

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.24.015

## 乳腺癌组织 IGFBP7 表达及其临床意义的研究\*

李伯和<sup>1</sup>,袁磊<sup>1</sup>,游颜杰<sup>2</sup>,马培栋<sup>3△</sup>

(1. 漯河医学高等专科学校分子医学实验室,河南漯河 462002;2. 漯河医学高等专科学校病理学教研室,河南漯河 462002;3. 漯河医学高等专科学校第一附属医院乳腺外科,河南漯河 462002)

**[摘要]** **目的** 探究胰岛素样生长因子结合蛋白 7(IGFBP7)的表达与乳腺癌临床病理因素及预后的相关性。**方法** 采用免疫组织化学法检测 105 例乳腺癌患者 IGFBP7 的表达,并分析 IGFBP7 的表达情况与乳腺癌患者临床病理特征之间的关系,采用 Kaplan-Meier 法分析乳腺癌患者的 5 年无瘤生存率。**结果** 105 例乳腺癌患者癌组织中 IGFBP7 阳性率为 57.1%;IGFBP7 表达水平与组织学分级、肿瘤大小、淋巴结转移、雌激素受体表达和孕激素受体表达有明显相关性( $P < 0.05$ ),但与年龄、绝经状态、TNM 分期、病理类型和人类表皮生长因子受体 2(HER-2)表达无相关性( $P > 0.05$ )。IGFBP7 阳性患者的 5 年无病生存率显著高于 IGFBP7 阴性患者( $P < 0.05$ )。多因素 Cox 回归模型分析结果表明,IGFBP7 表达和淋巴结转移是影响乳腺癌患者生存期的独立因素( $P < 0.05$ )。**结论** IGFBP7 表达阳性的乳腺癌患者更易复发转移。

**[关键词]** 乳腺肿瘤;胰岛素样生长因子结合蛋白 7;免疫组织化学;生存分析

**[中图分类号]** R737.9

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2016)24-3358-03

### Study on the expression of IGFBP7 in patients with breast cancer and its clinical significance\*

Li Baihe<sup>1</sup>, Yuan Lei<sup>1</sup>, You Yanjie<sup>2</sup>, Ma Peidong<sup>3△</sup>

(1. Laboratory of Molecular Medicine, Luohe Medical College, Luohe, Henan 462002, China;

2. Department of Pathology, Luohe Medical College, Luohe, Henan 462002, China;

3. Department of Breast Surgery, First Affiliated Hospital of Luohe Medical College, Luohe, Henan 462002, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the relationship between insulin-like growth factor binding protein 7(IGFBP7) and clinical factors and prognosis of breast cancer. **Methods** A total of 105 cases of breast cancer were detected for the expression of IGFBP7 by the immunohistochemical method, and the relationship between the expression of IGFBP7 and clinical factors was analyzed. The 5-year disease-free survival(DSF) was analyzed by Kaplan-Meier method. **Results** The expression of IGFBP7 was detected in 57.1% of breast cancer cases. In the 105 cases of breast cancer patients, the expression of IGFBP7 was correlated with pathological grade, tumor size, lymph node metastasis, expression of estrogen receptor(ER) and progesterone receptor(PR), with statistical difference( $P < 0.05$ ). However, it did not show any correlation with age, menopausal status, TNM stage, pathologic types and the expression of HER-2( $P > 0.05$ ). The 5-year DSF of IGFBP7 negative patients was markedly lower than that of IGFBP7 positive patients( $P < 0.05$ ). Cox multivariate analysis indicated that the expression of IGFBP7 and lymph node metastasis were the independent prognostic factors affecting survival rate of breast cancer patients( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The IGFBP7 positive patients with breast cancer may be more prone to recurrence and metastasis.

**[Key words]** breast neoplasms; insulin-like growth factor binding protein 7; immunohistochemistry; survival analysis

乳腺癌是全球女性最常见的癌症之一。尽管近年来针对乳腺癌开展的综合治疗大大提高了治疗效果,但仍有三分之一的乳腺癌患者最终会复发转移,复发转移依然是导致乳腺癌患者术后死亡的首要因素<sup>[1]</sup>。最新的研究结果表明,胰岛素样生长因子结合蛋白 7(insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7)与胃癌和食管癌的预后密切相关<sup>[2-3]</sup>,但与乳腺癌少见相关报道。本研究旨在观察 IGFBP7 在中国妇女乳腺癌组织中的表达情况,探讨 IGFBP7 与乳腺癌临床病理特征的关系及其对乳腺癌患者预后的影响,为乳腺癌个体化治疗提供依据。

### 1 材料与与方法

**1.1 材料与试剂** 收集漯河医学高等专科学校第一附属医院 2002 年 2 月 1 日至 2007 年 5 月 31 日经病理检查确诊并行乳腺癌根治术的 105 例女性乳腺癌患者。患者年龄 39~72 岁,

中位年龄 51 岁,其临床病理资料包括年龄、绝经情况、TNM 分期、病理类型、肿瘤大小、淋巴结状态及术后免疫组织化学结果[雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人类表皮生长因子受体 2(HER-2)表达情况]。所有病例保存有完整石蜡包埋组织样本和随访资料。兔抗人 IGFBP7 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司,免疫组织化学试剂盒购自北京中杉公司。切片厚 4  $\mu\text{m}$ ,采用免疫组织化学 SP 法,随抗体获赠相应照片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照。

### 1.2 方法

**1.2.1 结果判定标准** IGFBP7 主要位于细胞质,根据阳性细胞百分率和阳性细胞染色强度两项指标,进行综合半定量分析。阳性细胞百分率评分标准:阳性细胞小于 5%为 0 分,5%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分<sup>[6]</sup>。阳性细胞染色强度评分标准:无着色为

\* 基金项目:河南省科技厅科技发展计划项目(142102310466);漯河医学高等专科学校科研基金资助项目(2014-S-LMC09)。 作者简介:李伯和(1967—),硕士,副教授,主要从事乳腺癌的临床与基础研究。 △ 通讯作者, Tel:(0395)2969424; Email: fzyx\_yl@163.com。

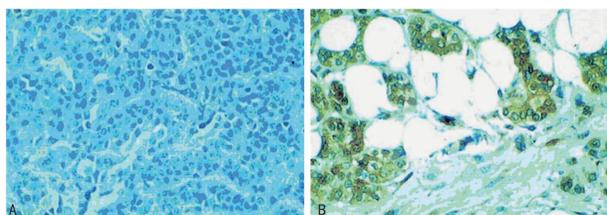
0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将以上两项分值相乘得出最后评分:0 分为(-),1~3 分为(+),4~6 分为(++),7~9 分为(+++),10~12 分为(++++) ,其中++~++++为 IGFBP7 阳性表达<sup>[7]</sup>。

**1.2.2 随访** 术后开始对患者进行定期随访,通过门诊、电话、信件及询问亲属等方式。无病生存时间指从手术后的第 1 天开始至第 1 次复发或转移的时间。随访日期截至 2012 年 2 月,平均随访时间为 31 个月。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计数资料采用率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。使用 Kaplan-Meier 法进行单因素生存分析,绘制生存曲线并进行 Log-rank 检验,Cox 多因素模型对患者预后进行分析。检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 乳腺癌组织 IGFBP7 蛋白的表达** IGFBP7 在乳腺癌组织中阳性染色主要定位于细胞质,见图 1。在 105 例乳腺癌患者中,IGFBP7(-)16 例,(+)29 例,(++)24 例,(+++ )15 例,(++++ )21 例,阳性率为 57.1%(60/105)。



A: IGFBP7 蛋白阴性表达;B: IGFBP7 蛋白阳性表达。

图 1 乳腺癌组织中 IGFBP7 蛋白的表达(SP×400)

**2.2 IGFBP7 蛋白的表达与临床病理特征的相关性** 在 105 例乳腺癌患者中,分化较好的 I~II 级 IGFBP7 阳性率为 64.4%,而分化较差的 III 级 IGFBP7 阳性率低至 40.6%( $P<0.05$ );已发生淋巴结转移患者的 IGFBP7 阳性率显著低于未发生淋巴结转移的患者( $P<0.05$ );肿块大小小于 2 cm 的患者的 IGFBP7 阳性率明显高于肿块大于或等于 2 cm 的患者( $P<0.05$ );ER 和 PR 阳性患者的 IGFBP7 阳性率分别为 71.1%和 68.1%,均显著高于 ER 和 PR 阳性患者的 IGFBP7 阳性率( $P<0.05$ )。IGFBP7 蛋白的表达与患者年龄、绝经状态、TNM 分期、病理类型和 HER-2 表达无相关性( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 乳腺癌患者 IGFBP7 的表达与临床病理特征比较[n(%)]

病理特征	IGFBP7(+)	IGFBP7(-)	$\chi^2$	P
年龄(岁)				
<50	25(51.0)	24(49.0)	1.406	0.236
≥50	35(62.5)	21(37.5)		
绝经状态				
绝经前	36(62.1)	22(37.9)	1.284	0.257
绝经后	24(51.1)	23(48.9)		
组织学分级				
I~II	47(64.4)	26(35.6)	5.128	0.024
III	13(40.6)	19(59.4)		
肿瘤大小(cm)				

续表 1 乳腺癌患者 IGFBP7 的表达与临床病理特征比较[n(%)]

病理特征	IGFBP7(+)	IGFBP7(-)	$\chi^2$	P
<2	27(79.4)	7(20.6)	10.182	0.001
≥2	33(46.5)	38(53.5)		
TNM 分期				
I~II	29(61.7)	18(38.3)	0.722	0.395
III~IV	31(53.4)	27(46.6)		
病理类型				
浸润性导管癌	44(54.3)	37(45.7)	1.152	0.283
其他类型癌	16(66.7)	8(33.3)		
淋巴结				
有转移	21(43.8)	27(56.2)	6.476	0.011
无转移	39(68.4)	18(31.6)		
ER				
阳性	27(71.1)	11(28.9)	4.705	0.030
阴性	33(49.3)	34(50.7)		
PR				
阳性	32(68.1)	15(31.9)	4.160	0.041
阴性	28(48.3)	30(51.7)		
HER-2				
阳性	24(66.7)	12(33.3)	2.029	0.154
阴性	36(52.2)	33(47.8)		

**2.3 IGFBP7 表达与 5 年无瘤生存率的关系** 在 105 例乳腺癌患者中,IGFBP7 阳性患者复发转移 9 例,IGFBP7 阴性患者复发转移 21 例,IGFBP7 阳性患者的 5 年无瘤生存率为 77.3%,而 IGFBP7 阴性患者的 5 年无瘤生存率仅为 46.2%,两者差异有统计学意义(Log-rank = 14.220,  $P<0.01$ ),见图 2。

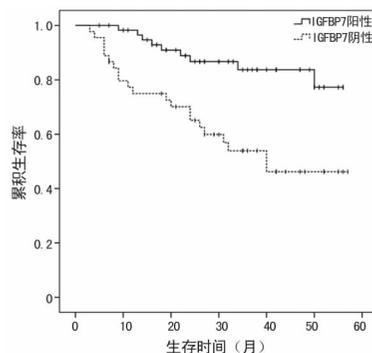


图 2 IGFBP7 阳性与阴性患者的 5 年无瘤生存率

**2.4 独立预后因素分析** 多因素 Cox 回归模型分析结果显示,IGFBP7 表达水平和淋巴结转移都是影响乳腺癌患者生存预后的独立因素,见表 2。

表 2 乳腺癌患者预后因素 Cox 风险模型分析

项目	B	SE	Wald	P	RR	95%CI
IGFBP7	1.132	0.505	5.029	0.025	3.103	1.153~8.349
淋巴结转移	0.940	0.455	4.273	0.039	2.561	1.050~6.246

### 3 讨 论

IGFBP7 属 IGFBP 超家族成员,基因定位于人染色体 4q12。人 IGFBP7 前体由 282 个氨基酸残基组成,含 26 个氨基酸残基的信号肽,切除信号肽后成熟的分泌型 IGFBP7 含有 256 个氨基酸残基。通过同源性比对分析,IGFBP7 除了其 N 端高度保守的 IGFBP 结构域外,还含有肝素结合结构域、Kazal 样结构域和 Ig 样 C2 结构域。IGFBP7 在正常人体不同组织器官中普遍表达,但在脂肪细胞、血细胞和淋巴细胞表达呈阴性。IGFBP7 在衰老的乳腺上皮细胞的表达量为正常水平的 10 倍,但在多种肿瘤组织中呈低表达甚至缺失,如胃癌、胰腺癌、乳腺癌和甲状腺癌等<sup>[2,6-8]</sup>。

本研究显示,105 例乳腺癌患者中有 60 例患者 IGFBP7 的表达呈阳性,阳性率为 57.1%。在甲状腺癌、肺癌、前列腺癌、食管癌和结肠癌中,IGFBP7 基因启动子的过度甲基化导致了 IGFBP7 表达下降甚至缺失<sup>[3,8-11]</sup>,然而在乳腺癌中 IGFBP7 表达阴性是否也是由于 IGFBP7 基因启动子的过度甲基化尚无相关报道。

Liu 等<sup>[2]</sup>对 247 例胃癌的病例对照研究发现,IGFBP7 与 TNM 分期和预后密切相关。Tomimaru 等<sup>[12]</sup>在研究中发现 IGFBP7 阴性的肝癌患者肿瘤直径较大,易侵袭血管,生存率低。然而 An 等<sup>[6]</sup>的研究结果却显示,IGFBP7 的表达情况与胰腺癌的病理特征并无显著相关性,但 IGFBP7 阴性患者预后较差。本研究发现,IGFBP7 表达阳性的乳腺癌患者分化程度较好,肿瘤直径较小,不易向淋巴结转移,且雌激素受体和孕激素受体表达多为阳性。这提示 IGFBP7 可能与乳腺癌细胞分化、增殖、侵袭及雌激素受体和孕激素受体的表达密切相关。

Tania 等<sup>[15]</sup>的研究发现,IGFBP7 mRNA 水平在三阴乳腺癌患者中最低,IGFBP7 过表达可激活 p38MAPK-p53-p21 CIP1/WAF1 通路抑制乳腺癌 MDA-MB-468 细胞增殖和迁移,以及促进细胞凋亡和衰老。作者之前的研究也发现 IGFBP7 可通过上调 p21 CIP1/WAF1 的表达及抑制 ERK1/2 信号通路活化阻滞乳腺癌细胞于 G1 期<sup>[14-15]</sup>。

本研究还发现,IGFBP7 表达阳性的乳腺癌患者 5 年无瘤生存率显著高于 IGFBP7 表达阴性的乳腺癌患者。多因素分析结果显示,IGFBP7 表达阴性是影响预后的独立危险因素,与文献报道较为一致<sup>[2,6,12]</sup>。这提示 IGFBP7 可作为预测乳腺癌复发转移的潜在指标。

综上所述,本研究发现 IGFBP7 阴性的乳腺癌患者肿瘤恶性程度较高,容易复发转移,预后较差,这表明 IGFBP7 在乳腺癌临床诊断和判断预后上具有潜在的应用价值。此外,推测 IGFBP7 及去甲基化药物有可能用于未来乳腺癌的预防或治疗。

### 参考文献

[1] Frieboes HB,Edgerton ME,Fruehauf JP,et al. Prediction of drug response in breast cancer using integrative experimental/computational modeling[J]. *Cancer Res*,2009,69(10):4484-4492.

[2] Liu L,Yang ZH,Zhang WX,et al. Decreased expression of IGFBP7 was a poor prognosis predictor for gastric

cancer patients[J]. *Tumor Biol*,2014,35(9):8875-8881.

[3] Smith E,Ruszkiewicz AR,Jamieson GG,et al. IGFBP7 is associated with poor prognosis in oesophageal adenocarcinoma and is regulated by promoter DNA methylation[J]. *Br J Cancer*,2014,110(3):775-782.

[4] Li J,Yu Y,Yang Y,et al. IGFBP7,a novel immunohistochemical marker in differentiating dermatofibroma from dermatofibrosarcoma protuberans[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*,2012,26(3):382-385.

[5] 杨欢,陈晓耕,陈新,等. 乳腺浸润性导管癌组织 Ki-67 表达及其分子分型的意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*,2012,19(3):212-216.

[6] An W,Ben QW,Chen HT,et al. Low expression of IGFBP7 is associated with poor outcome of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*,2012,19(12):3971-3978.

[7] Amemiya Y,Yang W,Benatar T,et al. Insulin like growth factor binding protein-7 reduces growth of human breast cancer cells and xenografted tumors[J]. *Breast Cancer Res Treat*,2011,126(2):373-384.

[8] Vizioli MG,Sensi M,Miranda C,et al. IGFBP7: an onco-suppressor gene in thyroid carcinogenesis[J]. *Oncogene*,2010,29(26):3835-3844.

[9] Suzuki M,Shiraishi K,Eguchi A,et al. Aberrant methylation of LINE-1,SLIT2,MAL and IGFBP7 in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*,2013,29(4):1308-1314.

[10] Sullivan L,Murphy TM,Barrett C,et al. IGFBP7 promoter methylation and gene expression analysis in prostate cancer[J]. *J Urol*,2012,188(4):1354-1360.

[11] Dimberg J,Thai TH,Skarstedt M,et al. Analysis of APC and IGFBP7 promoter gene methylation in Swedish and Vietnamese colorectal cancer patients [J]. *Oncol Lett*,2013,5(1):25-30.

[12] Tomimaru Y,Eguchi H,Wada H,et al. IGFBP7 down-regulation is associated with tumor progression and clinical outcome in hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*,2012,130(2):319-327.

[13] Benatar T,Yang W,Amemiya Y,et al. IGFBP7 reduces breast tumor growth by induction of senescence and apoptosis pathways[J]. *Breast Cancer Res Treat*,2012,133(2):563-573.

[14] 袁磊,范文娟,宋国华,等. 外源性胰岛素样生长因子结合蛋白 7 抑制人乳腺癌 MDA-MB-453 细胞的增殖[J]. *生理学报*,2013,65(5):519-524.

[15] 袁磊,左曙光,宋国华,等. IGFBP7 对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响及其机制[J]. *中国病理生理杂志*,2012,28(10):1835-1840.