

# PDGF-B、PDGFR- $\alpha$ 在 pN0 期 NSCLC 癌组织中的表达及意义

魏东,薛志芳,刘博,王耀一,郝雁冰

(河北北方学院附属第一医院,河北 张家口 075000)

**摘要:** [目的] 研究血小板衍生生长因子-B(PDGF-B)、血小板衍生生长因子受体- $\alpha$ (PDGFR- $\alpha$ ) 在 pN0 期非小细胞肺癌(NSCLC)癌组织中的表达及意义。[方法] 选取 2013 年 3 月至 2014 年 3 月在我院进行根治性肺叶切除手术 pN0 期的 NSCLC 患者 50 例。取所有患者手术切除癌组织标本以及与癌组织距离 5cm 以上的癌旁正常肺组织制作标本, 免疫组化处理后检测 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  表达, 并进行相关性分析。[结果] 癌组织中 PDGF-B 阳性表达率(96.00%)高于癌旁组织(40.00%); 癌组织中 PDGFR- $\alpha$  阳性表达率(92.00%)高于癌旁组织(40.00%)( $P<0.05$ )。NSCLC 患者 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率与性别、年龄无关, 与吸烟史、肿瘤体积、组织学类型、病理分级以及淋巴结转移有关。有吸烟史、肿瘤体积较大、病理分级较高以及淋巴结微转移的患者 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率较高 ( $P<0.05$ )。[结论] PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  参与 pN0 期非小细胞肺癌的发生与发展, 在癌组织中的阳性表达率较高。对临床上 pN0 期非小细胞肺癌的诊断有着重要的意义。

**关键词:** 血小板衍生生长因子; 非小细胞肺癌; 免疫组化染色; 淋巴结微转移

**中图分类号:** R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)01-0035-04

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.01.B008

## Expression of PDGF-B and PDGFR- $\alpha$ in pN0 Stage NSCLC and Their Significance

WEI Dong, XUE Zhi-fang, LIU Bo, WANG Yao-yi, HAO Yan-bing

(The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the expression and significance of platelet-derived growth factor-B (PDGF-B) and platelet-derived growth factor- $\alpha$  (PDGFR- $\alpha$ ) in pN0 stage non-small cell lung cancer(NSCLC). [Methods] Fifty patients with pN0 stage NSCLC underwent radical lobectomy from March 2013 to March 2014. The specimens of cancer tissue and adjacent lung tissue were taken, and the expression of PDGF-B and PDGFR- $\alpha$  were detected by immunohistochemical staining, enzyme-linked immunosorbent assay and immunoturbidimetric assay. The correlation between PDGF-B and PDGFR- $\alpha$  expressions was analyzed. [Results] The positive expression rates of PDGF-B and PDGFR- $\alpha$  were higher than those in adjacent tissues(96.00% vs 40.00%, 92.00% vs 40.00%, respectively both  $P<0.05$ ). The positive expression rates of PDGF-B and PDGFR- $\alpha$  in NSCLC patients were not correlated with sex and age, but correlated with smoking history, tumor volume, histological type, pathological grade and lymph node metastasis(all  $P<0.05$ ). [Conclusion] The expression of PDGF-B and PDGFR- $\alpha$  are up-regulated in pN0 non-small cell lung cancer, which may be involved in the occurrence and development of NSCLC.

**Subject words:** platelet-derived growth factor; non-small cell lung cancer; immunohistochemical staining; lymph node micrometastasis

约 28% I~II 期非小细胞肺癌患者在根治性肺叶切除手术后早期会出现肿瘤复发现象, 说明在淋巴结区域组织中可能存在着肿瘤微转移<sup>[1]</sup>。血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)

在其受体(platelet-derived growth factor, PDGFR)介导下发挥着强有丝分裂原的作用, 还可以调节细胞外基质的合成及分解, 是较为重要的血管形成因子<sup>[2]</sup>。研究发现 PDGF 及 PDGFR 与多种肿瘤发生、发展密切相关<sup>[3]</sup>。本研究分析 50 例病理学检查为 pN0 期 NSCLC 患者的临床资料, 使用酶联免疫吸附实验法及免疫透射比浊法来检测 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  在非

**基金项目:** 张家口市科技攻关计划项目(13201047D)

**通信作者:** 魏东, 主治医师, 硕士; 河北北方学院附属第一医院胸外科, 河北省张家口市长青路 12 号(075000); E-mail: wirqk99@163.com

**收稿日期:** 2019-05-31; **修回日期:** 2019-09-16

小细胞肺癌中的表达,探究 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  在非小细胞肺癌中的表达及其意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2013 年 3 月至 2014 年 3 月在我院行根治性肺叶切除手术,术后病理为 pN0 期 NSCLC 患者 50 例。根据 TNM 分期<sup>[4]</sup>分为 I 期 12 例,II 期 20 例,III 期 18 例。男性 31 例,女性 19 例,年龄 32~74 岁,平均年龄(52.3 $\pm$ 2.6)岁,腺癌 23 例,鳞癌 17 例,腺鳞癌 10 例。

纳入标准:病例均为经病理学或细胞学检查证实为 NSCLC 且处于 pN0 期;排除标准:病历资料不全患者;并发其他类型恶性肿瘤患者;接受过放疗、化疗治疗的患者;排除精神疾病患者。研究对象及家属均知情,签署家属知情通知书,并获医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本采集

所有患者取手术切除癌组织标本以及与癌组织距离 5cm 以上的癌旁正常肺组织,使用 4%中性福尔马林对标本进行固定,并进行常规石蜡包埋,之后进行连续切片作免疫组化标记以及革兰染色待用。

#### 1.2.2 免疫组化染色

将石蜡切片样本放在二甲苯中脱蜡处理 10min,将二甲苯更换后再放置 10min,然后梯度酒精水化;加入蛋白酶修复液,在 37 $^{\circ}$ C 恒温冰箱中孵化 30min,弃抗原修复液;切片移入湿盒中加入浓度为 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 去氧化物酶封闭液,恒温冰箱孵育 10min,采用 PBS 淋液冲洗;加入适量山羊血清,在室温环境下封闭 30min;用滤纸将封闭液吸取,加入一抗,放入湿盒,然后再加入二抗,室温孵育 1h,采用 PBS 淋液冲洗;经过 DAB 显色处理 10min,能够在显微镜下观察到棕黄色阳性反应,则采用 PBS 淋液冲洗 1min;使用苏木精复染 3min,然后用浓度为 1%盐酸乙醇分化处理,自来水冲洗 1min 后,脱水并封片处理。

#### 1.2.3 酶联免疫吸附实验法检测 PDGF-B 水平

采用 50mM 碳酸盐包被缓冲液将抗原进行溶解,浓度为 10~20 $\mu$ g/ml,在 96 孔酶标板中加入 100 $\mu$ l/孔,4 $^{\circ}$ C 过夜保存。第二天舍弃包被液,采用 PBST 洗涤 3 次,每孔中加入 1% 150 $\mu$ lBSA,在 37 $^{\circ}$ C 环境中

封闭 1h。之后采用 PBST 洗涤 3 次,在每孔中加入 100 $\mu$ l 不同倍比稀释度的血清,加入对样品,37 $^{\circ}$ C 孵育 2h。采用 PBST 洗涤 5 次,加入 100 $\mu$ l,稀释后的 HRP 标记的二抗,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。PBST 洗涤 5 次,之后,使用显色剂显色 20min 后,在酶标仪上读取 A405 吸收值。

#### 1.2.4 免疫透射比浊法检测 PDGFR- $\alpha$ 水平

取 3 个试管,分别标记为空白管、标准管以及测定管。空白管中加入 15 $\mu$ l 生理盐水和 350 $\mu$ l Tris 缓冲液,标准管中加入 15 $\mu$ l PDGFR- $\alpha$  定标液和 350 $\mu$ l Tris 缓冲液,测定管中加入 15 $\mu$ l 待测标本和 350 $\mu$ l Tris 缓冲液,对 3 个试管分别摇晃混匀后,在 37 $^{\circ}$ C 环境中保存 5min,在波长 340~700nm 处读各管吸光度。之后在 3 个试管中分别加入羊抗人 PDGFR- $\alpha$  抗血清,分别摇晃混匀后在 37 $^{\circ}$ C 的环境中保存 5min,在波长 340~700nm 处读各管吸光度,并对血清 PDGFR- $\alpha$  水平进行计算。

#### 1.2.5 诊断效能评价

对 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  单独检测及联合检测非小细胞肺癌的诊断敏感度、特异性及准确性进行统计分析。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析。计数资料比较采用百分率描述,两组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 癌组织与癌旁组织中 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$ 表达比较

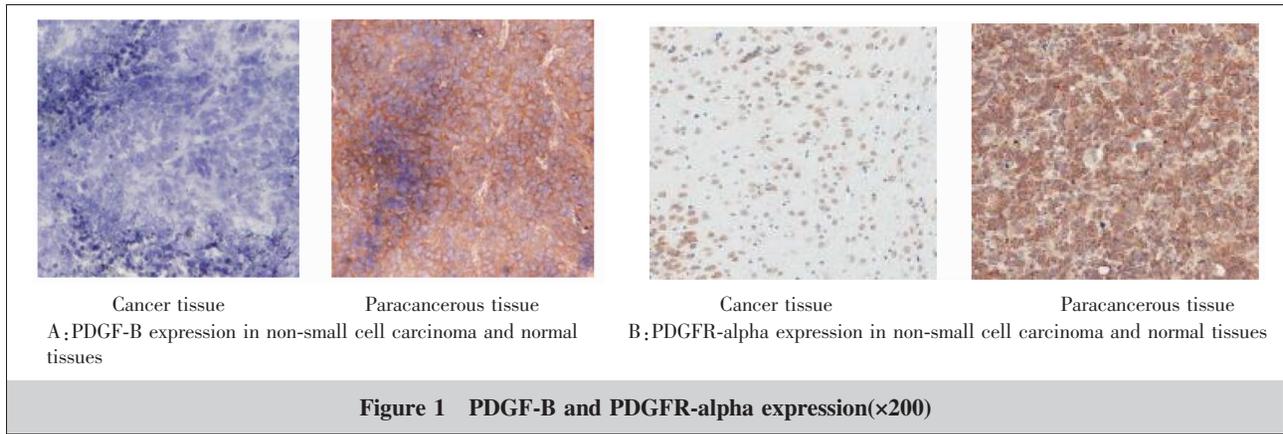
癌组织中 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率显著高于癌旁组织中的 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率( $P < 0.05$ )(Table 1, Figure 1)。

### 2.2 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$ 阳性表达与 NSCLC 患者临床病理资料的关系

NSCLC 患者 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率与性别、组织学类型、年龄无关,与吸烟史、肿瘤体积、病理分级以及淋巴结转移有关(Table 2)。有吸烟史、肿瘤体积较大、病理分级较高以及淋巴结微转移的患者 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率较高( $P < 0.05$ )。

### 2.3 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$ 诊断 NSCLC 价值比较

PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  联合检测对 NSCLC 的诊断敏感度、准确率均高于 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  单独检



**Table 1 Comparison of PDGF-B and PDGFR-alpha expression in cancer tissues and adjacent tissues[n(%)]**

Group	N	PDGF-B	PDGFR-α
Paracancerous tissue	50	20(40.00)	20(40.00)
Cancer tissue	50	48(96.00)	46(92.00)
$\chi^2$		36.03	30.12
P		0.001	0.001

测，特异性低于 PDGF-B、PDGFR-α 单独检测 ( $P < 0.05$ )(Table 3)。

### 3 讨论

目前随着临床诊断技术的不断进步,血清因子指标检测逐渐应用于非小细胞肺癌患者的诊断中<sup>[5-6]</sup>。多种肿瘤的发生发展与 PDGF-B 及其受体的异常表

达密切相关,例如在脑膜瘤、肉骨瘤、胃癌、肺癌中均有所体现,同时有研究发现 PDGF-B 基因在正常状态下的蛋白表达水平很低。研究发现在非小细胞肺癌中 PDGF-B mRNA 过度表达,但是在小细胞肺癌中并没有检测到<sup>[7]</sup>。另有学者研究发现,使用间接免疫荧光技术在鳞癌及腺癌中均检测到 PDGF-B 的高度表达<sup>[8]</sup>。本研究应用免疫组化方法发现 PDGF-B 在鳞癌和腺癌中均呈现阳性表达,与上述研究结论

**Table 3 Comparison of diagnostic value of PDGF-B and PDGFR-alpha in detecting NSCLC**

Index	N	Susceptibility (%)	Specificity (%)	Accuracy rate (%)
PDGF-B	50	82.56	80.00	81.50
PDGFR-α	50	80.20*	81.20*	82.10*
Joint detection	50	85.60**	75.50**	87.20**

Note: \* $P < 0.05$ , compared with PDGF-B; \*\* $P < 0.05$ , compared with PDGFR-α

**Table 2 Relationship between positive PDGF-B expression and PDGFR-alpha expression and NSCLC clinicopathological data[n(%)]**

Clinical data		N	PDGF-B	$\chi^2$	P	PDGFR-α	$\chi^2$	P
Gender	Male	31	15(48.39)	0.08	0.77	16(67.74)	0.19	0.66
	Female	19	10(52.63)			11(57.89)		
Age(years old)	≥40	24	14(58.33)	0.35	0.55	12(50.00)	0.30	0.58
	<40	26	13(50.00)			11(42.31)		
Tumor volume	≥3cm <sup>3</sup>	35	30(85.71)	6.04	0.01	31(88.57)	12.87	<0.01
	<3cm <sup>3</sup>	15	8(53.33)			6(40.00)		
History of smoking	Yes	33	31(93.94)	9.37	<0.01	30(90.91)	11.82	<0.01
	No	17	10(58.82)			8(47.06)		
Histology	Squamous cell carcinoma	23	13(56.52)	1.02	0.50	14(60.87)	1.72	0.48
	Adenocarcinoma	17	10(58.82)			11(64.71)		
	Adenosquamous carcinoma	10	4(40.00)			3(30.00)		
Pathological grading	I	12	6(50.00)	14.29	<0.01	5(41.67)	14.22	<0.01
	II	20	19(95.00)			18(90.00)		
	III	18	7(38.89)			6(33.33)		
Lymph node micrometastasis	Yes	26	22(84.62)	9.99	<0.01	24(92.31)	12.84	<0.01
	No	24	10(41.66)			11(45.83)		

基本一致。

PDGF 与受体结合后所体现的生物学效应就是能促进多种细胞增殖分裂。研究显示 PDGFR 同时受到系统激素及相应的其他生长因子的调节<sup>[9]</sup>。在本研究中,非小细胞癌组织分泌了大量的 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$ , 两者的阳性表达高达 85% 以上, 与正常的癌旁组织相比差异有统计学意义; PDGFR- $\alpha$  与 PDGF-B 在非小细胞肺癌中的表达不太一致, 但方向上相同; 说明非小细胞肺癌的自身 PDGF- $\alpha$ 、PDGF-B 过度表达, 有可能作为 PDGF 信息传导通路组成部分参与了非小细胞肺癌的发生发展。PDGF 与受体家族主要是配体 PDGF-A、PDGF-B、受体 PDGF- $\alpha$  以及 PDGF- $\beta$  组成, PDGF- $\alpha$  均可以与 PDGF-A、PDGF-B 进行结合, 但是 PDGF- $\beta$  只与 PDGF-B 产生结合能力。研究发现, PDGF-A、PDGF-B 在小细胞肺癌中表达水平很低, 但 PDGF-B 在非小细胞肺癌中的表达较高, 与本研究结果一致。另有研究发现, PDGF- $\beta$  在各种组织类型肺癌细胞中均无阳性表达, 仅在肺癌间质中有所表达, 但是 PDGF- $\alpha$  在非小细胞肺癌中阳性表达率较高, PDGF 受体可与 PDGF- $\alpha$  进行结合, 从而促进细胞增殖。本研究中 PDGF- $\alpha$  阳性表达高达 80%, 与该研究结果相似。

淋巴结微转移是 pN0 期 NSCLC 患者预后一个单独的预后因素, 与患者术后恢复程度密切相关。有学者<sup>[10]</sup>对 pN0 与 pN1~3 期淋巴结有无微转移病灶的预后比较研究, 发现有淋巴结微转移 pN0 期患者生存期明显低于无微转移者, 提示 NSCLC 早期的微转移检测对该疾病的预后判断具有重要意义。与本研究淋巴结微转移的患者 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  阳性表达率较高结果基本一致, 说明 PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  参与了 NSCLC 发生发展。

综上所述, PDGF-B、PDGFR- $\alpha$  参与 pN0 期非小细胞肺癌的发生与发展, 在癌组织中的阳性表达率较高, 对临床上 pN0 期非小细胞肺癌的诊断有着重要意义。

## 参考文献:

[1] Ji XJ, Yang XL, Zhou HR, et al. Expression of ubiquitin-specific protease 39 in non-small cell lung cancer and its effect on cell proliferation[J]. Chinese Journal of Modern Medicine, 2018, 28(30): 37-42. [吉晓剑, 杨秀林, 周厚荣, 等. 泛素特异性蛋白酶 39 在非小细胞肺癌中的表达及

其对细胞增殖的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(30): 37-42.]

- [2] Mao F, Xiao QG, Wang BF, et al. Progress of platelet-derived growth factor and its receptor in the development of glioma[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2017, 34(12): 2293-2295. [毛峰, 肖群根, 王宝峰, 等. 血小板衍生生长因子及其受体在胶质瘤发生发展中的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(12): 2293-2295.]
- [3] Zhou LX, Liang EY, Ye JY, et al. The role and mechanism of PDGF/PDGFR in primary thrombocytosis [J]. Chinese Journal of Experimental Hematology, 2016, 24(2): 526-530. [周丽霞, 梁恩瑜, 叶洁瑜, 等. PDGF/PDGFR 在原发性血小板增多症中的作用及机制[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 526-530.]
- [4] Shang YJ, Chen Y, Chen A. MRI combined with tumor markers in preoperative TNM staging diagnosis of rectal cancer patients[J]. Chinese Journal of CT and MRI, 2018, 16(10): 131-133. [商亚军, 陈英, 陈艾. MRI 联合肿瘤标志物对直肠癌患者术前 TNM 分期诊断的临床价值分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2018, 16(10): 131-133.]
- [5] Wang W, Dong ML, Zhang W, et al. Long noncoding LUCAT1 promotes cisplatin resistance of non-small cell lung cancer by promoting IGF-2 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(12): 5229-5234.
- [6] Wang Y, Lian YM, Ge CY. MiR-145 changes sensitivity of non-small cell lung cancer to gefitinib through targeting ADAM19 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(13): 5831-5839.
- [7] Li AR, Wang J, Wang H, et al. Effects of RNA interference with PDGF-B gene on apoptosis and proliferation of glioma U251 cells[J]. Chinese Journal of Neurosurgery Disease Research, 2018, 17(4): 293-297. [李安荣, 王静, 王辉, 等. RNA 干扰 PDGF-B 基因对胶质瘤 U251 细胞凋亡和增殖的影响[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2018, 17(4): 293-297.]
- [8] Gao XZ, Zuo SY, Diao CY, et al. Expression and clinical significance of LIM homeobox gene 2 transcription factor in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Chinese Journal of Digestion, 2018, 38(8): 554-556. [高献争, 左士宇, 刁长英, 等. LIM 同源框基因 2 转录因子在食管鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中华消化杂志, 2018, 38(8): 554-556.]
- [9] Chen R, Feng Y. Cefazidime and doxofylline on the levels of TNF- $\alpha$  and PDGF-B in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary emphysema[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2017, 34 (11): 1604-1607. [陈蓉, 冯钰. 头孢他啶联合多索茶碱治疗对慢性阻塞性肺气肿患者外周血 TNF- $\alpha$ 、PDGF-B 水平的影响[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(11): 1604-1607.]
- [10] Zhao YH, Chen DL, Chen YB. Advances in lymph node micrometastasis of non-small cell lung cancer [J]. Chinese Journal of Lung Cancer, 2018, 21(7): 547-552. [赵裕欢, 陈东来, 陈勇兵. 非小细胞肺癌淋巴结微转移的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2018, 21(7): 547-552.]