with epididymitis, testicular torsion, and torsion of testicular appendages[J]. Pediatrics, 1998, 102 (1 Pt 1): 73 - 76.

[8] Kalfa N, Veyrac C, Baud C, *et al*. Ultrasonography of the spermatic cord in children with testicular torsion: impact on the surgical strategy [J]. J Urol, 2004, 172(4 Pt 2): 1692 - 1695.

[9] Pepe P, Panella P, Pennisi M, *et al*. Does color Doppler sonography improve the clinical assessment of patients with acute scrotum?? [J]. Eur J Radiol, 2006, 60(1): 120 - 124.

[10] 王彪, 孙爱斌, 卢根生. 43例睾丸扭转的诊断与治疗[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(21): 2127, 2130.

[11] Cimador M, Dipace M R, Castagnetti M, *et al*. Predictors of testicular viability in testicular torsion[J]. J Pediatr Urol, 2007, 3(5): 387 - 390.

[12] Varga J, Zivkovic D, Grebeldinger S, *et al*. Acute scrotal pain in children--ten years´experience[J]. Urol Int, 2007, 78(1): 73 - 77.

[13] Dunne P J, O'Loughlin B S. Testicular torsion: time is the enemy [J]. Aust N Z J Surg, 2000, 70(6): 441 - 442.

[14] Arap M A, Vicentini F C, Cocuzza M, *et al*. Late hormonal levels, semen parameters, and presence of antisperm antibodies in patients treated for testicular torsion[J]. J Androl, 2007, 28(4): 528 - 532.

(**收稿**:2010-01-19;**修回**:2010-03-15)

(编辑 栾 嘉)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2010)14-1570-03

神经生长因子受体在子宫腺肌病中的表达及意义

李建勇[1],瞿全新[2],李宝江[3] (300451 天津,天津市第五中心医院:妇产科[1],病理科[3];300072 天津,天津市第一中心医院妇产科[2])

[摘要] **目的** 了解神经生长因子受体(tyrosine kinase,TrkA)在子宫腺肌病痛经患者异位内膜、在位内膜中的表达情况。**方法** 采用免疫组化抗生物素蛋白-过氧化物酶染色法(S-P法)检测子宫腺肌病痛经患者(研究组)20例异位内膜、在位内膜及对照组22例子宫肌瘤无痛经患者子宫内膜中神经生长因子受体的表达,并进行比较分析。**结果** TrkA在研究组异位内膜及在位内膜中的表达差异无显著性意义($P>0.05$),但二者TrkA的表达强度均显著高于对照组子宫内膜($P<0.01$)。研究组异位内膜增殖期高于分泌期[(3.25 ± 0.82) *vs* (1.93 ± 0.94), $P<0.05$],研究组在位内膜及对照组内膜增殖期与分泌期比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。研究组痛经程度与TrkA的表达呈正相关($r=0.539$, $P<0.05$)。**结论** TrkA在子宫腺肌病痛经患者异位内膜及在位内膜中广泛表达,可能在子宫腺肌病发病及痛经发生中起重要作用。

[关键词] 神经生长因子受体;子宫腺肌病;痛经;免疫组化

[中图法分类号] R711.710.2;R446.8 **[文献标志码]** A

子宫腺肌病是子宫内膜腺体及间质侵入子宫肌层的一种病变,是育龄妇女常见病,痛经是其最主要的临床症状,有报道子宫腺肌病患者痛经率达64.8%~77%[1]。本病的发生率逐年上升,已严重危害妇女的身心健康。目前临床治疗手段十分局限,以手术切除子宫为主。因此,研究其发病及痛经的根本原因及寻找有效的治疗方法尤其重要。痛经是由自主神经干中的无髓鞘或髓鞘极少的细纤维(C型纤维)支配,神经生长因子受体(tyrosine kinase,TrkA)主要分布于肽能C类初级传入神经纤维,作为疼痛传递过程中的神经递质起着传导和促发的作用[2]。本实验检测TrkA在子宫腺肌病中的表达及其与痛经的相关性,以探讨TrkA在子宫腺肌病发病及痛经发生机制中的作用。

1 资料与方法

1.1 资料来源

研究样本来自天津市第五中心医院妇产科2006年8月至2008年8月间行子宫切除术的患者。选择经病理检查证实为单纯子宫腺肌病患者20例作为研究组,年龄(44.30 ± 3.10)岁,均有痛经症状,轻度痛经5例,中度6例,重度9例,子宫内膜处于增殖期12例,分泌期8例。选择同期因单纯子宫肌瘤行子宫切除术的患者22例作为对照组,年龄(42.25 ± 5.15)岁,其中子宫内膜处于增殖期16例,分泌期6例,均无痛经症状。两组患者在年龄、月经周期、孕产次、宫腔操作次数方面均无显著性差异($P>0.05$)。两组患者月经周期规律,术前半年内未服用激素类药物,未使用宫内节育器,未合并神经系统疾病及内分泌疾病。

1.2 标本采集

于手术中留取组织标本,研究组取病灶组织和内膜,对照组取正常子宫肌层和内膜,10%福尔马林固定12~24 h,石蜡包埋,行4 μm厚连续切片,做常规病理与免疫组化。HE染色后光镜下筛选组织标本。

1.3 主要试剂

兔抗人神经生长因子受体多克隆抗体(北京博奥森公司产品);免疫组化S-P超敏试剂盒(即用型)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.4 实验方法

采用免疫组化S-P法检测TrkA,以已知阳性片为阳性对照,PBS代替一抗为阴性对照,每例组织石蜡块切片共5张,

[通信作者] 李建勇, E-mail: leejianyong@sina.com

1 张HE 染色核实病理诊断,余 4 张行免疫组化染色。将石蜡切片常规脱蜡浸水,3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min,微波修复 15 min,PBS 冲洗 2 次,封闭用山羊血清室温孵育 30 min,加入 1∶300 一抗,37℃恒温孵育 2 ~ 4 h,PBS 冲洗 2 次后加入二抗室温孵育 30 min,PBS 冲洗 2 次,DAB 显色 5 min,苏木精复染,透明,封片。

1.5 结果判定

结果由本院从事病理专业的病理医师统计。TrkA 阳性表达为棕黄色颗粒或褐色颗粒。TrkA 在子宫内膜腺体细胞细胞质内的表达用 PI 表示。在 400 倍光学显微镜下随机取 5 个视野,每个视野计数 100 个细胞,根据染色强度与阳性细胞的百分数进行半定量的分级评分(PI 值)分析,按染色强度评分(I):0 分无色,1 分浅黄色,2 分棕黄色,3 分棕褐色;按阳性细胞百分数评分(P):0 分 <5%,1 分 5% ~25%,2 分 26% ~50%,3 分 51% ~75%,4 分 >76%,二者乘积为最终分数即 PI 值。

1.6 疼痛强度评分

研究组患者术前根据疼痛视觉量表 10 分法(vas)对疼痛强度进行评分:轻度(1 ~ 3 分);中度(4 ~ 6 分);重度(7 ~ 9 分)。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计软件进行数据分析;数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验,方差齐性检验,相关关系采用 Spearman 等级相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$。

2 结果

2.1 TrkA 在两组子宫内膜组织中的表达

TrkA 在研究组在位内膜、异位内膜及对照组子宫内膜中均有不同程度的表达。阳性反应物在研究组子宫内膜腺上皮中有良好表达,间质细胞和血管内皮细胞中也有不同程度的表达,但表达较弱。阳性表达定位于腺上皮细胞细胞质中,核呈阴性反应。见图 1。研究组在位内膜和异位内膜中 TrkA 的表达均显著高于对照组子宫内膜($P < 0.01$);研究组在位内膜与异位内膜中 TrkA 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 TrkA 的表达与月经周期的关系

按照月经周期分组计算 TrkA 的表达强度,将研究组异位内膜增殖期和分泌期 TrkA 进行比较,增殖期高于分泌期($P < 0.05$);而研究组在位内膜及对照组内膜增殖期和分泌期 TrkA 比较,差异均无显著性($P > 0.05$),即无周期性变化。见表 2。

表 1 TrkA 在不同组子宫内膜中的表达

组别	例数	TrkA 表达阳性		PI 值($\bar{x} \pm s$)
		例数	百分比(%)	
研究组在位内膜	20	18	90.00[a]	2.78 ± 1.32[a]
研究组异位内膜	20	19	95.00[a]	2.84 ± 1.26[a]
对照组子宫内膜	22	10	45.45	1.52 ± 1.36

a:$P < 0.01$,与对照组子宫内膜比较

表 2 两组 TrkA 的表达与月经周期的关系

月经周期	研究组在位内膜		研究组异位内膜		对照组子宫内膜	
	n	PI 值	n	PI 值	n	PI 值
增殖期	12	2.58 ± 1.23	12	3.25 ± 0.82	16	1.39 ± 0.46
分泌期	8	2.32 ± 0.92	8	1.93 ± 0.94[a]	6	1.86 ± 0.63

a:$P < 0.05$,与增殖期比较

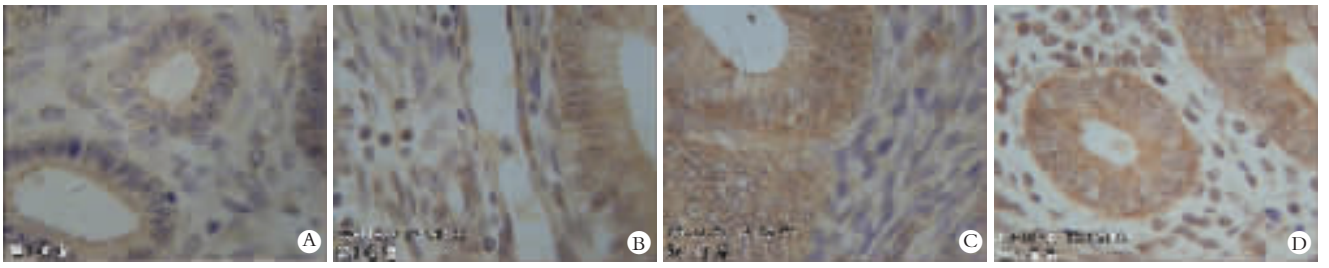
2.3 TrkA 在内膜中的表达与痛经的相关性分析

在研究组 20 例痛经患者内膜中,TrkA 呈现明显高表达,随着疼痛评分的升高,TrkA 在子宫腺肌病内膜中的表达呈逐渐增高趋势。相关性分析结果显示,研究组在位与异位内膜中的 TrkA 表达与疼痛强度呈正相关($r = 0.539$,$P < 0.05$)。

3 讨论

神经生长因子(nerve growth factor,NGF)是一种靶源性多肽生长因子,TrkA 是高亲和力 NGF 受体,二者通过结合进一步激活细胞内信号转导通路,实现神经营养信号的传递。有研究发现,NGF 及 TrkA 不但较多分布于神经系统,而且也广泛地存在于非神经组织如上皮、间叶及淋巴造血组织,并对神经、非神经组织均具有调节作用。Thomson 等[3]用免疫组化证实 TrkA 可以在来自 3 个胚层的组织和细胞中表达。本实验子宫内膜腺上皮细胞内呈 TrkA 阳性反应,提示子宫内膜腺上皮细胞可以合成 TrkA 样神经肽类物质,同时在研究组在位内膜及异位内膜中均呈现高表达,且与对照组内膜表达有显著性差异,这与郎景和[4]提出的"在位内膜决定论"一致,说明在位内膜的分子及生物学特性可能对逆流至异地的内膜的"命运"起着决定性作用,二者之间可能存在着一定的因果关系。

目前认为,子宫腺肌病是一种雌激素依赖性疾病,雌激素不仅对激素受体有正向调节,还促使子宫内膜生长[5]。神经系统广泛存在着雌激素受体,雌激素与



A:对照组子宫内膜腺体; B:研究组异位内膜间质; C:研究组在位内膜腺体; D:研究组异位内膜腺体

图 1 不同组子宫内膜组织中 TrkA 的表达 (S-P ×400)

受体结合后,可以从多个水平改变伤害性信息刺激传导通路[6]。Bergholt 等[7]认为高雌激素水平导致子宫内膜增生是子宫腺肌病发生的重要危险因素(OR = 3.0,95% CI = 1.2 ~ 8.3)。研究表明,雌性激素能够上调神经营养因子及其受体的表达。雌性激素对于子宫腺肌病的发生可能部分地通过神经营养因子与其受体结合后传递信息而被介导。本实验中研究组异位内膜 TrkA 表达增殖期高于分泌期,而在位内膜及对照组子宫内膜 TrkA 表达均无周期性变化,提示 TrkA 的表达与高雌激素水平及异位病灶的功能状态密切相关,与子宫腺肌病的发生及发展也可能有一定关系。

此外,有人认为,子宫腺肌病的发生是由于子宫内膜突破薄弱的基底层侵入子宫肌层,如果这样,腺肌病异位病灶中的神经纤维有可能来源于子宫内膜功能层神经纤维,更有可能的是由于异位内膜分泌 NGF 及两种 NGF 受体即 TrkA 和 p75 表达增加导致局部神经纤维向内生长[8]。同时,子宫腺肌病异位病灶也可释放一些刺激神经纤维的分子,如肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、PGI_2、PGE_2和 $PGF_{2\alpha}$及 NGF 使神经纤维向内生长,这些神经纤维有可能在介导疼痛中起重要作用[9]。而且有资料显示,子宫腺肌病的发生与子宫内膜的损伤、炎症有关,当有炎症存在时,局部组织内的 NGF 大量增加,增加的 NGF 与神经元轴突受体 TrkA 结合,发生内吞并后送至胞体,在基因水平导致细胞内神经肽 P 物质(SP)和降钙素基因相关肽(CGRP)迅速增多,这些神经肽被运送至外周和中枢端,导致痛觉过敏[10]。Anaf 等[11]指出,NGF 本身是一种疼痛介质,能诱导与调控中枢疼痛传导有关的 SP、CGRP 和 NF(神经紧张肽)的表达[12]。NGF 主要与背根神经节内高亲和力 TrkA 受体结合。在脊髓背角,TrkA 免疫反应产物与神经递质 SP、CGRP 免疫反应产物分布一致,说明TrkA 受体亦分布于 C 类初级传入神经纤维,与伤害性信息的感觉与传导有关系,而且与慢性痛有关[13]。最近研究发现,NGF 通过与其受体结合,既能刺激感觉神经和营养细纤维感觉神经元的生长,也能刺激参与调节痛觉的交感神经的生长,同时还能促进致痛物质 SP、CGRP 等的表达[11]。本实验中研究组病灶中 TrkA 高表达,并随着痛经程度的增加,TrkA 的表达逐渐增强,推测可能通过上述途径起作用,提示 TrkA 可能作为 C 型无髓神经纤维分泌的神经递质向中枢神经传导神经冲动,从而导致子宫腺肌病的痛经症状。有理由相信,TrkA 在子宫腺肌病中的高表达可以解释其疼痛及痛觉过敏的发生,至少在介导痛经中起着不可忽视的重要作用。

迄今为止,子宫腺肌病发生及其痛经的发生机制尚缺乏清楚的了解。本研究显示 TrkA 可能与子宫腺肌病痛经关系密切,但能否通过有效调控 TrkA 的表达而治疗或预防子宫腺肌病痛经,从而减少或避免女性子宫切除带来的大量不良后果,尚需进一步研究。

参考文献:

[1] Levgur M, Abadi M A, Tucker A. Adenomyosis: symptoms, histology, and pregnancy terminations[J]. Obstet Gynecol, 2002, 95(5): 688 - 691.

[2] 李欣,王敏,肖豫,等. P 物质和降钙素基因相关肽在子宫腺肌病中的表达及其意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2008, 9(3): 214 - 216.

[3] Thomson T M, Rettig W J, Chesa P G, *et al*. Expression of human nerve growt h factor receptor OD cells derieved from all three germ layers [J]. Exp Cell Res, 1988, 174(2): 533 - 539.

[4] 郎景和. 子宫内膜异位症的研究与设想[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(8): 478 - 480.

[5] Jiang J, Wu R F, Wang Z H, *et al*. Effect of mifepristone on estrogen and progesterone receptors in human endometrial and endometriotic cells *in vitro*[J]. Fertil Steril, 2002, 77(5): 995 - 1000.

[6] Daguati R, Somigliana E, Vigano P, *et al*. Progestogens and estroprogestins in the treatment of pelvic pain associated with endometriosis [J]. Minerva Ginecol, 2006, 58(6): 499 - 510.

[7] Bergholt T, Eriksen I, Berendt N, *et al*. Prevalence and risk factors of adenomyosis at hysterectomy [J]. Hum Reprod, 2001, 16(11): 2418 - 2421.

[8] Tokushige N, Markham R, Russell P, *et al*. High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis [J]. Hum Reprod, 2006, 21(3): 782 - 787.

[9] 李晶. 子宫腺肌病痛经机理的研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2008, 10(1): 121 - 122.

[10] 徐娟,刘洪臣,袁维秀,等. 实验性牙移动过程中三叉神经节内神经生长因子受体 TrkA 的改变[J]. 口腔医学, 2005, 25(6): 335 - 336.

[11] Anaf V, Simon P, EI-Nakadi I, *et al*. Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis[J]. Hum Reprod, 2002, 17(7): 1895 - 1900.

[12] 张卓梅, 关铮. 子宫腺肌病疼痛机制研究进展[J]. 国外医学: 妇产科学分册, 2007, 34(2): 92 - 95.

[13] Delcroix J D, Patel J, Averill S, *et al*. Peripheral axon crush elevates transport of p75NTR in the central projection of sensory neurones of rats[J]. Neurosci Lett, 2003, 351(3): 181 - 185.

(**收稿**:2009-12-25;**修回**:2010-02-19)

(编辑 汪勤俭)