

• 论 著 •

EMS 合并 EP 性不孕患者的 VCAM-1、Bcl-2 表达

赵岷慧, 柯慧芳

(武汉仁爱医院妇科, 湖北武汉 430030)

摘要:目的 研究血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)及 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白在子宫内膜异位症(EMS)合并子宫内膜息肉(EP)性不孕患者中的表达及相关性。方法 将该院 2018 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 56 例 EMS 合并 EP 性不孕患者纳为研究 A 组, 54 例 EP 性不孕患者纳为研究 B 组, 比较两组息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量, 并根据息肉大小, 将研究 A 组息肉分为大息肉与小息肉, 比较不同大小息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量, 采集研究 A 组患者异位内膜组织, 比较其异位内膜组织与息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量, 分析 EMS 合并 EP 性不孕患者 VCAM-1 与 Bcl-2 表达量的相关性。结果 研究 A 组 EP 组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量均明显高于研究 B 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 研究 A 组大息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显高于小息肉组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 研究 A 组异位内膜组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显高于息肉组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$); EMS 合并 EP 性不孕患者息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量无相关性($r = 0.078, P = 0.654$)。结论 EMS 合并 EP 性不孕患者 EP 组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白阳性表达量明显高于单纯 EP 性不孕患者, 在 EMS 合并 EP 性不孕患者异位内膜组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量高于息肉组织, 推测异位内膜组织可能会导致息肉组织增生, 但其中的具体机制尚不明确。

关键词:血管细胞黏附分子-1; B 细胞淋巴瘤-2; 子宫内膜异位症; 息肉性不孕

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.22.022

中图法分类号:R711

文章编号:1673-4130(2020)22-2780-04

文献标识码:A

Expression of VCAM-1 and Bcl-2 in infertility patients with endometriosis and endometrial polyp

ZHAO Minhui, KE Huifang

(Department of Gynaecology, Wuhan Ren'ai Hospital, Wuhan, Hubei 430030, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and correlation of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) in infertility patients with endometriosis (EMS) and endometrial polyp (EP). **Methods** A total of 56 patients with EMS and EP infertility (study group A) and 54 patients with EP infertility (study group B) in Wuhan Ren'ai Hospital from January 2018 to January 2019 were enrolled. Study group A was further divided into two subgroups according to the size of the polyps, including large polyp group and small polyp group, the expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 in polyp tissues were compared between different groups. The ectopic endometrial tissues of study group A were collected, and the expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 protein in the ectopic endometrial tissues and polyp tissues were compared. The correlation between VCAM-1 and Bcl-2 levels in patients with EMS and EP infertility was analyzed. **Results** The expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 protein in EP tissues in study group A were significantly higher than those in study group B ($P < 0.05$). The expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 protein in large polyp group were significantly higher than those in small polyp group ($P < 0.05$). The expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 protein in ectopic endometrial tissue were significantly higher than those in polyp tissue of study group A ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that there was no significant correlation between VCAM-1 and Bcl-2 protein expressions in polyp tissues of patients with EMS and EP ($r = 0.078, P = 0.654$). **Conclusion** The expression levels of VCAM-1 and Bcl-2 protein in EP tissues of EMS combined EP infertility patients are significantly higher than those of EP infertility patients, and the expression levels of

作者简介:赵岷慧,女,主治医师,主要从事妇科常见病、多发病的相关诊治研究。

本文引用格式:赵岷慧,柯慧芳. EMS 合并 EP 性不孕患者的 VCAM-1、Bcl-2 表达[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(22): 2780-2783.

VCAM-1 and Bcl-2 protein in ectopic endometrial tissues of EMS combined EP infertility patients are higher than those in polyp tissues, suggesting that ectopic endometrial tissues might lead to polyp tissue hyperplasia, but the specific mechanism is still unclear.

Key words: vascular cell adhesion molecule-1; B-cell lymphoma-2; endometriosis; polyp infertility

子宫内膜异位症(EMS)及子宫内膜息肉(EP)均属于雌激素依赖性疾病^[1]。两者均可能造成月经紊乱及不孕症,严重影响患者生命健康。有研究显示,EMS 及 EP 的发生均与炎性反应、细胞凋亡异常有关^[2],而血管细胞黏附因子-1(VCAM-1)属于免疫球蛋白超家族,可参与免疫应答^[3],B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白又称白血病基因-2 蛋白,在调节细胞凋亡中发挥重要功效^[4]。本研究分析了 VCAM-1 与 Bcl-2 蛋白在 EMS 合并 EP 性不孕患者中的表达及其与疾病的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将本院 2018 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 56 例 EMS 合并 EP 性不孕患者纳为研究 A

组,54 例 EP 性不孕患者纳为研究 B 组。EMS 合并 EP 性不孕患者纳入标准:(1)患者符合《2015 年子宫内膜异位症的诊治指南》^[5]中 EMS 相关诊断标准,并经手术后病理检查确诊为 EMS;(2)术中发现子宫腔内赘生物,经病理检查证实为 EP,均为单发息肉;(3)患者婚后性生活正常,且未避孕,同居两年及以上但未受孕,符合不孕症诊断标准^[6]。EP 性不孕患者纳入标准:患者经宫腔镜检查、手术取子宫内赘生物,病理检查证实为 EP,均为单发息肉,且 EP 是其不孕的唯一病因。研究对象排除标准:合并其他内科并发症者,男方因素不孕者,合并恶性肿瘤者,收集标本前 3 个月使用过甾体类激素药物治疗者。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	月经状态(<i>n</i>)			息肉直径 ($\bar{x}\pm s$,mm)	不孕分类(<i>n</i>)	
			正常	增多	紊乱		原发性不孕	继发性不孕
研究 A 组	56	32.89±7.45	20	22	14	10.72±2.63	37	19
研究 B 组	54	34.91±8.32	23	18	13	11.13±3.14	39	15
<i>t</i> / χ^2		1.344		0.610		0.745		0.487
<i>P</i>		0.182		0.737		0.458		0.485

1.2 方法

1.2.1 标本采集 于患者月经干净后 3~7 d 内行手术,使用 0.9%氯化钠溶液作为膨宫介质,在电镜下完全抓取 EP 组织,同时采集研究 A 组患者异位内膜组织,快速放入 RNA-guard 中,4℃过夜,-80℃保存待用。

1.2.2 免疫组织化学法检测 (1)标本采用 10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,每份标本连续切片 5 μm×5 片。(2)切片常规二甲苯脱蜡,梯度乙醇复水化,蒸馏水中洗 10~15 min。(3)应用 30%氧化氢甲醇液室温下孵育切片 15 min 后,使用自来水冲洗 5 min,蒸馏水冲洗 10~15 min。(4)0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 次,每次 2 min,并吸干切片边缘水滴。(5)将切片置于微波炉中加热 3 次,每次 5 min,以恢复抗原。(6)使用 5%正常羊血清室温孵育 20 min,减少非特异性反应背景。(7)加一抗 37℃孵育 1 h。(8)PBS 冲洗 5 次,每次 2 min,吸干切片边缘水滴。(9)滴加二抗 37℃孵育 1 h。(10)PBS 冲洗 5 次,每次 2 min,吸干切片边缘水滴。(11)每张切片滴加 50

μL 即用型 Max Vision™ 试剂,37℃孵育 10~15 min。(12)PBS 液洗 5 次,每次 2 min,吸干切片边缘水滴。(13)加二氨基联苯胺(DAB)H₂O₂ 显色液,室温下显色 15 min。(14)自来水冲洗 1 min。(15)苏木素复染。(16)梯度乙醇脱水,二甲苯透明。(17)中性树脂封片。

1.2.3 免疫组织化学法检测结果的判断 VCAM-1 及 Bcl-2 主要表达于细胞质内,呈棕褐色或棕色颗粒表达,染色结果根据 SinicroPe 改良法判断^[7]。染色细胞计数<5%、5%~<25%、25%~<50%、50%~<75%、≥75%分别记为 0、1、2、3、4 分;染色强度为淡黄色、棕色、深棕色时分别记为 1、2、3 分。每份切片记分=染色细胞计数得分×染色强度得分,切片记分 0~<2 分为阴性(-),2~<4 分为弱阳性(+),4~6 分为中等阳性(++),>6 分为强阳性(+++)。免疫组织化学法检测结果由同一位观察者判断。

1.3 观察指标 (1)比较研究 A 组与研究 B 组 EP 组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达结果。(2)将息肉最大径<3 mm 的息肉判定为小息肉,息肉最大径≥

3 mm 的息肉判定为大息肉,比较研究 A 组大息肉及小息肉组织中的 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达结果。(3)比较研究 A 组异位内膜与息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达结果。(4)分析研究 A 组患者 EP 组织内 VCAM-1 蛋白表达与 Bcl-2 蛋白表达间的关系。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布、方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,同一组患者不同组织间数据比较采用配对样本 t 检验,相关分析采用 Pearson 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究 A 组与研究 B 组 EP 组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较 研究 A 组 EP 组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显高于研究 B 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 研究 A 组与研究 B 组 EP 组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	<i>n</i>	VCAM-1	Bcl-2
研究 A 组	56	5.13±1.02	4.64±0.87
研究 B 组	54	3.04±0.65	2.98±0.63
<i>t</i>		12.763	11.426
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.2 研究 A 组大息肉及小息肉组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较 研究 A 组中大息肉组织中

VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显高于小息肉组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 研究 A 组大息肉及小息肉组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s$,分)

息肉组织类型	<i>n</i>	VCAM-1	Bcl-2
大息肉组织	20	6.64±2.13	5.38±1.13
小息肉组织	36	4.54±1.07	4.11±0.74
<i>t</i>		4.924	5.078
<i>P</i>		<0.001	<0.001

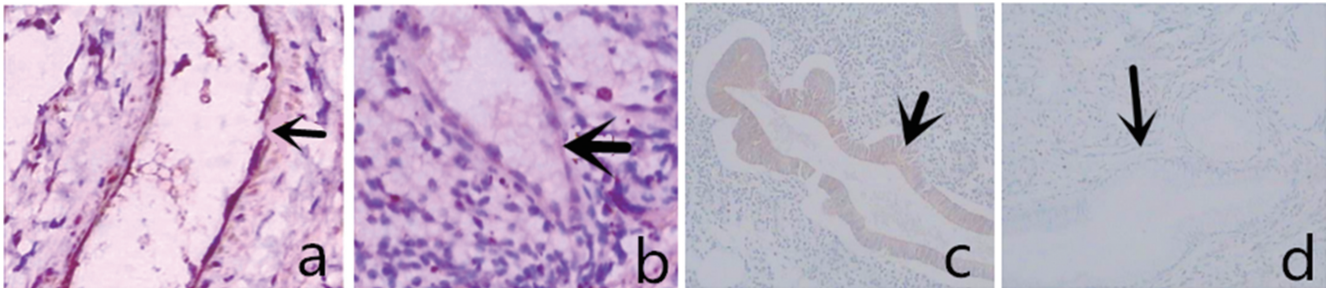
2.3 研究 A 组异位内膜与息肉组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较 研究 A 组息肉组织内 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显低于异位内膜组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

2.4 研究 A 组患者 EP 组织内 VCAM-1 与 Bcl-2 蛋白表达的相关分析 EMS 合并 EP 性不孕患者息肉组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达无相关($r = 0.078, P = 0.654$)。

2.5 免疫组织化学法检测图片结果 免疫组织化学法检测典型图片结果见图 1。

表 4 研究 A 组患者异位内膜与息肉组织 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s$,分)

组织类型	<i>n</i>	VCAM-1	Bcl-2
异位内膜组织	56	6.29±0.44	5.49±0.35
息肉组织	56	5.13±1.02	4.64±0.87
<i>t</i>		7.814	6.783
<i>P</i>		<0.001	<0.001



注:a 为 VCAM-1 在 EMS 合并 EP 性不孕患者异位内膜组织中的表达(×400),b 为 VCAM-1 在 EMS 合并 EP 性不孕患者息肉组织中的表达(×400);c 为 Bcl-2 在 EMS 合并 EP 性不孕患者异位内膜组织中的表达(×200),d 为 Bcl-2 在 EMS 合并 EP 性不孕患者息肉组织中的表达(×200)。

图 1 免疫组织化学法检测图片展示

3 讨 论

EP 由子宫局灶性内膜增生过盛所致,是一种瘤样性病变,EP 可引起不孕、月经增多、子宫内膜炎及子宫出血等,严重影响患者生活质量。EMS 指子宫内膜组织出现在子宫体以外部位,相关研究显示,EMS 合并不孕患者 EP 发生率较高,探讨 EMS 合并 EP 性不孕的致病机制,对改善患者妊娠结局有重要

意义^[8]。

目前,EP 的致病机制尚不明确,一般认为 EP 的发生与炎症反应关系密切。子宫内膜在长期反复的机械刺激与生物致炎因子的作用下,将出现基因突变,并通过自分泌或旁分泌促进内膜细胞增生及分化,形成肿瘤样赘生物^[9]。VCAM-1 属于免疫球蛋白超家族,是重要的细胞黏附分子,很大程度上白细胞

在炎症反应组织的浸润程度由局部产生的 VCAM-1 等黏附分子介导。有研究发现,VCAM-1 能促进单核细胞在动脉内膜中的聚集,进而参与动脉粥样硬化,并能与 T 细胞上活化的 VLA-4 结合,进而介导 T、B 细胞间的接触,促进免疫细胞增殖,参与免疫应答^[10-11]。

本研究比较了单纯 EP 性不孕患者(研究 B 组)及 EMS 合并 EP 性不孕患者(研究 A 组)EP 组织中 VCAM-1 的表达情况发现,研究 A 组患者 EP 组织内 VCAM-1 阳性表达量更高,提示 EMS 合并 EP 患者息肉组织内存在免疫异常,此外,随着息肉体积的增大,研究 A 组患者 EP 内 VCAM-1 蛋白表达量上升,提示 EP 中 VCAM-1 与息肉组织生长及 EMS 发展间关系密切^[12]。

有研究显示,EP 的发生与细胞凋亡机制密切相关^[13]。Bcl-2 是一种原癌基因,在调节细胞凋亡中具有重要作用。Bcl-2 的过度表达可抑制细胞的程序性死亡,延迟正常细胞分化,进而延长细胞寿命,增加基因突变概率,促使肿瘤等增殖性疾病的发生^[14]。本研究发现,EMS 合并 EP 性不孕患者息肉组织中 Bcl-2 蛋白阳性表达量明显高于 EP 性不孕患者,提示 EMS 合并 EP 者息肉组织凋亡程序紊乱情况更为严重,息肉组织难以像正常子宫内膜组织一样脱落。此外,大息肉组织中 Bcl-2 表达量也较小息肉组织中高,这从另一方面证实了 Bcl-2 表达量高可能促使息肉组织成长。

4 结 论

EMS 合并 EP 性不孕患者 EP 组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量明显高于单纯 EP 性不孕患者,但在 EMS 合并 EP 性不孕患者异位内膜组织中 VCAM-1 及 Bcl-2 蛋白表达量高于息肉组织,推测异位内膜组织可能会导致息肉组织增生,但其中的具体机制尚不明确。

参考文献

[1] 邢阿英,耿蒙慧,王大琳,等. 子宫内膜异位症合并不孕治疗方法研究进展[J]. 中国生育健康杂志,2020,31(1):96-98.

[2] LISA A, RITA C, FILIPA O, et al. MRI for adenomyo-

sis: a pictorial review[J]. Insights Imaging, 2017, 8(6): 549-556.

[3] NAEINI A E, MOEINZADEH F, VAHDAT S, et al. The effect of vitamin D administration on intracellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 levels in hemodialysis patients: a placebo-controlled, double-blinded clinical trial[J]. J Res Pharm Pract, 2017, 6(1): 16-20.

[4] MATEJA M K, DUŠKO L, MOJCA B, et al. Extracellular vesicle-mediated transfer of constitutively active MyD88L265P engages MyD88wt and activates signaling[J]. Blood, 2018, 131(15):805-811.

[5] 郎景和,崔恒,戴毅,等. 2015 年子宫内膜异位症的诊治指南专家解读[J]. 中华妇产科杂志,2017,52(12):857-861.

[6] 李曼,温冬梅,王伟佳,等. AMH、FSH、LH、E₂ 联合检测在不孕症患者卵巢储备功能中的预测价值[J]. 检验医学与临床,2017,14(12):1729-1731.

[7] SINICROPE K D, KAPLAN A B, BRASTIANOS P K. Seminoma with neoplastic meningitis treated with cranio-spinal irradiation[J]. Oncologist, 2018, 23(11):23-26.

[8] 徐改香,王宝金,申爱荣,等. 子宫内膜异位症不孕与子宫内膜息肉相关性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(4):49-51.

[9] 聂明月,张佟,张博,等. 绝经前及绝经后子宫内膜息肉的临床分析[J]. 北京医学,2017,39(11):1107-1110.

[10] 耿驰,陶梦醒,刘莹. 血管细胞黏附分子-1 在心血管疾病中的研究进展[J]. 心血管病学进展,2019,40(2):222-226.

[11] 王海萍,陈秀丽,李光乾,等. EV71 脑炎患儿血清和脑脊液血管内皮细胞生长因子和血管细胞黏附分子-1 检测的意义[J]. 实用预防医学,2017,24(3):287-290.

[12] 陈旭,刘英,王铭,等. 问号钩端螺旋体感染对内皮细胞黏附分子 ICAM-1、VCAM-1 表达的影响[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2018,38(4):248-253.

[13] BUDI W, NAYLAH M, DEKA P G, et al. High bax-bcl-2 ratio expression on granulosa cells from endometriosis patients[J]. Adv Sci Lett, 2017, 23(7):6720-6722.

[14] 严必红,曾为红. Bcl2 相互作用蛋白 3 在子宫内膜组织中的表达及其在子宫内膜异位症发病中的意义[J]. 安徽医药,2020,24(1):136-140.

(收稿日期:2020-03-27 修回日期:2020-06-18)