

胃肠道间质瘤中 IGF 和 IGFR 的表达及意义

王 林, 李海刚, 林敏玲, 曾韵洁, 沈溪明
(中山大学附属第二医院病理科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】研究 IGF1、IGF2 和 IGF1R、IGF2R 的表达及与胃肠道间质瘤(GISTs)临床病理学特征的关系及其相互间的相关性。【方法】应用免疫组化 SABC 法检测 55 例胃肠道间质瘤中 IGF1、IGF2 和 IGF1R、IGF2R 的表达情况,结合临床病理学资料(性别、组织学分型、肿瘤直径、组织学分级及部位)分组比较并进行统计学分析。【结果】55 例 GISTs 中 IGF1、IGF2 和 IGF1R、IGF2R 阳性表达率分别为 61.8%(34/55)、49.1%(28/55)和 10.9%(6/55)、18.2%(10/55)。不同肿瘤直径及组织学分级之间 IGF1 和 IGF2 的阳性率有显著性差异($P < 0.05$),但与性别、组织学分型及部位无关($P > 0.05$)。IGF1 和 IGF2、IGF1R 和 IGF1、IGF1R 和 IGF2、IGF2R 和 IGF2 的表达均呈正相关($P < 0.05$)。【结论】IGF 在 GISTs 的发生和增殖中发挥作用,可能为 GISTs 良恶性的判断提供依据。IGF1R 和 IGF2R 可能通过调节 IGF1、IGF2 在 GISTs 中的表达发挥作用,但并不是惟一的决定因素。

关键词:胃肠道间质瘤;胰岛素样生长因子 I;临床病理学;免疫组织化学

中图分类号:R735, R392.114

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2008)01-0067-05

Expression of Insulin-like Growth Factor and Insulin-like Growth Factor Receptor in Gastrointestinal Stromal Tumors and Their Significance

WANG Lin, LI Hai-gang, LIN Min-ling, ZENG Yun-jie, SHEN Xi-ming

(Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 512120, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the expression of insulin-like growth factor 1(IGF1), IGF2, insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R), IGF2R and their clinicopathologic significance in gastrointestinal stromal tumors (GISTs), and the correlation between IGFs and IGFRs. 【Methods】Immunohistochemical method SABC was used to detect the expression of IGF1, IGF2, IGF1R, and IGF2R in 55 cases of GISTs. The relationship between the positive rate and clinicopathologic data (including sex, histological subtype, tumor size, histological grade and localization) was analyzed. 【Results】Of 55 cases of GISTs, 34 cases were found positive for IGF1 (61.8%), 27 cases for IGF2 (49.1%), 6 cases for IGF1R (10.9%), and 10 cases for IGF2R (18.2%). Significant difference in the positive rate of IGF1 or IGF2 was found among different tumor size or histological grade groups ($P < 0.05$). No significant difference was found among different groups of sex, histological subtype, and localization ($P > 0.05$). Close correlation was found between IGF1 and IGF2, IGF1R and IGF1, IGF1R and IGF2, IGF1R and IGF2R, IGF2R and IGF2 ($P < 0.05$), respectively. 【Conclusion】IGF1 and IGF2 play some roles in pathogenesis and proliferation in GISTs, which may be used as an objective index for distinguishing malignant from benign GISTs. IGF1R and IGF2R may play some roles by regulating expression of IGF1 and IGF2 in GISTs, but not the only decisive factor.

Key words: gastrointestinal stromal tumors; insulin-like growth factor I; clinicopathology; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008,29(1):67-71]

收稿日期:2007-02-26

作者简介:王 林(1973-),女,汉族,山东济宁人,硕士,主治医师,主要从事临床病理学研究. E-mail:gzdwanlin@126.com

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是发生于消化道最常见的间叶性肿瘤。GISTs源于多潜能的卡哈尔间质细胞样的前体细胞^[1],CD117和CD34的免疫组化染色是目前诊断GISTs较为可靠的方法。由于GISTs的生物学行为难以预测^[2],我们希望找到一些与GISTs恶性潜能相关的客观指标,从基因水平探讨GISTs发生和发展的规律,进而指导临床治疗和判断预后。细胞凋亡调控基因IGF和IGFR是近年来肿瘤学研究的热点。本研究应用免疫组化法检测55例GISTs中IGF1(insulin-like growth factor)、IGF2和IGF1R(insulin-like growth factor receptor)、IGF2R的表达,并分析其与临床病理学特征的关系及相关性。目前国内外尚未见GISTs与IGF关系的相关报道。

1 材料与方法

1.1 材料

选择中山大学附属第二医院病理科2000年~2004年原发于消化道、原诊断为胃肠道平滑肌(肉)瘤或富于细胞平滑肌瘤、神经鞘瘤的病例共68例,经过CD117和CD34检测证实为胃肠道间质瘤的标本55例,参考侯英勇^[3]提出的诊断标准,55例GISTs中,良性12例,潜在恶性20例,恶性23例;发生于胃25例,肠20例,其它部位(包括食道、盆腔、肠系膜)10例;男24例,女31例;年龄34~78($S=54$)岁;梭形细胞型39例,上皮细胞型7例,混合细胞型9例;肿瘤小于5 cm 22例,肿瘤大于5 cm 33例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测 55例胃肠道间质瘤标本均经40 mL/L甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μ m连续切片,经过脱蜡水化,采用SABC法进行免疫组织化学染色。具体操作步骤简述如下:石蜡切片常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,置于30 mL/L的 H_2O_2 中5 min,消除组织内源性过氧化物酶,EDTA修复液中微波修复10 min,冷却后PBS洗3次。滴加正常山羊血清,室温孵育30 min,以封闭特异性抗原。甩去多余的液体后,滴加一抗,稀释度为1:100至1:50,37℃孵育1 h。PBS洗3次,滴加生物素标记的二抗,37℃孵育30 min。PBS洗3次,加入LSAB复合物,37℃孵育30 min。PBS洗

3次,DAB显色,苏木素复染。IGF1、IGF2和IGF1R、IGF2R单克隆抗体购自博士德生物工程有限公司。实验中以PBS代替一抗作为阴性对照,已知的阳性组织(子宫内膜)作为阳性对照。

1.2.2 结果判定 IGF1、IGF2和IGF1R、IGF2R以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性细胞,阳性细胞数超过肿瘤细胞总数的10%计为阳性,少于10%计为阴性。

1.3 统计学分析

采用SPSS8.0软件进行统计学分析,根据不同要求分别进行了Mann-Whitney检验、Kruskal-Wallis检验和Spearman等级相关分析, $P < 0.05$ 时有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF1在GISTs中的表达

55例GISTs中,34例(61.8%)IGF1阳性表达(图1a)。通过Mann-Whitney检验和Kruskal-Wallis检验,IGF1的表达率与GISTs肿瘤直径及组织学分级有关(表1),肿瘤直径大于5 cm组IGF1的阳性表达率(75.8%)明显高于小于5 cm组的阳性表达率(40.1%, $P=0.01$)。潜在恶性组和恶性组的IGF1阳性表达率分别为60.0%及82.6%明显高于良性组的25.0%($P=0.004$)。结果显示,良性组和恶性组之间IGF1的阳性表达率有显著性差异($P=0.001$),但良性组和潜在恶性组之间、潜在恶性组和恶性组之间IGF1的表达率均无显著性差异($P > 0.05$)。不同性别、组织学分型及部位之间IGF1的表达率也无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 IGF2在GISTs中的表达

55例GISTs中,27例(49.1%)IGF2阳性表达(图1b)。通过Mann-Whitney检验和Kruskal-Wallis检验,IGF2的表达率与GISTs肿瘤直径及组织学分级有关(表1),肿瘤直径大于5 cm组IGF2的阳性表达率(66.7%)明显高于小于5 cm组的阳性表达率(22.7%, $P=0.002$)。潜在恶性组和恶性组的IGF2阳性表达率分别为50.0%及73.9%,明显高于良性组的0表达($P=0.000$)。结果显示,良性组和恶性组之间IGF2的阳性表达率有显著性差异($P=0.000$),良性组和潜在恶性组之间IGF2的阳性表达率有显著性差异($P=0.004$),但潜在恶性组和恶性组之间IGF2的表达率无显著性

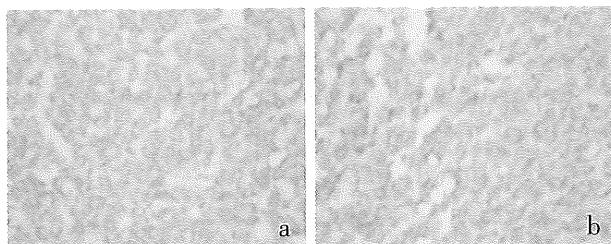


图 1 胃肠道间质瘤细胞中 IGF1 及 IGF2 表达阳性
Fig.1 Positive expression of IGF1 (a) and IGF2 (b) in GIST tissues ($\times 400$)

差异($P > 0.05$)。不同性别、组织学分型及部位之间 IGF2 的表达率也无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 IGF1R 和 IGF2R 在 GISTs 中的表达

55 例 GISTs 中, IGF1R 的阳性率为 11.0%, IGF2R 的阳性率为 18.2%。通过 Mann-Whitney 检验和 Kruskal-Wallis 检验, 不同性别、部位、肿瘤直径在小于或大于 5 cm 之间、不同组织学分型及分级之间 IGF1R 和 IGF2R 的表达率均无显著性差异($P > 0.05$, 表 1)。

表 1 IGF1、IGF2 及 IGF1R 和 IGF2R 在 GISTs 中的表达与临床病理学特征的关系
Table 1 Expression of IGFs and IGF1Rs in GISTs and clinicopathologic significance

	n	IGF1		P	IGF2		P	IGF1R		P	IGF2R		P
		-	+		-	+		-	+		-	+	
Sex													
Male	24	9	15		12	12		21	3		19	5	
Female	31	12	19	0.928	16	15	0.906	28	3	0.741	26	5	0.657
Histological type													
Spindle type	39	14	25		22	17		34	5		32	7	
Epithelioid type	7	4	3		1	6		6	1		5	2	
Mixed type	9	3	6	0.543	5	4	0.121	9	0	0.520	8	1	0.671
Diameter of tumor													
≤ 5 cm	22	13	9		17	5		19	3		18	4	
> 5 cm	33	8	25	0.010	11	22	0.002	30	3	0.600	24	6	1.000
Histological grade													
Benign	12	9	3		12	0		12	0		11	1	
Latent malignant	20	8	12		10	10		17	3		16	4	
Malignant	23	4	19	0.004	6	17	0.000	20	3	0.389	15	5	0.605
Organ													
Stomach	25	10	15		15	10		23	2		22	3	
Intestines	20	6	14		10	10		17	3		16	4	
Else	10	5	5	0.556	3	7	0.281	9	1	0.756	7	3	0.450

2.4 IGFs 和 IGF1Rs 之间的关系

经 Spearman 等级相关分析, IGF1 和 IGF2 ($r=0.323$, $P=0.016$)、IGF1R 和 IGF1 ($r=0.275$, $P=0.042$)、IGF1R 和 IGF2 ($r=0.356$, $P=0.008$)、IGF1R 和 IGF2R ($r=0.440$, $P=0.001$)、IGF2R 和 IGF2 ($r=0.386$, $P=0.004$) 的表达均呈正相关。

3 讨 论

GISTs 的概念是 Mazur 等于 1983 年根据肿瘤的分化特征提出来的。联合应用 CD117 和 CD34 的免疫组化分析已成为目前诊断 GISTs 最为可靠

的方法^[2], 但对于 GISTs 良恶性的判断和预后的指标一直是近年来研究的热点。现已明确, 肿瘤的发生不仅是细胞异常增殖的结果, 还与细胞凋亡有密切的关系。

3.1 胰岛素样生长因子家族的组成及作用机制

胰岛素样生长因子家族包括 IGF1 和 IGF2 及其受体, IGF1 和 IGF2 主要通过 IGF1R, 构成内分泌或旁分泌环路而发挥作用。IGF1R 属于受体酪氨酸激酶(RTK), 配体与受体的结合引起受体分子的两个 α 、 β 亚基之间的别构作用, 激活了受体的酪氨酸激酶活性, 引起胞内区多个酪氨酸的自我磷酸化, 经过一系列信号转导, 激活细胞内

mRNA 转录并调节蛋白质的合成,从而发挥促进细胞增殖的作用。肿瘤细胞的浸润性生长与 IGF1R 的表达有密切的关系,随着 IGF1R 表达增强,肿瘤浸润能力增强。几乎所有细胞都需要多种生长因子来维持,当去除生长因子或受体时,不可避免地会发生细胞凋亡^[4]。

3.2 GISTs 中 IGFs 的表达及作用机制探讨

IGFs 是调节细胞增殖、分化和转化的关键因素,在肿瘤,尤其是乳腺癌、前列腺癌和结肠癌的发生中起着重要的作用。肿瘤细胞不断进行有丝分裂的能力和抗凋亡作用主要依赖与细胞表面 IGFs 因子的结合能力^[5]。已有的研究证明 IGF1 具有抗凋亡的作用^[6]。本实验中,55 例 GISTs 中 IGF1 的阳性率为 61.8%,IGF2 的阳性率为 49.1%,提示 GISTs 中有 IGFs 参与作用。良性组、潜在恶性组和恶性组之间 IGF1 和 IGF2 的阳性率存在显著性差异,IGF1 和 IGF2 在潜在恶性组和恶性组 GISTs 中表达率较高,而在良性组中表达较低,但潜在恶性组和恶性组之间无统计学意义,提示在 GISTs 由良性向恶性转变的过程中,在细胞恶性增生更加活跃的同时,细胞自发凋亡可能也增加。因此,可以认为 IGF 表达高提示增加了恶性潜能。本实验发现肿瘤直径大于 5 cm 组和小于 5 cm 组之间 IGF1 和 IGF2 的阳性率存在显著性差异,提示 IGFs 阳性的 GISTs 可能具有更高的细胞增殖能力,即 IGFs 可能在 GISTs 的发生和增殖中发挥作用。我们推测 IGF 的作用机制可能是通过与 IGFR 构成自分泌或旁分泌环路而发挥作用,抑制卡哈尔间质细胞样的前体细胞凋亡,使细胞数不断增加,增加基因突变的机会,从而促使 GISTs 肿瘤的发生。

3.3 IGFRs 的作用机制及反义策略

IGF1R 介导 IGF1 和 IGF2 的生物学作用,IGF1R 在大多数转化细胞中均有表达,具有抗凋亡和促进细胞生长的作用^[7,8]。肿瘤细胞表面的 IGF1R 的表达水平增高可能是导致肿瘤细胞恶性增殖和转移的主要原因^[9],一旦 IGF1R 缺乏,肿瘤细胞将发生凋亡^[10]。其他生长因子受体如表皮生长因子受体、血小板源性生长因子受体大多也需要有功能性 IGF1R 存在下才能发挥其促分裂和转化能力,因此利用 IGF1R 的反义策略,可区别正常细胞和肿瘤细胞,对恶性肿瘤的治疗有重要的临床价值^[11]。Burfeind 等^[12]采用反义技术阻

断 IGF1R 的表达,能够抑制鼠前列腺癌细胞的生长及转移。抗 IGF1R 单克隆抗体作用于肿瘤细胞表面,使肿瘤细胞表面过度表达的 IGF1R 被单抗封闭,使之不能与环境中外源性 IGF1 结合,促进肿瘤细胞凋亡^[13]。这预示 IGF1R 不但可以作为评价肿瘤生物学行为的一种辅助指标,而且作为肿瘤的辅助治疗将会是今后很有前景的研究方向。IGF2 的作用通过与非信号的 IGF2R 相结合来调节,这种结合由 IGF2R 的细胞外多功能 11 区来介导^[5]。

3.4 GISTs 中 IGFRs 的表达、作用机制及进一步研究设想

本实验中,55 例 GISTs 中 IGF1R 的阳性率为 11.0%,IGF2R 的阳性率为 18.2%,提示在 GISTs 肿瘤的发生中有 IGF1R 和 IGF2R 参与作用。但良性、潜在恶性和恶性组之间 IGF1R 和 IGF2R 的阳性率无显著性差异。等级相关分析证实,IGF1R 和 IGF1、IGF1R 和 IGF2、IGF1R 和 IGF2R,IGF2R 和 IGF2、IGF1 和 IGF2 的表达均呈正相关,说明在 GISTs 由良性向恶性转变的过程中,IGF1R 和 IGF2R 可能通过与 IGF1、IGF2 之间的交互调节发挥作用,但 IGF1R 和 IGF2R 并不是惟一的决定因素,可能尚有其他因素参与作用。已有的文献提示 IGF1R 水平由一些因素共同作用来调节(如肽类、类固醇激素、生长因子等)和细胞内因素(如转录因子、癌基因和抑癌基因)。许多肿瘤抑制因子通过转录水平抑制 IGF1R 基因的表达,从而减少细胞表面 IGF1R 的表达和 IGF1 的作用。肿瘤抑制因子功能区的缺失突变(肿瘤中经常发生)能够阻断 IGF1R 基因的表达^[14]。IGF1R 和 IGF2R 在 GISTs 恶性转化中的作用是否受到其他特定因素的调节?这些调节因子是通过哪些机制来发挥作用?这将是我们的下一步研究的方向。

参考文献:

- [1] 柳萍,那加,王颖,等. 胃肠道间质瘤的光镜、免疫组织化学和超微结构的观察 [J]. 中华病理学杂志, 2002, 31(3): 199-203.
- [2] Gelen T, Elpek GO, Aksoy NH, et al. p27 labeling index and proliferation in gastrointestinal stromal tumors: correlations with clinicopathologic factors [J]. Jap J Clin Oncol, 2003, 33(7): 346-352.
- [3] 侯英勇,王坚,朱雄增,等. 胃肠道间质瘤 76 例的临床病理及免疫组织化学特征 [J]. 中华病理学杂志

- 志, 2002, 31(1):20-25.
- [4] Coppola D, Ferber A, Miura M, et al. A functional insulin-like growth factor I receptor is required for the mitogenic and transforming activities of the epidermal growth factor receptor [J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 4588-4595.
- [5] Roche P, Brown J, Denley A, et al. Computational model for the IGF-IL/IGF2r complex that is predictive of mutational and surface plasmon resonance data [J]. *Proteins*, 2006, 64(3):758-768.
- [6] Wang YJ, Shi Q, Sun P, et al. Insulin-like growth factor-1 treatment prevents anti-Fas antibody-induced apoptosis in endplate chondrocytes [J]. *Spine*, 2006, 31(7):736-741.
- [7] 黄建荣, 刘尚礼, 宋卫东, 等. 胰岛素样生长因子 I 与透明质酸对人胚关节软骨细胞表型的影响 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2002, 23(6):419-422.
- [8] 储照虎, 费世早, 马领松, 等. 脑出血大鼠脑组织 IGF-1 的表达及其对细胞凋亡的影响 [J]. *中华神经医学杂志*, 2006, 5(11):1102-1104.
- [9] Blakesley VA, Stannard BS, Kalebic T, et al. Role of the IGF-1 receptor in mutagenesis and tumor promotion [J]. *Endocrinology*, 1997, 152(3):339-344.
- [10] Resnicoff M, Abraham D, Yutanawiboonchai W, et al. The insulin-like growth factor I receptor protects tumor cells from apoptosis in vivo [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(11):2463-2469.
- [11] Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor: a key to tumor growth [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(2): 249-252.
- [12] Burfeind P, Chernicky CL, Rininsland F, et al. Antisense RNA to the type I insulin like growth and prevents invasion by rat prostate cancer cells in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(14):7263-7268.
- [13] Sun HZ, Wu SF, Tu ZH. Knockdown of IGF-IR by Antisense Oligodeoxynucleotide augments the sensitivity of bladder cancer cells to mitomycin [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(9):841-846.
- [14] Werner H, Maor S. The insulin-like growth factor-I receptor gene: a downstream target for oncogene and tumor suppressor action [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2006, 17(6):236-242.
- (编辑 徐 杰)

(上接第 66 页 from page 66)

参考文献:

- [1] Cicco G, Panzersa PC, Catalano G, et al. Microcirculation and reperfusion injury in organ transplantation [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2005, 566(2): 363-373.
- [2] 王国栋, 马 毅, 朱晓峰, 等. 冷缺血损伤后大鼠移植肝内细胞因子的变化 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2006, 27(5):65-68.
- [3] Taub R. Liver regeneration: From myth to mechanism [J]. *Nat Rev Mol cell Biol*, 2004, 5(10):836-847.
- [4] 王国栋, 马 毅, 陈规划. 改良的套叠缝合重建肝动脉的大鼠原位肝脏移植模型 [J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(9):1088-1089.
- [5] Fan ST. Live donor liver transplantation in adults [J]. *Transplantation*, 2006, 82(6):723-732.
- [6] Renz JF, Yersiz H, Reicher PR, et al. Split-liver transplantation: A review [J]. *Am J Transplant*, 2003, 3(11):1323-1335.
- [7] Yamada Y, Kirillova I, Peschon JJ, et al. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor: Deficient liver regeneration in mice lacking type I tumor necrosis factor receptor [J]. *Pro Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(11):1441-1444.
- [8] Cressman DE, Greenbaum DE, Angels RA, et al. Liver failure and defective hepatocyte, regeneration in interleukin-6-deficient mice [J]. *Science*, 1996, 274(5291):1379-1383.
- [9] Selzner N, Selzner M, Tian Y, et al. Cold ischemia decreases liver regeneration after partial liver transplantation in the rat: A TNF-alpha/IL-6-dependent mechanism [J]. *Hepatology*, 2002, 36(4 Pt 1):812-818.
- [10] Sun R, Jaruga B, Kulkarni S, et al. IL-6 modulates hepatocyte proliferation via induction of HGF/p21cip1: regulation by SOCS3 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(4):1943-1949.
- [11] Jin X, Zimmers TA, Perez EA, et al. Paradoxical effects of short- and long-term IL-6 exposure on liver injury and repair [J]. *Hepatology*, 2006, 43(3):474-484.
- (编辑 徐 杰)