基础研究 文章编号:0253-3626(2011)01-0005-03

超声消融子宫肌瘤后靶区边缘雌孕激素受体表达研究

贺雪梅[1],熊 欣[2],陈 菲[3],邹建中[3]

(1.重庆医科大学附属第一医院超声科;2.重庆医科大学基础医学院计算机教研室,3.重庆医科大学生物医学工程系,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究超声消融子宫肌瘤后靶区边缘雌、孕激素受体的表达情况,辅助临床判断疗效和预后。方法:因子宫肌瘤而手术切除的新鲜离体人子宫 20 个,经重庆医科大学伦理委员会批准及患者同意后取得。聚焦超声定点消融肌瘤组织,声功率 300 W,辐照时间 5 s,选取超声消融靶区及非靶区组织制成石蜡块,连续切片,免疫组织化学法检测超声消融靶区边缘雌、孕激素受体的表达情况。结果:超声消融靶区肌瘤组织均未检测到雌、孕激素受体表达,靶区边缘存在带宽约 5～8 细胞的交界区,该区域雌、孕激素受体明显下调,与非靶区相比,其雌、孕激素受体表达有显著性差异($P<0.01$)。结论:超声可以完全消融子宫肌瘤靶区,靶区边缘组织 ER、PR 表达明显下调,表明超声消融治疗子宫肌瘤效果明显,同时具有潜在降低消融术后复发率的可能性。

【关键词】超声消融;子宫肌瘤;雌激素受体;孕激素受体

【中国图书分类法分类号】R319 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-06-10

Estrogen receptor and Progesterone receptor expressions at the edge of the targeted region of uterus fibroids ablated by acoustic power

HE Xue-mei, et al

(*Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To probe the expressions of estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) at the edge of the targeted region of uterus fibroids ablated by acoustic power. *Methods*: Uterus fibroids of human being, in vitro, allowed by the Ethics Committee of the Chongqing Medical University and patients, were ablated by high intensity focused ultrasound (HIFU), under the acoustic power of 300 W for 5 s. ER and PR expressions of the targeted and the non-targeted regions were examined by immunohist- ochemical staining. *Results* and *Conclusion*: Both ER and PR expressions in the HIFU targeted region were negative. At the edge of the targeted region, both ER and PR expressions were decreased, significantly lower than the non-targeted region ($P<0.01$), which demonstrated ultrasound ablation is effective and may have potentiality to decrease recurrence.

【Key words】ultrasound ablation; uterus fibroids; estrogen receptor; progesterone receptor

研究认为子宫肌瘤的发生、发展除了与雌、孕激素水平有关外,还与子宫本身雌激素受体(Estrogen receptor, ER),孕激素受体(Progesterone receptor, PR)表达敏感性增加有关[1-4]。超声消融子宫肌瘤的治疗原则是瘤内治疗[5],超声消融后预后很大程度上与靶区周围残留的细胞活性有关。本文试图通过对超声消融后靶区边缘 ER、PR 表达变化情况来了解超声消融子宫肌瘤的疗效和预后情况。

1 材料与方法

1.1 实验设备

JC200 型聚焦超声肿瘤治疗系统(重庆海扶(HIFU)技术有限公司生产)。奥林巴斯 BX40 光学显微镜。

1.2 实验材料

1.2.1 标本 因子宫肌瘤切除的新鲜离体人子宫 20 个,经重庆医科大学伦理委员会批准及患者同意后取得。

1.2.2 试剂 一抗:鼠抗人雌激素受体抗体,鼠抗人孕激素受体抗体(福州迈新公司),二抗:生物素化抗体。

1.3 实验过程

1.3.1 超声辐照及取材 因子宫肌瘤切除的新鲜离体子宫,置于含脱气水的水槽内,监控探头寻找子宫肌瘤,并对靶点定位,超声消融(治疗头频率 1.03 MHz,声功率 300 W,辐照

作者介绍:贺雪梅(1978-),女,主治医师,博士,研究方向:超声消融治疗肿瘤。

通信作者:邹建中,男,教授,Email:zoujz@haifu.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金重点项目(编号:30830040)。

时间 5 s，消融方式为定点消融）。消融结束后立即剖开子宫，TTC 染色（坏死组织不着色，正常组织染成红色）[6]。取坏死区与正常组织交界区组织制成石蜡块，每块切成 6 张厚 4 μm 的片备用；其中 2 张做 HE 染色，另 4 张载玻片事先涂上多聚赖氨酸，以备免疫组化用。通过 HE 染色切片筛选张，显微镜下观察，判定 ER，PR 表达情况。

1.3.2　免疫组化实验步骤　标本脱蜡水化后，高压热修复，滴加正常山羊血清封闭液，然后滴加鼠抗人 ER 抗体，一抗浓度为 1:100，滴加生物素化二抗，二氨基联苯胺（Diaminobenzidine，DAB）显色后蒸馏水洗，苏木素复染，盐酸酒精分化，脱水、透明、封片、镜检（具体步骤按试剂盒说明操作）。检测方法同上。

1.4　统计学方法

采用 SPSS 统计软件进行处理，$P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　HE 染色，光镜观察结果

镜下，子宫平滑肌瘤细胞与正常子宫平滑肌细胞相似，但肌瘤细胞核比较密集，常排列成纵横交错的不规则束状或编织状。核大多呈长杆状、两端钝圆或圆锥形，染色质纤细。肌细胞间有不等量的结缔组织。胞浆染成红色，胞核蓝色。超声消融靶区细胞结构破坏，与非靶区之间边界清楚，细胞发生凝固性坏死，镜下凝固性坏死表现为无定形的嗜伊红染色，胞核固缩，染色质粗短，染色变深（图 1）。

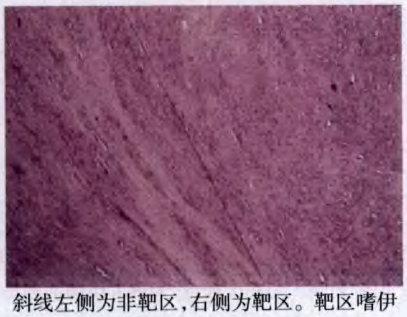
2.2　子宫肌瘤超声消融靶区及非靶区 ER、PR 表达

低倍镜下观察超声消融靶区与非靶区之间界限清楚（图 2）。子宫肌瘤非靶区组织表达 ER 细胞核呈棕褐色，胞浆不着色，见（图 3）。靶区组织细胞核均未表达 ER，细胞核呈蓝色（图 4）。高倍镜下观察，发现靶区与非靶区之间存在 1 个交界带，可见少数细胞核表达 ER、PR，细胞带宽约 5～8 细胞（图 5）。PR 表达的表现与 ER 相同（图 6）。将显微镜下观察到交界区 ER，PR 表达阳性细胞按每高倍视野下计数与阴性细胞计数的比值分为以下几个等级：0 级，阳性细胞数<5%；Ⅰ级，5%～15%；Ⅱ级，16%～25%；Ⅲ级，>25%。结果（见表 1）显示交界区和非靶区之间 ER、PR 表达存在统计学差异，（$P<0.01$）。

3　讨　论

本研究发现超声消融子宫肌瘤后，靶区组织发生凝固性坏死，检测不到 ER、PR 表达；非靶区内 ER、PR 高表达。靶区与非靶区之间存在带宽 5～8 细胞的交界区，该区域内 ER、PR 表达程度低，与非靶区组织比较存在显著性差异（$P<0.01$）。

子宫肌瘤被认为是一种雌激素依赖的良性肿瘤[2]，同时



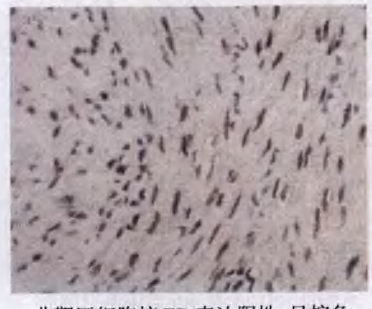
斜线左侧为非靶区，右侧为靶区。靶区嗜伊红染色明显，核固缩，染色质深染，而非靶区细胞染色较浅（HE，×100）

图 1　子宫肌瘤超声消融后 HE 染色



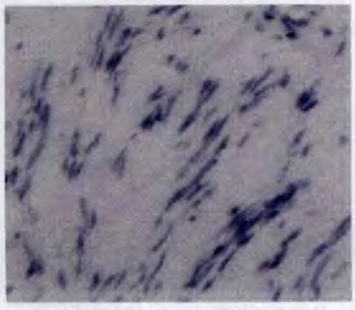
靶区（黑框）细胞核 ER 表达阴性，呈蓝色，非靶区（蓝框）细胞核 ER 表达阳性，呈褐色。ER 免疫组化（DAB 染色，×100）

图 2　子宫肌瘤超声消融后 ER 表达情况



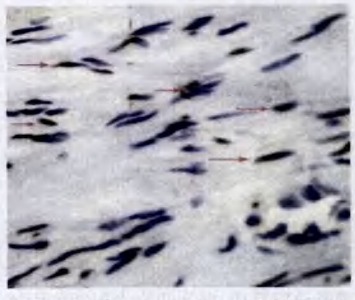
非靶区细胞核 ER 表达阳性，呈棕色（DAB 染色，×400）

图 3　非靶区蓝色框所示部分局部放大



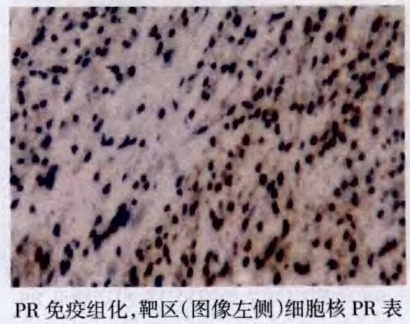
靶区细胞核 ER 表达阴性，呈蓝色（DAB 染色，×400）

图 4　黑色框所示靶区部分局部放大



图中间区域为交界区域，内见部分细胞核表达 ER，呈棕色，部分细胞核 ER 表达阴性，呈蓝色（DAB 染色，×400）

图 5　交界区域 ER 表达情况



PR 免疫组化，靶区（图像左侧）细胞核 PR 表达阴性，呈蓝色，非靶区（图像右侧）细胞核 PR 表达阳性，呈褐色（DAB 染色，×400）

图 6　子宫肌瘤超声消融后 PR 表达情况

表 1 子宫肌瘤 ER、PR 结果判定表(n=25)

分组	ER 分级*				PR 分级*			
	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
交界区	16	7	2	0	14	10	1	0
非靶区	0	3	7	15	0	2	5	18

注:* 表示 P<0.01

其生长与平滑肌细胞中 PR 含量密切相关[3-5]。但是血液中雌、孕激素水平并不一定与子宫肌瘤生长有直接关系[6],ER、PR 在瘤体及瘤体周边的高表达被认为是术后子宫肌瘤复发的可能原因[8]。超声消融破坏组织的主要原理是热效应,空化效应和机械效应,靶区中心温度高于 60℃,甚至高达 100℃,靶区组织瞬间发生凝固性坏死,由于热量向周围辐射,引起周边组织继发性改变[9]。

本研究发现超声消融子宫肌瘤后靶区完全坏死,ER、PR 等蛋白结构被完全破坏,细胞活性丧失,表明治疗非常有效。由于子宫肌瘤是良性肿瘤,通常采用瘤内消融,靶区与非靶区之间的边缘带残存少数活性细胞, 这些表达 ER、PR 的细胞可能是导致术后复发的原因。与非靶区比较,该区域 ER、PR 表达明显下调(P<0.01),有理由认为该区域由于活性肿瘤细胞数明显减少,受雌、孕激素刺激而增长的几率下降。由此可以推测超声消融对于减少子宫肌瘤术后复发可能有重要意义。这一点尚需大量临床随访资料证实。

由于已经有大量的文献资料表明子宫肌瘤组织内 ER、PR 表达高于肌瘤周边肌层,而周边肌层 ER、PR 表达又高于正常肌层,因此本文未再就这一部分内容进行充分研究。另外发现 ER、PR 在非靶区肌瘤组织内表达程度不一,推测可能与患者月经周期不同导致其表达水平差异有关,在未来研究中可能会进行进一步分析。

4 结 论

超声可以完全消融子宫肌瘤靶区,疗效明显,靶区边缘表达 ER、PR 的活性细胞数较非靶区明显减少,可能对于减少子宫肌瘤术后复发有重要意义。

参 考 文 献

[1] Govindan S,Shaik N A,Markers D. Estrogen receptor-alpha gene (T/C) Pvu Ⅱ polymorphism in endometriosis and uterine fibroids[J].Dis-Markers,2009,26(4):149-154.

[2] Brandon D D,Erickson T E,Keenan E J,et al. Estrogen receptor gene expression in human uterine myomas[J].Am J Obstet Gynecol,1995,772:14.

[3] Ichimura T,Kawamura N,Ito F,et al. Correlation between the growth of uterine leiomyomata and progesterone receptor content in needle biopsy specimens[J].FertilSteril,1998,70(5):967-971.

[4] Murphy A A,Morales A J,Kettel L M,et al. Regression of uterine leiomyomata to the antiprogesterone RU486:dose-response effect[J].FertilSteril,1995,64(1):187-190.

[5] 史常旭,辛晓燕.现代妇产科治疗学[M].北京:人民军医出版社,2010.162.

[6] 丁永利,罗喜平.子宫肌瘤患者血清雌孕激素的测定及雌激素受体和孕激素受体在子宫肌瘤的表达及意义[J].临床和实验医学杂志,2008,10(7):52-53.

[7] 常淑芳,顾美礼,伍 烽,等.氯化三苯基四氮唑染色在高强度聚焦超声生物学焦域观测中的应用[J].中国超声医学杂志,2000,16(9):641-644.

[8] 刘曼华,程 英,管卫群,等.性激素及子宫雌、孕激素受体含量与子宫肌瘤术后复发关系[J].中国煤炭工业医学杂志,2004,6(7):558-559.

[9] 贺雪梅,熊 欣,邹建中,等.高强度聚焦超声辐照靶区回声强度与温度的相关性实验研究[J].临床超声医学杂志,2008,10(4):217-219.

(责任编辑:冉明会)