·论　　著·

白细胞介素 23 在子宫内膜息肉中的表达及临床意义*

周　宁[1]，富　饶[1]，黄谙非[2]，刘勇军[3]，谢小军[1△]
（南方科技大学医院：1. 检验科；2. 病理科，广东深圳 518028；
3. 广东医科大学基础医学院生化教研室，广东东莞 523808）

摘　要：目的　探讨白细胞介素 23（IL23）在子宫内膜息肉中的表达情况，为进一步探索子宫内膜息肉形成的原因和发病机制提供实验依据。**方法**　随机选取 2016 年 4 月至 2018 年 4 月于南方科技大学医院妇产科收治的子宫内膜息肉患者的子宫内膜息肉组织和正常子宫内膜组织，采用免疫组化方法和蛋白印迹方法检测 IL23 在子宫内膜息肉组织和正常子宫内膜组织中的分布情况及表达水平，采用 SPSS. 22 软件分析 IL23 与子宫内膜息肉各临床病理特征之间的相关关系。**结果**　IL23 的表达可见于子宫内膜腺上皮细胞和间质细胞的细胞质中；子宫内膜息肉组织中 IL23 表达阳性率较正常子宫内膜组织降低，差异具有统计学意义（$P<0.001$）；相关性分析显示，IL23 的表达与阴道分泌物镜检异常（$r=-0.298$，$P=0.035$）和阴道不规则出血（$r=-0.258$，$P=0.033$）均呈负相关，但与患者年龄、孕次、产次、息肉直径、息肉位置及息肉个数均无显著相关性（$P>0.05$）。**结论**　IL23 的表达与子宫内膜息肉的发生和临床表现存在显著关联性，研究 IL23 与子宫内膜息肉之间的关系有助于阐明子宫内膜息肉发病的分子机制。

关键词：子宫内膜息肉；　白细胞介素 23；　阴道分泌物；　阴道不规则出血
DOI：10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 18. 011　　**中图法分类号：**R446. 62
文章编号：1673-4130(2019)18-2219-04　　**文献标识码：**A

The expression and clinical significance of IL23 in endometrial polyps*

ZHOU Ning[1], *FU Rao*[1], *HUANG Anfei*[2], *Liu Yongjun*[3], *XIE Xiaojun*[1△]
(1. *Department of Clinical Laboratory*; 2. *Department of Pathology*, *Hospital of Southern University of Science and technology*, *Shenzhen*, *Guangdong* 518028, *China*; 3. *School of Basic Medical Sciences*, *Guangdong Medical University*, *Dongguan*, *Guangdong* 523808, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the expression of interleukin 23 in endometrial polyps, and to provide experimental basis for further exploring the causes and pathogenesis of endometrial polyps. **Methods**　We randomly selected specimens of EP and normal endometrial tissues diagnosed at the department of obstetrics and gynecology of the hospital, south university of science and technology, from April 2016 to April 2018. IL23 protein expression was analyzed by immunohistochemical staining and western blotting, and the correlation between IL23 and clinicopathological characteristics of EP was analyzed by SPSS22. 0 statistical software. **Results**　The positive expression of IL23 was found in cytoplasm of endometrial glandular epithelial cells and stroma cells. The positive rate of IL23 protein in the EP significantly decreased compared with control group ($P<0.01$), significantly negative associations were identified between IL23 expression and abnormal leucorrhea ($P=0.035$) and abnormal menstruation ($P=0.033$), however, no significant correlation were found between IL23 expression and age, polyps diameter, polyps location, polyps number, pregnancy and birth times ($P>0.05$). **Conclusion**　There was a significant correlation between the expression of IL23 and clinicopathological parameters of EP, the study on the relationship between IL23 and EP may contribute to understand the molecular mechanism in EP.

Key words: endometrial polyps;　interleukin 23;　vaginal secretions;　vaginal bleeding

子宫内膜息肉（EP）是女性常见的妇科疾病之一，　有文献报道在人群中的发病率约为 7. 8%～34. 9%，

*　**基金项目：**深圳市南山区技术研发和创意设计项目分项资金（2017042）。
作者简介：周宁，男，初级检验医师，主要从事息肉发生机制方面的研究。　△　**通信作者**，E-mail：84725770@qq. com。
本文引用格式：周宁，富饶，黄谙非，等. 白细胞介素 23 在子宫内膜息肉中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志，2019，40(18)：2219-2222.

其起源于基底层细胞的良性局限性增生，主要由纤维化的间质、厚壁血管和囊样扩张的腺体组成[1]。子宫内膜息肉可导致阴道异常出血、月经不规律、不孕，甚至国外研究报道子宫内膜息肉的恶变率高达 5.6%[2]，但其发病机制尤其是分子生物学的机制依然知之甚少。近年来研究发现子宫内膜息肉的发生与炎症存在相关性，但国内外对子宫内膜息肉的发生与炎症因子异常表达是否有关的研究报道较少，IL23 是一个炎性细胞因子，IL23 的异常表达与多种疾病的发生、发展存在密切联系，越来越多的证据表明 IL23 参与了鼻息肉、胃肠道息肉等多种组织的炎症过程，但在子宫内膜息肉中 IL23 与其是否也存在相关关系至今未见相关报道[3]。为此，本研究通过检测 IL23 在子宫内膜息肉中的表达及分析 IL23 与患者各临床病理参数之间的关系，探索子宫内膜息肉发生发病的机制，以期为临床的诊断和治疗提供进一步的理论依据。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取 2016 年 4 月至 2018 年 4 月于南方科技大学医院妇产科收治的患者，宫腔镜下切除并经病理学检查确诊为子宫内膜息肉组织共 60 例，同一患者经病理确诊为正常子宫内膜组织共 48 例。以上患者手术前 3 个月内没有接受过任何激素类药物治疗，且不患其他妇科相关疾病如子宫肌瘤、子宫腺肌症等。收集以上标本时，均经过患者本人同意并签署知情同意书。以上患者的临床病理信息如患者年龄、阴道不规则出血、阴道分泌物检查情况、孕次、产次、息肉直径、息肉位置等收集于住院时记录的病历。

1.2　方法

1.2.1　标本制作　标本用 10%甲醛溶液固定，石蜡包埋制作切片，HE 染色核实病理诊断。

1.2.2　免疫组化染色　石蜡切片 60 ℃烤 1 h，二甲苯脱蜡后再梯度乙醇脱水，置入枸橼酸钠溶液中进行抗原修复，浸入 3%H_2O_2 以消除过氧化物酶的活性，用羊血清封闭 30 min 后用 IL23 的Ⅰ抗室温孵育 30 min(博奥森公司)，PBS 洗涤 3 次，室温下加Ⅱ抗孵育，DAB 溶液显色，苏木素溶液复染，然后风化、返蓝、脱水、透明，最后封片。每次实验均在同样的条件下进行，以 PBS 代替Ⅰ抗作为阴性对照。

1.2.3　免疫组化的结果评分标准　免疫组织化学染色结果由两位经验丰富的病理科医生在双盲条件下采用半定量免疫反应评分系统进行评定，并对不一致的结果重新判断直至判定的结果统一。综合染色强度和染色面积进行结果判断，染色强度的评分标准为：0 分为不着色，1 分为淡棕黄色，3 分为深棕黄色，2 分为介于两者之间。每张切片随机抽取 4 个高倍视野，计算染色面积，染色面积评分标准为：0 分为＜10%，1 分为 10%～＜40%，2 分为 40%～70%，3 分为＞70%。两种评分的乘积即为阳性强度，范围为 0～9，当评分≥3 为表达阳性，评分＜3 为表达减弱或阴性[3]。

1.2.4　蛋白印迹实验　随机选取宫腔镜下切除的 3 例子宫内膜息肉组织为实验组，同一患者诊刮下来的正常子宫内膜为对照组，抽提蛋白，进行蛋白印迹实验。在约 30 mg 子宫内膜组织中加入 300 μL RIPA 裂解液，在研钵中充分研磨，按照说明书提取总蛋白并进行蛋白浓度的测定。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳，电转到 PVDF 膜，脱脂牛奶封闭 1 h，4 ℃冰箱Ⅰ抗孵育过夜(Abcam 公司)，PBST 洗涤 3 次，加Ⅱ抗，室温孵育 1 h，PBST 漂洗 3 次，采用底物化学发光，用化学发光成像分析仪检测目的条带。

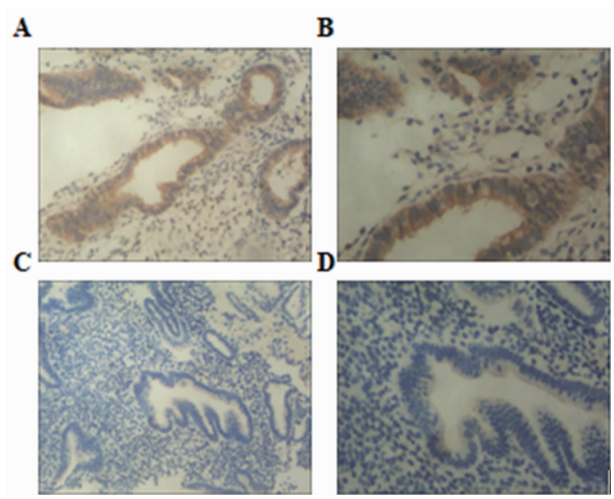
1.3　统计学处理　采用 SPSS22.0 进行统计学分析，计量资料采用独立样本 t 检验，计数资料采用构成比表示，两组间比较采用 χ^2 检验，IL23 与患者各临床病理参数之间的相关性采用 Pearson 相关性分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　IL23 蛋白在子宫内膜息肉和正常子宫内膜的表达　免疫组化的结果显示 IL23 蛋白表达主要定位于子宫内膜腺上皮细胞和间质细胞的细胞质中，呈棕黄色颗粒。IL23 蛋白在正常子宫内膜组中的阳性表达率明显高于子宫内膜息肉组，差异有统计学意义(71.7% *vs.* 28.3%，$P<0.001$)，见表 1、图 1。

表 1　IL23 蛋白在正常子宫内膜组和子宫内膜息肉组中的表达[n(%)]

组别	n	IL23 蛋白的表达		χ^2	P
		阴性	阳性		
正常子宫内膜组	48	8(16.7)	40(71.7)	32.37	＜0.001
子宫内膜息肉组	60	43(83.3)	17(28.3)		



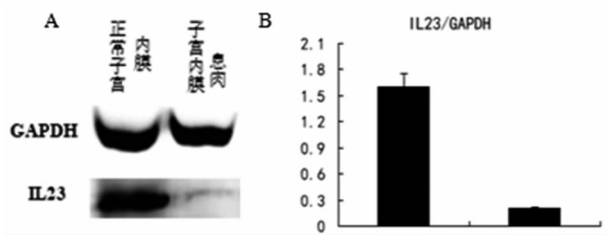
注：A 和 B 表示正常子宫内膜组织中 IL23 阳性表达(×200、×400)；C 和 D 表示子宫内膜息肉组织中 IL23 阴性表达(×200、×400)

图 1　正常子宫内膜组织和子宫内膜息肉组织中 IL23 免疫组化染色情况

蛋白印迹实验结果表明 IL23 在子宫内膜息肉组中的表达水平较正常子宫内膜组水平下降，差异有显

著性($P<0.05$)，与免疫组化染色结果一致，见图 2。

2.2　子宫内膜息肉中 IL23 的表达与患者各临床病理参数的关系　阴道分泌物镜检异常包括检出滴虫、真菌、线索细胞和白带清洁度为Ⅲ或Ⅳ度；患者阴道异常出血表现为经期延长或缩短、经量增多、不规则阴道流血、痛经、绝经后阴道出血等。经 Pearson 相关性分析比较 IL23 与患者各临床病理参数之间的关系，结果发现 IL23 表达水平与阴道分泌物镜检异常(68.33% *vs.* 31.67%，$r=-0.298$，$P=0.035$)和阴道不规则出血成负相关(63.93% *vs.* 36.07%，$r=-0.258$，$P<0.05$)，但其与患者年龄、孕次、产次、子宫内膜息肉位置、息肉直径和息肉个数均无显著的相关性($P>0.05$)，见表 2。



注：A 为使用蛋白印迹实验检测 GAPDH 和 IL23 蛋白水平；B 为使用 Image J 灰度分析软件评估正常子内膜组和子宫内膜息肉组中 IL23/GAPDH 比值

图 2　正常子宫内膜组和子宫内膜息肉组中 IL23 表达情况

表 2　子宫内膜息肉中 IL23 表达及其与各临床病理参数的关系(n)

临床病理参数	阴性	阳性	r	P
年龄				
＜35 岁	15	6	0.397	0.977
≥35 岁	28	11		
阴道分泌物镜检				
正常	2	13	−0.298	0.021
异常	41	4		
息肉直径				
＜1 cm	8	7	0.23	0.079
≥1 cm	34	10		
息肉位置				
前壁	12	3	0.024	0.855
后壁	23	12		
侧壁	8	2		
息肉个数				
单发	34	11	0.149	0.254
多发	9	6		
孕次				
≤2	21	8	0.016	0.907
＞2	22	9		
产次				
＜2	28	9	0.097	0.467
≥2	15	8		
阴道异常出血				
否	11	10	−0.258	0.048
是	32	7		

3　讨　论

子宫内膜息肉是妇科常见疾病，其可因使受精卵着床失败而引起不孕，研究发现多发性息肉比单发息肉患者经宫腔镜切除后复发风险更高，甚至其可过度增生至恶变，因此探索子宫内膜息肉发病机制对提高其检出率和治疗效果至关重要[4]。实验首次证实了 IL23 在子宫内膜息肉中表达下调，且表达水平下调的 IL23 更常见于阴道分泌物镜检异常和不规则阴道流血的患者。

目前已知与子宫内膜息肉发病机制密切相关的因子有：胰岛素样生长因子、表皮生长因子、转化生长因子、血管内皮细胞生长因子等[5-6]。LOPES 等[7]研究证实雌激素和孕激素受体在子宫内膜息肉中表达水平比正常内膜组织升高。在以往的研究中，虽发现子宫内膜息肉与炎症之间存在相关关系，子宫内膜息肉患者同时存在子宫内膜炎显著性增加，但子宫内膜息肉患者与炎症因子之间的相关关系未见相关研究报道，具体的分子机制仍不明确。IL23 是近年来研究较多的炎症因子之一，其与息肉的研究主要集中于鼻息肉、鼻窦息肉、宫颈息肉和肠息肉等，而子宫内膜息肉与 IL23 蛋白之间的关系未知[3,8-9]。

IL23 是 IL12 家族中新发现的一个异源二聚体细胞因子，由 p19 和 p40 两个亚基组成，其中，p40 与 IL-12 中的 p40 具有同源性，人活化的树突细胞、巨噬细胞、T 细胞和内皮细胞都能产生 IL-23[10-11]。此研究通过免疫组化实验发现子宫内膜的腺上皮细胞和间质细胞的细胞质也被染成棕黄色，表明子宫内膜的腺细胞和间质细胞也能产生 IL23，但其具体产生机制需要进一步的研究。IL23 是炎性细胞因子，参与了关节、鼻、鼻窦、子宫颈和肠道等多种组织的慢性炎性反应，并在局部组织重塑过程中起重要作用[12-13]。丁国臣等研究发现 IL23p19mRNA 在鼻息肉中表达水平明显高于鼻甲黏膜组织[8]。基因微阵列发现 IL23p40DNA 在宫颈息肉和宫颈内膜中存在差异，蛋白印迹方法进一步验证了宫颈息肉中 IL23p40 表达水平较正常组升高[9]。从骨关节炎患者体内分离的滑膜细胞在体外培养，发现阻断 IL23 可以抑制促炎因子 TNF-α、IL-1B、和 IL6 的产生[14]。与野生型小鼠相比，IL-23p19 缺失的小鼠慢性肠道炎症性疾病的发病率降低。Kaiqa T 在体外实验中研究发现 IL23 通过 Th1 细胞能够增强宿主对病原微生物的免疫性和防御能力。研究报道 IL-23 的主要生物学功能是调解新的 $CD4^+$ T 细胞(Th17 细胞)产生 IL-17，形成 IL-23/IL-17 轴而在慢性炎性反应性疾病中发挥重要作用[15]。IL17 在抗炎抗肿瘤免疫中是一把双刃剑，其既可以通过促进血管的生成和增加细胞免疫逃逸功

能促进肿瘤的生长，也可以通过招募中心粒细胞、NK 细胞和 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞到肿瘤组织而发挥抗炎抗肿瘤的作用[16]。有研究发现 IL17 和抗炎症细胞因子 IL37 之间存在相关关系，在子宫内膜异位症中 IL37 过度表达可以减少炎性相关因子的表达如 IL-1B、IL6、IL10，甚至可以抑制子宫基质细胞的增殖、黏附、迁移、侵入及 MMP-2 和 PPP-9 的活性[17]。而本研究发现在子宫内膜息肉中 IL23 表达下调，表明 IL23 在子宫内膜息肉中可能发挥了抗炎症抗息肉形成的作用。综上所述，IL23 在子宫内膜息肉中是否通过 IL17 而发挥抗炎症抗息肉的作用机制有待进一步的研究与确定。

国外研究发现用 ELISA 法检测念珠菌阴道炎患者阴道分泌物中 IL23p19 的水平，结果显示阴道念珠菌病患者的 IL23p19 表达水平显著低于正常组，表明念珠菌属真菌感染阴道可能使 IL23 分泌减少，IL23 在念珠菌病阴道炎中可能起了保护的作用[18]。研究结果发现 IL23 的表达与阴道分泌物镜检异常存在负相关，是否念珠菌等病原微生物所致阴道炎可能逆行上行至子宫内膜，不断炎症刺激使 IL23 表达下调，刺激子宫内膜组织不断增生导致息肉的形成，但其具体作用机制有待进一步的研究。子宫内膜息肉最常见的临床症状为阴道不规则流血，也是患者就诊最常见的原因，本研究发现在子宫内膜息肉患者中 IL23 表达在阴道不规则流血和阴道未发生不规则流血建有差异，但具体机制不明，有待将来研究的进一步阐明。

4 结　论

本研究初步推测 IL23 的下调可能参与了子宫内膜息肉的形成，为后续深入研究奠定基础。同时，IL23 与患者阴道炎和阴道不规则流血存在相关关系，值得进一步的关注。

参考文献

[1] SALIM S, WON H, NESBITT-HAWES E, et al. Diagnosis and management of endometrial polyps: a critical review of the literature[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2011, 18(5): 569-581.

[2] SIMONE R D R, MARLIE E S, THEODOOR E N, et al. Atypical endometrial polyps and concurrent endometrial cancer: a systematic review[J]. Obstet Gynecol, 2016, 128(3): 47-52.

[3] LAN F, ZHANG L, WU JC, et al. IL-23/IL-23R: potential mediator of intestinal tumor progression from adenomatous polyps to colorectal carcinoma[J]. Int J Colorectal Dis, 2011, 26(12): 1511-1518.

[4] GU F, ZHANG H X, RUAN S M, et al. High number of endometrial polyps is a strong predictor of recurrence: findings of a prospective cohort study in reproductive-age women[J]. Fertil Steril, 2018, 109(3): 493-500.

[5] 佘远萍，陈正勤，杨冰，等. IGF-I 和 IGF-IR 在子宫内膜息肉中的表达及临床意义[J]. 中国妇幼保健，2012，27(14)：2174-2176.

[6] 周曼萍，何援利，乔琳，等. 转化生长因子-β1 及 Smad2/3 在宫腔粘连患者子宫内膜组织中的表达及意义[J]. 广东医学，2014，35(12)：1844-1846.

[7] LOPES R G, BARACAT E C, De ALBUQUERQUE N L C, et al. Analysis of estrogen- and progesterone-receptor expression in endometrial polyps[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2007, 14(3): 300-303.

[8] 丁国臣，王亚辉，司迎，等. IL-23 在鼻息肉中的表达及其意义[J]. 武警医学，2012，23(11)：976-978.

[9] LIU Y L, ZHANG Y L, FU J H, et al. Inflammation-Related gene expression profiles of endocervical polyps[J]. J Interferon Cytokine Res, 2012, 32(5): 191-197.

[10] EL-HAMARNEH T, HEY-CUNNINGHAM AJ, BERBIC M, et al. Cellular immune environment in endometrial polyps[J]. Fertil Steril, 2013, 100(5): 1364-1372.

[11] OPPMANN B, LESLEY R, BLOM B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12[J]. Immunity, 2000, 13(5): 715-725.

[12] HILLYER P, LARCHE MJ, BOWMAN EP, et al. Investigating the role of the interleukin-23/-17A axis in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol, 2009, 48(12): 1581-1589.

[13] MORRISON P J, BALLANTYNE S J, KULLBERG M C. Interleukin-23 and T helper 17-type responses in intestinal inflammation: from cytokines to T-cell plasticity[J]. Immunology, 2011, 133(4): 397-408.

[14] STAMP L K, EASSON A, PETTERSSON L, et al. Monocyte derived interleukin (IL)-23 is an important determinant of synovial IL-17A expression in rheumatoid arthritis[J]. J Rheumatol, 2009, 36(11): 2403-2408.

[15] WAMG K, KARIN M. The IL-23 to IL-17 cascade inflammation-related cancers[J]. Clin Exp Rheumatol, 2015, 33(4): 87-90.

[16] KIKLY K, LIU L, Na S, et al. The IL-23/Th17 axis: therapeutic targets for autoimmune inflammation[J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19(1): 111-116.

[17] ZHANG Q F, CHEN G Y, LIU Y, et al. Relationship between resistin and IL-23 levels in follicular fluid in infertile patients with endometriosis undergoing IVF-ET.[J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(9): 1431-1435.

[18] KOLBEN T, PIEPER K, GOESS C, et al. IL-23, IFN-alpha, and IFN-beta in the vaginal fluid of patients suffering from vulvovaginal candidosis[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2017, 44(1): 7-10.

（收稿日期：2019-01-16　修回日期：2019-03-08）