

子宫肌瘤组织信号通路分子 及 MMPs、IL-6、IL-10 的表达及临床意义

卢斋, 陈华, 钟业超, 郑小妹, 陈曼玲

(海南医学院附属医院妇产科, 海南 海口 570102)

【摘要】 目的 检测子宫肌瘤患者信号通路分子及 MMPs、IL-6、IL-10 及 T 细胞亚群相关指标并探讨其临床意义。方法 选取海南医学院附属医院妇科 2013 年 1 月至 2016 年 10 月收治的患子宫肌瘤而行子宫全切除术或子宫次全切除术患者 68 例作为观察组, 选择同期 60 例因宫颈 CIN III 级行子宫切除术的患者作对照组, 采用 Western blot 检测信号通路分子的含量, 免疫组化法测定 MMP-2、MMP-7、MMP-9、IL-6、IL-10 的含量, S-P 法对 T 细胞亚群相关指标进行检测分析。结果 观察组患者抗氧化信号通路分子 ARE、Nrf2 含量分别为 (79.31±15.24)、(83.53±16.42), 明显低于对照组的 (227.35±27.17)、(173.41±20.15), 增殖信号通路分子 Ras、JNK、ERK 含量分别为 (87.36±13.75)、(92.16±15.31)、(95.47±15.03), 高于对照组的 (23.69±3.61)、(35.16±6.37)、(34.73±5.81), 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。观察组血清中 MMP-2、MMP-7、MMP-9 含量分别为 (35.24±3.78)、(25.74±4.63)、(38.56±4.39), 均低于对照组的 (84.57±17.39)、(94.75±16.57)、(85.73±17.41), 观察组 IL-6、IL-10 水平分别为 (28.96±0.68)、(16.37±6.42), 低于对照组的 (39.18±1.56)、(13.25±2.46), 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$)。观察组外周血 CD4⁺、CD8⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 细胞水平分别为 (39.63±9.64)%、(29.24±7.62)%、(1.32±0.18), 均显著低于对照组 (79.82±8.75)%、(38.72±6.21)%、(1.96±0.34), 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 MMPs、IL-6、IL-10 及 T 细胞亚群相关指标可早期预测子宫肌瘤的发生。

【关键词】 子宫肌瘤; MMPs; IL-6; IL-10; T 细胞亚群

【中图分类号】 R737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)17-2762-04

Expression and clinical significance of signaling pathway molecules and MMPs, IL-6, IL-10 in uterine fibroids.

LU Zhai, CHEN Hua, ZHONG Ye-chao, ZHENG Xiao-mei, CHEN Man-ling. Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan, CHINA

【Abstract】 **Objective** To investigate the indexes of signal pathway molecules and MMPs, IL-6, IL-10 and T-cell subgroups in patients with uterine fibroids and to explore their clinical significance. **Methods** Sixty-eight patients who underwent total hysterectomy or subtotal hysterectomy for uterine fibroids Department of Obstetrics and Gynecology of our hospital from January 2013 to October 2016 were selected as the observation group, and 60 patients who underwent hysterectomy for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III at the same time were enrolled in the control group. Western blot was used to detect the contents of signaling pathway molecules, and the contents of MMP-2, MMP-7, MMP-9, IL-6, IL-10 were evaluated by immunohistochemistry and S-P method was used to determine the T-cell subgroups indexes. **Results** The contents of antioxidant signaling pathway molecules ARE and Nrf2 in the observation group were (79.31±15.24) and (83.53±16.42), significantly lower than (227.35±27.17) and (173.41±20.15) in the control group, respectively ($P<0.05$). The contents of Ras, JNK and ERK in proliferation signaling pathway were (87.36±13.75), (92.16±15.31) and (95.47±15.03), respectively, significantly higher than (23.69±3.61), (35.16±6.37) and (34.73±5.81) in the control group ($P<0.05$). Serum levels of MMP-2, MMP-7 and MMP-9 were (35.24±3.78), (25.74±4.63) and (38.56±4.39), respectively, significantly lower than (84.57±17.39), (94.75±16.57) and (85.73±17.41) in the control group ($P<0.05$). The levels of IL-6, IL-10 in the observation group were (28.96±0.68) and (16.37±6.42), significantly lower than (39.18±1.56) and (13.25±2.46) in the control group, respectively ($P<0.05$). The data of CD4⁺, CD8⁺ cell counts and CD4/CD8 ratio in the peripheral blood of the observation group were (39.63±9.64)%, (29.24±7.62)% and (1.32±0.18), significantly lower than (79.82±8.75)%, (38.72±6.21)% and (1.96±0.34) in the control group, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** MMPs, IL-6, IL-10 and T-cell subgroups can predict the occurrence of uterine fibroids.

【Key words】 Uterine leiomyoma; MMPs; IL-6; IL-10; T-cell subgroups

子宫肌瘤是妇科的良性肿瘤, 在临床比较常见, 中年妇女较为多发, 大多数患者症状表现为下腹胀、腰酸、月经以及白带异常, 导致日常生活质量受到较大影响。子宫肌瘤又被称作纤维肌瘤或子宫纤维瘤, 其形成的主要原因是子宫平滑肌细胞增生, 且其发病率呈上升趋势, 是最为常见的妇科良性肿

瘤。生育期的妇女其子宫肌瘤发病率为 20%~25%, 约占女性良性生殖器肿瘤的一半^[1-3]。临床上为满足患者对生育的需求, 多采取保留子宫的治疗手段, 治疗常用方法包括腹腔镜子宫肌瘤剔除术、药物治疗及高强度聚焦超声治疗等^[4-5]。本文对子宫肌瘤患者信号通路分子及基质金属蛋白酶(MMPs)、白介素(IL)-6、

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(编号: 琼卫 2002]x-12)

通讯作者: 陈华。E-mail: 13158907287@163.com

IL-10及T细胞亚群CD4⁺、CD8⁺及CD4⁺/CD8⁺细胞水平进行检测,并分析其与子宫肌瘤发病的相关关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取海南医学院附属医院妇科2013年1月至2016年10月收治的患子宫肌瘤而行子宫全切除术或子宫次全切除术患者68例作为观察组。纳入标准:(1)术前排除宫颈病变,行常规巴氏涂片检查或液基细胞学检查;(2)单发的浆膜下或者肌壁间的子宫肌瘤,其中不包括宫颈肌瘤及阔韧带;(3)患者发生月经改变的,需排除内膜病变,通过常规诊刮或宫腔镜下诊刮进行排除;(4)手术过程中除肌瘤剥除手术以外,未行其他任何手术;(5)患者均未患糖尿病以及甲状腺功能异常等疾病,且无卵巢肿瘤等并发症。对照组选择60例因宫颈CINⅢ级行子宫切除术的患者,均为月经周期规律的增生期患者,所有患者无子宫内膜增生、子宫肌瘤及子宫腺肌症等疾病。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。

表1 两组患者基线资料的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	平均年龄(岁)	体质量指数(kg/m ²)	平均病程(月)	术后住院时间(d)
观察组	68	46.63±3.24	25.56±4.57	16.03±4.78	11.7±1.6
对照组	60	44.51±5.98	24.67±4.63	15.25±4.37	16.3±2.1
χ^2/t 值		0.908	0.516	0.704	0.632
P 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

1.2 标本采集及保存方法 观察组患者在手术过程中收集肌瘤组织,对照组患者手术过程中收集子

宫平滑肌组织,所收集组织采用生理盐水清洗后转入冻存管,放置于液氮中迅速冷冻,取出后仍置于-80℃环境进行保存。

1.3 指标检测 采用Western blot检测信号通路分子,包括抗氧化反应原件(ARE)、核因子E2相关因子(Nrf2)、*Ras*基因、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)的含量;采用免疫组化法测定MMP-2、MMP-7、MMP-9、IL-6、IL-10的含量;主要采用S-P法对T细胞亚群相关指标CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺进行检测分析,具体检测操作方法严格按照相关检测试剂盒中的说明书执行。

1.4 统计学方法 应用SPSS19.0统计软件进行数据分析,计量资料均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验,均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组信号通路分子表达比较 观察组患者抗氧化信号通路分子ARE、Nrf2含量低于对照组,增殖信号通路分子Ras、JNK、ERK含量高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

2.2 两组血清中MMPs分子活性及IL-6、IL-10比较 观察组血清中MMP-2、MMP-7、MMP-9活性低于对照组,观察组IL-6、IL-10水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表3。

2.3 两组T细胞亚群变化情况比较 观察组患者CD4⁺、CD8⁺及CD4⁺/CD8⁺细胞水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表4。

表2 两组信号通路分子表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	ARE	Nrf2	Ras	JNK	ERK
观察组	68	79.31±15.24	83.53±16.42	87.36±13.75	92.16±15.31	95.47±15.03
对照组	60	227.35±27.17	173.41±20.15	23.69±3.61	35.16±6.37	34.73±5.81
t 值		13.217	10.035	19.163	21.174	20.216
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表3 两组MMPs分子活性及IL-6、IL-10比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	MMP-2	MMP-7	MMP-9	IL-6	IL-10
观察组	68	35.24±3.78	25.74±4.63	38.56±4.39	28.96±0.68	16.37±6.42
对照组	60	84.57±17.39	94.75±16.57	85.73±17.41	39.18±1.56	13.25±2.46
t 值		9.254	7.387	10.438	8.329	12.238
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表4 两组T细胞亚群变化情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
观察组	68	39.63±9.64	29.24±7.62	1.32±0.18
对照组	60	79.82±8.75	38.72±6.21	1.96±0.34
t 值		6.526	3.778	3.011
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

临床上女性患者良性生殖肿瘤中,子宫肌瘤是最为常见的,其主要由平滑肌和纤维结缔组织构成。大量科学研究表明,在子宫肌瘤的发病机制中,遗传、激素水平、生长因子、炎症缺血性损伤等均发挥非常重

要的作用^[6-7]。Keap1-Nrf2-ARE具有保护细胞及预防癌变的作用,此信号通路与细胞氧化还原稳态关系非常密切^[8-9]。Nrf2在机体正常生理条件下,能够通过进入细胞核,并与ARE相结合,对下游抗氧化物质的表达有一定促进作用。*Ras*基因是一种比较重要的原癌基因,当*Ras*基因被激活以后,细胞将会发生恶性增殖,其与恶性肿瘤的发生有着重要的相关性。MAPK、mTOR、PI3K这些信号肽均可以加强Survivin的转录,通过*Ras*通道,它们均可以被*Ras*激活。有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)包括ERK、JNK和p38MAPK,是*Ras*下游重要的蛋白激酶之一^[10-12]。本

实验研究通过比较分析两组患者信号通路的表达情况后,发现,观察组患者抗氧化信号通路分子 ARE、Nrf2 含量低于对照组,增殖信号通路分子 Ras、JNK、ERK 含量高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),这说明观察组抗氧化信号通路功能降低,增殖信号通路的功能没有受到相应抑制,导致组织细胞异常生长,进一步诱导了子宫肌瘤的发生。

MMP-2 基因由 12 个内含子和 13 个外显子所组成,位于人类染色体 16q21 上,其结构基因总长度为 27 000。MMP-7 的表达是通过 Wnt / β -catenin 信号通路调节和转化生长因子(TGF- β)。异构体的 TGF- β 抑制人子宫内 MMP-7 mRNA 和蛋白通过孕激素介导的途径。MMP-7 mRNA 水平升高,治疗后肿瘤坏死因子(TNF- α)和 IL-1 β 人肾小球系膜细胞的 MMP-7 在上皮细胞、导管上皮细胞外分泌腺体在皮肤、唾液腺、胰腺普遍表达。此外, MMP-7 在大肠癌分化不良的腺腔表面高度表达^[13-14]。MMP-9 在血管和新生血管的形成中起重要作用。MMP-9 导致延迟细胞凋亡,血管生成模型。IL-6 能够刺激 T 细胞增殖,使杀伤性 T 淋巴细胞(CTL)活化,刺激活化 B 细胞增殖并分泌抗体。机体有多种细胞能够合成 IL-6,其中包括活化的 B 细胞以及 T 细胞、内皮和上皮细胞、单核-巨噬细胞以及成纤维细胞等。IL-10 能够使炎症细胞因子等相关细胞因子得到抑制,其主要由单核巨噬细胞以及 Th2 细胞产生,还可以促进 B 细胞分化及增殖。IL-10 曾被称为细胞因子合成抑制因子,因为其可以抑制 B-7 分子和 MHC-II 类分子的表达,还能够使活化的 T 细胞产生细胞因子的功能得到抑制,进而使细胞的免疫应答得到抑制^[15-16]。本实验研究通过分析比较两组患者基质金属蛋白水平以及白介素的表达发现,观察组患者血清中 MMP-2、MMP-7、MMP-9 活性低于对照组,观察组 IL-6、IL-10 水平低于对照组($P<0.05$)。细胞外基质(ECM)中的各种蛋白成分均未能得到相应的降解,导致肿瘤细胞侵袭的组织学屏障没有被破坏,表明观察组在免疫细胞的成熟、活化、增殖和免疫调节等一系列过程中均发生不同程度改变。

CD3⁺细胞水平反映 T 淋巴细胞的总数,但 CD4⁺细胞主要是辅助性淋巴细胞,可分泌包括干扰素(IFN- γ)和 IL-2 等多种免疫抑制性因子。CD4⁺和 CD8⁺之间的比值是非常重要的指标,可以此衡量免疫功能,当细胞免疫的平衡性被打破时,该比值会发生降低,进而导致整个机体免疫系统的免疫功能被削弱。如果 CD4⁺细胞耗尽,例如未经治疗的人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者,或免疫抑制移植之前,身体容易感染范围广^[17]。CD8⁺是由细胞毒性 T 细胞表面的表达,但也可以对自然杀伤细胞,发现皮质胸腺细胞和树突状细胞。本研究通过分析两组患者可知,观察组外周血 CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺细胞水平均明显低于对照组($P<0.05$),此结果提示观察组患者外周血 T 淋巴细胞亚群受到较大的影响。CD4⁺及 CD8⁺细胞的成熟分化均受到相应抑制,致使这两种细胞的数量持续减少,免疫反应的诱导

及免疫效应均相应降低,导致机体免疫监视作用变弱。

综上所述,子宫肌瘤患者抗氧化信号通路功能降低,增殖信号通路功能没有得到抑制,免疫细胞的成熟、活化、增殖和免疫调节均发生不同程度改变,免疫反应诱导及效应均降低,通过观测这些指标对子宫肌瘤的发生及早期预测具有一定临床意义。

参考文献

- [1] Berceanu C, Pop F, Mehedințu C, et al. Surgical pathology, management and outcome in the vulvar melanoma associated with abdominal mass—a case report [J]. Rom J Morphol Embryol, 2016, 57(4): 1375-1381.
- [2] Salimi S, Hajizadeh A, Khodamian M, et al. Age-dependent association of MDM2 promoter polymorphisms and uterine leiomyoma in South-East Iran: a preliminary report [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2015, 41(5): 729-734.
- [3] 刘易斯, Pankaj Pratap Deo, 宋燕, 等. 硫酸基转移酶 2A1 蛋白在子宫肌瘤组织的表达及其临床意义研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 32(5): 469-472.
- [4] Tokuhisa A, Takeda S, Kanekiyo S, et al. A case of esophageal submucosal tumor undiagnosed preoperatively and treated with thoracoscopic enucleation [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2016, 43(12): 2175-2177.
- [5] Tokura T, Morita T, Tsuruta S, et al. A case of disseminated peritoneal leiomyomatosis with several recurrences [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2016, 43(12): 1690-1692.
- [6] Csatlós É, Máté S, Laky M, et al. Role of apoptosis in the development of uterine leiomyoma: analysis of expression patterns of Bcl-2 and Bax in human leiomyoma tissue with clinical correlations [J]. Int J Gynecol Pathol, 2015, 34(4): 334-339.
- [7] 朱杰华, 陈喜悦, 黄健, 等. 自拟消癥经验方内服联合米非司酮对子宫肌瘤患者子宫肌瘤体积和血清 E2 变化的影响[J]. 海南医学, 2017, 28(2): 224-226.
- [8] Tsigkou A, Reis FM, Ciarmela P, et al. Expression levels of myostatin and matrix metalloproteinase 14 mRNAs in uterine leiomyoma are correlated with dysmenorrhea [J]. Reprod Sci, 2015, 22(12): 1597-1602.
- [9] Ling J, Wu X, Fu Z, et al. Systematic analysis of gene expression pattern in has-miR-197 over-expressed human uterine leiomyoma cells [J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2015, (75): 226-233.
- [10] Berti AF, Santillan A, Velasquez LA. Benign metastasizing leiomyoma of the cervical spine 31 years after uterine leiomyoma resection [J]. J Clin Neurosci, 2015, 22(9): 1491-1492.
- [11] 张华, 王纪元, 王悦冰, 等. TNF- α 、MMP-2 及 NF- κ B 在子宫肌瘤组织中的表达研究[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(3): 209-212.
- [12] Pejić S, Todorović A, Stojiljković V, et al. Antioxidant status in women with uterine leiomyoma: relation with sex hormones [J]. An Acad Bras Cienc, 2015, 87(3): 1771-1782.
- [13] Laughlin-Tommaso SK, Jacoby VL, Myers ER. Disparities in fibroid incidence, prognosis, and management [J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2017, 44(1): 81-94.
- [14] 赵苏云, 李美蓉. Wnt 信号通路在子宫肌瘤中的表达[J]. 山西医药杂志, 2009, 38(5): 410-411.
- [15] Asano R, Asai-Sato M, Miyagi Y, et al. Aberrant expression of erythropoietin in uterine leiomyoma: implications in tumor growth [J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 213(2): 199.e1-e8.
- [16] Kdoum M, Kraiem NE, Zhioua F, et al. Diagnosis and practical management of extra-uterine leiomyoma [J]. Tunis Med, 2015, 93(8-9): 582-583.
- [17] Díaz-Delgado J, Fernández A, Edwards JF, et al. Uterine leiomyoma and prolapse in a live-stranded atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) [J]. J Comp Pathol, 2015, 153(1): 58-63.

(收稿日期: 2017-04-25)