

IGF-I、OPN、PTEN 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其意义

周颖¹, 买买提·艾力·吾马尔²

新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830054

摘要 探讨胰岛素样生长因子 1 (IGF-I)、骨桥蛋白 (OPN) 和 PTEN 在人非小细胞肺癌中的表达及其相关性, 并分析其与非小细胞肺癌的关系。应用免疫组织化学 SP 法检测 61 例肺癌组织和 30 例癌旁组织中 IGF-I、OPN、PTEN 的表达情况。结果显示, ① 肿瘤组织中 IGF-I、OPN 蛋白表达显著高于癌旁组织 ($P<0.05$), IGF-I 的表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移有关 ($P<0.05$), OPN 的表达与患者肿瘤分化程度、淋巴结转移、TNM 分期有关 ($P<0.05$), 肿瘤组织中 PTEN 蛋白表达明显低于癌旁组织 ($P<0.05$), PTEN 的表达与肿瘤大小、肿瘤组织的分化程度、有无淋巴结转移有关 ($P<0.05$)。② IGF-I 的表达与 OPN 的表达呈正相关 ($P<0.05$), IGF-I、OPN 与 PTEN 的表达呈负相关 ($P<0.05$)。研究表明, IGF-I、OPN、PTEN 蛋白与非小细胞肺癌的发生发展密切相关, 三者的表达对判断肺癌恶性程度和预后具有参考意义。

关键词 非小细胞肺癌; 胰岛素样生长因子 1; 骨桥蛋白; PTEN; 免疫组织化学

中图分类号 R737

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2009)19-0099-05

Significance of Expression of IGF-I, OPN and PTEN Protein in Non-small Cell Lung Cancer

ZHOU Ying¹, WUMAER Maimaiti Aili²

College of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Abstract To investigate the expressions of IGF-I, OPN and PTEN and their correlation with prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC), immunohistochemical staining was used to identify the expression of IGF-I, OPN and PTEN in 61 cases of NSCLC and 30 cases of adjacent non-cancer tissues. In NSCLC cases, the expressions of IGF-I and OPN were higher than those in the adjacent non-cancer tissues ($P<0.05$). The positive rates of IGF-I were closely correlated with the stage of tumor and lymph node metastasis. The positive rates of OPN were closely correlated with the grade of differentiation, lymph node metastasis and TNM staging. In NSCLC cases, the expression of PTEN was lower than those in the adjacent non-cancer tissues ($P<0.05$), the positive rates of PTEN was closely correlated with size of tumor, the grade of differentiation

and lymph node metastasis ($P<0.05$). The expression of IGF-I was correlated positively with that of OPN ($P<0.05$). The expression of IGF-I and OPN were correlated negatively with that of PTEN ($P<0.05$). It is concluded that the expressions of IGF-I, OPN and PTEN are related to the occurrence and progression of NSCLC. And they may serve a valuable index for diagnosing the malignant extent and prognosis of lung cancer

Keywords NSCLC; IGF-I; OPN; PTEN; Immunohistochemical

肺癌是威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一, 在世界范围内肺癌死亡率呈上升趋势。恶性肿瘤的发生是多步骤、多因素参与的过程, 癌基因的激活和抑癌基因的失活在肺癌的发生发展中起重要作用, 当前基因的异常和肿瘤的相关性研究是国内肿瘤分子生物学研究的热点。生长激素-胰岛素样生长因子轴在调控细胞生长以及凋亡中发挥非常重要的作用, 胰岛素样生长因子 I (Insulin-like Growth Factor, IGFs) 作为胰岛素样生长因子家族中的一员, 具有促进细胞增殖、抗凋亡以及促进肿瘤浸润及转移的作用^[1]。骨桥蛋白是一种与恶性转化有关的磷酸化蛋白, 其在肿瘤中过表达与肿瘤细胞转移潜能的增加有关, 骨桥蛋白还选择性参与血管生成, 为恶性肿瘤生长和转移打下基础^[2]。PTEN (又名 MMAC1, TEP1) 是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因, 具有

收稿日期: 2009-09-01

作者简介: 周颖, 研究方向为肿瘤病理学, 电子信箱: zyxiaoxue3784@sina.com; 买买提·艾力·吾马尔 (通信作者), 副教授, 研究方向为肿瘤病理学, 电子信箱: wumaer@163.com

调节细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制肿瘤细胞生长、侵袭转移等主要功能^[3]。本研究运用免疫组织化学 SP 法检测了 61 例手术切除的肺癌和 30 例癌旁组织的石蜡包埋组织中的 IGF-I、OPN 和 PTEN 的表达情况,为进一步探讨其在肺癌的发生、转移中所起的作用,判断肺癌的恶性程度和预后提供思路 and 理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2007 年 1 月至 2009 年 6 月新疆医科大学第一附属医院手术切除的标本共 61 例,年龄 41~78 岁,平均年龄 63 岁;患者术前均未进行任何抗癌治疗,所有临床病例资料完整,其中男性 47 例,女性 14 例,鳞癌 35 例,腺癌 26 例;根据 TNM 分期,I 期 27 例,其中 Ia 14 例,Ib 13 例;II 期 21 例,其中 IIa 2 例,IIb 19 例;III 期 9 例,其中 IIIa 7 例,IIIb 2 例;IV 期 4 例。有淋巴结转移的 32 例,无淋巴结转移的 29 例。另选择同期手术切除癌旁组织(镜下确认无癌细胞浸润及转移)30 例作为对照。

1.2 方法

免疫组化采用 S-P 两步法。鼠抗人 IGF-I 单克隆抗体购自北京中山金桥生物技术有限公司,工作浓度为 1:150。兔抗人 OPN 多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司,工作

浓度为 1:100。鼠抗人单克隆抗体购自北京中山金桥生物技术有限公司,工作浓度为 1:50,均以已知阳性切片作阳性对照,用磷酸缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照。

1.3 结果判断标准

IGF-I 和 OPN 阳性染色均定位于细胞浆中,PTEN 阳性染色定位于细胞核。染色为黄色或棕褐色颗粒。每例均随机观察 5 个高倍视野(400×),对每例切片,半定量积分法判断结果。阳性细胞<5%为 0 分,6%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分;阳性强度黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。两者积分相乘,0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为中度阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。

1.4 统计学方法

运用 PEMS 3.1 软件进行统计学处理,两组之间等级资料的比较采用 Wilcoxon 秩和检验,多组之间等级资料的比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,相关性分析采用配对计数资料分析,采用检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 判为差异有统计学意义。

2 结果与分析

IGF-I、OPN 蛋白在肺癌细胞浆中表达如图 1~图 4 所示,PTEN 蛋白在癌旁肺组织细胞核中表达如图 5 所示。

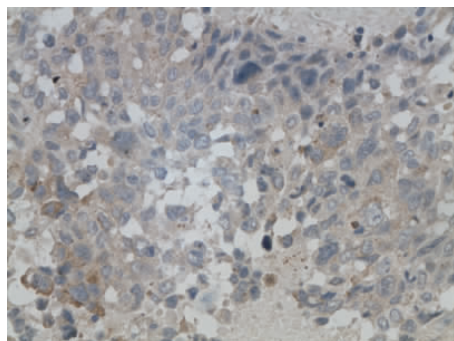


图 1 肺鳞癌 IGF-I 阳性 S-P 法(400×)
Fig. 1 Expression of IGF-I in lung squamous cell carcinoma (400×)

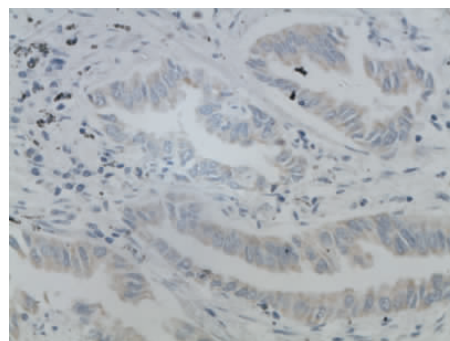


图 2 肺腺癌 IGF-I 阳性 S-P 法(400×)
Fig. 2 Expression of IGF-I in lung adenocarcinoma (400×)

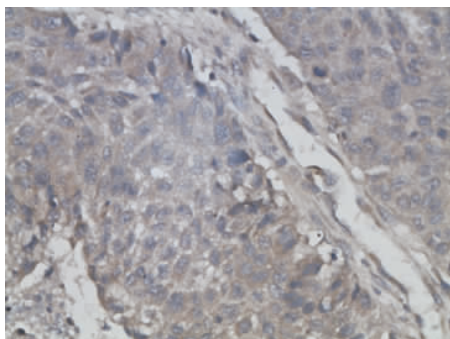


图 3 肺鳞癌 OPN 阳性 S-P 法(400×)
Fig. 3 Expression of OPN in lung squamous cell carcinoma (400×)

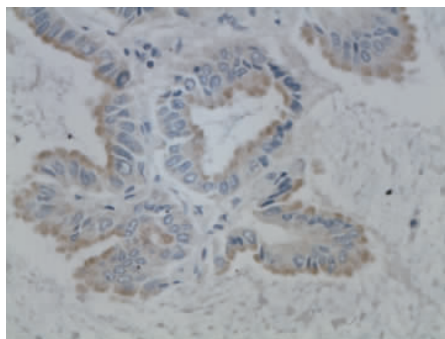


图 4 肺腺癌 OPN 阳性 S-P 法(400×)
Fig. 4 Expression of OPN in lung adenocarcinoma (400×)

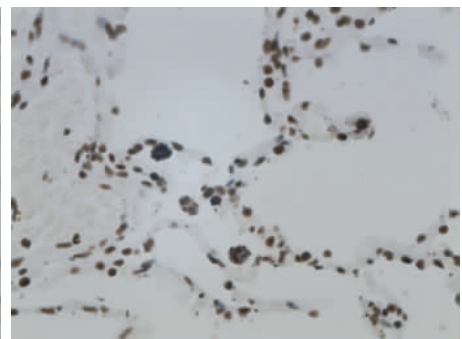


图 5 癌旁组织 PTEN 阳性 S-P 法(400×)
Fig. 5 Expression of PTEN in adjacent non-cancer (400×)

3 讨论

胰岛素样生长因子-I 是胰岛素样生长因子家族中的一员,与其受体结合后参与了肿瘤细胞的凋亡、转化、浸润性生长以及远处转移^[4]。本实验中,IGF-I 在肺癌组织中的表达明显高于癌旁组织,它的表达与肿瘤的分化程度有关,高分化组的阳性率显著低于中低分化组,两组比较有统计学意义 ($P<0.05$),说明恶性程度越大,IGF-I 的表达越强;淋巴结转移组的 IGF-I 阳性表达率明显高于淋巴结未转移组,两组比较有统计学意义 ($P<0.05$),表明 IGF-I 参与了肺癌的进展。这与廖永德等^[5]在非小细胞肺癌中研究的结果一致。

OPN 是一种与恶性转化有关的磷酸化蛋白。人类骨桥蛋白基因位于染色体 4q13 上,其中含有特异的与细胞黏附有关的 RGD(Arg-Gly-Asp)序列,通过其受体整合素、CD44 或可能的其他机制与细胞外基质结合,激活细胞内相关信号通路,从而促进细胞的趋化、黏附和迁移。研究表明,骨桥蛋白的表达与恶性肿瘤的生长、浸润和远处转移有关^[6]。喻钧等^[7]研究表明,OPN 蛋白表达阳性率与患者组织学分型、TNM 分期及有无淋巴结转移密切相关 ($P<0.05$)。桂淑玉等^[8]研究表明,肺癌组织中 OPN 蛋白表达与有无淋巴结转移密切相关,但与组织学类型、TNM 分期无关。本研究表明,OPN 在肺癌组织中的表达明显高于癌旁组织 ($P<0.05$),OPN 表达阳性率与患者肿瘤分化程度、有无淋巴结转移以及 TNM 分期密切相关,而与患者性别、年龄、肿瘤大小无关。三者研究结论不同之处可能与病例选择、实验条件不同有关,但三者相同的结论都是 OPN 表达与淋巴结转移有关,说明 OPN 可能参与了肺癌的发生、发展以及转移,具有明显促进肿瘤向恶性发展的能力。

PTEN 是一种新的抑癌基因,是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因^[9]。*PTEN* 基因定位于染色体 10q23.3,具有调节细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制肿瘤细胞生长、侵袭转移等主要功能。研究表明,肿瘤中 *PTEN* 表达缺失,可使肿瘤细胞脱离正常的调控,从而增殖活性增加,说明 *PTEN* 表达缺失在肿瘤细胞的增殖、分化以及肿瘤浸润转移中起到一定的作用。汤建民等^[9]研究表明 *PTEN* 蛋白表达率在肺癌组织中显著低于正常肺组织,并随分化程度的升高,*PTEN* 蛋白失表达率下降,*PTEN* 失表达率在有淋巴结转移组显著高于无淋巴结转移组。本实验结果显示肿瘤组织越大、分化程度越低,*PTEN* 的失表达率就越高,*PTEN* 在有淋巴结转移组失表达率明显高于无淋巴结转移组,这一结果充分说明 *PTEN* 的失表达多数发生在肿瘤后期,随着肿瘤恶性程度的增加,*PTEN* 的失表达率越高,Mcmenamin 等^[10]研究也表明 *PTEN* 蛋白在前列腺癌中的表达水平越低,肿瘤的恶性程度越高;临床分期越晚,预后越差,本实验结论与此相一致。

在肺癌组织中 IGF-I 蛋白高表达,IGF-I 主要是通过 PI3K/Akt 和 MAPK 途径对细胞凋亡进行调控,在 PI3K/Akt 途

径中,IGF-I 与其受体结合后 PIP3 激活细胞内的 3 磷脂酰肌醇激酶(PI3K)而活化 PIP3,活化的 PIP3 与丝-苏氨酸激酶 (serine-threonine kinase, Akt) 或蛋白激酶 B (Protein Kinase B, PKB) 结合,激活 PKB,后者能进一步激活 G1 细胞周期蛋白依赖性激酶,正性调节细胞周期进程,从而促进细胞增生。在 MAPK 途径中,IGF-I 与受体结合后活化 Ras 蛋白,活化的 Ras 激活 Raf 的蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶,使 MAPK 磷酸化,活化的 MAPK 激活下游效应分子,这些因子促进细胞周期基因的转录,抑制细胞凋亡通路。在肺癌组织中 OPN 蛋白也高表达,OPN 通过和整合素受体、CD44 结合诱导多种激酶 (如 PI3, MAPK, PLC, NIK) 的磷酸化和活化,活化的激酶进一步激活相关转录因子,进而诱发合成、分泌基质金属相关的蛋白酶类,这些蛋白酶类溶解细胞外基质屏障,使细胞运动性增强,最终肿瘤发生浸润和转移。本研究中,IGF-I 和 OPN 在肺癌组织中表达呈正相关,原因可能正是因为两者有部分相同的信号传导通路,相同的中间酶类的激活使两者在肺癌组织中的表达增加。*PTEN* 基因发挥作用的通路主要是 MAPK 途径和 PIP3 途径,在 MAPK 途径中 *PTEN* 能抑制 MAPK 途径上游中的 ERK、RAS 的活化和 Shc 的磷酸化,进而对细胞外信号调节激酶(ERK)/丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)信号途径起负调节作用,并且 *PTEN* 基因还能抑制 MAPK 激酶的磷酸化,阻滞细胞周期于 G1 期,抑制了肿瘤细胞生长。*PTEN* 在 PIP3 途径中可以对抗 PI3K,从而使 PIP3 去磷酸化,阻止了 PI3K 调控的信号转导通路,降低了 PIP3 水平,同样使细胞停止于 G1 期,从而诱导肿瘤细胞的凋亡。根据以上的信号转导作用机制,理论上 *PTEN* 与 IGF-I、OPN 在肺癌组织中的表达应该是成负相关,而本实验的结果也与理论结果相符。

4 结论

本实验应用免疫组织化学的方法检测 IGF-I、OPN、*PTEN* 在非小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达。由实验结果可知,三者均参与了非小细胞肺癌的发生发展过程,从三者蛋白表达与肿瘤临床病理指标之间的分析可以说明,IGF-I、OPN、*PTEN* 三者在非小细胞肺癌组织中的表达与肿瘤的恶性程度、预后情况有一定联系,可以为患者术后是否继续辅助治疗及随访提供一些帮助。

参考文献 (References)

- [1] 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.
- [2] 段波. 骨桥蛋白与肿瘤发生及转移[J]. 重庆医学, 2007, 36(19): 1976-1978.
Duan Bo. *Chongqing Medical Journal*, 2007, 36(19): 1976-1978.
- [3] Li J, Yen C, Liaw D, et al. *PTEN*, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. *Science*,

- 1997, 275(5308): 1943-1947.
- [4] LeRoith D, Roberts C T, Jr. The insulin-like growth factor system and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2003, 195(2): 127-137.
- [5] 廖永德, 赵金平, 周晟, 等. IGF1 和 IGF2 表达与非小细胞肺癌淋巴结转移的相关性[J]. *肿瘤防治研究*, 2006, 33(12): 868-871.
- Liao Yongde, Zhao Jingping, Zhou Sheng, *et al.* *Cancer Prev Treat Res*, 2006, 33(12): 868-871.
- [6] Rodrigues L R, Teixeira J A, Schmitt F L, *et al.* The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16: 1087-1097.
- [7] 喻钧, 潘铁成, 李军, 等. OPN、CD44v6 及 MMP-2 在肺鳞癌、腺癌中的表达及其临床意义[J]. *中国肺癌杂志*, 2006, 9(4): 325-328.
- Yu Jun, Pan Tiecheng, Li Jun, *et al.* *Chin J Lung Cancer*, 2006, 9(4):

325-328.

- [8] 桂淑玉, 李永怀, 左莉, 等. 骨桥蛋白及其 mRNA 在肺癌组织中的表达及临床意义[J]. *中华医学杂志*, 2007, 87(45): 3219-3223.
- Gui Shuyu, Li Yonghuai, Zuo Li, *et al.* *Natl Med J China*, 2007, 87(45): 3219-3223.
- [9] 汤建民, 何权瀛, 常秀军. PTEN 蛋白表达缺失在非小细胞肺癌患者预后中的意义[J]. *医学临床研究*, 2005, 22(5): 577-580.
- Tang Jianmin, He Quanying, Chang XiuJun. *J Clin Res*, 2005, 22(5): 577-580.
- [10] McMenamin M E, Soung P, Perea S, *et al.* Loss of PTEN expression in paraffin embedded primary prostate cancer correlates with Gleason score and advanced stage[J]. *Cancer Res*, 1999, 59: 4291-4296.

(责任编辑 吴晓丽)

第4届中国畜牧科技论坛

时 间: 2009年10月23-25日

地 点: 重庆市

主办单位

重庆市人民政府

中国农学会

中国畜牧兽医学会

畜产安全与人类健康

通信地址: 北京朝阳区农展馆南路9号博雅园1座106室
中国畜牧兽医学会 (100125)

电 话: 010-85959010, 85959006 传 真: 010-85959010

电子信箱: caav2007@163.com

网 址: <http://www.caav.org.cn>

通信地址: 重庆市荣昌县昌元街道昌州中段770号

中国畜牧科技论坛执行委员会办公室 (402460)

电 话: 023-46793936 传 真: 023-46792347

电子信箱: cqxkft@163.com

网 址: <http://www.xm360.cn>