

## 前列腺素 F<sub>2α</sub> 受体与子宫腺肌病痛经的相关性研究

马荣丽<sup>1</sup>, 关 铮<sup>1</sup>, 刘爱军<sup>2</sup>, 李 洁<sup>1</sup>, 李亚里<sup>1</sup>, 刘晋红<sup>2</sup>

解放军总医院, 北京 100853 <sup>1</sup>妇产科; <sup>2</sup>病理科

**摘要:** **目的** 研究前列腺素 F<sub>2α</sub> 受体 (prostaglandin F<sub>2α</sub> receptor, PTGFR) 在子宫腺肌病 (adenomyosis, AM) 患者子宫不同部位的表达与分布特征, 探讨其与子宫腺肌病痛经的相关性。 **方法** 采用免疫组化 SP 法检测 2013 年 10 月 - 2014 年 6 月就诊于我院的 30 例 AM 患者在位内膜组织及异位内膜组织 PTGFR 的表达, 并和同期因子宫肌瘤行全子宫切除术且无痛经的 30 例患者正常子宫内膜组织作对照。通过视觉模拟评分法 (visual analogue scale/score, VAS) 对 AM 患者痛经程度进行评分, 并分析其与 PTGFR 的相关性。 **结果** PTGFR 在 AM 在位内膜、异位内膜和对照组的正常子宫内膜的阳性表达率及表达强度差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); PTGFR 在不同的月经周期表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); AM 在位内膜组及异位内膜组痛经程度与 PTGFR 的表达强度之间均存在正相关, 相关系数分别为 0.753 6 ( $P < 0.01$ ) 和 0.619 3 ( $P < 0.01$ )。 **结论** AM 患者不同组织部位 PTGFR 的表达不同, 痛经程度与在位内膜及异位内膜 PTGFR 的表达强度有关, PTGFR 表达越强, 痛经程度越严重。

**关键词:** 前列腺素受体; 子宫腺肌病; 痛经

**中图分类号:** R 711.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2015)04-0355-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2015.04.015

**网络出版时间:** 2015-01-04 11:31

**网络出版地址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20150104.1332.005.html

### Correlation between Prostaglandin F<sub>2α</sub> receptor and dysmenorrhea in adenomyosis

MA Rongli<sup>1</sup>, GUAN Zheng<sup>1</sup>, LIU Aijun<sup>2</sup>, LI Jie<sup>1</sup>, LI Yali<sup>1</sup>, LIU Jinhong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology; <sup>2</sup>Department of Pathology Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: GUAN Zheng. Email: GZ9332@Aliyun.com

**Abstract: Objective** To study the expression and distribution characteristics of the prostaglandin F<sub>2α</sub> receptors (PTGFR) in patients with adenomyosis, and discuss the association between uterine adenomyosis dysmenorrheal and PTGFR. **Methods** The expression of PTGFR was measured in the endometrium tissue and ectopic endometrium tissue of 30 AM patients admitted to our hospital from October 2013 to June 2014 with immunohistochemical method, and it was compared with the expression of PTGFR in normal endometrial tissue of 30 uterine-fibroid patients in the same period. Visual analogue scale/score was used to test the dysmenorrhea score in patients with AM and its correlation with PTGFR was analyzed. **Results** The difference of PTGFR among AM patients' endometrium tissue, ectopic endometrium tissue and the normal endometrium of the control group had statistical significance in the positive expression rate and expression intensity ( $P < 0.05$ ); PTGFR expression in different menstrual cycle had no statistical significance ( $P > 0.05$ ); there was positive correlation between the degree of dysmenorrhea and the expressed intensity of PTGFR in the endometrium tissue group and ectopic endometrium group with the correlation coefficient of 0.753 6 ( $P < 0.01$ ) and 0.619 3 ( $P < 0.01$ ) respectively. **Conclusion** Different tissue of patients with AM have different PTGFR expression, degree of dysmenorrhea is related to expression intensity of PTGFR in the endometrium tissue group and ectopic endometrium group, the more expressed intensity of PTGFR shows in AM patients, the higher degree of dysmenorrhea is.

**Keywords:** prostaglandin receptors; adenomyosis; dysmenorrhea

子宫腺肌病 (adenomyosis, AM) 是由于子宫内膜腺体及间质侵入子宫肌层引起的一种病变, 进行性加重的痛经和月经量过多是其主要症状。PGF<sub>2α</sub> 是一种强烈的血管收缩物质, 高浓度的 PGF<sub>2α</sub> 作用于子宫螺旋小动脉壁上的前列腺素 F<sub>2α</sub> 受体 (prostaglandin F<sub>2α</sub> receptor, PTGFR), 引起子宫平滑肌痉挛性收缩。目前已明确 PGF<sub>2α</sub> 与原发

性痛经及子宫内膜异位症引起的继发性痛经有密切关系<sup>[1]</sup>。对于 PGF<sub>2α</sub> 及 PTGFR 与子宫腺肌病痛经相关性的研究至今未见报道。本研究采用免疫组织化学方法检测子宫腺肌病在位内膜、异位内膜和正常子宫内膜中 PTGFR 的表达强度, 以探讨 PTGFR 与子宫腺肌病痛经之间的关系。

### 对象和方法

**1 研究对象** 选择 2013 年 10 月 - 2014 年 6 月在解放军总医院妇产科因子宫腺肌病行全子宫切除术且未绝经的 30 例患者作为实验组, 术后均经组织病理学确诊。年龄 39 ~ 52 岁, 平均 (45.23 ± 3.65) 岁。目前认为, 子宫肌瘤的发病与女性性激素相

收稿日期: 2014-10-20

作者简介: 马荣丽, 女, 在读硕士, 医师。研究方向: 子宫内膜异位症、子宫腺肌病。Email: 498013207@qq.com

通信作者: 关铮, 女, 主任医师, 教授。Email: GZ9332@Aliyun.com

关,此外亦有试验表明,高水平雌激素可以促进子宫腺肌病的发生<sup>[2]</sup>,加之临床上约50%子宫腺肌病患者合并子宫肌瘤<sup>[3]</sup>,故对照组选择同期因子宫肌瘤行全子宫切除术且无痛经的30例患者,年龄33~50岁,平均(43.20±4.87)岁。实验组与对照组年龄分布的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。术前根据视觉模拟评分法<sup>[4]</sup>(visual analogue scale/score, VAS)对AM患者的痛经程度进行评分,30例AM患者中,无痛经者6例,中度(4~6分)痛经者8例,重度(7~10分)痛经者16例。所有患者术前6个月内未使用过激素、激素受体拮抗剂或激动剂类药物,并且不合并子宫内膜异位症或巧克力囊肿。

**2 标本收集与处理** 取患者腺肌病异位、在位内膜组织和对照组子宫内膜组织,用10%甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋、切片。每份标本常规苏木精-伊红染色,光镜下观察组织形态。子宫内膜侵入子宫肌层达1个低倍镜视野以上时诊断为子宫腺肌病腺肌症,所有入选病例均经2名病理科专家确诊。入选腺肌病30例中增生期18例,分泌期12例,对照组子宫内膜组织30例中增生期18例、分泌期12例。所有石蜡标本经过筛选后进行4 μm厚连续切片备用。全部病例标本取材经过伦理委员会批准及患者知情同意。

**3 免疫组化检测 PTGFR** 采用免疫组织化学方法检测对照组和实验组PTGFR,兔抗人PTGFR多克隆抗体购于美国Abnova公司,PV-6001二步法免疫组化检测试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。载玻片预先经APES防脱片处理,石蜡标本连续切片,厚度4 μm,每例组织石蜡块切片3张,1张HE染色核实病理诊断,余2张行免疫组化染色。石蜡切片常规脱蜡浸水,蒸馏水洗2次;PBS冲洗3次;柠檬酸缓冲液(0.01 mol/L、pH=6.0)煮沸(沸水浴)修复2.5 min;冷却15 min,PBS洗3次,每次5 min;3%过氧化氢水溶液,室温孕育15 min;PBS洗3次,每次5 min;滴加一抗兔抗人PTGFR多克隆抗体(1:50),4℃,过夜。

次日复温10 min,PBS冲洗3次,每次5 min;按照PV-6001二步法免疫组化检测试剂盒说明滴加二抗,孵育37℃,40 min,PBS冲洗3次,每次5 min;避光条件下DAB显色,镜下观察颜色变化,适时终止。自来水充分冲洗,苏木精复染,脱水,透明中性树脂封片。用子宫内膜样腺癌组织作阳性对照,用PBS代替一抗作阴性对照。

**4 阳性标准** 细胞染色以细胞质和(或)胞核出现棕黄色颗粒为阳性反应,阳性判断采用Sinicrope等<sup>[5]</sup>的改良法。200倍电子显微镜下随机计数5个视野,分为4级:0分:染色细胞<5%,1分:染色细胞5%~25%,2分:染色细胞26%~75%,3分:染色细胞>75%。染色强度分为4级:0分:不显色或显色不清,1分:浅黄色,2分:棕黄色,3分:深棕色。每份切片记分=(染色细胞分数+染色强度分数)/2。所得分数<0.5分为阴性(-),反之为阳性。阳性结果根据得分值分为3个等级:0.5~<1.5分为弱阳性(+),1.5~<2.5分为中度阳性(++),≥2.5分为强阳性(+++)。结果判定在双盲下进行,由2名病理科专家分别阅片、统计。

**5 统计学分析** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。蛋白表达阳性率差异比较采用Pearson  $\chi^2$ 检验,蛋白表达强度差异的比较采用秩和检验,不同痛经程度与PTGFR表达强度的相关性采用等级秩相关进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结果

**1 PTGFR的表达** PTGFR主要存在于在位内膜和异位内膜的腺上皮细胞中,子宫平滑肌细胞及血管内皮细胞也可见不同程度的表达,间质细胞未见表达,见图1。PTGFR在AM在位内膜与异位内膜的阳性表达率分别为96.67%(29/30)、90%(27/30);在正常子宫内膜组织中阳性表达率为76.67%(23/30),阳性表达率差异均有统计学意义( $\chi^2=23.9367, P=0.000$ );AM在位内膜、异位内膜

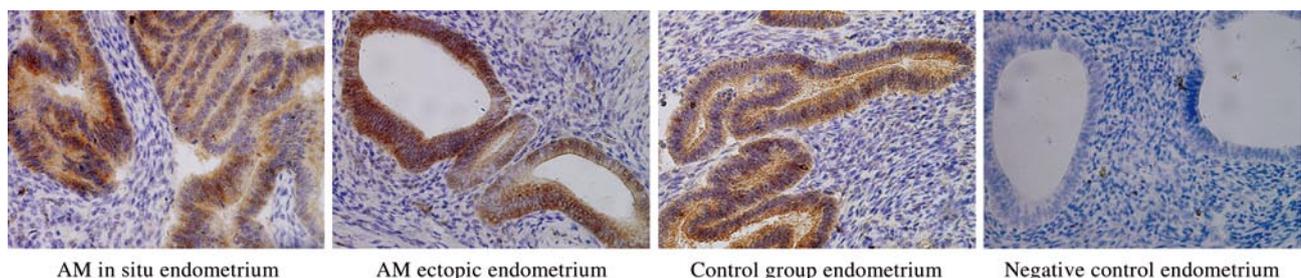


图1 PTGFR在不同内膜腺上皮细胞中的表达(SP, ×400)

Fig.1 Expression of PTGFR in different endometrial glandular epithelial cells (SP, ×400)

和对照组子宫内膜的 PTGFR 的表达强度差异有统计学意义 ( $H_c=20.372, P=0.000$ )。见表 1。

2 PTGFR 在不同月经周期的表达 3 组增殖期与分泌期 PTGFR 表达强度差异均无统计学意义, 见表 2。

3 PTGFR 的表达与痛经的关系 AM 在位内膜组, 痛经程度与 PTGFR 表达强度之间存在正相关 ( $r=0.7526, P < 0.01$ ); AM 异位内膜组, 痛经程度与 PTGFR 表达强度之间存在正相关 ( $r=0.6193, P < 0.01$ )。见表 3。

表 1 PTGFR 在 AM 组和对照组的表达

Tab. 1 Expression of PTGFR in AM group and control group

Group (n=30)					Positive rate (%)
	-	+	++	+++	
AM in situ endometrium	1	3	9	17	96.67
AM ectopic endometrium	3	10	13	4	90.00
Control group endometrium	7	11	8	4	76.67

## 讨论

前列腺素 (prostaglandins, PGs) 是一组化学结构相似, 具有广泛生物活性的不饱和脂肪酸。PGs 家族包括 PGD<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2α</sub>、PGI<sub>2</sub> 和 TXA<sub>2</sub>, 含量极微, 但活性极强。子宫内膜是合成 PGs 的重要部位, 在人类子宫内膜 PGs 的 E<sub>2</sub> 和 F<sub>2α</sub> 系列是主要的花生四烯酸产物, 不同的类型 PGs 因结构上的差异, 表现出不同的生理活性。PGE<sub>2</sub> 有抑制子宫收缩作用; 相反, PGF<sub>2α</sub> 可刺激子宫收缩, 使子宫张力升高。PGF<sub>2α</sub> 合成后在细胞内不能储存, 迅速释放于邻近组织, 与相应受体结合发挥作用后被迅速灭活<sup>[1]</sup>。

PGF<sub>2α</sub> 通过 PTGFR 发挥其生物学作用, PTGFR

属于 G 蛋白偶联受体, PGF<sub>2α</sub> 与 PTGFR 结合, 激活细胞内的信号转导系统及基因转录, 产生自分泌及旁分泌功能。活化的 PTGFR 属于 Gq 蛋白, PGF<sub>2α</sub> 通过与 PTGFR 作用诱导 Ca<sup>2+</sup> 内流或 IP<sub>3</sub> 内流, 激活 PKC 信号系统使子宫平滑肌收缩<sup>[6-9]</sup>。

PGF<sub>2α</sub> 通过刺激细胞生长因子的产生, 进而促进内皮细胞及上皮细胞的增殖<sup>[10-12]</sup>。本研究通过采用免疫组织化学方法发现, PTGFR 主要存在于在位内膜和异位内膜的腺上皮细胞中, 子宫平滑肌细胞及血管内皮细胞也可见不同程度的表达, 间质细胞未见表达。AM 在位内膜、异位内膜和对照组子宫内膜 PTGFR 的阳性表达率及表达强度差异均有统计学意义, 但 PTGFR 在不同的月经周期表达无差异。

早在 20 世纪 70 年代已有研究表明, PGF<sub>2α</sub> 与原发痛经有着密切关系<sup>[13-14]</sup>。随后又有学者指出, PGF<sub>2α</sub> 与子宫内膜异位症导致的继发性痛经也有密切关系<sup>[1]</sup>。本研究符合入组标准的 30 例 AM 患者中, 痛经者占 80%(24/30), 其中痛经患者中 66.67%(14/24) 服用过布洛芬等前列腺素合成酶抑制剂缓解痛经, 有效缓解率为 85.71%(12/14)。由此可以初步推断, AM 痛经与前列腺素的合成有关。本研究统计数据表明, 痛经程度不同的 AM 患者 PTGFR 的表达强度不同, 可以初步确定 AM 患者的痛经程度与在位内膜及异位内膜 PTGFR 的表达强度有关, PTGFR 表达越强, 痛经程度越严重。

由于子宫腺肌病病灶呈弥漫性生长, 子宫切除术是循证医学证实的治疗子宫腺肌病痛经的唯一有效方法<sup>[2]</sup>。近年来, 子宫腺肌病的发病趋势逐年上升<sup>[15-16]</sup>, 越来越多的绝经前患者难以接受子宫切除手术。本研究部分 AM 痛经患者服用前列

表 2 PTGFR 在不同月经周期的表达

Tab. 2 Expression of PTGFR in different menstrual cycle

Group (n=30)	Proliferative phase				Secretory phase				u	P
	-	+	++	+++	-	+	++	+++		
AM in situ endometrium	0	2	4	12	1	1	5	5	1.122	0.262
AM ectopic endometrium	1	5	9	3	2	5	4	1	1.291	0.197
Control-group endometrium	2	5	7	4	5	3	3	1	1.757	0.079

表 3 PTGFR 在不同痛经患者的表达

Tab. 3 Expression of PTGFR in different dysmenorrhea patients

Group (score)	AM in situ endometrium (n=30)				AM ectopic endometrium (n=30)			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++
No dysmenorrhea (0)	1	2	1	2	2	2	2	0
Mild dysmenorrhea (1-3)	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate dysmenorrhea (4-6)	0	0	4	4	0	5	2	1
Severe dysmenorrhea (7-10)	0	1	4	11	1	3	9	3

腺素合成酶抑制剂类药物对痛经有一定缓解作用,但由于该类长期服用不良反应较大,难以被广大患者接受。通过本文对 PTGFR 的表达强度与痛经关系的研究,我们设想 PTGFR 拮抗剂有可能作为一种新药来缓解子宫腺肌病引起的痛经症状。或许一种携带 PTGFR 拮抗剂的宫内节育器应用于治疗子宫腺肌病引起的痛经可以获得满意疗效,我们期待更多相关方面的研究。

### 参考文献

- 1 Brenner RM, Nayak NR, Slayden OD, et al. Premenstrual and menstrual changes in the macaque and human endometrium: relevance to endometriosis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 955: 60-74.
- 2 曹泽毅. 中华妇产科学临床版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 385-386.
- 3 谢幸, 苟文丽. 妇产科学 [M]. 8 版. 人民卫生出版社, 2014: 274-275.
- 4 张立生, 刘小立. 现代疼痛学 [M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 1999: 169.
- 5 Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, et al. bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 1995, 55 (2): 237-241.
- 6 Sales KJ, Jabbour HN. Cyclooxygenase enzymes and prostaglandins in pathology of the endometrium [J]. *Reproduction*, 2003, 126 (5): 559-567.
- 7 Kaczynski P, Waclawik A. Effect of conceptus on expression of prostaglandin F2 $\alpha$  receptor in the porcine endometrium [J]. *Theriogenology*, 2013, 79 (5): 784-790.
- 8 Fan C, Katsuyama M, Wei H, et al. Molecular mechanisms underlying PGF2 $\alpha$ -induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2010, 130 (2): 211-214.
- 9 Abe S, Watabe H, Takaseki S, et al. The effects of prostaglandin analogues on intracellular Ca<sup>2+</sup> in ciliary arteries of wild-type and prostanoind receptor-deficient mice [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2013, 29 (1): 55-60.
- 10 Keightley MC, Brown P, Jabbour HN, et al. F-Prostaglandin receptor regulates endothelial cell function via fibroblast growth factor-2 [J]. *BMC Cell Biol*, 2010, 11: 8.
- 11 Wehbrink D, Haessig M, Ritter N, et al. Immunohistochemical demonstration of cyclooxygenase-2 (COX-2) and prostaglandin receptors EP2 and FP expression in the bovine intercaruncular uterine wall around term [J]. *Anim Reprod Sci*, 2008, 106 (3/4): 241-254.
- 12 Akiyama K, Ohga N, Maishi N, et al. The F-prostaglandin receptor is a novel marker for tumor endothelial cells in renal cell carcinoma [J]. *Pathol Int*, 2013, 63 (1): 37-44.
- 13 Marc B, Katatirta B. Effect of the prostaglandins on the uterine contractility [J]. *Aeta Obstet Gynecol Scand*, 1979, 87: 33.
- 14 Lumsden MA, Kelly RW, Baird DT. Primary dysmenorrhoea: the importance of both prostaglandins E2 and F2 alpha [J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1983, 90 (12): 1135-1140.
- 15 Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, et al. Adenomyosis: epidemiological factors [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2006, 20 (4): 465-477.
- 16 Parazzini F, Mais V, Cipriani S, et al. Determinants of adenomyosis in women who underwent hysterectomy for benign gynecological conditions: Results from a prospective multicentric study in Italy [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2009, 143 (2): 103-106.