

# IGF1 和 IGF2 表达与非小细胞肺癌淋巴结转移的相关性

廖永德<sup>1</sup>, 赵金平<sup>1</sup>, 周 晟<sup>2</sup>, 付圣灵<sup>3</sup>, 万燕青<sup>4</sup>, Mayer Doris<sup>5</sup>

**The Correlation between IGF1, IGF2 Expression and Lymph Node Metastasis in Non-small Cell Lung Cancer**

LIAO Yong-de<sup>1</sup>, ZHAO Jin-ping<sup>1</sup>, ZHOU Cheng<sup>2</sup>, FU Sheng-ling<sup>3</sup>, WAN Yan-qing<sup>4</sup>, MAYER Doris<sup>5</sup>

1. Department of Thoracic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China, 2. Department of Pathology, 3. Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology; 4. Department of Surgery, People Hospital of Dongxihu District in Wuhan, 5. Hormones and Signal Transduction Group, German Cancer Research Centre (DKFZ)

**Abstract :Objective** To investigate the expression of insulin-like growth factors (IGF1 and IGF2, or IGFs) in non-small cell lung cancer (NSCLC) as well as the correlation between IGFs expression and regional lymph node metastasis. **Methods** The expression of IGF1 and IGF2 was investigated in 65 specimens from patients with NSCLC (29 cases contained normal lung tissue adjacent to cancer) and in 19 specimens from patients with benign lung diseases by immunohistochemistry and western blotting. **Results** IGF1 and IGF2 were overexpressed in NSCLC compared to benign lung tissues. The expression of IGF1 and IGF2 was significantly higher in NSCLC with metastasis to regional lymph node than those without metastasis to regional lymph node. Furthermore, the expression of IGF1 and IGF2 was significantly higher in NSCLC with N2-stage or with metastasis to 5 or more regional lymph nodes than those only with N1-stage or with metastasis to less than 5 regional lymph nodes. In addition, IGF2 expression was statistically higher in NSCLC with multiple groups of metastatic regional lymph node than those only with single group of metastatic regional lymph node. **Conclusion** The overexpression of IGFs in NSCLC was positively correlative to lymph node metastasis, with respect to the stations, numbers and groups of metastatic regional lymph node, it indicates that IGFs may play an important role in the initiation and progression of NSCLC; the expression of IGFs may be valuable in evaluation of the biological behavior of NSCLC.

**Key words**: Non-small cell lung cancer (NSCLC); Metastasis; Insulin-like growth factor 1 (IGF1); Insulin-like growth factor 2 (IGF2); Immunohistochemistry

**摘要**:目的 研究胰岛素样生长因子 1 和 2 (IGF1、IGF2, 合称为 IGFs) 在非小细胞肺癌 (NSCLC) 组织中的表达, 探讨其与 NSCLC 区域淋巴结转移的关系。方法 采用免疫组织化学和免疫印迹技术检测 IGF1 和 IGF2 在 65 例 NSCLC、29 例癌旁肺组织和 19 例良性肺病变组织中的表达。结果 IGF1 和 IGF2 在 NSCLC 中的表达率显著高于良性肺组织。IGF1 和 IGF2 在伴有区域淋巴结转移肺癌中的表达显著高于无淋巴结转移肺癌组织。IGF1 和 IGF2 在伴有 N2 或 5 个转移淋巴结肺癌组织中的表达显著高于在仅伴有 N1 或 < 5 个转移淋巴结肺癌组织。IGF2 在伴有多组转移淋巴结肺癌组织中的表达显著高于仅有一组转移淋巴结肺癌组织。结论 IGFs 不仅在 NSCLC 中过表达, 而且与区域淋巴结转移的部位、数量及组数相关联, 提示 IGFs 在 NSCLC 发生和发展中可能起重要作用, IGFs 为 NSCLC 生物学行为尤其是淋巴结转移的判断提供一个新的有意义的指标。

收稿日期: 2005-11-07; 修回日期: 2005-12-23

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金 ([2005] 55)、湖北省自然科学基金资助项目 (2004ABA194)

作者单位: 1. 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胸外科; 2. 病理科; 3. 华中科技大学同济医学院; 4. 武汉市东西湖区人民医院外科; 5. 德国癌症研究中心 (DKFZ) 激素与信号传导研究组

作者简介: 廖永德 (1966-), 男, 博士, 副教授, 主要从事激素与肿瘤及肺癌预后方面的研究

关键词: 非小细胞肺癌; 转移; 胰岛素样生长因子 1; 胰岛素样生长因子 2; 免疫组织化学

中图分类号: R734.2 文献标识码: A

文章编号: 1000-8578 (2006) 12-0868-04

0 引言

区域淋巴结转移是影响非小细胞肺癌(NSCLC)预后的重要因素<sup>[1-3]</sup>,其发生受到某些肿瘤相关基因的调控。胰岛素样生长因子(Insulin-like growth factor, IGF)包括两个类型,即 IGF1 和 IGF2(合称为 IGFs),它们促进细胞增殖并抑制凋亡,在肿瘤发生和发展中的作用越来越受关注<sup>[4]</sup>。最近研究表明,IGFs 在肺癌的发生和发展中可能起重要作用<sup>[5-7]</sup>,但有关 IGFs 蛋白在 NSCLC 中表达与淋巴结转移的关系尚无报道。为此,本研究采用免疫组织化学方法及免疫印迹技术检测 IGF1 和 IGF2 在 NSCLC 组织中的表达,并探讨其与淋巴结转移的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

65 例肺癌标本为武汉同济医院 1999~2001 年因原发性肺癌而手术切除标本。所有病例术前未行放疗或化疗,无代谢性疾病。男 35 例,女 20 例;年龄 36~71(57 ±8.9)岁;鳞癌 37 例,腺癌 28 例。按 P-TNM 分类标准(UICC,1997): 期 21 例, 期 14 例, 期 21 例, 期 9 例。伴有区域淋巴结转移 41 例(为 N1 或 N2 转移,无 N3 转移病例),无转移 24 例。29 例切片中含有癌旁肺组织。以同期手术切除的 19 例肺良性病变组织(非癌性)作对照;其中,男 14 例,女 5 例;肺炎性假瘤 9 例,支气管扩张症 6 例,肺错构瘤 2 例,肺平滑肌瘤 2 例。每例标本离体后分成 2 小份;1 份甲醛固定后石蜡包埋,1 份液氮速冻后转 -80 冰箱保存。用石蜡标本做连续切片,其中 1 张行 HE 染色,进一步核实原诊断,并作为组织学诊断标准用于评价 IGF1 和 IGF2 免疫组织化学染色。

淋巴结标本:肺癌区域淋巴结分组方法按 1997 年公布的标准<sup>[1]</sup>。肺癌手术中常规清扫胸内区域淋巴结,按暴露的先后和容易程度及术者的习惯,在肺叶切除术中,一般先清扫 1、10 组和部分 9、12 组淋巴结;在全肺切除术中,则先清扫 10、9 组和部分 7、5 组淋巴结,切除并移出肺标本后,再剪开纵隔胸膜清扫上、下纵隔各组淋巴结。肺内淋巴结则在术后从肺标本中取出。各组淋巴结标记后分别送病理检查,以诊断有无癌转移。

1.2 免疫组织化学染色

采用抗生物素-生物素-碱性磷酸酶标记的免疫染色法(ABC-AP 法)。切片脱蜡水化,置入柠檬酸缓冲液内,用高压锅加热达满压力后再持续 1.5s。冷却,TBS 缓冲液冲洗。血清封闭后,分别滴加鼠

抗人单克隆 IGF 抗体(美国 Upstate Biotechnology 产品):抗 IGF1 抗体 Clone Sm 1.2,浓度为 5μg/ml;抗 IGF2 抗体 Clone S1F2,浓度为 8.3μg/ml。4 冰箱过夜。加生物素化猴抗鼠 IgG(德国 Dianova 产品)。加抗生物素碱性磷酸酶复合物(美国 Vector Laboratories Inc 产品)。以 AS-BI 磷酸盐萘酚作为底物,以新品红作为色原体显现组织中的免疫反应。常规脱水、透明、封片。每次实验设阳性和阴性对照。IGFs 免疫组织化学反应的评价标准:无着色或弱着色细胞 <5%为阴性;明显着色且着色细胞 5%为阳性。

1.3 免疫印迹技术

采用显微分离技术,将冷冻标本中的恶性肺组织分离并融化。将蛋白质混合物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳展开,再电转印于 PVDF 膜上。用与免疫组织化学染色相同的抗 IGF1 或 IGF2 抗体(浓度均为 1μg/ml)与膜在室温下孵化 2h。再与过氧化物酶标记的抗鼠 IgG 抗体(1:2 000)作用。采用增强化学发光法检测膜免疫反应条带。

1.4 分组与统计分析

将病例按淋巴结转移情况分为有或无淋巴结转移组;其中,有淋巴结转移组参照文献[3]并结合本研究资料分布特点,进一步按淋巴结分期分为 N1 和 N2 组,按转移淋巴结个数分为 <5 和 5 个淋巴结转移组,按淋巴结转移组数分为一组和多组转移。用卡方检验检测组间 IGF1 和 IGF2 表达的差异性,如 P<0.05,则认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF1 和 IGF2 免疫反应特性

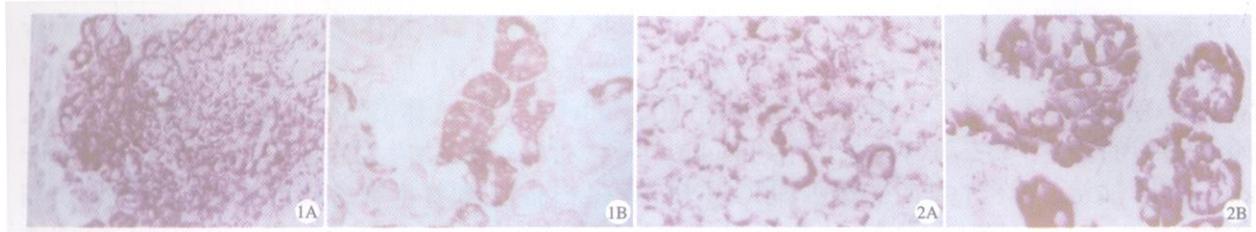
与阳性对照结果一致,IGF1 和 IGF2 在肺组织中的表达位于胞浆,见图 1、2。在阴性对照组织中无 IGF1 或 IGF2 着色。免疫印迹实验在免疫组织化学 IGF1 和 IGF2 阳性对应肺癌组织中分别检测出对应分子量为 7.7 和 7.5kDa 的蛋白条带,见图 3。

2.2 IGF1、IGF2 在良性肺组织和肺癌组织中的表达

IGF1 和 IGF2 在肺良性病变组织中的表达率为 15.8%(3/19)和 21.0%(4/19),在癌旁肺组织中的表达率为 13.8%(4/29)和 20.7%(6/29),在肺癌组织中的表达率为 44.6%(29/65)和 50.8%(33/65)。IGF1、IGF2 在良性肺病变组织和癌旁肺组织中的表达无显著性差异,但均显著低于肺癌组织中的表达(IGF1 的 P 分别为 0.0228 和 0.0038,IGF2 的 P 分别为 0.0217 和 0.0063)。

2.3 IGF1、IGF2 表达与肺癌淋巴结转移的关系

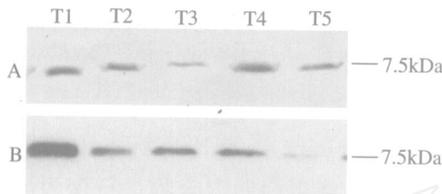




1A:IGF1 在肺鳞癌中表达(ABC-AP 法 ×250);2A:IGF2 在肺鳞癌中表达(ABC-AP 法 ×350)  
1B:IGF1 在肺腺癌中表达(ABC-AP 法 ×300);2B:IGF2 在肺腺癌中表达(ABC-AP 法 ×300)

图1 IGF1 在 NSCLC 组织中表达

图2 IGF2 在 NSCLC 组织中表达



用免疫组织化学 IGF1 或 IGF2 阳性的肺癌组织(T)做免疫印迹实验,检测出分子量为 7.7kDa(A)或 7.5kDa(B)的蛋白条带;T1~T5:病例序号

图3 免疫印迹实验检测结果

IGF1 和 IGF2 在伴有区域淋巴结转移肺癌中的表达显著高于无淋巴结转移肺癌组织。IGF1 和 IGF2 在伴有 N2 或 5 个转移淋巴结肺癌组织中的表达显著高于在仅伴有 N1 或 < 5 个转移淋巴结肺癌组织。IGF2 在伴有多组淋巴结转移肺癌组织中的表达显著高于仅有一组淋巴结转移肺癌组织,但 IGF1 在伴有一组或多组淋巴结转移肺癌组织中的表达无统计学意义,见表 1。

表1 IGF1、IGF2 表达与非小细胞肺癌淋巴结转移的关系

淋巴结转移	例数	IGF1 阳性		P	IGF2 阳性		P
		例数	%		例数	%	
有	41	23	56.1	0.0149	26	63.4	0.0077
无	24	6	25.0		7	29.1	
N1	18	7	38.9	0.0495	8	44.4	0.0257
N2	23	16	69.6		18	78.2	
< 5 个	19	7	36.8	0.0210	9	47.3	0.0474
5 个	22	16	72.7		17	77.3	
一组	15	6	40.0	0.1146	6	40.0	0.0181
多组	26	17	65.3		20	76.9	

### 3 讨论

本研究所用一抗是抗人 IGF1 和 IGF2 单克隆抗体,其特异性已在很多研究中得到证实。本研究采用阳性、阴性对照方法也证实了所做免疫反应和所使用抗体的特异性,此外,采用相同的抗体做免疫印迹实验,能在免疫组织化学 IGF1 和 IGF2 阳性的组织中检测出特异性的 IGF1 和 IGF2 蛋白条带,进一步证实了本研究结果的特异性。

研究发现 IGFs mRNA 在人非小细胞肺癌体外培养细胞系<sup>[6]</sup>和人体肺癌组织<sup>[5,8]</sup>中表达。与之相符,本研究发现,IGFs 蛋白在 NSCLC 中过表达,这些结果提示 IGFs 在肺癌的发生过程中可能发挥重要作用。

本研究发现,IGF1 和 IGF2 表达在有淋巴结转移组显著高于无淋巴结转移组(P 分别为 0.0149 和 0.0077),提示 IGFs 在肺癌转移中可能起重要作用。肿瘤生长、浸润和转移的基本要素和先决条件是瘤细胞不断增殖的能力。IGFs 通过自分泌和旁分泌方式在肺癌组织中表达,与胰岛素样生长因子 I 受体结合后激活 MAPK 和 PI3K/AKT 两条重要的信号传导通路,促进肺癌细胞增殖和抗凋亡<sup>[4,7,9]</sup>。我们的研究<sup>[10]</sup>和最近不少研究<sup>[4,7-9]</sup>表明,这两条信号通路在肺癌发生和发展中起重要作用,甚至可能是治疗肺癌的有效靶点。事实上,IGFs 对包括肺癌细胞在内的许多肿瘤细胞具有强有力的刺激增殖作用<sup>[4,6,7]</sup>。因此,IGFs 通过促进细胞增殖和抗凋亡在 NSCLC 转移中可能起着重要作用。

此外,本研究在进一步分析 IGFs 表达与 NSCLC 淋巴结转移部位的关系时发现,伴有 N2 淋巴结转移肺癌的 IGFs 表达显著高于仅伴 N1 淋巴结转移肺癌,进一步提示 IGFs 在肺癌转移中起重要作用,这一结果反过来也为肺癌淋巴结分期提供分子生物学依据。但目前的淋巴结分期标准仅考虑淋巴结转移的部位及范围,而没有考虑转移淋巴结的数量;研究表明,肺癌的预后与淋巴结转移的部位和数量均显著相关<sup>[2,3]</sup>。本研究发现,IGFs 在伴有 5 个或以上转移淋巴结肺癌组织中的表达显著高于仅伴有 5 个以下转移淋巴结肺癌组织;相似地,IGFs 在伴有多组淋巴结转移肺癌组织中的表达显著高于仅有一组淋巴结转移肺癌组织,提示 IGFs 表达与淋巴结转移的部位、范围、数量及组数均有关系,因此,检测 IGFs 表达将有助于判断肺癌的生物学行为。

综上所述,IGFs 不仅在非小细胞肺癌中过表达,而且与其区域淋巴结转移相关联,提示 IGFs 在

NSCLC 发生和发展中可能起重要作用, IGFs 为肺癌生物学行为尤其是淋巴结转移的判断提供一个新的有意义的指标。

**参考文献:**

[1] Mountain CF, Dresler CM. Regional lymph node classification for lung cancer staging[J]. Chest, 1997, 111(6):1718-1723.  
 [2] Fabrice A, Dominique G, Jean-pierre P, et al. Survival of patient with resected N2 non-small-cell lung cancer: evidence for a subclassification and implication[J]. J Clin Oncol, 2000, 18(16):2981-2989.  
 [3] 赵怡桌, 廖美琳, 何卫中. 非小细胞肺癌区域淋巴结转移数量对预后的影响[J]. 肿瘤, 2001, 21(5):349-352.  
 [4] Grimberg A, Cohen P. Role of insulin-like growth factors and their binding proteins in growth control and carcinogenesis[J]. J Cell Physiol, 2000, 183(1):1-9.  
 [5] 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.  
 [6] Quinn KA, Treston AM, Unsworth EJ, et al. Insulin-like growth factor expression in human cancer cell lines[J]. J Biol Chem, 1996, 271(19):11477-11483.  
 [7] Moorehead RA, Sanchez OH, Baldwin RM, et al. Transgenic overexpression of IGF-II induces spontaneous lung tumors: a model for human lung adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2003, 22(6):853-857.  
 [8] Pavelic J, Pavelic L, Karadza J, et al. Insulin-like growth factor family and combined antisense approach in therapy of lung carcinoma[J]. Mol Med, 2002, 8(3):149-157.  
 [9] Chun KH, Kosmeder JW 2nd, Sun S, et al. Effects of deguelin on the phosphatidylinositol 3-kinase/ PKB pathway and apoptosis in premalignant human bronchial epithelial cells[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(4):291-302.  
 [10] 廖永德, 龙庆红, 周晟, 等. 蛋白激酶 B (PKB/AKT) 在肺鳞癌和腺癌中的表达及其临床病理意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(3):156-159.

[编辑:周永红]

· 简讯 ·

## 欢迎订阅《肿瘤防治研究》杂志

《肿瘤防治研究》是我国第一个创刊的独立的全国性肿瘤学术期刊,由中华人民共和国卫生部主管。

本刊为中文核心期刊,中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,是中国期刊全文数据库、中文生物医学期刊文献数据库、中文科技期刊数据库收录期刊。

设有基础研究、临床研究、临床诊断、流行病学、研究简报、技术交流、论著摘要、综述、短篇个案、简讯等栏目。读者对象为肿瘤防治研究工作者及相关专业的高中级医务人员。以报道国内外肿瘤学领域最新进展及临床实践新成果为主。是了解我国肿瘤防治研究领域主要成果的一个重要窗口。

本刊为月刊,每月 25 日出版, A4 开本, 64 页码。每期定价 6.00 元, 全年 72 元。邮发代号:38-70, 国际标准刊号:1000-8578, 国内统一刊号:CN42-1241/R。2007 年的征订工作已经开始, 欢迎订阅, 欢迎投稿。如错过邮局征订, 可直接向本刊编辑部邮订。

地址:武汉市武昌卓刀泉南路 116 号《肿瘤防治研究》编辑部

邮政编码:430079

电话传真:027-87670126

网址: <http://zlfy.chinajournal.net.cn>

E-mail: [zlfzyj@263.net.cn](mailto:zlfzyj@263.net.cn)