

郑州大学

硕士学位论文

子宫内膜异位症患者血清中VEGF和IGF--I的表达水平及其相关性

姓名：范蕊

申请学位级别：硕士

专业：妇产科学

指导教师：马楠

201205

子宫内膜异位症患者血清中VEGF和IGF-I的表达水平及其相关性

研究生 范 蕊

导 师 马 楠

郑州大学第二临床学院 妇产科

河南 郑州 450014

摘要

背景和目的

子宫内膜异位症(Endometriosis, EMs)简称内异症,是指具有生长功能的子宫内膜,在子宫被覆面及宫体肌层以外的地方生长繁殖而形成的一种妇科疾病,该病一般见于生育年龄的妇女,发病率为10-15%。子宫内膜异位症虽然是妇科良性疾病,但异位内膜增殖能力很强,具有远处转移和种植生长的能力,表现出类似肿瘤的生长特性,常引起患者的盆腔疼痛、性交疼和不孕,被形象地称为“良性癌”、妇女盆腔的“沙尘暴”。关于内异症的发病机制有很多学说,但没有一个学说可以解释所有子宫内膜异位症的发病过程。近年来许多研究表明,血管形成在内异症的发生发展过程中具有重要作用,对新生血管的生成和调控研究成为EMS发病机制、治疗策略研究的热点。

血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现的作用最强、最重要的促血管生成因子,可直接而特异地作用于血管内皮细胞,导致新生血管的形成,对于内异症内膜细胞的转移和种植十分重要。目前,研究EMs患者体内的VEGF水平多集中在腹腔液、在位内膜以及异位内膜中,在血清中的报道却较少。

胰岛素样生长因子-I(Insulin like growth factor-I, IGF-I)是一种具有多种功能的细胞生长因子,有多种生物学活性,可促进细胞增殖和分化、抗细胞凋亡、诱导新生血管及淋巴管的形成。有研究表明,内膜异位症病灶的大小与IGF-1

mRNA 表达水平相关性有显著性,说明局部 IGF-1 基因表达与内膜异位种植相关^[1]。IGF-I 在内异症血清中的研究较少,且结果不一。

关于 VEGF 和 IGF-I 在内异症患者血清中的联合检测国内外目前尚未见报道。本实验通过检测子宫内膜异位症患者血清中血管内皮生长因子和胰岛素样生长因子-I 的水平并分析其相关性,以探讨 VEGF 和 IGF-I 在 EMs 发生、发展中的关系,以期对 EMs 的临床诊断起到一定的指导意义。

材料与方法

1 实验分组

1.1 病例组:随机选取 2010 年 12 月至 2011 年 6 月在郑州大学第二附属医院住院经过手术治疗,术后病理诊断为子宫内膜异位症的患者 40 例,年龄 20-46 岁,平均 30.7 岁,按美国生育协会在 1985 年修订的(r-AFS)分期, I-II 期 19 例, III-IV 期 21 例。

1.2 对照组:取同期因卵巢囊肿行手术治疗,术后病理检查证实为卵巢成熟畸胎瘤和浆液性囊腺瘤的良性囊肿的患者 40 例,年龄 19-55 岁,平均 35.4 岁。

1.3 纳入标准:所有实验者半年内均排除内分泌科疾病、未合并子宫腺肌症、子宫肌瘤及乳腺增生等其他激素依赖性疾疾病,均未服用激素类药物。

2. 实验方法

所有患者术前均采取空腹静脉血,采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immuno sorbent assay, ELISA)检测两组患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平,应用 Excel 2000 对 VEGF 和 IGF-I 的表达水平建立数据库,用统计学软件包 SPSS17.0 对数据进行统计分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果

1.子宫内膜异位症组患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平明显高于对照组 ($P<0.05$)。

2. III-IV 期患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平均高于 I - II 期患者 ($P<0.05$)。

3. 内异症患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平呈正相关关系 ($r=0.508$, $P<0.05$)。

4. 联合测定患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平,在诊断子宫内膜异位症中具有较高的特异性 (95%)。

结论

1.VEGF 和 IGF-I 在内异症患者血清中的高水平,提示两者可能参与子宫内

膜异位症的发生发展过程，且与疾病严重程度相关。

2. VEGF 和 IGF-I 在子宫内膜异位症的发生发展过程中可能起协同作用。

3. 联合测定血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平有助于子宫内膜异位症的诊断。

关键词 子宫内膜异位症 血管内皮生长因子 胰岛素样生长因子-I 酶联免疫
吸附试验

Expression and Correlation of VEGF and IGF-I serum levels in patients with Endometriosis

Postgraduate: Fan Rui

Supervisor: Prof. Ma Nan

Department of Obstetrics and Gynecology

The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University

Zhengzhou, Henan 450014

Abstract

Objective

Endometriosis (EMs) is a gynecological medical condition in which active cells from the lining of the uterus (endometrium) appear and flourish outside the uterine cavity. It is typically seen during the reproductive years with a incidence of 10-15%. Although endometriosis is one of the most frequent benign gynecological diseases, it has strong proliferative capability with malignant tumor characteristics like hyperplasia, invasion, recrudescence etc, causing pelvic pain, dyspareunia and infertility, which has been vividly called "benign cancer" and women's pelvic "sandstorm". Various theories have been promulgated to explain the pathogenesis of endometriosis, but the exact cause remains unknown. In recent years, many studies have shown that endometriosis is one of the family of angiogenic diseases and excessive endometrial angiogenesis is proposed as an important mechanism in the pathogenesis of endometriosis. Studying on the regulation of neovascularization has become a hotspot in research of pathogenesis and treatment of endometriosis.

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the most powerful and important angiogenic molecule, which can effect on the endothelial cells of vascular directly and specially, resulting in neovascularization. It's very important in metastasis and

implanting of ectopic endometrial cells. At present, the research of VEGF level in patients with endometriosis is focused on peritoneal cavity fluid, normal and ectopic endometrium, with serum levels reported rarely.

Insulin-like growth factor-I (IGF-I) is a growth factor exerting a variety of biological functions. It can promote cell proliferation and differentiation, anti-apoptosis, (lymph)angiogenesis. It had been reported that intimal lesion of the effects of correlation between size and IGF-I mRNA expression level of significance, shows partial IGF-I gene expression is related to Ectopic implantation of endometrial. Studies about IGF-I in serum of endometriosis patients were very little with different outcomes.

It has not been reported about the combined detection of VEGF and IGF-I of the serum levels in endometriosis patients at home and abroad. In this study, the serum levels of VEGF and IGF-I in patients with endometriosis are detected and the correlation between them is analyzed, aiming to investigate the role of VEGF and IGF-I in the progression of endometriosis and obtain guidances in clinical diagnosis in EMs.

Methods

1. Experimental groups

1.1 Experimental group: 40 patients were chosen in the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University from December 2010 to June 2011. All of them, aged from 20 to 46, were confirmed for endometriosis after surgery and pathology, with average age 30.7. According to the revised American fertility Society 1985 (r-AFS) staging standard, I - II 19 cases, and III-IV 21 cases.

1.2 Control group: Selected 40 cases in the same period in patients given surgical treatment because of ovarian cysts, with postoperative pathological examination confirmed with ovarian mature teratoma and serous cystadenoma, aged from 19 to 55, with average age 35.4.

1.3 Inclusion criteria: All the experimenters were not administered with hormone drugs during half a year, excluding of endocrine disease, uterine fibroids, adenomyosis, mammary hyperplasia and other hormone-dependent disease.

2. Experimental methods

All patients' fasting venous blood was taken before the operations. VEGF and IGF-I concentrations were detected by ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay, ELISA). Database was established by Excel 2000 and analyzed by SPSS17.0. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

1. The serum levels of VEGF and IGF-I in patients with endometriosis were higher than those in the control group ($P < 0.05$).
2. The serum levels of VEGF and IGF-I in stage III and IV were higher than those of stage I and II ($P < 0.05$).
3. The VEGF serum levels were correlated positively with that of IGF-I in patients with endometriosis ($r = 0.508$, $P < 0.05$).
4. Simultaneously testing the VEGF and IGF-I serum levels has high specificity (95%) in diagnosis of endometriosis.

Conclusions

1. The high VEGF and IGF-I serum levels in endometriosis suggest that they may be involved in the progression of endometriosis, and they are related to its severity of the disease.
2. VEGF and IGF-I may take synergetic effects in the progression of endometriosis.
3. It may be valuable to detect the serum levels of VEGF and IGF-I in the diagnosis of endometriosis.

Key words

Endometriosis; Vascular endothelial growth factor; Insulinlike growth factor-I; Enzyme linked immuno sorbent assay

本文主要英文缩写

中文名称	英文名称	简称
子宫内膜异位症	Endometriosis	EMS
血管内皮生长因子	Vascular endothelial growth factor	VEGF
胰岛素样生长因子	Insulinlike growth factors	IGFs
胰岛素样生长因子-I	Insulinlike growth factor-I	IGF-I
酶联免疫吸附法	Enzyme linked immune sorbent assay	ELISA
成纤维细胞生长因子	Fibroblast growth factor	FGF
表皮生长因子	Epidermal growth factor	EGF
胰岛素样生长因子结合蛋白	Insulinlike growth factor binding protein	IGFBP
丝裂酶原活化蛋白激酶	Mitogen-activated protein kinase	MAPK

子宫内膜异位症患者血清中VEGF和IGF-I的表达水平 及其相关性

研究生 范蕊

导师 马楠

郑州大学第二临床学院 妇产科

河南 郑州 450014

引言

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs), 简称内异症, 是一种以子宫腔以外的地方出现异位子宫内膜组织并生长为特征, 是生育年龄妇女常见的妇科疾病, 此病具有种植性、侵袭性、容易浸润和复发等类似恶性肿瘤的特性, 在内异症中最常见于腹膜和卵巢, 常常引起盆腔疼痛和不孕^[2]等临床表现, 其所导致的痛经和不孕对女性来说, 不仅造成身心健康的损害, 还导致了生活质量的降低, 已经越来越引起人们的重视。由于子宫内膜异位症需要经过开腹手术或者腹腔镜手术取得异位病灶并进行病理检查才能进行明确的诊断, 不能在人群中进行大范围的普查, 所以在人群中发病率不是很清楚。据文献报道, 子宫内膜异位症的发病率范围差别很大, 在 1%-50%, 术中诊断率在 5%-20%。虽然目前有很多方法治疗此病, 结果却不能令人满意, 无论进行何种治疗, 其 5 年内的复发率均在 40%左右^[3]。近年来, 国内外文献均提及子宫内膜异位症的发病率有明显升高的趋势, 因此, 深入研究内异症的发病机制, 找到特异有效的诊断及治疗方法, 是子宫内膜异位症的研究中急需解决的问题, 也是当前妇科领域研究的难点及热点问题之一。内异症的发病机制有很多学说, 如子宫内膜种植学说, 淋巴及静脉播散学说, 上皮化生学说, 免疫学说等。Sampson 的子宫内膜种植学说虽被绝大多数学者接受, 但经血逆流是个普遍现象, 子宫内膜异位症的发病率只有 10%左右^[4], 因此, 经血逆流和内异症的发生并无完全相关性, 种植学说不能满意的解释这些现象, 经血逆流可能只是发病的基础和诱因, 还有其它一些因素在起作用。内膜细胞在异位种植要突破 3 道屏障: (1)腹水; (2)腹腔细胞, 主要是自然杀伤细胞、巨噬细胞等; (3)腹膜细胞外基质(ECM)。只有突破了这

三道屏障，才算完成从粘附到侵袭，再到血管生成这“三部曲” (Adhension-Aggression-Angiopoiesis)，在此过程中，局部的细胞因子和各种酶类等都起到了相当的作用。异位内膜的种植、生长、侵袭以及转移等类似肿瘤特性的生物学行为可能是 EMs 发病的关键。

近年来许多研究表明，异位内膜在腹腔内种植以及进一步发展必须要有新生血管来提供血液，血管形成在内异症的发生发展过程中具有重要作用^[5]。机体的血管形成有两种方式：血管发生 (neo-vascularization) 和血管生成 (angiogenesis)。血管的发生是胚胎在发育过程中血管细胞的发展；血管生成是血管生长的后期阶段，从成体血管以出芽或分枝的方式发展出新生血管。目前认为血管形成过程包括以下四个阶段：1.血管通透性增加并且出现渗漏；2.基膜的降解；3.内皮细胞的增生与迁移；4.新生血管床的成熟和稳定。在临床实践中发现，新鲜的 EMs 病灶周围都有很多新鲜组织，盆腔以外的 EMs 病灶大都发生在血运丰富的肠管和肺以及手术切口等部位。病理学发现 EMs 病灶的内部及周围存在明显的血管化。以上现象均提示 EMs 的发生、发展与新生血管的形成可能存在密切的关联^[6]。近年来，对新生血管的生成和调控研究成为 EMs 发病机制、治疗策略研究的热点。

血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种结合肝素的二聚体糖蛋白，主要是由子宫内膜的间质细胞、上皮细胞、血管平滑肌细胞以及间质中的一些炎性细胞如中性粒细胞和巨噬细胞等产生^[7]。VEGF 能够高度特异的促进血管内皮细胞进行有丝分裂、趋化和增高血管通透性，是目前为止发现的作用最强、最重要的促血管生成因子，可直接并且特异地作用于血管内皮细胞，促进新生血管的形成，对于内异症内膜细胞的种植和转移十分重要，其在组织中的表达反映了这些组织的血管生成活性^[8]。Oosterlyneck 等^[9]在 1993 年首次发现并证实了 VEGF 在子宫内膜异位症患者腹水中的表达水平高于非子宫内膜异位症的患者。后来又有许多学者做了大量的实验，研究并证明了 VEGF 在 EMS 的发生、发展中具有重要作用。目前，研究 EMs 患者体内的 VEGF 水平多集中在腹腔液、在位内膜以及异位内膜中，在血清中的报道较少，本研究通过 ELISA 方法检测子宫内膜异位症患者血清中的 VEGF 的表达水平，以探讨 VEGF 在 EMs 发生、发展中的作用。

胰岛素样生长因子-I (Insulin like growth factor-I, IGF-I) 是一种具有多种功能的细胞生长因子，对细胞的增殖、分化和代谢起着重要的作用，是近年来细胞

生物学分支学科研究的一个热点和重点。人类的子宫具有完整的胰岛素样生长因子系统,受到雌激素和孕激素的影响以及调控,在局部以自分泌和旁分泌的方式发挥作用,直接或者间接地来调节子宫内膜的周期性变化。IGF-I 作为其系统成员之一,具有多种生物学活性,可促进细胞增殖和转化、抗细胞凋亡、诱导新生血管及淋巴管的形成。Kudoh M 在大鼠子宫内膜异位症模型的研究中发现内膜异位症病灶的大小与 IGF-1 mRNA 表达水平相关性有显著性,说明局部 IGF-1 基因表达与内膜异位种植相关^[1]。由此推测对 IGF-I 进行深入研究,可能有助于阐明内异症的病理生理机制,为寻求特异性的诊断方法提供科学依据。

目前,关于 VEGF 和 IGF-I 在内异症患者血清中表达水平的检测,国内外已有相关报道,其中 IGF-I 在内异症血清中的研究较少,且结果不一。VEGF 和 IGF-I 在内异症患者血清中的联合检测国内外目前尚未见报道。本研究通过联合检测患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的表达水平,分析两者在内异症中的相关性及其与内异症病情严重程度的关系,旨在探讨 VEGF 和 IGF-I 在子宫内膜异位症的发生发展过程中的作用,以及两者在内异症诊断中的意义。

1 材料与方法

1.1 实验对象

病例组：随机选取 2010 年 12 月至 2011 年 6 月在郑州大学第二附属医院住院的经过腹腔镜手术治疗及术后病理诊断为子宫内膜异位症的 40 例患者为病例组，年龄 20-46 岁，平均 30.7 岁，按照美国生育协会在 1985 年修订的(r-AFS)分期，I-II 期 19 例，III-IV 期 21 例。

对照组：取同期因卵巢囊肿行手术治疗，术后病理检查证实为卵巢成熟畸胎瘤和浆液性囊腺瘤的良性囊肿的患者 40 例，年龄 19-55 岁，平均 35.4 岁。

纳入标准：所有实验者半年内均排除内分泌科疾病、未合并子宫腺肌症、子宫肌瘤及乳腺增生等其他激素依赖性疾疾病，均未服用激素类药物。

1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 主要试剂

VEGF 和 IGF-I ELISA 检测试剂盒均购自美国 R&D 免疫试剂公司，两种试剂盒的试剂组成相似，主要包括 96 孔微孔板 1 块，标准品 1 瓶，终止液 1 瓶标准品稀释缓冲液 1 瓶，酶标试剂 1 瓶，空白对照 1 瓶，30 倍浓缩清洗液 1 瓶，显色剂 A 液 1 瓶，显色剂 B 液 1 瓶，酶标包被板 4 条，标本稀释液 1 瓶)。

1.2.2 主要仪器和设备

酶 标 仪：芬兰 (Labsystems Multiskan MS 公司)

仪器型号：352 型

洗 板 机：芬兰 (Thermo Labsystems 公司)

仪器型号：AC8

离 心 机：微量高速离心机 (湘仪)

仪器型号：TG16W

培 养 箱：隔水式恒温培养箱 (常州普天仪器制造有限公司)

仪器型号：GNP-9080 型

1.3 实验方法

1.3.1 标本收集

采集入院后或手术前患者静脉血 3 毫升，常温静置 2 个小时后，以每分钟 2000 转离心 10 分钟，取上层血清小管分装，-80℃保存并等待成批检测 VEGF 和 IGF-I 的水平。

1.3.2 血清 VEGF 和 IGF-I 水平的测定

采用 ELISA 方法检测子宫内膜异位症患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平。

1.3.3 实验检测原理

(1) 人 VEGF 实验原理：本试剂盒采用双抗体夹心法来测定标本中人血管内皮细胞生长因子(VEGF)的水平。用纯化的人 VEGF 抗体来包被微孔板，并制成固相抗体，在包被单抗的微孔中依次加入人 VEGF 抗原，再和辣根过氧化物酶(HRP) 标记的羊抗人抗体进行结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤之后，加入底物四甲基联苯胺(TMB)进行显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅与样品中的 VEGF 水平呈正相关。用酶标仪在 450 纳米波长下测定吸光度，即 OD 值，通过标准曲线来计算样品中人血管内皮细胞生长因子(VEGF)抗原的浓度。

(2) 人 IGF-I 实验原理：同上述人 VEGF 实验原理。

1.3.4 实验检测方法

VEGF 和 IGF-I 的检测方法严格按照试剂和说明书进行，两个实验操作步骤相同，具体过程如下：

实验前先将需检测的标本从-80℃冰箱中取出，放在 4℃冰箱里缓融，如果发现血清中有颗粒或者不纯，检测以前需要再次离心或过滤。盒内各试剂使用前要先从 2-8℃冰箱内取出，检测过程中室温需要维持在 20-25℃，室温下静置至少 30 分钟左右。检测以前要将血清标本和试剂平衡到室温，并将试剂和标本充分混匀。洗涤液用医用蒸馏水稀释五十倍后使用。

1. 标准品的稀释与加样：在酶标包被板上设置十个标准品孔，在第一个和第二个孔中先分别加入标准品 100μl，再分别加入标准品稀释液 50μl，混匀；然

后从第一孔、第二孔中各取 100 μ l 分别加到第三孔和第四孔，再在第三、第四孔分别加标准品稀释液 50 μ l，混匀；然后从第三孔和第四孔中先各取 50 μ l 弃掉，再各取 50 μ l 分别加到第五、第六孔中，再在第五、第六孔中分别加标准品稀释液 50 μ l，混匀；混匀后从第五、第六孔中各取 50 μ l 分别加到第七、第八孔中，再在第七、第八孔中分别加标准品稀释液 50 μ l，混匀后从第七、第八孔中分别取 50 μ l 加到第九、第十孔中，再在第九孔和第十孔中分别加标准品稀释液 50 μ l，混匀后从第九孔和第十孔中各取 50 μ l 弃掉（稀释后各孔内的加样量都为 50 μ l，浓度分别为 1200pg/ml，800pg/ml，400 pg/ml，200 pg/ml，100 pg/ml）。

2. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、待测样品孔。在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液 40 μ l，然后再加待测样品 10 μ l（样品最终稀释度为 5 倍）。将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。

3. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。

4. 配液：将 30 倍（48T 的 20 倍）浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍（48T 的 20 倍）稀释后备用。

5. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。

6. 加酶：每孔加入酶标试剂 50 μ l，空白孔除外。

7. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。

8. 洗涤：小心揭掉封板膜，倒掉液体并甩干，每个孔加满洗涤液，静置 30 秒后倒掉，重复 5 次，拍干。

9. 显色：每孔先加入显色剂 A50 μ l，再加入显色剂 B50 μ l，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 分钟。

10. 终止：每孔加终止液 50 μ l，终止反应（此时蓝色立转黄色）。

11. 测定：以空白空调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

12. 计算浓度值：根据标准品的浓度以及对应的吸光度值(OD 值)，应用 Curve Exert 1.3 软件计算相对应的样品浓度(样品实际浓度应乘以总稀释倍数，标准品及样本都需做双份检测)。

1.4 结果判断

以标准物的浓度为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上绘出标准曲线, 根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度; 再乘以稀释倍数; 或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式, 将样品的 OD 值代入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

1.5 阳性判定和诊断指标

因数据呈正态分布, 选择对照组单侧 95%参考值范围的上限 (均数+标准差) 作为界点, 凡大于界点值者判定为阳性。

特异性和敏感性公式如下:

$$\text{特异性} = \frac{\text{真阴性}}{(\text{真阴性} + \text{假阳性})} \times 100\%$$

$$\text{敏感性} = \frac{\text{真阳性}}{(\text{真阳性} + \text{假阴性})} \times 100\%$$

1.6 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计学分析软件分析, 进行正态性检验后, 以均数±标准差 $\bar{x} \pm S$ 表示, 两组比较采用两独立样本均数比较的 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为统计学显著性差异水准。相关性分析采用 Pearson 直线相关分析法衡量两者的相关性, 求出 r 值。(以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准)

2 结果

2.1 病例组与对照组血清 VEGF 和 IGF-I 水平的比较

病例组血清中 VEGF 与 IGF-I 的浓度都高于对照组 ($t=3.974$, $P<0.05$; $t=4.012$, $P<0.05$), 差异具有统计学意义。见表 1、图 1.1 和 1.2。

表 1 EMs 组与对照组血清中 VEGF、IGF-I 水平 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数 n	VEGF 水平 (pg/ml)	IGF-I 水平 (ng/ml)
EMs 组	40	182.34±47.81 ^Δ	121.07±15.36 ^Δ
对照组	40	118.75±30.13	78.57±8.03
t 值		3.974	4.012
P 值		0.021	0.018

注：^ΔVS 对照组，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。

图1.1 EMs组和对照组患者血清中VEGF的水平

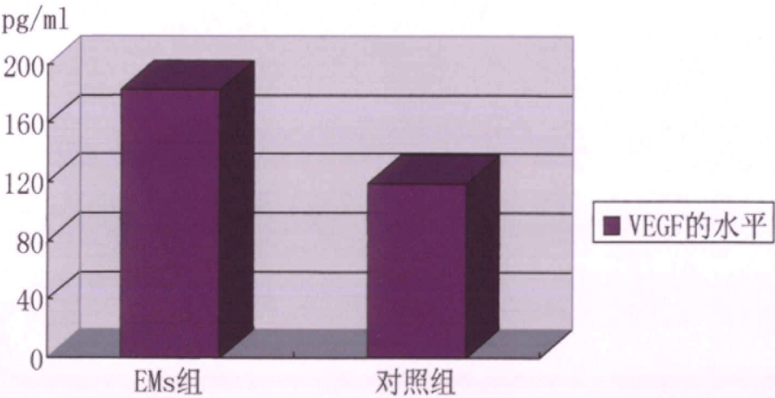
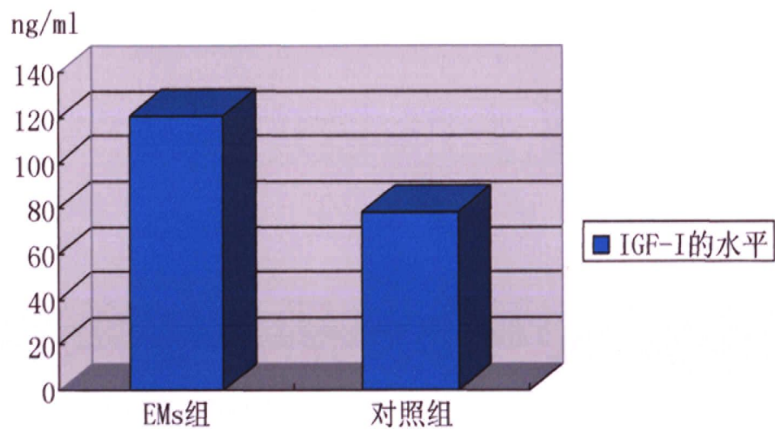


图1.2 Ems组和对照组患者血清中IGF-I的水平



2.2 病例组血清中 VEGF 的表达水平与疾病严重程度的关系

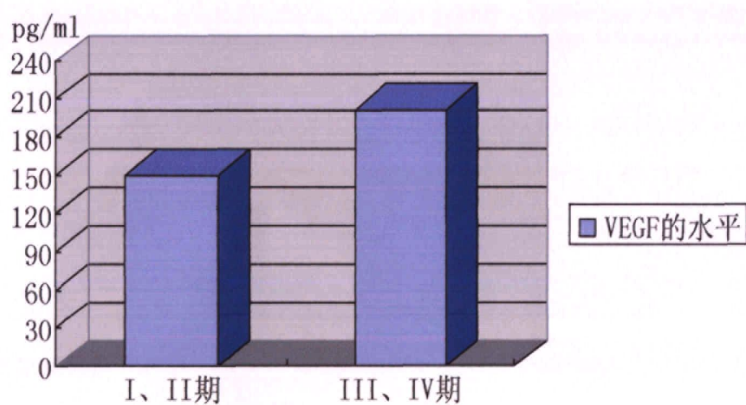
病例组 III 期、IV 期患者血清中 VEGF 的浓度高于 I 期、II 期患者，并且差别具有统计学意义 ($t=2.235$, $P<0.05$)，说明在子宫内膜异位症患者的血清中 VEGF 的表达水平随疾病严重程度的加重而升高。见表 2、图 2。

表 2 I、II 期患者与 III、IV 期患者血清中 VEGF 水平 ($\bar{x} \pm S$)

分期	例数 n	VEGF 水平 (pg/ml)
I、II 期	19	150.21±39.58
III、IV 期	21	201.35±44.87 [△]
t 值		2.235
P 值		0.016

注：[△]VS I、II 期，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。

图2 I、II期和III、IV期患者血清中VEGF的水平



2.3 病例组血清中 IGF-I 的表达水平与疾病严重程度的关系

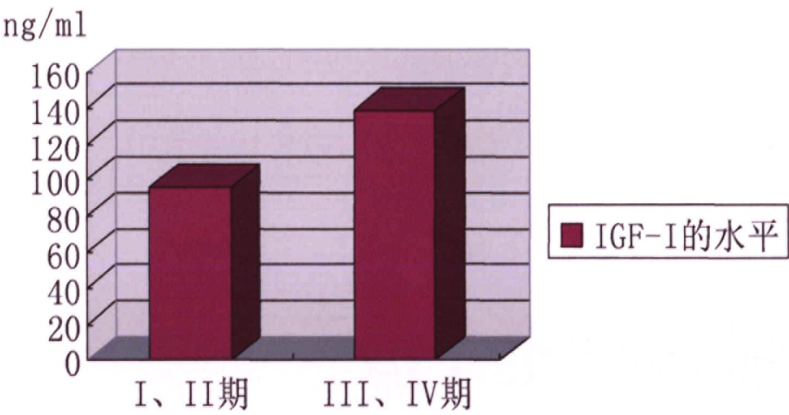
病例组 III 期、IV 期患者血清中 IGF-I 的浓度高于 I 期、II 期患者，并且差别具有统计学意义（ $t=2.005$ ， $P<0.05$ ），说明在子宫内膜异位症患者的血清中 IGF-I 的表达水平随疾病严重程度的加重而升高。见表 3、图 3。

表 3 I、II 期患者与 III、IV 期患者血清中 IGF-I 水平 ($\bar{x} \pm S$)

分期	例数 n	IGF-I 水平 (ng/ml)
I、II 期	19	95.68±10.28
III、IV 期	21	138.62±9.06 ^Δ
t 值		2.005
P 值		0.025

注：^ΔVS I、II 期，差异具有统计学意义（ $P<0.05$ ）。

图3 I、II期和III、IV期患者血清中IGF-I水平



2.4 病例组血清中 VEGF 和 IGF-I 的相关性分析

采用统计学 Pearson 相关分析以寻找子宫内膜异位症患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的相关性，结果如下： $r=0.508$ ， $P<0.05$ ，此结果表明，子宫内膜异位症患者血清中 VEGF 和 IGF-I 存在着正相关关系。

2.5 联合检测血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平在诊断子宫内膜异位症中的意义

根据阳性判定，选择血清 $VEGF>143.36\text{pg/ml}$ ， $IGF-I>86.29\text{ng/ml}$ 为阳性标准，内异症患者血清中 VEGF 的敏感性为 80%，特异性为 90%；IGF-I 的敏感性为 77.5%，特异性为 85%。若两者联合检测其敏感性为 75%，特异性为 95%。

3 讨论

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是育龄女性的常见病,多发病,典型临床表现为痛经、性交疼、盆腔包块和不孕。其临床病理的特点为病灶的广泛性、形态的多样性及增生性、侵蚀性、转移性、复发性等。据报道 25%-35%的不孕症妇女在检查中被发现患有 EMs^[10],慢性盆腔疼痛及痛经在患者中发病率为 20%-90%^[11]。EMs 具有侵袭性生长及反复发作的特点,对广大妇女来说,困扰着她们的身心健康,影响了其生活质量,因此有学者称之为“不死的癌症”。其真正的病因和发病机制目前尚未阐明。经典的 Sampson 经血逆流种植学说虽被大多数学者所接受,但经血逆流现象是普遍存在的,内异症患者却占少数,Sampson 学说不能满意的解释这一现象。经血逆流可能只是发病的基础或诱因。目前认为,EMs 的发生发展可能与内分泌因素、免疫机制以及血管生成因子共同作用有关。近来的研究表明,患者的内膜具有转移、种植、生长等类似恶性肿瘤的细胞的生物学行为的能力可能是发病的关键。内膜若要在腹膜等子宫以外的地方种植,必定要生成局部的一些血管,以增强对异位内膜的接受能力。血管生成在 EMs 中的作用已经越来越得到广大学者的重视。

血管生成(angiogenesis)是指血管从已存在的毛细血管或毛细血管后静脉发展成为新的血管的过程,这个过程主要包括血管内皮细胞的活化,血管生成表型的形成,血管局部细胞外基质和基底膜的降解,内皮细胞的芽生、增殖和迁移,新生血管腔的形成及连通等几个比较连续的过程。生理性的毛细血管生成在月经周期子宫内膜的生长修复、孕卵的植入、组织损伤修复中起着重要作用。当某些因素造成失调而使血管生成过度可能是促进 EMs 等多种疾病发生发展的关键因素。近年来,国内外许多学者对子宫内膜异位症的新生血管生成机制做了较为深入的研究,以寻求 EMs 的病因所在,一些血管生成相关因子如 VEGF,IGF-I 等在 EMs 的发生发展过程中起着重要的作用。

3.1 VEGF 和子宫内膜异位症

血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor,VEGF)是一种具有很多功能的细胞因子,是血小板衍生生长因子超家族的重要成员。它是一种能和肝素相结合的一种二聚体糖蛋白分子,分子量约为 34~46 KDa。它以自分泌和旁

分泌的方式作用于血管内皮细胞,通过和血管内皮细胞的特异性受体相结合,导致血管的形成。VEGF 主要来源于腹腔活化了的巨噬细胞,是一种很重要的血管生成刺激因子,许多生长因子如成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)等都具有促进血管生长的作用,但只有 VEGF 是特异的内皮细胞有丝分裂剂。

VEGF 基因位于染色体 6p21.3,由 7 个内含子和 8 个外显子组成,全长 14kb,编码产物是 34-45kD 的同源二聚体蛋白,两个亚基之间通过二硫键相连,其氨基酸序列非常保守。由于 VEGFmRNA 的选择性剪切,结果产生 VEGF121、VEGF145、VEGF165、VEGF189、VEGF206 等至少五种蛋白^[12,13]。其中 VEGF121, VEGF145 及 VEGF165 是分泌型的可溶性蛋白,可促进血管的内皮细胞进行有丝分裂,还可增加血管内皮细胞的通透性。VEGF 主要有 2 种受体: Flt-1 和 flk-1/KDR,都是跨膜蛋白,属于酪氨酸激酶受体家族第三亚型,主要存在于内皮细胞上^[14]。VEGF 只有和其受体结合后才具有生物学特性,可产生多种功能^[15,16,17]: (1) 使微血管的通透性增加; (2) 增加细胞质钙离子的浓度; (3) 改变内皮细胞基因在血管内的表达; (4) 促进血管形成。此外还可以通过刺激第二信使的形成和活化磷脂酶 C,直接促进血管内皮的有丝分裂,在核酸和蛋白水平诱导纤维蛋白溶解酶原的降解,参与细胞外蛋白水解和基底膜的降解,有利于血管内皮细胞的迁移和增生^[18,19]。VEGF 增加血管通透性,促进包括纤维蛋白原在内的血浆蛋白的渗出,形成纤维素网络,为血管芽延伸生长提供良好基质。

VEGF 对于内异症内膜细胞的种植转移十分重要,它在组织中的表达反应了该组织的血管生成活性。EMs 和实体的肿瘤一样,是一种血管生成依赖性的疾病^[20],VEGF 能使内膜碎片逆流入腹腔并附着在腹膜或其他脏器表面而形成新生血管,建立和维持新的血供,使子宫内膜异位种植存活而使 EMs 发病或复发。国内外大量研究表明 VEGF 可以在自分泌和旁分泌的共同作用下,通过和血管内皮细胞上的特异性受体结合,浸润入盆腔和腹膜内组织和促进异位内膜增殖,刺激毛细血管增生,形成腹腔的异位灶。近年来对 EMs 中 VEGF 表达的研究主要集中在患者在位、异位内膜,腹腔液等方面,并且对不同月经周期 VEGF 表达进行比较分析,试图在探索内异症的病因和发病机制方面能有所突破。McLaren 等^[21]报道 EMs 患者腹腔液中 VEGF 浓度比对照组明显升高,并且增生期明显高于分泌期,并呈现周期性的变化。金海燕等^[22]通过对 VEGF 在 EMs 患者中的检测,

发现在分泌期, EMs 在位子宫内膜腺上皮细胞中 VEGF 的表达强度明显高于正常子宫内膜。Fujishita 等^[23]也证实了子宫内膜异位症的在位和异位内膜中 VEGF 的表达均升高, 且红色病灶高于黑色病灶。国内外研究者都认为, 内异症患者的腹腔液和血清 VEGF 的水平是升高的, 并且血清 VEGF 的水平能够反映出病变的程度^[24,25,26]。但是 Gagne D^[27]等的报道却显示内异症患者相对于正常人血清 VEGF 水平没有明显变化。本研究通过酶联免疫吸附法检测子宫内膜异位症患者血清中的 VEGF 水平, 结果显示, 子宫内膜异位症组的 VEGF 水平比对照组高, 并随着子宫内膜异位症病情严重程度的加重而升高, 这与国内外大部分学者的研究结果是一致的。VEGF 可能参与了子宫内膜异位症的发生发展过程。

3.2 IGF-I 和子宫内膜异位症

胰岛素样生长因子-I (Insulinlike growth factor-I, IGF-I) 是一类多功能的细胞增殖调控因子, 是由 70 个氨基酸残基组成的小分子多肽, 由肝细胞产生, 受生长激素 (GH) 及其它因子的调控。IGF-I 通过增加细胞摄取葡萄糖和氨基酸来刺激蛋白质和糖原的合成。IGF-I 也是一种有效的有丝分裂原, 通过增加 DNA 合成来促进细胞有丝分裂。在健康人体内, IGF-I 随着年龄的增长而衰减, 可见其在细胞周期的调控中起重要作用。

胰岛素样生长因子系统是由 IGFs、IGF 结合蛋白 (IGFBPs)、IGF 受体及 IGFBPs 水解酶 4 部分组成。IGF 蛋白由两种多肽组成: IGF-I 和 IGF-II^[28], 二者分别为 70 和 67 个残基氨基酸构成的蛋白单链, 分子量分别为 7649 和 7500Da, 基因分别位于 12 号染色体长臂和 11 号染色体短臂上。结构中都含有 3 个链内二硫键。IGF 受体和胰岛素受体很相似, 除了能和 IGF-I 或胰岛素以 1:1 比例结合以外, 还显示与 IGF-II 有较高的亲和力。依据 6 种 IGFBP 对 IGF 的影响, 人们将其分为抑制性和刺激性蛋白两大类。95% 以上的血清 IGF 都是和各种 IGFBP 以结合形式存在。其在延长 IGF 半衰期、促进其跨血管壁运输及调整 IGF 与受体结合等方面发挥着重要调控作用。目前研究较确定的与 IGF-I 结合的是 IGFBP-3^[29]。

大量证据证明, 生长因子在性激素对子宫内膜细胞增长内膜细胞的鉴别当中起着重要的作用。无论正常子宫内膜还是 EMs 的病灶中都有受着性激素调节的生长因子的表达和分布, 其中包括 IGFs^[30]。最近研究表明, 在腹水中含有好

几种 IGFs。对腹水中 IGFs 成分的来源暂时还不清楚,但有可能来源于浆液渗出、卵泡液、脱落的子宫内膜、子宫内膜异位症组织、腹腔内的炎性细胞如巨噬细胞^[31]。绝大多数异位病灶在盆腔,盆腔组织持续地受到腹水的浸泡,且有实验表明 EMs 患者的腹水可以使体外培养中子宫内膜基质细胞的生长。因此,有人提出盆腔子宫内膜异位症患者腹水中的可溶解成份可能与异位病灶有关^[27]。但是最近的研究表明,将 EMs 患者与正常人作对比,她们腹水中上皮生长因子、性激素水平、以及成纤维因子无显著差别。

IGF-I在物质代谢及生长发育、促进细胞增殖和分化、抗细胞凋亡、诱导新生血管及淋巴管的形成方面均发挥着重要作用。IGF-I与其受体结合后,可启动两条信号传导途径^[32],一是激活有丝分裂原激活蛋白激酶,从而把有丝分裂和代谢信号传递到细胞核内;二是磷酸化的胰岛素受体底物I激活磷脂酰肌醇-3激酶,启动磷酸化磷酸肌醇介导的途径,传递细胞生长的信号。通过上述两种途径诱导DNA的合成,增加细胞的数目,诱发细胞分裂和分化。

目前,在月经周期各阶段调节子宫内膜细胞生长和分化的因素知道的相对较少,但 IGF-I 可能在雌激素的作用下对分化有一定的作用。在 EMs 中调节细胞增殖和分化的机制可能有所改变:IGF-I 水平在严重的 EMs 患者正位的子宫内膜是低的,而在异位的子宫内膜是高的。在腹水中的 IGF-I 的水平 EMs 患者比健康女性明显高。因此,IGF-I 在异位子宫内膜生长和 EMs 形成中起着一定的作用。研究表明,抗雌激素治疗能有效抑制 EMs 的发展^[33],但雌激素刺激异位子宫内膜生长的明确机制还不清楚。最近一项对大鼠的研究表明,子宫中的 IGF-I 由于其促进排卵的功能,可能和妊娠早期的胚胎流产有关,同时实验也证明了大鼠切除卵巢以后通过 Gn-RH 特效药(如亮丙瑞林)发现移植的异位内膜的 IGF-I 的表达减少并且异位的内膜缩小,从而说明 IGF-I 在介导雌激素作用的同时具有调节异位内膜生长的作用^[34]。关于 IGF-I 在内异症血清中的报道甚少,且结果不一。Gurgan T^[35]、王耀玲^[36]等研究结果表明,内异症晚期患者血清中 IGF-I 水平比内异症早期和对照组显著升高。而苑春莉^[37]等在内异症患者血清中测定 IGF-I 的水平与对照组无差异。本实验研究结果表明,在 EMs 患者血清中,IGF-I 的水平高于对照组水平,差异具有统计学意义;并且 I、II 期患者血清中 IGF-I 的水平明显比 III、IV 期患者要低,且差异性具有统计学意义。IGF-I 在内异症的发生发展过程中可能起着一定的作用,可能是维持内异症晚期的进展。

3.3 VEGF和IGF-I在子宫内膜异位症血清中表达水平的相关性及联合检测的意义

Baserga R^[38]等通过研究发现,把小鼠的IGF-I基因敲除以后,即使是在有VEGF存在的情况下,小鼠的血管也不能够正常的生长,血清中IGF-I的水平降低时,VEGF促进血管形成的作用也下降。Bermont L^[39]等研究发现,IGF-I可以在转录后水平增加子宫内膜细胞VEGF的表达,调节血管的生成。Brodt P^[40]等通过研究发现,IGF-I通过与IGF-I受体结合后可以激活VEGF,从而激活丝裂酶原活化蛋白激酶(MAPK)途径,促进新生血管形成。这些结果都可以提示,胰岛素样生长因子-I与和血管内皮生长因子(VEGF)之间可能存在一定关联,并且构成一条轴,胰岛素样生长因子受体在这个轴当中起到了一定的桥接作用。本研究结果表明,VEGF和IGF-I在子宫内膜异位症患者血清中的表达水平存在正相关关系,说明二者在子宫内膜异位症的发病中可能起着协同作用。

子宫内膜异位症是目前育龄妇女中的常见病,由于其发病机制不清,且缺乏较为特异性的、创伤较小、简单易行的临床早期诊断的生化指标,难以对子宫内膜异位症的发生发展、治疗、愈后和复发进行动态监控,阻碍了对子宫内膜异位症的基础和临床研究的进展^[41]。如果能够发现子宫内膜异位症特异性和敏感性均较高的血清生化指标,将具有非常重大的临床意义。本研究通过对子宫内膜异位症患者血清中VEGF和IGF-I的表达水平进行联合检测,结果表明,VEGF和IGF-I在子宫内膜异位症患者血清中的水平呈现高表达,并且随着疾病严重程度的加重而升高,两者在子宫内膜异位症中的表达水平呈正相关的关系,且联合检测其特异性和敏感性均较高。因此,联合检测子宫内膜异位症患者血清中VEGF和IGF-I的表达水平可能有助于子宫内膜异位症的诊断。

3.4 有待解决的问题

子宫内膜异位症的发病是一个多因素影响、复杂和动态的发展过程,新生血管形成并不是子宫内膜异位症所特有的现象,血管生成因子VEGF和IGF-I在这些疾病中的表达情况有待于进一步研究。由于本实验研究的样本量相对较少,所得出的结论不足以对VEGF和IGF-I在子宫内膜异位症诊断中的价值进行客观、全面的评价,有待于进一步完善相关标本量和数据。如果能发现VEGF和IGF-I在子宫内膜异位症与其他疾病中表达水平与规律的差异性,将为VEGF和IGF-I

在子宫内膜异位症中的诊断及治疗价值奠定理论基础。

3.5 子宫内膜异位症治疗的前景

子宫内膜异位症是危害育龄妇女的常见病，多发病，且近年来发病率越来越高，药物治疗和手术治疗后的复发率也较高。目前还缺乏较为特异的、创伤较小、简单易行的早期诊断指标。异位内膜的种植和生长是依赖新血管的形成的，那么抑制血管生成可能成为治疗子宫内膜异位症的方法之一。VEGF和IGF-I是促进新生血管生成的重要细胞因子，本研究发现，患者血清中的VEGF和IGF-I的水平均高于对照组，提示血管生成在子宫内膜的粘附、种植和生长过程中可能起着比较重要的作用，为异位病灶提供了赖以生存的营养和物质支持。随着对子宫内膜异位症血管生成研究的进一步深入，以VEGF和IGF-I为治疗靶点来阻断异位病灶新生血管的生成，可能会给治疗子宫内膜异位症提供新的途径。

4 结论

4.1. VEGF 和 IGF-I 在内异症患者血清中的高水平，提示两者可能参与子宫内膜异位症的发生发展过程，且与疾病严重程度相关。

4.2. VEGF 和 IGF-I 在子宫内膜异位症的发生发展过程中可能起协同作用。

4.3. 联合测定血清中 VEGF 和 IGF-I 的水平有助于子宫内膜异位症的诊断。

5 参考文献

- [1] Kudoh M, Susaki Y, Ideyama Y, et al. Inhibitory effects of a novel aromatase inhibitor, YM511, on growth of endometrial explants and insulin-like growth factor-I gene expression in rats with experimental endometriosis[J]. Steroid Biochem Mol Biol, 1997 Sep-Oct, 63(1-3): 75-80
- [2] Olartecoechea B, Garcia Manero M, Royo P, et al. Treatment for endometriosis[J]. Rev Med Univ Navarra, 2009, 53(3): 12-14.
- [3] 朗景和. 子宫内膜异位症的基础与临床研究的几个问题[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2002, 18(3): 129-130.
- [4] 冷金花, 郎景和, 杨佳欣. 子宫内膜异位症的诊治进展[J]. 中华妇产科杂志, 2000, 35(1): 53-54.
- [5] Taylor RN, Yu J, Torres PB, et al. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis[J]. Reprod Sci, 2009, 16(2): 140-146.
- [6] May K, Becker CM. Endometriosis and angiogenesis[J]. Minerva Ginecol, 2008, 60(3): 245-254.
- [7] Donnez J, Smoes P, Gillerot S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis[J]. Hum Reprod, 1998, 13(6): 1686-1690
- [8] Gilabert J, Estelles A, Ramon LA, et al. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems[J]. Hum Reprod, 2007, 22(8): 2120-2127
- [9] Oosterlynck DJ, Meuleman C, Sobis H, et al. Angiogenic activity of Peritoneal fluid from women with endometriosis[J]. Fertil Steril, 1993, 59(4): 778-782.
- [10] 乐杰. 妇产科学. 第6版[M]. 北京: 人民卫生出版社. 2004: 354
- [11] 乐杰. 妇产科学. 第7版[M]. 北京: 人民卫生出版社. 2008: 325
- [12] Shifren J L, Tseng J F, Zaloudek C J, et al. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis[J]. Endocrinol Metab, 1996, 81(8): 3112-3118.
- [13] Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor[J]. FASEBJ, 1999, Jan, 13(1): 9-22.
- [14] Brock TA, Dvorak HF, Senger DR. Tumor-secreted vascular permeability factor increases cytosolic Ca^{2+} and von Willebrand factor release in human endothelial cells[J]. Am J Pathol, 1991, Jan, 138(1): 213-221.
- [15] Dvorak H, Brown L, Detmar M, et al. Vascular permeability factor vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis[J]. Am J Pathol, 1995, 146(1): 1029-1035.
- [16] Leung DW, Cachianes G, Kuang W J, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted

- angiogenic mitogen[J]. Science, 1999, 246(4935):1309-1312.
- [17] Park JE, Keller GA, Fermra N, et al. The vascular endothelial growth factor(VEGF) is forms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bio-activity of extracellular matrix-bound VEGF[J]. Mol Biol Cell, 1993, 4(12): 1317-1326.
- [18] Brekken RA, Thorpe PE. Vascular endothelial growth factor and vascular targeting of solid tumors[J]. Anticancer Res, 2001, 21 (6B) : 4221-4229
- [19] Matsumoto T, Toi M, Bando H. Vascular endothelial growth factor: its prognostic, predictive, and therapeutic implications[J]. Lancet Oncol, 2001, 2 (11) : 667-673
- [20] Cho SH, Oh YJ, Nam A, et al. Evaluation of serum and urinary angiogenic factors in patients with endometriosis[J]. AM J Reprod Immunol, 2007, 58(6): 497-504.
- [21] McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis[J]. Hum Reprod Update, 2000, 6(1):45-55.
- [22] 金海燕, 王自能, 卢凤昕, 等. 血管内皮生长因子在子宫内膜异位症发病中的作用[J]. 基础医学与临床, 2005, 25(3): 257-260.
- [23] Fujishita A, Hasuo A, Khan K N, et al. Immunohistochemical study of angiogenic factors in endometrium and endometriosis[J]. Gynecol Obstet Invest. 1999, 48(1):36-44.
- [24] Kalu E, Sumar N, Giannopoulos T, et al. Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis[J]. Obstet Gynaecol Res, 2007, 33(4): 490-495.
- [25] Garcia-Manero M, Alcazar JL, Toledo G. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and ovarian endometriosis: correlation between VEGF serum levels, VEGF cellular expression, and pelvic pain[J]. Fertil Steril, 2007, 88(2): 513-515.
- [26] 王晓黎, 刘青. 子宫内膜异位症患者血清与腹腔液中血管内皮因子 VEGF 含量测定的临床研究[J]. 卫生职业教育, 2008, 26(11): 138-139.
- [27] Gagne D, Page M, Robitaille G, et al. Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis [J]. Hum Reprod, 2003, 18(8):1674-1680
- [28] Humbel RE. Insulin-like growth factor 1 and 2[J]. Eur J Biochem, 1998, 190(3): 445-462
- [29] Liu B, Lee KW, Anzo M, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 inhibition of prostate cancer growth involves suppression of angiogenesis[J]. Oncogene, 2007, 26: 1811-1819.
- [30] Chang SY, Ho YS. Immunohistochemical analysis of insulin-like growth factor I receptor and insulin-like growth factor 2 in endometriotic tissue and endometrium[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 1997, 76(2): 112-117
- [31] Ramey JW, Archer DF. Peritoneal fluid: its relevance to the development of endometriosis[J]. Fertil Steril, 1993, 60(1):1-14.
- [32] Leon Y, Sanchez JA, Miner C, et al. Developmental regulation of Fos protein during proliferative growth of the otic vesicle and its relation to differentiation induced by retinoic acid[J]. Dev Biol, 1995, 167 (1) : 75
- [33] Chang SY, Ho YS. Immunohistochemical analysis of insulin-like growth factor-1. insulin-like

- growth factor-2 in endometriotic tissue and endometrium[J].Acta Obstet Gynecol Scand, 1997, 76(2): 112-117.
- [34] Wood J. Treatment of endometriosis[J]. N Engl J MED, 2001, 345(7):266-275.
- [35] Gurgan T, Bukulmez O, Yarali H, et al. Serum and peritoneal fluid levels of IGF I and II and insulinlike growth binding protein-3 in endometriosis[J]. Reprod Med,1999,May; 44(5): 450
- [36] 王耀玲, 西春花, 黄向红, 等.血清和腹水 IGF-I 水平在子宫内膜异位症中的意义[A].实用医技杂志, 2004,9(11):1714-1715
- [37] 苑春莉, 盛 辉, 韩丽英, 等. 子宫内膜异位症患者血清及腹腔液中 IGF-I 浓度的测定 [A].中国实验诊断学,2005, 9(3): 384-385
- [38] Baserga R, Peruzzi F, Reiss K. The IGF-I receptor in cancer biology[J]. Int J Cancer, 2003, 107(6):873-877
- [39] Bermont L, Lamielle F, Fauconnet S, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by insulinlike growth factor-I in endometrial adenocarcinoma cells[J]. Int J Cancer, 2000, 85(1): 117.
- [40] Brodt P, Samani A, Navab R. Inhibition of the type I insulin-like growth factor receptor expression and signaling: novel strategies for antimetastatic therapy[J]. Biochem Pharmacol, 2000, 60(8): 1101-1107.
- [41] Brosens J, Timmerman D, Starzinski-Powitz A, et al. Noninvasive diagnosis of endometriosis: the role of imaging and markers[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2003, 30 (1):95-114.

综述

血管生成相关因子在子宫内膜异位症中的研究进展

综述 范 蕊

审校 马 楠

子宫内膜异位症 (endometriosis EMs, 简称内异症), 是一种以子宫腔以外的地方异位子宫内膜组织的出现和生长为特征, 在临床上主要表现为痛经、盆腔包块和不孕的在广大育龄妇女当中常见的妇科疾病, 其在育龄妇女中的发病率约占 10%-15%, 在不孕妇女中更是高达 40%-50%^[1], 近年来其发病率越来越高, 发病年龄也越来越年轻化, 所导致的盆腔疼痛和不孕对广大中青年女性来说, 不仅损害身心健康, 对其生活质量也造成严重影响。

子宫内膜异位症虽然是一种良性妇科病, 却有类似恶性肿瘤的一些生物学行为, 如远处器官受累、局部浸润和多发病灶等。关于 EMs 的病因目前尚未阐明, 其发病机理存在很多学说, 如经血逆流学说、淋巴及静脉播散学说、上皮化生学说、免疫学说等, 其中支持最多的就是 sampson 提出的经血逆流学说。近年来证实在周期性行经的妇女中, 经血逆流至盆腔是普遍的生理现象^[2], 发生率高达 76%-90%, 发生 EMs 的患者却占少数, 且该理论不能解释发生在盆腔以外的 EMs, 说明经血逆流可能只是诱因或者基础。当脱落的子宫内膜附着在腹膜或其他部位时, 异位内膜本身及其周围组织新的血供的建立和维持是子宫内膜异位种植存活和子宫内膜异位症发生的基本条件^[3]。逆流经血中的内膜要想在腹膜等子宫以外的地方种植, 必然要有局部的血管生成, 以增强其对异位内膜的接受能力。新生血管的形成对异位内膜的种植和病灶的发展至关重要。近年来, 血管生成在 EMs 中的作用越来越得到广大专家学者的重视。

1 血管生成 (angiogenesis) 概述

1.1 关于血管生成

血管生成 (angiogenesis) 这一概念最早是由 Hertig 在 1935 年提出的, 是指从已有的毛细血管或毛细血管后静脉发展而形成新的血管的过程。它是人体内的一种生理现象, 在组织损伤和胚胎发育中起着重要作用。异常的血管生成主要发生于某些病理性的情况状态, 如创伤的愈合、肿瘤生长转移、糖尿病视网膜病变和类风湿性关节炎等^[4]。血管生成包括以下基本过程^[5,6]: ①血管内皮细胞因血管生成因子的作用而出现形态改变; ②毛细血管基底膜和周围细胞外间质被血管内皮细胞释放蛋白激酶降解, 继而引起细胞外间质的重塑; ③血管内皮细胞从毛细血管后静脉中迁移出来形成血管新芽; ④血管内皮细胞增殖并延伸为血管新芽; ⑤相邻的血管新芽融合并逐渐形成血管腔; ⑥微血管的分化和成型。血管生成过程的深入研究最早是起源于对实体肿瘤生长的研究。在正常成年女性当中, 血管生成主要见于胎盘形成、月经、排卵和创伤修复等特殊的生理过程。子宫内膜异位症的发生、发展均依赖异位内膜中血管的生成。

目前来说对于评价血管生成程度的最客观和直接的标准是组织里的微血管数目。在计数方法上, 常选用微血管密度 (Microvessel density MVD), 即平均每平方毫米面积内的血管数目。一些生化标志物如体液中的血管生成刺激因子可以作为评价血管生成的间接指标^[7]。

1.2 EMs 中新血管生成的证据

随着分子生物学的发展和血管生成理论的进一步研究, 大量证据表明, 血管的生成不仅在月经周期中子宫内膜的生长和修复过程中起作用, 还在 EMs 的发生发展中起重要作用^[8]。主要证据有: ①腹腔镜下可见在异位病灶内部和周围存在大量具有特征性的新生血管, 腹腔局部的血管生成活跃^[9]; ②患者的腹腔液、血液和异位病灶中多种血管生成因子明显增加; ③病理上可见在盆腔异位内膜基底部的毛细血管的数量和面积增加, 微血管密度增高, 新鲜的红色病灶比陈旧的棕色病灶具有更加丰富的毛细血管网; ④盆腔外异位内膜病灶处也被发现存在于血管生成活跃的部位, 如皮肤、肺、肌肉以及手术切口等处^[10]; ⑤免疫组织化学发现, 异位内膜微血管较为集中且血管直径较小, 说明异位内膜血管生成旺盛; ⑥随机对照研究显示, 患者内皮细胞增殖速度指数明显高于对照人群; ⑦大量动物实验表明, 阻断新生血管生成后, 子宫内膜异位症的发病率明显降低。

1.3 EMs 中血管生成的作用

随着分子生物的发展和血管生成研究的进展,越来越多的证据表明,逆流经血中的子宫内膜之所以能成功地在异位种植生长,与局部新生毛细血管的形成有关。这些新生血管把异位的子宫内膜细胞和循环系统直接连接起来,使得供给异位病灶生长的物质交换得以进行,子宫内膜在异位的快速生长离不开异位灶中新生血管的形成。Smith^[11]等报道,内异症患者异位子宫内膜血管内皮细胞增生活跃,血管形成旺盛。Schindl^[12]等证实内异症患者异位病灶中微血管密度 (Micro vessel Density, MVD)明显高于在位子宫内膜,进一步研究还证实红色病灶中 MVD 显著高于在高倍显微镜下观察到子宫其他类型病灶。Ota^[13]等分别通过实验证实腺肌症病灶及其在位子宫内膜的血管形成活性明显增强,存在血管的异常增生现象,并且患者在位内膜的毛细血管平均表面积、总表面积以及毛细血管的数量明显高于正常对照组,尤其是总表面积增加了 11.6 倍。Goteri^[14]等的研究发现血管生成影响卵巢巧克力囊肿的形成,尤其是巨大的双侧巧克力囊肿,并在囊肿增生过程中促进组织粘连形成纤维结缔组织。以上实验表明,异位内膜的种植、生长不仅依赖于内膜本身的血管维持,更依赖周围腹膜血管长入形成新血管来维持。

2 血管生成相关因子的调控

血管生成的环节非常复杂,许多相关因子参与血管生成的调节,它们通过刺激血管内皮细胞的增生、迁移直接调控或者通过其他靶细胞等因素间接调控血管的生长,从而参与 EMs 的形成和发展。EMs 中常见的血管生成促进因子有:血管内皮生长因子(VEGF)、血小板源性内皮细胞生长因子(PD-ECGF)、促红细胞生成素(EPO)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子(TGF)、表皮细胞生长因子(EGF)、胰岛素样生成因子(IGF)、血管生成素(angiogenin)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL-8)、纤溶酶原激活因子(PA)、基质金属蛋白酶(MMP)等。常见的抑制因子有:内皮抑素(endostatin)、血管生成抑素(angiostatin)、干扰素(INF- α 、INF- β)、血小板因子-4、纤溶酶原激活因子抑制剂(PAI)、基质金属蛋白酶抑制剂(TIMF)、血小板反应素(TSP)等。

2.1 血管生成促进因子

2.1.1 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)

2.1.1.1 血管内皮生长因子的生物学功能

血管内皮生长因子是近年来新发现的一种多肽类生长因子, 又称血管通透性因子, 是促进新生血管形成的重要的细胞因子, 能和肝素结合, 分子量约为 34-46 KDa。VEGF 主要来源于腹腔里面活化的巨噬细胞, 是非常重要的血管生成刺激因子。许多生长因子如 FGF、EGF 等都有促进血管生长的作用, 只有 VEGF 是特异性的内皮细胞有丝分裂剂。目前已在血管内皮细胞膜上检出两种与 VEGF 具有高度亲和力的受体: Flt-1 和 flk-1/KDR, 属于酪氨酸激酶受体家族第三亚型。VEGF 可与其受体相结合, 并作为内皮细胞特异性的有丝分裂原来诱导内皮细胞的增生和毛细血管网的形成。VEGF 家族有 5 个成员, 分别为 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D 和胎盘生长因子(PLGF), 其中研究最多为 VEGF-A^[15]。人类 VEGF-A 基因位于染色体 6p21.3 上, 包含 7 个内含子和 8 个外显子, 根据所包含的氨基酸的数目可以分为 7 种分子类型: VEGF121、VEGF148、VEGF 145、VEGF 165、VEGF183、VEGF 206 和 VEGF 189, 体内以 VEGF 165 最为常见^[16]。VEGF121 缺乏第 6、7 外显子, VEGF145 缺乏第 7 外显子, VEGF165 缺乏第 6 外显子, VEGF206 与 VEGF189 的 8 个外显子相同。VEGF 通过与其受体结合而发挥生物学效应, 促进血管内皮细胞有丝分裂并增加血管壁的通透性。

血管内皮生长因子做为关键的血管形成因子, 它的生物学功能主要有: ①直接促进血管内皮细胞的有丝分裂, 促进血管内皮细胞的迁移和增生以及血管形成; ②增加血管通透性, 为血管芽延伸生长提供良好基质; ③VEGF 的受体与血管岛、血管形成和造血有关, 并且在内皮细胞排列形成管腔时发挥效应。

2.1.1.2 血管内皮生长因子在 EMs 中的作用

VEGF 广泛的分布于人体组织中, 主要见于成年人的心、肺、肾上腺、肾和肝等组织, 也存在于女性的子宫、卵巢、胎盘等器官和组织中。一般来说, VEGF 表达水平很低, 激素可能影响 VEGF 的表达, 在月经、黄体形成等过程中 VEGF 会出现周期性的过量表达。Smith 和 Shifren 等描述 VEGF 蛋白和 VEGFmRNA 表达在分泌期内膜中含量最高, 在月经周期中也有周期性变化。McLaren J^[12]测定了子宫内膜异位症患者和正常的对照组中腹腔液 VEGF 浓度的差异, 发现前者的水平明显升高, 且增殖期中腹腔液 VEGF 浓度明显高于分泌期, 在对照组中 VEGF 浓度没有周期性的变化。Fasciani^[17]利用酶联免疫吸附法(ELISA)、离

心分离等技术测定了 20 例卵巢异位囊肿的卵巢液,发现卵巢液中 VEGF 的浓度明显高于对照组,且卵巢液当中 VEGF 浓度与异位的卵巢囊肿直径是呈负相关($r=0.56$, $P=0.01$)。Donnez^[18]作了进一步的研究,检测了 43 例子宫内膜异位症患者在位内膜、异位内膜和 10 例正常妇女在位内膜、间质细胞和腺上皮细胞的 VEGF 水平,结果表明,子宫内膜异位症患者在分泌期在位内膜 VEGF 水平比正常妇女来说子宫内膜 VEGF 水平要高。国内外研究者都认为,内异症患者的腹腔液和血清 VEGF 的水平是升高的,并且血清 VEGF 的水平能够反映出病变的程度。

以上实验结果表明,VEGF 在子宫内膜异位症的发生发展过程中起着重要的作用。一方面,VEGF 通过促进血管的形成使异位内膜种植生长,另一方面,VEGF 又不断的增加血管的通透性,形成一个循环路径,促进异位内膜的生长。

2.1.2 胰岛素样生长因子-I (Insulin like growth factor-I, IGF-I)

2.1.2.1 胰岛素样生长因子-I 的生物学功能

胰岛素样生长因子,又称类胰岛素生长因子,主要包括 IGF-I 和 IGF-II 两大类^[19]。因其结构和胰岛素相近而得名,是一类多功能细胞增值调控因子,分别是由 70 和 67 个氨基酸的单链蛋白组成,分为 A、B、C 和 D 四个结构域。IGF-I 的 A、B 区中 70% 的氨基酸序列和 IGF-II 相同,50% 与胰岛素相同。胰岛素原只包含 A、B、C 三个区域,但成熟的胰岛素只含有 A 和 B 两个区域。过去学者认为,唯一产生 IGF 的器官是肝脏,现在研究证实,很多组织和细胞在不同的发育阶段都有 IGF 的表达。IGF 不仅存在于血液循环中,还能通过自分泌或旁分泌的方式在局部组织发挥一定作用。IGF-I 主要与 IGF-I 受体结合来发挥其作用的。人的 IGF-I 受体基因位于第 15 条染色体上。成熟的 IGF-I 受体基因由 4 个亚基($\alpha_2\beta_2$)组成^[20]。位于细胞外的 α 链(165 Kd)具有配体结合部位,通过二硫键与 β 链(90Kd)共价连接。 β 链有跨膜和胞内部分,具有酪氨酸激酶活性部位。IGF-I 受体对 IGF-I 的亲合力比 IGF-II 稍高,对细胞的增殖分化起着调节作用^[21]。血液中的 IGF-I 大部分是与 IGF-I 结合蛋白(IGFBPs) 结合在一起的。目前研究较明确主要与 IGF-I 结合的是 IGFBP-3。

IGF-I 的生物学功能主要有:①IGF-I 能促进人体发育。人类出生后 IGF-I 的表达在青春期前升高,随年龄的增长有所下降,出生后 IGF-I 的主要作用可能是通过自分泌和旁分泌机制促进局部组织的生长。在局部组织过量表达 IGF-I 的

转基因动物中, IGF-I 特异地促进组织生长的作用却很明显, 如 IGF-I 可促进皮肤、阑尾、结肠、子宫、胸腺、肾、脾、睾丸及肾上腺等多种组织的生长。②IGF-I 能增加鸟氨酸脱羧酶的活性, 促进 DNA、RNA 和蛋白质的合成, 导致细胞的增殖和分化。③IGF-I 能对所有的胰岛素靶器官起经典的胰岛素效应, 能促进脂肪组织的糖代谢和糖转运, 促进脂肪和糖元合成。IGF-I 能明显降低血清中总胆固醇(TC)水平。给健康人补充 IGF-I 后, 甘油三酯、血浆脂蛋白 Lp(a)、TC 均明显下降。④局部 IGF-I 对淋巴细胞的功能维持和成熟分化有重要作用。⑤IGF-I 能够通过促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 和其他癌基因协同作用几种机制, 从而实现其促肿瘤作用。

2.1.2.2 胰岛素样生长因子-I 在 EMs 中的作用

生长因子在子宫内膜细胞增生的鉴别中起着非常重要的作用。无论是正常的子宫内膜还是异位症的病灶中, 都有着受激素调节的生长因子的分布和表达, 包括 IGF-I。一些研究表明, IGF-I 水平在严重的内异症患者在位子宫内膜中是低的, 在异位子宫内膜中是高的。内异症患者腹水中 IGF-I 的水平比非内异症患者明显高。Kodoh M^[22]在大鼠子宫内膜异位症模型的研究中发现内膜异位症病灶的大小与 IGF-1mRNA 的表达水平有显著相关性, 说明局部 IGF-I 基因表达与内膜异位种植相关。Sbracia M 等在人体研究中发现, IGF-I 在子宫内膜异位症患者的在位内膜中呈现低表达, 在腹腔病灶和卵巢病灶上皮细胞中呈现强表达。Gurgan T 等研究结果表明, 内异症晚期患者血清中 IGF-I 水平比内异症早期和对照组显著升高。因此, IGF-I 在异位子宫内膜的生长中起着重要作用。

2.1.3 促红细胞生成素(Erythropoietin, Epo)

2.1.3.1 促红细胞生成素的生物学功能

促红细胞生成素是在 1948 年由 Bonsdor 和 Jalsvisto 两个人首先发现的一种糖蛋白激素, 分子量约为 34kD, 由 165 个氨基酸所组成, 早期是由胎肝产生的, 后来逐渐转移到肾脏产生, 成年以后主要由肾小管是间质细胞分泌。传统观点认为, Epo 可能只作用于骨髓造血细胞, 并促进红系祖细胞的增生及分化, 是一种作用单一的内分泌激素。近年来, 随着研究的深入, 学者发现其在女性生殖系统、中枢神经系统、实体肿瘤组织中都有表达, 特别是研究中枢神经系统及肿瘤组织表达的 Epo 生物学效应后, 认为, Epo 往往通过自分泌或旁分泌的方式影响局部组织新生血管的形成, 延缓细胞凋亡。研究发现其促进血管生成的作

用很强,和目前公认的最重要、作用最强的促血管生成因子 VEGF 的作用相似,因此认为 Epo 是一种新的强效促血管生成因子。

人类 Epo 基因定位于 7 号染色体的长臂 22 区(7q22),是由 5 个外显子和 4 个内含子组成。外显子编码的多肽是由 193 个氨基酸所组成,之间以二硫键相连接。人的 Epo 有 4 个半胱氨酸,这对维持 Epo 的生物活性有着重要的作用。除多肽部分以外, Epo 还有 35% 的糖基,糖基包括 3 条 N-糖基与 1 条 O-糖基,由岩藻糖、N-乙酰葡萄糖胺、甘露醇、唾液酸、半乳糖等组成,总分子量为 34000Da。其存在对 Epo 合成后的分泌及体内、外生物活性的发挥都具有重要意义。

传统观点认为 Epo 主要是促进红细胞前体细胞的增殖与分化,还可通过调节抗凋亡蛋白的表达来抑制其凋亡,调控红细胞的生成与破坏来维持红细胞体积的平衡。新的研究进展发现, Epo 可以①促进新生血管生成,②抑制缺血损伤部位的神经元凋亡,促进 IL-1、IL-2、IL-10、TNF 等细胞因子的表达,③调节免疫细胞如 T 细胞、B 细胞、NK 细胞的功能,④调节瘦素、氨基酸等的营养代谢功能,⑤调节血小板、凝血酶的凝血机制。

2.1.3.2 促红细胞生成素在 EMs 中的作用

促红细胞生成素是一种促进血管生成因子,研究发现其在子宫内膜异位症患者血清及腹腔液中的表达是增加的。Epo 促血管生成作用主要通过以下途径实现:一、EPO 通过 PBK 依赖的 Bcl-xL 诱导和 BM 调节,以及一个包括 ERK 通路的分离机制促进内皮祖细胞(endothelial Progenitorcell, EPC)的生长^[23],并在体内通过 Epo 的激活动员,发挥促血管形成和更新内皮的作用^[24]。二、Epo 可通过自分泌和旁分泌的方式影响异位内膜局部组织中的新生血管形成^[25]。腹腔液中的 Epo 可以直接作用于局部的异位内膜,促进异位内膜和其周围组织的新生血管形成,发挥其促血管生成的作用,为异位内膜的种植和生长提供血液和营养。YasudaY 等^[26]通过免疫组化和 westemblotting 研究有关 Epo 信号转导物质的分布,结果表明 Epo mRNA 在正常宫内膜、子宫颈、卵巢有表达,推测 Epo 参与了子宫内膜的血管生成。免疫组化证实 Epo-R 存在于①血管内皮、腺体、表面的上皮细胞和子宫内膜的蜕膜细胞:②各个时期的滤泡细胞包括卵母细胞、粒层、鞘细胞、黄体细胞。Epo 在子宫内膜异位症中的表达目前报道较少, Matsuzaki 等^[27]研究证实,正常与异位子宫内膜的腺上皮上都有 Epo 和 Epo -R 的表达,且在异位内膜组织上的表达明显增高; Epo -R 和 Epo 在不同的异位病灶中的表达也不同, Epo -R 的表达在红色病变中要比黑色病变高,而 Epo 的表达在红色病

变中与黑色病变中无显著性差别。蔡国青等^[28]采用原位杂交法检测 Epo mRNA 在子宫内膜异位症组织中的表达,结果提示,Epo mRNA 在子宫内膜异位症组织中的表达明显比正常对照组高。彭刚^[29]、屈王蕾^[30]等通过放射免疫法检测后发现,内异症患者腹腔液中 Epo 的表达量明显高于对照组。何艳琴等^[31]采用免疫组织化学 SP 法检测发现 Epo 在异位内膜中的表达要比正常内膜高。上述实验表明,血管生成可能是内异症发生和发展的基础,血管生成依靠血管生成因子的调控。Epo 在异位子宫内膜组织的异常表达可能是内异症发病机制中的重要一环,希望通过对 Epo 等血管生成因子的调控为内异症的治疗寻求新的路径。

2.1.4 表皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF)

2.1.4.1 表皮生长因子的生物学功能

表皮生长因子是血管生长因子家族中的一员,是一种多肽类生长因子,最早由 1962 年从雄性成年小鼠颌下腺分离出来,由 53 个氨基酸残基组成,分子量为 6040ku,研究发现表皮生长因子是一种很强的有丝分裂原。表皮生长因子受体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 位于第 7 号染色体 p13q22 区,全长 200 kb,由 28 个外显子组成,编码 1186 个氨基酸,其糖蛋白分子量约 170 kDa,与 HER2/ErbB-2/Neu、HER3/ErbB-3、HER4/ErbB-4 等归入 HER/ErbB 家族,都属于受体酪氨酸激酶 (RTKs)。其配体包括 EGF、amphi-regulin、TGF- α 、hepatinbindingEGF 等。EGF-R 在正常间质、上皮、神经源性组织中都有表达,在调节正常细胞的生长和分化的过程中起着重要的作用。子宫内膜上皮、肌层及血管壁均含有 EGF-R,不随月经周期的改变而改变,是在位内膜能在子宫内生长的根本条件。EGF-R 存在于细胞表面和胞浆内,具有酪氨酸激酶的活性,被 EGF 结合激活后,对于各种上皮组织细胞有促进增殖和分化效应。SiniP 等^[32]在研究体内血管生成实验过程中发现,EGF-R 能通过刺激平滑肌细胞分泌 VEGF 从而增加血管的生成,表明 EGF-R 可以通过上调 VEGF 的表达而和 VEGF 产生协同作用,促进血管壁的高度通透性,参与新生血管的形成。

2.1.4.2 表皮生长因子在 EMs 中的作用

EGF 是血管生长因子家族中的一员,可以刺激血管内皮细胞生长和体内新生血管形成。在内异症,异位灶的生长需要新的血管供应,腹腔镜下异位灶表现为增生的血管所围绕,许多研究证实内异症妇女腹腔液内血管生成活性增高,血管生长因子浓度明显高于正常人。EGF 的阳性表达和各种恶性肿瘤的恶性程

度及预后呈正相关。有研究表明内异症患者的异位内膜与在位内膜的 EGF 表达均为弱阳性,这说明异位内膜虽有与恶性肿瘤类似的盆腹腔种植的特性,但仍为良性病变^[33]。卵巢分泌的性激素对 EGF 及 EGF-R 的产生起促进作用,用 E_2 注射幼鼠发现其子宫的 EGF-R 含量显著升高,且结合 EGF 的能力也提高了 3 倍,而 EGF 的亲合力并没有太大的改变,且 EGF-R 水平升高先于子宫组织 DNA 合成增加。如果改用孕酮就无此作用^[34]。内异症患者大多是育龄妇女,初潮前若没有发病,绝经后异位的内膜组织就逐渐萎缩被吸收,如果使用雌激素替代疗法,此病有复发的可能。子宫内膜异位症为雌激素依赖性疾病,因此推测雌激素作用于 EGF 与其受体上,通过促进有丝分裂的作用来促进异位内膜的种植与生长。此外,异位灶的生长需要新的血管供应,EGF 是血管生长因子家族中的一员,推测 EGF 与 EGF-R 结合后能通过刺激血管内皮细胞生长和体内新生血管形成,从而有利于异位灶的生长^[33]。

2.1.5 促血管生成素-2(angiotensin-2, Ang-2)

2.1.5.1 促血管生成素-2 的生物学功能

促血管生成素(angiotensin, Ang)家族是一种新颖的血管生长因子家族,近几年来成为研究的热点。促血管生成素(Ang)家族有 4 个成员,分别为血管生成因子-1(Ang-1)、血管生成因子-2(Ang-2)、血管生成因子-3(Ang-3)、血管生成因子-4(Ang-4),均被认为与血管形成有关,目前研究较多为 Ang-1 和 Ang-2。Ang-2 蛋白分子量约 75 KD,包括有 N 末端绞股螺旋链(CC)和 C 末端胶原纤维样区(FL),CC 区介导配体单体间的同源多聚体连接,而 FL 区介导配体受体间的生物信号传递^[35]。Ang-2 是继 VEGF 之后发现的另一具有特异性的促血管生成因子^[36,37] 它由 496 个氨基酸组成,基因定位于第 8 号染色体的短臂上(8P23),包括 9 个外显子和 8 个内含子。Ang-2 主要以同源二聚体形式存在,单体之间通过绞股螺旋结构和二硫键连接。Ang-1 主要在胚胎发育期表达,促进心血管系统发育成熟;在成年后除女性生殖系统(卵巢、子宫)表达水平较高外,在其他组织呈低水平表达。Ang-2 主要由血管内皮细胞(VEC)分泌,并在胎儿肝血管、成人卵巢、胎盘和子宫等组织中表达^[38,39]。Ang-3、Ang-4 是 1999 年分别从鼠和人的胎盘分离出的两种分泌蛋白。Ang-2 与 Ang-1 有 60%的同源性,两者的受体均为内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体(Tie-2)。Ang-3 与 Ang-1、Ang-2 分别有 45.1%和 44.7%的同源性。Ang-1 与 Tie-2 结合,激活受体的磷酸化,是 Tie-2

的激动剂;而 Ang-2 与 Tie-2 结合,不会引起受体的磷酸化,因此 Ang-2 是 Ang-1 的天然竞争拮抗剂。

在血管生成的调节过程中,促血管生成素的家族不是通过调控内皮细胞的增殖,而是通过和内皮细胞特异性受体 Tie-2 结合,来促进或抑制 Tie-2 受体的磷酸化,通过受体下游途径来调节血管成熟的过程^[40]。Tie-2 受体磷酸化后,通过以下途径促进血管的成熟:(1) Tie-2 受体磷酸化后,通过 P13 激酶依赖性机制激活 Akt/surviving 途径而导致内皮细胞的活化,从而维持血管的稳定性;(2) Dok 受体通过磷酸酪氨酸结合域与 Tie-2 受体相互作用而磷酸化,磷酸化的 Dok 受体与 GAP, Ncr, CA 相互作用(上述这些信号分子与细胞的迁移、细胞骨架的形成和 Ras 信号的调节有关)促进了血管内皮细胞迁移和成管状结构;(3) Tie-2 受体可能启动血小板衍化生长因子- β (PDGF- β) 的分泌,而 PDGF- β 通过募集血管周围支持细胞,维持血管的稳定。Ang 家族中的 Ang-1 结合受体 Tie-2 后使其磷酸化而激活下游途径,通过增强内皮细胞和周围支持细胞的相互作用,帮助促进血管成熟,维持血管的稳定性。Ang-2 表达在血管重建的区域,通过在内皮细胞中与 Tie-2 结合,竞争性抑制 Ang-1 引起的 Tie-2 受体的磷酸化,从而抑制血管周围细胞的积聚,导致内皮细胞之间,内皮细胞与支持细胞之间的相互作用减弱,破坏血管的稳定性,由此引起毛细血管出芽,形成新生血管^[41]。Ang-2 对血管的作用与其它血管生成因子尤其是 VEGF 的存在与否密切相关^[42],当 VEGF 分子不存在时,Ang-2 的表达主要使血管发生退化,血管数目减少,同时伴有内皮细胞凋亡^[43];当 VEGF 存在时,Ang-2 能够促进血管生成,管壁通透性明显增加,血管增生显著,血管不稳定性增加,更容易的接受其他促血管生成因子的作用,进而促进血管的生长^[44]。

2.1.5.2 促血管生成素-2 在 EMs 中的作用

正常月经周期中,周期性血管生成在子宫内膜的脱落、再生修复的过程中起着至关重要的作用。Geva 等^[45,46,47]研究表明,在月经周期正常的子宫内膜上两个因子表达,Ang-2 蛋白和其 mRNA,提示 Ang-2 在子宫内膜的血管形成中起着重要作用。Hur 等^[48]研究发现,子宫内膜异位症患者的在位内膜当中,Ang-2 蛋白表达量明显高于正常的子宫内膜。研究表明,Ang-2 还能够激活基质金属蛋白-2(MMP-2),从而促使细胞外基质的降解^[49]。王红等^[50]研究表明,MMP-2 在 EMs 在位内膜、异位内膜表达量比对照组高,从而导致细胞外基质的降解,基底膜消失,促使 EMs 发生和发展。李梦熊^[51]等研究发现:Ang-2 在 EMs

患者异位内膜中的表达比在位内膜和正常对照组明显增高。段瑞丽等^[52]研究发现 Ang-2 在 EMs 患者异位内膜组织中的表达明显高于正常对照组,但比 EMs 患者在位内膜表达水平低,提示异位内膜中 Ang-2 的过度表达使其具有很强的血管生成能力得以在异位组织存活,而种植成功的内膜组织,其血管形成能力较在位内膜明显减低,由此限制了异位病灶向周边扩散,这可以解释 EMs 虽有恶性肿瘤习性,但仍是一种良性疾患。

以上实验结果表明,Ang-2 在 EMs 的发生及发展过程中具有重要作用,一方面促进血管的形成,另一方面又不断增强血管的通透性,形成正反馈的过程,不断促进异位病灶的发生和发展。

2.1.6 整合素(integrin)

2.1.6.1 整合素的生物学功能

整合素是一类广泛分布于细胞表面、连接细胞外基质蛋白及传导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间信号的粘附分子受体,由 α 、 β 亚单位通过非共价键连接组成的异二聚体。目前已发现至少有 25 种 α 亚单位和 11 种 β 亚单位, α 亚单位分子量为 120~180KD, β 亚单位为 90~110KD。一般情况下多种 α 亚单位只能与 1 种 β 亚单位结合,而大部分 β 亚单位则可与多种不同 α 亚单位结合。整合素分子由细胞外区、跨膜区和细胞内区三部分构成。细胞外区与不同配体结合,细胞内区与细胞骨架蛋白结合。细胞外区结合的配体有层粘连蛋白(laminin,Ln)、纤连蛋白(fibronectin,Fn)、玻璃粘连蛋白(vitronectin,VN)、胶原蛋白(collagen,Col)以及其它细胞表面受体。大多数整合素家族的成员是作为细胞外基质蛋白的受体发挥作用的。

整合素具有多种功能^[53],如促使细胞粘附于细胞外基质和促使细胞迁移,介导细胞与细胞之间的联系;白细胞迁移、炎症细胞局限和炎症反应都与整合素和细胞外基质成分相互作用有关。在生殖过程中,整合素介导精卵结合及胚泡着床。这些功能主要是通过粘附和信号传递两个方面来完成。

整合素表达于内皮细胞的有腔和无腔表面,在血管生成中的作用主要是作为血管生成因子的介质来介导毛细血管管腔的形成和内皮细胞的迁移。目前的研究已探明部分整合素分子在血管生成过程中所起的作用和具体途径。在体内体外实验中 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_1$ 均能影响血管合成,以 $\alpha_v\beta_3$ 最为重要。 $\alpha_v\beta_3$ 参与血管生成的机制是^[54]: $\alpha_v\beta_3$ 可以和细胞外基质(ECM)的配体结合,通过

MAPK 途径使内皮细胞增殖、分化和迁移,诱导新生血管的形成。

2.1.6.2 整合素在 EMs 中的作用

正常子宫内膜中能表达多种整合素,其中部分整合素在子宫内膜的表达有周期性特征。在 Ems 患者当中,整合素表达研究最多的是 $\alpha_v\beta_3$,是由于 $\alpha_v\beta_3$ 具有使细胞和细胞外基质粘附的功能以及肿瘤浸润、血小板聚集、免疫调节、组织修复、血管生成等功能。

$\alpha_v\beta_3$ 存在于大多数细胞中,作为一种受体,至少有 7 种配体: fibronectin、fibrinogen、vitronectin、thrombospondin、laminin、thrombin 和 von willebrand factor。 $\alpha_v\beta_3$ 与其配体相互作用后,可诱导病灶血管的生成及其与周围腹膜粘连的形成。Hii 等^[55]对内异症子宫内膜 29 例的 $\alpha_v\beta_3$ 的表达进行研究,发现内异症患者的子宫内膜血管 $\alpha_v\beta_3$ 表达水平的百分率比对照组显著高 (53%vs36%, $P=0.001$),分泌期比增生期更明显($P=0.016$),且表达 $\alpha_v\beta_3$ 的血管生长非常活跃,不表达 $\alpha_v\beta_3$ 只保持休眠状态,均提示 $\alpha_v\beta_3$ 与血管发生密切相关。Bayless 等^[56]证实, $\alpha_v\beta_3$ 与内皮细胞形成有关,这个过程可被抗 $\alpha_v\beta_3$ 抗体完全抑制。

以上实验结果和研究表明, $\alpha_v\beta_3$ 与血管发生的增强有密切的关系。逆流经血中的子宫内膜细胞到达腹壁后,之所以能成功的异位种植和生长,和局部新生毛细血管的形成有关。子宫内膜异位症患者血管中 $\alpha_v\beta_3$ 表达量明显升高,通过增强血管的发生,使逆流经血中的子宫内膜顺利侵入腹腔和盆腔组织,从而促进子宫内膜异位症的发生。

2.2 血管生成抑制因子

2.2.1 内皮抑素 (Endostatin, Endo)

2.2.1.1 内皮抑素的生物学功能

1997 年新发现的人内皮抑素 (Endostatin, Endo)^[57,58] 是目前已知因子当中最强的内源性血管生成抑制因子,是由由 XVIII 型胶原的 NC1 区的 184 分氨基酸组成,其中碱性氨基酸 29 个,酸性氨基酸 16 个,疏水氨基酸占 42%,有 4 个半胱氨酸。内皮抑素的 15 个精氨酸残基中,有 11 个在蛋白表面形成簇状,可以和硫酸肝素结合。而硫酸肝素是碱性纤维生长因子 (bFGF) 信号传导途径中的必需部分,提示内皮抑素的抗血管生成可能与阻断 bFGF 信号转导有关。

内皮抑素可能通过以下几种途径来抑制内皮细胞增殖和迁移,从而抑制血管的形成^[59]:①通过下调抗凋亡基因 Bcl 和 Bc2 的表达而诱导内皮细胞的凋亡;②通过使连接蛋白 Shb 磷酸化,使 PKB 通路受到阻碍,激活细胞内酪氨酸蛋白激酶的活性,胞内抗凋亡蛋白 Bcl-2 等的表达减少,从而使内皮细胞发生凋亡;③可溶性内皮抑素可抑制内皮细胞中的整合素的依赖功能,从而抑制内皮细胞的迁移能力,抑制新生血管的生成。

免疫组化的研究表明,内皮抑素能通过抑制 VEGF 的分泌或阻断信号转导通路及相应受体,防止细胞外基质的降解,干扰内皮细胞的粘附和迁移,抑制血管的生成^[60]。由于内皮抑素只抑制新生血管内皮细胞,对平滑肌细胞和肿瘤细胞等非内皮起源的细胞无明显抑制作用,对正常的成熟血管内皮细胞也没有抑制作用;又由于内皮细胞不易发生突变,具有良好的遗传稳定性,既提高了治疗的安全性,又降低了耐药性的发生率。因此,内皮抑素具备了用于抗肿瘤作用和其他血管生成疾病的先天性的优势。

2.2.1.2 内皮抑素在 EMs 中的作用

EMS 具有类似肿瘤组织的侵袭、种植和转移的恶性行为,有关动物实验也证实月经的调节和子宫内膜的种植主要受血管生成机制的影响。刘木彪等^[61]研究显示,在 EMs 患者腹腔液中,VEGF 的表达量明显高于对照组,抑制因子内皮抑素也呈高表达,但是由于其增幅比 VEGF 小,两者间的动态平衡被打破,VEGF 获得了相对的优势,表明 EMs 的血管生成是多因子之间的相互协调,尤其是血管生成抑制因子和促进因子间的动态的平衡。NaP^[62]等将内皮抑素作用于鸡胚绒毛膜模型上的内异症样组织,发现内异症样组织坏死增加,绒毛膜周围血管密度降低。有研究者将包括内皮抑素在内的许多的血管生成抑制物应用到内异症的裸鼠模型中,发现异位内膜的数量被明显抑制。Becker 等^[63]用内皮抑素片段治疗子宫内膜异位病灶模型动物移植模型后发现,此片段能抑制内皮细胞的迁移,并能明显抑制动物异位病灶的生长,且呈剂量依赖性,初步表明用内皮抑素来治疗内异症的优势和可行性。研究还发现,临床分期越高,VEGF 的表达量越高,内皮抑素的表达量也出现大幅的增加,使二者间的平衡与 EMs 的严重程度和生长活性可能反而不如早期,这和肿瘤有所不同,后者一般是随病情的进展,其生长活性越强,比值越高^[64]。根据 R-AFS 分期的特点,Ⅰ-Ⅱ期主要以腹膜红色病变和早期卵巢小异位囊肿为主,具有较高的增殖活性,血管化程度较高,而Ⅲ-Ⅳ期以较大的卵巢囊肿和盆腔广泛粘连为主要病理形态,尽管反复的

囊内出血可使囊肿进一步增大,但其血管化程度和生长活性已不及腹膜红色病变,血管生成活性趋于减弱。

2.2.2 血管抑素 (angiostatin, AS)

2.2.2.1 血管抑素的生物学功能

血管抑素是一种具有较强的抗血管形成活性的凝血酶原肽段,是最早发现的能够特异的抑制内皮细胞增殖的血管生成抑制因子,作用机制有:①通过剂量依赖的方式来抑制 bFGF 和 VEGF,诱导血管内皮细胞的增殖;②通过特异地结合内皮细胞膜表面的 ATP 合成酶,用其 α 和 β 亚单位抑制其活性;③诱导促进细胞有丝分裂的蛋白激酶 ERK-2 和 ERK-1 的脱磷酸化,抑制内皮细胞增生,使其活性明显降低;④通过非竞争性结合组织型纤溶酶原激活物(tPA),减少纤溶酶他的生成,从而抑制血管内皮细胞的定向迁移,降低 tPA 作用;⑤竞争性的结合表面内皮细胞的特异性黏附分子受体,如整合蛋白 $\alpha_v\beta_3$,干扰整合素介导信号传导,从而抑制血管的生成;⑥提高血管内皮细胞中的某些 E 选择蛋白的表达,从而抑制血管内皮细胞的增殖;⑦抑制有 angiomin (AS 的一种受体)表达的管状细胞的形成和迁移;⑧通过增强对黏附激酶的活性,诱导内皮细胞凋亡。

2.2.2.2 血管抑素在 EMs 中的作用

血管抑素是血浆纤维蛋白溶解酶原和/或纤维蛋白溶解酶的降解产物。何援利等^[65]研究表明,血管抑素可降低 VEGF mRNA 水平,下调 VEGF 的表达。另有研究表明,血管抑素对新生血管的抑制可能不依赖于 VEGF^[66]。何芳^[67]等研究表明,用血管抑素作用于 EMs 裸鼠模型,异位病灶明显缩小,血管密度降低。NAP 等将血管抑素作用于鸡胚绒毛膜模型上的子宫内膜异位样组织得到类似的结果。以上实验结果表明血管抑素参与了内异症血管生成的调控,在内异症的发生发展过程中起重要作用。

3 抗血管生成治疗在 EMs 中的应用

异位内膜的种植和生长是依赖新血管的形成的,抑制血管生成可能成为治疗子宫内膜异位症的手段。目前对血管生成机制的研究主要集中在肿瘤组织上,抗血管生成治疗在恶性肿瘤的综合治疗中已显示出良好的应用前景^[68]。由于恶性肿瘤细胞具有比较强的异常增殖的能力,抗血管生成治疗时,在血管关闭之

前,肿瘤细胞已经增殖或者已经出现了转移,造成抗血管生成治疗并不能像之前我们所想象的那样根治肿瘤,而与恶性肿瘤相比,异位内膜作为一种自体性的移植物,其对血管的支持作用更为依赖,而且也不具有恶性肿瘤细胞的异常增殖能力,当脱落的子宫内膜接触并且种植在子宫腔以外,必需要完成粘附-侵袭-血管生成这三部曲才能存活下来,如果缺乏血管的新生,异位内膜就不能够种植成功,所以抗血管生成治疗 EMs 较恶性肿瘤有更好的应用前景。

异位的子宫内膜组织之所以能成功的在异位种植、生长,和它的局部新生血管的形成有关。在位和异位的子宫内膜组织都有一些蛋白的分泌和血管生成刺激因子的表达,参与了子宫的内膜组织种植生长,这也是血管形成机制的基础。既然异位内膜的种植生长是依赖新血管的形成的,抑制血管形成可能成为治疗内异症可行的方法。已经有动物实验证明子宫内膜的种植和月经的调节主要受血管机制生成的影响,作用于血管生成途径的药物可能会用于治疗生殖系统方面的疾病,如内异症。Olive 等和 Becker 等都认为,抗血管生成治疗有望成为治疗内异症的重要的新工具。

人的抗血管生成治疗开始于 1988 年。抗血管治疗的优越性主要有: (1) 血管内皮细胞遗传性基因稳定,不易产生耐药; (2) 选择性作用于血管内皮细胞,避免了其它生成因子非选择性地对细胞分裂的干扰; (3) 可与抗激素类药物促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)、内美通、芳香化酶抑制剂等联合使用,提高治疗效果,减轻抗激素类药物引起的全身系统反应以及削弱卵巢功能的不良反应(潮热多汗、阴道干燥、骨质疏松等); (4) 血管内皮暴露于血流中,药物能直接发挥作用,剂量小、疗效高,仅对增生活跃期的内皮细胞高度敏感,对成熟的血管组织则无明显作用,对正常组织毒性极小^[65]。

大量研究表明,血管的形成在 EMs 的病灶种植、生长、侵袭等过程中起非常重要的作用,抑制血管的形成可能会有效抑制 EMs 病灶的形成,为找寻 EMs 的治疗方法开辟了新径。

血管生成理论的提出和发展能为 EMs 提供一些新治疗的策略,可进行早期的干预,改变因为目前的手术和药物仅局限于处理 EMs 晚期阶段的现状。目前大部分有意义的研究结果都处在动物实验阶段,如何向人类过渡,在体内达到治疗水平的浓度,怎样才能不使抗血管生成出现不良反应,均需进一步研究。

参考文献

- [1] 赵昀, 李亚里. 子宫内膜异位症病因学基础与临床研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2001, 17(8): 499-503.
- [2] Halme J, Hammond MG, Hulka JF, et al. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis[J]. Obstet Gynecol, 1984, 64: 151-154.
- [3] McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometrial angiogenesis[J]. Hum Reprod Update, 2000, 6(1): 44-45.
- [4] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell, 1996, 86(3): 353-364.
- [5] Ashwohrt CJ, Hoggard N, Thomas L, et al. Placental leptin [J]. Rev Reprod, 2000, 5(1): 18-24.
- [6] Kawai M, Murakami T, Otani S, et al. Colocalization of leptin receptor(Ob-R) mRNA and placental lactogen-II in rat trophoblast cells: gestational profile of Ob-R mRNA expression in placentae[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 257(2): 425-430.
- [7] Fanelli M, Locopo N, Gattuso D, et al. Assessment of tumor vascularization: immunohistochemical and non-invasive methods[J]. Biol Markers. 1999, 14(4): 218-231
- [8] Fujimoto J, Sakaguchi H, Hirose R, et al. Angiogenesis in endometriosis and angiogenic factors[J]. Gynecol Obstet Invest, 1999, 48(1): 14-20.
- [9] Xavier P, Beires J. Endometriosis clinical aspects Sub and endometrial blood flow in patients with endometriosis[J]. Hum Reprod, 2004, 19(2): 1168-1175.
- [10] Sakaguchi H, Fujimoto J, Hirose R, et al. Angiogenesis in endometriosis and angiogenic factors[J]. Gynecol Obstet Invest, 1999, 48(1): 14
- [11] Zhao J, Pettigrew GJ, Thomas J, et al. Lentiviral vectors for delivery of genes into neonatal and adult ventricular cardiac myocytes in vitro and in vivo[J]. Basic Res in Cardiol, 2002; 97(5): 348-358
- [12] Cao Y. Endogenous angiogenesis inhibitors and their therapeutic implication[J]. Biochem Cell Biol, 2001, 33(4): 357-369
- [13] Pepper MS. Manipulating angiogenesis. From basic science to the bedside[A]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 1997, 17: 605-619
- [14] Kunz M, Hartmann A. Angiogenesis-anti-angiogenesis. Significance for tumor growth and metastasis[J]. Hautarzt, 2002, 53(6): 373-384
- [15] Atan S, Haenn B, Burri PH. Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken chorioallantoic membrane (CAM): 1. pillar formation by folding of the capillary wall[J]. Microvasc Res, 1996, 51(1): 80-98.
- [16] McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, et al. Vascular endothelial growth factor concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis[J]. Hum Reprod, 1996, 11(1): 220-223.

- [17] Fasciani A, Ambrogio G, Bocci G, et al. High concentrations of the vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian endometrioma[J]. *Mol Hum Reprod*, 2000, 6(1): 50-54.
- [18] Donnez J, Smoes P, Gillerot S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis[J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(6): 1686-1690.
- [19] Humbel RE. Insulin-like growth factor 1 and 2[J]. *Eur J Biochem*, 1990, 190(3): 445-462
- [20] Evock CM. Effect of GH status on IGF - I and IGF - II concentrations and serum IGF - binding profiles in pigs [J]. *J Anim Sci*, 1990, 68: 1953-1964.
- [21] 李力, 李树浓. 胰岛素样生长因子-I[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册. 1997, 172(2): 175-176
- [22] Kudoh M, Susaki Y, Ideyama Y, Nanya T, Mori M, Shikama H. Inhibitory effects of a novel aromatase inhibitor, YM511, on growth of endometrial explants and insulin-like growth factor-I gene expression in rats with experimental endometriosis[J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 1997 Sep-Oct, 63(1-3): 75-80
- [23] Rachel Z, Aly K. Erythropoietin promotes survival of primary human-endothelial cells through PBK-dependent, NF-Kb- independent up regulation of Bcl2- XI[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(5): H2467-H2474
- [24] Paolo M, Costanza E. Switching on Reparative Angiogenesis Essential Role Of the Vascular Erythropoietin Receptor[J]. *Circulation Research*, 2007, 100(5): 5992-6001
- [25] Ribatti D, Marzullo A, Nieo B, et al. Erythropoietin as an angiogenic factor in gastric carcinoma[J]. *Histopathology*, 2003, 42(3): 246-250
- [26] Yasuda Y, Masuda S, Chikuma M, et al. Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis[J]. *J Bio Chem*, 1998, 273(39): 25381-25387.
- [27] Matsuzaki S, Canis M, Yokomizo R. Expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in eritoneal endometriosis[J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(1): 152-166.
- [28] 蔡国青, 陈必良, 樊杨, 等. 原位杂交检测 EPO、VEGF 基因在子宫内膜异位症组织中的表达[J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(6): 548-550.
- [29] 彭刚, 杜玉开, 王庆一, 等. 促红细胞生成素与子宫内膜异位症相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(1): 22-24
- [30] 屈王蕾, 吕杰强, 赵宇. 子宫内膜异位症患者腹腔液 EPO 水平检测及其临床意义[J]. 温州医学院学报, 2007, 37(3): 271-272
- [31] 何艳琴, 李学军, 庞淑兰, 等. 促红细胞生成素在子宫内膜异位症中的表达及意义[J]. 河北医药, 2008, 30(11): 1670-1671
- [32] Sini P, Wyder L, Schnell C, et al. The Antitumor and Antiangiogenic Activity of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Inhibition is potentiated by ErbB1 Blockade [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(12): 4521-4532.
- [33] 郝群. 表皮生长因子受体在子宫内膜异位症在位与异位内膜组织中的表达[J]. 重庆医学, 2001, 32(2): 155

- [34] 郝群.血管生成因子在子宫内膜异位症中的研究进展[J]. 国外医学妇产科分册, 2001, 28(4): 236-238
- [35] Takagi H, Koyama S, Seike H, et al. Potential role of the angiopoietin/tie2 system in ischemia-induced retinal neovascularization[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(1): 393-402.
- [36] 杜彬,周序琰.血管生成素的特点及其对血管新生的调节作用[J].中国病理生理志, 2003, 19(2):275-278.
- [37] Li XF, Chamock-Jones DS, zhang E, et al. Angiogenic growth factor messenger Ribonucleic acids in uterine natural killer cells[J]. Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(4): 1823-1834
- [38] Moller B, Rasmussen C, Lindblom B, et al. Expression of the angiogenic growth factor VEGF, FGF-2, EGF and their receptors in normal human endometrium during the menstrual cycle[J]. Mol Hum Reprod, 2001, 7(1): 65-72.
- [39] Sharkey AM, Day K, Mcpherson, et al. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia[J]. Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(1): 402-409
- [40] 朱鹏,陈道达.促血管生成素-2 在胃癌中的表达及其胃癌临床病理的关系[J].中华实验外科杂志, 2004, 21(4): 440-441.
- [41] Mandriota SJ, Pyke C, DiSanza C, et al. Hypoxia-inducible angiopoietin-2 expression is mimicked by iodonium compounds and occurs in the rat brain and Skin in response to systemic hypoxia and tissue ischemia[J]. Am J Pathol, 2000, 156(6): 2077-2089.
- [42] Vates GE, Hashimoto T, Young WL, et al. Angiogenesis in the brain during development: the effects of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 in an animal model[J]. Neurosurg, 2005, 103(1): 136-145
- [43] Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, et al. Over expression of VEGF and Angiopoietin-2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma[J]. Modern Pathology, 2003, 16(6): 552-557
- [44] Zhang L, Yang N, Park JW, et al. Tumor-derived vascular endothelial growth factor Up-regulates angiopoietin-2 in host endothelium and destabilizes host vasculature, supporting angiogenesis in ovarian cancer[J]. Res. 2003, 63(12): 3403-3412
- [45] Gava E, Jaffe RB. Role of angiopoietins in reproductive tract angiogenesis[J]. Obstet Gynecol Surv, 2000, 55(8): 511-519
- [46] Krikun G, Schatz F, Finlay T, et al. Expression of angiopoietin-2 by human endometrial endothelial cells: regulation by hypoxia and inflammation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 275(1): 159-163
- [47] Li XF, Chamock-Jones DS, zhang E, et al. Angiogenic growth factor messenger Ribonucleic acids in uterine natural killer cells[J]. Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(4): 1823-1834
- [48] Hur SE, Lee JY, Moon HS, et al. Angiopoietin-1, angiopoietin-2 and Tie-2 expression in eutopic endometrium in advanced endometriosis[J]. Mol Hum Reprod, 2006, 12(7): 421-426
- [49] Hu B, Guo P, Fang Q, et al. Angiopoietin-2 induces human glioma invasion through the

- activation of matrix metalloproteinase-2[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(15): 8904-8905
- [50] 王红,吴若松.基质金属蛋白酶-2, -9 在子宫内膜异位症中的表达[J].现代妇产科进展, 2002, 11(4): 261-262
- [51] 李梦熊, 张怡. 促血管生成素-2 在子宫内膜异位性疾病中的表达及其意义[J].中国医学工程, 2007, 15(1): 31-36.
- [52] 段瑞丽, 边爱平.子宫内膜异位症组织中促血管生成素-2 的表达及其意义[J].实用诊断与治疗杂志, 2007, 21(4): 271-272.
- [53] 杭爱国.整合素与子宫内膜异位症发病关系的研究进展[A].现代妇产科进展, 2001, 10(3): 213-214
- [54] 孙成法,褚容涛. 整合素与肿瘤血管生成[A].肿瘤学杂志, 2004, 10(5): 357-359
- [55] Hii LL, Rogers PA. Endometrial vascular and glandular expression of integrin alpha (v) beta3) in women with and without endometriosis[J]. Hum Reprod, 1998,13(4):1030
- [56] Bayless KJ,Salazar R,Davis GE. RGD-Dependent vacuolation and lumen formation observed during endothelial cell morphogenesis in three-dimensional fibrin matrices involves the alpha(v)beta(3)and alpha(5)beta(1)integrins[J]. Am J Pathol, 2000, 156(5): 1673- 1683.
- [57] Mizuguchi H, Koizumi N, Hosono T, et al. CAR-or alpha integrin-binding ablated adenovirus vectors, but not fiber modified vectors containing RGD peptide, do not change the systemic gene transfer Properties in mice[J]. Gene Ther, 2002, 9(12): 769-776.
- [58] 陈春林,刘萍,吕军,等.子宫动脉栓塞在子宫腺肌病治疗中的应用[J].中华妇产科杂志, 2002, 37(2): 77-79
- [59] 刚君,方小玲.子宫内膜异位症与新血管形成[J].中国实用医药, 2007, 2(19): 84-85
- [60] Sim BK, Maedonald NJ, GubishER. Angiostatin and endostatin: endogenous inhibitors of tumor growth[J].Cancer Metastasis Rev, 2000, 19(1-2): 181-190.
- [61] 刘木彪, 何援利, 彭冬先.子宫内膜异位症患者腹腔液血管内皮生长因子与内皮抑素的表达[J]. 第一军医大学学报, 2004, 24(1): 69-71
- [62] Nap AW,Griffioen AW,Dun selman GA, et al. Anti-angiogenesis therapy for endometriosis [J]. Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(3):1089 -1095.
- [63] Becker CM, Sampson DA, Short SM, et al.Short synthetic endostatin Peptides inhibit endot-helial migration in vitro and endometriosis in a mouse model[J].Fertil Steril, 2006, 85(1): 71-77.
- [64] 徐丹,孟凡义,张燕.血管内皮生长因子在急性髓系白血病细胞中的表达[J].第一军医大学学报, 2002, 22(4): 357-359
- [65] 何援利, 刘木彪, 等.子宫内膜异位症患者腹腔液血管内皮生长因子和内皮抑素的表达 [J].第一军医大学学报, 2004, 24(1) :69-71.
- [66] 史淑红,李佃贵,马秀菊.子宫内膜异位症患者腹腔液中 VEGF 及其可溶性受体的测定[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29 (10) : 976-978.
- [67] 何芳,何援利,马颖. 内皮抑素在人子宫内膜异位症裸鼠模型中的治疗作用[J].广东医学,

- 2008, 29 (5): 722-724.
- [68] Stopeck A, Sheldon M, Vahedian M, et al. Results of a Phase I dose-escalating study of the antiangiogenic agent, SU5416, in patients with advanced malignancies[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(9): 2798-2805.

个人简历

范蕊:出生于 1984 年 8 月, 满族, 籍贯:河南省新郑市, 已婚。2007 年获河南大学医学院学士学位。现就读于郑州大学, 攻读郑州大学第二附属医院妇产科硕士学位。连续 3 年获得 A 类研究生学业奖学金和助研奖学金。2010 年 12 月获得“国家执业医师资格证书”。在硕士研究生阶段, 本人在学习上, 勤奋好学, 尊敬师长, 团结同学, 认真踏实, 积极进取, 善于获取新知识、新技术、新方法, 掌握了一名科研工作者所应具备的基本素质及基本技能;工作上, 积极进取, 认真负责, 勤勤恳恳, 任劳任怨, 以为患者解除痛苦为己任, 以患者痊愈出院为最大的幸福, 懂得了一名真正的临床医生所应具备的基本品格;在生活上, 活泼开朗、乐观执着、与人为善的性格使我广交良友, 能够取他人之长, 补自己之短, 不断提高自己。

在攻读妇产科学专业硕士学位期间, 我已熟练掌握了妇产科子宫肌瘤、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫内膜异位症、功血、不孕症等常见病、多发病的诊断及治疗原则;掌握了人流术及宫、腹腔镜的基本操作;初步掌握了产科围生期的监护与处理方法。一年半的妇产科临床实践及工作经历大大提高了我分析问题、解决问题的能力。强烈的责任感、踏实的工作态度、浓厚的学习兴趣使我赢得了老师们的一致好评, 使我在医学道路上信心百倍。我相信, 自己已经符合一名临床医师的基本要求。当然, 医学知识博大精深, 在以后的学习、工作中我会加倍努力, 不断提高自己, 以更好的为广大病人服务!

硕士期间发表论文情况

范蕊, 马楠, 在《中国妇幼保健》杂志发表一篇论文(子宫内膜异位症患者血清中 VEGF 和 IGF-I 的表达及其相关性), 2012 年 7 月见刊。

致谢

在我即将离开校园，步入社会、走向工作岗位之际，我要衷心地感谢我的恩师马楠教授三年来对我孜孜不倦教诲，对我在学习上认真、严格的要求，生活上无微不至的关怀，在论文撰写过程中给予我在科研方法和能力上精心细致的指导，在临床工作中教会我许多实践知识和与患者的沟通能力。马老师以她正直的人品、善良的性格、精湛的医术、敬业的精神、谨慎的态度时刻感染着我，这将使我受益终生。师恩难忘，在此，我向我的导师马楠教授致以我最崇高的敬意和最衷心的感谢！

衷心感谢妇科、产科、临产室及妇产科门诊的各位老师临床工作过程中给我的帮助和指导！

衷心感谢妇科的全体护士在收集标本过程中给予我的无私的帮助！

衷心感谢研究生院的领导和老师们在实验过程中给与我们的帮助和指导以及三年来的教育和培养！

衷心感谢我的同窗好友孙欣欣、侯瑞杰、王敏杰、张露丹、顾晓荔，师兄蔡大军，师姐李凤梅、刘佳，师妹叶青、栗浩然在平时的生活和学习上对我的帮助和关怀！

衷心感谢参加论文评阅及答辩委员会的各位专家！

衷心感谢我的家人和我的朋友一直以来对我的支持、帮助、关心和爱护！

再次感谢各位老师和评委在百忙之中抽出宝贵的时间来给我指导，祝各位老师身体健康！