论著

文章编号:1000-5404(2006)19-1986-03

HMGA2在子宫肌瘤及临近正常肌组织中的表达和意义

丁勇利,熊正爱,胡丽娜 (重庆医科大学附属第二医院妇产科,重庆 400010)

提 要:目的 探讨高迁移率蛋白A2(high mobility group A2, HMGA2)在子宫平滑肌瘤发生发展中的作用。**方法** 应用原位杂交方法检测子宫平滑肌瘤和临近肌组织中HMGA2 mRNA的表达。**结果** HMGA2 mRNA在子宫平滑肌瘤中强表达,与月经周期无关,而在肿瘤临近正常肌组织中无表达。**结论** HMGA2的高表达在子宫平滑肌瘤的发生中发挥了重要的作用。

关键词: HMGA2; 子宫平滑肌瘤; ISH

中图法分类号: R394.3; R730.23; R737.33 **文献标识码**: A

Expression and significance of high mobility group A2 in uterine leiomyomas and neighbour normal myometrium

DING Yong-li, XIONG Zheng-ai, HU Li-na (Department of Obstetrics and Gynecology, The Second Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China)

Abstract: **Objective** To study the role of HMGA2 in the occurrence and the progression of uterine leiomyomas. **Methods** Fifty cases of uterine leiomyomas who met the inclusion criteria (aged 30 - 50 years old, free from hormone at least for 6 months before surgery, no other diseases, postoperative pathological diagnosis as uterine leiomyoma) admitted to our hospital from January to July 2003 were studied. The expression of HMGA2 mRNA in uterine leiomyomas and neighbour normal myometrium was detected by ISH. **Results** HMGA2 mRNA was strongly expressed in 30 cases of uterine leiomyomas but not expressed in neighbour normal myometrium. There was no difference in HMGA2 mRNA between proliferative stage and progestational stage. **Conclusion** The increased expression of HMGA2 in uterine leiomyomas may be important in the occurrence and the progression of uterine leiomyomas.

Key words: HMGA2; uterine leiomyomas; ISH

子宫平滑肌瘤是女性生殖道最常见的良性肿瘤,30岁后女性患病率可高达77%[1],虽为良性,但由于常合并严重的临床症状而需要治疗。其发病机制尚不完全清楚。本研究拟通过检测高迁移率蛋白A2(high mobility group A2, HMGA2)在子宫平滑肌瘤及临近正常肌组织中的表达,探讨HMGA2在子宫平滑肌瘤发生发展中的作用,为子宫平滑肌瘤的治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2003年1-7月在重庆医科大学附属第二医院妇产科行全子宫切除的子宫平滑肌瘤患者共50例,纳入标准:年龄30~50岁,术前6个月未服用激素类药物,无合并其他疾病,术后病理诊断为子宫平滑肌瘤,其中增生期27例,分泌期23例。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 术后立即取子宫平滑肌瘤组织及临近正常肌组织各1块,约1 cm×1 cm×0.3 cm,经4%多聚甲醛(0.1% DEPC)固定4 h,石蜡包埋,连续切片备用。

1.2.2 原位杂交方法 HMGA2探针:针对人HMGA2靶基因的mRNA序列为:5′-CAGCCGTCCACTTTAGCCCAGGGACAACCT-3′; 5′-TCCCTCTAAAGCAGCTCAAA AGAAAGCAGA-3′; 5′-TGGCCACAACAAGTTGTTCAGAAGAAGCCT-3′

实验步骤:按试剂盒说明操作,依次经二甲苯脱蜡;梯度乙醇逐级入水;3%甲醇双氧水阻断内源性过氧化物酶;暴露mRNA核酸片段;后固定;预杂交;杂交:恒温箱40 ℃孵育过夜;杂交后洗涤;滴加封闭液;滴加生物素化鼠抗地高辛;滴加SABC;滴加生物素化过氧化物酶;滴加DAB显色溶液,显微镜下控制显色时间3~8 min;常规复染,透明,封片。

1.2.3 结果判定及计数 阳性染色为棕黄色颗粒,定位于细胞质中。低倍镜下观察阳性细胞的分布情况,每例切片选取

作者简介:丁勇利(1975-),男,四川省乐山市人,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤方面研究,现在广东省妇幼保健院产科。电话:13539825653, E-mail: ddyongli@yahoo.com.cn.

通讯作者:熊正爱,电话:(023)63784244

收稿日期:2005-08-30;修回日期:2006-02-03

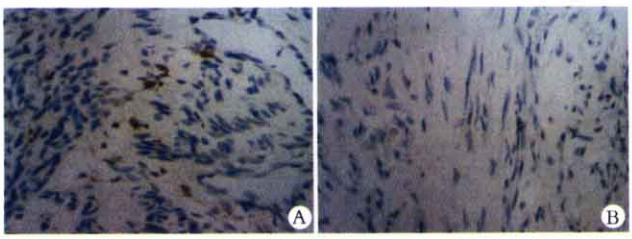
10 个视野，然后在高倍镜下用测微板计数每个视野中 100 个网格内的阳性细胞数目（高倍镜下每个网格的面积为 0.002 5 mm^2，100 个网格的面积为 0.002 5 × 100 = 0.25 mm^2），取其平均数，除以 0.25，即为每例 mm^2 组织切片中的阳性细胞数目（个/mm^2）。

1.3　统计学处理

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验。

2　结果

50 例子宫肌瘤标本中阳性表达 HMGA2 mRNA 30 例（60%），其中增生期 17 例（63%），分泌期 13 例（57%），而在临近正常平滑肌细胞中无表达（图 1），两者间差异有显著性（$P<0.05$）。HMGA2 mRNA 阳性细胞数的表达在子宫肌瘤增生期为（40.8 ± 10.46）个/mm^2，分泌期为（47.2 ± 10.80）个/mm^2，二者间无显著性差异（$P>0.05$）。



A：子宫肌瘤；B：正常肌组织

图 1　HMGA2 的表达　（SABC × 400）

3　讨论

子宫平滑肌瘤是源于子宫平滑肌细胞的克隆源性肿瘤，在同一子宫不同平滑肌瘤中存在不同的基因亚型，因而子宫平滑肌瘤的发病可能是子宫平滑肌细胞在多种环境因素作用下，由染色体重排引起某个或某些等位基因突变而诱发的。在众多病理基因中，HMG 的作用颇受重视。

HMG 是一组广泛分布于高等生物细胞核中的非组蛋白质，在细胞核内参与染色质和染色体的形成，作为构筑转录因子调节体内众多基因的表达，进而影响细胞生长、增生、分化、死亡在内的多种正常生理过程[2]。HMGA 基因作为原癌基因，在细胞内过表达时促进肿瘤的生长和转移，在许多恶性肿瘤中，HMGA 蛋白浓度的升高与恶性肿瘤的恶性程度升高一致[3]。HMGA 分子内含有 3 个短的 DNA 结合结构域，因能与 DNA 分子小沟内的 A-T 丰富区优先结合，又被称为 AT-hook，在形成高度立体结构特异的转录因子复合体中具有构筑因子的作用[4]。HMGA 包括 HMGA1 和 HMGA2，HMGA2 是 20 世纪 80 年代末新发现的成员，由于其编码基因位于许多肿瘤细胞染色体断裂点的簇集区，它的异常表达与肿瘤有关。研究表明：在胚胎发育早期，除脑组织外，几乎所有组织都表达 HMGA2，这对胚胎细胞的生长是必需的。而在成人组织中几乎测不到其转录产物。动物实验表明，如果小鼠缺乏 HMGA2 基因，就会导致生长发育迟滞，身材矮小，表现为 pygmy 症。许多研究表明：HMGA2 的异常表达存在于源自脂肪、甲状腺、子宫、肺等组织的许多良恶性肿瘤，提示它在肿瘤细胞转化中起重要作用[5]。Berner 等[6]分析了 12 种恶性肿瘤，发现 13 种存在 HMGA2 基因的扩增，其中 8 例是脂肪肉瘤。这些肿瘤样本或者存在 HMGA2 基因 3′端的缺失，或者存在异常的限制性酶切片段。这些研究均提示 HMGA2 的生物学行为极似癌基因，其蛋白的异常表达与肿瘤的发生密切相关。

在 HMGA2 与子宫肌瘤关系的研究中，Klotzbucher 等[7]利用 Western 分析显示：33 例子宫肌瘤中有 16 例表达高水平 HMGA2 或 HMGA1 蛋白，而在相应的子宫肌组织却没有测到；利用免疫组化分析证实 HMGA2 表达限制在子宫肌瘤平滑肌细胞，而在血管平滑肌细胞和邻近的平滑肌组织中无表达；随后的 Northern blotting 分析确定了以上结果。因此认为 HMGA 蛋白表达的增强对子宫肌瘤的发生是重要的。Tallini 等[8]结合 FISH 和免疫组化方法检测了 26 例子宫肌瘤，发现 17 例阳性表达 HMGA2 或 HMGA1；在 11 例具有 12q15 异常和/或 HMGA2 基因重组的标本中有 10 例阳性表达 HMGA2；4 例具有 6p21 异常和 HMGA1 基因重组的标本全部阳性表达 HMGA1，从而认为分别定位于 12q15、6p21 的 HMGA2 和 HMGA1 基因在子宫肌瘤中过度表达且频繁重排，可使肌瘤细胞染色体发生重新排列，促进了子宫肌瘤的发生和发展。由此可见，HMGA 蛋白异常表达与子宫肌瘤的发生密切相关。本研究观察了 HMGA2 mRNA 在子宫肌瘤和邻近正常肌组织的表达情况，结果显示，HMGA2 mRNA 在子宫肌瘤组织中高表达，而在邻近正常肌组织中不表达，这与以上研究结果一致，提示 HMGA2 基因在正常组织中处于相对静止的无功能状态，不参与正常细胞生长调节；而当受到局部某种因素刺激时，HMGA2 基因就可能被激活，从而引起 HMGA2 蛋白的高表达，进而特异性的刺激子宫肌瘤细胞的分裂增生。HMGA2 的表达与患者月经周期无关，提示 HMGA2 作用的发挥与体内激素水平没有直接联系。本研究还表明许多 HMGA mRNA 阳性细胞是双核细胞，说明 HMGA1 和 HMGA2 的表达增加可能主要是加速分裂期平滑肌细胞的细胞周期进程，从而引起平滑肌细胞的不断增殖，导致肌瘤的不断生长。

参考文献：

[1] SCHWARTZ S M. Epidemiology of uterine leiomyomata[J]. Clin Ob-

stet Gynecol, 2001, 44(2): 316-326.
[2] REEVES R. Molecular biology of HMGA proteins: hubs of nuclear function[J]. Gene, 2001, 277(1-2): 63-81.
[3] PIERANTONI G M, FEDELE M, PENTIMALLI F, *et al*. High mobility group I(Y) proteins bind HIPK2, a serine-threonine kinase protein which inhibits cell growth[J]. Oncogene, 2001, 20(43): 6132-6141.
[4] PIEKIELKO A, DRUNG A, ROGALLA P, *et al*. Distinct organization of DNA complexes of various HMGI/Y family proteins and their modulation upon mitotic phosphorylation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(3): 1984-1992.
[5] WISNIEWSKI J R, SCHWANBECK R. High mobility group I/Y: multifunctional chromosomal proteins causally involved in tumor progression and malignant transformation (review)[J]. Int J Mol Med, 2000, 6(4): 409-419.
[6] BERNER J M, MEZA-ZEPEDA L A, KOOLS P F, *et al*. HMGIC, the gene for an architectural transcription factor, is amplified and rearranged in a subset of human sarcomas[J]. Oncogene, 1997, 14(24): 2935-2941.
[7] KLOTZBUCHER M, WASSERFALL A, FUHRMANN U. Misexpression of wild-type and truncated isoforms of the high-mobility group I proteins HMGI-C and HMGI(y) in uterine leiomyomas[J]. Am J Pathol, 1999, 155(5): 1535-1542.
[8] TALLINI G, VANNI R, MANFIOLETTI G, *et al*. HMGI-C and HMGI(Y) immunoreactivity correlates with cytogenetic abnormalities in lipomas, pulmonary chondroid hamartomas, endometrial polyps, and uterine leiomyomas and is compatible with rearrangement of the HMGI-C and HMGI(Y) genes[J]. Lab Invest, 2000, 80(3): 359-369.

(编辑 栾 嘉)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2006)19-1988-01

血清HBV-DNA快速适时荧光定量分析的临床应用评价

吴丽娟[1],陈 伟[1],蔡 晋[2],李碧清[1],杨 沛[1],夏 季[1]
(1第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042;2解放军第94923部队卫生所,武夷山 354301)

回顾性调查了我院检验科2001年3月至2005年5月血清HBV-DNA RT-FQ-PCR分析报告,旨在明确RT-FQ-PCR定量分析血清样品中的HBV-DNA在临床乙型病毒性肝炎诊疗中的应用价值,重点讨论血清HBV-DNA含量与HBV-SM的相关性,以及HBV-DNA含量与肝功能之间的关系,揭示HBV-DNA含量与临床乙型病毒性肝炎病变程度之间的内在规律,帮助医务人员特别是临床医生正确认识血清HBV-DNA RT-FQ-PCR分析报告,提高实验诊断信息的利用效率。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2001年3月1日至2005年5月25日本院门诊、住院患者及健康体检者2 672人,年龄11~67岁,男性1 781例、女性891例。抽取所有对象静脉血送检验科免疫学检验室,基因诊断室、生化检验室独立检测。

1.2 方法

1.2.1 HBV-DNA分析 采用RT-FQ-PCR,试剂盒由中国深圳匹基生物工程股份有限公司提供,扩增仪为美国BIO-RAD公司生产的Icycler Real-time PCR扩增仪,检测方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.2 HBV-SM检测 采用ELISA法,试剂盒由中国兰州标佳生物技术有限公司提供,仪器为意大利AMP全自动酶免分析仪,检测方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 肝功能检查 全部试剂采用美国Beckman公司原装配套试剂,以Beckman公司CX7全自动生化分析仪进行测定。

1.3 分组

按照临床乙肝"两对半"常见检测结果出现方式,将HBV-SM检测结果分为如下模式。Ⅰ:HBsAg(+)/HBeAg(+)/HBcAb(+),即俗称"大三阳";Ⅱ:HBsAg(+)/HBeAb(+)/HBcAb(+),即俗称"小三阳";Ⅲ:HBsAg(+)/HBeAb(+);Ⅳ:HBsAg(+);Ⅴ:HBsAb(+)/HBeAb(+)/HBcAb(+),即俗称"三抗阳性";Ⅵ:HBsAb(+)/HBeAb(+);Ⅶ:HBsAb(+)/HBeAb(+);Ⅷ:HBeAb(+)/HBcAb(+);Ⅸ:HBeAb(+);Ⅹ:HBcAb(+);Ⅺ:HBsAb(+);Ⅻ:HBV-SM(-),即全部"两对半"指标阴性。HBV-DNA定量结果以荧光定量分析系统检出限为界线,HBV-DNA $<1\times10^2$拷贝/ml为阴性,HBV-DNA $\geq1\times10^2$拷贝/ml为阳性,阳性结果按照反映传染性强弱的HBV-DNA浓度进一步分为如下几组,A组:HBV-DNA $\leq1\times10^4$拷贝/ml;B组:1×10^4拷贝/ml $<$ HBV-DNA $\leq1\times10^6$拷贝/ml;C组:1×10^6拷贝/ml $<$ HBV-DNA $\leq1\times10^8$拷贝/ml;D组:HBV-DNA $>1\times10^8$拷贝/ml。

1.4 统计学处理

采用Microsoft Excel 2000进行统计运算,组间差异使用t检验。

2 结果

4年期间临床送验HBV-DNA定量分析的血液样品7 208

(下转1991页)

作者简介:吴丽娟(1965-),女,四川省成都市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事临床基因诊断与临床免疫学诊断方面的研究,发表论文40余篇。电话:(023)68757272,E-mail:wul638@mail.dpb.tsi.com

收稿日期:2005-08-24;修回日期:2006-05-08