

口腔鳞状细胞癌中 IGF1 的表达及其临床意义

曾洁¹, 祖木热提古丽·阿不来提², 马琰迪³, 俞雪燕⁴, 夏飞飞¹, 徐江¹

摘要 目的 探讨口腔鳞状细胞癌(OSCC)组织及细胞中胰岛素样生长因子1(IGF1)的表达水平及其临床意义。方法

免疫组织化学技术检测 IGF1 在 115 例 OSCC 组织(OSCC 组)及 74 例邻近正常组织(正常组)中的蛋白表达,分析与 OSCC 临床病理因素及预后之间的关系。利用蛋白免疫印迹(Western blot)和实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测口腔正常上皮细胞系 HOK 和 OSCC 细胞系 CAL-27、TCA-8113、SCC-15 和 SCC-25 中 IGF1 蛋白和 mRNA 水平。结果 IGF1 在 OSCC 组中的高表达率为 72.17%,明显高于正常组(2.70%)($P < 0.001$)。IGF1 用于诊断 OSCC 的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.81,灵敏度为 0.73,特异性为 0.82。IGF1 的表达与 OSCC 分化程度、T 分期和浸润深浅有关($P = 0.03, P = 0.02, P = 0.02$),与性别、年龄、N 分期、TNM 分期、吸烟、饮酒、HPV 感染无关($P > 0.05$)。Kaplan-Meier 和 COX 回归分析显示,IGF1 高表达、分化程度、T 分期和浸润深浅是影响患者预后的相关因素($P < 0.01, P = 0.04, P = 0.03, P = 0.04$)。COX 多因素表明,IGF1 高表达是影响患者预后的独立因素($P = 0.01$)。Western blot 和 qRT-PCR 结果显示,IGF1 在 OSCC 细胞系中的蛋白及 mRNA 表达水平高于正常口腔上皮细胞($P < 0.05$)。结论 IGF1 在 OSCC 中高表达,是 OSCC 潜在的诊断及预后不良标记物。

关键词 口腔鳞状细胞癌;胰岛素样生长因子1;免疫组织化学;预后

中图分类号 R 739.8

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1418-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.029

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)约占口腔癌的 90%,是一个日益严重的全球健康问题,到目前为止,尽管对 OSCC 的手术方法和辅助治疗不断改进,但 5 年生存率没有显著增加^[1-2]。胰岛素样生长因子 1 (insulin like growth

factor 1, IGF1) 是一种多效性因子,可循环至全身各处,由 70 多个氨基酸组成^[3],其结构类似于人类胰岛素原,是多种正常和恶性细胞的生存、生长因子^[4]。IGF1 的表达与多种肿瘤相关,如结肠癌、乳腺癌和前列腺癌患病风险的增加被认为是由 IGF1 的增殖作用引起^[5]。该实验将采用免疫组织化学 Envision 法,测定在 OSCC 和邻近正常组织中 IGF1 的表达情况,分析 IGF1 表达与 OSCC 临床特性和预后之间的关系,并从细胞水平进一步检测其表达情况。

1 材料与方法

1.1 组织标本和细胞系 115 份 OSCC 组织样本(OSCC 组)及 74 份正常组织样本(正常组)(距离癌组织 2 cm 以上)均来自石河子大学第一附属医院 2004—2019 年间确诊的 OSCC 患者,由 2 位位高年资病理医师对标本进行诊断并制作成组织芯片,收集相对应的基本病理信息及临床资料,通过电话、医院病历或其他方法等,在 115 例 OSCC 患者中随访 70 例。本研究经石河子大学第一附属医院伦理委员会批准(编号:A2021-073-01)。

本研究中使用了 1 种人口腔角质细胞株(HOK)和 4 种 OSCC 细胞系(CAL-27、TCA8113、SCC-15、SCC-25),其中 HOK 购自北京北纳生物科技有限公司,CAL-27、SCC-15 购自美国 ATCC 细胞库,SCC-25、TCA8113 细胞购自上海吉凯基因科技有限公司。

1.2 主要仪器与试剂 细胞培养箱、超净工作台、-80℃冰箱购于美国赛默飞世尔科技有限公司;电泳仪、湿转膜仪购于美国 Bio-rad 公司;蛋白成像仪购于上海天能公司;荧光定量 PCR 仪购于美国 Agilent 公司。兔抗 IGF1 单克隆抗体(ab263903)购于英国 Abcam 公司;GAPDH 抗体(K200057M)、青链霉素混合液(P1400)购于北京索莱宝科技有限公司;辣根酶标记山羊抗兔 IgG(ZB-2301)、免疫组化试剂盒(PV-6001)购于北京中杉金桥生物技术有限公司;DMEM、RPMI-1640 培养基、血清购于以色列 BI 公司;反转录试剂盒(CW2582)、qRT-PCR 试剂盒

2023-05-26 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82160572)

作者单位:石河子大学第一附属医院¹ 口腔科、⁴ 病理科,石河子 832000

²吐鲁番市人民医院口腔科,吐鲁番 838000

³南阳市中心医院病理科,南阳 473000

作者简介:曾洁,女,硕士研究生;

徐江,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail:1437759520@qq.com

(CW2623)购于江苏康为世纪生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组织化学 选取 Envision 二步法进行实验:切取经甲醛固定和石蜡包埋的 4 μm 组织切片,将组织切片依次在二甲苯、乙醇中脱蜡水化,室温下用 3% H_2O_2 封闭 10 min 后洗涤,然后将所有切片与 IGF1 一抗(1:500)在 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,继而与二抗孵育,PBS 冲洗后 DAB 显色,苏木精核染色后封片,显微镜下阅片。

结果判定:以呈棕黄色颗粒为阳性,IGF1 染色总得分 = 着色强度得分 \times 阳性细胞百分比;为了便于统计分析,以 < 7 为低表达, ≥ 7 为高表达^[6],见表 1。

表 1 免疫组化结果评定标准

阳性细胞		着色强度		评分结果	
百分比	分数	强度	分数	分级	分数
$\leq 5\%$	0	无着色	0	-	0~1
5%~	1	黄色	1	+	2~4
25%~	2	棕黄色	2	++	5~8
50%~	3	棕色	3	+++	9~12
75%~	4				

1.3.2 免疫印迹实验(Western blot) 收集 HOK、CAL-27、TCA-8113、SCC-15 和 SCC-25 五种细胞,用 RIPA 裂解液分离总蛋白,蛋白定量后进行 SDS-PAGE 电泳,结束后转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭,用稀释的一抗(IGF1,1:1 000; GAPDH,1:5 000)4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。隔天用含 0.2% 吐温(TBST)的 TBS 洗涤 6 次,每次 5 min,后将膜与二抗[山羊抗兔 IgG(H+L)-HRP,1:15 000]静孵 2 h,再次洗膜,蛋白成像仪检测蛋白条带,Image J 进行蛋白半定量,分析 IGF1 的相对表达水平。

1.3.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR) 收集 HOK、CAL-27、TCA-8113、SCC-15 和 SCC-25 五种细胞,按照 TRIzol 试剂说明提取总 RNA,检测 RNA 浓度,反转录合成 cDNA,用特异性引物扩增 IGF1 和 GAPDH,引物序列见表 2,以 GAPDH 基因 mRNA 表达水平为标准进行比较,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算上述五种细胞中的 IGF1 mRNA 的相对表达量。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件

表 2 目的基因引物设计

基因	正向(5'-3')	反向(5'-3')
IGF1	CCTGTGGCTTGTCAAATAAA	AAAAATCAGCAGCTTCCAACC
GAPDH	GAAGGCTGGGGCTCATTT	CAGGAGCCATTGCTGATGAT

进行统计分析。用 χ^2 检验比较 OSCC 组织中 IGF1 的表达水平与临床病理特征的相关性,存在个别数值的理论频数小于 5 时,以连续校正值为 χ^2 检验结果。使用 ROC 曲线评估 IGF1 的表达高低,从而预测 OSCC 的免疫组化评分诊断价值。采用 Kaplan-Meier 法分析 IGF1 表达对 OSCC 患者的生存影响,并绘制生存曲线,生存资料中不同变量的风险比采用 COX 回归分析。计量资料采用表示,应用 t 检验对不同细胞系蛋白及 mRNA 表达数据之间的差异进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGF1 在 OSCC 及正常组织中的表达 IGF1 主要定位于细胞膜,少量定位于细胞质,在 OSCC 组和正常组织中均能观察到 IGF1,但是 IGF1 在 OSCC 组中的高表达率为 72.17%,在正常组中是 2.70%,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表 3 和图 1。IGF1 在 OSCC 及正常组评分等级间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4 和图 2。

表 3 OSCC 组及正常组中 IGF1 的表达[n(%)]

组别	n	IGF1		χ^2 值	P 值
		高表达	低表达		
正常	74	2(2.70)	72(97.30)	85.03	< 0.001
OSCC	115	83(72.17)	32(27.83)		

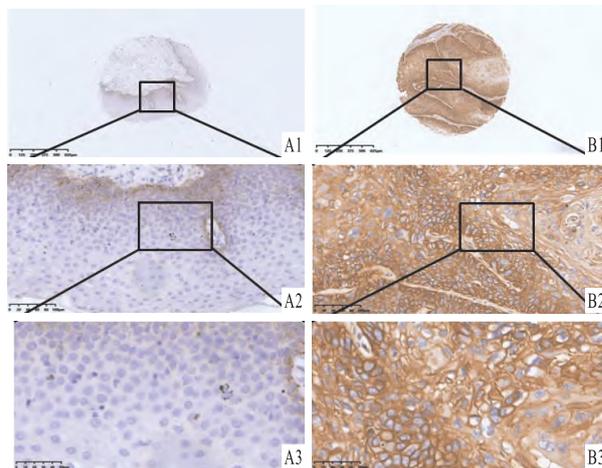


图 1 IGF1 在不同组织中的表达

A:IGF1 在正常组中低表达情况;B:IGF1 在 OSCC 组中高表达情况;1: $\times 40$;2: $\times 200$;3: $\times 400$

2.2 IGF1 在 OSCC 组织中的表达与临床病理因素之间的关联 IGF1 的表达与分化程度、T 分期、浸润深度有相关性($P < 0.05$),与年龄、性别、N 分期、TNM 分期、吸烟、饮酒、HPV 感染无相关性($P >$

表4 OSCC组及正常组中IGF1的表达差异[n(%)]

组别	n	IGF1 表达			Z 值	P 值
		-	+ / ++	+++		
正常	74	63(85.14)	10(13.51)	1(1.35)	-9.72	<0.05
OSCC	115	16(13.91)	35(30.43)	64(55.65)		

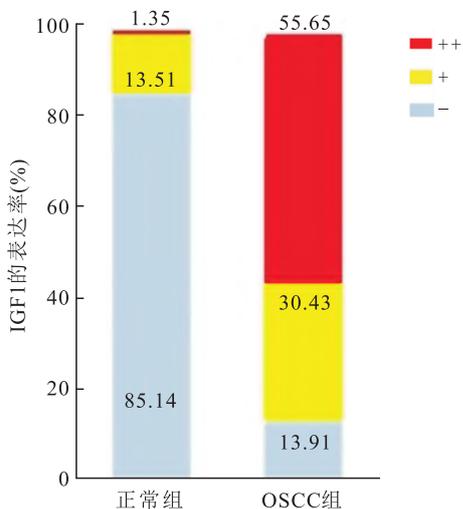


图2 IGF1在不同组织中的表达

0.05),见表5。

2.3 IGF1表达与OSCC的ROC曲线分析 在本实验中,使用ROC曲线分析IGF1在OSCC及对照组中免疫组化评分的诊断价值,结果表明IGF1在OSCC的表达曲线下AUC值为0.81,95% CI:0.75~0.87,用诊断临界值确定OSCC的灵敏度和特异性,灵敏度为0.73,特异性为0.82(诊断临界点为5),见图3。

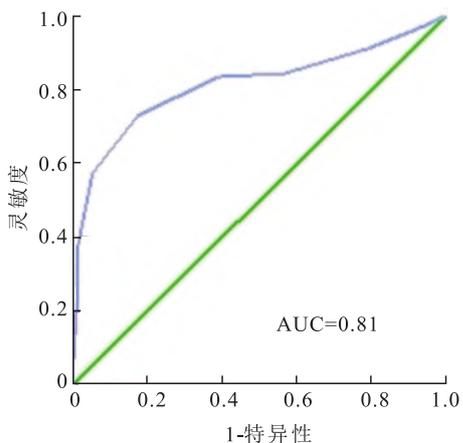


图3 ROC曲线分析 IGF1在OSCC及对照组中免疫组化评分

2.4 IGF1表达与患者预后的关系 Kaplan-Meier生存曲线对比OSCC中IGF1表达和患者预后的关

表5 IGF1表达与OSCC临床病理因素之间的关联[n(%)]

临床参数	n	IGF1		χ^2 值	P 值
		高表达	低表达		
性别				0.23	0.63
男	64	38(59.38)	26(40.63)		
女	51	28(54.90)	23(45.10)		
年龄(岁)				3.83	0.07
<60	39	27(69.23)	12(30.77)		
≥60	76	39(51.32)	37(48.68)		
分化程度				4.33	0.03
高~中	99	53(53.54)	46(46.47)		
低	16	13(81.25)	3(18.75)		
T分期				5.45	0.02
T ₁ ~T ₂	66	44(66.64)	22(33.37)		
T ₃ ~T ₄	49	22(44.90)	27(55.10)		
N分期				1.13	0.29
N ₀	96	53(55.21)	43(44.79)		
N ₁	19	13(68.42)	6(31.58)		
TNM分期				1.54	0.22
I+II	57	36(63.16)	21(36.84)		
III+IV	58	30(51.72)	28(48.28)		
浸润深浅				5.69	0.02
黏膜下层	45	32(71.11)	13(28.89)		
肌层或骨组织	70	34(48.57)	36(51.43)		
饮酒史				0.61	0.44
有	22	11(50.00)	11(50.00)		
无	93	55(59.14)	38(40.86)		
吸烟史				0.02	0.88
有	69	40(57.97)	29(42.03)		
无	46	26(56.52)	20(43.48)		
HPV感染				1.54	0.21
是	12	9(75.00)	3(25.00)		
否	103	58(56.31)	45(43.69)		

系,高表达IGF1的OSCC患者生存时间较低表达患者缩短($P = 0.03$),见图4。COX单因素分析显示OSCC中IGF1表达量($HR = 0.37, P = 0.006$)和分化程度($HR = 1.87, P = 0.04$)和T分期($HR = 2.04, P = 0.03$)和浸润深度($HR = 1.94, P = 0.04$)是影响OSCC患者生存的重要因素,COX多因素生存分析表明IGF1高表达($HR = 0.39, P = 0.01$)与死亡有关,是影响OSCC患者预后的独立因素,见表6。

2.5 IGF1在口腔鳞癌细胞系中高表达 为了进一步确定IGF1的表达,使用Western blot检测了一组人类OSCC细胞系中的IGF1水平,其结果显示,OSCC细胞系与正常口腔上皮细胞HOK对比,IGF1蛋

白的表达水平明显升高($P < 0.01$),见图5。实时荧光定量 PCR 实验结果显示 IGF1 在 OSCC 细胞系与 HOK 相比, mRNA 表达水平增高($P < 0.05$),见图6。

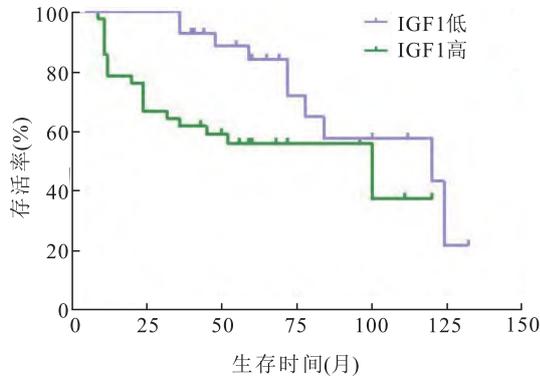


图4 IGF1 表达与 OSCC 患者预后的生存分析

表6 COX 单因素及多因素分析

临床参数	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)	P 值	HR(95% CI)	P 值
性别	0.89(0.51~1.58)	0.69		
年龄	1.28(0.63~2.58)	0.49		
分化程度	1.87(1.02~3.42)	0.04	1.53(0.85~2.77)	0.16
T 分期	2.04(1.02~4.07)	0.03	1.57(0.82~3.02)	0.13
N 分期	1.11(0.52~2.38)	0.79		
TNM 分期	1.72(0.97~3.04)	0.06		
浸润深浅	1.94(1.02~3.67)	0.04	1.16(0.63~2.11)	0.64
饮酒史	1.35(0.63~2.89)	0.43		
吸烟史	1.74(0.91~3.32)	0.09		
HPV 感染	0.84(0.28~2.49)	0.75		
IGF1 表达量	0.37(0.18~0.75)	0.006	0.39(0.19~0.82)	0.01

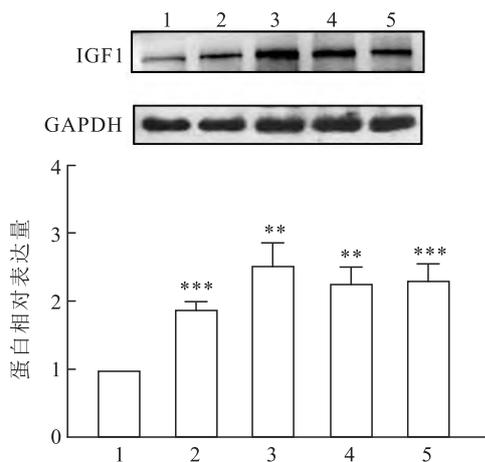


图5 IGF1 在 OSCC 细胞系及口腔正常上皮细胞中的蛋白表达

1: HOK; 2: CAL-27; 3: Tca-8113; 4: SCC-15; 5: SCC-25; 与 HOK 比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

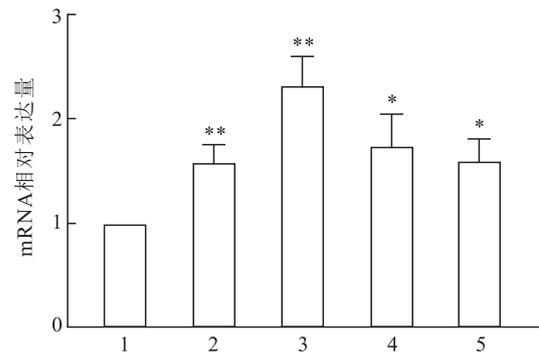


图6 IGF1 在 OSCC 细胞系及口腔正常上皮细胞中的 mRNA 表达

1: HOK; 2: CAL-27; 3: Tca-8113; 4: SCC-15; 5: SCC-25; 与 HOK 比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

OSCC 常起源于口腔上皮细胞逐渐发展为肿瘤,对患者的面容、功能和生存质量有严重影响^[7],了解和发现新的临床生物标志物,对改善患者的预后分层及优化抗癌治疗有重要的研究价值。

IGF1 在许多细胞类型的有丝分裂途径中起关键作用^[8],被认为是一种细胞周期进展因子,参与大多数器官和组织的正常生长、发育和分化以及多种病理情况^[9],除此之外,在肿瘤微环境中,IGF1 能够驱动迁移、侵袭和增殖,促进血管生成并维持癌症干性^[10]。肿瘤中 IGF1 信号通路的改变已被广泛研究,循环 IGF1 水平确实与肿瘤进展无关,但肿瘤产生的局部 IGF1 和胰岛素生长因子受体(IGF1R)表达对疾病预后产生不利影响^[11]。本研究免疫组化定性检查结果显示,IGF1 主要表达在细胞膜,与正常组相比,OSCC 组中 IGF1 过表达($P < 0.001$),但癌组织并不完全等同于细胞系,单一细胞通过反复传代等也可能会发生转化;Western blot 半定量实验显示 IGF1 在 OSCC 细胞系中也高表达,提示 IGF1 可能参与并促进 OSCC 的发生、发展进程;qRT-PCR 实验显示 IGF1 的 mRNA 在肿瘤细胞中同样高表达,提示 IGF1 很有可能作为癌基因在 OSCC 中发挥作用。另外,IGF1 高表达还与一些临床特征密切相关,Aslan et al^[12]发现 IGF1 在结肠癌中高表达,并与肿瘤位置和性别相关,Li et al^[13]发现 IGF1 在卵巢癌中的表达与临床分期呈正相关,且 IGF1 的表达越高,卵巢癌患者的生存率越低。本研究显示 IGF1 的表达水平与 T 分期、浸润深度有关($P < 0.05$),提示 IGF1 高表达与 OSCC 患者较高的肿瘤侵袭性有关。此外,IGF1 的表达和分化程度相关($P <$

0.05),随着肿瘤组织的分化程度降低,OSCC 组织中 IGF1 的表达水平在增加,提示表达水平与 OSCC 患者病情程度有关,因此推测 IGF1 可能参与了 OSCC 的癌变过程。采用受试者工作特征 ROC 曲线分析,将 OSCC 病例与相邻正常组织进行区分,IGF1 的曲线下面积 AUC 值为 0.81,并确定最佳临界点,特异性是 82%,敏感性为 73%,可以认为 IGF1 对 OSCC 患者具有良好的诊断效力。进一步数据分析 IGF1 蛋白对 OSCC 患者预后的临床价值,应用 Kaplan-Meier 生存曲线对患者进行生存分析,高表达的 IGF1 与 OSCC 患者较差的整体生存率相关($P = 0.03$),提示预后不佳;相似的,在软骨肉瘤中 IGF1 的表达与预后不良有关^[14]。同时对影响患者预后的因素进行 COX 回归分析,单因素分析显示,IGF1 表达量、分化程度、T 分期和浸润深浅均是影响 OSCC 患者预后的危险因素;多因素分析显示,IGF1 表达量是影响患者预后的独立因素,且 IGF1 表达越高,患者预后越差。以上研究表明,IGF1 高表达与患者的生存率呈负相关,可以作为判断 OSCC 预后的指标。

参考文献

[1] Chen P N, Lin C W, Yang S F, et al. Oral submucous fibrosis stimulates invasion and epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma by activating MMP-2 and IGF-IR[J]. *J Cell Mol Med*, 2021,25(20):9814 - 25.

[2] 汪 聪,朱友明,许旭东,等. SALL2 基因在口腔肿瘤中的表达和意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2017,52(7):988 - 93.

[3] Murphy N, Carreras-Torres R, Song M, et al. Circulating levels of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor binding protein 3 associate with risk of colorectal cancer based on serologic and mendelian randomization analyses [J]. *Gastroenterology*, 2020,158(5):1300 - 12.

[4] AsghariHanjani N, Vafa M. The role of IGF-1 in obesity, cardiovascular disease, and cancer[J]. *Med J Islam Repub Iran*, 2019, 33:56.

[5] Werner H, Laron Z. Role of the GH - IGF1 system in progression of cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020,518:111003.

[6] Abulaiti Z, Chen L, Xiao Q, et al. PLCE1 as a diagnostic and prognostic biomarker by promoting the growth and progression of oral squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Pathol Med*, 2022,51(9):771 - 9.

[7] Chaves F N, Bezerra T M M, Moraes D C, et al. Loss of heterozygosity and immunoeexpression of PTEN in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma[J]. *Exp Mol Pathol*, 2020,112:104341.

[8] Yakar S, Werner H, Rosen C J. Insulin-like growth factors: actions on the skeleton[J]. *J Mol Endocrinol*, 2018,61(1):T115 - 37.

[9] Werner H, Sarfstein R, Laron Z. The role of nuclear insulin and IGF1 receptors in metabolism and cancer [J]. *Biomolecules*, 2021,11(4):531.

[10] Hao Y, Zhang C, Sun Y, et al. Licochalcone A inhibits cell proliferation, migration, and invasion through regulating the PI3K/AKT signaling pathway in oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncotargets Ther*, 2019,12:4427 - 35.

[11] Nwabo K A, Seke E P, Kipanyula M J, et al. Insulin-like growth factor-1 signaling in the tumor microenvironment: carcinogenesis, cancer drug resistance, and therapeutic potential[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022,13:927390.

[12] Aslan A, Erdem H, Celik M A, et al. Investigation of insulin-like growth factor-1 (IGF-1), P53, and Wilms' tumor 1 (WT1) expression levels in the colon polyp subtypes in colon cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2019,25:5510 - 7.

[13] Li Y, Wang F, Liu T, et al. WISP1 induces ovarian cancer via the IGF1/ α v β 3/Wnt axis[J]. *J Ovarian Res*,2022,15(1):94.

[14] Xie H, Mao J S, Hu W F. Insulin-like growth factor 1 (IGF1) pathway member polymorphisms are associated with risk and prognosis of chondrosarcoma[J]. *Med Sci Monit*, 2020,26:e923853.

Expression of IGF1 and its clinical significance in oral squamous carcinoma

Zeng Jie¹, Zumuretiguli · Abulaiti², Ma Yandi³, Yu Xueyan⁴, Xia Feifei¹, Xu Jiang¹

(¹Dept of Stomatology, ⁴Dept of Pathology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000;

²Dept of Stomatology, Turpan City People's Hospital, Turpan 838000;

³Dept of Pathology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000)

Abstract Objective To explore differential expression of insulin like growth factor 1 (IGF1) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissues and cells, and to analyze its clinical significance of IGF1. **Methods** The protein expression of IGF1 was detected in 115 OSCC tissues (OSCC group) and 74 normal tissues (normal group) using immunohistochemical technique, and the relationship with the clinicopathological factors and prognosis of OSCC was

载硅烷和 BMP-2 的多孔钛表面构建及其成骨活性评价

李 为,江崇英,张 雷,孙晓瑜,何 昕,洪 彪,程 楠,李向阳

摘要 目的 探究钛材纳米多孔表面载硅烷和骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的制备方法和制备表面促成骨能力评价。方法 采用碱热处理、硅烷化修饰和 BMP-2 固定,构建硅烷和 BMP-2 修饰的纳米多孔表面,扫描电子显微镜、X 射线光电子能谱、红外光谱和水接触角检测分别表征制备过程中表面形貌、元素、官能团和亲水性的变化,免疫荧光观察固定的 BMP-2,细胞活性测试和细胞荧光染色分析表面促成骨细胞黏附和增殖能力,碱性磷酸酶活性评估促细胞成骨能力。结果 材料表征手段证实硅烷和 BMP-2 成功固定在纳米多孔钛表面,细胞评价证实制备表面不但显著增强成骨细胞的黏附和增殖,而且大幅提升成骨细胞的成骨活性。结论 该修饰方法构建的表面促成骨细胞具有更好的相容性,有望改善钛基种植体的骨整合能力。

关键词 种植体;纳米多孔结构;硅烷;骨形态发生蛋白-2;成骨细胞

中图分类号 R 783.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1423-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.030

2023-06-15 接收

基金项目:安徽高校科学研究项目(编号:KJ2021A0270)

作者单位:安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,
安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032

作者简介:李 为,男,副主任医师,副教授;

李向阳,男,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:xiangyang@ahmu.edu.cn

种植义齿已经成为失牙患者的首选治疗方式,其成功的关键在于种植体与骨组织形成骨整合(osseointegration)^[1]。目前种植体表面改性主要包括:①形貌改性,通过物理化学手段构建表面超微结构以增加种植体-骨接触面积,促进成骨细胞黏附和分化而加速骨整合^[2];②表面化学改性,功能分子负载以加速表面矿化、促进骨整合^[3];③生物分子改性,通过生物化学修饰将特定蛋白^[4]或多肽^[5]固定在种植体表面,诱导成骨细胞增殖分化以促进骨整合。骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)作为骨基质中的高效骨诱导物质,已经通过涂覆和静电吸附等方法复合到材料表面,然而其材料结合较弱,容易脱落^[6-7],所以寻找共价固定 BMP-2 的方法意义重大。该研究采用碱热处理在钛材表面获得富羟基的纳米孔结构,并进一步通过羟基与硅烷偶联剂键合反应赋予表面 Si 元素和用于接枝蛋白分子的氨基,最后通过戊二醛将 BMP-2 共价接枝在硅烷层的氨基上,实现载硅烷和 BMP-2 的多孔钛表面成功构建以改善钛表面的骨整合能力。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

1.1.1 材料 纯钛购自山西宝鸡有色金属有限公

analyzed. The IGF1 protein and mRNA levels in HOK and OSCC cell lines (CAL-27, TCA-8113, SCC-15 and SCC-25) were detected by Western blot and qRT-PCR. **Results** The high expression rate of IGF1 in OSCC group was 72.17%, which was significantly higher than that in normal group (2.70%) ($P < 0.001$). The proportion under ROC curve (AUC) of OSCC diagnosed by IGF1 was 0.81, the sensitivity was 0.73, and the specificity was 0.82. The expression of IGF1 was related to the degree of differentiation, T stage and depth of invasion ($P = 0.03$, $P = 0.02$, $P = 0.02$), but not to gender, age, N stage, TNM stage, smoking, alcohol consumption, or HPV infection ($P > 0.05$). Kaplan-Meier and COX regression analysis showed that the high expression of IGF1, the degree of differentiation, the T stage and the depth of infiltration were the related factors affecting the prognosis of patients ($P < 0.01$, $P = 0.04$, $P = 0.03$, $P = 0.04$). COX multivariate indicated that high expression of IGF1 was an independent factor affecting the prognosis of patients ($P = 0.01$). Western blot and qRT-PCR results indicated that the expression of IGF1 in OSCC cell lines was higher than that in HOK ($P < 0.05$). **Conclusion** IGF1 can be a potential diagnostic and poor prognostic marker in oral squamous cell carcinoma.

Key words oral squamous cell carcinoma; insulin like growth factor 1; immunohistochemistry; prognosis