

IGFBP-3 的表达水平对食管鳞癌放疗疗效和预后的影响

罗丽玲, 赵磊, 习勉, 沈静娴, 何立儒, 李巧巧, 刘施亮, 张鹏, 刘孟忠*

(1.华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心放射治疗科, 广东广州 510060)

摘要:【目的】探讨食管鳞癌(ESCC)组织中胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGFBP-3)的表达水平对接受单纯放疗的食管鳞癌患者的疗效和预后的影响。【方法】选取 70 例接受单纯放疗的食管鳞癌病例活检组织标本,采用免疫组织化学方法检测放疗前组织中 IGFBP-3 的表达情况。我们又应用 western blot 技术检测 10 对食管鳞癌新鲜手术标本及癌旁无瘤组织标本 IGFBP-3 的表达水平,然后联合食管鳞癌临床病理参数,用 χ^2 检验探讨其表达与放疗疗效关系,用分析 Kaplan-Meier 方法和 Cox 回归法分析其与预后的关系。【结果】在食管鳞癌活检组织中 IGFBP-3 呈现高表达的比例为 45.7%(32/70)。70%患者食管鳞癌新鲜手术标本 IGFBP-3 的表达水平明显低于相应的癌旁组织。IGFBP-3 的表达与 T、N 和 M 分期及临床分期和患者的放疗疗效相关($P < 0.05$)。IGFBP-3 高表达者放疗有效率较高,为 83.33%,且 3 年生存率亦高于 IGFBP-3 低表达者。【结论】IGFBP-3 高表达患者的放疗敏感性,及生存期均优于 IGFBP-3 低表达患者($P < 0.001$)。IGFBP-3 有望成为评价食管鳞癌放疗疗效的独立预后因素。

关键词:食管鳞癌;胰岛素样生长因子;免疫组织化学;放射治疗;预后

中图分类号:R349 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2015)03-0408-06

Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 Is a New Target to Improve Effect of Radiotherapy and Prognosis on Esophageal Squamous Cell Carcinoma

LUO Li-ling, ZHAO Lei, XI Mian, SHEN Jing-xian, HE Li-ru, LI Qiao-qiao, LIU Shi-liang, ZHANG Peng, LIU Meng-zhong*

(Department of Radiation Oncology, States Key Laboratory of Oncology in Southern China//Sun Yat-sen University Cancer center, Guangzhou 510060, China)

Corresponding to: LIU Meng-zhong, E-mail: liumengzhong@126.com

Abstract:【Objective】To assume that insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) has an effect on radiotherapeutic effect and prognosis for esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). The present study was designed to investigate the clinical and prognostic significance of IGFBP-3 in ESCC patients. 【Methods】IGFBP-3 was detected by immunohistochemistry (IHC) in paraffin-embedded tissues from 70 ECSS patients who treated with radiotherapy alone. IGFBP-3 was further examined by western blotting analysis in 10 pair of fresh ESCC tissues and adjacent non-malignant esophageal specimens. Differences in IGFBP-3 expression and clinical characteristics were compared by χ^2 test. Correlations between prognostic outcomes and with IGFBP-3 expression were investigated using Kaplan-Meier analysis and the Cox proportional hazards model. 【Result】45.7% (32 of 70) ESCC tissues were defined as having a high expression of IGFBP-3. 70% ESCCs had reduced levels of IGFBP-3 protein expression compared with adjacent non-malignant esophageal tissue. In addition, IGFBP-3 expression is correlated with pathological classification ($P < 0.05$ for T, N, and M classifications and clinical stages). 【Conclusion】Patients with higher levels of IGFBP-3 had a better radiotherapy effect and prolonged overall survival ($P < 0.001$). Higher level of IGFBP-3 expression may be a positive factor for advanced clinicopathological classification and prolonged patient survival. Our data suggest that IGFBP-3 may serve as a potential predictor for radiosensitivity and prognostic evaluation in ESCC patients treated with RT.

Key words: esophageal squamous cell carcinoma; insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3); immunohistochemistry; radiotherapy; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(3):408-413]

收稿日期:2015-01-08

基金项目:国家自然科学基金项目(NSFC 81272487);广东省科技计划项目(2013B021800156);广东省食管癌研究所(M201415)

作者简介:罗丽玲,硕士研究生,医师,研究方向:胸部肿瘤的放射治疗,E-mail:122533881@qq.com; *通信作者:刘孟忠,教授,博士生导师,研究方向:肿瘤的放射治疗,E-mail:liumengzhong@126.com

食管癌是常见的消化道肿瘤,全世界每年约有30万人死于食管癌,其五年生存率约10%^[1]。我国是食管癌高发的地区之一,常见病理类型为鳞状细胞癌^[2]。放射治疗是目前食管癌主要且有效的手段之一^[3]。然而由于肿瘤自身生物学异质性差异等因素的影响,相同分期患者的放疗疗效和预后存在很大的差异^[4]。因此,寻找预测食管癌放疗敏感性及预后的分子标志物成为近年来研究的热点。本研究应用免疫组织化学方法检测70例接受单纯放疗的食管鳞癌患者的活检组织标本的IGFBP-3的表达情况,又应用Western blot技术检测10对食管鳞癌新鲜手术标本及癌旁无瘤组织标本IGFBP-3的表达水平,旨在探讨IGFBP-3与食管鳞癌放疗敏感性的关系,及其对放疗疗效和预后的影响。

1 材料与方法

1.1 病例与标本选取

选择2002年2月至2011年12月期间,中山大学肿瘤防治中心收治的70例不能手术或拒绝手术的经病理确诊为食管鳞癌并仅接受单纯放疗的病人纳入研究。收集治疗前病人包括完整的病史采集、体格检查、颈胸腹部CT、食道吞钡、超声内镜等的临床资料。分期系统采用AJCC第六版TNM分期系统,末次随访日期为2013年04月,中位随访时间为35个月(6~115个月)。标本选取方法如下:我们在病理科选取符合上述要求的病人的治疗前活检组织制备切片,并收集了2011年在我院行食管癌切除术的10对食管癌新鲜手术标本和癌旁无瘤组织标本。

1.2 放射治疗

全部病人采用6~10 MV X线直线加速器进行外照射,其中65例患者采用三维适形放射治疗,5例患者采用调强放射治疗,常规分割,分割剂量DT:1.8~2 Gy/次,1次/d,5次/周,中位放疗剂量60 Gy(45~70 Gy)。GTV包括影像学 and 内镜可见的阳性病灶,GTV-N包括临床诊断阳性淋巴结。CTV在GTV基础上外扩3 cm(上下方面)和外扩0.5 cm(前后左右方向)。PTV在CTV的基础上外扩1 cm(上下方向)和0.5 cm(前后左右方向)^[5]。放疗结束1个月及3个月后参照食道吞钡或CT标准评价疗效,完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾

病稳定(SD)、局部进展(PD)。

1.3 实验材料

兔抗人类胰岛素样生长因子单克隆抗体、浓缩型DAB试剂盒、通用型二步法PV-9000免疫组化试剂盒,BCA蛋白定量试剂盒,均购自广州威佳生物有限公司。

1.4 免疫组织化学染色

Elivison二步法检测活检组织标本中IGFBP-3的表达,将石蜡包埋组织制成3 μm切片,脱蜡和水化。至0.01 mol/L枸橼酸盐修复液中,微波炉加热行抗原修复。用3% H₂O₂去除内源性过氧化物酶。按1:100比例稀释一抗,加一抗后置4℃冰箱过夜,PBS冲洗后,滴加试剂1(Polymer Helper)。孵育后,滴加试剂2(polyperoxidase-anti-mouse/rabbit IgG),DAB显色,脱水透明,中性树胶封片。PBS代替一抗做阴性对照^[6]。

1.5 组织中IGFBP-3表达测定

以出现棕黄色或黄色颗粒为阳性标志。IGFBP-3阳性表达在肿瘤细胞胞浆中。置免疫组化切片于高倍镜下(×200),随机选取5个不同视野,最终取平均值。评分均采用双盲法,以5分制评估阳性细胞表达数目情况:0分(没有阳性细胞),1分(<10%阳性细胞),2分(10%~35%阳性细胞),3分(36%~70%阳性细胞),4分(70%阳性细胞)。以4分制评估阳性细胞表达强弱情况:0分阴性染色;1分为弱黄染色;2分中度棕黄染色;3分强棕色染色。IGFBP-3表达指数=强度分数×阳性分数。用异质性测量和用Log-rank生存分析制定IGFBP-3表达水平的截点。定义IGFBP-3表达情况:≥4分为高表达;<4分为低表达。

1.6 Western blot分析

取10对新鲜食管鳞癌手术标本和癌旁无瘤组织先用匀浆器碾碎后,用Trizol buffer(Invitrogen Carlsbad, CA)提取组织蛋白,用BCA蛋白定量试剂盒测浓度。取等量蛋白用10%聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜,免疫检测,发光底物显影法进行显影,并以同一张膜上重复杂交β-actin作为对照。一抗用IGFBP-3兔单克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology, 1:200稀释),二抗用由HRP标记的兔IgG抗体^[7]。

1.7 统计分析

统计学分析采用SPSS 17.0统计学软件进行数据处理,采用Kaplan-Meier曲线分析和Log-

Rank 检验进行组内检验和单因素生存分析。Cox 回归进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 食管鳞癌病人组织中 IGFBP-3 的表达情况

我们使用免疫组化方法检测所收集的食管鳞癌组织中的 IGFBP-3 的表达情况。按照我们之前所述的免疫组化评估方法,如图 1 所示,在 70 例食管鳞癌肿瘤活检组织标本中,IGFBP-3 呈现高表达的例数有 32 例(比例为 45.7%)。我们使用 western blot 方法检测了 10 对食管鳞癌新鲜手术标本及癌旁无瘤组织的 IGFBP-3 的表达情况,结果显示 IGFBP-3 在 7 例(比例为 70%)食管鳞癌组织中的表达水平明显低于相应的癌旁无瘤组织(比例为 30%, $P < 0.05$)。

2.2 IGFBP-3 与食管鳞癌放疗疗效的关系

我们进一步整理食管鳞癌病人的临床病理资料,并分析了 IGFBP-3 的表达和病人的临床病理参数之间的关系。从表 1 中我们可以看出,IGFBP-3 的表达与病人的年龄、性别、肿瘤发生位置、肿瘤长度并无相关性,与 T、N 和 M 分期及临床分期和患者的放疗疗效相关。70 例食管鳞癌患者中,IGFBP-3 高表达患者有 32 例,单纯放疗后达到完

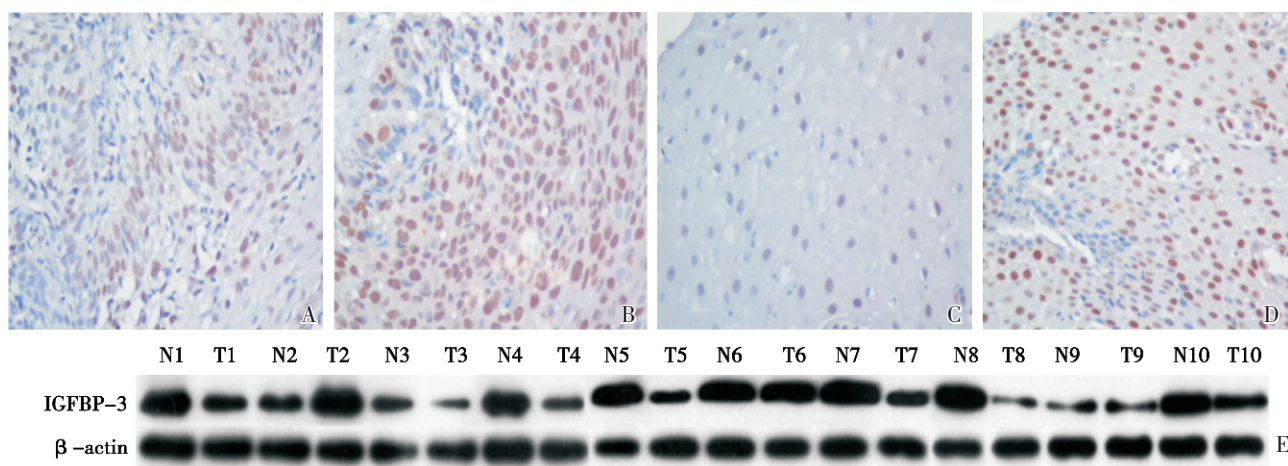
全缓解(CR)有 20 例,有效率为 83.3%。IGFBP-3 低表达患者有 38 例,治疗后达到完全缓解仅有 4 例,有效率为 16.7%,差异有统计学意义($P < 0.001$)。

2.3 IGFBP-3 与食管鳞癌预后的关系

采用单因素预后生存分析结果显示(表 2),患者性别、肿瘤长度、T、N、M 分期和 IGFBP-3 表达水平相关,有统计学意义($P < 0.05$)。其中 IGFBP-3 高表达患者 3 年生存率为 43.75%,中位生存时间为 25 个月,IGFBP-3 低表达者 3 年生存率为 15.8%,中位生存时间为 10 个月。Kaplan-Meier 生存分析曲线(图 2),Log-Rank 检验结果 $\chi^2 = 27.86$, $P < 0.001$,差异具有统计学意义。然后,我们将上述可能影响预后的因素进行 Cox 回归多因素分析,如表 3 所示,T、N、M 分期和 IGFBP-3 是影响食管鳞癌总生存率的独立预后因素($P < 0.05$)。然而肿瘤长度、性别对总生存率的影响未见统计学意义。

3 讨 论

放射治疗是目前局部晚期食管鳞癌的重要治疗手段之一,由于肿瘤生物学自身异质性因素的影响,尽管某些食管鳞癌患者具有相同的病理类型和临床分期,但常会表现出不同的疾病发展趋



A: Weak IGFBP-3 staining in an ESCC case (case 10), in which approximately 40% of ESCC cells stain positively for IGFBP-3 protein in the cytoplasm ($\times 200$). B: Strong IGFBP-3 staining in an ESCC case (case 16), in which approximately 80% of ESCC cells stain positively for IGFBP-3 protein in the cytoplasm ($\times 200$). C: Low expression of IGFBP-3 in a normal esophageal mucosa specimen ($\times 200$). D: High expression of IGFBP-3 in a normal esophageal mucosa specimen ($\times 200$). E: 7/10 ESCC cases displayed low expression of IGFBP-3 by Western blotting compared with adjacent non-malignant esophageal tissue (N1-10).

图 1 免疫组织化学法检测食管鳞癌组织标本中 IGFBP-3 表达情况

Fig.1 Immunohistochemical analysis of IGFBP-3 staining

表1 IGFBP-3 与食管鳞癌临床病理参数之间的关系

Table 1 Association of IGFBP-3 expression with patient's clinicopathological features in ESCC

Variable	All cases	IGFBP-3 expression		P-value ¹⁾
		High expression	Low expression	
Age / years ²⁾				0.069
> 60	57	29 (50.9%)	28 (49.12%)	
≤60	13	3 (39.0%)	10 (76.9%)	
Gender				0.484
Male	45	20 (44.4%)	25 (55.6%)	
Female	25	12 (48.0%)	13 (52.0%)	
Location				0.722
Cervical	9	5 (55.6%)	4 (44.4%)	
Thoracic	61	24 (39.3%)	34 (55.7%)	
Tumor size / cm ³⁾				0.585
>6	22	9 (40.9%)	13 (59.1%)	
≤6	48	23 (47.9%)	25 (52.1%)	
T stage				0.003
T1-2	19	14 (73.7%)	5 (26.3%)	
T3	31	14 (45.2%)	17 (54.8%)	
T4	20	4 (20.0%)	16 (80.0%)	
N stage				0.021
N0	21	14 (66.7%)	7 (33.3%)	
N1	49	18 (36.7%)	31 (63.3%)	
M stage				0.006
M0	50	28 (56.0%)	22 (44.0%)	
M1-lym ⁴⁾	20	4 (20.0%)	16 (80.0%)	
Clinical stage				0.003
II	19	14 (73.7%)	5 (26.3%)	
III	31	14 (45.2%)	17 (54.8%)	
IV	20	4 (20.0%)	16 (80.0%)	
Survival status				0.01
Alive	20	14 (70.0%)	6 (30.0%)	
Dead	50	18 (36.0%)	32 (64.0%)	
RT response				< 0.001
CR	24	20 (83.3%)	4 (16.7%)	
No CR	46	12 (26.1%)	34 (73.9%)	

IGFBP-3; insulin-like growth factor binding protein-3; ESCC: esophageal squamous cell carcinoma; WHO: World Health Organization. 1) χ^2 -Test; 2) mean age; 3) mean tumor size; 4) distant lymph node metastases.

势和预后情况。有研究报道, P53 蛋白、血管内皮生长因子和环氧合酶-2 等与食管癌放疗敏感存在相关性, 但由于缺乏足够循证医学证据, 目前临床仍没有得到广泛应用^[8-10]。

表2 单因素分析食管鳞癌临床病理参数和 IGFBP-3 的表达与预后的关系

Table 2 Clinical pathological parameters and expression of IGFBP-3 for prognosis of 70 ESCC patients by univariate survival analysis (Log-rank test)

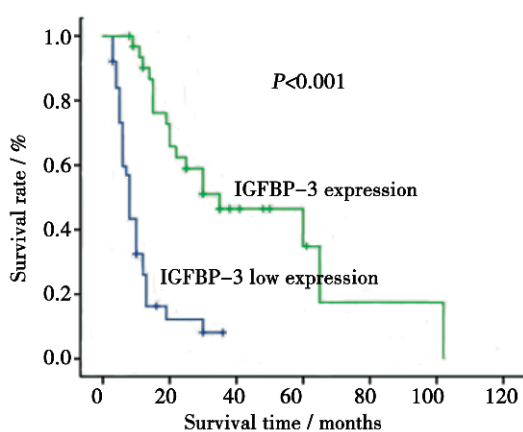
Variable	All cases	Mean survival /months	Median survival /months	P-value ¹⁾
Age / years ²⁾				0.739
>60	57	29.2	13	
≤60	13	19	18	
Gender				0.036
Male	45	19.4	13	
Female	25	46.4	24	
Location				0.316
Cervical	9	31.9	19	
Thoracic	61	26.8	13	
Tumor size / cm ³⁾				0.028
> 6	22	14.3	13	
≤ 6	48	33.7	20	
WHO grade				0.721
G1	9	28.4	19	
G2	29	28	12	
G3-4	32	24	18	
T stage				<0.001
T1-3	50	37	17	
T4	20	16.7	12	
N stage				0.003
N0	21	32.4	18	
N1	49	23.4	14	
M stage				0.006
M0	50	33.9	19	
M1-lym ⁴⁾	20	15.1	12	
Clinical stage				0.067
II	19	41.8	25	
III	31	25.3	13	
IV	20	15.1	12	
IGFBP-3 expression				<0.001
High expression	32	44.6	25	
Low expression	38	10.9	10	

IGFBP-3 是胰岛素样生长因子结合蛋白家族中的一员, 是循环血液中胰岛素样生长因子(IGF) I 和 II 的主要载体蛋白^[11]。近年来, 研究发现 IGFBP-3 与许多人类疾病, 如肿瘤、糖尿病、营养不良的发生发展相关, 其抗癌活性受到越来越多的关注^[12]。IGFBP-3 可通过 IGF 依赖的和非 IGF

表 3 多因素分析食管鳞癌临床病理参数与总生存率的关系

Table 3 Multivariate analysis on overall survival (Cox regression model)

Variable	β	Relative risk	95% Confidence interval	P-value ¹⁾
Gender	0.433	0.649	(0.32-1.31)	0.229
Tumor size	0.206	0.814	(0.399-1.659)	0.82
IGFBP-3 expression	-1.328	0.265	(0.130-0.541)	<0.001
T stage	0.933	0.393	(0.206-0.750)	0.005
N stage	0.699	0.497	(0.249-0.993)	0.038
M stage	0.787	0.455	(0.222-0.935)	0.032



High expression of IGFBP-3 in 70 ESCC patients treated with RT alone was associated with prolonged overall survival ($P < 0.001$; log-rank test).

图 2 食管鳞癌与 IGFBP-3 表达关系的生存分析

Fig.2 Kaplan-Meier survival analysis

依赖的两种方式抑制肿瘤细胞的复制、生长、增殖、转移。一方面 IGFBP-3 通过竞争抑制 IGF-I 与其受体 IGF-I R 结合,可部分阻断 IGF-I 的促肿瘤细胞的有丝分裂和抑制凋亡效应^[13]。Nickerson 等报道用重组 IGFBP-3 处理乳腺癌 MCF-7 细胞后,出现明显细胞凋亡^[14]。Kei yoshino 等人研究提示 IGFBP-3 具有增强放疗,诱导细胞凋亡和提高食管癌放疗敏感性的作用,IGFBP-3 siRNA 干扰后的食管癌细胞放疗敏感性显著下降^[15]。近期,有研究发现 EGFR 抑制剂尼妥珠单抗可以通过上调 IGFBP-3 的表达影响食管鳞癌细胞对顺铂和放疗的敏感性,沉默 IGFBP-3 基因后,尼妥珠单抗未能再表现出明显的放化疗增敏作用,提示 IGFBP-3 在 EGFR 信号通路所介导的调节食管癌放化疗敏感性中担当重要的抑癌基因作

用^[16]。因此,我们推测 IGFBP-3 可以成为预测食管鳞癌放疗敏感性的分子指标。然而,迄今 IGFBP-3 与接受单纯放疗的食管鳞癌患者的放疗疗效和预后关系的临床研究未见文献报道。

本研究中,我们发现在食管鳞癌活检组织中 IGFBP-3 呈现高表达的例数有 32 例(比例为 45.7%)。应用 western blot 技术检测 10 对食管鳞癌新鲜手术标本及癌旁无瘤组织的标本,结果显示 70% 患者食管鳞癌 IGFBP-3 的表达水平明显低于相应的癌旁组织(比例为 30%, $P < 0.05$)。Wang 等^[17]应用酶联免疫吸附试验和免疫组化试验检测了 57 例非小细胞肺癌患者的血清和组织,发现其 IGFBP-3 表达水平比正常人的血清和组织低。与我们实验结果相似。我们根据食管鳞癌患者临床病理参数分析得出,IGFBP-3 高表达患者放疗有效率为 83.3%,显著高于低表达患者的 16.7%($P < 0.001$),且 3 年生存率为 43.75%,低表达患者 3 年生存率仅为 15.8%($P < 0.001$)。单因素和多因素分析均提示 IGFBP-3 是影响食管鳞癌总生存率的独立预后因素之一($P < 0.05$)。因此,本研究结果提示,IGFBP-3 表达水平与食管鳞癌患者的放疗疗效和生存预后均有相关性,IGFBP-3 高表达患者接受放射治疗后疗效较佳,预后较好。IGFBP-3 高表达患者放疗敏感性较高,接受放射治疗更能获益。

然而 IGFBP-3 影响食管鳞癌放疗敏感性的分子机制仍不清楚。2010 年 Kim 等^[18]报道在 MCF-7 人乳腺癌细胞中 IGFBP-3 能通过抑制 CDK2 和 CDK4,导致细胞周期停滞在 G1 期。Wu 等^[19]报道在 786-0, A549, 和 MCF-7 细胞中,IGFBP-3 通过下调 cyclinE1 和上调 P21 蛋白的表达,诱导细胞周期停滞在 G1/S 期来调节细胞凋亡效应。由于在细胞周期中处于不同时相的细胞对放疗的敏感性表现不同,G2/M 期最敏感,S 期最不敏感,G1 期相对敏感。我们推测 IGFBP-3 是否通过调节细胞周期蛋白,使肿瘤细胞停滞在放疗相对敏感的 G1/S 期,促进细胞放疗增敏和凋亡效应,抑制肿瘤成长。当然,相关分子机制需要我们进一步研究。

本研究通过选取共 70 例接受单纯放疗的食管鳞癌病例活检组织标本,采用免疫组织化学方法检测放疗前组织的 IGFBP-3 的表达情况,分析其表达水平与放疗疗效和预后的关系。我们发现,IGFBP-3 高表达与患者放疗疗效和预后呈正相

关,食管鳞癌组织的IGFBP-3表达水平对预测患者放疗敏感性、疗效和预后均具有重要的意义,同时为临床工作中放疗敏感人群的筛选提供理论依据。

参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(1): 11-20.
- [3] Song H, Pan B, Yi J, et al. Featured article: autophagic activation with nimotuzumab enhanced chemosensitivity and radiosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2014, 239(5): 529-541.
- [4] Rice TW, Rusch VW, Apperson-Hansen C, et al. Worldwide esophageal cancer collaboration [J]. *Dis Esophagus*, 2009, 22(1): 1-8.
- [5] Liu H, Lu L, Zhu Q, et al. Cervical nodal metastases of unresectable thoracic esophageal squamous cell carcinoma characteristics of long-term survivors after concurrent chemoradiotherapy [J]. *Radiother Oncol*, 2011, 99(2): 181-186.
- [6] Guo BH, Zhang X, Zhang HZ, et al. Low expression of Mel-18 predicts poor prognosis in patients with breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(12): 2361-2369.
- [7] Xiong J, Yang Q, Kang J, et al. Simultaneous isolation of DNA, RNA, and protein from *Medicago truncatula L* [J]. *Electrophoresis*, 2010, 32(2): 321-330.
- [8] Silveira AP, Da Silva Manoel-Caetano F; Aoki S Gene mutations and polymorphisms of TP53 and FHIT in chronicoesophagitis and esophageal carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(5): 1685-1690.
- [9] Rades D, Golke H, Schild SE, et al. Impact of VEGF and VEGF receptor 1 (FLT1) expression on the prognosis of stage III esophageal cancer patients after radiochemotherapy[J]. *Strahlenther Onkol*, 2008, 184(8): 416.
- [10] Huang WZ, Fu M, Wang DK, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with chemoradiotherapy resistance and prognosis in esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. *Dis Esophagus*, 2008, 21(8): 679.
- [11] Butt AJ, Firth SM, King MA, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 modulates expression of bax and bcl-2 and potentiates p53-independent radiation-induced apoptosis in human breast cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(50): 39174-39181.
- [12] Ekstrom K, Salemyr J, Zachrisson I, et al. Normalization of the igf-igfbp axis by sustained nightly insulinization in type 1 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(6): 1357-1363.
- [13] Baxter RC. Insulin-like growth factor (IGF) binding proteins: Interactions with igfs and intrinsic bioactivities [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000, 278(6): E967-976.
- [14] Nickerson, Huynh H, Pollak M. Insulin-like growth factor binding protein-3 induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cell[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 237(3): 690-693
- [15] Kei Y, Satoru M, Souichi K, et al. IGFBP3 and BAG1 enhance radiation-induced apoptosis in squamous esophageal cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [J]. 2011, 404(4): 1070-1075.
- [16] Zhao L, He LR, Xi M, et al. Nimotuzumab promotes radiosensitivity of EGFR-overexpression esophageal squamous cell carcinoma cells by upregulating igfbp-3 [J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 249.
- [17] Zhigang W, Zheng W. Expression and clinical significance of IGF-1, IGFBP-3, and IGFBP-7 in serum and lung cancer tissues from patients with non-small cell lung cancer[J]. *Onco Targets and Therapy*, 2013, 6: 1437-1444.
- [18] Kim HS, Ingermann AR, Tsubaki J, et al. Insulin-like growth factor-binding protein 3 induces caspase-dependent apoptosis through a death receptor-mediated pathway in mcf-7 human breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(6): 2229-2237.
- [19] Wu C, Liu X, Wang Y, et al. Insulin-like factor binding protein-3 promotes the g1 cell cycle arrest in several cancer cell lines [J]. *Gene*, 2013, 512(1): 127-133.

(编辑 王晓鹰)