

ارتباط پلی مورفیسم پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین rs2854744 با سرطان روده بزرگ

مارال ارکانی (MSc)^۱، خاتون کریمی (MSc)^۱، اکرم صفائی (PhD)*^۱، محسن واحدی (MSc)^۱، سیدرضا محبی (PhD)^۱،

سیدرضا فاطمی (MD)^۱، محمد وفائی (MD)^۲، محمدرضا زالی (MD)^۱

۱- مرکز تحقیقات کبد و گوارش بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- انجمن استومی ایران

دریافت: ۹۰/۴/۱۳، اصلاح: ۹۰/۶/۲۹، پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۳، یک تنظیم کننده منفی برای فاکتور رشد شبه انسولین است به طوری که با اتصال به IGF1 و مهار آن، مانع از تقسیم سلولی شده و آپوپتوز را القا می کند. مطالعات نشان داده اند که کاهش سطح IGFBP3 با افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ مرتبط است. این مطالعه به منظور ارزیابی میزان شیوع آلل موتانت پلی مورفیسم rs2854744 IGFBP3 در جامعه ایران و بررسی نقش این پلی مورفیسم در افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۲۰ بیمار (با نتیجه کولونوسکوپی و پاتولوژی مثبت از نظر ابتلا به سرطان کولورکتال) و ۱۲۰ نفر گروه شاهد (که نتیجه کولونوسکوپی آنان از نظر ابتلا به سرطان کولورکتال منفی بود)، با استفاده از روش PCR-RFLP، تعیین ژنوتایپ شده و از این نظر مورد مقایسه قرار گرفتند. **یافته ها:** در نمونه های بیماران، فراوانی ژنوتیپ های AA, CA, CC در ژن rs2854744 IGFBP3 به ترتیب ۳/۳۳٪، ۵/۴۷٪، ۲/۱۹٪ و فراوانی این پلی مورفیسم در نمونه های کنترل، به ترتیب ۲/۳۴٪، ۸/۴۵٪، ۲۰٪ بود. فراوانی آلل C در نمونه های بیمار و کنترل ۵۷٪ و فراوانی آلل A، ۴۲٪ بود که اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان می دهد که واریانت پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین rs2854744، با افزایش خطر ابتلا به بیماری سرطان روده بزرگ ارتباط ندارد.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم ژنتیکی، PCR-RFLP، پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین، نئوپلاسم روده بزرگ.

مقدمه

سرطان روده بزرگ بیماری است که در آن، سلولهای بدخیم (سرطانی) در بافت روده بزرگ تشکیل می شوند. سن، رژیم غذایی، سابقه خانوادگی افراد، سیگار کشیدن، کم تحرکی، مصرف الکل، چاقی از عوامل مستعد کننده افراد به سرطان روده بزرگ است (۱). یکی دیگر از عوامل ایجاد سرطان روده بزرگ پولیپ ها هستند که، شامل دسته ای از سلول ها است که در کولون رشد می کنند. این پولیپ ها ممکن است تبدیل به تومور های بدخیم شوند (۲). از دیگر عوامل میتوان پلی مورفیسم های ژنتیکی را نام برد که در گسترش بدخیمی های

روده بزرگ نقش بسزایی دارند. یکی از مسیر هایی که پلی مورفیسم در ژنهای دخیل در آن با سرطان روده بزرگ مرتبط است، مسیر سیگنالینگ انسولین است (۳و۴) و یکی از پروتئین هایی که در این مسیر فعالیت دارد پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین می باشد. فاکتور رشد شبه انسولین (Insuline Growth Factor 1, IGF1) تقسیم سلولی را تحریک کرده (۵) و مانع از مرگ برنامه ریزی شده سلول می شود (۶). تقریباً ۶ نوع پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین شناسایی شده است که کار تنظیم فعالیت IGF1 را بر

* مسئول مقاله:

برای تکثیر قطعه ۲۳۹ bp بودند. برنامه PCR، شامل ۳۸ سیکل با برنامه ۱۰ دقیقه ۹۳ درجه، ۴۰ ثانیه ۹۵ درجه، ۳۵ ثانیه ۵۸ درجه، ۴۵ ثانیه ۷۲ درجه و ۱۰ دقیقه ۷۲ درجه بود. بعد از انجام PCR، جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر، تمامی نمونه ها روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردیدند، سپس باقیمانده محصول جهت هضم آنزیمی به مدت ۳ ساعت در مجاورت آنزیم NSBI قرار گرفت. پس از اتمام مدت انکوباسیون، محصولات مجدداً روی آگارز ۲ درصد الکتروفورز شده و مورد بررسی قرار گرفتند. باندهای مشاهده شده شامل: سه باند ۸۰ bp و ۲۴۹ bp که نشان دهنده نوع هتروزیگوت، دو باند ۸۰ bp و ۱۶۶ bp نشان دهنده هموزیگوت موتانت و تک باند ۲۴۹bp نشان دهنده هموزیگوت طبیعی بود، مورد بررسی قرار گرفتند. از تست X^2 ، به منظور بدست آوردن اختلاف فراوانی آلی بین گروه های بیمار و شاهد و تجزیه و تحلیل متغیرهای گروه بندی شده استفاده شد.

با استفاده از آنالیز آماری رگرسیون لجستیک، نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) محاسبه و ارتباط بین پلی مورفیسم و بیماری مشخص گردید و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه ۱۲۰ بیمار مبتلا به سرطان روده بزرگ با میانگین سنی 54.3 ± 11.0 سال و ۱۲۰ فرد گروه شاهد با میانگین سنی 44.9 ± 11.0 سال مورد بررسی قرار گرفتند. نسبت مرد به زن در گروه بیمار ۰/۹۳ و در گروه شاهد ۰/۸۷ بود. اکثر افراد بیمار و شاهد، غیر سیگاری بودند (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات گروه های بیمار و شاهد مورد مطالعه

پارامترها	شاهدان (تعداد=۱۲۰)	بیماران (تعداد=۱۲۰)
سن(سال)	54.3 ± 11.0	54.3 ± 11.0
جنسیت		
مرد	۶۴ (۵۳/۳)	۵۷ (۴۷/۵)
زن	۵۶ (۴۶/۶)	۶۳ (۵۲/۵)
وضعیت سیگار کشیدن		
افراد غیر سیگاری	۹۶ (۸۰)	۱۰۳ (۸۵/۸)
افراد با استعمال قبلی سیگار	۱ (۰/۸)	۲ (۱/۷)
افراد سیگاری	۲۳ (۱۹/۲)	۱۵ (۱۲/۵)

*میانگین $\pm$ انحراف معیار

†اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند

در توزیع ژنوتیپی برای افراد سالم (تطبیق یافته شده)، ۲۴ نفر ژنوتایپ هموزیگوت موتانت AA (۲۰٪)، ۵۵ نفر هتروزیگوت CA (۴۵/۸٪)، ۴۱ نفر هموزیگوت طبیعی CC (۳۴/۲٪) مشاهده شد. در توزیع ژنوتیپی برای افراد بیمار، ۲۳ نفر هموزیگوت موتانت AA (۱۹/۲٪)، ۵۷ نفر هتروزیگوت CA (۴۷/۵٪)، ۴۰ نفر هموزیگوت طبیعی CC (۳۳/۳٪) مشاهده گردید (جدول ۲). میزان شیوع

عهده دارند (۷). یکی از آنها پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین (Insuline Growth Factor Binding Protein 3, IGFBP3) می باشد که مرگ برنامه ریزی شده سلول را از دو مسیر یکی وابسته به P53 (۸) و دیگری وابسته به IGF1 (۹) القا می کند. IGFBP3 یک تنظیم کننده منفی برای فاکتور رشد شبه انسولین است به طوری که با اتصال به IGF1 و مهار آن، مانع از تقسیم سلولی شده و آپوپتوز را القا می کند (۱۴-۱۰). مکانیسم های فعالیت IGFBP3 که مستقل از IGF1 است، کاملاً شناخته نشده اما ممکن است به فعالیت های هسته ای IGFBP3 مرتبط باشد چرا که پروتئین مذکور قابلیت ورود به هسته را دارد (۱۶و۱۵) و تنظیم ژن های مربوط به تقسیم و رشد سلولی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی را کنترل می کند (۱۷). مطالعاتی هستند که ثابت می کنند پروتئین های متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین مخصوصاً IGFBP3 نقش مهمی در تنظیم رشد سلول های روده بزرگ دارند (۱۹و۱۸) و تغییرات نوکلئوتیدی در ژن IGFBP3 در تومورهای دستگاه گوارش دخالت دارد (۲۰). در پلی مورفیسم rs ۲۸۵۴۷۴۴ IGFBP3 در دوپست و دومین نوکلئوتید در پروموتور DNA آدنین جایگزین سیتوزین شده و در سی و دومین اسید آمینه آلانین جایگزین گلايسین می شود (۲۰). این پلی مورفیسم در منطقه GC پروموتور واقع است و باعث کاهش تمایل فاکتور های رونویسی شده و روی سطح بیان IGFBP3 تاثیر می گذارد (۲۱) از طرف دیگر جایگزینی آلانین به جای گلايسین در قسمتی واقع است که IGFBP3 به فاکتور رشد شبه انسولین متصل می شود، این جایجایی تمایل اتصال دو پروتئین مذکور را کاهش می دهد (۲۲).

از آنجا که تاکنون گزارشی در مورد این پلی مورفیسم در جامعه ایران ارائه نشده است، لذا این مطالعه با هدف ارزیابی میزان شیوع پلی مورفیسم rs ۲۸۵۴۷۴۴ IGFBP3 و بررسی نقش این پلی مورفیسم در افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۲۰ نمونه کنترل و ۱۲۰ نمونه بیمار که از نظر سن و جنس همخوانی داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات شامل وضعیت استعمال دخانیات، سن و جنسیت در فرمی تکمیل گردید. بیماران شامل افرادی بودند که از نظر پاتولوژی و علایم بیماری، مبتلا به سرطان روده بزرگ بودند و افراد کنترل کسانی انتخاب شدند که دارای نتایج کولونوسکوپی و پاتولوژی منفی برای سرطان روده بزرگ بودند. به کلیه افراد در مورد نحوه استفاده از نتایج و داوطلبانه بودن حق شرکت یا عدم شرکت در این مطالعه توضیح داده شد و فرم رضایتنامه کتبی از بیماران و داوطلبین شاهد، اخذ گردید. نمونه خون محیطی به میزان ۵ سی سی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی PCR-RFLP گرفته شد. (افراد بیمار تنها دارای سرطان روده بزرگ بودند). استخراج DNA با روش فنل - کلوپورم و رسوب گیری با اتانول انجام شد و روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتایپ، به کار گرفته شد.

پرایمر های به کار گرفته شده در این آزمایش، پرایمر پیش برنده 5'GACAGTGACAGGCAGCCTAGTAGAAG 3' و پرایمر معکوس 5'CTGGGCATGAAGACACAAACG3'

در مقابل هموزیگوت طبیعی (بعد از تعدیل شدن) (AA/CC) ۱/۲۶ (۲/۷۶-
۰/۵۷ CI: ۰/۵۶-۰/۹۵) $p=0/۵۶$ و برای هتروزیگوت در مقابل هموزیگوت طبیعی ۱/۱
(CA/CC) (۰/۶۵-۲/۲۰ CI: ۰/۵۶-۰/۹۵) $p=0/۵۶$ محاسبه گردید.

آل A موتانت در گروه بیمار ۴۲/۹٪ و در افراد کنترل ۴۲/۹٪ محاسبه گردید.
اختلاف معنی داری بین دو گروه از نظر فراوانی آلی مشاهده نشد (۰/۶۹-۱/۴۳).
= فاصله اطمینان ۹۵٪ (نسبت شانس). نسبت شانس برای هموزیگوت موتانت

جدول ۲. مقایسه ارتباط بین پلی مورفیسم ۲۸۵۴۷۴۴ rs GFBP3 و سرطان روده ی بزرگ در دو گروه بیمار و شاهد

ژنوتایپ	بیمار تعداد(%)	کنترل تعداد(%)	OR ^a فاصله اطمینان ۹۵٪	P ارزش	OR ^b فاصله اطمینان ۹۵٪	P ارزش
CC	۳۳/۳۴۰	۳۴/۲۴۱	(۰/۶-۱/۸)	۰/۸۳	(۰/۵۷-۲/۷)	۱/۲۶
CA	۴۷/۵۷	۴۵/۸۵۵	(۰/۴۷-۲/۰۱)	۰/۹۶	(۰/۶۵-۲/۲۰)	۱/۱
AA	۲۳/۱۹۲	۲۴/۲۰۰				

^a تطبیق نیافته برای سن و جنس، ^b تطبیق یافته برای سن و جنس

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم ۲۸۵۴۷۴۴ rs IGFBP3 و سرطان روده بزرگ یافت نشد. در پلی مورفیسم ۲۸۵۴۷۴۴ rs IGFBP3، در پروموتور ژن که آدنین جایگزین سیتوزین شده، ژنوتایپ موتانت AA فعالیت پروموتور و سطح بیان IGFBP3، بیشتر از ژنوتایپ هتروزیگوت AC و هموزیگوت طبیعی CC نشان داده است (AA>AC>CC) (۲۱) در واقع این پلی مورفیسم از یک طرف روی سطح بیان IGFBP3 تاثیر می گذارد (۲۱) و از طرف دیگر با جایگزین شدن آلانین به جای گلايسین باعث کاهش تمایل اتصال فاکتور رشد شبه انسولین به IGFBP3 می شود (۲۲). در مطالعه ای که در آمریکا انجام شد گزارش کردند کسانی که آلل موتانت IGFBP3 را داشتند بیشتر در معرض افزایش خطر ابتلا به روده بزرگ قرار دارند. این ارتباط در کسانی که BMI بالایی داشتند قویتر گزارش شد (۲۲). Slattery و همکارانش نشان دادند که پلی مورفیسم در IGFBP3 به تنهایی روی افزایش خطر سرطان روده بزرگ تاثیر ندارد، اما وقتی با IRS1 در نظر گرفته شود رابطه معنی داری با بیماری مذکور دارد به طوری که، افرادی که حامل آلل موتانت در IRS1(G972R) بودند و دارای ژنوتایپ هتروزیگوت AC و هموزیگوت طبیعی CC برای IGFBP3 باشند، دو برابر بیشتر در معرض ابتلا به سرطان روده بزرگ هستند (۳). IGFBP3 پروتئینی است که از طریق اتصال به فاکتور رشد شبه انسولین و یا P53، مرگ برنامه ریزی شده سلول را القا می کند و همچنین کار تنظیم فعالیت هورمون فاکتور رشد شبه انسولین را بر عهده دارد (۲۳).

افزایش سطح هورمون رشد شبه انسولین و از طرف دیگر کاهش سطح IGFBP3 باعث افزایش خطر ابتلا به پروستات (۲۴) و سرطان پستان (۲۶) و (۲۵) و روده بزرگ و آدنوما (۲۷) می شود. محققین گزارش کرده اند که پلی مورفیسم در ۵ ژن IGFBP3 باعث افزایش سطح این پروتئین می شود (۲۸) این در حالی است که تاثیر پلی مورفیسم در ناحیه ۳ ژن مذکور هنوز ناشناخته

است (۲۹). دلیل اختلاف در یافته های مطالعات مشابه این است که علاوه بر پلی مورفیسم در ژن متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین (بعد ژنتیک) (۱۹) فاکتور های دیگری از قبیل رژیم غذایی، فعالیت بدنی و وزن بالا باعث افزایش سطح بیان IGF1 و کاهش IGFBP3 شده (۲۹) و نتیجتاً روی افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ تاثیر می گذارد (۳۰ و ۳۱). مطالعات گوناگون نتایج ضد و نقیضی را گزارش کرده اند که این اختلاف در مطالعات گوناگون می تواند ریشه در اختلاف نژادی داشته باشد، ممکن است فاکتوری که در یک منطقه و در یک نژاد مشخص عامل مستعد کننده برای ابتلا به بیماری خاص است در نژاد دیگر و در یک منطقه جغرافیایی متفاوت، تعیین کننده نباشد. در مطالعه حاضر، پلی مورفیسم ژن پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۳، rs ۲۸۵۴۷۴۴، فاکتور مستعد کننده برای ابتلا به سرطان روده بزرگ نیست. با توجه به نتایج به دست آمده جنسیت و استعمال دخانیات فاکتورهای مستعد کننده برای ابتلا به سرطان روده بزرگ نیستند.

از دیدگاه ژنتیکی، در کنار مطالعه پلی مورفیسم ژن IGFBP3، پلی مورفیسم در ژن هایی که در ارتباط با عملکرد پروتئین مذکور هستند (از جمله پلی مورفیسم در ژن های دخیل در مسیر سیگنالینگ انسولین و IGF1)، باید در نظر گرفته شود. در مطالعات آینده برای دستیابی به نتایج جامع تر، بهتر است فاکتور های محیطی، سبک زندگی، در معرض قرار گرفتن کارسینوژن های محیطی و وزن افراد مورد مطالعه، در نظر گرفته شوند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مسئولین مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که تمامی هزینه های این پروژه را بر عهده داشتند و همچنین از بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ و افراد سالمی که در این مطالعه با ما همکاری کردند، تشکر و قدردانی می گردد.

Association of IGFBP3 Gene (rs2854744) Polymorphism and Colorectal Cancer

M. Arkani (MSc)¹, Kh. Karimi (MSc)¹, A. Safaei (PhD)^{1*}, M. Vahedi (MSc)¹, R. Mohebi (PhD)¹, R. Fatemi (MD)¹, M. Vafaei (MD)², M.R. Zali (MD)¹

1. Research Center for Gastroenterology and Liver Disease of Taleghani Hospital, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
2. Iranian Ostomy Society, Tehran, Iran.

J Babol Univ Med Sci; 14(3); May 2012; pp: 46-51.

Received: Jul 4th 2011, Revised: Sep 20th 2011, Accepted: Feb 8th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The bioavailability of IGF1 is regulated by the insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3). IGFBP3 is an inhibitor of IGF1 and inhibits growth cell and induces apoptosis by joining to it. Some studies have shown that reduction of IGFBP3 level cause to increase risk of colorectal cancer (CRC). The purpose of this study was to investigate incidence of mutant allele of IGFBP3 polymorphism rs2854744 in Iranian community and to examine the association of genetic variants in IGFBP3 (rs2854744) with risk of colorectal cancer.

METHODS: In this case-control study, genotyping of IGFBP3 gene were determined in series of 120 colorectal cancer patients (with positive result for colonoscopy and pathology) and 120 controls (with negative result for colonoscopy and pathology) by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism genotyping assay (PCR-RFLP) and compared.

FINDINGS: Frequency of CC, CA and AA genotype in patients in IGFBP32854744 was 33.3%, 47.5% and 19.2%, and frequency for controls was 34.2%, 45.8%, and 20%, respectively. Frequency of C allele in patients was 0.57% and for A allele was 0.42%. Also frequency of C allele in controls 0.57% and in A allele was 0.42% that no significant difference was seen.

CONCLUSION: These findings suggest that polymorphism IGFBP3 rs 2854744, is not associated with increased risk of CRC.

KEY WORDS: Genetic polymorphism, PCR-RFLP, Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3, Colorectal Neoplasms.

*Corresponding Author;

Address: Research Center for Gastroenterology and Liver Disease, 6th floor of Taleghani Hospital, Parvane Ave, Evin, Tehran, Iran

Tel: +98 21 22432514

E-mail: akramsafaei.134@gmail.com

References

1. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 1980; 9(3):227-31.
2. Hampel H, Frankel WL, Martin E, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med* 2005;352(18):1851-60.
3. Slattery ML, Samowitz W, Curtin K, et al. Associations among IRS1, IRS2, IGF1, and IGFBP3 genetic polymorphisms and colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(7):1206-14.
4. Pechlivanis S, Pardini B, Bermejo JL, et al. Insulin path way related genes and risk of colorectal cancer: *Endocr Relat Cancer* 2007;14(3):733-40 .
5. Lahm H, Suardet L, Laurent PL, et al. Growth regulation and co-stimulation of human colorectal cancer cell lines by insulin-like growth factor I, II and transforming growth factor alpha. *Br J Cancer* 1992;65:341-6.
6. Remacle-Bonnet MM, Garrouste FL, Heller S, André F, Marvaldi JL, Pommier GJ. Insulin-like growth factor-I protects colon cancer cells from death factor-induced apoptosis by potentiating tumor necrosis factor alpha-induced mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappa B signaling pathways. *Cancer Res* 2000;60(7):2007-17.
7. Firth SM, Baxter RC: Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocr Rev* 2002;23(6):824-54.
8. Buckbinder L, Talbott R, Velasco-Miguel S, et al. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein 3 by p53. *Nature* 1995;377(6550):646-9.
9. Rajah R, Valentinis B, Cohen P: Insulin-like growth factor (IGF)- binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor-beta1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independent mechanism. *J Biol Chem* 1997;272(18):12181-8.
10. Williams AC, Collard TJ, Perks CM, et al. Increased p53-dependent apoptosis by the insulin-like growth factor binding protein IGFBP-3 in human colonic adenoma-derived cells. *Cancer Res* 2000;60(1):22-7.
11. Lee KW, Cohen P. Nuclear effects: unexpected intracellular actions of insulin-like growth factor binding protein-3. *J Endo Crinol* 2002;175(1):33-40.
12. Kirman I, Cekic V, Poltaratskaia N, et al. Plasma from patients undergoing major open surgery stimulates in vitro tumor growth: lower insulin-like growth factor binding protein 3 levels may, in part, account for this change. *Surgery* 2002;132(2):186-92.
13. Hong J, Zhang G, Dong F, Rechler MM. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 mutants that do not bind IGF-I or IGF-II stimulate apoptosis in human prostate cancer cells. *J Biol Chem* 2002;277(12):10489-97.
14. Gill ZP, Perks CM, Newcomb PV, Holly JM. Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP-3) predisposes breast cancer cells to programmed cell death in a non-IGF-dependent manner. *J Biol Chem* 1997;272(41):25602-7.
15. Schedlich LJ, Le Page SL, Firth SM, Briggs LJ, Jans DA, Baxter RC. Nuclear import of insulin-like growth factor-binding protein- 3 and -5 is mediated by the importin beta subunit. *J Biol Chem* 2000;275(31):23462-70.
16. Lee KW, Liu B, Ma L, et al. Cellular internalization of insulin-like growth factor binding protein-3: distinct endocytic pathways facilitate re-uptake and nuclear localization. *J Biol Chem* 2004;279(1):469-76.
17. Butt AJ, Firth SM, King MA, Baxter RC. Insulin-like growth factor binding protein-3 modulates expression of Bax and Bcl-2 and potentiates p53-independent radiation-induced apoptosis in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 2000; 275(50):39174-81.
18. Oh W. IGFBPs and neoplastic models. New concepts for roles of IGFBPs in regulation of cancer cell growth. *Endocrine* 1997;7(1):111-3.
19. Zou T, Fleisher AS, Kong D, et al. Sequence alterations of insulin-like growth factor binding protein 3 in neoplastic and normal gastrointestinal tissues. *Cancer Res* 1998;58(21):4802-4.

- 20.Chen W, Wang L, Ke Q, et al. The role of IGFBP3 functional polymorphisms in the risk of gastric cancer in a high-risk Chinese population. *Eur J Cancer Prev* 2008;17(2):82-7.
- 21.Deal C, Ma J, Wikin F, et al. Novel promoter polymorphism in insulin-like growth factor-binding protein-3: Correlation with serum levels and interaction with known regulators. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1274-80.
- 22.Morimoto LM, Newcomb PA, White E, Bigler J, Potter JD. Insulin-like growth factor polymorphisms and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(5):1204-9.
- 23.Williams AC, Collard TJ, Perks CM, et al. Increased p53-dependent apoptosis by the insulin-like growth factor binding protein IGFBP-3 in human colonic adenoma-derived cells. *Cancer Res* 2000;60:22-7.
- 24.Chan JM, Stampfer MJ, Ma J, et al. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(14):1099-106.
- 25.Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998;351:1393-6.
- 26.Krajcik RA, Borofsky ND, Massardo S, Orentreich N. Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding proteins, and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(12):1566-73.
- 27.Giovannucci E, Pollak M, Platz EA, et al. Insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-binding protein-3 and the risk of colorectal adenoma and cancer in the nurses' health study. *Growth Horm IGF Res* 2000;10(Suppl A):30-1.
- 28.Canzian F, McKay JD, Cleveland RJ. Polymorphisms of genes coding for insulin-like growth factor 1 and its major binding proteins, circulating levels of IGF-I and IGFBP-3 and breast cancer risk: results from the EPIC study. *Br J Cancer* 2006;94(2):299-307.
- 29.Colangelo LA, Chiu BC, Liu K, Kopp PA, Gann PH, Gapstur SM. IGF-1, IGFBP-3, and Nutritional Factors in Young Black and White Men: The CARDIA Male Hormone Study Laura A. *Nut Cancer* 2005;53(1):57-64.
- 30.Palmqvist R, Hallmans G, Rinaldi S, et al. Plasma insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding protein 3, and risk of colorectal cancer: a prospective study in northern Sweden. *Gut* 2002;50(5):642-6.
- 31.Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(7):620-5.