

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.02.013

PDGF-D 及其受体在胃癌组织中的表达及意义

丁苏宁,李莉华,华东,宋明旭,周希科,吴二斌,刘志辉

Expression and Significance of PDGF-D and Its Receptor in Gastric Carcinoma Tissues

DING Su-ning, LI Li-hua, HUA Dong, SONG Ming-xu, ZHOU Xi-ke, WU Er-bin, LIU Zhi-hui

*Oncology Institute of Wuxi, The Fourth Affiliated Hospital of Suzhou University, Wuxi 214062, China**Corresponding Author: LI Li-hua, E-mail: LLH WXS@yaho. com. cn*

Abstract: Objective To investigate the correlation between mRNA expression of PDGF-D and PDGFR β and clinicopathological features in gastric cancer. **Methods** The reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) technique was used to examine mRNA expression of PDGF-D and PDGFR β in 58 paired specimens of gastric carcinoma and tissues adjacent carcinoma. **Results** The positive rates of PDGF-D mRNA and PDGFR β mRNA(98.28%, 87.93%) were higher in gastric cancer tissues than(72.41%, 53.45%) in tissues adjacent carcinoma respectively. While the positive rate of PDGFR β mRNA was 72.41%, which was positively correlated with PDGF-D($r=0.40, P<0.05$). PDGF-D expression was correlated with lymph node metastasis and relapse ($P<0.05$). No correlation was found between PDGF-D and other clinicopathological features of gastric carcinoma ($P>0.05$). **Conclusion** PDGF-D may play a crucial role in carcinogenesis, development, metastasis and relapse of gastric cancer. It can be used as prognostic markers of gastric cancer in clinical practice.

Key words: Platelet-derived growth factor-D; Platelet-derived growth factor receptor β ; Gastric cancer; Reverse transcription-polymerase chain reaction

摘要:目的 探讨血小板衍生生长因子-D(PDGF-D)及其受体 PDGFR β mRNA 在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系。**方法** 用 RT-PCR 方法检测 58 例胃癌及相对应的癌旁标本中 PDGF-D 及 PDGFR β mRNA 的表达,分析其与临床病理特征的关系。**结果** PDGF-D 及 PDGFR β 在胃癌组织中的阳性表达率(98.28%, 72.41%)均高于癌旁组织(87.93%, 53.45%), P 均 <0.05 。PDGFR β 与 PDGF-D 的表达呈正相关($r=0.40, P<0.05$)。PDGF-D mRNA 的表达水平与胃癌的淋巴结及远处转移和复发有关($P<0.05$),与其他临床病理特征无关($P>0.05$)。**结论** PDGF-D 在胃癌的发生、发展和转移、复发中可能起着重要的作用,可作为预测胃癌转移和复发的有意义指标。

关键词: 血小板衍生生长因子-D; 血小板衍生生长因子受体 β ; 胃癌; 反转录聚合酶链反应

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2011)02-0167-03

0 引言

血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是一种肽类调节因子,有 A、B、C、D 四种亚型,其中的 A、B 两型发现较早,而 C、D 两型为新发现的亚型,它们均通过自分泌或者旁分泌作

用于细胞表面的 PDGF 受体(PDGFR- α 、 β),发挥促进细胞分裂、调节细胞周期等作用。本实验观察 PDGF-D 及其受体 PDGFR β mRNA 在胃癌组织中的表达,探讨其与胃癌临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

全部病例取自苏州大学附属第四医院 2003 年 1 月—2004 年 5 月手术切除的 58 例胃癌患者组织及其相应的癌旁组织标本。其中,男 42 例,女 16 例,年龄在 32~79 岁之间,中位年龄 58.5 岁。所有病例均经病理学证实为胃癌,术前均未接受放化疗。患者的临床资料完整。对 58 例患者进行随访,截止

收稿日期:2010-01-18;修回日期:2010-07-13

基金项目:无锡市科技局社会发展计划资助项目(CSZ00936)

作者单位:214062 江苏无锡,苏州大学附属第四医院肿瘤研究所

通信作者:李莉华, E-mail: LLHWXS@yaho. com. cn

作者简介:丁苏宁(1983-)女,硕士,主要从事肿瘤分子生物学研究

随访日期复发 13 例,失访 6 例,意外死亡 1 例。复发时间 5~69 月,中位复发时间 26 月。

1.2 RT-PCR

采用 Trizol(美国 Invitrogen 公司)法提取组织总 RNA,以 β -actin 为内参照。反转录按照 M-MLV 反转录试剂盒(美国 Bio Basic 公司)说明书操作。PDGF-D 及 PDGFR β 引物序列按参考文献^[1-2],即: PDGF-D 正向引物(5'-3') CCCAGGAAT-TACTCGGTCAA,反向引物(5'-3') ACAGCCA-CAATTCCTCCAC,101bp,53°C; PDGFR β 正向引物(5'-3') TTCCTGTCTCTCTGCTGCTAC-CTG,反向引物(5'-3') ATCATCAAAGGAGCG-GATCGAG,108bp,59°C。 β -actin 引物(5'-3') 正向: AGAAGATGACCCAGATCATGTT; 反向: CTTAATGTACACGACGATTTCC,293bp。PCR 反应总体积为 20 μ l,包含:上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ l,cDNA 模板 2.0 μ l,2 \times PCR Master Mix(美国 Fermentas 公司)10 μ l,用三蒸水补足为 20 μ l,置入 PCR 仪(美国 Eppendorf AG 22331 Hamburg)中,94°C 预变性 5min 后,94°C 40s,退火温度 30s,72°C 40s,30 个循环,72°C 后延伸 8min。取 PCR 反应产物 5 μ l,1.0%琼脂糖凝胶电泳,应用凝胶图像分析仪(上海天能 Tanon-2500)检测 DNA 条带和测定目的基因与内参基因 β -actin 的灰度比,进行半定量分析^[3]。

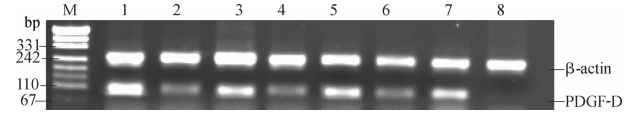
1.3 统计学方法

目的基因表达量用 mRNA 表达指数(RI)表示,RI = 目的基因扩增产物平均吸光度/ β -actin 扩增产物平均吸光度。根据目的基因在胃癌及相应癌旁组织中的阳性表达情况和 RI 值将标本分为两组:1、RI(+)组:目的基因在胃癌中阳性表达而相应癌旁组织不表达或 $RI_{胃癌}/RI_{相应癌旁} \geq 2$;2、RI(-)组:目的基因在胃癌中不表达或 $RI_{胃癌}/RI_{相应癌旁} < 2$ 。全部数据均采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计算均数和标准差,两组间的比较使用配对 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验,相关性检验使用 Spearman 相关分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDGF-D 及 PDGFR β mRNA 在胃癌组织、癌旁组织中的表达

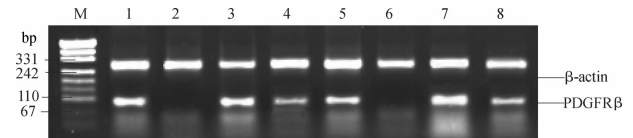
PDGF-D 与 PDGFR β 在胃癌组织中的阳性表达率均高于癌旁组织($P < 0.05$)。PDGF-D 在胃癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织($P < 0.05$),而 PDGFR β 在胃癌及癌旁组织中表达水平的差异无统计学意义($P > 0.05$)。PDGFR β 与 PDGF-D 的表达呈正相关($r = 0.40, P < 0.05$),见表 1、2,图 1、2。



M:marker;1,3,5,7:PDGF-D in gastric cancer;2,4,6,8: PDGF-D in gastric cancer and tissues adjacent carcinoma respectively

图 1 PDGF-D 在胃癌及癌旁组织中的表达

Figure 1 The expression of PDGF-D in gastric cancer and tissues adjacent carcinoma



M:marker;1,3,5,7:PDGFR β in gastric cancer;2,4,6,8: PDGFR β in tissues adjacent carcinoma respectively

图 2 PDGFR β 在胃癌及癌旁组织中的表达

Figure 2 The expression of PDGFR β in gastric cancer and tissues adjacent carcinoma

2.2 PDGF-D 在胃癌中的阳性表达与临床病理参数的关系

PDGF-D mRNA 在 N2~3 期胃癌组织中的阳性表达率高于 N0~1 期, $P = 0.022$,复发组的阳性表达率高于未复发组, $P = 0.046$ 。提示 PDGF-D mRNA 与胃癌的淋巴结转移和复发有关,但 PDGF-D mRNA 的阳性表达与性别、年龄、肿瘤大小、浸润深度、有无脉管内癌栓及肿瘤分化程度无关($P > 0.05$),见表 3。

表 2 PDGF-D 与 PDGFR β 表达的相关性

Table 2 The correlation between PDGF-D and PDGFR β

	PDGF-D		R	P
	RI(+)	RI(-)		
PDGFR β	RI(+)	10	0.400	0.002
	RI(-)	10		

Note:the positive rate of PDGFR β mRNA was 72.41%, which was positive correlated with PDGF-D($R = 0.40, P < 0.05$).

表 1 PDGF-D 与 PDGFR β 在胃癌和癌旁组织的表达情况

Table 1 Expression of PDGF-D and PDGFR β in gastric cancer and tissues adjacent carcinoma

Genes	Positive expression		P	RI($\bar{x} \pm s$)		P
	Gastric cancer	Tissues adjacent carcinoma		Gastric cancer	Tissues adjacent carcinoma	
PDGF-D	57(98.28%)	51(87.93%)	0.028	0.703 \pm 0.336	0.465 \pm 0.208	0.020
PDGFR β	42(72.41%)	31(53.45%)	0.034	0.638 \pm 0.391	0.580 \pm 0.226	0.587

表 3 PDGF-D 与临床病理参数的关系
Table 3 Relation between expression of PDGF-D and clinicopathological features

Clinicopathological	PDGF-D(case)		P
	RI(+)(20)	RI(-)(38)	
Gender			
Male	14	28	
Female	6	10	0.765
Age(years)			
≤55	5	10	
>55	15	28	0.913
Tumor size			
≤5cm	8	21	
>5cm	12	17	0.269
T stage			
T1~2	11	26	
T3~4	9	12	0.312
Lymphatic metastasis			
N0	5	11	
N1	9	25	0.022
N2~3	6	2	
Cancer embolus in vein			
No	16	32	
Yes	4	6	0.687
Differentiation			
High,middle	12	25	
Low,un-differentiation	8	13	0.550
Relapse			
No	12	33	
Yes	8	5	0.046

3 讨论

PDGF-D 是 PDGF 家族成员之一,为原癌基因 C-sis 的表达产物,起着促进增殖、增强侵袭力和促血管生成的作用。PDGF 家族成员的生物学功能由 PDGFR 介导。PDGFR 由同源或异源二聚体的 α 、 β 两条链构成。PDGF 家族成员各自与对应受体结合,其中 PDGF-D 只特异性地结合 PDGFR β 而发挥作用^[4]。已有报道 PDGF 家族在一些肿瘤^[5-7]中表达,但 PDGF-D 发现较晚,在肿瘤中的研究较少。

本研究中 PDGF-D 在胃癌组织中的阳性表达率及表达量均明显高于癌旁组织,PDGFR β 在胃癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织,PDGFR β 与 PDGF-D 之间的表达具有相关性,提示 PDGF-D 与其受体 PDGFR β 结合后,可能通过促进有丝分裂等作用使胃黏膜上皮细胞的增殖程度逐渐增加,进而促使胃黏膜从慢性浅表性胃炎至萎缩性胃炎、肠化生、异型增生和胃癌的演变,在胃癌的发生发展中起到至关重要的作用。Kong 等^[8]证实 PDGF-D 可

提高前列腺癌细胞的运动和侵袭能力,与肿瘤的生长及转移有密切的关系。Wang 等^[9]用 siRNA 下调胰腺癌 PDGF-D 的表达,使 Notch-1 和 Nuclear Factor- κ B 信号通路失活而抑制细胞生长和血管生成,降低肿瘤细胞的侵袭力;上调 PDGF-D 的表达则促进肿瘤血管生成和增强肿瘤细胞的侵袭力。本研究中 PDGF-D 表达水平在 N2~3 期胃癌中显著高于 N0~1 期,复发组 PDGF-D 的表达明显高于无复发组,提示 PDGF-D 与胃癌的淋巴结转移和复发有关,可能与其提高肿瘤细胞的侵袭力和促进肿瘤血管生成有关。

本研究中 PDGF-D 在胃癌组织中的高表达,及其与胃癌淋巴结转移和复发的关系,均提示 PDGF-D 在胃癌的发生、发展和转移、复发中可能起着重要的作用。检测 PDGF-D 的表达可作为预测胃癌转移和复发的有意义指标。

参考文献:

- [1] Pohlers D, Huber R, Ukena B, et al. Expression of platelet-derived growth factors C and D in the synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis [J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(3): 788-794.
- [2] Hashimoto A, Tarner IH, Bohle RM, et al. Analysis of Vascular Gene Expression in Arthritic Synovium by Laser-Mediated Microdissection[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4): 1094-1105.
- [3] Willey JC, Crawford EL, Jackson CM, et al. Expression measurement of many genes simultaneously by quantitative RT-PCR using standardized mixtures of competitive templates[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998, 19(1): 6-17.
- [4] Li M, Jendrossek V, Belka C. The role of PDGF in radiation oncology[J]. Radiat Oncol, 2007, 2: 5.
- [5] Erlandsson A, Brännvall K, Gustafsdottir S, et al. Autocrine/Paracrine Platelet-Derived Growth Factor Regulates Proliferation of Neural Progenitor Cells[J]. Cancer Res, 2006, 66(16): 8042-8048.
- [6] Xu L, Tong R, Cochran DM, et al. Blocking platelet-derived growth factor-D/platelet-derived growth factor receptor beta signaling inhibits human renal cell carcinoma progression in an orthotopic mouse model [J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5711-5719.
- [7] Fischer AN, Fuchs E, Mikula M, et al. PDGF essentially links TGF-beta signaling to nuclear β -catenin accumulation in hepatocellular carcinoma progression [J]. Oncogene, 2007, 26(23): 3395-3405.
- [8] Kong D, Wang Z, Sarkar SH, et al. Platelet-derived growth factor-D overexpression contributes to epithelial-mesenchymal transition of PC3 prostate cancer cells[J]. Stem Cells, 2008, 26(6): 1425-1435.
- [9] Wang Z, Kong D, Banerjee S, et al. Down-regulation of platelet-derived growth factor-D inhibits cell growth and angiogenesis through inactivation of Notch-1 and nuclear factor-kappaB signaling[J]. Cancer Res, 2007, 67(23): 11377-11385.

[编辑校对:刘红武]