

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2009.09.012

# Twist、IGF-1 在大肠癌中的表达及其意义

吴露露<sup>1</sup>,周士福<sup>1</sup>,齐晓薇<sup>2</sup>,顾纪明<sup>1</sup>

## Expression and Significance of Twist and IGF-1 in Colorectal Carcinomas

WU Lu-lu<sup>1</sup>, ZHOU Shi-fu<sup>1</sup>, QI Xiao-wei<sup>2</sup>, GU Ji-ming<sup>1</sup>

1. Department of General Surgery, The Fourth Affiliated Hospital of Soochow University, Wuxi 214062, China; 2. Department of Pathology

Corresponding Author: ZHOU Shi-fu, E-mail: zzzsssff@medmail.com.cn

**Abstract: Objective** To investigate the expression of Twist and IGF-1 in colorectal carcinomas and the relation with clinical and pathological factors, and to analyze the interaction of Twist and IGF-1 on nosogenesis of colorectal carcinomas and the prognosis of patients. **Methods** Immunohistochemical SP methods was adopted to examine the expression of Twist and Immunohistochemical SABC methods was adopted to examine the expression of IGF-1 in colorectal carcinomas (48 cases) and paracancerous normal tissues (24 cases). **Results** The positive rates of Twist and IGF-1 in colorectal carcinomas (47.92% and 64.58%) were significantly higher than those in paracancerous normal tissues (12.50% and 16.67%). The overexpression of Twist and IGF-1 were significantly related with the tumor differentiation, the depth of invasion, lymph node metastasis and the Dukes stage. The overexpression of Twist was also significantly related with the 5 year survival state. The expression of Twist in colorectal carcinomas was obviously related with IGF-1. **Conclusion** The expression of Twist and IGF-1 may play a cooperative role in the infiltration and metastasis of colorectal carcinomas. The positive expression of Twist indicates poor prognosis and provide a valuable reference for the decision of prognosis.

**Key words:** Twist; IGF-1; Colorectal carcinoma; SP; SABC Immunohistochemistry

**摘要:目的** 检测 Twist、IGF-1 蛋白在大肠癌中的表达,分析与临床病理学因素的关系,探讨两者在大肠癌发病机制中的相互作用以及与患者预后的关系。**方法** 选取不同类型的大肠癌组织 48 例,癌旁 5cm 以上的正常组织 24 例,采用 SP 法检测 Twist、SABC 法检测 IGF-1 的表达。**结果** 在大肠癌组织中 Twist、IGF-1 的阳性表达率分别为 47.92%、64.58%,均显著高于癌旁正常组织中的 12.50%、16.67%。Twist、IGF-1 在大肠癌组织中的表达与肿瘤的浸润程度、淋巴结转移、Dukes 分期显著相关, Twist 的表达还与患者 5 年生存情况有显著的相关性。Twist 和 IGF-1 在大肠癌组织中的表达呈明显相关性。**结论** Twist、IGF-1 可能协同作用参与大肠癌的浸润、转移,同时 Twist 阳性表达提示预后不良,对判断大肠癌患者的预后有一定的参考价值。

**关键词:** Twist; IGF-1; 大肠癌; SP; SABC 免疫组织化学

**中图分类号:** R735.3<sup>+</sup>4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2009)09-0759-03

## 0 引言

大肠癌是近二三十年来发病率和死亡率在世界大多数国家和地区上升最快的肿瘤之一。近年研究发现, Twist、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)通过不同途径及相互作用影响细胞的增殖与凋亡,在肿瘤的侵袭、远处转移、新生血管生成与肿瘤的形成、分级、恶性程度等方面起着重要的作用。本研究主要探讨

Twist、IGF-1 在大肠癌发生、发展过程中的作用,以及在临床及病理诊断中的应用价值,为进一步深入研究大肠癌的发生、发展机制及判断预后提供一些理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院肿瘤外科 2003 年 1 月~6 月手术切除的经病理证实为大肠癌的标本 48 例作为实验组,任意选取癌旁 5 cm 以上的经病理学证实的正常组织 24 例作为健康对照组,48 例中年龄最小者 34 岁,最大者 78 岁,平均 53 岁;高中分化腺癌 31 例,低分化腺癌 17 例;伴有淋巴结转移者 27 例,无淋巴

收稿日期:2008-10-27;修回日期:2009-02-19

作者单位:1. 214062 江苏无锡市第四人民医院肿瘤外科, 2. 病理科

通信作者:周士福, E-mail: zzzsssff@medmail.com.cn

作者简介:吴露露(1982-),男,硕士,主要从事胃肠肿瘤的研究

结转移者 21 例;按 Dukes 分期:A 期 8 例,B 期 13 例,C 期 19 例,D 期 8 例。

### 1.2 试剂

鼠抗人 Twist 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司,IGF-1、SABC 免疫组织化学染色试剂、通用二抗、DAB 显色液、磷酸盐缓冲液(PBS)均购自武汉博士德生物技术有限公司。

### 1.3 免疫组化染色

所有标本均经 10%福尔马林固定,石蜡包埋,4  $\mu\text{m}$ 厚连续切片。石蜡切片常规脱蜡,PBS 液冲洗, Twist 采用免疫组织化学 SP 法染色,所用抗 Twist 抗体浓度为 1:200。IGF-1 采用免疫组织化学 SABC 法染色,染色步骤按试剂盒说明书操作。以 PBS 溶液代替一抗做空白对照,以排除假阳性结果。

### 1.4 染色结果判断

Twist 蛋白主要表达于细胞质中,少数细胞核中也有表达,以细胞呈清晰的棕色或棕褐色为阳性,以细胞无棕褐色或与背景一致的极淡的棕色为阴性;IGF-1 表达于胞膜和胞质,染色呈清晰的棕黄色视为阳性,以细胞无棕黄色或与背景一致的浅黄色为阴性。在高倍视野下随机选取 10 个视野,阳性细胞数 $<10\%$ (-),阳性细胞数 $<25\%$ (+),阳性细胞数 $25\% \sim 50\%$ (++),阳性细胞数 $>50\%$ (+++ )。

### 1.5 统计学方法

所有数据采用 SPSS 13.0 进行统计学分析。计数资料采用  $\chi^2$  值检验, Twist 和 IGF-1 的相关性采用 Spearman 秩和检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线法,并进行 Log-rank 检验。

### 1.6 随访

采用电话的形式随访患者的预后及生存情况。

## 2 结果

### 2.1 随访结果

48 例患者中,生存时间在 5 年及以上的有 17 例,失访 1 例(截止到术后 39.1 月),死于其他疾病或原因的 7 例。

### 2.2 Twist、IGF-1 在大肠癌组织中的表达

Twist 在大肠癌组织中阳性率为 47.92%(23/48),显著高于癌旁正常组织的 12.50%(3/24),经统计学分析差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。IGF-1 在大肠癌组织中阳性率为 64.58%(31/48),显著高于癌旁正常组织的 16.67%(4/24),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(图略)。

### 2.3 大肠癌组织中 Twist、IGF-1 的表达及与临床病理特征的关系

Twist、IGF-1 在大肠癌组织中的表达与肿瘤组织的浸润程度、淋巴结转移情况及 Dukes 分期有关( $P < 0.05$ ),而与肿瘤组织的大小、分化程度、及患者的年龄、性别无关( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 2.4 大肠癌组织中 Twist、IGF-1 表达之间的相互关系

在大肠癌组织中, Twist 的阳性表达随着 IGF-1 阳性表达的增加而相应的提高,见表 2。经 Spearman 等级相关分析,大肠癌组织中 Twist 与 IGF-1 的表达呈显著正相关( $r = 0.481, P < 0.05$ )。

### 2.5 大肠癌组织中 Twist、IGF-1 表达与患者预后的关系

Kaplan-Meier 生存曲线表明: Twist 阳性表达组的 5 年生存率明显低于阴性表达组(Log-rank 检验  $\chi^2 = 4.873, P = 0.027$ )见图 1, IGF-1 阳性表达组的 5 年生存率也低于阴性表达组,但无统计学意义(Log-rank 检验  $\chi^2 = 0.276, P = 0.599$ )见图 2。大肠癌患者的 5 年生存率和 Twist 有关,和 IGF-1 却无明显的关系。

## 3 讨论

Twist 是一种癌基因蛋白,对凋亡起调节作用<sup>[1]</sup>。近期一些研究证实某些上皮来源的肿瘤细胞发生上皮-间叶变(epithelial mesenchymal transition, EMT)时有 Twist 参与,同时 Twist 基因在肿瘤进展中能独立诱导一系列间充质标志物产生<sup>[2]</sup>。在绝大多数恶性肿瘤中都存在有 EMT,造成 E-Cadherin 表达下调,其介导的细胞-细胞黏附功能的削弱或丧失<sup>[3]</sup>。本实验中,大肠癌组织中 Twist 阳性率为 47.92%,癌旁正常组织中阳性率为 12.50%,两者的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),这与其他研究者在乳腺癌和前列腺癌的研究结果相一致<sup>[4-6]</sup>。通过分析 Twist 与临床病理特征的关系发现: Twist 的阳性表达率随着大肠癌的浸润深度的加深而增高( $P < 0.05$ ),说明 Twist 参与了大肠癌的进展;在有些有淋巴结转移的病例中发现,肿瘤纤维包膜中有少量 Twist 表达,提示肿瘤。生存分析显示, Twist 阳性表达组的 5 年存活率明显低于 Twist 阴性表达组( $P < 0.05$ ),这与刘婷等<sup>[7]</sup>研究结果: Twist 蛋白表达阳性胃癌组 5 年生存率较阴性组差相一致。由此可见 Twist 在对大肠癌的恶性程度的评估及术后生存时间的预测有一定的参考意义。

IGF-1 是由 70 个氨基酸组成的单链多肽,其一级结构与胰岛素有很高的同源性。IGF-1 在细胞的有丝分裂中起重要作用,是细胞从  $G_1$  期向 S 期转变中所必需的因子; IGF-1 还通过自分泌和旁分泌

表 1 Twist、IGF-1 在大肠癌组织中的表达与临床病理特征的关系

Table 1 The expression of Twist and IGF-1 in colorectal carcinomas and the relation with clinicopathologic features

Item	n	Positive expression of Twist				Positive expression of IGF-1			
		n	Positive rates (%)	$\chi^2$	P	n	Positive rates (%)	$\chi^2$	P
Age(years)									
<45	15	7	46.67	0.014	>0.05	11	73.33	1.576	>0.05
>45	33	16	48.48			20	60.61		
Gender									
Male	25	13	52.00	0.349	>0.05	16	64.00	0.008	>0.05
Female	23	10	43.48			15	65.22		
Tumor size(cm)									
<5	19	7	36.84	1.545	>0.05	10	52.63	1.964	>0.05
≥5	29	16	55.17			21	72.41		
Differentiation									
Well, Medorate	31	13	41.94	1.255	>0.05	18	58.06	1.626	>0.05
Poor	17	10	58.82			13	76.47		
Depth of invasion									
Not to serosa	22	6	27.27	6.936	<0.05	9	40.91	9.952	<0.05
To serosa	26	17	65.38			22	84.62		
Lymph node metastasis									
Yes	27	18	66.67	8.694	<0.05	22	81.48	8.586	<0.05
No	21	5	23.81			9	42.86		
Dukes stage									
A + B	21	5	23.81	8.694	<0.05	9	42.86	8.586	<0.05
C + D	27	18	66.67			22	81.48		

表 2 Twist、IGF-1 在大肠癌组织中表达的关系

Table 2 The correlations of expression of Twist and IGF-1 in colorectal carcinomas

Twist	n	IGF-1			
		-	+	++	+++
-	25	11	8	5	1
+	6	4	1	1	0
++	7	1	0	4	2
+++	10	1	1	3	5
Total	48	17	10	13	8

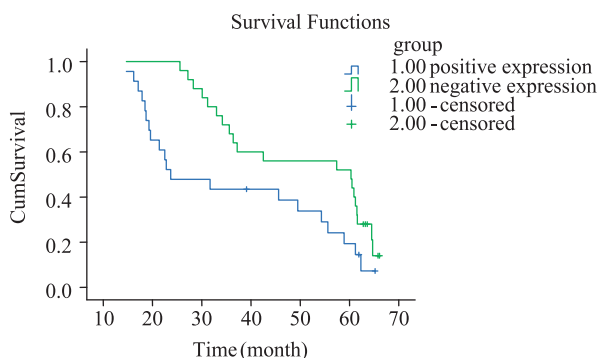


图 1 Twist 阳性表达组与阴性表达组的 Kaplan-Meier 生存曲线

Figure 1 Kaplan-Meier survival curves of positive and negative expression of Twist

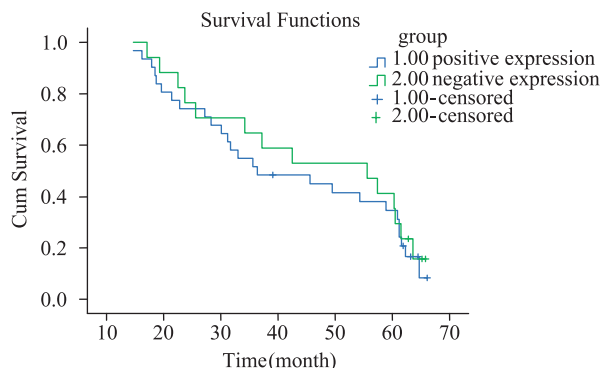


图 2 IGF-1 阳性表达组与阴性表达组的 Kaplan-Meier 生存曲线

Figure 2 Kaplan-Meier survival curves of positive and negative expression of IGF-1

方式对骨、肌肉、皮肤、神经等组织细胞增殖、分化起重要作用,对维持人和动物的正常生长十分重要。最近有研究发现,循环中 IGF-1 的浓度增高也与结肠癌、乳腺癌及肝癌的发生、发展相关。本研究中 IGF-1 在大肠癌组织的阳性表达率为 64.58%,显著高于癌旁正常组织的 16.67%,经统计学分析两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。另外还发现 IGF-1 的阳性表达与大肠癌的 Dukes 分期、有淋巴结转移、浸润程度密切相关( $P < 0.05$ ),杨琳等<sup>[8]</sup>研究结

(下转第 765 页)