

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.004
文章编号: 1005-8982 (2019) 12-0016-05

临床研究·论著

胃腺癌组织中 IMP3 蛋白的表达及临床意义*

王研¹, 李卫东², 魏建平³, 马毅兵⁴, 曹忠良⁵, 林黎娟¹, 张锦辉¹

(1. 辽东学院医学院 分子医学研究室, 辽宁 丹东 118003; 丹东市第一医院
2. 麻醉科, 3. 普外科, 辽宁 丹东 118001; 丹东市中心医院
4. 病理科, 5. 胸外科, 辽宁 丹东 118002)

摘要: **目的** 探讨 IMP3 蛋白在胃腺癌(GAC)中的表达及意义。**方法** 选取2007年2月—2011年2月在丹东市第一医院行手术切除的92例GAC患者的组织蜡块标本,应用免疫组织化学染色检测其GAC及其癌旁胃组织,16例转移淋巴结组织标本中IMP3的表达,结合临床相关因素及生存数据进行分析。**结果** GAC、癌旁组织及淋巴结组织中IMP3阳性表达率分别为76.1%、50.0%及87.5%,癌组织和转移淋巴结组织中IMP3阳性表达率高于癌旁组织($P < 0.05$);转移淋巴结组织中IMP3强阳性表达率高于癌组织;GAC组织中IMP3阳性表达与Ki-67表达、临床分期、是否有淋巴转移及是否侵犯浆膜层有关($P < 0.05$);IMP3阳性表达患者无病生存率及5年生存率均高于阴性表达患者($P < 0.05$),且浆膜侵犯[HR=1.851(95%CI:1.180,2.906), $P=0.000$]、临床分期高[HR=3.145(95%CI:1.820,5.434), $P=0.000$],IMP3阳性表达是GAC患者预后不良的独立危险因素[HR=1.614(95%CI:1.032,2.523), $P=0.036$]。**结论** 检测IMP3蛋白表达水平对GAC的诊断及预后评估有重要临床意义,有望成为GAC新的标志物。

关键词: 胃肿瘤;蛋白质类;免疫组织化学;预后

中图分类号: R735.2;R365

文献标识码: A

Clinical significance and expression of IMP3 protein in gastric adenocarcinoma*

Yan Wang¹, Wei-dong Li², Jian-ping Wei³, Yi-bing Ma⁴, Zhong-liang Cao⁵,
Li-juan Lin¹, Jin-hui Zhang¹

(1. Institute of Molecular Medicine, Medical College of Eastern Liaoning University, Dandong, Liaoning 118003, China; 2. Department of Anesthesiology, Dandong First Hospital, Dandong, Liaoning 118001, China; 3. Department of General Surgery, Dandong, Liaoning 118001, China; 4. Department of Pathology, Dandong Center Hospital, Dandong, Liaoning 118002; 5. Department of Thoracic Surgery, Dandong Center Hospital, Dandong, Liaoning 118002, China)

Abstract: Objectives To explore the clinical significance and expression of IMP3 in gastric adenocarcinoma (GAC). **Methods** Immuno-histochemical technique was adopted to detect the expression level of IMP3 protein in 92 cases of gastric adenocarcinoma, 92 cases of adjacent tumor tissues, and 16 case of metastatic lymph nodes. Additionally, the relationship between the expression of IMP3 and the clinical prognostic factors was analyzed. **Results** IMP3 positive expression rates were 76.1%, 50.0% and 87.5% in the gastric adenocarcinoma, adjacent tumor tissues and 16 case of metastatic lymph nodes, respectively. IMP3 positive expression rate in gastric adenocarcinoma and metastatic lymph nodes was significantly higher than that in the adjacent tumor tissues ($P < 0.05$). The high-positive expression rate of IMP3 in metastatic lymph nodes was higher than that in gastric adenocarcinoma. The expression rate of IMP3 was closely related to Ki-67 protein, stage, the lymphatic metastasis and serosal invasion ($P < 0.05$). Survival curve shows that the disease-free survival and 5-year survival rates of the patients with IMP3 high-expression were obviously lower than

收稿日期: 2018-12-24

* 基金项目: 辽宁省科技厅自然科学基金(No: 2015020554); 辽宁省教育厅科学研究一般项目(No: L2015189)

[通信作者] 张锦辉, E-mail: 1394259899@163.com

those of patients with IMP3 low-expression ($P < 0.05$). Importantly, serosal invasion, high stage, IMP3 high-expression rate was an independent risk factor for the prognosis of gastric adenocarcinoma [$\hat{HR}=1.614$ (95% CI: 1.032, 2.523), $P = 0.036$]. **Conclusions** Detection of IMP3 protein expression level has important clinical significance in the diagnosis and prognosis evaluation of GAC, and is expected to become a new marker of GAC.

Keywords: stomach neoplasms; protein; immunohistochemistry; prognosis

胃腺癌 (gastric adenocarcinoma, GAC) 是一种常见的恶性肿瘤, 手术切除是目前最有效的治疗方法。临床分期、淋巴结转移状态、病理分级、有无血管及浆膜侵犯是重要的预后因素^[1]。虽然有许多相关的分子学研究, 但是多种基因的表达方式及其在 GAC 演进中所起的作用仍不清楚^[2-3]。探讨 GAC 预后和靶向治疗的生物标志物很有必要, IMP3 蛋白是胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白家族的成员之一, 与该家族其他成员, 如 IMP2、IMP3 等, 在胚胎早期中的 RNA 运输及稳定、细胞生长及迁移中起重要调控作用^[4]。研究表明, IMP3 在结肠癌、肺癌、卵巢癌、胶质瘤及甲状腺癌等恶性肿瘤中呈高表达^[5-9], 并与肿瘤细胞迁移、侵袭及淋巴浸润和远处转移等恶性生物学行为密切相关, 可帮助临床诊断高风险性病例、指导治疗及评价预后^[10]。目前, 国内关于 IMP3 与 GAC 关系的报道较少, 研究 IMP3 蛋白与 GAC 发生、发展的规律, 对判断 GAC 预后、早期发现转移灶和提供新的治疗靶点具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2007 年 2 月—2011 年 2 月在丹东市第一医院行手术切除的 92 例 GAC 患者的组织蜡块标本。其中, 男性 60 例, 女性 32 例; 年龄 22 ~ 79 岁, 平均 49.5 岁。术后经苏木精-伊红染色法 (HE) 证实为 GAC, 其中高分化 30 例, 中等分化 46 例, 低分化 16 例; 肿块 ≤ 3 cm 50 例, >3 cm 42 例; 伴有淋巴结 58 例, 侵及浆膜 34 例; 临床分期 I、II 期 72 例, III、IV 期 20 例。所有患者术前未行放疗, 另将 92 例癌旁正常胃黏膜组织和 16 例有转移的淋巴结组织纳入本实验。

1.2 SP 法染色

组织芯片脱蜡、水化, 柠檬酸盐抗原修复液中修复, 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 漂洗, 置入 30 mL/L 过氧化氢 H_2O_2 中 10 min, 正常血清 37℃ 孵育 15 min, 加入一抗 (1 : 50 稀释, 鼠抗人 IMP3 多克隆抗体和鼠抗人 Ki-67 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司), 空白对照中以 PBS 代替一抗, 4℃ 冰箱孵育过夜, 加入二抗, 37℃ 孵育 60 min, DAB 显色, HE 复染, 中性树胶封固^[9]。IMP3 蛋白为胞浆着色, Ki-67 蛋白为细胞核着色。IMP3 结果判断标准: 无表达为阴性 (-); 着色细胞数 $<50\%$ 或染色较浅为弱阳性 (+); 着色细胞数 $>50\%$ 且染色较深为强阳性 (++)。Ki-67 结果判断标准: 着色细胞数 $<5\%$ 为阴性; 着色细胞数 $>5\%$ 为阳性表达。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件和 Graphpad Prism 6.0 绘图软件, 计数资料以率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验, IMP3 在不同类型胃组织中的表达用校正检验水准法进行进一步的两两比较, 检验水准 $\alpha = 0.0125$; Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 Log-rank χ^2 检验, 影响因素分析用 Cox 回归模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IMP3 蛋白阳性表达率与胃组织类型的关系

胃组织中癌旁组织、GAC 和转移淋巴结的 IMP3 蛋白表达阳性率、强阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=14.500$ 和 4.143, $P=0.000$ 和 0.001)。GAC、转移淋巴结组织中 IMP3 蛋白阳性、强阳性表达率高于癌旁组织 ($P < 0.05$); 转移淋巴结组织中 IMP3 蛋白强阳性表达率高于 GAC 组织 ($P < 0.05$)。IMP3 阳性着色在细胞浆或细胞膜。见表 1 和图 1。

表 1 不同组织类型的 IMP3 蛋白表达阳性率及强阳性率比较

组织类型	n	IMP3 表达 / 例			阳性率 / %	强阳性率 / %
		-	+	++		
癌旁组织	92	46	22	24	50.0	26.1
GAC	92	22	26	44	76.1	47.8
转移淋巴结	16	2	2	12	87.5	75.0

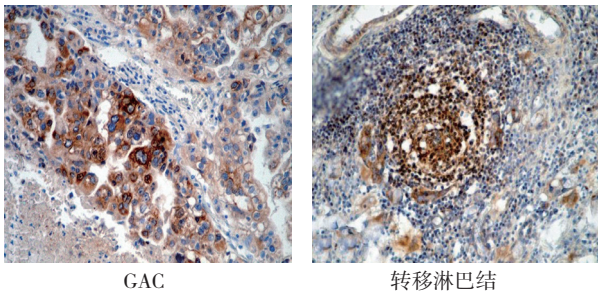


图 1 IMP3 蛋白在 GAC 及转移淋巴结组织中的表达 (SP×100)

2.2 IMP3 高表达与 GAC 临床病理特征的关系

GAC 组织中 IMP3 的高表达率与 Ki-67 表达、临床分期、是否有淋巴结转移及是否有浆膜侵犯有关 ($P < 0.05$); 与性别、年龄、肿瘤大小和组织分化程度无关 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 IMP3 蛋白高表达对 GAC 生存率的影响

IMP3 蛋白高表达的 GAC 患者无瘤生存率及 5 年生存率均低于低表达的患者 ($\chi^2 = 15.281$ 和 17.545 , 均 $P = 0.000$), 说明 IMP3 蛋白对患者的预后有影响。见图 2。

2.4 IMP3 蛋白高表达与 GAC 患者预后的关系

利用单因素 Cox 回归模型分析所有 GAC 患者的临床参数, 结果显示肿瘤大小、是否有淋巴结转移、是否有浆膜侵犯、临床分期及 IMP3 高表达与患者总生存率相关 ($P < 0.05$)。再将这些参数进行多因素分析得出, 浆膜侵犯、临床分期高 IMP3 蛋白高表达是 GAC 患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$), 表明 IMP3 高表达可以做为 GAC 潜在的标志物。见表 3、4。

表 2 不同临床病理特征患者 IMP3 蛋白高表达率比较

临床病理特征	n	IMP3 高表达率例(%)	χ^2 值	P 值	临床病理特征	n	IMP3 高表达率例(%)	χ^2 值	P 值
性别					淋巴结转移				
男	60	27 (45.0)	0.552	0.460	有	58	36 (62.1)	12.759	0.000
女	32	17 (53.1)			无	34	8 (23.5)		
年龄					浆膜侵犯				
≥ 50 岁	52	24 (46.2)	0.134	0.834	有	38	23 (60.5)	4.185	0.042
<50 岁	40	20 (50.0)			无	54	21 (38.9)		
肿瘤大小					临床分期				
≤ 3 cm	50	20 (40.0)	2.688	0.103	I、II	72	29 (40.3)	7.563	0.006
> 3 cm	42	24 (57.1)			III、IV	20	15 (75.0)		
组织分化程度					Ki-67 表达				
良	30	8 (26.7)	9.758	0.087	阳性	56	32 (57.1)	4.978	0.026
中	46	29 (63.0)			阴性	36	12 (33.3)		
差	16	7 (43.8)							

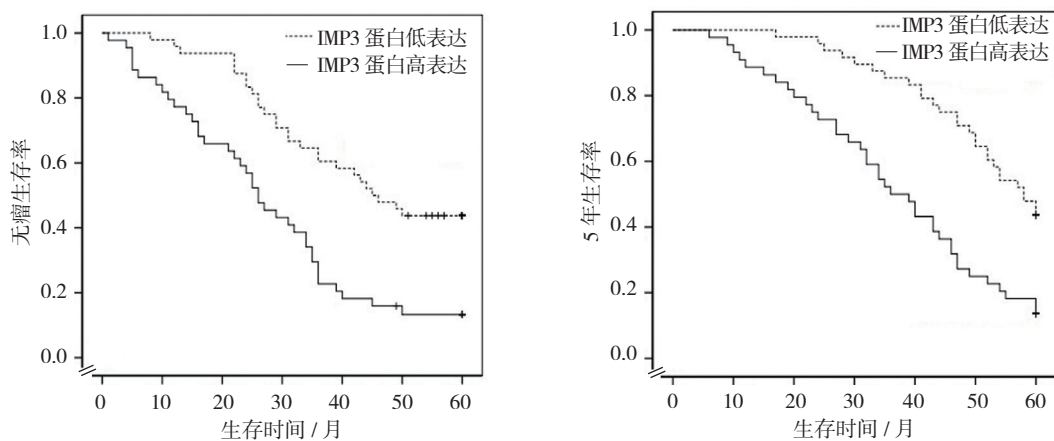


图 2 两组患者的无瘤生存率及 5 年生存率比较

表 3 GAC 患者预后因素的单因素 Cox 回归模型参数

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{HR}	95% CI	
						下限	上限
性别	0.173	0.216	0.620	0.431	1.189	0.773	1.827
年龄	0.019	0.211	0.009	0.926	1.020	0.674	1.541
肿瘤大小	0.577	0.214	7.300	0.007	1.781	1.172	2.706
肿瘤分化程度	0.178	0.170	1.092	0.296	1.195	0.856	1.668
淋巴结转移	0.513	0.218	5.510	0.019	1.670	1.088	2.563
浆膜侵犯	0.587	0.216	7.389	0.007	1.799	1.178	2.747
临床分期	1.060	0.258	16.835	0.000	2.888	1.740	4.792
Ki-67 表达	0.366	0.215	2.891	0.089	1.442	0.946	2.199
IMP3	0.692	0.212	10.694	0.001	1.997	1.319	3.023

表 4 GAC 患者预后因素的多因素 Cox 回归模型参数

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{HR}	95% CI	
						下限	上限
肿瘤大小	0.330	0.242	1.856	0.173	1.390	0.865	2.234
淋巴结转移	0.105	0.248	0.180	0.671	1.111	0.684	1.805
浆膜侵犯	0.616	0.230	7.170	0.007	1.851	1.180	2.906
临床分期	1.146	0.279	16.863	0.000	3.145	1.820	5.434
IMP3	0.478	0.228	4.000	0.036	1.614	1.032	2.523

3 讨论

IMP3 基因定位于 7p11.5, 其高度保守区包括 KH 区和 RRM 区。其中 C 端包括 4 个 KH 区, N 端包括 2 个 RRM 区。IMP3 的转录物含有 4 158 bp, 包括 250 bp 的 5'-非翻译区, 1 740 个 bp 的开放读码框架, 2 168 bp 的 3'-UTRs 的 AU 富含区包含 8 个 AUUUA 和 4 个 AUUUUUA 重复序列^[4]。AUUUA 序列和 IMP3 转录物的翻转调节有关, 该区的转录物不稳定并且会快速降解, 会导致其蛋白合成降低^[3, 6]。

研究显示, IMP3 在多种恶性肿瘤中是预测不良结局的分子标志物, 如 MIZUKAMI 等^[11]用半定量免疫组织化学方法检测 20 例 20HLA-A2402 阳性的食管鳞状细胞癌组织中的 IMP3 表达, 结果显示 14 例呈强表达, 6 例呈弱表达, 且与组织病理分级相关; 同时由酶联斑点实验检测到该 20 例患者中有 8 例肿瘤浸润的淋巴细胞存在 T 细胞介导的 IMP3 特异性抗原, IMP3 可能是潜在的免疫治疗靶点。YUAN 等^[12]用免疫组织化学方法检测 186 例原发单灶的结直肠癌中 IMP3 的表达, 约 1/3 出现 IMP3 高表达, 高分级和 IMP3 高表达的患者生存率低于无 IMP3 高表达的患者, IMP3 高表达在

肿瘤生长和转移中与其侵袭性相关, 是结直肠癌预后的重要标志; 多变量分析也显示 IMP3 高表达与浆膜浸润、临床分期一样是影响预后的独立因素, IMP3 是结直肠癌特别是高分级结直肠癌潜在的有效治疗靶点。还有研究利用 RNAi 干扰 HA22T 细胞 IMP3 的表达, 导致细胞迁移、侵袭及上皮细胞的移行能力下降, 但发现 IMP3 沉默后并未导致细胞伪足结构的减少, 因此并不认同该基因卷入细胞迁移是由于伪足形成^[13]。之后的微阵列芯片分析显示^[14], IMP3 低表达与导致肿瘤侵犯的 80 多种基因下调有关联, 其中包括 47 种已知基因, 而且大部分是属于同一家族基因(如 KLRC、CXCL、表皮生长因子等)。有 10 种基因参与细胞的迁移和侵袭, IMP3 去除后最主要的上调基因是 E-cadherin, 通过 PCR 验证与微阵列芯片的结果一致, 说明 IMP3 在肿瘤细胞的黏附、迁移及侵袭中起关键的调控作用, 可以用来评估肿瘤患者的预后。

笔者的前期研究结果也表明, IMP3 高表达预示非小细胞肺癌和原发肝细胞癌患者预后不良^[3, 15]。本研究结果显示 GAC 组织、转移的淋巴结组织中 IMP3 阳性表达率均高于癌旁组织, 而转移的淋巴结组织中

表达又高于癌组织；GAC 组织中 IMP3 阳性表达率与 Ki-67 表达、是否有淋巴转移及是否侵犯浆膜层密切相关；伴有 IMP3 高表达的 GAC 患者无瘤生存率和 5 年生存率高于低表达的患者，且浆膜侵犯、高临床分期 IMP3 高表达是胃腺癌患者预后不良的独立危险因素。

Ki-67 是广泛应用于恶性肿瘤细胞增殖的指标，与生长分数相关。以往研究表明，Ki-67 与恶性肿瘤的不良预后有关^[13]。本研究中 IMP3 的表达与 Ki-67 有关，表明 IMP3 阳性表达情况与细胞的增殖程度有关，可能两者共同促进 GAC 进展。

综上所述，笔者认为检测 GAC 中 IMP3 蛋白的表达水平可以作为判断临床预后的指标之一，有助于提高对患者临床、病理诊断的准确性，为抑制肿瘤转移提供理论依据。

参 考 文 献:

- [1] MORI J, TANIKAWA C, OHNISHI N, et al. EPSIN 3, A novel p53 target, regulates the apoptotic pathway and gastric carcinogenesis[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(3): 185-195.
- [2] CETIN B, OZET A. HER2/neu as target in gastric adenocarcinoma[J]. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2016, 1: 59.
- [3] YABUSAKI N, YAMADA S, MURAI T, et al. Clinical significance of zinc-finger E-box binding homeobox 1 mRNA levels in peritoneal washing for gastric cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3(2): 435-441.
- [4] ZHANG J, OU Y, MA Y, et al. Clinical implications of insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression in non-small cell lung carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1927-1933.
- [5] WEI Q, ZHOU H, ZHONG L, et al. IMP3 expression in biopsy specimens as a diagnostic biomarker for colorectal cancer[J]. *Hum Pathol*, 2017, 64: 137-144.
- [6] EL-BALAT A, SÄNGER N, KARN T, et al. IMP3 Expression in borderline tumors of the ovary[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(2): 583-588.
- [7] BI R, SHEN X, ZHANG W, et al. Clear cell carcinomas of the ovary: a mono-institutional study of 73 cases in China with an analysis of the prognostic significance of clinicopathological parameters and IMP3 expression[J]. *Diagn Pathol*, 2016, 11(1): 17.
- [8] BHARGAVA S, VISVANATHAN A, PATIL V, et al. IGF2 mRNA binding protein 3 (IMP3) promotes glioma cell migration by enhancing the translation of RELA/p65[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25): 40469-40485.
- [9] 林黎娟, 张锦辉, 王研, 等. 胰岛素样生长因子 2mRNA 结合蛋白 3 在肺鳞癌的表达及预后分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(7): 694-697.
- [10] CHEN L, XIE Y, LI X, et al. Prognostic value of high IMP3 expression in solid tumors: a meta-analysis[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 2849-2863.
- [11] MIZUHAMI Y, KONO K, DAIGO Y, et al. Detection of novel cancer -testis antigen-specific T-cell responses in TIL, regional lymph nodes, and PBL in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(7): 1448-1454.
- [12] YUAN R, WANG C, CHOU C, et al. Diffuse expression of RNA-binding protein IMP3 predicts high-stage lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(6): 1711-1719.
- [13] YORUKOGLU A, YALCIN N, AVCI A, et al. Significance of IMP3, nucleophosmin, and Ki-67 expression in papillary thyroid carcinoma[J]. *Int J Surg Pathol*, 2015, 23(1): 5-12.
- [14] WEI Q, YAN J, FU B, et al. IMP3 expression is associated with poor survival in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(11): 2218-2224.
- [15] CHEN L, LIN L, ZHENG L. The correlation between insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3 expression in hepatocellular carcinoma and prognosis[J]. *Hepatogastroenterology*, 2013, 60(123): 553-556.

(唐勇 编辑)