提示直肠癌放射治疗耐受[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2011, 18(10):1069-1073.
- [12] Kaseb AO, Morris JS, Hassan MM, et al. Clinical and prognostic implications of plasma insulin-like growth factor-1 and vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Oncol*, 2011, 10(29):3892-3899.