

IGF-1R 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义

盖 领¹, 茅国新¹, 沈 浮¹, 刘 军¹, 黄 华¹, 赵铃铃²

(1.南通大学附属医院, 江苏 南通 226001; 2.南通市第一人民医院, 江苏 南通 226001)

摘 要: [目的] 探讨 IGF-1R 在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达及其临床意义。[方法] 用免疫组织化学染色检测 IGF-1R 在 147 例 NSCLC 组织和 40 例癌旁组织中的表达, 并分析其表达与临床病理特征及预后之间的关系。[结果] IGF-1R 在 NSCLC 组织中的阳性表达率为 48.3%(71/147), 高于癌旁肺组织中的表达(7.5%, 3/40), 两者差异有统计学意义 ($P<0.05$)。IGF-1R 的阳性表达与肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移有关 ($P<0.05$); 而与患者年龄、性别、吸烟、组织学类型和组织学分级均无关。经 Kaplan-Meier 生存分析, IGF-1R 阳性表达者比阴性表达者生存期短 ($P<0.05$)。多因素 COX 比例风险模型分析显示, 淋巴结转移状态 ($P<0.05$) 是影响 NSCLC 预后的独立危险因素。[结论] IGF-1R 异常表达可能与 NSCLC 的发生发展和预后关系密切, 有望成为评估 NSCLC 预后的有效指标。

主题词: 非小细胞肺癌(NSCLC); 胰岛素样生长因子-1 受体(IGF-1R); 预后

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)07-0542-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.07.B002

IGF-1R Expression in Non-small Cell Lung Cancer and Its Clinical Significance

GAO Ling, MAO Guo-xin, SHEN Fu, et al.

(Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of IGF-1R in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its clinical significance. [Methods] The immunohistochemical method was used to detect the expression of IGF-1R in 147 cases of NSCLC tissues and 40 cases of cancer adjacent tissues, and its relationship with clinicopathological features and prognosis was analyzed. [Results] The positive expression rate of IGF-1R in NSCLC was 48.3%(71/147), which was higher than that in adjacent tissues (7.5%, 3/40), with significant difference between them ($P<0.05$). The positive expression of IGF-1R was related to tumor size, clinical stage and lymph node metastasis ($P<0.05$), but not related to age, gender, smoking, histological type and histological grade. The results of Kaplan-Meier survival analysis indicated that positive expression of IGF-1R was associated with worse survival ($P<0.05$). COX's proportional hazards model showed that lymph node metastasis was an independent risk factor for prognosis of NSCLC patients. [Conclusion] The abnormal expression of IGF-1R might be closely related to the initiation, development and progression of NSCLC. It was probable to evaluate the prognosis of NSCLC with expression of IGF-1R.

Subject words: non-small cell lung cancer; IGF-1R; prognosis

尽管目前在肺癌的分子生物学方面的研究以及手术、放疗及化疗等治疗方面的发展取得了一定的进步, 但肺癌的死亡率在最近 30 年来依然迅速上升, 5 年生存率仍小于 15%。非小细胞肺癌(non-

small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌中最主要的类型, 因此, 探寻 NSCLC 的新的分子靶点对于患者的治疗和预后具有重要意义。

近年来发现胰岛素样生长因子家族(insulin-like growth factors, IGFs) 的异常表达与许多肿瘤密切相关, 目前对 IGF-1 受体(IGF-1R)的研究比较多, 其在细胞生长、分化、存活、转化、转移以及抗肿瘤治疗中

通讯作者: 茅国新, 主任, 主任医师, 学士; 江苏省南通大学附属医院
肿瘤化疗科, 江苏省南通市崇川区西寺路 20 号(226001);
E-mail: tdfygailing@126.com

收稿日期: 2015-05-14; 修回日期: 2015-06-10

扮演重要角色。本研究使用免疫组织化学染色法,检测 NSCLC 组织中 IGF-1R 的表达情况,并分析其与 NSCLC 临床病理学特征以及预后的关系,以探究 IGF-1R 在 NSCLC 发生发展及预后方面的作用。

1 资料与方法

1.1 组织标本

收集 NSCLC 石蜡标本 147 例,另取 40 例距肿瘤 3.0cm 以上癌旁肺组织作为对照,由南通大学附属医院病理科提供。标本均为 2005 年 1 月至 2009 年 8 月手术切除标本,病理诊断明确,并且具有完整的临床病理学资料,术后患者接受辅助化疗。通过南通大学附属医院伦理委员会审批,并均取得患者知情同意。患者的年龄介于 44~83 岁之间;肿瘤直径<3cm 者 50 例, ≥ 3 cm 者 97 例;组织学分级:1 级 13 例,2 级 72 例,3 级 62 例;有淋巴结转移者 62 例,无淋巴结转移者 85 例。本组全部 147 例 NSCLC 患者均从病理确诊时开始计算生存时间,随访时限为 5 年,末次随访时间为 2014 年 8 月,以电话形式进行随访,随访率 100%。

1.2 主要试剂

兔抗人 IGF-1R 多克隆抗体购于美国 Santa Cruz 公司,EnVision 试剂盒、对二甲胺基偶氮苯(DAB)酶底物显示试剂盒、多聚赖氨酸和 PBS 粉剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 免疫组化染色

石蜡包埋组织 60℃(于电热恒温干燥箱内,下同)烤片 6~8h。二甲苯 15min $\times$ 3 次(60℃)后用低浓度梯度的乙醇水化,自来水冲洗片刻。利用 0.01mol/L 柠檬酸缓冲液(pH 6.0)及高压锅进行抗原修复。自然冷却后用 3% H_2O_2 孵育 10min 以阻断内源性过氧化物酶,0.01 mol/L PBS 冲洗 3min $\times$ 3 次。按说明书滴加一抗(兔抗人 IGF-1R 多克隆抗体),使用 PBS 代替一抗作为阴性对照。0.01mol/L PBS 冲洗 3min $\times$ 3 次,擦干后滴加免疫组化二抗,室温孵育。0.01mol/L PBS 冲洗 3min $\times$ 3 次后 DAB 显色,苏木素复染,高浓度梯度的乙醇脱水,中性树脂封片。

1.4 阳性结果判断

采用双盲法光镜下观察结果。每片随机观察 5 个高倍视野($\times 200$ 倍)。IGF-1R 蛋白以细胞膜和细

胞质出现棕黄色染色颗粒为阳性,结果评判标准:按肿瘤阳性细胞率和着色强度分别进行计分:①按阳性细胞百分率:0 分($\leq 10\%$)、1 分(10%~25%)、2 分(25%~50%)和 3 分($> 50\%$)。②按着色计分:分为 4 个等级,0 分(不染色,阴性)、1 分(轻度染色,淡棕色)、2 分(中度染色,棕色)和 3 分(强染色,深棕色)。2 种计分的乘积为检测的表达状况,总分 < 3 分为阴性, ≥ 3 分为阳性。所有切片均由 2 位经验丰富的病理专家单独阅片。

1.5 统计学处理

运用 SPSS18.0 统计分析软件进行分析。率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率计算,Kaplan-Meier 生存曲线和 Log-rank 检验分析生存数据,使用 Cox 比例风险模型进行分析,并记录每个数据的危险比和 95%可信区间。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 石蜡切片组织中 IGF-1R 的表达

免疫组化结果显示 IGF-1R 在 NSCLC 组织中表达率 48.3%(71/147)较癌旁肺组织的 7.5%(3/40)高,阳性表达主要定位在细胞膜和细胞质,染色呈棕黄色(Figure 1)。

2.2 IGF-1R 蛋白表达与患者临床病理学特征的关系

根据 IGF-1R 在 NSCLC 中表达,将其分为阳性组和阴性组,分析 IGF-1R 的表达与 NSCLC 患者临床病理学特征之间的关系。分析显示 NSCLC 中 IGF-1R 的表达强度在不同肿瘤大小、临床分期和不同淋巴结转移状态患者中差异有统计学意义($P < 0.05$),而在不同年龄、性别、吸烟状况、组织学分型及组织学分级患者中,差异无统计学意义($P > 0.05$,Table 1)。

2.3 IGF-1R 蛋白表达与预后的关系

本组 147 例 NSCLC 患者中,经 Kaplan-Meier 分析发现,IGF-1R 的表达水平与患者预后相关($P < 0.05$),IGF-1R 表达阴性患者中位生存期 55 个月比阳性者(中位生存期 43 个月)延长 12 个月,提示在 NSCLC 患者中 IGF-1R 阳性表达者预后较差(Figure 2)。单因素分析显示,性别、吸烟与否、pTNM 分期、淋巴结转移、IGF-1R 影响预后($P < 0.05$,Table 2)。COX 回归多因素分析显示,淋巴结转移($P < 0.05$)是判断 NSCLC 患者预后的指标(Table 3)。

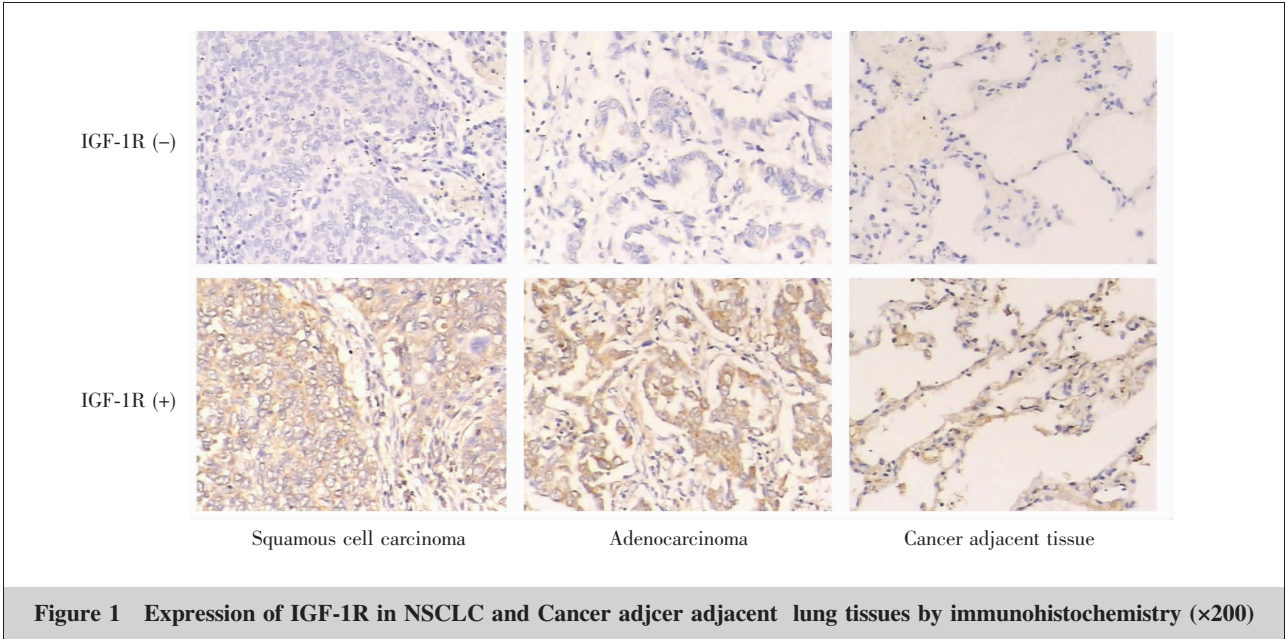


Figure 1 Expression of IGF-1R in NSCLC and Cancer adjcer adjacent lung tissues by immunohistochemistry (×200)

Table 1 Correlations between the expression of IGF-1R and clinicopathological parameters in NSCLC				
Factors	N	IGF-1R expression		P
		Negative	Positive	
Age (years old)				
<60	48	22	26	0.322
≥60	99	54	45	
Smoking status				
No	91	45	46	0.486
Yes	56	31	25	
Gender				
Male	118	63	55	0.408
Female	29	13	16	
Histological type				
Squamous cell carcinoma	97	55	42	0.103
Adenocarcinoma	38	14	24	
Adenosquamous carcinoma	12	7	5	
Tumor size (cm)				
≤3	50	32	18	0.032*
>3	97	44	53	
Lymph node status				
No	85	50	35	0.043*
Yes	62	26	36	
TNM stage				
I	66	40	26	0.027*
II	47	25	22	
III	34	11	23	
Histological grade				
1	13	7	6	0.391
2	72	41	31	
3	62	28	34	

*:P<0.05, the difference was statistically significant.

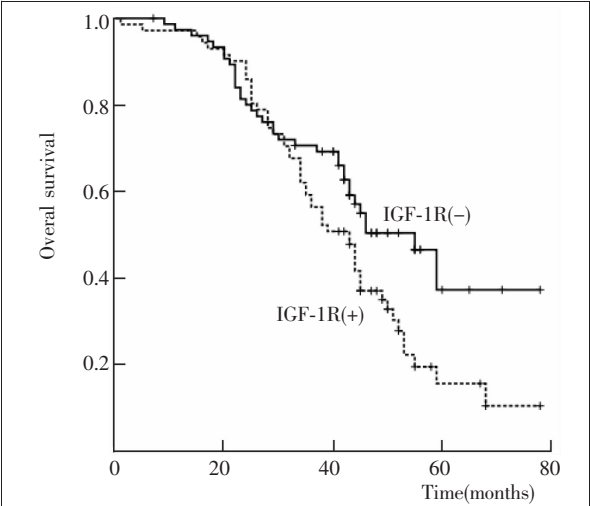


Figure 2 Survival curves of NSCLC patients with positive or negative expression of IGR-1R

Table 2 Univariate analysis on correlations between prognosis and clinicopathological parameters in NSCLC			
Factors	Hazard ratio	95% confidence interval	P
Age	0.793	0.513~1.227	0.299
Gender	0.578	0.352~0.949	0.030*
Smoking status	0.565	0.359~0.888	0.013*
Histological type	1.055	0.766~1.453	0.744
Tumor size	1.291	0.816~2.042	0.275
pTNM stage	1.471	1.150~1.882	0.002*
Histological grade	1.023	0.732~1.430	0.894
Lymph node status	3.264	2.117~5.035	<0.001*
IGF-1R	1.609	1.049~2.468	0.029*

*:P<0.05, the difference was statistically significant.

Table 3 Multivariate analysis on correlations between prognosis and clinicopathological parameters in NSCLC

Factors	Hazard ratio	95% Confidence interval	P
Gender	0.862	0.506~1.468	0.584
Smoking status	0.753	0.460~1.231	0.257
pTNM stage	0.808	0.554~1.179	0.269
Lymph node status	3.777	1.952~7.310	<0.001*
IGF-1R	1.395	0.905~2.151	0.131

*: $P < 0.05$, the difference was statistically significant.

3 讨 论

NSCLC 的发生和发展是一个复杂的病理过程,涉及多种与增殖和凋亡相关的基因的变化。虽然目前的治疗手段有手术切除、药物治疗和放疗等,但是目前这个疾病依然无法治愈,并且预后欠佳^[1]。因此,更多地了解与 NSCLC 发病机制相关的基因迫在眉睫。本次研究主要是探讨 IGF-1R 在 NSCLC 中的表达以及对患者预后的影响。

IGFs 包括 IGF-1 和 IGF-2 两种受体 (IGF-1R、IGF-2R) 和 6 种高亲和力的结合蛋白 (IGFBP1-6),主要是通过 IGF-1R 介导发挥作用^[2]。IGF-1R 位于细胞膜表面,介导 IGF-1 和 IGF-2 的生物学功能,其过表达时,细胞会出现恶性转化。人 *IGF-1R* 基因定位于染色体 15q25-26,由 2 个 α 亚基和 2 个 β 亚基以二硫键相链接组成,是细胞生长分化的调节因子,介导有丝分裂信号、防御凋亡损伤、诱导血管内皮生长因子 (VEGF) 表达^[3]。IGF-2 与 IGF-1R 结合后,解除了 α 亚基对 β 亚基上酪氨酸激酶的抑制,酪氨酸激酶被激活,受体自身磷酸化,导致胰岛素受体底物 (IRS)1~4 和 Shc 多位点磷酸化,启动两条信号级联反应:RAS-RAF-MAPK 和 PI-3K/AKT/mTOR,加速细胞周期、促有丝分裂,诱导细胞增生、转化和抗凋亡,已证实 IGF-1R 过表达,可诱导肿瘤形成和转移^[4-6]。

鉴于 IGF-1R 介导的活化通路在细胞增殖、凋亡中的重要性,研究其在 NSCLC 中的发生发展具有非常重要的意义。本次研究中,首先分析了 IGF-1R 在配对的 NSCLC 癌组织和癌旁组织中的表达,结果表明,癌组织中 IGF-1R 的阳性表达率高于癌旁组织,与 Pavelic 等^[7]检测了 34 例 NSCLC 手术标本发现 IGF-1R 的表达显著增加的研究结果一致。有研究表明,IGF-1R/dn 是通过阻断配体诱导的 AKT 激

活来抑制肿瘤细胞的增殖能力,并且能够抑制化疗药物所致的凋亡,IGF-1R 和 IGF-2 与肿瘤浸润深度、转移、进展、分期以及复发有关,高表达 IGF-1R 和 IGF-2 患者预后差^[8]。Gryko 等^[9]发现 IGF-1R 在胃癌患者中高表达,与淋巴结转移相关,并且阳性表达者预后差,符合本次研究结果:IGF-1R 在 NSCLC 中的表达与肿瘤大小、临床分期及淋巴结转移有关;生存分析表明,单因素分析中 IGF-1R 的表达与预后有一定关联 ($P < 0.05$),IGF-1R 阴性表达患者中位生存期比阳性表达者长,提示在 NSCLC 患者中 IGF-1R 阳性表达者预后较差。但 Cox 多因素分析,IGF-1R 并不是 NSCLC 患者独立预后因素,淋巴结转移可以作为判断 NSCLC 患者预后的指标。

综上所述,IGF-1R 在 NSCLC 中阳性表达率高,并与患者的不良预后相关,其可能参与 NSCLC 的发生发展,可能会成为判断 NSCLC 患者预后的潜在指标,但尚需扩大样本量深入分析,并对其可能的具体机制进一步研究。

参考文献:

- [1] Yip PY. Phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-mammalian target of rapamycin (PI3K-Akt-mTOR) signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. Transl Lung Cancer Res, 2015, 4(2): 165-176.
- [2] Rosenzweig SA, Atreya HS. Defining the pathway to insulin-like growth factor system targeting in cancer [J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80(8): 1115-1124.
- [3] Zhu C, Qi X, Chen Y, et al. PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 signaling pathways are involved in IGF-1-induced VEGF-C upregulation in breast cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(11): 1587-1594.
- [4] Kong KL, Kwong DL, Chan TH, et al. MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor 1 receptor[J]. Gut, 2012, 61(1): 33-42.
- [5] Phan TT, Lim IJ, Bay BH, et al. Role of IGF system of mitogens in the induction of fibroblast proliferation by keloid-derived keratinocytes in vitro[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2003, 284(4): C860-C869.
- [6] Wu J, Yu E. Insulin-like growth factor receptor-1 (IGF-IR) as a target for prostate cancer therapy[J]. Cancer Metastasis Rev, 2014, 33(2-3): 607-617.
- [7] Pavelic J, Krizanac S, Kapitanovic S, et al. The consequences of insulin-like growth factors/receptors dysfunction in lung cancer [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005, 32(1): 65-71.
- [8] Imsumran A, Adachi Y, Yamamoto H, et al. Insulin-like growth factor-I receptor as a marker for prognosis and a therapeutic target in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Carcinogenesis, 2007, 28(5): 947-956.
- [9] Gryko M, Kisluk J, Cepowicz D, et al. Expression of insulin-like growth factor receptor type 1 correlate with lymphatic metastases in human gastric cancer [J]. Pol J Pathol, 2014, 65(2): 135-140.