

IMP3 蛋白在 21 例低增殖活性胃肠神经内分泌肿瘤中的表达

The Expression of IMP3 in 21 Cases with Gastrointestinal Neuroendocrine Tumor with Low Proliferative Activity // ER Li-mian, LI Yong, WU Ming-li, LIU Yue-ping, YUAN Li, ZHENG Xiu-li, GUO Shuo, ZHU Jing-yun, LI Fang, DENG Hui-yan

尔丽绵,李 勇,吴明利,刘月平,袁 丽,郑秀丽,郭 硕,朱景云,
李 芳,邓会岩

(河北医科大学第四医院,河北 石家庄 050010)

摘 要: [目的] 探讨胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白 3 (insulin-like growth factor II mRNA binding protein3, IMP3) 蛋白在低增殖活性胃肠神经内分泌肿瘤组织中的表达及其与临床病理特征的关系。 [方法] 选取 18 例胃肠神经内分泌肿瘤患者内镜切除标本及 3 例活检标本。采用 Western-blot 法对 21 例胃肠神经内分泌肿瘤患者癌组织中 IMP3 蛋白的表达量进行测定。 [结果] 21 例低增殖活性胃肠神经内分泌肿瘤组织内 IMP3 蛋白表达量在增殖分级、肿瘤大小及浸润深度分组中表达差异有统计学意义 (1.4176 ± 0.1168 vs 0.8187 ± 0.3169 , $P < 0.001$; 1.3806 ± 0.1286 vs 0.8372 ± 0.3491 , $P < 0.05$; 1.3801 ± 0.1268 vs 0.7470 ± 0.2814 , $P < 0.05$), 而在年龄、性别、肿瘤个数及肿瘤发生部位组间差异无统计学意义。 [结论] IMP3 蛋白表达量与低增殖活性神经内分泌肿瘤增殖分期、肿瘤大小及浸润深度相关,可能成为低增殖活性神经内分泌肿瘤的内镜诊疗效果及预后评价的指标。

关键词: IMP3; 胃肠神经内分泌肿瘤; 内镜

中图分类号: R735 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2019)05-0475-04
doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.05.B021

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)是一组来源于弥散神经内分泌系统的少见肿瘤,其临床发病过程隐匿,进展缓慢,约 2/3 患者在疾病确诊时肿瘤已发生转移,可发生于全身许多器官和组织,其中以胃肠胰神经内分泌肿瘤最为常见^[1,2]。在最新的 WHO 分类中^[3]神经内分泌肿瘤(NEN)根据组织学和增殖活性分为 NET(神经内分泌瘤)、NEC(神经内分泌癌)和混合型神经内分泌腺癌(ANEC),该分类方法还增加了分级系统,按组织学和增殖活性分为低级别 (G_1 分裂指数/10HPF < 2 , Ki-67 指数 ≤ 2)、中高级别(G_2 , 分裂指数/10HPF $2 \sim 20$, Ki-67 指数 $3 \sim 20$)、高级别(G_3 分裂指数/10HPF > 20 , Ki-67 指数 > 20), G_1 级和 G_2 级归为 NET 范畴, G_3 级归为 NEC。胃肠道低增殖活性神经内分泌肿瘤即上述分级中的 NET G_1 及 G_2 , 多为无功能性,发病更为隐匿,多在查体时经内镜检查发现,随着内镜检查技术的提高,该组疾

病检出率逐年提高,近年来对于较小(≤ 1 cm)NET 浸润深度不超过黏膜下层且无转移证据的病变可通过内镜切除,随访取得良好疗效^[4-6]。该类肿瘤隐匿的发病状态及惰性生长的潜能使得其很难在浸润转移前得以诊断。因此,确定胃肠低增殖活性神经内分泌肿瘤浸润转移的早期预警因素极其重要。

IMP3 是一种癌胚蛋白,可以在人类多种肿瘤的细胞质中表达,是肿瘤细胞增殖以及转移的关键因素之一^[7],多项研究表明 IMP3 表达与原发性和继发性肿瘤、肺癌、肾癌、恶性间皮瘤等相关,并且提示远处癌转移可能性和不良预后^[8-12],IMP3 可能在肿瘤浸润和转移中发挥重要作用^[13]。为探讨 IMP3 在分化良好的低增殖活性 NET 中的表达情况,并分析其与肿瘤早期浸润的关系,我们选取了经内镜切除或活检的 NET 组织,通过 Western-blot 检测肿瘤组织中 IMP3 蛋白含量,并进一步结合内镜下形态及术后病理分析在预后良好的低增殖活性 NET 中 IMP3 的预警作用。

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(20160620, ZL20140022)
通信作者: 李勇,主任医师,博士;河北医科大学第四医院外三科,河北省石家庄市健康路 12 号(050010);E-mail: hbsyelm@163.com
收稿日期: 2018-09-03; **修回日期:** 2018-12-26

1 资料与方法

1.1 一般资料

2015年3月至2016年8月间河北医科大学第四医院内镜科收治的21例神经内分泌肿瘤患者,21例(18例为内镜切除标本,3例为活检标本)NET患者中男性10例,女性11例;年龄43~78岁,平均年龄(51.75±12.31)岁。肿瘤位于胃13例,直肠8例,所选病例术前均未接受放、化疗,均经病理免疫组化证实为神经内分泌肿瘤,且依据WHO胃肠胰神经内分泌肿瘤的诊断及分级标准^[3]符合病理增殖分级G₁、G₂。21例NET患者中男女比例相当(10:11);年龄43~78岁,平均年龄(51.75±12.31)岁;肿瘤直径0.3~2 cm,其中≤1cm 14例,1~2cm 7例;15例为多发,6例单发;增殖分期G₁期14例,G₂期7例;内镜下形态多表现为黏膜下肿物型,其他为息肉或充血糜烂型。

1.2 手术方法

采用Olympus GIFH260胃肠镜及EU-M2000超声内镜系统,微型超声探头驱动器为Olympus MM-935,微超声探头选用Olympus UM-2R或3R,频率分别为12及20MHz。检查方法为术前采用超声胃镜评估病变浸润深度。共行内镜微创切除18例,依照超声内镜对肿瘤浸润深度的判断情况,未侵及黏膜下层的12例行EMR术,侵及黏膜下层的6例行ESD术,切除情况具体见Figure 1。切除标本展平固定并测量记录病灶大小,留存病灶组织放入无菌EP管中,并迅速置于液氮中转运至-80℃冰箱保存备用。

1.3 Western blot 检测

将留取的病灶组织加入组织裂解液(组织裂解液的配置:50mM Tris base,150mM NaCl,0.1% SDS,即0.303g Tris base,0.4383g NaCl,0.05g SDS,40ml H₂O,用HCl调pH至8.0定容至50ml)提取总蛋白后,用BCA蛋白测定试剂盒测定

浓度,电泳分离蛋白及转膜后分别加一抗、二抗,曝光显影,采用Image J软件分析灰度值。

1.4 统计学处理

应用SPSS13.0统计学软件对所有数据进行统计学处理,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,分析表达差异采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

21例患者均经超声内镜检查明确病变深度,其中18例接受镜下切除治疗,18例患者超声胃镜判断深度与术后病理对照发现准确率为88.9%(16/18)。18例内镜切除患者随访12~24个月,无复发转移者。

采用Western-blot法检测21例低增殖活性神经内分泌肿瘤患者组织内IMP3蛋白表达量,结果显示,低增殖活性神经内分泌肿瘤组织内IMP3蛋白表达量在增殖分级、肿瘤大小及浸润深度分组中表达差异有统计学意义(1.4176±0.1168 vs 0.8187±0.3169, $P < 0.001$; 1.3806±0.1286 vs 0.8372±0.3491, $P < 0.05$; 1.3801±0.1268 vs 0.7470±0.2814, $P < 0.05$),而在年龄、性别、肿瘤个数及肿瘤发生部位等分组中差异无统计学意义(Table 1, Figure 2)。

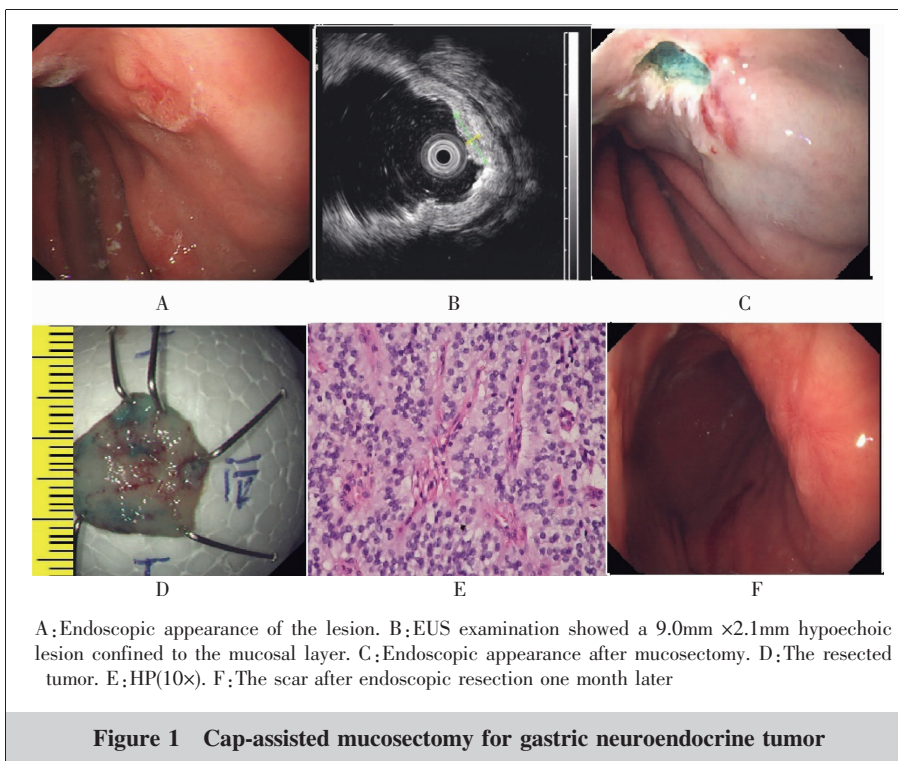
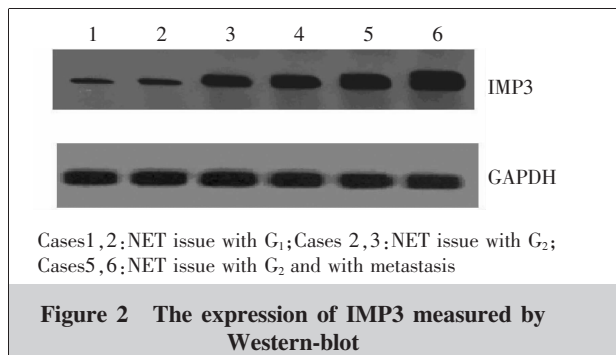


Table 1 Relationship between the expression of IMP3 and clinicopathological features in 21 cases with neuroendocrine tumor

Index	IMP3 protein	t	P
Gender			
Male	1.0253±0.3900	0.311	0.595
Female	1.0120±0.4112		
Age(years old)			
<60	0.9802±0.3893	0.808	0.777
≥60	1.1137±0.4153		
Grade			
G ₁	0.8187±0.3169	4.716	<0.001
G ₂	1.4176±0.1168		
Tumor location			
Gastric	1.0965±0.3515	1.325	0.208
Colon	0.8913±0.4423		
Tumor size(cm)			
≤1	0.8372±0.3491	3.850	0.001
>1	1.3806±0.1286		
Number of tumors			
1	1.0493±0.3906	0.573	0.908
>1	0.9408±0.4182		
Invasion depth			
Mucosa	0.7470±0.2814	2.528	0.024
Submucosa or metastasis	1.3801±0.1268		



3 讨论

胃肠道神经内分泌肿瘤起源于胃肠黏膜 Lieberkuhn 隐窝深部肠嗜铬样细胞 (Kulchitsky), 该细胞来源于胚胎神经嵴, 是胃肠道中分布最广、数量最多的神经内分泌细胞, 可以分泌 5-羟色胺、组胺、缓激肽、激肽释放酶和前列腺素等 20 余种物质, 引起皮肤潮红、腹泻、腹痛、呼吸困难、心血管异常等临床综合征, 即类癌综合征。文献报道胃肠道 NET 类癌综合征发生率不足 10%^[14]。本组 21 例患者均未出现类癌综合征的症状; 胃肠道神经内分泌

肿瘤生长缓慢, 临床上主要表现为非特异的消化系统症状, 不易早期发现并诊断。

胃肠道 NET 的诊断主要依靠内镜及影像学检查。超声内镜对胃肠道 NET 的定位具有特殊的优势, 早期胃肠道神经内分泌肿瘤 EUS 声像图特征表现为: 病灶呈偏低回声结节, 内部回声均匀, 病灶呈类圆型或椭圆型, 边界清, 起源于黏膜层或黏膜下层。术前超声内镜检查可以确定肿瘤大小、浸润深度、周围邻近脏器有无侵犯以及周围有无肿大淋巴结, 对于肿瘤术前分期、临床选择治疗方式可以提供很好的指导作用^[15,16], 可明确病变浸润层次更为安全有效的指导内镜下切除, 如黏膜下层完整, 病灶均小于 2cm, 可采用 EMR 法切除, 省时且减少并发症, 如黏膜下层受侵者则采取 ESD 术, 以确保病变的完整切除。本组 21 例患者均经超声内镜检查明确病变深度, 其中 18 例接受镜下切除治疗, 依照超声内镜对肿瘤浸润深度的判断情况, 未侵及黏膜下层的 12 例行 EMR 术, 侵及黏膜下层的 6 例行 ESD 术, 术后均获得 R₀ 切除 (垂直及水平切缘阴性)。18 例患者超声胃镜判断深度与术后病理对照发现准确性 88.9%(16/18)。近年来通过 Ki-67 阳性指数及核分裂象数进行对肿瘤增殖活性的评估。国外学者对 NET 的生物学行为研究发现肿瘤直径 <1cm 且分化良好者转移率为 2%, >1cm 者转移率达 3~8%^[17]。18 例内镜切除患者随访未见复发转移, 提示对较小 (直径小于 1cm)、分化程度较好 G₁ 或 G₂ 期胃肠道神经内分泌肿瘤在超声内镜指导下选择合适的内镜切除方法安全有效。本组另 3 例患者均为 G₂ 期肿瘤肝转移, 肿瘤隐匿的发病状态及惰性生长的潜能使得其很难在浸润转移前得以诊断, 从而错过了内镜治疗的最佳时机, 说明寻找胃肠低增殖活性神经内分泌肿瘤浸润转移的早期预警因子极其重要。

IMP3 是胰岛素样生长因子 2 mRNA-结合蛋白 (IMPs) 中的家庭成员之一, IMPs 包括 IMP1、IMP2 以及 IMP3。特别是在人类和小鼠胚胎的早期阶段, IMPs 可以通过结合目的 mRNA 进而影响其转运、定位及稳定性。IMP3 定位于染色体 7p11.5, 编码一个长度为 4350-bp mRNA 表达。人类和小鼠的胚胎发生早期, 正常生长的上皮、肌肉及胎盘中均可检测到 IMP3, 而在成年人正常组织中几乎检测不到 IMP3^[18]。研究表明 IMP3 在胃癌、结肠癌和肺腺癌等恶性肿瘤中过表达, 并与肿瘤侵袭性的进展相关, IMP3 可

能在肿瘤浸润和转移中发挥重要作用。对本组内镜切除或活检的 NET 组织, 通过 Western-blot 检测肿瘤组织中 IMP3 蛋白含量, 发现在低增殖活性神经内分泌肿瘤中 G₂ 期 IMP3 蛋白表达量明显高于 G₁ 期患者, 进一步结合内镜下形态及术后病理分析发现低增殖活性神经内分泌肿瘤组织内 IMP3 蛋白表达量与肿瘤大小及浸润深度相关, 由此推测 IMP3 蛋白可能在神经内分泌肿瘤的增殖及侵袭中起着某种至关重要的作用, 超声胃镜对病变浸润深度判断准确性较高, IMP3 蛋白表达结合超声内镜检查可能对该类特殊肿瘤的临床诊治方案有一定指导作用, 或许可能成为低增殖活性神经内分泌肿瘤的内镜诊疗效果及预后评价的指标, 这有待于大样本临床内镜治疗病例的积累及长期的临床观察。

参考文献:

- [1] Modlin IM, Shapiro MD, Kidd M. Siegfried oberndorfer: origins and perspectives of carcinoid tumors[J]. Hum Pathol, 2004, 35(12): 1440-1451.
- [2] berg KE. Gastrointestinal neuroendocrine tumors [J]. Ann Oncol, 21(Suppl7): vii72-vii80.
- [3] Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al. WHO Classification of Tumours of the Digestive System[M]. Sterling, VA: Stylus, 2010.
- [4] Suzuki S, Ishii N, Uemura M, et al. Endoscopic submucosal dissection (ESD) for gastrointestinal carcinoid tumors[J]. Surg Endosc, 2012, 26(3): 759-763.
- [5] Yan FH, Lou Z, Hu SJ, et al. Endoscopic submucosal dissection versus transanal local excision for rectal carcinoid: a comparative study[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 162.
- [6] Sato Y. Clinical features and management of type I gastric carcinoids[J]. Clin J Gastroenterol, 2014, 7(5): 381-386.
- [7] Mueller-Pillasch F, Pohl B, Wilda M, et al. Expression of the highly conserved RNA binding protein KOC in embryogenesis[J]. Mech Dev, 1999, 88(1): 95-99.
- [8] Jiang Z, Chu PG, Woda BA, et al. Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: a retrospective study[J]. Lancet Oncol, 2006, 7(7): 556-564.
- [9] Jiang Z, Chu PG, Woda BA, et al. Combination of quantitative IMP3 and tumor stage: a new system to predict metastasis for patients with localized renal cell carcinomas [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(17): 5579-5584.
- [10] Szarvas T, vom Dorp F, et al. High insulin-like growth factor mRNA-binding protein 3 (IMP3) protein expression is associated with poor survival in muscle-invasive bladder cancer[J]. BJU Int, 2012, 110(6 Pt B): E308-E317.
- [11] Lee DJ, Xylinas E, Rieken M, et al. Insulin-like growth factor messenger RNA-binding protein 3 expression helps prognostication in patients with upper tract urothelial carcinoma[J]. Eur Urol, 2014, 66(2): 379-385.
- [12] Mhawech-Fauceglia P, Yan L, Liu S, et al. ER +/PR +/TFF3 +/IMP3 immuno-profile distinguishes endometrioid from serous and clear cell carcinomas of the endometrium: a study of 401 cases [J]. Histopathology, 2013, 62(7): 976-985.
- [13] Del Gobbo A, Vaira V, Guerini Rocco E, et al. The oncofetal protein IMP3: a useful marker to predict poor clinical outcome in neuroendocrine tumors of the lung[J]. J Thorac Oncol, 2014, 9(11): 1656-1661.
- [14] Gustafsson BI, Kidd M, Modlin IM. Neuroendocrine tumors of the diffuse neuroendocrine system[J]. Curr Opin Oncol, 2008, 20(1): 1-12.
- [15] De Angelis C, Manfrè SF, Bruno M, et al. Hegemony and cost-effectiveness of endoscopic ultrasound (EUS) in the field of gastroenteropancreatic-neuroendocrine tumors (GEP-NETs)[J]. Minerva Med, 2014, 105(5): 363-370.
- [16] Zhong DD, Wang CH, Xu JH, et al. Endoscopic ultrasound features of gastric schwannomas with radiological correlation: a case series report[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(48): 7397-7401.
- [17] Spampatti MP, Massironi S, Rossi RE, et al. Unusually aggressive type 1 gastric carcinoid: a case report with a review of the literature[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2012, 24(5): 589-593.
- [18] Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, et al. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(2): 1262-1270.