论著

文章编号:1000-5404(2007)10-0976-03

子宫内膜异位症患者腹腔液中血管内皮生长因子及其可溶性受体的测定

史淑红[1],李佃贵[2],马秀菊[1] ([1]河北医科大学第二医院妇产科,石家庄 050000;[2]河北省中医院内科,石家庄 050011)

提 要:目的 探讨子宫内膜异位症患者血管内皮生长因子可溶性受体1(soluble receptor 1 of vascular endothelial growth factor, s-VEGFR-1/soluble fms-like tyrosine kinase, SFlt-1)调节血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)活动的机制。**方法** 采用酶联免疫吸附法(ELISA),对28例子宫内膜异位症患者的腹腔液中游离的VEGF及s-VEGFR-1进行测定并计算活性指数(VEGF/s-VEGFR-1)。以10例正常生育期妇女为对照。**结果** ①子宫内膜异位症组VEGF水平明显高于对照组($P<0.01$)。Ⅲ~Ⅳ期高于Ⅰ~Ⅱ期($P<0.05$)。②子宫内膜异位症组s-VEGFR-1水平也明显高于对照组($P<0.01$)。Ⅰ~Ⅱ期与Ⅲ~Ⅳ期之间无显著差异($P>0.05$)。③对照组、Ⅰ~Ⅱ期和Ⅲ~Ⅳ期VEGF活性指数分别为0.310、0.276和0.273。④子宫内膜异位症组增生期VEGF及s-VEGFR-1水平均明显高于分泌期($P<0.01$)。⑤子宫内膜异位症组增生期VEGF活性指数低于分泌期。**结论** VEGF在子宫内膜异位症的血管发生中有重要作用,但采用VEGF活性指数能更好地了解VEGF在病理学方面的作用。s-VEGFR-1对VEGF有下调作用。

关键词: 子宫内膜异位症;血管内皮生长因子;血管内皮生长因子可溶性受体

中图法分类号: R392.11; R446.19; R711.71 **文献标识码:** A

Free vascular endothelial growth factor and its soluble receptor in peritoneal fluid from endometriosis patients

SHI Shu-hong[1], LI Dian-gui[2], MA Xiu-ju[1] ([1]Department of Obstetrics and Gynecology, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, [2]Department of Internal Medicine, Traditional Chinese Medicine Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: Objective To better understand the regulation of the soluble receptor of vascular endothelial growth factor (VEGF), s-VEGFR-1 (or soluble fms-like tyrosine kinase, SFlt-1), in angiogenetic process in endometriosis. **Methods** Levels of free VEGF and s-VEGFR-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in peritoneal fluid from 28 subjects with surgically confirmed endometriosis, and 10 controls with no clinical evidence of the disease and other diseases. Meanwhile, we calculated a VEGF activity index by means of the ratio VEGF/s-VEGFR-1. **Results** We found higher VEGF concentration in endometriotic lesions than controls ($P<0.01$) and VEGF concentration in stage Ⅲ-Ⅳ was higher than in stage Ⅰ-Ⅱ ($P<0.05$). S-VEGFR-1 concentration followed a similar pattern with VEGF ($P<0.01$), but no statistically significant difference was found between stage Ⅲ-Ⅳ and stage Ⅰ-Ⅱ ($P>0.05$). VEGF activity index in controls, stage Ⅰ-Ⅱ and stages Ⅲ-Ⅳ of endometriosis was 0.310, 0.276 and 0.273, respectively. VEGF and s-VEGFR-1 concentration were also higher in proliferative phase than in secretory phase in endometriotic lesions ($P<0.01$). VEGF activity index in proliferative phase was lower than in secretory phase of endometriosis. **Conclusion** VEGF certainly plays an important role in endometriosis and its progression. However, the activity index may be better to investigate the real role of VEGF in the pathology. s-VEGFR-1 can down-regulate VEGF activity.

Key words: endometriosis; vascular endothelial growth factor; soluble form of VEGFR-1 (s-VEGFR-1/sFlt-1)

作者简介: 史淑红(1965-),女,河北省涞水县人,博士研究生,副主任医师,主要从事妇科病临床诊治方面的研究。电话:(0311)84222716,E-mail:sshh3095@126.com.cn

通讯作者: 李佃贵,电话:(0311)85990122

收稿日期: 2006-08-30;**修回日期:** 2006-10-23

大量研究表明血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）对子宫内膜异位症的发生、发展有重要作用。近年来，在肿瘤及产科方面对血管内皮生长因子受体 1（receptor 1 of vascular endothelial growth factor，VEGFR-1/fms-like tyrosine kinase，Flt-1）研究较多。这种受体与 VEGF-A 有高度亲和力。有关抗 VEGF-VEGFR 作为恶性肿瘤治疗手段的研究越来越多。已经发现妊娠高血压疾病子痫前期、胎儿生长受限的孕妇胎盘滋养层 VEGFR-1 表达升高[1]。可溶性受体 s-VEGFR-1（sFlt-1）已经引起关注，但它在血管生成中的作用还不十分清楚，对子宫内膜异位症方面的研究则更少。Artini 等[2]采用 VEGF 活性指数对卵巢囊肿、巧克力囊肿及卵巢癌等进行了评价，从而对 s-VEGFR-1 及其在血管发生中的作用有了新的认识。本研究测定了子宫内膜异位症患者腹腔液中游离 VEGF 和 s-VEGFR-1 的水平，旨在进一步探讨子宫内膜异位症血管发生的机制，为临床治疗子宫内膜异位症提供新思路。

1　资料与方法

1.1　临床资料

子宫内膜异位症组：收集我院 28 例经腹腔镜或开腹手术确诊为子宫内膜异位症的患者，年龄（35.2 ± 1.7）岁，按美国生育协会（AFS）修正标准分期。Ⅰ、Ⅱ期 13 例，其中增殖期 6 例，分泌期 7 例；Ⅲ、Ⅳ期 15 例，其中增殖期 7 例，分泌期 8 例。异位部位：后穹窿者 8 例，子宫骶骨韧带 4 例，主韧带 2 例，一侧附件包块 8 例，双侧附件囊性包块 6 例。对照组：10 例同期因输卵管结扎或吻合行开腹手术或腹腔镜盆腔检查正常的生育期妇女，其中开腹行输卵管结扎 1 例，要求行输卵管吻合 4 例，腹腔镜检查盆腔正常的 5 例。年龄（37 ± 1.6）岁。增殖期、分泌期各 5 例。两组患者月经规律，无内科并发症，术前 3 个月内未使用激素类药物，具有可比性。

1.2　方法

标本收集：经腹腔镜或直视下在子宫直肠陷凹或子宫膀胱陷凹取腹腔液 2 ml，以 3 000 r/min 离心 10 min，取上清液，分 2 个试管贮存于 -20 ℃冰箱中待测。

测定方法：采用酶联免疫吸附法（ELISA）测定腹腔液中游离 VEGF 和 s-VEGFR-1。采用的 VEGF 定量检测试剂盒为 Quantikine human VEGF kit（R&D Systems，Minneapolis，MN，USA）。批内变异系数和批间变异系数分别为 0.045 ~ 0.067 和 0.062 ~ 0.088。检测步骤均参照该试剂盒测试步骤进行。最终反应板在 Bio-Rad 2250 酶标检测仪于 450 nm 处读取 D（450）值。所测值按照标准曲线换算成 VEGF 实验含量；测定 s-VEGFR-1 的试剂盒购自德国 Relia Tech 公司。具体操作按说明进行。

1.3　统计学处理

VEGF 和 s-VEGFR-1 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，二者的比值为 VEGF 活性指数。采用 STATA 8.0 统计软件行 t 检验。

2　结果

2.1　子宫内膜异位症不同临床分期中各指标的表达水平

Ⅰ ~ Ⅱ期、Ⅲ ~ Ⅳ期的 VEGF 和 s-VEGFR-1 水平均明显高于对照组（$P < 0.01$），Ⅲ ~ Ⅳ期 VEGF 水平高于 Ⅰ ~ Ⅱ期（$P < 0.05$），s-VEGFR-1 水平在 Ⅰ ~ Ⅱ期与Ⅲ ~ Ⅳ期之间无显著性差异（$P > 0.05$）；子宫内膜异位症患者呈现略低的 VEGF 活性指数见表 1。

2.2　月经周期与各指标的关系

子宫内膜异位症增生期 VEGF 和 s-VEGFR-1 水平均明显高于分泌期（$P < 0.01$），对照组增生期 VEGF 水平高于分泌期（$P < 0.05$），但对照组 s-VEGFR-1 水平在增生期与分泌期之间无显著性差异（$P > 0.05$）；子宫内膜异位症增生期 VEGF 活性指数明显低于分泌期。见表 1。

表 1　腹腔液中游离 VEGF、s-VEGFR-1 和 VEGF 活性指数的表达水平

组别	n	年龄（岁）	VEGF（pg / ml）	sVEGFR-1（pg / ml）	VEGF 活性指数
对照组	10	37.0 ± 1.6	211.5 ± 16.2	681.3 ± 342.1	0.310
增生期	5	36.0 ± 1.8	231.4 ± 8.9[a]	530.4 ± 141.0	0.436
分泌期	5	38.0 ± 2.8	219.6 ± 6.5	493.0 ± 201.1	0.445
子宫内膜异位症					
Ⅰ ~ Ⅱ期	13	35.0 ± 1.4	1 051.5 ± 180.1[a]	3 810 ± 2 089[a]	0.276
Ⅲ ~ Ⅳ期	15	36.0 ± 1.6	1 204.5 ± 184.2[ab]	4 410 ± 2 393[a]	0.273
增生期	13	35.0 ± 1.6	1 437.8 ± 183.2[c]	7 520 ± 1 401[c]	0.191
分泌期	15	36.0 ± 2.1	829.3 ± 179.2	700.0 ± 261.0	1.185

a：$P < 0.01$，与对照组比较；b：$P < 0.05$，与子宫内膜异位症组Ⅰ ~ Ⅱ期比较；c：$P < 0.01$，与子宫内膜异位症组分泌期比较；d：$P < 0.05$，与对照组分泌期比较

3　讨论

在子宫内膜异位症病灶形成过程中，黏附-侵袭-血管形成是多数学者认定的病理生理过程，称为“3A 程序”（attachment-aggrassion-angiogenesis）。黏附是异位内膜入侵盆腔腹膜或其他脏器表面的第一步，继而突破细胞外基质，血管形成是其种植后生长的必要条件。

血管内皮生长因子又称血管通透因子（vascular

permeability factor, VPF)或血管调理素(vasculotropin),是1989年Ferrara等在牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来的糖类蛋白质,是一高度特异的血管内皮细胞有丝分裂素,具有促进内皮细胞增殖、促进血管再生、增加血管通透性以及血管维持功能[3]。目前发现VEGF蛋白的受体有3种,VEGFR-1(Flt-1)、VEGFR-2(KDR/Flk-1)和VEGFR-3(Flt-4),均是酪氨酸激酶受体。近年来研究主要集中在VEGFR-1和VEGFR-2,二者主要表达于血管内皮细胞,由含7个免疫球蛋白样结构的细胞外区、膜区及酪氨酸激酶区组成,均是跨膜受体。二者有着不同的信号传导途径及功能[4]。另外还有一种溶解形式的VEGFR-1(s-VEGFR-1/sFlt-1),它缺乏第7个免疫球蛋白样结构、膜区及细胞内区,与VEGF同样有高度亲和力,可抑制VEGF的促有丝分裂作用。有研究表明,子痫前期孕妇血液循环中的s-VEGFR-1升高而游离VEGF水平下降,可导致内皮细胞功能障碍[5]。Hornig等[6]研究认为,作为内皮细胞的有丝分裂源VEGF,通过与两个具有高度亲和性的酪氨酸激酶受体VEGFR-1和VEGFR-2结合可促进血管发生,而在此之前,由于VEGFR-1 mRNA的差异剪接可以产生s-VEGFR-1,这种受体是VEGF的拮抗剂,可以减少游离的、具有活性的VEGF水平,认为对血管性疾病如妊娠高血压疾病子痫前期、胎儿生长受限的发生发展有重要作用,可以下调配体与跨膜受体的结合从而干扰其信号传导。

抗肿瘤血管再生基因治疗是又一研究热点。Bae等[7]动物实验表明,一种选择性的己肽物质可以通过与VEGFR-1特异结合,防止VEGFR-1与VEGF结合,从而有效地阻止肿瘤生长和转移。

本研究结果显示,子宫内膜异位症患者腹腔液中游离的VEGF及s-VEGFR-1水平明显升高,而且月经增生期明显高于分泌期,提示VEGF及s-VEGFR-1受卵巢激素调节,在卵巢激素作用下VEGF及其受体在异位组织的血管内皮细胞,以自分泌的方式调节血管生成和血管通透性,有利于异位内膜增生分化,并为异位内膜的种植与浸润提供有利条件。本研究同时表明,子宫内膜异位症s-VEGFR-1水平与VEGF的升高相平行,表明s-VEGFR-1对VEGF介导的血管发生过程有调节作用。结合文献[2]报道,通过计算VEGF活性指数即VEGF与s-VEGFR-1的比值以进一步了解s-VEGFR-1在子宫内膜异位症病理学方面的作用,与对照组比较,发现子宫内膜异位症s-VEGFR-1明显升高,活性指数并未升高,认为s-VEGFR-1存在着下调VEGF作用,它可竞争性地结合腹腔液中的VEGF,消耗病灶细胞产生的VEGF,阻断VEGF功能受体的信号转导,从而抑制VEGF诱导的生物学功能。但由于患者例数较少,各组间活性指数相差细微,Ⅰ~Ⅱ期与Ⅲ~Ⅳ期之间s-VEGFR-1水平也未发现有差别,有待于大样本进一步研究。总之,s-VEGFR-1对子宫内膜异位症VEGF的调节作用以及VEGFR-2的表达情况等研究,将为临床抗血管再生治疗子宫内膜异位症提供依据。控制血管的生长,将成为防治子宫内膜异位症的一个重要途径。

参考文献:

[1] Helske S, Vuorela P, Carpen O, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies[J]. Mol Hum Reprod, 2001, 7(2): 205-210.

[2] Artini P G, Cristello F, Monti M, *et al*. Vascular endothelial growth factor and its soluble receptor in ovarian pathology[J]. Gynecol Endocrinol, 2005, 21(1): 50-56.

[3] 余峰彬,杨映弘,龚明生,等. 肿瘤血管再生机理及抗血管再生疗法研究进展[J]. 中华外科杂志, 2000, 38(12): 943-945.

[4] Wu L W, Mayo L D, Dunbar J D, *et al*. Utilization of distinct signaling pathways by receptors for vascular endothelial cell growth factor and other mitogens in the induction of endothelial cell proliferation[J]. J Biol Chem, 2000, 275(7): 5096-5103.

[5] Maynard S E, Min J Y, Merchan J, *et al*. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt 1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia[J]. J Clin Invest, 2003, 111(5): 649-558.

[6] Hornig C, Barleon B, Ahmad S, *et al*. Release and complex formation of soluble VEGFR-1 from endothelial cells and biological fluids[J]. Lab Invest, 2000, 80(4): 443-454.

[7] Bae D G, Kim T D, Li G, *et al*. Anti-Flt1 peptide, a vascular endothelial growth factor receptor 1-specific hexapeptide, inhibits tumor growth and metastasis[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(7): 2651-2661.

(编辑 王小寒)