

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00230

子宫腺肌病组织中 MCP-1 含量变化及意义

李娟^{1,2}, 温泽清¹, 尹格平², 陈铭², 陈英剑²

1. 山东大学医学院附属省立医院妇产科, 济南 250020

2. 济南军区总医院妇产科, 济南 250031

[摘要] **目的** 探讨单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)在子宫腺肌病发病中的作用。**方法** 采用免疫组化法和实时荧光定量 PCR 法检测 36 例子宫腺肌病患者在位内膜、异位病灶组织中的 MCP-1 含量,并与相应对照组进行比较。**结果** 腺肌病患者在位内膜和异位病灶组织 MCP-1 含量均高于相应正常对照组($P<0.05$);异位病灶组织中 MCP-1 含量高于在位内膜($P<0.05$),且两者具有相关性($r=0.87, P<0.01$)。**结论** MCP-1 可能参与了子宫腺肌病的发病过程,但具体分子机制尚需进一步研究。

[关键词] 子宫腺肌病;单核细胞趋化蛋白 1;发病学

[中图分类号] R 711.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)02-0230-03

Changes of monocyte chemoattractant protein-1 content in adenomyotic tissue and its significance

LI Juan^{1,2}, WEN Ze-qing¹, YIN Ge-ping², CHEN Ming², CHEN Ying-jian²

1. Department of Gynecology and Obstetrics, Provincial Hospital of Shandong, Shandong University School of Medicine, Jinan 250020, Shandong, China

2. Department of Gynecology and Obstetrics, General Hospital of Ji'nan Military Area Command, Ji'nan 250031, Shandong, China

[Abstract] **Objective** To investigate the role of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the pathogenesis of adenomyosis. **Methods** MCP-1 was examined by immunohistochemistry method and real-time PCR in the eutopic endometrium and ectopic endometrium of 36 patients with adenomyosis, and the results were compared with those of controls. **Results** MCP-1 contents in the eutopic endometrium and ectopic endometrium of patients with adenomyosis were significantly higher than those of normal controls($P<0.05$). The contents in ectopic endometrium tissue was significantly higher than that in eutopic endometrium tissue ($P<0.05$), and the contents in the two tissues were significantly correlated with each other ($r=0.87, P<0.01$). **Conclusion** MCP-1 may be involved in the pathogenesis of adenomyosis, but the specific molecular mechanisms need further study.

[Key words] adenomyosis; monocyte chemoattractant protein 1; pathogenesis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(2):230-232]

子宫腺肌病(adenomyosis)是指子宫内膜的腺体或间质侵入子宫肌层,在肌层内局灶性或弥漫性生长,并伴随周围肌层细胞的代偿性肥大和增生。近年来,子宫腺肌病的发病呈增长趋势,并且发病人群趋于年轻化。该病的发生一直以来被认为与子宫内膜局部受损有关。单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)是单核细胞趋化因子,诱导单核细胞迁移是其主要功能。国外学者发现子宫内异位症患者在位内膜高水平表达 MCP-1,认为 MCP-1 能促进异位内膜异地种植、增生形成异位灶^[1-2]。本研究通过对腺肌病患者在位内膜、异位灶等部位 MCP-1 含量的检测,试图探讨 MCP-1 在腺肌病发病中的作用。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选择 2009 年 2 月至 2010 年 7 月因子宫腺

肌病手术治疗的患者 36 例为研究组,年龄 27~53 岁,平均(38.7±6.2)岁,术前行诊断性刮宫留取在位内膜,术中留取异位灶组织,术后均经病理证实为腺肌病,其中增殖期 21 例,分泌期 15 例。对照组 33 例,年龄 32~53 岁,平均(41.2±5.2)岁,为同期因子宫肌瘤住院手术的患者,术后病理证实无合并腺肌病,其中增殖期 18 例,分泌期 15 例。所有患者术前 6 个月内均无服用甾体类激素史,两组患者年龄差异无统计学意义。

1.2 免疫组化检测 MCP-1 的表达 留取标本后,10%甲醛固定,常规石蜡包埋,切片厚度 5 μm,每份标本先行 H-E 染色,明确诊断后再行免疫组化检测。免疫组化采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶法(streptavidin-peroxidase, SP)。MCP-1 单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司)工作液浓度为 1:100,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。结果判

[收稿日期] 2011-10-08

[接受日期] 2012-01-04

[作者简介] 李娟,硕士,副主任医师。E-mail: ljwxy0012@sina.com

断:以胞质内出现棕色或棕黄色颗粒为阳性,随机选取5个具有代表性的高倍视野(400倍),计数阳性细胞占视野总细胞的百分数,以平均数作为最终结果。根据阳性细胞所占百分数和相应染色强度评分(immunohistochemical scores, IHS), $IHS=a \times b$, a 代表阳性细胞百分数(无阳性细胞者 $a=0$,阳性细胞数 $\leq 10\%$ 者 $a=1$,阳性细胞数 $11\% \sim 50\%$ 者 $a=2$,阳性细胞数 $51\% \sim 80\%$ 者 $a=3$,阳性细胞数 80% 以上者 $a=4$), b 代表阳性细胞染色强度(染色强度为阴性者 $b=0$,弱阳性者 $b=1$,中度阳性者 $b=2$,强阳性者 $b=3$)。

1.3 实时荧光定量PCR检测MCP-1的表达 留取标本后,迅速转移至 -80°C 冰箱保存待测。应用TRIzol法从组织中提取总RNA,按照说明书进行操作,制备cDNA,在LineGene实时荧光定量PCR仪(美国)上进行实时荧光定量PCR,以GAPDH作为内参照。引物设计参照NCBI的GenBank提供的人类mRNA基因序列,由宝生物工程(大连)有限公司合成:MCP-1上游引物 $5'-\text{GCT CAT AGC AGC CAC CTT CAT TC}-3'$,下游引物 $5'-\text{GGA CAC TTG CTG CTG}$

$\text{GTG ATT C}-3'$;GAPDH上游引物 $5'-\text{GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC}-3'$,下游引物 $5'-\text{TGG TGA AGA CGC CAG TGG A}-3'$ 。检测结果以 ΔCt 表示($\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{内参基因}}$), ΔCt 值越大表明目的基因的表达量越低。

1.4 统计学处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以SPSS 16.0软件包进行统计学处理,各组结果之间进行单因素方差分析,两两比较采用LSD法,相关分析采用Pearson等级相关分析法。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 免疫组化法检测各组中MCP-1的表达及相关分析结果 由图1和表1可见,腺肌病异位病灶和在位内膜的MCP-1表达高于对照组内膜,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01),异位病灶高于在位内膜,差异有统计学意义($P < 0.01$);各组内增殖期和分泌期MCP-1的表达差异无统计学意义。相关性分析表明在位内膜与异位病灶之间MCP-1的表达正相关($r = 0.87, P < 0.01$)。

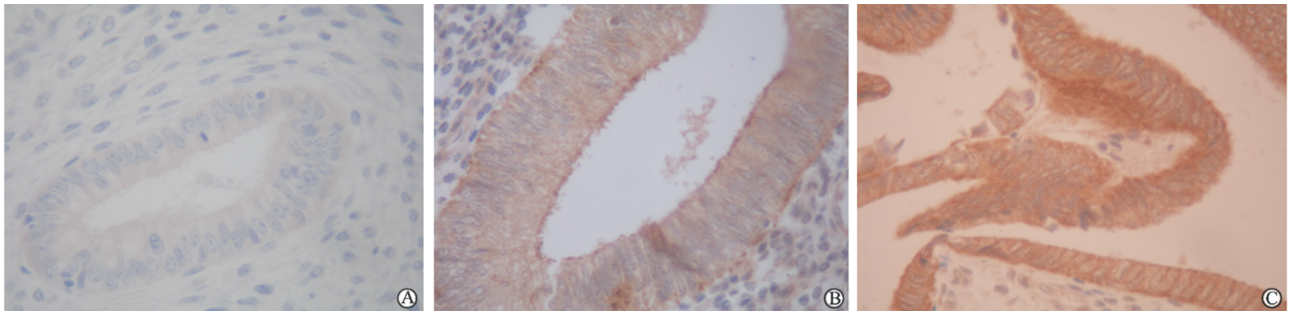


图1 免疫组化染色显示MCP-1在正常内膜(A)、在位内膜(B)和异位病灶(C)中的表达

表1 不同组间MCP-1表达的比较

组别	n	IHS
异位病灶($N=36$)		$8.39 \pm 3.87^{* * \Delta \Delta}$
增殖期	21	8.76 ± 3.92
分泌期	15	7.87 ± 3.87
在位内膜($N=36$)		$4.12 \pm 3.08^{\Delta}$
增殖期	21	4.76 ± 3.01
分泌期	15	3.33 ± 2.94
对照内膜($N=33$)		2.61 ± 2.46
增殖期	18	2.50 ± 2.62
分泌期	15	2.73 ± 2.34

IHS:免疫组化染色强度评分。* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 与对照内膜相比; $\Delta P < 0.01$ 与在位内膜相比

2.2 各组MCP-1 mRNA表达及相关分析结果 腺肌病异位病灶组织MCP-1 mRNA含量的 ΔCt 值为 2.66 ± 0.88 ,在位内膜组织为 3.34 ± 0.87 ,与相应正常对照组织(3.94 ± 1.70)相比差异均有统计学意义($P < 0.05$),异位病灶与在位内膜相比差异也具有统计学意义($P < 0.05$)。结果说明腺肌病组织MCP-1 mRNA含量高于正常对照组织,腺肌病异位病灶组织MCP-1 mRNA含量高于在位内膜组织。直线相关分析显示,在位内膜与异位病灶之间MCP-1 mRNA含量具

有相关性($r = 0.461, P = 0.005$)。

3 讨论

子宫腺肌病多发生于育龄期女性,发病年龄多在 $30 \sim 50$ 岁,发病率约为 $5\% \sim 70\%$ ^[3-4]。近年来该病的发生呈明显上升趋势,已成为妇科常见疾病。该病临床症状较重,严重影响患者的工作、生活以及生育功能,尤其是对于年轻或有生育要求的患者,治疗非常棘手。但是子宫腺肌病的发生机制目前尚不明确,一般认为与子宫内膜受损(如宫腔手术、分娩、剖宫产等)使内膜通过破损处侵入子宫肌层并继续生长有关。有研究认为,诊刮可使子宫内膜易于侵入子宫肌层,分娩次数和腺肌病之间亦具有关联性^[5]。内膜腺体或间质侵入子宫肌层并在异位继续生长的原因,成为近年来研究的热点。有学者发现子宫腺肌瘤异位内膜腺上皮的超微结构异常,认为这种改变使其能够突破机体的防御体系在“异域”生长^[6]。

MCP-1是CC类趋化因子之一,趋化单核细胞是其主要功能。国外学者在对内异症的研究中发现,内异症患者在内膜高水平表达MCP-1,腹腔液中MCP-1浓度较非患者升高,且与病情的轻重程度相关,认为MCP-1经输卵管逆流至腹腔后,吸引大量单核细胞募集至腹腔中,并进一步活化成

巨噬细胞,产生、分泌多种生长因子和细胞因子,促进异位内膜异地种植、增生形成异位灶^[1-2]。

本研究对腺肌病在位内膜、异位灶以及相应正常对照组组织中的 MCP-1 含量进行了检测,结果发现,腺肌病患者不论是在位内膜,还是异位灶,MCP-1 含量均高于相应正常对照组($P < 0.05$);异位灶 MCP-1 含量高于在位内膜,且两者具有相关性($P < 0.05$)。这些结果提示 MCP-1 参与了子宫腺肌病的发病过程。

由于 MCP-1 最早是在肿瘤组织中提取出来的,因此最初的一些研究与肿瘤有关。早期研究曾认为 MCP-1 能够提高机体免疫活性,提高机体的抗肿瘤能力。但是随着研究的深入,现在越来越多的研究结果显示,在恶性肿瘤组织中,MCP-1 可作为旁分泌因子直接刺激肿瘤细胞的生长和扩散,并且与恶性肿瘤的进展和预后密切相关^[7-8]。Sato 等^[9]在肿瘤的研究中还发现,较高水平的 MCP-1 可使宿主循环中单核细胞反应低下,使宿主免疫失调,从而使肿瘤细胞获得免疫逃逸,获得生长优势。

子宫腺肌病虽然是良性病变,但却具有属于恶性肿瘤的侵袭性生长行为。我们推测腺肌病患者局部组织中高水平的 MCP-1 可能同样是通过改变细胞的免疫状态而发挥作用,但具体的分子机制还有待进一步研究明确。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Saji H, Koike M, Yamori T, Saji S, Seiki M, Matsushima K, et al. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast

carcinoma [J]. *Cancer*, 2001, 92: 1085-1091.
[2] Hornung D, Bentzien F, Wallwiener D, Kiesel L, Taylor R N. Chemokine bioactivity of RANTES in endometriotic and normal endometrial stromal cells and peritoneal fluid [J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7: 163-168.
[3] Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Daguati R, Abbiati A, Fedele L. Adenomyosis: epidemiological factors [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2006, 20: 465-477.
[4] Parazzini F, Mais V, Cipriani S, Busacca M, Venturini P; GISE. Determinants of adenomyosis in women who underwent hysterectomy for benign gynecological conditions: results from a prospective multicentric study in Italy [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2009, 143: 103-106.
[5] Abstracts of the VIII International Congress of the Turkish-German Gynecological Association, 16-20 May 2007, Antalya, Turkey [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2007, 275 Suppl 1: 1-166.
[6] 金海燕,周龙书. 子宫内位异位症异位内膜的超微病理学改变及意义 [J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30: 1318-1320.
[7] Yu J L, Rak J W. Host microenvironment in breast cancer development: inflammatory and immune cells in tumor angiogenesis and arteriogenesis [J]. *Breast Cancer Res*, 2003, 5: 83-88.
[8] Kassim S K, El-Salahy E M, Fayed S T, Helal S A, Helal T, Azzam Eel-D, et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-8 are associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer patients [J]. *Clin Biochem*, 2004, 37: 363-369.
[9] Sato T, Terai M, Yasuda R, Watanabe R, Berd D, Mastrangelo M J, et al. Combination of monocyte-derived dendritic cells and activated T cells which express CD40 ligand: a new approach to cancer immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53: 53-61.

[本文编辑] 孙岩

《军医大学学报(英文版)》征稿、征订启事

《军医大学学报(英文版)》(*Journal of Medical Colleges of PLA*)是由第二、三、四军医大学及南方医科大学(原第一军医大学)共同主办、国内外公开发行(CN 31-1002/R, ISSN 1000-1948)的高级医药学综合性英文学术刊物,1986年6月创刊。本刊主要报道基础、临床、预防、军事医学、药理学和中国医学等领域的最新科研成果、新理论、新技术和新方法。辟有专家论坛、基础研究、临床研究、经验交流、短篇报道、个案报告等栏目。

本刊为中国英文版科技论文统计源期刊,并被纳入中国期刊网、万方数据库和中文科技期刊数据库等国内所有重要检索系统,已被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(VINITI Abstract Journal)、波兰《哥白尼索引》(IC)和荷兰《斯高帕斯》(Scopus)等国际知名检索系统收录,期刊全文已进入爱思唯尔(Elsevier)科技出版集团所属的 ScienceDirect 全文数据库(<http://www.elsevier.com/locate/jmcpla>)。

为了弘扬科研创新精神,推动医学事业发展,促进海内外学术交流,本刊面向全国和海外作者征稿。

来稿要求:来稿请附中文的文题、作者姓名、单位名称及较详细的中文摘要和 3~8 个关键词,参考文献放在文末。来稿务必写清个人通讯地址及联系电话,编辑部在接到稿件 30 日内通知作者稿件是否被采用。

刊发周期:由全国相关学科领域的知名专家和权威人士进行审稿,对审稿通过的论文 2~6 个月内安排刊出。国家、省部级基金资助和重点攻关项目稿件优先发表。

本刊为双月刊,A4 开本,80 g 铜版纸彩色印刷,每期定价 15 元,全年 90 元。可在当地邮局订阅(邮发代号 4-725),漏订者可来函本刊编辑部办理邮购。

地址:上海市翔殷路 800 号《军医大学学报(英文版)》编辑部,邮编:200433

联系人:徐佳 电话:021-81870788 转 818 分机

E-mail: jydxxb@yahoo.com.cn