

VEGF、ER、PR在异位和在位子宫内膜中的表达

陈琼华¹, 曲军英², 邱娜璇¹, 陈达红¹

(1. 厦门市第一医院妇产科, 福建 厦门 361004; 2. 福建医科大学附属第一医院妇产科, 福建 福州 350004)

摘要: 研究血管内皮因子(VEGF)、雌激素受体(ER)和孕激素受体(PR)在子宫内膜异位症(EM)患者的异位和在位内膜中的表达. 采用免疫组化SP法分别检测45例EM(研究组)的异位和在位内膜及32例子宫肌瘤(对照组)的在位内膜中VEGF、ER、PR的表达. 利用图像分析仪测定的相应密度代表其表达强度. 研究组异位和在位内膜中VEGF的表达均显著高于对照组内膜($p < 0.01$), ER/PR则显著低于对照组内膜; ER、PR仅于异位内膜中的表达低于对照组内膜, 异位内膜中VEGF与ER呈正相关. 异位内膜和在位内膜中高VEGF和低ER/PR以及异位内膜中VEGF与ER正相关的特点可能与EM的发生发展有关.

关键词: 异位内膜; 在位内膜; VEGF; ER; PR

中图分类号: R 711

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2005)06-0870-04

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)的现代定义是: 子宫内膜细胞在宫腔外生长、发育、出血, 并引起症状. 因此在位内膜作为异地种植的物质主体, 在EM的发生发展中起着决定性作用, 以致于兴起“在位内膜决定论”的新学说^[1]. 同时EM是一种雌激素依赖性疾病以及具有强大血管形成能力的观点已成为共识. 近年的研究认为^[2], VEGF是促新生血管形成的最为有力的因子, 甾体激素必须通过靶器官组织内相应的受体才能起作用, 因此研究VEGF、ER、PR在EM中的作用趋于成熟. 但针对VEGF与ER、PR之间关系的探讨却鲜见报道. 本研究起于2001年7月止于2003年6月, 通过采用免疫组化SP法检测VEGF、ER、PR在异位内膜、在位内膜及对照组内膜中的表达, 探索它们在异位内膜、在位内膜和对照组内膜中表达的差异, 探讨它们在EM进展中的协同作用.

1 资料与方法

1.1 临床资料

研究组: 45例异位和在位内膜标本均取自本院妇产科1999年5月至2003年2月因卵巢型内异症而行手术的患者, 年龄 39.4 ± 3.3 岁, 增殖期31例, 分泌期14例.

对照组: 取同期因肌间型子宫肌瘤于我科行子宫

切除患者32例, 年龄 40.7 ± 2.5 岁, 均无月经性状的改变, 增殖期23例, 分泌期9例. 患者术前3个月内无激素及抗EM药物治疗史.

1.2 检测方法

(1) 取材: 术中取卵巢异位囊肿组织和其在位子宫内膜及同期因肌间型子宫肌瘤行全子宫切除术的患者的在位内膜, 置10%的甲醛液固定, 石蜡包埋, 4 μ m连续切片, HE染色后镜下观察到典型子宫内膜组织为入选标本, 分别为研究组的异位内膜、在位内膜和对照组的在位内膜.

(2) VEGF、ER、PR测定: 采用免疫组化SP法检测VEGF、ER、PR, 试剂一抗(即用型鼠抗ER、PR单克隆抗体, 即用型兔抗VEGF单克隆抗体)由美国Maxin Biotech公司生产, SP免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司. 操作按说明书进行. 用已知病理片作为阳性对照, 用PBS代替一抗作为阴性对照.

1.3 结果判定

采用澳大利亚Video Pro32彩色图像分析仪, 选择平均密度(总密度/扫描面积)代表VEGF、ER、PR的表达强度. 每个切片选择4个视野, 每个视野测定3次后取均值. 由同一人用同一台仪器测定. 此法克服了既往根据染色深浅, 利用半定量方法评定组间差异的主观性, 增强了实验的客观说服力.

1.4 统计学方法

运用SPSS11.0统计软件进行方差分析和 t 检验.

2 结果

收稿日期: 2004-10-25

基金项目: 厦门市科研基金(2001V4)资助

作者简介: 陈琼华(1970-), 女, 副主任医师.

*通讯作者: ccqh@163.com

表 1 VEGF、ER、PR、ER/ PR 在 3 内膜中的表达 (X ±s)
Tab. 1 Expression of VEGF, ER, PR, ER/ PR in the three endometriums(X ±s)

组 别	例 数	VEGF	ER	PR	ER/ PR
异位内膜	45	0.374 ±0.034 **	0.274 ±0.026 *	0.515 ±0.038 *	0.532 ±0.029 *
在位内膜	45	0.372 ±0.044	0.289 ±0.045	0.533 ±0.040	0.536 ±0.043 *
对照内膜	32	0.288 ±0.132	0.318 ±0.031	0.543 ±0.023	0.580 ±0.028

注: *与对照组的比较 $p < 0.05$.

表 2 ER、PR、ER/ PR 在 3 组内膜中增殖期及分泌期的表达 (X ±s)
Tab. 2 Expression of VEGF, ER, PR, ER/ PR in the proliferative phase and secretory phase of the endometriums(X ±s)

例 数			VEGF		ER		PR		ER/ PR	
组别	增殖	分泌	增殖期	分泌期	增殖期	分泌期	增殖期	分泌期	增殖期	分泌期
异位组	31	14	0.367 ±0.011 **	0.379 ±0.009	0.272 ±0.008	0.277 ±0.007	0.515 ±0.011	0.516 ±0.010	0.528 ±0.010	0.542 ±0.010
在位组	31	14	0.384 ±0.013	0.360 ±0.011	0.293 ±0.012	0.283 ±0.014	0.555 ±0.010 *	0.520 ±0.011	0.529 ±0.018	0.544 ±0.014
对照组	23	19	0.287 ±0.007	0.290 ±0.004	0.322 ±0.011 *	0.300 ±0.017	0.563 ±0.005 *	0.522 ±0.012	0.590 ±0.012	0.575 ±0.018

注: *同组中增殖期与分泌期的比较; $p < 0.05$, 与同期中与对照组的比较, $p < 0.05$.

2.1 VEGF、ER、PR、ER/ PR 在异位、在位和对照组子宫内膜中的表达

VEGF 主要表达于腺上皮的细胞浆,ER、PR 主要表达于腺上皮的细胞核内(图 1~6). VEGF 在异位、在位内膜中的表达显著高于对照组内膜($p < 0.01$). 异位内膜中 ER、PR、ER/ PR 及在位内膜中 ER/ PR 的表达显著低于对照组内膜($p < 0.05$).

2.2 ER、PR、ER/ PR 在 3 组子宫内膜的增殖期与分泌期中的表达

研究组异位、在位内膜中 VEGF 的表达强度在增殖期和分泌期中均显著高于相应期别的对照组内膜($p < 0.01$). 增殖期异位内膜的 ER、PR、ER/ PR 均显著低于对照组,在位内膜仅 ER/ PR 呈现低下(表 2).

2.3 VEGF 在 3 组子宫内膜中与 ER、PR 的相关性

VEGF 在异位内膜中与 ER 呈正相关,而在其他

内膜中与 ER、PR 均无相关性.

表 3 VEGF 在 3 组子宫内膜中与 ER、PR 的相关性
Tab.3 Relativity of VEGF with ER, PR in the three sets of endometriosis

组别	指标	例 数		VEGF	
		增殖期	分泌期	增殖期	分泌期
异位组	ER	31	14	0.488 *	0.491 *
	PR	31	14	0.040	0.053
在位组	ER	31	14	0.005	0.013
	PR	31	14	0.033	0.087
对照组	ER	23	9	0.313	0.300
	PR	23	9	0.253	0.274

注: * $p < 0.05$, 差异有显著性.

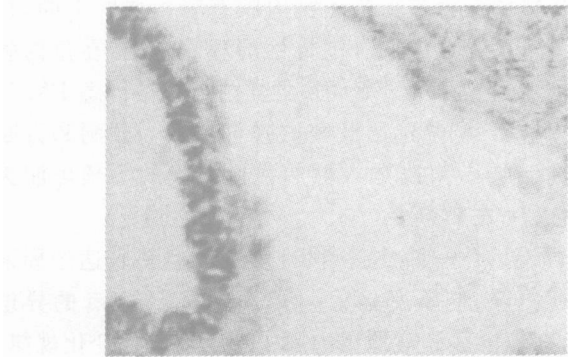


图 1 VEGF 在异位子宫内膜的表达(SP 法 ×400)
Fig.1 Expression of VEGF in ectopic endometriosis



图 2 VEGF 在 EM 在位子宫内膜的表达(SP 法 ×200)
Fig.2 Expression of VEGF in EM eutopic endometriosis

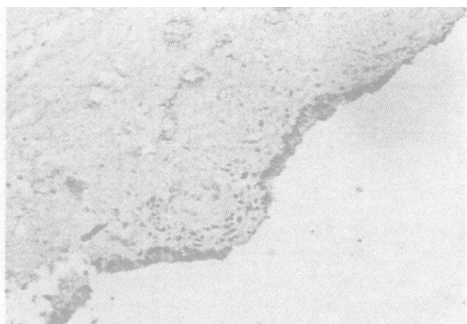


图3 ER在异位子宫内膜的表达(SP法 ×200)

Fig. 3 Expression of ER in ectopic endometriosis



图4 ER在EM在位子宫内膜的表达(SP法 ×200)

Fig. 4 Expression of ER in EM eutopic endometriosis

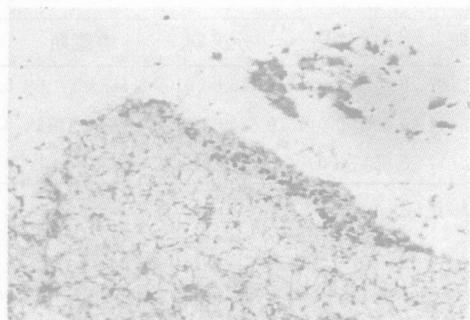


图5 PR在异位子宫内膜的表达(SP法 ×200)

Fig. 5 Expression of PR in ectopic endometriosis



图6 PR在EM在位子宫内膜的表达(SP法 ×200)

Fig. 6 Expression of PR in EM eutopic endometriosis

3 讨论

VEGF 可通过增加血管通透性,改变血管内皮细胞(EC)基因表达,促进血管内皮细胞的有丝分裂等途径导致新生血管的形成,成为目前公认的最关键的促血管形成因子,从而在EM的发生、发展中发挥重要的作用^[3]. 本研究结果显示,VEGF在异位内膜表达显著高于对照组内膜($p < 0.01$),提示异位内膜中VEGF的过度表达,使其具有很强的血管生成能力,得以在异位存活并进一步的侵袭、发展,使病灶不断地扩大.

EM是雌激素依赖性疾病.雌、孕激素只有与内膜细胞上的相应受体(ER、PR)特异性结合,才能将雌、孕激素信息传递至细胞内的特定部位,从而影响细胞的代谢过程或对基因表达进行调控^[4]. 本实验中异位内膜ER、PR、ER/PR均显著低于对照组内膜,提示异位内膜激素受体含量改变,可能影响局部雌激素代谢,致异位内膜呈现不成熟的生长而使异位灶持续增长,可能在EM发生发展中发挥重要的作用.

EM的发病学说纷纭众多,但乃以子宫内膜细胞随经血逆流种植为主导理论,但难以解释人群中70%~90%的妇女出现经血逆流却只有10%~15%的逆流经血发生EM.“在位内膜决定论”因此应运而生.此观点认为异位内膜与在位内膜,EM患者与非EM患

者的在位内膜之间存在差异,这种差异是EM发生发展的原因所在^[1]. 本研究显示,EM患者在位内膜VEGF的表达显著高于对照组内膜($p < 0.01$),和Tan等^[5]的结果一致.提示EM患者在位内膜可能因VEGF的过度表达而表现出比对照组内膜更强的血管形成能力,从而使自身一旦有机会逆流至腹腔,便很容易产生新生血管以获得血供而存活.本研究还显示,EM在位内膜中ER/PR的比值显著低于对照组内膜,且仅发生于增殖期;同时在位内膜中ER丧失周期性变化特点.从在位内膜中VEGF、ER、PR的表达及对激素反应的特异性层面上佐证“在位内膜决定论”的观点.表明EM发生不只是“条件致病”,其在位子宫内膜的生物学行为与正常子宫内膜有着本质的不同,是解释EM的家族倾向和遗传性的理论基础.在位内膜高VEGF表达和低ER/PR的比值可能是罹患EM的高危人群,诊断筛选出此类内膜可望成为预测和诊断EM的新方法.对高危人群的在位内膜的干预可能为EM的治疗另辟新径.

VEGF是一种性激素反应因子.但其表达的周期性尚存争议.本研究显示,VEGF在EM患者的异位内膜、在位内膜和对照组内膜中均无周期性变化规律,与方小玲等^[6]的最新研究结果一致.本研究还显示,EM患者的异位内膜和在位内膜中VEGF在增殖、分

泌期的表达均显著高于相应期别的对照组内膜,韩燕华^[7]的研究结果也证实了我们的发现.提示异位内膜和在位内膜的强血管形成能力贯穿于整个月经周期,从而使病程迁延不愈.

由于雌激素可在转录水平促进 ER、PR 的合成,孕激素则在转录和转录后水平抑制二者的合成,正常子宫内膜受增殖期高雌激素和分泌期高孕激素的影响,其 ER、PR 在增殖期的表达高于分泌期^[8].本实验中,ER、PR 在异位内膜的表达低于对照组内膜($p < 0.05$),且仅发生于增殖期,ER、PR 在异位内膜的增殖期与分泌期的表达均无显著性差异,说明异位内膜丧失了正常内膜的周期性变化规律的特点.提示异位内膜增殖期受体含量改变,尤其是异位内膜的 ER、PR 丧失了周期性变化规律的特点,可能影响到后期局部雌激素代谢,致异位内膜呈现不成熟的生长而使异位灶持续增长,并可能是激素治疗失败的原因之一^[9].

VEGF 既是性激素反应性因子,它在异位内膜中与雌孕激素受体的关系如何?目前鲜见相关文献.本实验显示,无论是增殖期还是分泌期,异位内膜中 VEGF 与 ER 均呈正相关,提示异位内膜中 VEGF 可能与 ER 存在相互促进的依存关系,ER 水平的增高促进 VEGF 的表达,使内膜具有较强的血管形成能力,从而易于在异地生长成活.VEGF 的高表达同时可能增加 ER 数量而促进内膜的异地增殖.二者在全月经周期中的相辅相成可能在 EM 发生发展中发挥重要

作用,并可能是疾病迁延不愈的原因所在.

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,2003,38:478-480.
- [2] Gescher D M, Haensel A, Meyhofer Malik A, et al. The importance of angiogenesis for the pathogenesis of endometriosis[J]. Zentralbl Gynakol, 2003,125:243-246.
- [3] Wu Ming, Yih Ho, Hong Nerng. The role of cytokines in endometriosis[J]. Am.J. Reprod Immunol, 2003,49(5):285-96.
- [4] 郎景和,主编. 子宫内膜异位症的基础与临床研究[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2003.228-242
- [5] Tan Xianjie, Lang Jinghe, Liu Dongyuan, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 mRNA in patients with endometriosis[J]. Fertil Steril, 2002,78(1):148-53.
- [6] 方小玲,夏晓梦,陈胡惠,等. 子宫内膜异位症患者腹腔液和在位子宫内膜血管内皮生长因子表达的研究[J]. 湖南医科大学学报,2003,28(3):288-290.
- [7] 韩燕华,周应芳,郑淑蓉,等. 子宫肌瘤病患者血管内皮生长因子表达的研究[J]. 中华妇产科杂志,2002,37(9):539-541.
- [8] 李诵炫,于传鑫,主编. 实用妇产科内分泌学[M]. 上海:上海医科大学出版社,2000.295-300
- [9] Kitawaki J, Kado N, Kengo S, et al. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease[J]. J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 2002,83(1-5):149-155.

The Expression of VEGF,ER,PR in Ectopic Endometrium and Eutopic Endometrium of EM Patients

CHEN Qiong-hua¹, QU Jun-ying², QIU Na-xuan¹, CHEN Da-hong¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology of Xiamen First Hospital, Xiamen

361004, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology of the Affiliated

First Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract: This paper studies the expression of VEGF, ER and PR in ectopic and eutopic endometrium in patients who suffer from endometriosis. Using immunohistochemistry SP method, we examine respectively the expression of VEGF, ER and PR in ectopic and eutopic endometrium of 45 EM cases (study group), and the expression of VEGF, ER and PR in eutopic endometrium of 32 cases of uterine fibroid (control group). Image dissector shows that the corresponding density represents its expression intensity. The expression of VEGF is remarkably higher in the ectopic endometrium and eutopic endometrium of study group than the endometrium of control group ($p < 0.01$). ER/PR are remarkably lower than the endometrium of control group. ER and PR are lower than the endometrium of control group only in the expression of ectopic endometrium while VEGF in ectopic endometrium is positively related to ER. The high VEGF and low ER/PR in ectopic and eutopic endometrium, together with the fact that VEGF and ER are positively related in ectopic endometrium, may be the cause of the pathogenesis of EM.

Key words: ectopic endometrium; eutopic endometrium; VEGF; ER; PR