DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.22.005
第26卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 22
1994 2004年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)22-1994-04

子宫内膜异位症患者宫内膜异位内膜组织中CD44、TGF-β_1的表达

张觊宇,史常旭 (第三军医大学西南医院妇产科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨CD44和转化生长因子-β_1(TGF-β_1)与子宫内膜异位症(endometriosis, EM)的关系。方法 采用免疫组化技术对EM在位子宫内膜和卵巢异位子宫内膜各17例、对照组子宫内膜20例分别进行组织病理学观察和CD44、TGF-β_1表达的检测。结果 EM的在位子宫内膜CD44和TGF-β_1的表达和对照组相比无显著差异;卵巢异位子宫内膜上皮细胞CD44和TGF-β_1的表达显著高于对照组。结论 提示EM异位内膜CD44和TGF-β_1的异常表达可能与EM的发生、发展有关。

关键词:子宫内膜异位症;CD44;转化生长因子-β_1;免疫组织化学
中图法分类号:R322.65;R392.13;R711.71 文献标识码:A

Expressions of CD44 and transforming growth factor-β_1 in endometrium and ectopic endometrial tissues in endometriosis patients

ZHANG Chan-yu, SHI Chang-xu (Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore relationship of CD44 and transforming growth factor-β_1 (TGF-β_1) in endometriosis (EM) patients. Methods The histopathological changes and the expressions of CD44 and TGF-β_1 were observed and determined by immunohistochemistry in 17 cases of ectopic endometrium of EM patients and 17 cases of ovarian ectopic endometrium of EM patients. The other 20 cases of non-endometriosis and non-tumorous endometrial tissues were used as the control group. Results No difference in the expressions of CD44 and TGF-β_1 was found in the ectopic endometrium of EM patients and the control group, but the expressions in the ovarian ectopic endometrium of EM patients were significantly higher than those in the control group. Conclusion The abnormal expressions of CD44 and TGF-β_1 in ectopic endometrium of EM patients may be associated with the genesis and progression of EM.

Key words: endometriosis; CD44; transforming growth factor-β_1; immunohistochemistry

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)的发病机制迄今为止尚仍未完全清楚。但其广泛的种植和易复发特性与恶性肿瘤有相似之处。而CD44、转化生长因子-β_1(transforming growth factor-β_1, TGF-β_1)与恶性肿瘤关系密切,在肿瘤转移、种植等行为上有一定作用。本研究采用免疫组织化学方法检测CD44、E-cadherin在EM患者在位子宫内膜及异位子宫内膜上皮细胞的表达,探讨其在EM的发病中关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源及分组

EM组:选择我院1996年1月至1999年5月因子宫内膜异位症行全切或次全切的子宫和切除或剥除的卵巢子宫内膜异位囊肿标本各17例。年龄26~52岁,平均38.12岁,在位子宫内膜为增殖期。所有检查对象术前3个月内,均未使用任何激素及免疫制剂,无其它内、外科疾病。

对照组:20例,年龄26~56岁,平均37.35岁,为1996年1月至1999年5月我院门诊或住院的非异位症、非肿瘤患者诊断性刮宫刮出的增生期宫内膜标本。所有检查对象术前3个月内,均未使用任何激素及免疫制剂。无其它内、外科疾病。

1.1.2 主要试剂 TGF-β_1、CD44的抗体均购自美国Maxim公司。其中TGF-β_1为多克隆,工作浓度为1∶500。CD44为单克隆,工作浓度为既用型。

1.2 实验方法

1.2.1 石蜡切片制备 所有手术切除的标本,置10%甲醛溶液中固定24 h后石蜡包埋,每个标本切片8~10张。

1.2.2 石蜡切片苏木精伊红染色 石蜡切片常规HE染色,并选择EM组在位内膜为增生期,对照组子宫内膜为增生期。

1.2.3 免疫组织化学染色 根据蔡文琴等[1]所介绍的方法,并参照抗体试剂盒及链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组化超敏试剂盒说明书进行。每批染色均设阳性对照和阴性对照,阳性对照:采用购自Maxim公司的阳性切片进行,阴性对照:以PBS代替CD44、TGF-β_1抗体进行。

作者简介:张觊宇(1964-),女,重庆市人,硕士,副主任医师,主要从事女性不孕症方面的研究,发表论文20篇,现在重庆市人口和计划生育科学技术研究院生殖技术研究所。电话:(023)67851424

收稿日期:2003-08-22;修回日期:2004-03-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3　染色结果判断

CD44、TGF-β_1 阳性表达主要定位于细胞膜或/和细胞浆。根据染色强度及范围分别计分, 无色(0 分), 淡黄(1 分), 棕黄(2 分), 棕褐(3 分); 染色范围:＜5%(0 分), 5%～20%(1 分), 20%～50%(2 分),＞50%(3 分)。累积 0～1 分为阴性(－), 2～3 分为弱阳性(＋), 4～5 分为阳性(＋＋), 6 分为强阳性(＋＋＋)。

1.4　统计学分析

采用 SPLM2.3 统计软件进行等级资料秩和检验。

2　结果

2.1　病理组织学观察

2.1.1　对照组　　子宫内膜腺体增多, 腺体形态比较单一, 腺体稍弯曲, 表面上皮及腺上皮细胞增生, 呈柱状, 腺上皮细胞中偶可见透亮细胞, 腺体密集、拥挤, 腺体形态多样, 但无细胞的异型性。间质减少, 疏松水肿, 细胞呈梭形, 核增生呈纺锤状, 确诊为子宫内膜单纯性增生(图 1)。

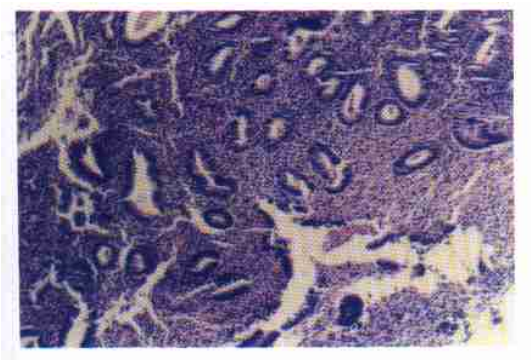


图 1　对照组子宫内膜腺体呈单纯增生　(HE× 100)

Fig 1　Endometrial hyperplasia in the control group　(HE× 100)

2.1.2　子宫内膜异位症的在位子宫内膜　　子宫腺体形态比较单一, 但数目增多, 腺体排列紧密, 呈直管状或丛状, 腺上皮细胞增生, 呈柱状或立方状, 腺上皮无异型性, 间质明显减少、致密, 符合子宫内膜单纯性增生。有些病例子宫内膜腺体排列致密, 腺上皮呈高柱状, 核杆状呈双层, 诊断为子宫内膜腺体增生过长(图 2)。

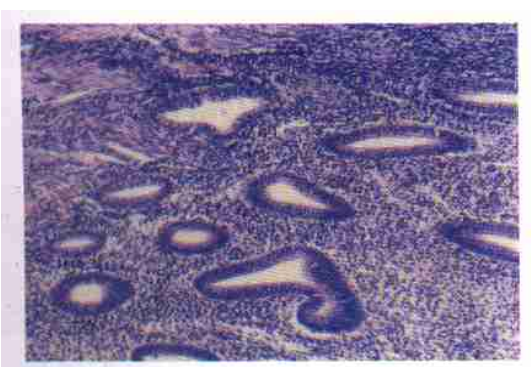


图 2　EM 在位子宫内膜腺体单纯增生　(HE× 100)

Fig 2　Endometrial hyperplasia in EM group　(HE× 100)

2.1.3　子宫内膜异位症的异位内膜　　卵巢子宫内膜异位囊肿, 囊内可见陈旧性出血坏死, 并见大量吞噬细胞, 吞噬红细胞形成含铁血黄素。囊壁内衬柱状上皮, 可见异位子宫内膜腺体, 上皮下可见间质细胞(图 3)。

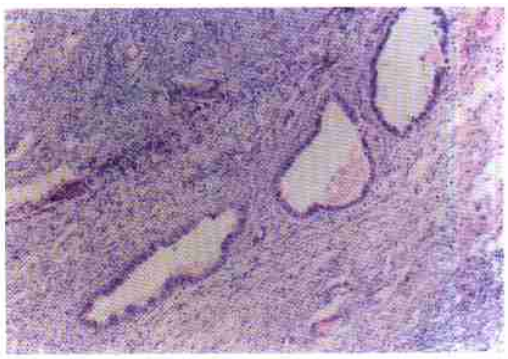


图 3　EM 卵巢异位子宫内膜腺体　(HE× 100)

Fig 3　Endometrial gland in ovary of EM　(HE× 100)

2.2　免疫组织化学染色结果

2.2.1　子宫内膜上皮细胞 CD44 表达　　CD44 在对照组子宫内膜, EM 在位和异位内膜组织表达呈逐渐增强趋势, 其阳性表达定位于细胞膜。其中 EM 在位内膜 CD44 阳性表达见图 4, EM 异位内膜 CD44 强阳性表达见图 5, 表 1。



图 4　EM 在位子宫内膜腺体 CD44 呈阳性表达　(S-P× 100)

Fig 4　Positive expression of CD44 in endometrium of EM　(S-P× 100)



图 5　EM 卵巢异位子宫内膜腺体 CD44 呈强阳性表达　(S-P× 200)

Fig 5　Strong expression of CD44 in ovarian eutopic endometrium of EM　(S-P× 200)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 CD44 在在位子宫内膜和异位子宫内膜的表达

Tab 1 Expression of CD44 in endometrium and ectopic endometrial tissues

Group	n	CD44 expression			
		−	+	++	+++
Eutopic endometrium	17	2	9	6	0
Ovarian ectopic endometrium	17	0	3	7	7
Control	20	3	14	3	0

EM 患者异位内膜 CD44 的表达高于对照组，与对照组相比差异非常显著($\chi^2=16.687$, $P<0.01$)，在位内膜 CD44 的表达与对照组相比无显著差异($\chi^2=0.841$, $P>0.05$)，在位内膜与异位内膜中 CD44 的表达有显著差异($\chi^2=9.282$, $P<0.01$)。

2.2.2 子宫内膜上皮细胞 TGF-β_1 的表达 子宫内膜异位症在位和异位内膜和正常子宫内膜上皮细胞 TGF-β_1 呈不同程度表达。EM 在位内膜 TGF-β_1 阳性表达见图 6，EM 异位内膜 TGF-β_1 强阳性表达见图 7。EM 患者异位内膜 TGF-β_1 的表达高于对照组，且有显著差异($\chi^2=7.688$, $P<0.05$)，在位内膜 TGF-β_1 的表达与对照组无显著差异($\chi^2=2.145$, $P>0.05$)，见表 2。



图 6 EM 在位子宫内膜腺体 TGF-β_1 呈阳性表达 (S-P× 100)

Fig 6 Positive expression of TGF-β_1 in endometrium of EM (S-P× 100)



图 7 EM 卵巢子宫内膜上皮 TGF-β_1 呈强阳性表达 (S-P× 100)

Fig 7 Strong expression of TGF-β_1 in ovarian eutopic endometrium of EM (S-P× 100)

表 2 TGF-β_1 在在位子宫内膜和异位子宫内膜的表达

Tab 2 Expression of TGF-β_1 in endometrium and ectopic endometrial tissues

Group	n	TGF-β_1 expression			
		−	+	++	+++
Eutopic endometrium	17	1	4	10	2
Ovarian ectopic endometrium	17	0	2	11	4
Control	20	0	11	9	0

3 讨论

子宫内膜异位症被认为是一种类似癌性浸润性良性疾病，其异位的子宫内膜腺上皮细胞具有侵袭力，同时还需要在一些细胞因子、生长因子和转移因子等的协同作用下，改变机体免疫状态方能发病。本研究通过检测 EM 在位与异位的子宫内膜上皮细胞的 CD44、TGF-β_1 的表达，并选择非异位症、非肿瘤的良性妇科疾病患者为对照组，探讨 CD44、TGF-β_1 表达在 EM 在位内膜、异位内膜、对照组内膜表达的差异，进一步了解 EM 的发病机制。本研究表明 EM 异位子宫内膜上皮细胞 CD44 的表达显著高于对照组。提示在 EM 中可能由于异位内膜上皮细胞 CD44 的表达异常增高，导致异位子宫内膜腺上皮细胞易于在异位处侵蚀细胞外基质并在异位处种植、生长，使异位子宫内膜腺上皮细胞表现为浸润现象[2]；可能由于 CD44 的异常表达增加了异位子宫内膜腺上皮细胞的游动性，导致异位病灶的广泛播散而致异位病灶易于在盆腹腔种植、转移及生长[3]。我们的研究认为 EM 的发生可能与 CD44 的异常表达有关。尽管 CD44 与 EM 的发病关系国外仅有很少报道。同时 EM 异位子宫内膜上皮细胞 TGF-β_1 的表达高于对照组。提示由于异位子宫内膜上皮细胞 TGF-β_1 的表达升高，导致异位内膜能逃避免疫监视而能在异位处生长；异位内膜 TGF-β_1 表达的异常可促进异位病灶中新生血管形成，有利于异位病灶的种植，并可诱导异位内膜细胞的增生。已有研究表明 EM 患者其腹腔液及卵巢子宫内膜异位囊肿囊液中 TGF-β_1 的含量及活性均高于正常对照组，表明 TGF-β_1 可能与 EM 的发病有关[4,5]。但用免疫组织化学方法检测卵巢子宫内膜异位囊肿的在位和异位内膜 TGF-β_1 表达的报道尚少。因为 TGF-β_1 是一种以抑制免疫为主的负向调节因子，它可抑制 T 细胞及巨噬细胞的增殖及其活性，由于 EM 患者异位子宫内膜上皮细胞 TGF-β_1 的异常表达，导致免疫抑制作用增强，抑制了 NK 细胞和巨噬细胞的活性，从而使异位病灶逃脱免疫监视，为宫内膜上皮细胞的异位种植创造了条件。由于异位内膜 TGF-β_1 的异常表达，同时又可活化血管生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

长因子, 导致异位病灶周围微血管生成增多, 有研究表明异位内膜基底部毛细血管的数量和面积均明显增多, 说明异位内膜能成功种植与其局部新生血管形成有关[6]。新生血管增加, 局部对异位内膜种植的接受性增强, 使异位内膜的种植能力增加。故新生血管的形成和种植可促进异位细胞的增殖和浸润[7]。体外实验也显示 TGF-β_1 能促进异位内膜细胞的增殖、生长, 促进纤维化和腹膜粘连。所以异位内膜 TGF-β_1 的异常表达与异位内膜的生长及其与腹膜的粘连有关[8]。

尽管在位内膜细胞与异位内膜细胞在显微镜下的结构, 细胞骨架成分、胶原蛋白、上皮粘蛋白含量等方面无明显差异, 但近几年的研究表明, 其在免疫细胞成分, 细胞因子及其受体, 雌、孕激素受体等方面有着差异。我们的实验结果也显示出在位内膜细胞与异位内膜细胞在 CD44、TGF-β_1 表达存在差异。由此提示: 对 EM 在位内膜细胞与异位内膜细胞差异性的深入研究, 可能为 EM 的治疗开辟新的途径, 即采用只针对异位内膜细胞而不影响在位内膜细胞的生理功能的治疗方法, 为 EM 的有效治疗提供新的理论依据。

参考文献:

[1] 蔡文琴, 王伯沅. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994. 8－144.

[2] Perifti S, Sillem M, Arslic T, *et al*. *In vitro* expression of soluble and cell surface-associated CD44 on endometrial cells from women with and without endometriosis[J]. Eur J Clin Invest, 1998, 28(12): 1055－1060.

[3] Nothnick W B, Fan F, Iczkowski K A, *et al* CD44s expression is reduced in endometriotic lesions compared to eutopic endometrium in women with endometriosis[J]. Int J Gynecol Pathol, 2001, 20(2): 140－146.

[4] Badawy S Z, Cuenca V, Kumar S. *et al*. Effects of chocolate cyst fluid on endometrioma cell growth in culture[J]. Fertil Steril, 1998, 70(50): 827－830.

[5] Dou Q, Williams R S, Chegini N. *et al*. Inhibition of transforming growth factor-beta 1, alters the growth, anchor-dependent cell aggregation and integrin mRNA expression in human promonocytes: implications for endometriosis and peritonal adhesion formation[J]. Mol Hum Reprod, 1997, 3(5): 383－391.

[6] Luo X, Xu J, Chegini N, *et al*. The expression of Smads in human endometrium and regulation and induction in endometrial epithelial and stromal cells by transforming growth factor-beta[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(10): 4967－4976.

[7] Guan Y M, Carlberg M, Bruse C, *et al*. Impact of epidermal growth factor and transforming growth factor beta-1 on the release of fibrinolytic factors from cultured endometrial and ovarian endometriotic stromal cells[J]. Gynecol Obstet Invest, 2003, 55(1): 7－13.

[8] Badawy S Z, Holland J, Landas S, *et al*. The role of estradiol, progesterone, and transforming growth factor on human endometrioma cell culture [J]. Am J Reprod Immunol, 1996, 36(1): 58－63.

（编辑　刘洪娥）

（上接 1993 页）

专用探头均匀涂上耦合剂后放置产妇耻骨联合上 4 横指范围即膀胱区部位, 系好专用腹带, 将普林格尔仪调至“产后尿潴留”栏, 振幅由弱至强, 直至产妇感觉强弱适宜为止, 时间为 20～30 min, 共治疗 1～2 次。

2　结果

产妇经过普林格尔仪治疗后能自行排尿且 B 超提示膀胱排空为有效, 反之为无效。观察结果见表 1。

表 1　产妇解除尿潴留情况

组别	例数	有效	无效	有效率(%)
剖宫产者	8	7	1	87.5
自娩者	44	40	4	90.9

3　讨论

尿潴留是指尿液不能排出而积存于膀胱之内。尿潴留分为急性和慢性两类, 急性尿潴留的患者坐卧不宁, 难以忍受, 十分痛苦。引起产后尿潴留的原因很多。分析本治疗中对治疗无效的 4 例自娩产妇中, 1 例产妇由于对阴道分娩过程不了解, 心情紧张, 临产后未能完全排空膀胱, 过早的在第一产程和第二产程中发生尿潴留而行导尿术, 导致膀胱括约肌痉挛而使产妇产后不能排尿。2 例产妇由于第二产程延长及多次的阴道检查导致膀胱三角区粘膜及尿道充血水肿, 尿道的水肿使排尿阻力增加而导致尿潴留。另外 1 例产妇则因为担心会阴切口感染裂开, 不敢下蹲用力排尿, 导致膀胱过度充盈反射性抑制排尿。据文献[2]报道产后尿潴留的发生率为 6.2%, 产后尿潴留增加患者的留院时间, 泌尿道感染率增加, 影响患者的生活质量。有效的预防治疗产后尿潴留一直是产科关注的问题。我们的经验是首先要做好心理护理, 消除产妇术后怕伤口疼痛的顾虑, 鼓励产妇下床排尿。普林格尔理疗法是近期临床上采用的一种通过按摩、电刺激影响膀胱功能的物理疗法。它可使尿道炎症消退, 并有松弛腹肌和尿道括约肌的作用。在膀胱区均匀按摩推动的作用, 使膀胱肌群获得更多的血液, 使肌肉中含糖量增高, 增加肌肉代谢, 改善肌肉营养, 因而解除膀胱肌麻痹, 反射性刺激肌壁, 使膀胱逼尿肌收缩, 而促进排尿[3]。我们的临床试用疗效满意(有效率 87.5%、90.9%), 在操作上, 普林格尔理疗法比传统的方法更方便灵活, 患者易于接受, 为预防和治疗产后尿潴留提供一新的手段。

关键词: 普林格尔仪; 产后尿潴留
中图法分类号: R714.640.5　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 张志诚. 临床产科学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1999. 597－598.

[2] 万启碧. 产后尿潴留的护理体会[J]. 护士进修杂志, 1995, 10(2): 47.

[3] 陈敏英. 热按摩疗法在防治产后尿潴留中的应用[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1995, 4(11): 228.

（编辑　刘洪娥）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net