



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008

http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008

Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(9):1271-1275.

· 专题研究 ·

胰岛素样生长因子 mRNA 结合蛋白 3 在胰腺癌中的表达及意义

蒋美萍, 鞠云鹤

(云南省肿瘤医院 放疗中心, 云南昆明 650118)

摘要

目的: 探讨胰岛素样生长因子 mRNA 结合蛋白 3 (IMP3) 在胰腺癌组织中的表达及其临床意义。

方法: 用免疫组化法检测 126 例胰腺癌组织以及 12 例正常胰腺组织中的 IMP3 表达, 分析 IMP3 表达与胰腺癌患者临床病理因素及预后的关系。

结果: 胰腺癌组织中 IMP3 的阳性表达率明显高于正常胰腺组织 (93.65% vs. 0.00%, $P < 0.000$)。IMP3 的表达水平与胰腺癌患者的肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤侵袭深度、TNM 分级有关 (均 $P < 0.05$) ; IMP3 高表达患者的中位生存时间明显低于 IMP3 低表达患者 (9.5 个月 vs. 17.8 个月, $P = 0.000$) 。

结论: IMP3 在胰腺癌组织中表达率增高, 且其表达水平与胰腺肿瘤的发生、发展密切相关, IMP3 高表达患者预后不良。

关键词

胰腺肿瘤; 胰岛素样生长因子结合蛋白质 3; 预后

中图分类号: R735.9

Expression of insulin-like growth factor mRNA binding protein 3 in pancreatic cancer and its significance

JIANG Meiping, JU Yunhe

(Center of Radiotherapy, Yunnan Provincial Tumor Hospital, Kunming 650118, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of insulin-like growth factor mRNA binding protein 3 (IMP3) in pancreatic cancer tissue and its clinical significance.

Methods: The IMP3 expressions in 126 specimens of pancreatic cancer tissue and 12 specimens of normal pancreatic tissue were determined by immunohistochemical staining. The relations of IMP3 expression with clinicopathologic factors and prognosis of pancreatic cancer patients were analyzed.

Results: The IMP3 positive expression rate in pancreatic cancer tissue was significantly higher than that in normal pancreatic tissue (93.65% vs. 0.00%, $P < 0.000$). The IMP3 expression was significantly associated with the tumor size, lymph-node metastasis, depth of invasion and TNM stage of the pancreatic cancer patients (all $P < 0.05$); the median survival time in patients with high IMP3 expression was significantly shorter than that in patients with low IMP3 expression (9.5 months vs. 17.8 months, $P = 0.000$).

收稿日期: 2016-06-01; 修订日期: 2016-08-19。

作者简介: 蒋美萍, 云南省肿瘤医院主治医师, 主要从事肿瘤放射治疗方面的研究。

通信作者: 鞠云鹤, Email: 18202614205@139.com

Conclusion: IMP3 expression rate is increased in pancreatic cancer tissue, and its expression level may be closely related to the occurrence and development of pancreatic cancer. Further, those patients with high IMP3 expression may face a poor prognosis.

Key words Pancreatic Neoplasms; Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3; Prognosis

CLC number: R735.9

胰腺癌是临床中恶性程度最高的肿瘤之一，其5年的生存率仅有4%，病死率居肿瘤首位^[1-2]。越来越多的证据表明，胰腺癌主要由胰腺内的癌前病变发展而来，并且随着病理学诊断技术的不断发展，这种癌前病变在临床病理学中已经能够被很好区分开来。但是，胰腺肿瘤中癌前病变向胰腺癌发展的具体发生机制仍不清楚。因此，对胰腺组织的癌前病变向胰腺癌转变过程中的分子以及组织病理学研究，对明确胰腺肿瘤的发生机制和治疗方法有着巨大的帮助^[3]。

胰岛素样生长因子mRNA结合蛋白3 (IMP3) 是胰岛素样生长因子mRNA结合蛋白家族 (IMP) 的一员，具有重要的生理和病理学意义，其家族成员包括IMP1, IMP2和IMP3。根据以往文献^[4]报道，IMP在RNA的转运、稳定、定位以及细胞迁移中发挥着重要作用，特别是小鼠和人胚胎发育的早期。IMP3最早由肿瘤细胞的cDNA中克隆产生，在成人组织中几乎无表达，但在胚胎发育中表达量显著增高，因此被认为是一种癌胚基因^[5]。同时还有研究^[6-9]表明，IMP3在许多恶性肿瘤的发展过程中又恢复了高表达。同时，大量的临床研究还表明，IMP3的高表达与肾透明细胞癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和乳腺癌的不良预后密切相关。但是，IMP3表达水平与胰腺癌的关系，特别是胰腺导管内肿瘤的癌前病变的关系并无明确的研究。因此，本研究的主要目的是研究正常胰腺组织以及胰腺癌组织中IMP3表达水平的改变，通过免疫组化染色等方法，以明确IMP3的表达和胰腺癌的发展和预后之间的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集126例胰腺癌患者的肿瘤组织，12例正常胰腺组织。胰腺癌患者年龄41~78岁，平均年龄(63.5 ± 22.3)岁；男82例，女44例；肿瘤部位：胰头70例，胰体26例，胰尾30例；肿瘤大小：≤5 cm

64例，>5 cm 62例，纳入研究对象均无相关遗传家族史，在我院接受胰十二指肠切除术的患者，术前未接受任何放疗以及化疗。12例正常胰腺组织对象，因外伤手术获取胰腺组织标本，患者年龄38~74岁，平均年龄(62.9 ± 23.1)岁；男8例，女4例。两组研究对象的年龄、性别差异无统计学意义(均P>0.05)。本研究在进行前均已书面通知患者，并征得同意，同时获得伦理委员会批准。患者的胰腺癌组织和癌旁组织均在手术中收取。

1.2 试剂及抗体

IMP3单克隆抗体、DAB显色试剂盒均购自美国Abcam公司。

1.3 免疫组织化学染色

手术中收取的胰腺癌组织以及癌旁组织均进行福尔马林固定，石蜡包埋切片后，石蜡切片常规以二甲苯脱蜡(二甲苯I 10 min→二甲苯II 10 min)后，梯度酒精水化(无水乙醇I 10 min→无水乙醇II 10 min→95%酒精 5 min→85%酒精 2 min→70%酒精 2 min→蒸馏水洗 2 min)，PBS冲洗3次，3 min/次。3% H₂O₂室温封闭10 min灭活内源性酶活性，以蒸馏水洗3次，3 min/次。石蜡切片高压抗原修复：切片脱蜡至水。蒸馏水洗后，PBS洗 2 min × 3。与二抗同种血清室温封闭20 min，甩去多余液体，不洗。滴加IMP3抗体(1:100)，4℃过夜。PBS冲洗3次，3 min/次。生物素化兔抗人二抗37℃ 20 min，PBS冲洗3次，3 min/次。DAB显色：使用DAB显色试剂盒，取1 mL蒸馏水加试剂盒中A、B、C试剂各1滴，混匀加至切片，室温显色，镜下控制反应时间，一般在5 min，蒸馏水洗涤后，以双蒸水充分冲洗。苏木素轻度复染1~2 min，双蒸水充分冲洗后，以1%盐酸酒精分色，双蒸水返蓝30 min。梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。阳性对照采用已知阳性片为标准，阴性对照采用PBS取代第一抗体，其余步骤相同。

1.4 结果判定

IMP3主要在胰腺癌肿瘤细胞的细胞质着色，呈棕色弥漫或颗粒状(阳性)。根据着色强度：0分

为无色, 1分为淡黄色, 2分为棕黄色, 3分为褐色、黑色; 根据阳性细胞比例: 阳性细胞数目所占比例<10%为1分, 阳性细胞所占比例11%~50%为2分, 阳性细胞数51%~75%为3分, 阳性细胞数所占比例>75%为4分, 两种积分相乘总分<3分为阴性, ≥3分为阳性。(-)为总分<3分, 阴性表达; (+)为3~5分, 弱阳性表达; (++)为6~9分, 中阳性表达; (+++)为>9分, 强阳性表达。低表达为(-)、(+), 高表达为(++)、(+++)。

1.5 统计学处理

两组间率的比较用χ²检验或精确概率法, 生存分析采用Kaplan-Meier法, 中位生存时间采用Log-rank秩检验法。所有数据统计均以SPSS for

Windows 7.0统计软件包完成, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IMP3 表达水平在胰腺癌组织中显著增高

IMP3免疫组化染色结果表明, IMP3蛋白质主要表达于肿瘤细胞细胞质内, 在12例正常胰腺组织中, 未见IMP3表达, 但在胰腺癌组织中, 可见IMP3表达水平明显增高, 在126例患者中, 118例患者出现IMP3表达阳性, 占93.65%, 其中高表达62例, 低表达64例; 与正常胰腺组织相比较, 差异有统计学意义(P<0.01)(图1)(表1)。

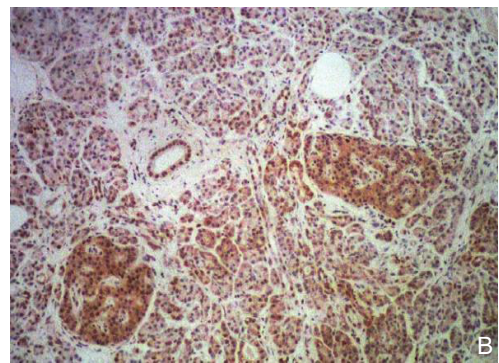
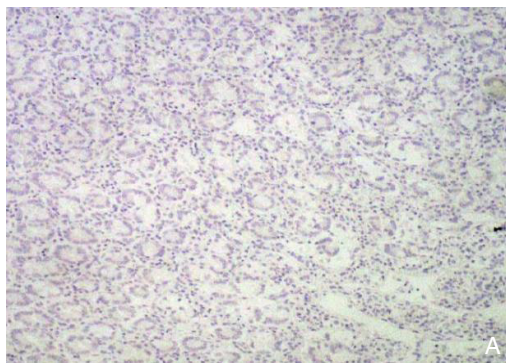


图1 免疫组化检测 IMP3 表达(×200) A: 正常胰腺组织; B: 胰腺癌组织

Figure 1 Immunohistochemical staining for IMP3 expression (×200) A: Normal pancreatic tissue; B: Pancreatic cancer tissue

表1 IMP3 在胰腺癌组织与正常胰腺组织中表达比较(n)

Table 1 Comparison of IMP3 expressions in pancreatic cancer and normal pancreatic tissues (n)

组织	n	IMP3 表达				阳性表达率(%)
		(-)	(+)	(++)	(+++)	
胰腺癌组织	126	8	56	37	25	118 (93.65)
正常胰腺组织	12	12	0	0	0	0 (0.00)
χ ²	—	—	—	—	—	77.543
P	—	—	—	—	—	<0.001

2.2 IMP3 表达水平与临床病理因素关系的分析

根据IMP3的高表达、低表达分组, 探讨IMP3与胰腺癌患者的临床病理特征的关系, 统计学分析表明, IMP3表达水平与胰腺癌患者的临床病理学指标变化存在显著性联系, IMP3高表达患者的肿瘤与低表达组相比较, 体积明显增大, 淋巴结转移明显增多, 肿瘤侵袭深度明显加深(均P<0.05); IMP3的表达水平与胰腺癌患者的性别、年龄、肿瘤发生部位以及远处转移均无明显

关系(均P>0.05)(表2)。

2.3 IMP3 表达水平与胰腺癌患者预后的关系

对两组患者进行了随访观察, 随访时间8~36个月; IMP3表达水平与胰腺癌患者的预后进行了分析, 统计学分析表明, IMP3高表达组患者的中位生存时间为9.5个月, 低表达组患者为17.8个月, 两组差异有统计学意义(χ²=5.094, P=0.000)(图2)。

表2 IMP3表达水平与患者临床病理因素的关系 [n (%)]
Table 2 Relations of IMP3 expression level with clinicopathologic factors of the patients [n (%)]

临床病理因素	n	IMP3 蛋白表达		χ^2	P
		低表达 (n=64)	高表达 (n=62)		
性别					
男	82	39 (47.56)	43 (52.44)	0.982	0.322
女	44	25 (56.82)	19 (43.18)		
年龄 (岁)					
≥ 60	70	35 (50.00)	35 (50.00)	0.040	0.842
< 60	56	29 (51.79)	27 (48.21)		
部位					
胰头	70	37 (52.86)	33 (47.14)	0.351	0.839
胰体	26	12 (46.15)	14 (53.84)		
胰尾	30	15 (50.00)	15 (50.00)		
肿瘤最大径 (cm)					
≤ 5	64	40 (62.50)	24 (37.50)	7.131	0.008
> 5	62	24 (38.71)	38 (61.29)		
分化程度					
低分化	72	38 (52.78)	34 (47.22)	0.954	0.621
中分化	44	20 (45.45)	24 (54.55)		
高分化	10	6 (60.00)	4 (40.00)		
肿瘤 T 分期					
pT ₁	10	8 (80.00)	2 (20.00)	42.263	<0.001
pT ₂	38	34 (89.47)	4 (10.53)		
pT ₃	50	15 (30.00)	35 (70.00)		
pT ₄	28	7 (25.00)	21 (75.00)		
肿瘤 N 分期					
N ₀	56	40 (71.43)	16 (28.57)	17.173	<0.001
N ₁	70	24 (34.29)	46 (65.71)		
远处转移					
M ₀	66	37 (56.06)	29 (43.94)	1.538	0.215
M ₁	60	27 (45.00)	33 (55.00)		

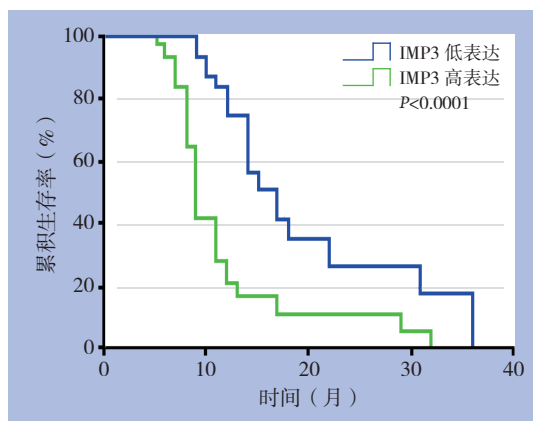


图2 不同 IMP3 表达水平胰腺癌患者的生存曲线

Figure 2 Survival curves of pancreatic cancer patients with different IMP3 expression levels

3 讨论

胰腺癌是恶性程度最高的人类肿瘤，同时也

是目前世界致死率最高的肿瘤之一。胰腺癌的发病原因与其他恶性肿瘤的病因相似，均是环境因素及遗传因素联合作用的结果，确切病因仍在研究探讨中。胰腺癌临床症状往往较晚出现，导致前期的诊断不及时，病死率极高^[10-12]。尽管随着外科手术治疗的进步和新化疗药物的研发，目前针对胰腺癌的治疗手段仍然相对匮乏，其病死率依然高居不下^[13, 16]。

IMP3是胰岛素样生长因子mRNA结合蛋白家族的一员，它是一种含有580个氨基酸的癌胚蛋白，其家族包括IMP1，IMP2和IMP3三类亚型。IMP的功能不仅体现在胚胎发育早期，在肿瘤发生的早期，特别是正常细胞向肿瘤细胞分化的时期也扮演着重要的作用^[17-18]。此外，研究表明，IMP3对多种恶性肿瘤的临床预后有一定影响，IMP3的表达水平过高与患者长期生存时间短有关。虽然众多研究报道过IMP3与恶性肿瘤的关系，但关于其在胰腺癌的相关研究较少。本研究着重于IMP3表达水平与胰腺癌的关系，对病理学特征以及对患者预后的影响。

本研究检测了胰腺癌组织和正常胰腺组织中IMP3的水平，IMP3免疫组化染色结果显示，IMP3蛋白质主要表达于肿瘤细胞细胞质内，在12例正常胰腺组织中，未见IMP3表达，但在胰腺癌组织中，可见IMP3表达水平明显增高，在126例患者中，118例患者出现IMP3表达阳性，约占93.65%，其中高表达62例，低表达64例；与正常胰腺组织相比较，存在统计学差异 ($P < 0.01$)，说明IMP3在正常胰腺组织中无法表达，而在胰腺癌组织中的表达较高，与过去研究中的结果相一致^[19-20]。进一步的研究也证实了上述猜想，IMP3表达水平与胰腺癌患者的临床病理学指标变化存在显著性联系，IMP3高表达患者的肿瘤与低表达组相比较，体积明显增大，淋巴结转移明显增多，肿瘤侵袭深度明显加深，存在统计学差异 ($P < 0.05$)；IMP3的表达水平与胰腺癌患者的性别、年龄、肿瘤发生部位以及远处转移均无明显联系。说明IMP3的表达水平与肿瘤体积、淋巴结转移、肿瘤分化级别和侵袭深度均密切相关。本研究结果与之前在肺癌、卵巢癌乃至前列腺癌的研究结果相一致，证明了IMP3在肿瘤中的调控作用。随后，对于IMP3表达水平与生存期的分析中，IMP3高表达患者的中位生存时间为9.5个月与低表达组患者的17.8个月相比显著性降低，说明

IMP3高表达是胰腺癌患者不良预后的独立危险因素,IMP3低表达组的患者生存期显著高于IMP3高表达组的患者。

综上所述,本研究首次证实了IMP3在胰腺癌中的调控作用,并且为IMP3作为胰腺癌患者预后诊断指标提供了有力的证据,提示在胰腺癌患者的临床治疗中,可以将IMP3作为一类潜在的治疗靶点。

参考文献

- [1] Tezcan G, Tunca B, Bekar A, et al. microRNA expression pattern modulates temozolomide response in GBM tumors with cancer stem cells[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34(5):679-692.
- [2] Lederer M, Bley N, Schleifer C, et al. The role of the oncofetal IGF2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3) in cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 29:3-12. doi: 10.1016/j.semcancer.2014.07.006.
- [3] Yoshitake Y, Fukuma D, Yuno A, et al. Phase II clinical trial of multiple peptide vaccination for advanced head and neck cancer patients revealed induction of immune responses and improved OS[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(2):312-321.
- [4] Peirano G, Lascols C, Hackel M, et al. Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae that produce VIMs and IMPs from the SMART surveillance program[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 78(3):277-281.
- [5] Lee CW, Zhan Q, Lezcano C, et al. Nestin depletion induces melanoma matrix metalloproteinases and invasion[J]. *Lab Invest*, 2014, 94(12):1382-1395.
- [6] Mostert B, Sieuwerts AM, Bolt-de Vries J, et al. mRNA expression profiles in circulating tumor cells of metastatic colorectal cancer patients[J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(4):920-32.
- [7] Burnett AS, Bailey J, Oliver JB, et al. Sensitivity of alternative testing for pancreaticobiliary cancer: a 10-y review of the literature[J]. *J Surg Res*, 2014, 190(2):535-547.
- [8] Moreno-Sánchez R, Saavedra E, Gallardo-Pérez JC, et al. Understanding the cancer cell phenotype beyond the limitations of current omics analyses[J]. *FEBS J*, 2016, 283(1):54-73.
- [9] Mansour H. Cell-free nucleic acids as noninvasive biomarkers for colorectal cancer detection[J]. *Front Genet*, 2014, 5:182. doi: 10.3389/fgene.2014.00182.
- [10] Cretu D, Prassas I, Saraon P, et al. Identification of psoriatic arthritis mediators in synovial fluid by quantitative mass spectrometry[J]. *Clin Proteomics*, 2014, 11(1):27. doi: 10.1186/1559-0275-11-27.
- [11] Assal A, Kaner J, Pendurti G, et al. Emerging targets in cancer immunotherapy: beyond CTLA-4 and PD-1[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(11):1169-1186.
- [12] Maldonado L, Brait M, Michailidi C, et al. An epigenetic marker panel for recurrence risk prediction of low grade papillary urothelial cell carcinoma (LGPUC) and its potential use for surveillance after transurethral resection using urine[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(14):5218-5233.
- [13] Park JY, Choe M, Kang Y, et al. IMP3, a Promising Prognostic Marker in Clear Cell Renal Cell Carcinoma[J]. *Korean J Pathol*, 2014, 48(2):108-116.
- [14] Wang Q, Wang T, Wang Z, et al. Diagnostic value of IMP3 in pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7):10603-10610.
- [15] Wang BJ, Wang L, Yang SY, et al. Expression and clinical significance of IMP3 in microdissected premalignant and malignant pancreatic lesions[J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17(3):215-222.
- [16] Pasillao CC, Chang CW, Sutherland BW, et al. The involvement of insulin-like growth factor 2 binding protein 3 (IMP3) in pancreatic cancer cell migration, invasion, and adhesion[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:266. doi: 10.1186/s12885-015-1251-8.
- [17] Mehner C, Miller E, Nassar A, et al. Tumor cell expression of MMP3 as a prognostic factor for poor survival in pancreatic, pulmonary, and mammary carcinoma[J]. *Genes Cancer*, 2016, 6(11/12):480-489.
- [18] Okuno M, Yasuda I, Adachi S, et al. The significance of phosphorylated heat shock protein 27 on the prognosis of pancreatic cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12):14291-14299.
- [19] Nishiwada S, Sho M, Yasuda S, et al. Nectin-4 expression contributes to tumor proliferation, angiogenesis and patient prognosis in human pancreatic cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34:30. doi: 10.1186/s13046-015-0144-7.
- [20] Hu GY, Tao F, Wang W, et al. Prognostic value of microRNA-21 in pancreatic ductal adenocarcinoma: a meta-analysis[J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14:82. doi: 10.1186/s12957-016-0842-4.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 蒋美萍, 鞠云鹤. 胰岛素样生长因子 mRNA 结合蛋白 3 在胰腺癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(9):1271-1275. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008

Cite this article as: Jiang MP, Ju YH, et al. Expression of insulin-like growth factor mRNA binding protein 3 in pancreatic cancer and its significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(9):1271-1275. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008