

## • 临床论著 •

# 卵巢子宫内膜异位症与子宫腺肌病中促性腺激素释放激素及其受体的表达及临床意义

王菲 宋静慧

**【摘要】** 目的 研究促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)及其受体(gonadotropin-releasing hormone receptors, GnRH-R)在卵巢子宫内膜异位症(endometriosis, EM)与子宫腺肌病(adenomyosis, AM)在位、异位组织中的表达及临床意义。方法 选取2010年3月至2011年5月内蒙古医科大学附属第一医院和包头市包钢职工医院来源的42例EM, 34例AM及20例正常子宫内膜组织,经石蜡包埋制备病理切片,应用免疫组织化学方法检测GnRH及GnRH-R蛋白表达情况。结果 (1)AM与EM组的在位内膜中,GnRH和GnRH-R持续表达。(2)EM组的异位内膜GnRH和GnRH-R的阳性率低于在位内膜及对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。在位子宫内膜的阳性表达率高于正常子宫内膜,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而异位内膜低于正常子宫内膜,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。(3)AM组异位内膜GnRH和GnRH-R的阳性率低于在位内膜表达率,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。AM组在位子宫内膜的阳性表达率高于正常子宫内膜,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而异位内膜与正常子宫内膜相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。(4)AM、EM及对照组的GnRH和GnRH-R在月经周期在位内膜的表达均为分泌期高于增生期,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 GnRH可能通过其受体介导,对异位内膜的种植和生长产生抑制作用,为临床应用GnRH类似物及GnRH拮抗剂治疗这两种疾病提供理论依据。

**【关键词】** 子宫内膜异位症; 受体,LHRH; 促性腺激素释放激素; 子宫腺肌病

**Expression and clinical implications of gonadotropin-releasing hormone and its receptors in endometriosis and adenomyosis** WANG Fei, SONG Jing-hui. Department of Gynecology and Obstetrics, The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China

Corresponding author: SONG Jing-hui, Email: songjinghui\_fsyy@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression and clinical implications of Gonadotropin-releasing Hormone (GnRH) and its receptors (GnRH-R) in endometriosis (EMs) and adenomyosis (AM). **Methods** The specimens were collected from the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University and Worker's Hospital of Baotou Steel Group from 2010 to 2011, including 42 endometriosis, 34 adenomyosis and 20 controls. Expression of GnRH and GnRH-R proteins was detected using immunohistochemistry. **Results** The expression of GnRH and GnRH-R in EM was decreased in ectopic endometrium than in eutopic endometrium and controls ( $P < 0.05$ ). While in AM, the lower expression of GnRH and GnRH-R was detected in ectopic endometrium than in eutopic endometrium ( $P < 0.05$ ), however, no significant difference of these two proteins was found between ectopic endometrium and controls ( $P > 0.05$ ). There was higher expression of GnRH and GnRH-R in eutopic endometrium of EM and AM than in controls ( $P < 0.05$ ). The expression of GnRH and GnRH-R was elevated in secretory phase than in proliferative phase in eutopic endometrium of EMs and AM and controls ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** GnRH may directly inhibit the implantation and growth of ectopic endometrium by its receptor, which provides the possibility of using GnRH analogue and antagonist in endometriosis and adenomyosis treatment.

**【Key words】** Endometriosis; Receptors, LHRH; Gonadotropin-releasing hormone; Adenomyosis

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)是生育年龄

妇女的多发病、常见病,发病率呈明显上升趋势,但其确切病因不清,严重者影响患者的生活质量<sup>[1]</sup>。子宫腺肌病(adenomyosis, AM)与子宫内膜异位症一样,同为异位内膜引起的疾病,目前有年轻化趋势,为临床常见难治病之一,一直受到人们的关注。促性腺激素释

放激素受体 (gonadotropin-releasing hormone receptors, GnRH-R) 为 G 蛋白偶联受体家族中的一员,以垂体中分布最高,在一些外周组织和肿瘤组织中也广泛分布。其通常介导促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 活性发挥作用<sup>[2]</sup>。关于 GnRH 直接调节性腺功能及直接作用于靶组织的作用机制和意义,目前仍了解甚少。本试验通过免疫组化法测定卵巢子宫内膜异位症及子宫腺肌病在位及异位内膜 GnRH 及其受体的表达,探讨 GnRH 系统在这两种疾病发病、诊断及治疗中的作用,为临床应用 GnRH 类似物及 GnRH 拮抗剂治疗这两种疾病提供理论依据。

### 资料与方法

1. 一般资料:选取 2010 年 3 月至 2011 年 5 月内 蒙古医科大学第一附属医院和包头市包钢职工医院, 术后均经病理学证实,所有患者术前半年均无激素使用史作为标本来源。卵巢子宫内膜异位症组:42 例(增生期 24 例,分泌期 18 例),年龄(44 ± 9.81)岁,因患单侧或双侧卵巢巧克力囊肿行手术治疗的,取其子宫内膜和卵巢异位病灶的囊壁。腺肌病组:34 例(增生期 20 例,分泌期 14 例),年龄(42 ± 10.23)岁(30 ~ 50 岁),因患子宫腺肌病行手术治疗的,分别取其在位及异位在子宫肌层的内膜组织。对照组:20 例(增生期 13 例,分泌期 7 例),年龄(40 ± 10.01)岁,为因各种原因行诊断性刮宫后经病理学诊断为正常的增生期或分泌期的子宫内膜标本。三组年龄差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

2. 主要试剂:兔抗人 GnRH 抗体为北京博奥森生物技术有限公司生产;兔抗人 GnRH-R 抗体、即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒及 DAB 显色剂均购自武汉博士德生物工程有限公司。

3. 检测方法:应用免疫组织化学法检测 GnRH 及其抗体表达情况。组织经甲醛液固定,石蜡包埋,进行切片。切片厚度 3 μm。GnRH 抗体稀释浓度(1:100), GnRH-R 抗体稀释浓度(1:50)。具体方法参见试剂盒说明书。

4. 结果判定:阳性物质位于腺上皮及部分间质上皮细胞胞浆内,为棕黄色细颗粒状,胞核不着色,背景

不着色或呈淡黄色。100 倍显微镜下随机观察 10 个视野,按显色强度和阳性细胞比例评分。其中根据阳性细胞着色强度由弱至强分别评分为 1、2、3 分。阳性细胞比例分为 4 级:0 分为阳性细胞占 10% 以内,1 分为阳性细胞占 10% ~ 25%,2 分为阳性细胞占 26% ~ 50%,3 分为阳性细胞占 50% ~ 75%,4 分为阳性细胞大于 76%。然后根据两项打分之之和判断其阳性程度:0 ~ 5 分为阴性,≥6 分为阳性。以 PBS 代替一抗作空白对照。应用 FR-988 生物显微图像分析系统分析,随机选择 5 个具有代表意义的高倍视野,测量其各自灰度,取其平均值,作为该切片的灰度测得平均灰度值,说明表达强度。

5. 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件进行阳性率的  $\chi^2$  检验。平均灰度值以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 方式表示,两组间比较采用  $t$  检验,按  $\alpha = 0.05$  水准,  $P < 0.05$  认为有统计学意义。

### 结 果

1. 卵巢子宫内膜异位症中 GnRH、GnRH-R 的表达:子宫内膜异位症在位内膜中,GnRH 和 GnRH-R 持续表达。异位内膜 GnRH 和 GnRH-R 的阳性率分别为 52.38%、47.62%,明显低于在位内膜及对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。三种子宫内膜中 GnRH 和 GnRH-R 蛋白的表达率有显著差别 ( $P < 0.05$ ),通过两两组间比较,在位子宫内膜的阳性表达率高于正常子宫内膜,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),正常子宫内膜高于异位内膜,见表 1,图 1。

2. 子宫腺肌病中 GnRH、GnRH-R 的表达:子宫腺肌病在位内膜中,GnRH 和 GnRH-R 持续表达。子宫腺肌病异位内膜有近 70% 存在二者的共表达,明显低于在位内膜表达率 ( $P < 0.05$ )。通过两两组间比较,在位子宫内膜的阳性表达率高于正常子宫内膜,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),正常子宫内膜与异位内膜相比,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 2,图 2。

3. 月经周期不同时相中 GnRH、GnRH-R 的表达:GnRH、GnRH-R 在三组在位内膜均表现为分泌期染色强度高于增生期,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 3,4。

表 1 卵巢子宫内膜异位症三种组织中 GnRH 及 GnRH-R 的表达

组别	GnRH		GnRH-R	
	阳性率	平均灰度 ( $\bar{x} \pm s$ )	阳性率	平均灰度 ( $\bar{x} \pm s$ )
在位内膜	100.00% (42/42)	50.77 ± 4.12	100.00% (42/42)	50.13 ± 4.13
异位内膜	47.62% (20/42) <sup>ab</sup>	59.99 ± 2.24 <sup>ab</sup>	52.38% (22/42) <sup>ab</sup>	59.34 ± 2.07 <sup>ab</sup>
对照组	75.00% (15/20)	52.86 ± 3.25	80.00% (16/20)	52.74 ± 3.21

注:与自身在位内膜组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

表2 子宫腺肌病三种组织中 GnRH 及 GnRH-R 的表达

组别	GnRH		GnRH-R	
	阳性率	平均灰度( $\bar{x} \pm s$ )	阳性率	平均灰度( $\bar{x} \pm s$ )
在位内膜	100.00% (34/34)	50.71 $\pm$ 3.58	100.00% (34/34)	50.23 $\pm$ 3.59
异位内膜	70.59% (24/34) <sup>ab</sup>	55.24 $\pm$ 2.02 <sup>ab</sup>	76.47% (26/34) <sup>ab</sup>	54.80 $\pm$ 1.96 <sup>ab</sup>
对照组	75.00% (15/20)	52.86 $\pm$ 3.25	80.00% (16/20)	52.74 $\pm$ 3.21

注:与自身在位内膜组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与对照组比较,<sup>b</sup> $P > 0.05$

表3 不同类型子宫在位内膜在月经周期不同时相中 GnRH 的表达( $\bar{x} \pm s$ )

月经周期	对照组		内异症组		腺肌症组	
	例数	平均灰度	例数	平均灰度	例数	平均灰度
增生期	13	54.90 $\pm$ 2.01	24	52.56 $\pm$ 2.14	20	52.90 $\pm$ 2.09
分泌期	7	49.79 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>	18	47.31 $\pm$ 2.78 <sup>a</sup>	14	47.58 $\pm$ 2.88 <sup>a</sup>
<i>t</i> 值		-11.14		-13.96		-15.34
<i>P</i> 值		0.00		0.00		0.00

注:与增生期比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

表4 不同类型子宫在位内膜在月经周期不同时相中 GnRH-R 的表达( $\bar{x} \pm s$ )

月经周期	对照组		内异症组		腺肌症组	
	例数	平均灰度	例数	平均灰度	例数	平均灰度
增生期	13	54.68 $\pm$ 1.91	24	52.78 $\pm$ 2.94	20	52.42 $\pm$ 2.10
分泌期	7	49.51 $\pm$ 2.17 <sup>a</sup>	18	46.62 $\pm$ 2.57 <sup>a</sup>	14	47.11 $\pm$ 2.89 <sup>a</sup>
<i>t</i> 值		-6.02		-7.55		-6.56
<i>P</i> 值		0.00		0.00		0.00

注:与增生期比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

促性腺激素释放激素是下丘脑-垂体-性腺(hypothalamus-pituitary-gonadal axis, HPG)轴的关键信号分子。GnRH 还参与性腺和胎盘的生殖功能,GnRH 可直接作用于性腺,影响性激素的合成。下丘脑-垂体轴外 GnRH 受体被发现,提示存在垂体外 GnRH 作用系统,许多脑外器官组织中有 GnRH 存在,尤其是 GnRH 及其受体在生殖系统肿瘤中的高表达,表明 GnRH 作为重要介质在这些组织中存在自/旁分泌调节,其作用机制与垂体系统不同。

1. GnRH、GnRH-R 在子宫内膜异位症组织中的表达:子宫内膜异位症是生育期妇女常见的良性疾病,发病率高、危害大,严重影响患者生育功能<sup>[3]</sup>。文献报道,子宫内膜异位症是一种多因素、多基因疾病,是由多个基因位点与环境因素相互作用所致<sup>[4]</sup>,异位组织激素受体的表达状况直接影响内膜异位症的发生和发展<sup>[5]</sup>,本试验从蛋白水平检测 GnRH、GnRH-R 在正常子宫内膜、卵巢子宫内膜异位囊肿患者的在位内膜及异位内膜中均有不同程度的表达。在位内膜的阳性表

达率显著高于异位内膜及正常内膜,为子宫内膜异位症存在 GnRH 的自/旁分泌调节提供了线索,GnRH 在体内的重要功能是由 GnRH 受体介导完成的<sup>[6-7]</sup>,局部调节多肽类激素的分泌以及类固醇激素的产生,对异位内膜细胞种植和生长直接产生作用。杜英等<sup>[8]</sup>进一步证实了 GnRH 激动剂可通过直接作用于内膜异位组织(即靶组织),使内膜异位细胞受到双重抑制。体外实验表明,GnRH 及其人工合成的类似物,直接作用于人类 GnRH-R(+)肿瘤细胞,明显抑制多种人类肿瘤细胞株增生,对癌细胞产生直接的抗增殖作用<sup>[9]</sup>。

本试验还表明 GnRH-R 在正常子宫内膜的阳性表达率较杜英、张一萍等<sup>[10]</sup>所研究的低,较岳瑛等<sup>[11]</sup>、袁桦等<sup>[12]</sup>高。至今的研究启示我们,内膜异位症患者和非内膜异位症患者的在位内膜的分子及生物学特质就有差异,在位内膜的组织病理学、生物化学、分子生物学、遗传学等的特质,将对逆流至异地的内膜的“命运”起决定作用,所谓“在位内膜决定论”。

2. GnRH、GnRH-R 在子宫腺肌病组织中的表达:子宫腺肌病是一种良性病变,发病率较高,已成为妇科常见病,该病多发生于 30~50 岁的经产妇<sup>[13]</sup>。其是一

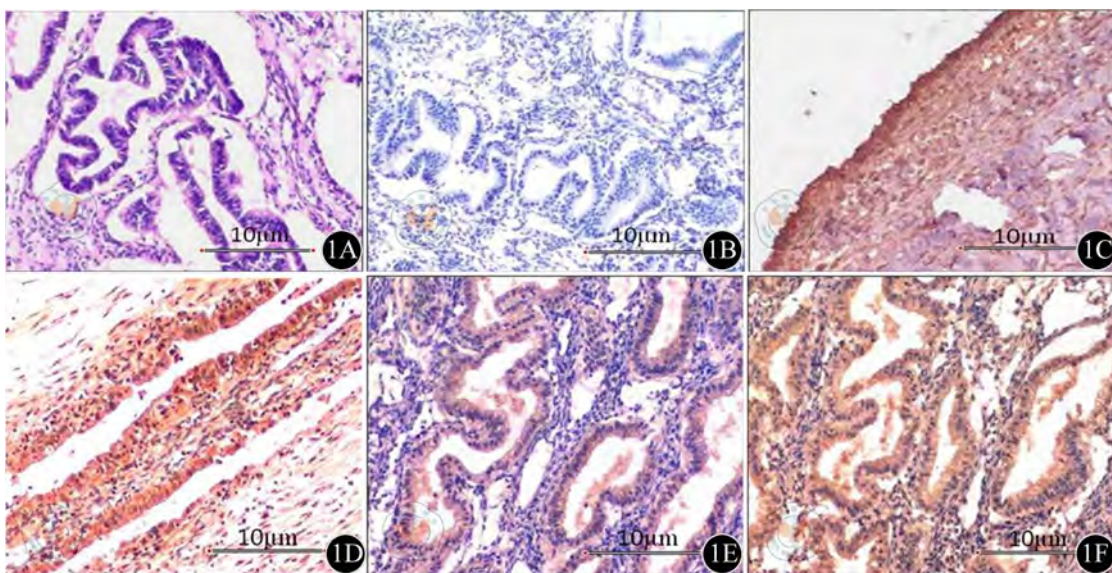


图1 卵巢子宫内异症中GnRH、GnRH-R的表达情况(×100)：1A、1B：正常、空白对照组(HE染色)；1C、1D：异位内膜GnRH、GnRH-R的表达(免疫组化染色)；1E、1F：在位内膜GnRH、GnRH-R的表达(免疫组化染色)

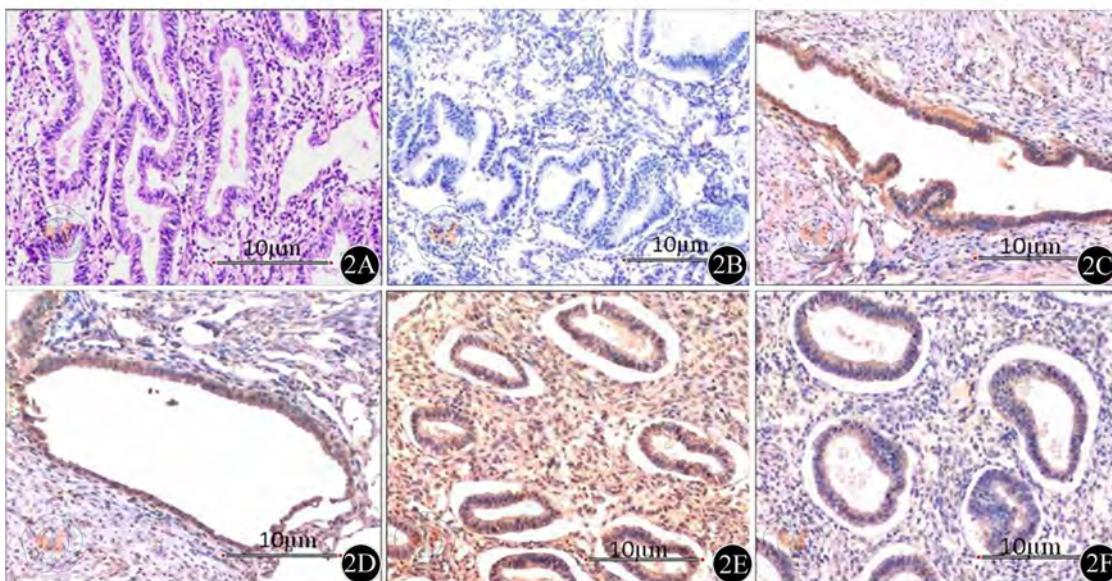


图2 腺肌病中GnRH、GnRH-R的表达情况(×100)：2A、2B：正常、空白对照组(HE染色)；2C、2D：异位内膜GnRH、GnRH-R的表达(免疫组化染色)；2E、2F：在位内膜GnRH、GnRH-R的表达(免疫组化染色)

种与盆腔子宫内膜异位症既有相似处,又有不同点的疾病,两者均为子宫内膜异位引起的疾病,而且常合并存在,但子宫腺肌病的病因和发病机制较为复杂,涉及孕产等生理过程,有可能与激素紊乱、免疫功能失调甚至遗传学改变密切相关,间质成分在该病的发生过程中也起相当重要的作用。从而使此病生物学行为及对激素类药物的治疗反应也不同。

本试验研究发现 GnRH、GnRH-R 在子宫腺肌病在位、异位内膜上均有表达,且在位内膜表达显著高于异位内膜,也高于正常内膜,在位内膜与正常内膜相比差异无统计学意义,同子宫内异位症一样,异位内膜中检测到 GnRH、GnRH-R 的表达,提示子宫腺肌病中也

存在着 GnRH 的自/旁分泌调节。2007 年王小霞等<sup>[14]</sup>首次检测 GnRH-R 在子宫腺肌病在位、异位内膜上均有表达。本试验的研究结果与其较一致,显示 GnRH 对异位内膜细胞的种植和生长产生直接的作用。

3. GnRH、GnRH-R 与月经周期的关系:本试验研究显示三组在位内膜均为分泌期表达高于增生期,差异有统计学意义,但异位内膜增生期与分泌期表达无差别,失去周期性,推测异位内膜组织在种植或分离之后,进一步地增殖既依赖于全身内分泌状况,又受到局部内分泌环境的影响,GnRH 及其受体在局部发挥其内分泌功能。但无论是异位症还是腺肌病,在位内膜的阳性表达率均高于异位内膜及正常内膜,异位内膜 Gn-

RH、GnRH-R 表达的缺失有可能与这两种疾病的发生、发展有关,在位内膜在疾病的发生中起一定作用。

此外,本试验还表明腺肌病异位内膜较异位症异位内膜表达率高,说明 GnRH 及其受体在这两种疾病的具体发病机制中可能起不同的作用。因本试验中所用异位症异位内膜组织均取自卵巢子宫内膜异位囊肿,HE 染色见到典型内膜腺体的病例不多。可能与取材有关,有待于选取更好的病例及大样本研究。但也有学者报道两种疾病的病理机制存在相似之处,本试验研究显示 GnRH、GnRH-R 在内膜异位症及腺肌病在位内膜及正常对照组内膜的阳性表达率无显著性差异,推测在内膜异位症和腺肌病的发生过程中 GnRH 系统也可能起到某些相似作用。

总而言之,通过对 GnRH、GnRH-R 在体内的分布和作用的研究,有助于进一步探索内膜异位症及腺肌病的发病机制,更好为临床应用 GnRH 类似物及 GnRH 拮抗剂治疗这两种疾病提供理论依据。

#### 参 考 文 献

- [1] 郎景和. 子宫内膜异位症的诊断和治疗规范. 中国妇产科杂志, 2007, 42: 645-648.
- [2] Taylor RN, Yu J, Torres PB, et al. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis. *Reprod Sci*, 2009, 16: 140-146.
- [3] 冷金花,史精华. 子宫内膜异位症对生育的影响和治疗对策[J/

CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6:548-551.

- [4] Bischoff F, Simpson JL. Genetic basis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2004, 1034: 284-299.
- [5] 黄坚,石一复,周彩云. 促性腺激素释放激素受体在子宫内膜异位症患者位与不同部位异位子宫内膜的表达及其临床意义. *生殖医学杂志*, 2006, 15: 339-341.
- [6] Rzepka-Gorska I, Chudecka-Glaz A, Kosmider M, et al. Effectiveness of combined treatment in patient with advanced ovarian carcinoma. *Ginekol Pol*, 2002, 73: 691-697.
- [7] Borroni R, DiBlasio AM, Gaffuri B, et al. Expression of GnRH receptor gene in human ectopic endometrial cells and inhibition of their proliferation by leuprolide acetate. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 159: 37-43.
- [8] 杜英,胡庆伟,黄国英. 异位内膜 GnRH 受体表达与 GnRHa 疗效的研究. *浙江医学*, 2006, 28: 540-542.
- [9] Olive DL. Optimizing on adotrop in-releasing hormone agonist therapy in women with endometriosis. *Treat Endocrinol*, 2004, 3: 83-89.
- [10] 张一萍,李亚里,周红耀,等. GnRH 及其受体在子宫内膜异位组织的表达和意义. *武警医学*, 2008, 19: 299-302.
- [11] 岳瑛,苏丽,张淑杰. GnRH-R 在子宫内膜异位症中的表达及其临床意义. *中国实用诊断学*, 2007, 11: 1031-1033.
- [12] 袁桦,袁波. 子宫内膜异位症中 GnRH R、E cad 的表达及其临床意义研究. *河北职工医学院学报*, 2008, 25: 27-28.
- [13] 张丽君,涂长玉,杨志永,等. 腹腔镜下子宫动脉阻断术与促性腺激素释放激素激动剂治疗子宫腺肌病的研究[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2011, 5: 4858-4861.
- [14] 王小霞,康佳丽,杜洪,等. GnRH 与 ER 在子宫腺肌病在位及异位内膜的表达及意义. *中国妇产科临床杂志*, 2007, 8: 273-281.

(收稿日期:2012-11-20)

(本文编辑:戚红丹)

王菲,宋静慧. 卵巢子宫内膜异位症与子宫腺肌病中促性腺激素释放激素及其受体的表达及临床意义[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2013, 7(4): 1431-1435.

中 华 临 床 医 生 杂 志