

大肠癌中 IGF-2 蛋白的表达及相关性研究

段琼红, 吕美霞, 卢祖洵, 聂绍发

段琼红, 吕美霞, 聂绍发, 华中科技大学同济医学院流行病与卫生统计学系 湖北省武汉市 430030
卢祖洵, 华中科技大学同济医学院社会医学系 湖北省武汉市 430030

国家自然科学基金资助项目, No.30371239

通讯作者: 聂绍发, 430030, 武汉市航空路13号, 华中科技大学同济医学院流行病与卫生统计学系. sf_nie@mails.tjmu.edu.cn
电话: 027-83693763

收稿日期: 2005-10-25 接受日期: 2005-10-31

Expression and significance of insulin-like growth factor 2 protein in colorectal cancer

Qiong-Hong Duan, Mei-Xia Lv, Zu-Xun Lu, Shao-Fa Nie

Qiong-Hong Duan, Mei-Xia Lv, Shao-Fa Nie, Department of Epidemiology and Health Statistics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Zu-Xun Lu, Department of Community Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30371239

Correspondence to: Professor Shao-Fa Nie, Department of Epidemiology and Health Statistics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 13 Hangkong Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. sf_nie@mails.tjmu.edu.cn

Received: 2005-10-25 Accepted: 2005-10-31

Abstract

AIM: To explore the correlation of the expression of insulin-like growth factor 2 (IGF-2), Survivin, and c-Myc protein in colorectal cancer, and to clarify the role of IGF-2 in the occurrence and progression of colorectal cancer.

METHODS: The single and associated expression of IGF-2, Survivin, and c-Myc protein was detected by immunohistochemical SP method in the tissues of colorectal cancer and the marge of the excision part of the tumor.

RESULTS: The positive rate of IGF-2 was 27.3% in the cancer tissue, and 5.0% in the marge tissue. There was significant difference between them ($P < 0.05$). The positive expression of IGF-2 was significantly related with Duke's staging (A-B: 16.67% vs C-D: 83.32%), lymph metastasis

(without metastasis: 16.67% vs with metastasis: 83.33%) of colorectal cancer ($P < 0.01$), while it was not related with the following factors: the age and gender of the patients, degree of tumor differentiation, and size and location of the tumor. The expression of c-Myc and Survivin was not correlated with the expression of IGF-2 ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The over-expression of IGF-2 promotes the carcinogenesis, progression, infiltration, and metastasis of the colorectal cancer, and it can be used as a marker in the prognosis of the colorectal cancer.

Key Words: Colorectal tumor; Insulin-like growth factor 2; c-Myc protein; Survivin; Immunohistochemistry

Duan QH, Lv MX, Lu ZX, Nie SF. Expression and significance of insulin-like growth factor 2 protein in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(1):83-86

摘要

目的: 观察结肠直肠癌中IGF-2、Survivin、c-Myc蛋白的表达情况, 探讨IGF-2、Survivin、c-Myc蛋白表达的相关性, 阐明IGF-2在大肠癌发生、发展中的作用。

方法: 应用免疫组化SP法分别检测大肠癌及其癌瘤手术切除的切缘组织中IGF-2、Survivin、c-Myc蛋白的单一及联合表达情况。

结果: IGF-2在大肠癌组织中的表达阳性率为27.3%, 在切缘组织中的表达阳性率为5.0%, 两者相比有显著性差异($P < 0.05$)。IGF-2表达阳性与Dukes分期(AB: 16.67% vs CD 83.32%)、淋巴转移(无16.67% vs 有83.33%)有关($P < 0.01$), 与患者年龄、性别、肿瘤分化程度、肿瘤大小、部位无明显相关性($P > 0.05$); Survivin、c-Myc表达阳性与IGF-2表达无明显相关($P > 0.05$)。

结论: IGF-2可成为预后判断的指标; IGF-2的过表达促进了结肠直肠癌的发生、发展、浸润和转移。

■背景资料

IGF-2是一种非常强的有丝分裂原, 可促进多种细胞的增殖, 抑制细胞凋亡, 生存蛋白(Survivin)是凋亡抑制蛋白, 是具有抑制细胞凋亡和调节细胞分裂的双功能蛋白。c-Myc基因具有诱导增殖和细胞程序死亡的双相作用。研究发现, IGF-2, Survivin及c-Myc在多种肿瘤组织中存在过量表达, 与肿瘤的发生、发展有密切关系, 但缺乏关于三者关系的研究。

■创新盘点

首次研究了IGF-2, Survivin, c-Myc三者表达的相关性。

关键词: 大肠肿瘤; 胰岛素样生长因子-2; c-Myc; Survivin; 免疫组织化学

段琼红, 吕美霞, 卢祖洵, 聂绍发. 大肠癌中IGF-2蛋白的表达及相关性研究. 世界华人消化杂志 2006;14(1):83-86

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/83.asp>

0 引言

胰岛素样生长因子-2(insulin-like growth factor 2, IGF-2)是一种非常强的有丝分裂原, 可促进多种细胞的增殖, 抑制细胞凋亡^[1], 生存蛋白(Survivin)是凋亡抑制蛋白(inhibition apoptosis protein, IAP)家族的新成员, 是具有抑制细胞凋亡和调节细胞分裂的双功能蛋白^[2]. c-Myc基因具有诱导增殖和细胞程序死亡的双相作用^[3]. 研究发现, 他们在多种肿瘤组织中存在过量表达, 与肿瘤的发生、发展有密切关系^[4-6]. 我们通过观察结肠直肠癌中IGF-2蛋白、Survivin蛋白、c-Myc蛋白的表达情况, 探寻IGF-2、Survivin、c-Myc三者表达的相关性, 探讨IGF-2基因表达在大肠癌发生、发展过程中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集44例大肠癌组织和20例大肠癌手术切除的癌缘5 cm以上的切缘组织, 分别来自武汉市一所综合性医院及一所肿瘤专科医院. 全部标本经福尔马林固定, 石蜡包埋, 常规连续切片, 厚度4 μm , 分别做HE及免疫组化染色. 包括男24例, 女20例, 平均年龄53.9岁. 结肠癌16例, 直肠癌28例. 经病理诊断, 组织学类型分为: 腺癌38例(其中高分化腺癌11例, 中分化腺癌17例, 低分化腺癌10例), 黏液腺癌4例, 印戒细胞癌2例. 对肿瘤病理组织做出细胞学分级的诊断(Dukes分期)为A期5例; B期18例; C期17例; D期4例. 所有患者术前均未做放疗、化疗及免疫治疗. c-Myc鼠抗人单克隆抗体、Survivin兔抗人多克隆抗体、SP试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司, IGF-2兔抗人多克隆抗体购自武汉博士德生物工程公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 免疫组化采用SP法. IGF-2、c-Myc和Survivin一抗浓度分别为1:150, 1:100, 1:100. 均采用微波抗原修复.

1.2.2 结果判断及半定量方法 每例每个指标取5个高倍视野($\times 400$), 通过HMIAS-2000型病理图文分析系统(同济千屏影像工程公司出品)处理, 计数其肿瘤平均阳性细胞率. c-Myc阳性判

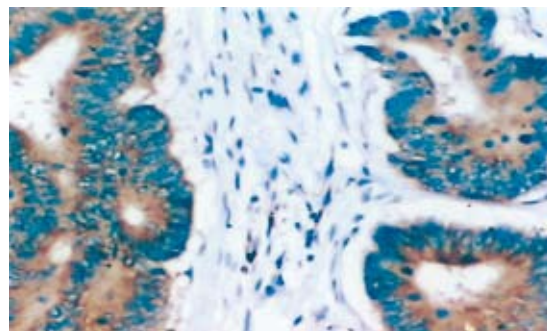


图1 IGF-2阳性物质在直肠、高分化腺癌组织中的表达与分布(SP $\times 400$).

断标准: 阳性细胞率 $<10\%$ 者或背景同阳性对照者为阴性标本, 标本阳性细胞呈黄色或棕色, 并且阳性细胞率 $\geq 10\%$ 为阳性标本^[7]. IGF-2阳性判断标准: 参考Peters *et al*^[5]的标准, 取IGF-2阳性细胞率 $<5\%$ 者为阴性标本, $\geq 5\%$ 为阳性标本. Survivin阳性判断标准: 参考Kawasaki *et al*^[8]报道的方法: 计数5个高倍视野, 将平均阳性细胞率分为5类: 0, $<5\%$; 1, $5\%-25\%$; 2, $25\%-50\%$; 3, $50\%-75\%$; 4, $>75\%$. 根据染色程度将阳性信号分为3类: 染色强度弱, 1分; 中等染色强度, 2分; 染色强度强, 3分; 染色强度 \times 阳性细胞百分数为每个病例染色的综合记分, 综合计分 <1 为表达阴性, 反之判定为阳性.

统计学处理 阳性率差异比较用 χ^2 检验, 相关分析采用kendall等级相关. $P < 0.05$ 为显著差异, $P < 0.01$ 为非常显著差异, $P > 0.05$ 为无差异. 全部统计分析用SAS 8.10软件包完成.

2 结果

2.1 大肠癌组织及切缘组织中IGF-2表达及与临床病理的关系 镜下IGF-2主要定位于大肠癌细胞胞质, 为棕黄色颗粒, 呈异质性染色, 少数细胞染色较强(图1). 作为对照, 20例切缘组织阳性率为5.0%(1/20). 表1总结了44例大肠癌组织的IGF-2表达及其与临床病理的关系, 结果显示44例大肠癌患者中IGF-2阳性表达12例, 阳性率27.3%, 与切缘组织相比, 其差异具有显著性($P < 0.05$). IGF-2表达与患者年龄、性别、肿瘤分化程度、肿瘤大小、部位无明显相关性($P > 0.05$), 与Dukes分期、淋巴转移显著相关($P < 0.05$).

2.2 c-Myc的表达及其与IGF-2的关系 镜下c-Myc主要定位于大肠癌细胞胞核, 为棕黄色颗粒, 在癌组织中, c-Myc阳性细胞以弥漫性分布为主, 少数也可为局灶性分布(图2). 免疫组织化学所

表 1 IGF-2、c-Myc表达与临床病理的关系

因素	<i>n</i>	IGF-2			<i>P</i>	c-Myc			<i>P</i>
		- (%)	+	(%)		- (%)	+	(%)	
年龄	<60	35	26 (81.25)	9 (75.00)	0.647 1	18 (85.71)	17 (73.91)		0.332 4
	≥60	9	6 (18.75)	3 (25.00)		3 (14.29)	6 (26.09)		
性别	男	24	16 (50.00)	8 (66.67)	0.322 7	11 (52.38)	13 (56.52)		0.782 9
	女	20	16 (50.00)	4 (33.33)		10 (47.62)	10 (43.48)		
大小	≤3 cm	14	9 (28.13)	5 (41.67)	0.390 4	6 (28.57)	8 (34.78)		0.658 6
	>3 cm	30	23 (71.88)	7 (58.33)		15 (71.43)	15 (65.22)		
部位	直肠	28	19 (59.38)	9 (75.00)	0.337 3	12 (57.14)	16 (69.57)		0.392 2
	结肠	16	13 (40.63)	3 (25.00)		9 (42.86)	7 (30.43)		
分化程度	高	28	20 (62.50)	8 (66.67)	0.798 0	19 (90.48)	9 (39.13)		0.000 4
	低	16	12 (37.50)	4 (33.33)		2 (9.52)	14 (60.87)		
Dukes分期	AB	23	21 (65.63)	2 (16.67)	0.003 8	13 (61.90)	10 (43.48)		0.221 6
	CD	21	11 (34.38)	10 (83.32)		8 (38.10)	13 (56.52)		
淋巴转移	无	24	22 (68.75)	2 (16.67)	0.002 0	13 (61.90)	11 (47.83)		0.348 9
	有	20	10 (31.25)	10 (83.33)		8 (38.10)	12 (52.17)		

■研究前沿

环境因素通过体内IGF系统促进大肠癌的发生是大肠癌发病机制的新假说, IGF系统主要由IGF-1、IGF-2和IGFBP-3组成. IGF系统在大肠癌的发生、发展中的作用是目前的研究热点.

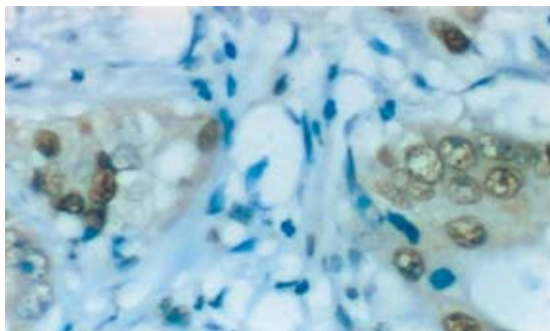


图 2 c-Myc阳性物质在直肠、低分化腺癌组织中的表达与分布 (SP × 400).

有空白对照及替代对照均为阴性. c-Myc在大肠癌组织中的阳性率为52.3%(23/44).

c-Myc表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、Dukes分期、淋巴转移无明显相关性($P>0.05$), 与肿瘤分化程度明显相关(表1). c-Myc表达阳性与IGF-2表达阳性无明显相关($P>0.05$)(表2).

2.3 Survivin的表达及其与IGF-2的关系 镜下Survivin主要定位于大肠癌细胞胞质, 为棕黄色颗粒, 呈异质性染色, 少数细胞染色较强. Survivin在大肠癌组织中的阳性率为63.6%. Survivin表达阳性与IGF-2表达阳性无明显相关($P>0.05$)(表2).

3 讨论

3.1 IGF-2, Survivin, c-Myc在结肠直肠癌中的作用 大肠癌为常见的恶性肿瘤之一. 在一些经济发达的欧美国家发病率甚高, 在亚非等发展中

表 2 c-Myc的表达及其与IGF-2的关系

		IGF-2		<i>r</i>	<i>P</i>
		+	-		
c-Myc	+	7	16	0.074 3	0.626 1
	-	5	16		
Survivin	+	9	19	0.144 7	0.342 8
	-	3	13		

国家的发病率相对较低. 大肠癌在我国恶性肿瘤中发病率占4-6位, 20世纪70年代以来, 我国某些地区, 尤其是大城市, 大肠癌的发病和死亡率有明显升高的趋势^[9].

流行病学和实验室研究证明, IGF(insulin like growth factor)系统在大肠癌的发生发展中起重要作用^[10-12]. IGFR通过结合IGF-1或者IGF-2激活胞内一系列信号通道, 而作用于肿瘤细胞的生长和增殖. IGF-2基因位于第11号染色体短臂上, 其编码产生的IGF-2蛋白是一种分子量为7.5 ku的单链弱酸性多肽. 作为一种促生长因子, IGF-2在体内、体外都有很强的促进细胞分裂增殖的能力^[1]. 研究发现, 在人胎儿期IGF-2的含量远比成年期高, 且出生后IGF-2的表达仅局限于少数组织(如肝脏, 神经组织等)^[13], 这说明了IGF-2对组织、细胞的生长发育起着重要的调节作用.

Survivin是凋亡抑制蛋白家族的新成员, 结构独特, 仅含有一个杆状病毒凋亡抑制蛋白重复序列分子, 作用于各种凋亡通路末端效应分子, 是迄今发现的最强的凋亡抑制因子之一^[14].

■应用要点

IGF-2可成为预后判断的指标。

c-Myc癌基因是原癌基因之一, 定位于人染色体8q²⁴, 主要产物是分子量为62 ku的磷蛋白, 简称P62^{c-Myc}[15,16]。该基因与细胞生长有关。

许多研究表明, 在多种肿瘤组织中均发现IGF-2, Survivin, c-Myc的表达异常增多。但他们在结肠直肠癌中表达情况及相关性尚不明确, 为此, 我们就他们在结肠直肠癌的表达做一分析。

3.2 IGF-2, Survivin, c-Myc在结肠直肠癌中的表达 IGF-2, Survivin, c-Myc蛋白的表达普遍存在于结肠直肠癌细胞中, 其阳性细胞率均显著高于切缘组织, 这说明IGF-2, Survivin, c-Myc的过表达在肿瘤中起着重要的作用。许多文献报道证实了这一点[6,14,17]。我们将他们与大肠癌临床病理特征相比较, 发现IGF-2与患者的年龄、肿瘤的部位、大小及分化程度均无关, 而与Dukes分期、淋巴转移有关, c-Myc表达只与肿瘤分化程度明显相关, Survivin表达只与患者的性别明显相关。三者的表达之间有无关联呢? 我们研究结果表明IGF-2与c-Myc、Survivin呈正相关, 但无统计学意义。这说明IGF-2蛋白过表达是大肠癌发生中的一种独立事件。

因此我们认为IGF-2的过表达促进了结肠直肠癌的发展、浸润和转移, IGF-2可成为预后判断的指标。

4 参考文献

- 1 Mohan S, Jennings JC, Linkhart TA, Baylink DJ. Isolation and purification of a low-molecular-weight skeletal growth factor from human bones. *Biochim Biophys Acta* 1986; 884: 234-242
- 2 LaCasse EC, Baird S, Korneluk RG, MacKenzie AE. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 1998; 17: 3247-3259
- 3 Watson PH, Pon RT, Shiu RP. Inhibition of c-myc expression by phosphorothioate antisense oligonucleotide identifies a critical role for c-myc in the growth of human breast cancer. *Cancer Res* 1991;

51: 3996-4000

- 4 Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 403-406
- 5 Peters G, Gongoll S, Langner C, Mengel M, Piso P, Klempnauer J, Ruschoff J, Kreipe H, von Wasielewski R. IGF-1R, IGF-1 and IGF-2 expression as potential prognostic and predictive markers in colorectal cancer. *Virchows Arch* 2003; 443: 139-145
- 6 Chen WC, Liu Q, Fu JX, Kang SY. Expression of survivin and its significance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2886-2889
- 7 乔庆, 蔡力铭. 大肠腺癌组织Bcl-2和c-myc的表达意义. 第四军医大学学报 2002; 23: 1955-1957
- 8 Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, Toyoda M, Tenjo T, Tanigawa N. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58: 5071-5074
- 9 段琼红, 段纪俊, 杨念念. 2003-2011年武汉市大肠癌死亡趋势预测. 中国公共卫生 2005; 21: 147-148
- 10 Werner H, LeRoith D. The role of the insulin-like growth factor system in human cancer. *Adv Cancer Res* 1996; 68: 183-223
- 11 Duan QH, Wang ZG, Zhu GB, Lu ZX, Shi LY, Nie SF. Study on the relations between serum insulin-like growth factor-1, insulin-like growth factor binding protein-3 and colorectal cancer: a meta-analysis. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2005; 26: 132-134
- 12 Bustin SA, Jenkins PJ. The growth hormone-insulin-like growth factor-I axis and colorectal cancer. *Trends Mol Med* 2001; 7: 447-454
- 13 Berger A. Insulin-like growth factor and cognitive function. *BMJ* 2001; 322: 203
- 14 Kim PJ, Plescia J, Clevers H, Fearon ER, Altieri DC. Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Lancet* 2003; 362: 205-209
- 15 Neel BG, Jhanwar SC, Chaganti RS, Hayward WS. Two human c-onc genes are located on the long arm of chromosome 8. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7842-7846
- 16 Ramsay G, Evan GI, Bishop JM. The protein encoded by the human proto-oncogene c-myc. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 7742-7746
- 17 Kozma L, Kiss I, Szakall S, Ember I. Investigation of c-myc oncogene amplification in colorectal cancer. *Cancer Lett* 1994; 81: 165-169

电编 张敏 编辑 管鑫妍 审读 张海宁