

胰岛素样生长因子2的表达对N₂期肺腺癌预后的影响*

张真发 张连民 李 跃 王长利

摘要 目的:本研究探讨了IGF2在N₂期肺腺癌组织中的表达及其对预后的影响。**方法:**回顾性分析90例未行新辅助化疗的N₂期肺腺癌患者情况,利用石蜡标本组织制成组织芯片,行免疫组化检测,研究影响N₂期肺腺癌的预后因素,以及IGF2的表达对预后的影响。**结果:**N₂期肺腺癌手术后的5年生存率与隆突下淋巴结是否转移、T分期及纵隔淋巴结转移站数有关。IGF2在N₂期肺腺癌中表达的阳性率是68.9%。IGF2阳性表达的N₂期肺腺癌的5年生存率为8.0%,IGF2阴性表达的N₂期肺腺癌的5年生存率为18.0%,两者有显著性差异($P=0.034$)。**结论:**N₂期肺腺癌的预后差,影响其预后的临床因素包括T分期、纵隔淋巴结转移站数和隆突下淋巴结转移。IGF2表达有预测N₂期肺腺癌预后的作用。

关键词 肺腺癌 纵隔淋巴结转移 胰岛素样生长因子2

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2011.24.009

Impact of Insulin-like Growth Factor 2 Expression on Prognosis of Lung Adenocarcinoma with Mediastinal Lymphnode Metastasis

Zhenfa ZHANG, Lianmin ZHANG, Yue LI, Changli WANG

Lung Cancer Center, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30801377)

Abstract Objective: Insulin-like growth factor 2 had a high expression in many cancers. In the current paper, the expression of Insulin-like growth factor 2 was investigated and its prognostic significance in lung adenocarcinoma with mediastinal lymph node metastasis was studied. **Methods:** A retrospective immunohistological analysis of specimens of lung adenocarcinoma with mediastinal lymphnode metastasis was conducted. All patients did not have neoadjuvant chemotherapy and/or radiotherapy. The prognostic factors of stage N₂ lung adenocarcinoma and the impact of insulin-like growth factor 2 on the prognosis of patients with stage N₂ lung adenocarcinoma were also studied. **Results:** Factors including T stage, station 7 metastasis, and the number of metastatic stations had an impact on the prognosis of stage N₂ lung adenocarcinoma. The 5-year overall survival of patients with negative and positive expression of insulin-like growth factor 2 were 18% and 8%, respectively ($P = 0.034$). **Conclusion:** The prognosis of stage N₂ lung adenocarcinoma is poor. The prognostic factors of stage N₂ lung adenocarcinoma include the T stage, station 7 metastasis, the number of metastatic stations, and the expression of insulin-like growth factor 2.

Keywords Lung adenocarcinoma; Mediastinal lymph node metastasis; Insulin-like growth factor 2

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor 2, IGF2)也被称为生长调节素,在哺乳动物的生长发育过程中起着重要作用,同时IGF2作为调节多肽,与许多肿瘤的发生和发展密切相关^[1]。

N₂期肺腺癌预后差,一些临床因素与N₂期肺腺癌的预后有关,包括临床诊断纵隔淋巴结转移,纵隔淋巴结转移站数,以及隆突下淋巴结转移等^[2-5]。但是上述临床因素并不能解释所有的N₂期肺腺癌的预后情况,我们认为一些分子水平的改变对N₂期肺腺癌的预后有重要的影响。前期的工作中,行表达谱芯片,研究了单站纵隔淋巴结转移和多站纵隔淋巴结转移的肺癌患者的基因组表达量的改变,发现

IGF2在多站纵隔淋巴结中转移的肺癌患者中表达量高,因此本实验进一步研究IGF2的表达与N₂期肺腺癌预后的关系。

本研究应用90例未经新辅助化疗的N₂期肺腺癌石蜡标本,制成组织芯片,行免疫组化分析IGF2的表达与N₂期肺腺癌预后的关系,并进一步研究影响N₂期肺腺癌预后的临床因素。

1 材料与方法

1.1 材料

选取天津医科大学附属肿瘤医院2000年9月至2005年9月行手术切除的N₂期肺腺癌石蜡标本,制成组织芯片,所有标本经病理证实。所有患者未行新

作者单位:天津医科大学附属肿瘤医院肺部肿瘤科,天津市肺癌诊治中心,天津市肿瘤防治重点实验室(天津市300060)

* 本文课题受国家自然科学基金(编号:30801377)资助

通信作者:王长利 wangchangli@medmail.com.cn

辅助化疗。回顾性分析所有患者的临床资料,术前进行胸部CT、上腹CT或B超、骨ECT、头CT或MRI等检查。病理分型根据2004年WHO分型标准。组织切片经HE染色,光镜下确定富集肿瘤细胞的区域用以制成组织芯片。每个蜡块提取直径0.1 cm的组织用于组织芯片。本研究符合医学伦理相关规定。

1.2 方法

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1.5 s。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Santa Cruz公司产品):抗IGF1抗体浓度为5 $\mu\text{g}/\text{mL}$;抗IGF2抗体浓度为8.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜。加入生物素化猴抗鼠IgG(德国Diano-va产品),抗生物素碱性磷酸酶复合物(美国Vector Laboratories Inc产品)。以ASBI磷酸盐萘酚作为底物,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。

1.3 结果评价

组织芯片染色的范围和强度用以评价结果。染色范围评分:0分为 $<5\%$,1分为 $<33\%$,2分为 $33\% \sim 66\%$,3分为 $>66\%$;染色程度评分:0分为阴性;1分为弱阳性;2分为中等阳性;3分为强阳性。每个标本根据染色的范围和强度的乘积判定阳性结果:1分:乘积为1~3;2分:乘积为4~6;3分:乘积为7~9。0~1分为阴性表达,2~3分为阳性表达。

1.4 统计学分析

应用SPSS 10.0软件进行统计分析。 χ^2 检验用于分析IGF2的表达与临床病理因子的关系。Kaplan-Meier曲线分析各因子与肺腺癌预后的关系,Log-rank检验验证统计学意义。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF2的表达

IGF2阳性表达定位于细胞质,胞浆内可见深染

的棕黄色阳性表达颗粒(图1),IGF2在N₂期肺腺癌中表达的阳性率为68.9%。

2.2 IGF2的表达与肺腺癌预后的关系

本研究共包括90例肺腺癌患者,其中女性66例(73%),男性24例(27%);35例患者单站纵隔淋巴结转移,55例患者多站纵隔淋巴结转移。51例患者(57.6%)有隆突下纵隔淋巴结转移;17例患者(18.9%)有跳跃转移。生存分析显示隆突下淋巴结转移(-)、单站转移及T分期低的患者预后好,IGF2阴性表达的肺腺癌患者5年生存率为18%,IGF2阳性表达的肺腺癌患者5年生存率为8%,IGF2阴性表达的患者预后优于IGF2阳性的N₂期肺腺癌患者($P = 0.034$,图2,表1)

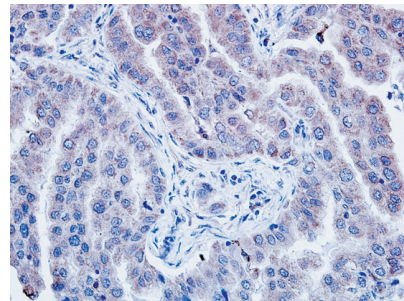


图1 IGF2在N₂期肺腺癌中的表达($\times 400$)

Figure 1 Expression of IGF2 protein in the tissue of lung adenocarcinoma with mediastinal lymphnode metastasis

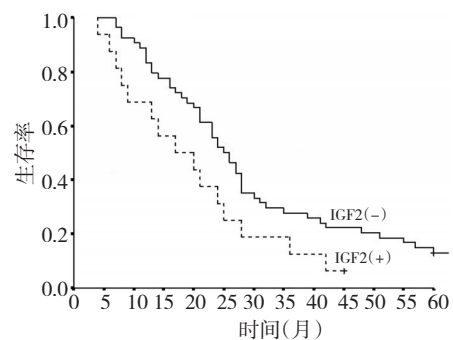


图2 IGF2的表达与N₂期肺腺癌预后的关系

Figure 2 Relationship between the expression of IGF2 and the prognosis of pulmonary adenocarcinoma with mediastinal lymphnode metastasis

表1 各临床病理因子与N₂期肺腺癌预后的关系

Table 1 The significance of clinicopathologic parameters in the prognosis of stage N₂ lung adenocarcinoma

因素	例数	中位生存期/月	5年生存率/%	P	
性别	女性	66	21	18.13	0.283 9
	男性	24	32	20.83	
年龄/岁	≤ 60	50	25	20.00	0.720 3
	> 60	40	21	17.50	
吸烟	是	28	28	21.43	0.184 4
	否	62	20	17.74	

(续表1)

因素	例数	中位生存期/月	5年生存率/%	P	
位置	周围型	53	26	15.09	0.881 7
	中央型	37	23	24.32	
手术	肺叶切除	83	25	16.92	0.798 7
	全肺切除	7	20	24.00	
侧别	左	38	23	18.42	0.563 7
	右	52	24	19.23	
隆突下淋巴结转移	否	39	28	23.53	0.023 3
	是	51	19	12.82	
跳跃转移	否	73	20	31.21	0.083 0
	是	17	33	27.03	
转移站数	单站	35	33	31.43	0.019 4
	多站	55	21	10.91	
IGF2表达	-	28	24	14.89	0.034 0
	+	62	15	9.52	
T分期	T ₁	22	26	18.45	0.047 2
	T ₂₋₃	63	18	10.32	
辅助放疗	-	22	24	17.65	0.075 3
	+	68	20	22.73	

2.3 IGF2的表达与临床病理因素的关系

为进一步明确IGF2的表达与N₂期肺腺癌预后的关系,本实验研究了IGF2的表达与隆突下淋巴结转移、转移站数以及T分期的关系(表2),发现IGF2的表达与上述临床因素无明显相关性,结果提示IGF2的表达为影响N₂期肺腺癌预后的独立的预测因子。

表2 IGF2表达与有预后意义的临床因子的关系 例

Table 2 The correlations between the expression of IGF2 and clinicopathologic parameters of prognostic significance

因素	IGF2		P
	阴性	阳性	
隆突下淋巴结转移			
-	14	25	0.108
+	27	24	
转移站数			
单站	19	16	0.185
多站	22	33	
T分期			
T ₁	13	9	0.142
T ₂₋₃	28	40	

3 讨论

IGF2是由印迹基因IGF2编码的67个氨基酸组成的单链多肽,主要由肝脏合成,可通过自分泌或旁分泌的方式作用于细胞表面的IGF2受体而发挥效应^[6]。IGF2是一种重要的促胚胎细胞生长因子,也是一种促有丝分裂肽,具有促进细胞有丝分裂、胚胎形

成、产后生长发育等作用,生理条件下对胚胎的正常生长发育有重要作用,病理条件下能刺激肿瘤细胞的恶性增殖^[7-8]。近年来研究发现,在肝癌、肺癌、卵巢癌、结肠癌以及白血病等多种肿瘤中都出现了IGF2过表达现象,提示IGF2是肿瘤发生的相关因素^[9-11]。

多个因素可影响N₂期患者的预后,研究显示单站淋巴结转移、跳跃性转移、镜下或者被膜内转移等与N₂期患者的预后呈正相关^[12];Detterbeck等^[13]的研究显示R0切除、跳跃性转移、单站N₂转移、新辅助治疗的有效性、cN₀₋₁等因素与N₂期非小细胞肺癌的预后呈正相关,而性别、组织学类型、肿瘤位置、既往有无其他肿瘤史与预后无明显关系。淋巴结转移复杂程度与肺癌恶性程度呈正比,与预后密切相关^[14]。Cerfolio等^[15]的研究显示:单站N₂及多站N₂期NSCLC的5年生存率分别为40%和25%;Cox回归分析显示多站淋巴结转移与N₂期NSCLC预后呈负相关。Saito等^[16]的研究显示:cN分期与pⅢa/N₂期非小细胞肺癌预后相关性,该研究发现了214例pN₂病例,cN₀、cN₁、cN₂、cN₃亚组的5年生存率分别为30%、34%、14%和0(P=0.04)。多因素分析显示cN₀₋₁与pⅢa/N₂期患者的预后呈正相关。通常认为肺癌淋巴结转移遵循线性模式,Riquet等^[17]总结了731例pN₂期NSCLC病例,结果显示29.2%的N₂期患者发生跳跃性转移,其5年生存率为34.4%,多因素分析提示跳跃性转移与5年生存率呈正相关(P<0.05)。而Cerfolio等^[15]对142例患者进行分析后并未发现跳跃性转移与N₂

期患者的预后呈正相关。

本研究结果显示在有纵隔淋巴结转移的肺腺癌中,隆突下淋巴结转移、T分期以及纵隔淋巴结转移的站数是预后因素。但是这些临床因素并不能解释所有的N₂期肺腺癌的预后情况,一些分子水平的改变可能对N₂期肺腺癌的预后有重要的影响。本研究应用组织芯片技术,研究了IGF2的表达对N₂期肺腺癌预后的影响,发现IGF2的表达对N₂期肺腺癌预后有明显影响,且这种影响与T分期等临床因素无关。本研究对于进一步理解N₂期肺腺癌的预后因素有一定的意义,可以指导N₂期肺腺癌的辅助治疗,IGF2高表达的肺腺癌患者预后差,应该辅以放、化疗等综合治疗模式。

参考文献

- 1 Kaneda A, Feinberg AP. Loss of imprinting of IGF2: a common epigenetic modifier of intestinal tumor risk[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(24): 11236-11240.
- 2 Sakao Y, Miyamoto H, Yamazaki A, et al. The prognostic significance of metastasis to the highest mediastinal lymph node in non-small cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Surg*, 2006, 81(1): 292-297.
- 3 Riquet M, Assouad J, Bagan P, et al. Skip mediastinal lymph node metastasis and lung cancer: a particular N2 subgroup with a better prognosis[J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 79(1): 225-233.
- 4 Andre F, Grunenwald D, Pignon JP, et al. Survival of patients with resected N2 non-small-cell lung cancer: evidence for a subclassification and implications[J]. *J Clin Oncol*. 2000, 18(16): 2981-2989.
- 5 Cerfolio RJ, Bryant AS. Survival of patients with unsuspected N2 (stage IIIA) nonsmall-cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Surg*, 2008, 86(2): 362-367.
- 6 Pavelic K, Kolak T, Kapitanovic S, et al. Gastric cancer: the role of insulin-like growth factor 2 (IGF 2) and its receptors (IGF 1R and M62P/IGF 2R)[J]. *J Pathol*, 2003, 201(3): 430-438.
- 7 Muller S, Zirkel D, Westphal M, et al. Genomic imprinting of IGF2 and H19 in human meningiomas[J]. *Eur J Cancer*, 2000, 36(5): 651-655.
- 8 Cui H, Cruz-Correa M, Giardiello FM, et al. Loss of IGF2 imprinting: a potential marker of colorectal cancer risk[J]. *Science*, 2003, 299(5613): 1753-1755.
- 9 张锋锐,何小兵,杨玉华,等.大肠癌中胰岛素样生长因子2基因的印记状态和表达[J].*中华医学遗传学杂志*,2003,20(1):31-34.
- 10 Kohda M, Hoshiya H, Katoh M, et al. Frequent loss of imprinting of IGF2 and MEST in lung adenocarcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2001, 31(4): 184-191.
- 11 覃江,梁增文,黄振录.胃癌及癌前病变组织中IGF2的表达及意义[J].*广西医科大学学报*,2007,24(5):700-701.
- 12 张真榕,刘德若,郭永庆,等.不同因素对pIIIa/N2期非小细胞肺癌患者预后的影响[J].*中国肺癌杂志*,2010,13(8):781-785.
- 13 Dettnerbeck F. What to do with "Surprise" N2?: intraoperative management of patients with non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(3): 289-302.
- 14 Rocco G. Results of cutting-edge surgery in stage IIIA-N2 nonsmall cell lung cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2009, 21(2): 105-109.
- 15 Cerfolio RJ, Bryant AS. Survival of patients with unsuspected N2 (stage IIIA) nonsmall-cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Surg*, 2008, 86(2): 362-367.
- 16 Saito M, Kato H. Prognostic factors in patients with pathological and N2 non-small cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 14(1): 1-2.
- 17 Riquet M, Assouad J, Bagan P, et al. Skip mediastinal lymph node metastasis and lung cancer: a particular N2 subgroup with a better prognosis[J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 79(1): 225-233.

(2011-08-22 收稿)

(2011-11-03 修回)

(张很校对)

临床病例讨论栏目简介

临床病例讨论是本刊特色栏目之一,重点报道疑难与典型肿瘤病例的诊疗过程,旨在鼓励临床工作者相互交流易误诊、误治或少见、罕见肿瘤和并发症的处理经验,使本专业临床医师从中得到启示与借鉴,提高对疑难病例的辨别与治疗水平。

稿件内容具体要求如下:1)应有完整的病历摘要和详细的检查结果;2)临床讨论部分要有参加讨论的各位医师发言,就讨论的病例提出各自的看法;3)能提供有说服力的图片或病理检查结果,并结合本例患者的特点进行讨论。4)最后的发言要能总结经验教训,为今后的临床工作提供借鉴和参考。

质量优秀的稿件将优先发表刊登。欢迎肿瘤学同仁踊跃来稿!