

论著 · 临床研究

神经生长因子及其受体的表达在子宫内膜异位症患者中的临床意义

李著艳¹, 王恒^{2△}

(1. 湖北省十堰市人民医院妇科, 湖北十堰 442000; 2. 湖北省十堰市太和医院妇科, 湖北十堰 442000)

摘要:目的 探讨神经生长因子(NGF)及其受体 TrkA、p75 在子宫内膜异位症患者中的临床意义。方法 随机选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月收治的子宫内膜异位症患者 100 例, 其中腹壁子宫内膜异位结节(AEM)22 例, 卵巢子宫内膜异位囊肿(OEM)45 例, 宫骶韧带深部浸润型子宫内膜异位结节(DIE)33 例, 所有患者术前采用视觉模拟(VAS)评分法对术前疼痛进行评分, 入组病例为评分在 0 分或 10 分的病例, 并根据评分分为无疼痛组和疼痛组。应用免疫组织化学法对组织标本患者病灶中 TrkA、p75 及 NGF 的蛋白表达进行检测。另外选择 20 例同期子宫肌瘤且无疼痛患者的宫骶韧带组织作为对照组。结果 与对照组比较, NGF 及其受体 TrkA、p75 在 AEM、OEM 及 DIE 病灶中的表达均明显升高, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 与 AEM 及 OEM 病灶比较, p75 和 NGF 在 DIE 病灶中的表达明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与无疼痛组的 DIE、OEM 患者比较, 疼痛组 OEM、DIE 患者 p75 表达明显升高, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 而 TrkA 及 NGF 表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 子宫内膜异位症的发生和发展与 NGF 及受体 p75、TrkA 的参与有关, 子宫内膜异位症患者疼痛的发生与受体 p75 有关。

关键词:神经生长因子; 子宫内膜异位症; 受体; TrkA; p75**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.16.019**中图法分类号:**R711.71**文章编号:**1673-4130(2018)16-2005-03**文献标识码:**A**Clinical significance of expression of nerve growth factor and its receptor in patients with endometriosis**LI Zhuyan¹, WANG Heng^{2△}

(1. Department of Gynaecology, Shiyan People's Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China;

2. Department of Gynaecology, Shiyan Taihe Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of expression of nerve growth factor (NGF) and its receptor TrkA, p75 in patients with endometriosis. **Methods** A total of 100 cases of endometriosis treated from January 2014 to December 2016 in the hospital were selected, including 22 cases of abdominal endometriosis (AEM), 45 cases of ovarian endometriotic cyst (OEM), 33 cases of deep infiltration of endometriosis (DIE). Preoperative visual acuity score (VAS) was conducted on all patients for preoperative pain. The patients with 0 or 10 points were enrolled in the study, and divided into painless group and pain group. Immunohistochemical method was used to detect the expression of TrkA, p75 and NGF in the tissue samples from lesion of patients. The uterosacral ligament tissue of 20 patients with concurrent uterine fibroids and no pain was selected as the control group. **Results** The expressions of NGF and its receptors TrkA, p75 in AEM, OEM and DIE lesions were significantly higher than those in normal palatal ligament tissue, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with AEM and OEM lesions, the expressions of p75 and NGF in DIE lesions were significantly increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with patients with DIE and OEM lesions in painless group, the expression of p75 in patients with DIE and OEM lesions in pain group was significantly higher, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of TrkA and NGF ($P > 0.05$). **Conclusion** The occurrence and development of endometriosis is related to the involvement of NGF and receptor p75 and TrkA. NGF and receptor p75 are closely related to DIE. The occurrence of pain in patients with endometriosis is related to receptor p75.

Key words:nerve growth factor; endometriosis; receptor; TrkA; p75

子宫内膜异位症是临幊上较为常见的一种妇科疾病, 现有的研究表明其发病与雌激素水平密切相

作者简介:李著艳, 男, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤研究。 **△ 通信作者:**E-mail: 726551062@qq.com。**本文引用格式:**李著艳, 王恒. 神经生长因子及其受体的表达在子宫内膜异位症患者中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(16): 2005-2007.

关,此病多见于育龄期女性,其特征为子宫腔被覆黏膜以外的部位出现具有生长功能的子宫内膜组织^[1-3]。子宫内膜异位症的主要临床表现有不孕、月经异常及盆腔疼痛等^[4-5]。目前的研究认为异位病灶机械性牵拉、炎症性细胞因子异常及局部前列腺素水平增高等因素可能与子宫内膜异位症的疼痛发生有关,但其中具体的机制尚未明确^[6-8]。本文旨在探讨神经生长因子(NGF)及其受体TrkA、p75在子宫内膜异位症患者中的临床意义,以期为临床研究子宫内膜异位症疼痛的发生机制提供科学依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取2014年1月至2016年12月本院收治的子宫内膜异位症患者100例,其中腹壁子宫内膜异位结节(AEM)22例,卵巢子宫内膜异位囊肿(OEM)45例,宫骶韧带深部浸润型子宫内膜异位结节(DIE)33例。所有患者术前采用视觉模拟(VAS)评分法对术前疼痛进行评分,入组病例为评分在0分或10分的病例,并根据评分分为无疼痛组(VAS评分为0分)和疼痛组(VAS评分为10分)。另外选择20例同期子宫肌瘤且无疼痛患者的正常宫骶韧带组织作为对照组。

1.2 主要试剂 采用美国Abcam公司生产的多克隆兔抗人TrkA抗体及多克隆兔抗人NGF抗体;美国Santa Cruz公司生产的单克隆鼠抗人p75抗体;一抗稀释液、DAB与底物系统、二步法抗兔免疫组化检测试剂盒均由丹麦Dako Cytomation公司生产;3%过氧化氢溶液、抗原修复液及磷酸盐缓冲液(PBS)均由北京中杉金桥生物技术有限公司生产。

1.3 方法 首先将组织标本剪至适合大小,然后进行常规石蜡染色及石蜡切片处理。使用二甲苯对切片进行脱蜡处理,梯度乙醇至水化,先用PBS对切片进行冲洗,然后用3%过氧化氢溶液在室温环境下进行孵育,再次用PBS对切片进行冲洗,经微波抗原修复后放置冷却,并再次用PBS对切片进行冲洗,将稀释后的一抗加入并将其置于环境温度为37℃的湿盒内进行孵育,用PBS对切片进行冲洗,滴加二抗(1:300稀释的单克隆鼠抗人p75抗体、1:75稀释的多克隆兔抗人TrkA抗体,以及1:200稀释的多克隆兔抗人NGF抗体),置于室温环境下进行孵育处理,再次用PBS对切片进行冲洗,采用DAB进行显色处理,然后用大量的蒸馏水对处理后的切片进行持续、充分地冲洗使反应终止,用苏木素染液对标本进行复染处理,然后再次用大量的蒸馏水进行持续、充分地冲洗,标本经盐酸乙醇分化、淡氨水返蓝、梯度乙醇脱水及二甲苯透明等相应处理后进行封片处理。采用上海光学仪器一厂生产的倒置生物显微镜37XF对切片进行观察,并采集相关必要图像信息,图片的对比与评分采用H-SCORES评分法进行,见图1。



注:A为TrkA;B为p75;C为NGF

图1 NGF及其受体染色图

1.4 统计学处理 统计学分析采用SPSS19.0统计学软件进行,采用 $\bar{x}\pm s$ 表示计量资料,组间计量资料均数比较采用t检验;采用非参数检验比较各组蛋白表达水平。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 NGF及其受体在不同子宫内膜异位症病灶中的表达比较 与正常宫骶韧带组织比较,NGF及其受体TrkA、p75在AEM、OEM及DIE病灶中的表达均明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。NGF在DIE、OEM及AEM中的表达依次降低,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。p75在AEM及OEM病灶中的表达差异无统计学意义($P>0.05$);而与AEM及OEM病灶比较,p75在DIE病灶中的表达明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。TrkA在AEM、OEM及DIE病灶中的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 NGF及其受体在不同子宫内膜异位症病灶中的表达比较(分, $\bar{x}\pm s$)

指标	OEM (n=45)	AEM (n=22)	DIE (n=33)	对照组 (n=20)
p75	2.10±0.42*	2.21±0.72*	3.70±1.91*	0.51±0.22
TrkA	6.41±0.71*	6.50±0.32*	6.60±1.31*	1.01±0.48
NGF	6.51±0.78*	4.51±0.58*	7.10±1.61*	1.01±0.51

注:与对照组比较,* $P<0.05$

2.2 NGF及其受体在无疼痛组和疼痛组子宫内膜异位症患者OEM及DIE中的表达比较 与无疼痛组子宫内膜异位症患者OEM及DIE中的表达明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);而TrkA及NGF表达差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表2 NGF及其受体在无疼痛组和疼痛组子宫内膜异位症患者OEM及DIE中的表达比较(分, $\bar{x}\pm s$)

指标	DIE		OEM	
	无疼痛组 (n=15)	疼痛组 (n=18)	无疼痛组 (n=22)	疼痛组 (n=23)
p75	1.50±0.42	3.01±0.48*	0.51±0.22	2.21±0.51*
TrkA	5.81±0.71	6.30±0.82	6.60±0.71	6.49±0.61
NGF	7.01±1.21	7.20±1.13	6.80±0.42	6.91±0.49

注:与无疼痛组比较,* $P<0.05$

3 讨 论

NGF作为一种靶源性神经营养因子,不仅具有促突起生长的生物学功能,此外还具有神经元营养的

作用^[9-10]。它对于周围神经元及中枢神经的功能特性表达、再生、生长、分化及发育都具有重要的作用^[11-12]。目前研究还表明它在感觉神经元的遗传表型的维持及感觉神经元的发育、生存中也扮演着极其重要的作用^[13]。NGF 是机体疼痛外周敏感化产生的一种重要介质,根据亲和力程度,它的受体分为 2 种,分别是 p75 受体与 TrkA 受体^[14]。最新的研究表明,当 NGF 与神经细胞受体 p75、TrkA 等结合时,神经细胞因此实现分化、增殖,此外感觉神经元在 NGF 的诱导下也实现了数量的增加,这与子宫内膜异位症患者痛觉过敏及疼痛的发生密切相关^[15]。

本研究结果显示,在 NGF 及其受体在子宫内膜异位症病灶中的表达方面,与正常宫骶韧带组织比较,NGF 及其受体 TrkA、p75 在 AEM、OEM 及 DIE 病灶中的表达均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),显示出 NGF 及其受体 TrkA、p75 在子宫内膜异位症病灶中的高表达,这与相关类似研究结果相一致,提示子宫内膜异位症的发生和发展与 NGF 及受体 p75、TrkA 的参与有关,NGF 及其受体在子宫内膜异位症病灶部位的神经元生长过程中扮演着重要的角色^[16]。此外,本研究还发现 NGF 在 DIE、OEM 及 AEM 中的表达依次降低($P < 0.05$),p75 在 AEM 及 OEM 病灶中的表达差异无统计学意义($P > 0.05$);与 AEM 及 OEM 病灶比较,p75 在 DIE 病灶中的表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。TrkA 在 AEM、OEM 及 DIE 病灶中的表达差异无统计学意义($P > 0.05$),表明受体 p75 及 NGF 与 DIE 类型的子宫内膜异位症病灶密切相关。目前国内外鲜有关于 NGF 及其受体 TrkA、p75 与子宫内膜异位症患者疼痛关系方面的研究报道。本文在 NGF 及其受体与子宫内膜异位症患者疼痛的关系研究方面结果显示,与无疼痛组子宫内膜异位症患者 DIE、OEM 病灶比较,p75 在疼痛组中的表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 p75 在子宫内膜异位症 OEM 及 DIE 病灶的疼痛发生中有重要的作用;而 TrkA 及 NGF 在无疼痛组和疼痛组子宫内膜异位症患者的 OEM 及 DIE 之间表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。因此,笔者推测在 NGF 及其 2 个受体中,只有 p75 受体与子宫内膜异位症患者疼痛发生相关,但本研究样本量相对较少,存在一定的不足之处,仍然需要大量的样本进一步研究证实。

4 结 论

子宫内膜异位症的发生和发展与 NGF 及其受体 p75、TrkA 的参与有关,子宫内膜异位症患者疼痛的发生与受体 p75 有关。

参考文献

- [1] 张平,孙亚兵,陈正云,等.腹壁子宫内膜异位症 121 例临床研究[J].上海交通大学学报(医学版),2016,36(10):1463-1466.
- [2] ABRAO M S. Pillars for surgical treatment of bowel endometriosis[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2016, 23(4): 461-462.
- [3] XIONG W, ZHANG L, YU L, et al. Estradiol promotes cells invasion by activating β -catenin signaling pathway in endometriosis[J]. Reproduction, 2015, 150(6): 507-516.
- [4] 李晓燕,冷金花,郎景和. NGF 及其受体 TrkA 及 p75NTR 在子宫内膜异位症患者在位内膜中的表达及其与内异症疼痛的关系[J].现代妇产科进展,2012,21(6):435-439.
- [5] 史红敏,方圆. NGF 与子宫内膜异位症痛经相关性的研究进展[J].现代妇产科进展,2012,21(11):899-900.
- [6] PATEMAN K, HOLLAND T K, KNEZ J, et al. Should a detailed ultrasound examination of the complete urinary tract be routinely performed in women with suspected pelvic endometriosis? [J]. Hum Reprod, 2015, 30 (12): 2802-2807.
- [7] KIM S H, CHO S H, IHM H J, et al. Possible role of phthalate in the pathogenesis of endometriosis: in vitro, animal, and human data[J]. J Clin Endocrinol Metabol, 2015, 100(12):1502-1511.
- [8] 李晓燕,冷金花,郎景和. GnRH-a 对子宫内膜间质细胞中神经生长因子及其受体表达的影响[J].中华妇产科杂志,2012,47(6):440-444.
- [9] AHMAD S F, AKOUM A, HORNE A W. Selective modulation of the prostaglandin F2 alpha pathway markedly impacts on endometriosis progression in a xenograft mouse model[J]. Mol Hum Reprod, 2015, 21 (12): 905-916.
- [10] VALENTIJN A J, SARETZKI G, TEMPEST N, et al. Human endometrial epithelial telomerase is important for epithelial proliferation and glandular formation with potential implications in endometriosis [J]. Hum Reprod, 2015, 30(12):2816-2828.
- [11] 张鹏,姚吉龙. 子宫内膜异位症相关疼痛发病机制的研究进展[J].肿瘤预防与治疗,2015,22(3):179-182.
- [12] ELLETT L, READMAN E, NEWMAN M, et al. Are endometrial nerve fibres unique to endometriosis? A prospective case-control study of endometrial biopsy as a diagnostic test for endometriosis in women with pelvic pain [J]. Hum Reprod, 2015, 30(12):2808-2815.
- [13] LEAVY O. Reproductive immunology: Evading immunosurveillance in endometriosis [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(12):729.
- [14] 陈桃,郭渠莲. 神经节苷脂联合神经生长因子治疗小儿脑损伤的效果观察[J].中国妇幼保健,2014,29(5):728-730.
- [15] AKBARZADEH-JAHROMI M, SHEKARKHAR G, ASLANI F S, et al. Prevalence of endometriosis in malignant epithelial ovarian tumor [J]. Arch Iran Med, 2015, 18(12):844-848.
- [16] 王薇,文程,陈英才,等. 神经生长因子对 EAE 大鼠脑神经干细胞增殖以及对小儿病毒性脑炎的影响研究[J]. 中国妇幼保健,2014,29(17):2794-2797.