

### 【临床研究】

泌疾病,手术标本均经病理血检查确诊为子宫肌瘤。

**1.2 主要试剂** 鼠抗人 PR 单克隆抗体、鼠抗人 ER 单克隆抗体、Ki-67 兔抗人单克隆抗体为丹麦 Dako 公司产品。

**1.3 Ki-67、ER 及 PR 表达的检测** 采用免疫组织化学法检测子宫肌瘤及子宫肌瘤旁正常子宫肌层中 Ki-67、ER 及 PR 的表达。病理切片、烤片 1 h 后,应用二甲苯和乙醇、过氧化氢进行脱蜡及复水处理,应用蒸馏水洗 3 次,每次 3 min;然后将切片反复进行微波修复 2 次,待切片自然冷却后进行 3 次磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution,PBS)洗涤,每次 5 min,封闭切片,滴加一抗置于 4 ℃ 过夜,PBS 洗涤 3 次,每次 3 min;滴加二抗,置于室温 37 ℃,15 ~ 30 min 后进行 PBS 洗涤 3 次,每次 3 min;滴加链霉亲和素-生物素复合物,置于 37 ℃,30 min 后 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;二氨基联苯胺显色;自来水冲洗切片,苏木精复染,自来水冲洗后脱水,应用树胶封片后镜检。

**1.4 结果判定** 依据 Sinicrope 改良法<sup>[3]</sup>对 PR、ER 表达强度进行评分,计数染色细胞:>75% 为 4 分;51% ~ 75% 为 3 分;26% ~ 50% 为 2 分;6% ~ 25%

表 1 正常子宫肌层与子宫肌瘤组织中 PR、ER 及 Ki-67 表达比较

Tab.1 Comparison of the expressions of PR,ER and Ki-67 in normal myometrium and uterine leiomyoma

组织类型	n	PR		ER		Ki-67	
		阴性/例	阳性/例	阴性/例	阳性/例	低表达/例	高表达/例
正常子宫肌层	52	7	45	29	23	47	5
子宫肌瘤	52	1	51	26	26	45	7
$\chi^2$		4.875		0.347		0.377	
P		0.027		0.562		0.543	

**2.2 PR、ER 及 Ki-67 的表达与子宫肌瘤数量的相关性** 结果见表 2。单发与多发子宫肌瘤组织中

表 2 PR、ER 及 Ki-67 的表达与子宫肌瘤数量的相关性

Tab.2 Relativity between the expressions of PR,ER,Ki-67 and the numbers of uterine leiomyoma

肿瘤数量	n	PR		ER		Ki-67	
		阴性/例	阳性/例	阴性/例	阳性/例	低表达/例	高表达/例
单发	28	0	28	15	13	25	3
多发	24	1	23	11	13	20	4
$\chi^2$		1.190		0.310		0.393	
P		0.282		0.581		0.534	

**2.3 PR、ER 及 Ki-67 表达与子宫肌瘤大小的相关性** 结果见表 3。肿瘤直径 >5 cm 的子宫肌瘤与肿瘤直径 <5 cm 的子宫肌瘤组织中 PR、Ki-67 的表达比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。肿瘤直径 >

表 3 PR、ER 及 Ki-67 表达与子宫肌瘤大小的相关性

Tab.3 Relativity between the expressions of PR,ER,Ki-67 and the size of uterine leiomyoma

肿瘤直径	n	PR		ER		Ki-67	
		阴性/例	阳性/例	阴性/例	阳性/例	低表达/例	高表达/例
<5 cm	32	0	32	23	9	28	4
>5 cm	20	1	19	3	17	17	3
$\chi^2$		1.631		15.930		0.066	
P		0.292		0.008		0.893	

为 1 分;<5% 为 0 分。将染色强度划分为 4 级:深棕色为 4 分;棕黄色为 2 分;浅黄色为 1 分;不显色为 0 分;每份切片 = 染色强度评分 + 染色细胞数评分,再根据切片评分将结果划分为 4 级:>5 分为强阳性(+++);4 ~ 5 分为中度阳性(++) ;2 ~ 3 分为弱阳性(+);0 ~ 1 分为阴性。Ki-67 以细胞核中出现棕黄色颗粒为阳性表达。随机选取 10 个高倍视野进行计数,对每个视野内的 100 个细胞中阳性细胞进行连续计数,取其平均数为 Ki-67 增殖指数,将所得指数值划分为 2 个等级:≥5% 为高增殖指数(高表达),<5% 为低增殖指数(低表达)。

**1.5 统计学处理** 实验数据均应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计数资料比较应用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 正常子宫肌层与子宫肌瘤组织中 PR、ER 及 Ki-67 表达比较** 结果见表 1。正常子宫肌层与子宫肌瘤组织中 ER、Ki-67 的表达比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),子宫肌瘤组织中 PR 的表达显著高于正常子宫肌层,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

PR、ER 及 Ki-67 的表达比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

5 cm 的子宫肌瘤组织中 ER 的表达显著高于肿瘤直径 <5 cm 的子宫肌瘤,差异有统计学意义( $\chi^2 = 15.93,P<0.01$ )。

2.4 子宫肌瘤组织中 PR、ER 及 Ki-67 表达与肿瘤部位的相关性 结果见表 4。肌壁间、浆膜下和黏表 4 不同部位子宫肌瘤组织中 PR、ER 及 Ki-67 的表达

Tab.4 Expressions of PR,ER and Ki-67 in different parts of uterine leiomyoma

肿瘤部位	n	PR		ER		Ki-67	
		阴性/例	阳性/例	阴性/例	阳性/例	低表达/例	高表达/例
肌壁间	25	0	25	14	11	21	4
浆膜下	18	0	18	7	11	16	2
黏膜下	9	1	8	5	4	8	1
$\chi^2$		4.871		1.360		0.266	
P		0.088		0.514		0.882	

3 讨论

子宫肌瘤是一种激素依赖性卵巢体肿瘤<sup>[4]</sup>,多发生于激素水平比较旺盛的生育阶段,同时由于妊娠期受激素刺激,子宫肌瘤会在短时间内快速增长。主要启动子宫肌瘤发生发展的因子是雌激素,孕激素起诱发的作用并且可以促进子宫肌瘤不断增长<sup>[5]</sup>。雌激素、孕激素是子宫肌瘤的主要因素,ER 与雌激素结合、PR 与孕激素结合产生一定的生物学效应。决定瘤细胞内是否有 PR 参与表达的是雌激素含量的高低,且 ER 的表达在一定程度上也受限于孕激素的调节<sup>[6]</sup>。故子宫肌瘤的发生发展受到了 PR、ER 的共同作用。但是 PR、ER 对子宫肌瘤生长的促进作用受限于月经周期、细胞凋亡与增殖以及月经期间雌激素、孕激素波动等多种因素的影响,因此,PR、ER 在子宫肌瘤中的含量不是恒定的,它们间的相互作用往往会被其他因素影响。PR、ER 在增生期受雌激素刺激而活化,在分泌期诱导激素对细胞的信号传递进行应答,孕激素能帮助子宫肌瘤细胞进行有丝分裂,细胞增殖、分化和增生被激活,故 PR、ER 对子宫肌瘤的生长有着极其重要的意义<sup>[7]</sup>。检测患者子宫肌瘤内 PR、ER 水平对术后处理、预后判断以及非手术治疗均具有指导性作用。本研究结果显示,正常子宫肌层与子宫肌瘤组织中 ER、Ki-67 的表达比较差异均无统计学意义,但子宫肌瘤组织中 PR 的表达显著高于正常子宫肌层,差异有统计学意义;提示子宫肌瘤的发生、发展与 PR 的高水平有显著相关性<sup>[8]</sup>。PR、ER 在很多子宫肌瘤中的表达程度各不相同,提示在子宫肌瘤发生机制中 PR、ER 通过识别且与雌激素、孕激素结合而发挥作用<sup>[9]</sup>。Ki-67 是一种核抗原,与细胞增殖有关,参与子宫肌瘤和平滑肌正常组织内的细胞增殖进程,对细胞的增殖进行标记,是促进子宫肌瘤生长一个非常重要的因子。Ki-67 能评估子宫肌瘤对治疗内分泌的敏锐度,同时也为保守性治疗、控制和预防子宫肌瘤的发展以及基因治疗提供重要的理论指导。本研究发现,Ki-67 在子宫肌瘤中主要为低表

膜下子宫肌瘤组织中 PR、ER 及 Ki-67 表达比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

达,子宫肌瘤组织与正常子宫肌层组织内的 Ki-67 水平比较差异无统计学意义,且与肿瘤大小、部位无相关性;提示 Ki-67 的表达与子宫肌瘤无显著的相关性,无法单独作为评判子宫肌瘤发生发展的一项指标<sup>[10]</sup>。

综上所述,PR 可能与子宫肌瘤的发生、发展有关,ER 的表达与子宫肌瘤的大小有关,而 Ki-67 表达与子宫肌瘤无显著相关性。

参考文献:

[1] Islam M S,Protic O,Giannubilo S R,*et al.* Uterine leiomyoma; a-  
available medical treatments and new possible therapeutic options  
[J]. *J Clin Endocrinol Metab*,2013,98(3):921-934.

[2] Mills A M,Ly A,Balzer B L,*et al.* Cell cycle regulatory markers in  
uterine atypical leiomyoma and leiomyosarcoma;immunohistochem-  
ical study of 68 cases with clinical follow-up [J]. *Am J Surg*  
*Pathol*,2013,37(5):634-642.

[3] Di T S,Massari S,Malvasi A,*et al.* Gene expression analysis re-  
veals an angiogenic profile in uterine leiomyoma pseudocapsule  
[J]. *Mol Hum Reprod*,2013,19(6):380-387.

[4] Makinen N,Vahteristo P,Kampjarvi K,*et al.* MED12 exon 2 muta-  
tions in histopathological uterine leiomyoma variants [J]. *Eur J*  
*Hum Genet*,2013,21(11):1300-1303.

[5] Islam M S,Protic O,Stortoni P,*et al.* Complex networks of multiple  
factors in the pathogenesis of uterine leiomyoma[J]. *Fertil Steril*,  
2013,100(1):178-193.

[6] Iwahashi M,Muragaki Y,Ino K. Human prolyl hydroxylase expres-  
sion in uterine leiomyoma during the menstrual cycle[J]. *Reprod*  
*Biol Endocrinol*,2012,10:111-114.

[7] 王运端,陈利社,张静,等. 雌激素受体、孕激素受体与子宫肌  
瘤生长的关系[J]. *河北医药*,2011,33(7):1051.

[8] Santak G,Glavic Z,Begic L,*et al.* Acute abdomen caused by huge  
pedunculated uterine leiomyoma in torsion[J]. *ANZ J Surg*,2013,  
83(1/2):96-97.

[9] 王玉玲,柳晓春,谢庆煌,等. 雌激素受体、孕激素受体、血管内  
皮生长因子及其受体在子宫肌瘤中的表达和临床研究[J]. *实*  
*用妇产科杂志*,2010,26(6):436-438.

[10] Zhang K,Zhou B,Shi S,*et al.* Variations in the PDCD6 gene are  
associated with increased uterine leiomyoma risk in the Chinese  
[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*,2013,17(7):524-528.