



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107643403 A

(43)申请公布日 2018.01.30

(21)申请号 201710759220.6

(22)申请日 2017.08.30

(71)申请人 福建师范大学

地址 350108 福建省福州市闽侯县上街镇
大学城福建师范大学科技处

申请人 福建医科大学附属协和医院

(72)发明人 林尧 黄昌明 谢建伟 王清水

(74)专利代理机构 福州君诚知识产权代理有限公司 35211

代理人 戴雨君

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

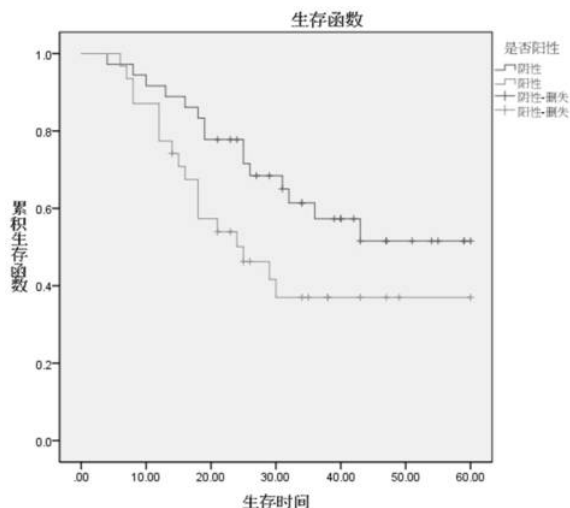
权利要求书1页 说明书7页
序列表2页 附图2页

(54)发明名称

胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用

(57)摘要

本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用、胃神经内分泌癌预后评估试剂盒及方法。本发明采用免疫组化方法检测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌组织中的相对表达量,以此判断胃神经内分泌癌患者出现胃神经内分泌癌复发转移的风险。本发明的有益效果主要体现在:本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,提示胰岛素样生长因子结合蛋白2能用于制备判断胃神经内分泌癌患者预后的蛋白质分子标记,对于胃神经内分泌癌病人术后监控和序贯治疗也具有重要的指导意义。



1. 胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用。

2. 根据权利要求1所述的胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,其特征在於:以胰岛素样生长因子结合蛋白2作为分子标记,利用人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体,结合免疫组化实验试剂,检测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌组织中的相对表达量。

3. 根据权利要求2所述的胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,其特征在於:所述人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体由序列为SEQ ID NO.1所示的胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫兔子获得。

4. 应用于胃神经内分泌癌术后预后评估的试剂盒,其特征在於:所述试剂盒包括用于对胃神经内分泌癌组织中的胰岛素样生长因子结合蛋白2的相对表达量进行检测的人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体,以及免疫组化实验试剂。

5. 根据权利要求4所述的应用于胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒,其特征在於:所述免疫组化实验试剂包括:二甲苯、乙醇、3% H_2O_2 、3%BSA封闭液、DAB显色试剂、苏木素、辣根过氧化物酶、PBS以及0.01M EDTA修复液。

6. 一种基于权利要求4所述的试剂盒进行胃神经内分泌癌术后预后评估的方法,其特征在於:其包括以下步骤:

(1) 取胃神经内分泌癌患者病理标本,利用人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体,以及免疫组化实验试剂,进行免疫组化染色;

(2) 利用显微镜和成像装置随机选取胃神经内分泌癌组织和癌旁组织3个视野拍摄为数码照片;

(3) 利用Aperio Image Scope软件对组织样本进行扫描,扫描后采用该软件的Algorithms程序对每个样本进行阳性强度计算,换算为该样品的免疫组织化学评分;

(4) 通过所得到的评分评估患者术后的预后情况。

胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,具体涉及胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用、胃神经内分泌癌预后评估试剂盒及方法。

背景技术

[0002] 神经内分泌肿瘤是一组起源于各类神经内分泌细胞和肽能神经元的异质性肿瘤。胃神经内分泌肿瘤(Gastric neuroendocrine neoplasm,GNEN)是来源于类肠嗜铬细胞(Enterochromaffin-like cell,ECL)或肠嗜铬(Enterochromaffin,EC)细胞等神经内分泌细胞的肿瘤,约占所有神经内分泌肿瘤的6%,其发病率约为2/100万。2010年WHO根据细胞分化程度、核分裂象及细胞增殖活性(Ki-67指数),将GNEN分为G1、G2和G3三级,其中G1和G2属于高分化的GNEN,G3属于低分化的胃神经内分泌癌(Gastric neuroendocrine carcinoma,GNEC),约占胃癌的0.16%-1.48%。由于其“罕见性”,对GNEC的认识度与关注度远不及胃腺癌(Gastric adenocarcinoma,GAC)。大部分GNEC患者就诊时已属晚期,围手术期辅助化疗或姑息性化疗是这一部分患者的唯一选择。但由于缺乏针对GNEC的临床化疗药物药敏研究,我国目前GNEC的临床化疗方案基本参照GAC,主要采用以5-FU和奥沙利铂等常规化疗药物为基础的联合治疗。

[0003] 胰岛素样生长因子结合蛋白2(insulin-like growth factor binding protein-2,IGFBP2),属于IGFBPs家族,包括IGFBP1-IGFBP6,均可分泌表达,其中胰岛素样生长因子结合蛋白2的含量位于第二位。人胰岛素样生长因子结合蛋白2基因位于2号染色体q33-q34,编码36kD的蛋白,由N端和C端,以及一个多差异位点中心区域组成,广泛存在于胚胎时期的各组织,出生后显著下调。胰岛素样生长因子结合蛋白2参与多种信号通路,其发挥作用依靠两种方式,其一是核内编码胞浆合成蛋白分泌至胞外,通过自分泌的方式影响胞内的信号通路,其二是由胞浆进入核内,影响核内活动。

[0004] 在IGFBPs家族中,胰岛素样生长因子结合蛋白2与多种肿瘤的发生发展密切相关,参与前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、横纹肌肉瘤、结肠癌等的增殖、侵袭和转移,这使得它常常被作为肿瘤的分子标记物。在神经胶质瘤中胰岛素样生长因子结合蛋白2经常参与PTEN、AKT等相关通路的激活导致侵袭力和恶性程度加强。研究表明过表达胰岛素样生长因子结合蛋白2之后会增加胶质瘤的恶性程度,上调侵袭蛋白MMP2的表达等,增强细胞的侵袭力。在一些研究中发现,敲低胰岛素样生长因子结合蛋白2的表达可以明显降低肿瘤细胞如GBM的侵袭能力。胰岛素样生长因子结合蛋白2在加强胶质瘤的侵袭力同时激活侵袭增强基因。研究显示在肺癌患者的血清、恶性胸膜渗出液以及肿瘤组织中均发现高表达的胰岛素样生长因子结合蛋白2;在早期的非小细胞肺癌组织中胰岛素样生长因子结合蛋白2是明显高表达的;在鳞癌和腺癌中,胰岛素样生长因子结合蛋白2能够促进肿瘤的侵袭和增生。

[0005] 至今胃神经内分泌癌发生的分子机制仍不清楚,对其的治疗也缺少特异性的分子靶点,而胰岛素样生长因子结合蛋白2做为十分重要的肿瘤癌基因,目前尚无文献报道胰岛

素样生长因子结合蛋白2与判断胃神经内分泌癌预后或转移相关。本发明研究发现在胃神经内分泌癌中的胰岛素样生长因子结合蛋白2表达与病人术后预后存在显著的关系,暗示胰岛素样生长因子结合蛋白2可作为胃神经内分泌癌的术后预后的有效预警蛋白。

发明内容

[0006] 本发明目的在于提供胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,并提供用于胃神经内分泌癌术后预后评估的试剂盒及方法。

[0007] 本发明经过广泛而深入的研究,首次发现,采用免疫组化方法检测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌组织中的相对表达量,能够判断胃神经内分泌癌患者出现胃神经内分泌癌复发转移的风险。基于胰岛素样生长因子结合蛋白2表达量与胃神经内分泌癌复发转移的相关性,以胰岛素样生长因子结合蛋白2作为预后标记物对其表达量进行检测可以用于指导胃神经内分泌癌的预后判断。

[0008] 因此,本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,该应用是以胰岛素样生长因子结合蛋白2作为分子标记,利用胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或多克隆抗体,结合免疫组化实验试剂,检测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌组织中的相对表达量。

[0009] 本发明还提供了所述应用中用于胃神经内分泌癌术后预后评估的试剂盒,该试剂盒包括:用于对胃神经内分泌癌组织中的胰岛素样生长因子结合蛋白2的相对表达量进行检测的人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体、免疫组化实验试剂。所述免疫组化实验试剂为本领域免疫组化实验中的常用试剂。

[0010] 本发明在蛋白组学研究发现,人源胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌术后复发转移组中表达上调,可以推测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌术后复发转移发挥重要作用。查阅国内外文献,胰岛素样生长因子结合蛋白2与胃神经内分泌癌的发生以及复发转移的相关研究少。通过Kaplan-Meier生存曲线分析,胰岛素样生长因子结合蛋白2表达程度与胃神经内分泌癌患者的预后有关,胰岛素样生长因子结合蛋白2高表达的患者预后不良。

[0011] 综上所述,胰岛素样生长因子结合蛋白2的高表达与胃神经内分泌癌患者术后复发转移有关。胰岛素样生长因子结合蛋白2可以作为胃神经内分泌癌预后的一个重要候选分子标记物。

[0012] 优选的,所述人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体由序列为SEQ ID NO.1所示的胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫兔子获得,可自行制备,也可采用市购商品。

[0013] 本发明所述免疫组化实验试剂包括:二甲苯、乙醇、3% H_2O_2 (水溶液)、3%BSA封闭液(以PBS配制)、DAB显色试剂、苏木素、辣根过氧化物酶(用于标记二抗)、PBS(pH7.4)、0.01M EDTA修复液。

[0014] 利用本发明所述试剂盒进行胃神经内分泌癌术后预后评估的方法如下:

[0015] (1)取胃神经内分泌癌患者病理标本,利用人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体,以及免疫组化实验试剂,进行免疫组化染色;

[0016] 其中,病理标本来自于胃神经内分泌癌患者活检组织或术中、术后的病理取材。免

疫组化方法利用SP染色法,具体步骤如下:

[0017] (a) 制备胃神经内分泌癌组织石蜡切片,60℃烤箱过夜。

[0018] (b) 切片脱蜡。依次浸泡:二甲苯I:10min;二甲苯II:10min;二甲苯III:10min。

[0019] (c) 切片水化。依次浸泡:无水乙醇:3min;90% (v/v) 乙醇:3min;80%乙醇:3min;75%乙醇:3min。

[0020] (d) PBS清洗3次,每次5min。

[0021] (e) EDTA抗原高压修复:切片放入0.01M EDTA修复液浸泡,沸水浴5min,冷却至室温。PBS清洗3次,每次5min。

[0022] (f) 加入300μL的3% (w/w) 过氧化氢水溶液,37℃10min。PBS清洗3次,每次5min。

[0023] (g) 加入300μL的3% (w/w) BSA封闭液 (PBS配制),37℃1h。PBS清洗3次,每次5min。

[0024] (h) 加入一抗:胰岛素样生长因子结合蛋白2抗体浓度:1:500 (abcam公司:ab91404),4℃冰箱放置16h后取出,室温复温15min,然后PBS洗4次,每次5min。

[0025] (i) 滴加二抗,所述的二抗为辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG (购自福州迈新试剂公司,即用型,无需稀释),37℃45min。PBS洗4次,每次5min。

[0026] (j) PBS洗3次,每次5min。DAB (DAB显色试剂盒,购自上海生工) 显色2-10min,镜下观察;双蒸水洗止显色,苏木素复染10s,用自来水冲洗浸泡。

[0027] (k) 脱水。依次浸泡:75%乙醇:2min;80%乙醇:2min;90%乙醇:2min;无水乙醇:2min。

[0028] (L) 用电风吹干,加入中性树胶,盖玻片覆盖。

[0029] (2) 利用显微镜和成像装置随机选取胃神经内分泌癌组织和癌旁组织3个视野拍摄,利用Aperio Image Scope软件对组织样本的相片进行扫描,扫描后采用该软件的Algorithms (Positive Pixel Count V9) 程序对每个样本进行阳性强度计算,计算数据如下:

	区域(Region)
	长度(Length(μm))
	面积(Area(μm^2))
	弱阳性像素数量(Nwp=Number of Weak Positive)
	阳性像素数量(Np=Number of Positive)
	强阳性像素数量(Nsp=Number of Strong Positive)
	弱阳性像素总强度(Iwp=Total Intensity of Weak Positive)
	阳性像素总强度(Ip=Total Intensity of Positive)
[0030]	强阳性像素总强度(Isp=Total Intensity of Strong Positive)
	阳性平均强度值(Iavg=(Iwp+Ip+Isp)/(Nwp+Np+Nsp))
	强阳性平均强度值(Nsr=Nsp/(Nwp+Np+Nsp))
	弱阳性平均强度值(Iwavg=(Iwp+Ip)/(Nwp+Np))
	阴性像素数量(Nn=Number of Negative)
	阴性像素总强度值(In=Total Intensity of Negative)
	显色总数量(NTotal=TotalNumber(Positive+Negative))
	显色总面积(ATotal=Total Area(millimeter-squared))
	阳性率(Positivity=NPositive/NTotal)
[0031]	(3) 每个组织样本的免疫组织化学评分计算为Positivity $\times$ Log10[255/Iavg], 其中Positivity=NPositive/NTotal, 即阳性率, 计算方法为阳性像素数量/显色总数量; Iavg=(Iwp+Ip+Isp)/(Nwp+Np+Nsp), 即阳性平均强度, 计算方法为阳性平均强度=(弱阳性像素总强度+阳性像素总强度+强阳性像素总强度)/(弱阳性像素数量+阳性像素数量+强阳性像素数量), 即为该组织的免疫组化评分, 用于后续分析。
[0032]	(4) 采用SPSS18.0进行统计分析, 检验指标与临床资料之间的计数资料采用Pearson卡方检验, 计量资料采用t检验。检测指标与临床预后的分析采用KaPlan-Meier生存分析, 对数秩和检验(log-ranktest)比较生存曲线的差别。本发明显示胰岛素样生长因子结合蛋白2蛋白与胃神经内分泌癌的预后具有显著的相关性, 为预测胃神经内分泌癌的复发转移及术后的生存率提供一条全新途径, 对胃神经内分泌癌患者的预后有重要作用。当癌组织胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫组化评分高于0.532时, 胃神经内分泌癌细胞癌易出现复发转移, 胃神经内分泌癌患者术后易死亡。
[0033]	本发明的有益效果主要体现在: 本发明研究发现在胃神经内分泌癌中的胰岛素样生长因子结合蛋白2表达与病人术后预后存在显著的关系, 暗示胰岛素样生长因子结合蛋白2可作为胃神经内分泌癌的术后预后的有效预警蛋白。因此, 本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用, 提示该蛋白能用于

制备判断胃神经内分泌癌患者预后的蛋白质分子标记,对于胃神经内分泌癌病人术后监控和序贯治疗 also 具有重要的指导意义。

附图说明

[0034] 图1为胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌患者术后1年内复发转移的组织样本中高表达;

[0035] 图2为胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌患者术后1年内无复发转移的组织样本中弱表达;

[0036] 图3为胃神经内分泌癌组织中胰岛素样生长因子结合蛋白2低表达组与高表达组生存曲线。

具体实施方式

[0037] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述,但本发明的保护范围并不限于此:

[0038] 实施例1

[0039] 用于胃神经内分泌癌术后预后评估的试剂盒,该试剂盒包括:用于对胃神经内分泌癌组织中的胰岛素样生长因子结合蛋白2的相对表达量进行检测的人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体、免疫组化实验试剂。其中,免疫组化实验试剂包括:二甲苯、乙醇、3% H_2O_2 、3%BSA封闭液、DAB显色试剂、苏木素、辣根过氧化物酶、PBS以及0.01M EDTA修复液。

[0040] 本发明所述人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体由序列为SEQ ID NO.1所示的胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫兔子获得。可自行制备,也可采用市购商品。

[0041] 本发明所述免疫组化实验试剂包括:二甲苯、乙醇、3% H_2O_2 (水溶液)、3%BSA封闭液 (以PBS配制)、DAB显色试剂、苏木素、辣根过氧化物酶 (用于标记二抗)、PBS (pH7.4)、0.01M EDTA修复液。

[0042] 实施例2

[0043] 胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用,该应用是利用本发明试剂盒进行胃神经内分泌癌术后预后评估,方法如下:

[0044] (1) 取胃神经内分泌癌患者病理标本,利用人源胰岛素样生长因子结合蛋白2单克隆抗体或人源胰岛素样生长因子结合蛋白2多克隆抗体,以及免疫组化实验试剂,进行免疫组化染色;

[0045] 其中,病理标本来自于胃神经内分泌癌患者活检组织或术中、术后的病理取材。免疫组化方法利用SP染色法,具体步骤如下:

[0046] (a) 制备胃神经内分泌癌组织石蜡切片,60℃烤箱过夜。

[0047] (b) 切片脱蜡。依次浸泡:二甲苯I:10min;二甲苯II:10min;二甲苯III:10min。

[0048] (c) 切片水化。依次浸泡:无水乙醇:3min;90% (v/v) 乙醇:3min;80%乙醇:3min;75%乙醇:3min。

[0049] (d) PBS清洗3次,每次5min。

[0050] (e) EDTA抗原高压修复:切片放入0.01M EDTA修复液浸泡,沸水浴5min,冷却至室

温。PBS清洗3次,每次5min。

[0051] (f) 加入300 μ L的3% (w/w) 过氧化氢水溶液,37℃10min。PBS清洗3次,每次5min。

[0052] (g) 加入300 μ L的3% (w/w) BSA封闭液 (PBS配制),37℃1h。PBS清洗3次,每次5min。

[0053] (h) 加入一抗:胰岛素样生长因子结合蛋白2抗体浓度:1:500 (abcam公司:ab91404),4℃冰箱放置16h后取出,室温复温15min,然后PBS洗4次,每次5min。

[0054] (i) 滴加二抗,所述的二抗为辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG (购自福州迈新试剂公司,即用型,无需稀释),37℃45min。PBS洗4次,每次5min。

[0055] (j) PBS洗3次,每次5min。DAB (DAB显色试剂盒,购自上海生工) 显色2-10min,镜下观察;双蒸水洗止显色,苏木素复染10s,用自来水冲洗浸泡。

[0056] (k) 脱水。依次浸泡:75%乙醇:2min;80%乙醇:2min;90%乙醇:2min;无水乙醇:2min。

[0057] (L) 用电吹风吹干,加入中性树胶,盖玻片覆盖。

[0058] (2) 利用显微镜和成像装置随机选取胃神经内分泌癌组织和癌旁组织3个视野拍摄,利用Aperio Image Scope软件对组织样本的相片进行扫描,扫描后采用该软件的Algorithms (Positive Pixel Count V9) 程序对每个样本进行阳性强度计算,计算数据如下:

	区域(Region)
	长度(Length(μ m))
	面积(Area(μ m ²))
	弱阳性像素数量(Nwp=Number of Weak Positive)
	阳性像素数量(Np=Number of Positive)
	强阳性像素数量(Nsp=Number of Strong Positive)
	弱阳性像素总强度(Iwp=Total Intensity of Weak Positive)
	阳性像素总强度(Ip=Total Intensity of Positive)
[0059]	强阳性像素总强度(Isp=Total Intensity of Strong Positive)
	阳性平均强度值(Iavg=(Iwp+Ip+Isp)/(Nwp+Np+Nsp))
	强阳性平均强度值(Nsr=Nsp/(Nwp+Np+Nsp))
	弱阳性平均强度值(Iwavg=(Iwp+Ip)/(Nwp+Np))
	阴性像素数量(Nn=Number of Negative)
	阴性像素总强度值(In=Total Intensity of Negative)
	显色总数量(NTotal=TotalNumber(Positive+Negative))
	显色总面积(ATotal=Total Area(millimeter-squared))
	阳性率(Positivity=NPositive/NTotal)

[0060] (3) 每个组织样本的免疫组织化学评分计算为 $\text{Positivity} \times \text{Log}_{10}[\text{255}/\text{Iavg}]$, 其中 $\text{Positivity} = \text{NPositive}/\text{NTotal}$, 即阳性率, 计算方法为阳性象素数量/显色总数量; $\text{Iavg} = (\text{Iwp} + \text{Ip} + \text{Isp}) / (\text{Nwp} + \text{Np} + \text{Nsp})$, 即阳性平均强度, 计算方法为阳性平均强度 = (弱阳性象素总强度 + 阳性象素总强度 + 强阳性象素总强度) / (弱阳性象素数量 + 阳性象素数量 + 强阳性象素数量), 即为该组织的免疫组化评分, 用于后续分析。胰岛素样生长因子结合蛋白2高低表达标准以67例胃神经内分泌癌组织中胰岛素样生长因子结合蛋白2表达评分的中位数(0.532)为界。

[0061] (4) 采用SPSS18.0进行统计分析, 检验指标与临床资料之间的计数资料采用Pearson卡方检验, 计量资料采用t检验。检测指标与临床预后的分析采用Kaplan-Meier生存分析, 对数秩和检验(log-ranktest)比较生存曲线的差别。

[0062] 按照上述方法, 本发明在67例胃神经内分泌癌病人的肿瘤组织中检测结果: 胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌中的表达量显著高于癌旁组织的表达量。胰岛素样生长因子结合蛋白2在1年内复发转移组中高表达(图1), 在无复发转移组中弱表达(图2)。

[0063] 胰岛素样生长因子结合蛋白2与胃神经内分泌癌患者预后的关系:

[0064] 通过Kaplan-Meier生存曲线分析, 胰岛素样生长因子结合蛋白2的表达程度与胃神经内分泌癌患者的预后相关, 如图3所示。

[0065] 实施例3

[0066] 取某胃神经内分泌癌术后细胞癌肿瘤样本进行石蜡包埋切片, 并利用以上所述的免疫组织化学方法进行检测, 经计算, 其癌组织的胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫组化组织评分为0.752。经过术后随访发现, 该患者在术后第7个月发生胃神经内分泌癌复发转移, 术后十个月死亡。

[0067] 实施例4

[0068] 取某胃神经内分泌癌术后细胞癌肿瘤样本进行石蜡包埋切片, 并利用以上所述的免疫组织化学方法进行检测, 经计算, 其癌组织的胰岛素样生长因子结合蛋白2免疫组化组织评分为0.236。经过术后随访发现, 该患者在术后1年均未发现转移复发, 健在。

[0069] 由以上试验结果可知, 通过采用免疫组化的方法检测胰岛素样生长因子结合蛋白2蛋白分子相对表达量能预测胃神经内分泌癌远处转移风险以及患者术后的生存或死亡。当癌组织胰岛素样生长因子结合蛋白2的免疫组化评分高于0.532时, 胃神经内分泌癌易出现复发转移, 胃神经内分泌癌患者术后易死亡。显然胰岛素样生长因子结合蛋白2蛋白与胃神经内分泌癌具有相关性。因此, 以胰岛素样生长因子结合蛋白2蛋白作为蛋白质分子标记对其表达量进行检测能预测胃神经内分泌癌手术后复发转移等事件, 并判断预后。

序列表

<110> 福建师范大学

福建医科大学附属协和医院

<120> 胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用

<130> 1

<160> 1

<170> SIP0SequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 328

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

```

Met Leu Pro Arg Val Gly Cys Pro Ala Leu Pro Leu Pro Pro Pro Pro
1           5           10           15
Leu Leu Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Ala Ser Gly
          20           25           30
Gly Gly Gly Gly Ala Arg Ala Glu Val Leu Phe Arg Cys Pro Pro Cys
          35           40           45
Thr Pro Glu Arg Leu Ala Ala Cys Gly Pro Pro Pro Val Ala Pro Pro
          50           55           60
Ala Ala Val Ala Ala Val Ala Gly Gly Ala Arg Met Pro Cys Ala Glu
65           70           75           80
Leu Val Arg Glu Pro Gly Cys Gly Cys Cys Ser Val Cys Ala Arg Leu
          85           90           95
Glu Gly Glu Ala Cys Gly Val Tyr Thr Pro Arg Cys Gly Gln Gly Leu
          100          105          110
Arg Cys Tyr Pro His Pro Gly Ser Glu Leu Pro Leu Gln Ala Leu Val
          115          120          125
Met Gly Glu Gly Thr Cys Glu Lys Arg Arg Asp Ala Glu Tyr Gly Ala
          130          135          140
Ser Pro Glu Gln Val Ala Asp Asn Gly Asp Asp His Ser Glu Gly Gly
145          150          155          160
Leu Val Glu Asn His Val Asp Ser Thr Met Asn Met Leu Gly Gly Gly
          165          170          175
Gly Ser Ala Gly Arg Lys Pro Leu Lys Ser Gly Met Lys Glu Leu Ala
          180          185          190
Val Phe Arg Glu Lys Val Thr Glu Gln His Arg Gln Met Gly Lys Gly

```

195	200	205
Gly Lys His His Leu Gly Leu Glu Glu Pro Lys Lys Leu Arg Pro Pro		
210	215	220
Pro Ala Arg Thr Pro Cys Gln Gln Glu Leu Asp Gln Val Leu Glu Arg		
225	230	235
Ile Ser Thr Met Arg Leu Pro Asp Glu Arg Gly Pro Leu Glu His Leu		
245	250	255
Tyr Ser Leu His Ile Pro Asn Cys Asp Lys His Gly Leu Tyr Asn Leu		
260	265	270
Lys Gln Cys Lys Met Ser Leu Asn Gly Gln Arg Gly Glu Cys Trp Cys		
275	280	285
Val Asn Pro Asn Thr Gly Lys Leu Ile Gln Gly Ala Pro Thr Ile Arg		
290	295	300
Gly Asp Pro Glu Cys His Leu Phe Tyr Asn Glu Gln Gln Glu Ala Arg		
305	310	315
Gly Val His Thr Gln Arg Met Gln		320
325		

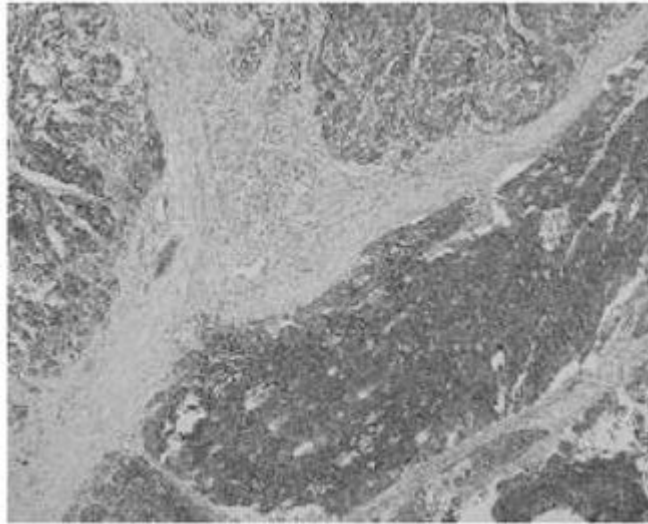


图1

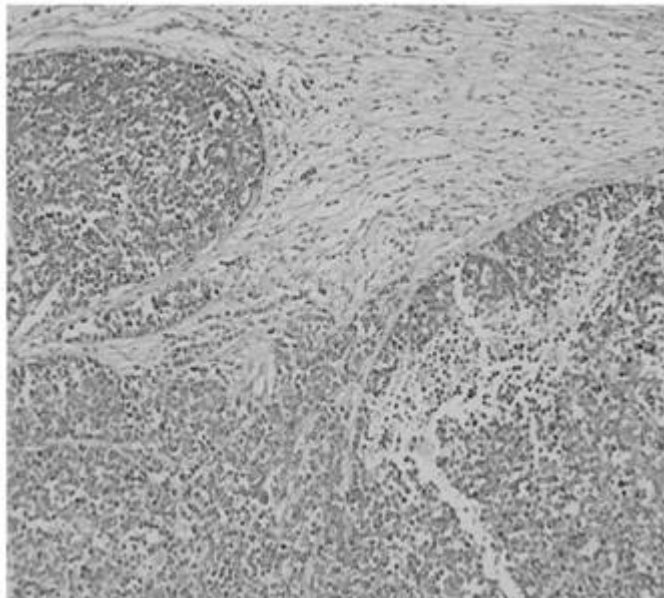


图2

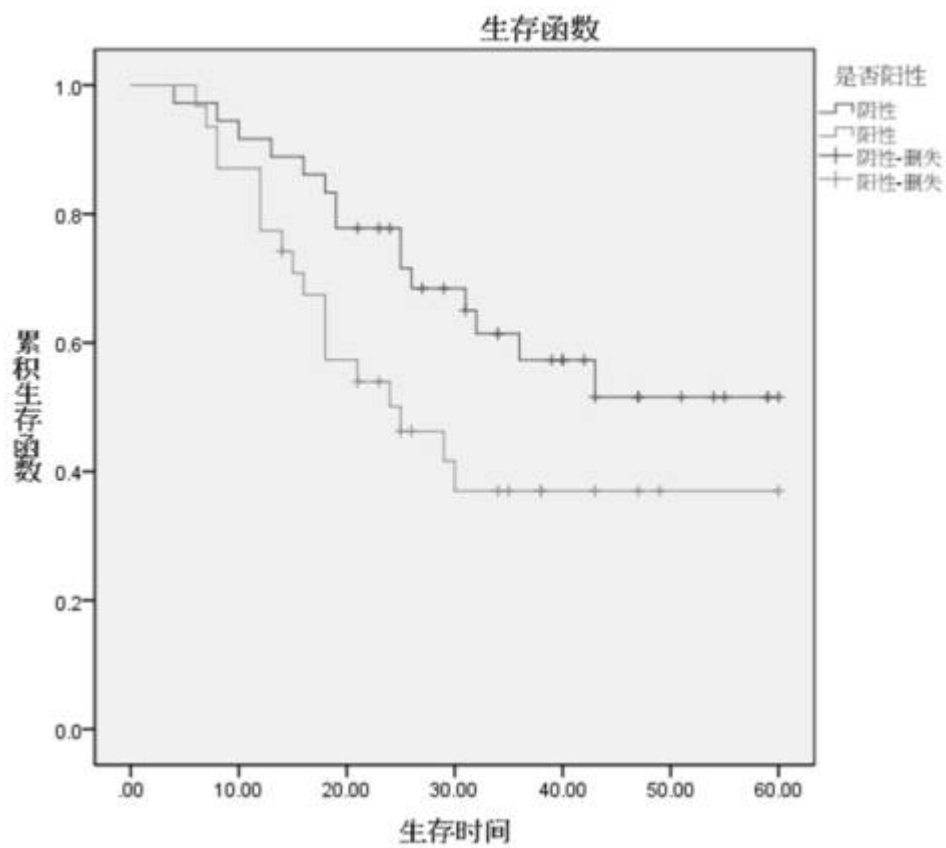


图3

专利名称(译)	胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用		
公开(公告)号	CN107643403A	公开(公告)日	2018-01-30
申请号	CN2017110759220.6	申请日	2017-08-30
[标]申请(专利权)人(译)	福建师范大学 福建医科大学附属协和医院		
申请(专利权)人(译)	福建师范大学 福建医科大学附属协和医院		
当前申请(专利权)人(译)	福建师范大学 福建医科大学附属协和医院		
[标]发明人	林尧 黄昌明 谢建伟 王清水		
发明人	林尧 黄昌明 谢建伟 王清水		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531 G01N33/577		
代理人(译)	戴雨君		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用、胃神经内分泌癌预后评估试剂盒及方法。本发明采用免疫组化方法检测胰岛素样生长因子结合蛋白2在胃神经内分泌癌组织中的相对表达量，以此判断胃神经内分泌癌患者出现胃神经内分泌癌复发转移的风险。本发明的有益效果主要体现在：本发明提供了胰岛素样生长因子结合蛋白2在制备胃神经内分泌癌术后预后评估试剂盒中的应用，提示胰岛素样生长因子结合蛋白2能用于制备判断胃神经内分泌癌患者预后的蛋白质分子标记，对于胃神经内分泌癌病人术后监控和序贯治疗也具有重要的指导意义。

