维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)04-0478-03

子宫内膜异位症在位内膜多效营养因子和中期因子的表达研究

杨 蕾,赵纯全,令狐华

(重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨多效营养因子(Pleiotrophin,PTN)和中期因子(Midkine,MK)蛋白在子宫内膜异位症(Endometriosis,EMs)患者在位内膜组织中的表达变化及临床意义。方法:应用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白—过氧化物酶连接(SP)法,检测 30 例 EMs 患者(研究组)的在位内膜组织及 29 例子宫肌瘤患者(对照组)的内膜组织中 PTN 和 MK 蛋白的表达。结果:PTN 蛋白主要在子宫内膜腺上皮细胞浆和细胞膜中表达,而 MK 蛋白阳性表达也主要定位于子宫内膜腺上皮细胞的细胞浆,部分标本细胞核也有阳性表达。EMs 组中 PTN 和 MK 蛋白表达均较对照组显著升高(P 均 <0.001)。结论:PTN 和 MK 蛋白在 EMs 患者的在位内膜过度表达,导致其血管生成能力增强。EMs 在位内膜中 PTN 和 MK 蛋白的表达变化可能与 EMs 的发生发展有关。

【关键词】多效营养因子;中期因子;子宫内膜异位症;新生血管

【中国图书分类法分类号】R71 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-08-20

Expression study of pleiotrophin and midkine in endometrium of endometriosis

YANG Lei,et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology,the First Affiliated Hospital,Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*:To study the expression of Pleiotrophin and Midkine protein in endometrium of endometriosis and its clinical significance. *Methods*:Expressions of Pleiotrophin and Midkine protein were examined by immunohistochemical staining method in 30 endometrial samples of endometriosis(study group) and 29 endometrium of uterine fibroid(control group). *Result*: Pleiotrophin protein mainly expressed in the membrane and plasma of glandular epithelium of endometrium.Midkine protein mainly expressed in the plasma of grandular epithelium of endometrium and expressed in nuclei in some samples.The expression of Pleiotrophin and Midkine protein in endometriosis was significantly higher than that in the control group(P<0.001). *Conclusions*:over-expression of PTN and MK protein in endometrium of endometriosis correlated to endometriotic cell angiogenesis.The change of PTN and MK expression in endometrium of endometriosis may relate to the pathogenesis of endometriosis.

【Key words】 Pleiotrophin;Midkine;Endometriosis;New blood vessels

EMs 是指子宫内膜腺体及间质细胞生长在子宫腔以外的部位,这种组织学上完全良性的内膜组织可像恶性肿瘤一样增生、侵润、扩散与转移,引起相应的临床症状。EMs 发病机制众说纷纭,目前医学界共认的是 1922 年 Sampson 提出的经血逆流致内膜异位种植学说。但一些专家认为,几乎所有妇女都会发生经血逆流,但并非所有妇女都患有 EMs。郎景和教授新近提出的 EMs 发病的"在位内膜决定论"[1],认为异位种植的关键取决于在位内膜的组织病理学、生物化学、分子生物学、遗传学等的特质,又为 EMs 的研究提供了新视野。新生血管的形成为 EMs 的发生发展奠定了基础[2]。大量研究证明,PTN 和 MK 是重要的促血管生长因子之一,能刺激血管内皮细胞增殖,对新生血管的形成具有明显调控作用[3,4]。PTN 和MK 是否参与 EMs 的发病目前国内未见报道,国外报道也较少,我们对此进行了研究。通过检测 EMs 患者的在位内膜 PTN 和 MK 蛋白的表达,以探讨它们在 EMs 的发生发展中的作用。

1 资料和方法

1.1 资料

2006 年 6 月至 2007 年 2 月,收集重庆医科大学附属第

作者介绍:杨 蕾(1975-),女,硕士,研究方向:妇科内分泌和妇科肿瘤。

通讯作者:赵纯全,男,副教授,E-mail:zcq113@yahoo.com.cn。

维普资讯 http://www.cqvip.com

一医院妇科的 30 例 EMs 患者的子宫内膜作为病例组，年龄范围 39～51 岁，平均 44 岁。其中月经周期为增生期 16 例，分泌期 14 例；同期取子宫肌瘤患者的内膜作对照组，共 29 例，年龄范围 27～50 岁，平均 39 岁。其中月经周期为增生期 15 例，分泌期 14 例。所有病例均经组织学证实，且半年内未使用过激素。

1.2 方法

手术标本均经 10%甲醛固定，常规石蜡包埋，4μm 厚连续切片，贴附于涂有 100g/L 多聚赖氨酸的载玻片，采用免疫组化 SP 法。PTN 兔抗人多克隆抗体及 MK 兔抗人多克隆抗体均为美国 Santa Cruz 公司产品。SP 试剂盒和 DAB 显色剂均为北京中杉生物技术公司产品。采用 1μmol/L 枸橼酸微波抗原热修复，3%H_2O_2 溶液阻断内源性的过氧化物酶，全部操作过程按 SP 试剂盒说明书完成。胰腺癌组织作为 PTN 的阳性对照和宫颈癌组织作为 MK 的阳性对照，用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断及分析

参照 Ota 等免疫组织化学评分标准，由 2 个观察者对切片进行盲式阅片，显微镜下随机选择 5 个视野，观察所选择的高倍镜视野中的所有细胞，记录阳性染色细胞百分数（%）并记分，阳性细胞百分数 0%、<25%、26%～50%、>50%分别评为 0、1、2、3 分。细胞着色强度则以多数阳性细胞呈现的染色记分：无显色、淡黄色、桔黄色、棕黄色分别评为 0、1、2、3，将阳性百分数记分和细胞染色记分相加，作为该片的最终评分。

1.4 统计学方法

采用 SPSS13.0 版统计软件对数据进行统计学处理，结果以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用 t 检验。$P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结 果

2.1 PTN 免疫组化定位

PTN 阳性染色出现于子宫内膜腺体，而几乎不出现于间质；主要定位于细胞浆和细胞膜上，胞核阳性染色不明显（见图 1～4）。

2.2 MK 免疫组化定位

MK 阳性染色也主要出现于子宫内膜腺体，间质表达较少；主要定位于细胞浆，部分病例细胞核出现阳性染色（见图 5～8）。

表 1 PTN 和 MK 在 2 组的表达

	EMs 组	对照组
PTN	3.20±1.54①	1.76±1.36②
MK	3.77±1.36①	1.97±1.43②

①与②相比 $P<0.001$

2.3 PTN 和 MK 在两组的表达情况

PTN 和 MK 蛋白在 EMs 组较对照组表达明显增加，差异具有非常显著性（$P<0.001$）（见表 1）。

2.4 PTN 和 MK 在月经周期中的表达比较

PTN 在两组中，分泌期表达均高于增生期（$P<0.05$）；而 MK 蛋白在对照组中增生期表达高于分泌期（$P<0.05$）；在 EMs 组中，增生期和分泌期 MK 蛋白表达差异无显著性（$P>0.05$）（见表 2）。

PTN 和 MK 在子宫内膜异位症中的表达和意义。

3 讨 论

PTN 和 MK 是一类新的肝素结合性生长/分化因子，它们的基因结构、氨基酸组成以及生物学功能都有许多相似之处，构成一个新家族即 Midkine 家族，具有促进细胞转化及有丝分裂、促血管生成、抗细胞凋亡和增强纤维蛋白溶解等作用。胚胎期，PTN 和 MK 蛋白在组织中广泛分布，出生后其表达降低，仅局限于某些特定部位。研究证明，PTN 和 MK 蛋白高度表达于许多人类恶性肿瘤中，参与肿瘤的发生、演进、生长及转移过程，而各种正常组织仅有低水平表达或无表达[5]。PTN 和 MK 虽有很多相似之处，但它们在许多肿瘤中的表达并不一致。例如 Wilms' 肿瘤、恶性周围神经鞘瘤和宫颈癌中 MK 的表达远高于 PTN，而黑色素瘤和胰腺癌中则刚好相反，且神经母细胞瘤中 MK 高表达患者预差，PTN 高表达患者预后较好，这些现象表明 MK 与 PTN 蛋白在肿瘤生物学行为中可能有不同意义[6]。本研究结果显示，PTN 和 MK 蛋白在 EMs 患者的在位内膜组中均有较高水平的表达，可以解释其

表 2 PTN 和 MK 在月经周期中的表达

	PTN		MK	
	EMs 组	对照组	EMs 组	对照组
增生期	2.57±1.29①	1.20±1.17①	3.86±1.46③	2.53±1.30①
分泌期	3.75±1.52②	2.36±1.29②	3.69±1.26④	1.36±1.29②

①与②相比 $P<0.05$；③与④相比 $P>0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

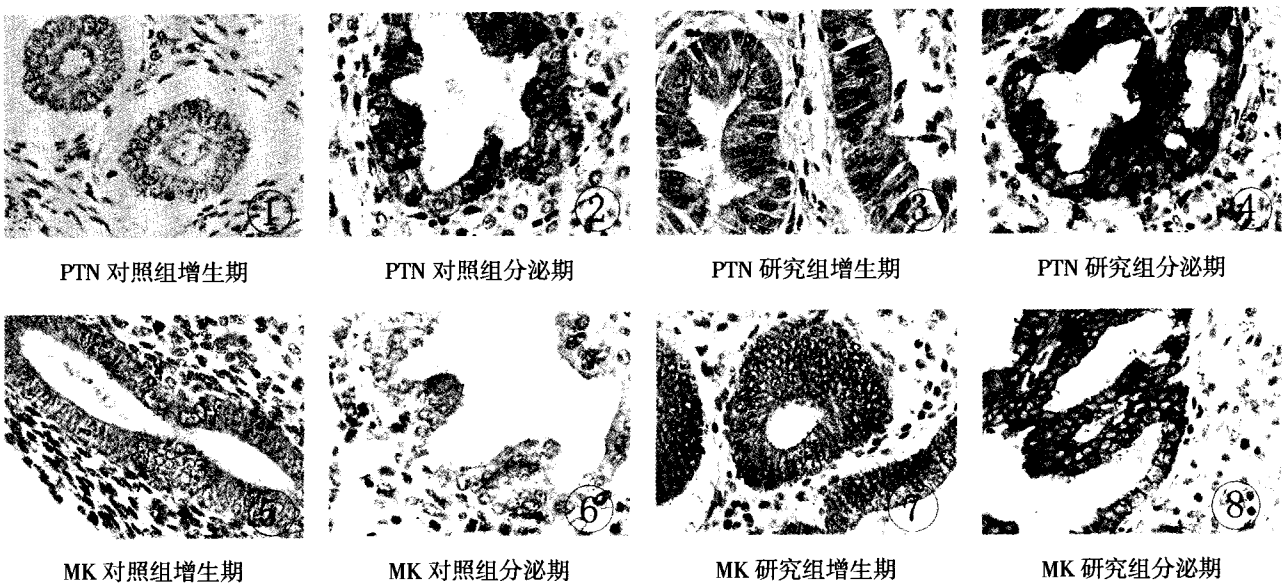


图 1 PTN及MK蛋白在研究组及对照组增生期和分泌期子宫内膜腺上皮细胞的表达(SP×400)

恶性肿瘤的习性,也说明 PTN 和 MK 在 EMs 发病机制的作用可能是类似的。子宫内膜返流入腹腔、粘附、侵袭入腹膜并形成微小 EMs 病变后,必须由新生血管提供血液,促进 EMs 的发生、发展。PTN 和 MK 表达增高的子宫内膜组织可能具有更强的血管生成能力,此种内膜碎片随经血逆流至腹腔后,在适宜的内环境下更易侵入腹膜表面,促进新生血管的形成以获得充足的血液供应而存活。可见 PTN 和 MK 可能是经血逆流至 EMs 病灶形成过程中的一个重要驱动因子,继而推动 EMs 的发生发展。我们推测,种植成功的异位内膜可能受到腹腔某种因素的影响,PTN 和 MK 的表达下降,其血管生成能力会受到抑制,由此限制了 EMs 病灶向周围扩散的能力,从而可以解释 EMs 虽有恶性肿瘤的习性,但仍是一种良性疾患。

本研究结果还发现 PTN 在正常人和 EMs 患者子宫内膜腺上皮细胞中的表达随月经周期而变化,两组均是分泌期的表达高于增生期。而 MK 在对照组增生期表达高于分泌期,此结果与 Hye Won Chung 报道一致[7];而在 EMs 组中增生期和分泌期表达无明显差异,我们推测雌孕激素对 EMs 在位内膜 MK 蛋白的调节作用和正常内膜存有差异。实验结果显示 PTN 和 MK 在 EMs 组中表达均明显增高,但它们在月经周期中的表达并不一致。雌孕激素对 PTN 和 MK 的周期性调节可能是维持正常子宫内膜周期变化的潜在因素之一;一旦这种调节失常导致 PTN 和 MK 的异常表达,可能促进 EMs 的发生、发展。

EMs 患者在位内膜与对照组子宫内膜 PTN 和 MK 蛋白表达有明显差异,说明 EMs 患者在位内膜可能有更强的血管生成能力,这种生物学特性再次佐证了"在位内膜决定论"的新观点。PTN 和 MK 可能是 EMs 病灶形成过程中的一个重要驱动因子,所以通过阻断 PTN 和 MK 的产生或拮抗其功能,有可能限制 EMs 的发生、发展,为 EMs 的病因学研究和治疗提供新的靶点。

参 考 文 献

[1] 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.

[2] Mclaren J.Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis[J]. Hum Report Update,2006;(4):44-45.

[3] Deuel TF,Zhang N,Yeh HJ,et al. Pleiotrophin:a cytokine with diverse functions and a novel signaling pathway[J]. Arch Biochem Biophys,2002;17(1):162-171.

[4] Ikem atsu S,Yano A,Aridome K,et al. Serum midkine levels are increased in patients with various types of carcinomas[J]. Br J Cancer,2004;83(6):701-706.

[5] Kurtz A,Schulte AM,Wellstein A. Pleiotrophin and midkine in normal development and tumor biology[J]. Crit. Rev. Oncog,2002;6(2):151-177.

[6] Patrick Souli é MD.Correlation of elevated plasma levels of two structurally related growth factors,heparin affin regulatory peptide and midkine,in advanced solid tumor patients[J]. Cancer Detection and Prevention,2004;28(8):319-324.

[7] Chung HW,Wen Y. Pleiotrophin(PTN) and midkine(MK) mRNA expression in eutopic and ectopic endometrium in advanced stage endometriosis[J]. Molecular Human Reproduction,2002;4(2):350-355.

(责任编辑:关蕴良)