

间叶上皮转化在子宫平滑肌肿瘤发生发展中的作用及机制*

罗晓旋, 黄芬

(汕头潮南民生医院 妇产科, 广东 汕头 515144)

[摘要] **目的:** 探讨间叶上皮转化(MET)在子宫平滑肌肿瘤发生发展中的作用及机制。**方法:** 78 例子宫平滑肌肿瘤手术切除后的石蜡标本分为子宫平滑肌瘤组(UL组, $n = 31$)、富于细胞性子宫平滑肌瘤组(CUL组, $n = 32$)及子宫平滑肌肉瘤组(LMS组, $n = 15$), 选择35例正常子宫肌层石蜡标本作为对照组; 采用免疫组织化学染色法检测4组标本中MET相关因子E-钙黏附蛋白(E-cadherin)、 β -连环蛋白(β -catenin)及锌指转录因子(Slug)蛋白表达, 比较4组标本E-cadherin、 β -catenin及Slug的表达阳性率, 采用Spearman法分析E-cadherin、 β -catenin及Slug表达的相关性, 比较不同临床病理分型LMS患者间E-cadherin、 β -catenin及Slug的表达差异。**结果:** 与对照组比较, 各组子宫平滑肌肿瘤中E-cadherin、 β -catenin表达阳性率升高、Slug表达阳性率降低($P < 0.05$); 与CUL组及UL组比较, LMS组E-cadherin和 β -catenin的表达阳性率升高、Slug表达阳性率降低($P < 0.05$); CUL组与UL组上述3个指标比较, Slug表达阳性率低于UL组($P < 0.05$); Spearman相关性分析发现, E-cadherin与 β -catenin表达呈现正相关($r = 0.753, P < 0.05$), E-cadherin、 β -catenin与Slug呈负相关($r = -0.795, -0.703, P < 0.05$); 在不同临床病理分型的LMS标本中, 与分化程度低、有浸润转移及II~IV期比较, 细胞分化程度高、无浸润转移及I期的LMS标本中E-cadherin、 β -catenin表达阳性率明显高、Slug阳性表达率明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** MET存在于子宫平滑肌肿瘤的发病过程中, 其分子标记物E-cadherin、 β -catenin及Slug可能参与了分化、浸润转移及病理分期等过程。

[关键词] 子宫肿瘤; 平滑肌瘤; 间叶上皮转化; E-钙黏附蛋白; β -连环蛋白; 锌指转录因子

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)11-1353-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.11.024

The Role and Pathogenesis of Mesenchymal Epithelial Transformation in Uterine Smooth Muscle Tumors

LUO Xiaoxuan, HUANG Fen

(Gynaecology and Obstetrics, Shantou Chaonan People's Livelihood Hospital, Shantou 515144, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of mesenchymal epithelial transformation in uterine smooth muscle tumors and its pathogenesis. **Methods:** 78 paraffin specimens of uterine smooth muscle tumors after surgical resection were divided into the uterine leiomyoma (UL) group ($n = 31$), the cellular uterine leiomyoma (CUL) group ($n = 32$), and the uterine leiomyosarcoma (LMS) group ($n = 15$). 35 normal myometrium paraffin specimens were chosen as the control group. The expressions of E-cadherin, β -catenin and (Slug) in the four groups of specimens were detected by immunohistochemical staining and analyzed by Spearman method. The expressions of E-cadherin, β -catenin and Slug among LMS patients with different clinical pathological types were also compared. **Results:** Compared with the control group, the positive rate of E-cadherin and β -catenin in uterine smooth muscle

*[基金项目]广东省医疗卫生科技计划引导项目(20150406)

网络出版时间:2018-11-15 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20181115.2126.003.html>

tumors increased and the positive rate of Slug decreased ($P < 0.05$). Compared with the CUL group and the UL group, the positive rate of E-cadherin and β -catenin in the LMS group increased while the positive rate of Slug expressions decreased ($P < 0.05$). The positive rate of Slug expression in the CUL group was lower than that in the UL group ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between E-cadherin and β -catenin expression ($r = 0.753, P < 0.05$), but a negative correlation between E-cadherin and β -catenin and Slug ($r = -0.795, -0.703, P < 0.05$). In the LMS specimens of different clinicopathologic types, compared with those of low cell differentiation degree, with infiltration and metastasis, and in stage II ~ IV, the positive rate of E-cadherin and β -catenin were significantly higher and the positive rate of Slug was significantly lower in those with high cell differentiation, without infiltration and metastasis, and in stage I. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions:** Mesenchymal Epithelial transformation is present in the development of uterine smooth muscle tumors. Its molecular markers such as E-cadherin, β -catenin and Slug may be involved in differentiation, invasion, metastasis and pathological staging.

[**Key words**] uterine tumor; smooth muscle tumor; mesenchymal epithelium transformation; E-cadherin; β -catenin; zinc finger transcription factor

细胞表型间的转化在间叶源性肿瘤的发生发展中具有重要作用,其中由间叶细胞转化为上皮细胞即为间叶上皮转化(MET)^[1]。有研究发现,间叶源性肿瘤中可出现 MET,软骨肉瘤细胞可呈现上皮细胞的极性改变^[2],发生 MET 的细胞可表达上皮细胞表面的标记物 E-钙黏附蛋白(E-cadherin)和细胞质内的标记物 β -连环蛋白(β -catenin) β -catenin^[3]。锌指转录因子(Slug)是调控 E-cadherin 表达和促进 MET 发生的关键分子^[4],Slug 的表达下调,可使上皮源性标记物表达增加、间叶源性标记物下降、导致 MET 的发生。目前关于 MET 与子宫平滑肌肿瘤发生发展的研究较为少见,其临床意义也并不是十分清楚^[5]。因此,本研究通过比较不同类型子宫平滑肌肿瘤组织标本中 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 蛋白表达,探讨 MET 在子宫平滑肌肿瘤发生发展中的作用及机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 5 月 ~ 2017 年 5 月行子宫平滑肌肿瘤手术切除后的石蜡标本 78 例作为研究对象,分为子宫平滑肌瘤组(UL 组, $n = 31$)、富于细胞性子宫平滑肌瘤组(CUL 组, $n = 32$)及子宫平滑肌肉瘤组(LMS 组, $n = 15$);选择 35 例正常子宫肌层石蜡标本作为对照组。纳入对象的临床资料完整、有明确病理诊断结果及近半年内未使用激素或免疫

制剂治疗。

1.2 方法

采用免疫组织化学染色方法检测 4 组标本中 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达水平(E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 鼠抗人单克隆抗体购自美国 Abcam 公司、免疫组化二步法试剂盒购买自北京中山金桥公司),石蜡标本进行 4 μm 层厚连续切片,枸橼酸盐缓冲液进行热抗原修复,按照操作步骤加入一抗和二抗孵育,中性树胶封片后置于光学显微镜下进行结果判读。E-cadherin 阳性定位于细胞膜, β -catenin 在正常组织定位于细胞膜、在肿瘤细胞定位于细胞质或细胞核,Slug 阳性定位于细胞质或细胞核。染色强度判定标准为:无着色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分及黄褐色为 3 分。阳性细胞百分比: < 10% 为 1 分,10% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分;每个样本取 5 个高倍镜视野观察,取平均值按照参考文献[6]判断结果。

1.3 观察指标

比较 4 组标本的 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 的表达阳性率,采用 Spearman 法分析 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达的相关性;观察不同临床病理分型^[8]LMS 患者 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 的表达差异。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据处理和分析。计数资料采用率(%)表示,数据比较采用 χ^2 或 Fisher 确切率法,相关性分析采用 Spearman

法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达阳性率

与对照组比较,各组子宫平滑肌肿瘤中 E-cadherin、 β -catenin 表达阳性率升高、Slug 表达阳性率降低($P < 0.05$);与 CUL 组及 UL 组比较,LMS 组 E-cadherin 和 β -catenin 的表达阳性率升高、Slug 表达阳性率降低($P < 0.05$);CUL 组与 UL 组上述 3 个指标比较,仅 Slug 表达阳性率低于 UL 组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组石蜡标本中 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达阳性率($n, \%$)

Tab.1 Positive rate of E-cadherin, β -catenin and Slug expression in paraffin specimen of the four groups

组别	E-cadherin	β -catenin	Slug
UL 组	13(41.93) ⁽¹⁾⁽²⁾	15(48.39) ⁽¹⁾⁽²⁾	18(58.06) ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
CUL 组	15(46.88) ⁽¹⁾⁽²⁾	17(53.12) ⁽¹⁾⁽²⁾	13(40.63) ⁽¹⁾⁽²⁾
LMS 组	10(66.67) ⁽¹⁾	11(73.33) ⁽¹⁾	3(20.00) ⁽¹⁾
对照组	8(22.86)	3(8.57)	27(77.14)

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与 LMS 组比较, $P < 0.05$;⁽³⁾与 CUL 组比较, $P < 0.05$

2.2 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达的相关性

Spearman 相关性分析发现,在 LMS 组、CUL 组、UL 组及对照组中,E-cadherin 与 β -catenin 表达呈现正相关($r = 0.753, P < 0.05$),E-cadherin、 β -catenin 与 Slug 呈负相关($r = -0.795, -0.703, P < 0.05$)。

2.3 不同临床病理分型 LMS 标本中 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达阳性率

结果显示,在不同临床病例分型的 LMS 标本中,与分化程度低、有浸润转移及 II ~ IV 期比较,细胞分化程度高、无浸润转移及 I 期的 LMS 标本中 E-cadherin、 β -catenin 表达阳性率明显高、而 Slug 阳性表达率明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

子宫平滑肌肿瘤是临床妇产科常见的肿瘤性疾病,其发病率约为 4%,但年龄 > 50 岁女性的发病率可达 40%,严重困难了女性的生命健康^[8]。子宫平滑肌肿瘤可分为多个组织亚型,良性包括子

表 2 不同临床病理分型 LMS 标本中 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达阳性率

Tab.2 Positive rate of E-cadherin, β -catenin and Slug expression in LMS specimens of different clinicopathologic types

临床病理分级	n	阳性表达($n, \%$)		
		E-cadherin	β -catenin	Slug
分化程度				
低	8	2(20.00) ⁽¹⁾	3(27.27) ⁽¹⁾	8(66.67) ⁽¹⁾
高	7	8(80.00)	8(72.73)	4(33.33)
浸润转移				
有	10	3(30.00) ⁽²⁾	4(36.36) ⁽²⁾	9(75.00) ⁽²⁾
无	5	7(70.00)	7(63.63)	3(25.00)
病理分期				
I 期	2	5(50.00)	7(63.63)	1(8.33)
II 期	4	3(30.00) ⁽³⁾	2(18.18) ⁽³⁾	2(16.67) ⁽³⁾
III 期	5	1(10.00) ⁽³⁾	1(9.09) ⁽³⁾	5(41.67) ⁽³⁾
IV 期	4	1(10.00) ⁽³⁾	1(9.09) ⁽³⁾	4(33.33) ⁽³⁾

⁽¹⁾与分化程度高比较, $P < 0.01$;⁽²⁾与无浸润转移比较, $P < 0.05$;⁽³⁾与 I 期比较, $P < 0.01$

宫平滑肌肌瘤、富于细胞性子宫平滑肌瘤以及核分裂活跃的平滑肌瘤等,恶性主要就是平滑肌肉瘤^[9]。研究子宫平滑肌肿瘤的发病机制对于其治疗和预后有着重要临床意义。传统认为雌激素的增高是其发病主要原因,但诸多文献报道雌激素因素并不能完全诠释间叶源性肿瘤的发病机理^[10]。目前多数研究认为 MET 可能在其中发挥重要作用。MET 是指间质细胞转变为上皮细胞的病理过程,体现在原本上皮细胞中出现的分子标记物在间叶源性肿瘤中呈阳性表达^[11]。当前公认的 MET 的分子标记物主要是细胞表面的标记物 E-cadherin 和细胞质内的标记物 β -catenin。钙黏附蛋白是介导同种细胞之间相互连接的钙依赖性跨膜糖蛋白,主要功能就是维持细胞间的紧密联系,并参与细胞信号通路、细胞生长分化和炎症肿瘤等病理生理过程,可分为 E-cadherin 和 N-cadherin,前者是细胞间主要黏附分子,是重要的上皮源性分子标记物,后者主要参与细胞的迁移和神经突触的形成,是重要的间叶源性分子标记物^[12-13]。在 MET 中表现为 E-cadherin 的上调和 N-cadherin 的下调。Slug 是调控 E-cadherin 表达和促进 MET 发生的关键分子,Slug 的表达下调,可使上皮源性标记物表达增加,间叶源性标记物下降,导致 MET 的发生^[14]。 β -catenin 参与细胞骨架蛋白的连接过程,可与 E-cadherin 相互作用,共同介导同质细胞的相

互依附,对上皮细胞极性、完整性的维持起到重要作用^[14]。 β -catenin 在上皮细胞和非浸润性肿瘤细胞的细胞膜上表达,而在间叶源性肿瘤的细胞质或细胞核上表达。

为了阐述 MET 在子宫平滑肌肿瘤中的作用及发病机制,本研究选择了 UL、CUL、LMS 和正常平滑肌组织,比较 4 组间 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 的表达阳性率,采用 Spearman 法分析 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 表达的相关性;结果发现,各型平滑肌肿瘤组中的 E-cadherin 和 β -catenin 的表达明显高于对照组,并在 LMS 组中表达最高,而各组 Slug 表达明显低于对照组,并在 LMS 组中表达最低,说明 MET 确实存在于子宫平滑肌肿瘤的发生发展过程中^[15]。同时 Slug 在 3 组平滑肌肿瘤中表达均存在差异性,提示 Slug 对于鉴别和诊断 UL、CUL 和 LMS 可能会有帮助,特别是被认为是良性和恶性平滑肌肿瘤之间的中间过程的 CUL。为了进一步分析 MET 对于子宫平滑肌肿瘤患者的预后影响,本研究选择观察观察不同临床病理分型 LMS 患者间 E-cadherin、 β -catenin 及 Slug 的表达差异,结果发现,E-cadherin 和 β -catenin 在细胞分化程度高、无浸润转移和 I 期中明显高表达,说明高表达的 E-cadherin 和 β -catenin 可提示预后较好,而 Slug 蛋白在细胞分化程度低、存在浸润转移和 III/IV 期中呈现明显低表达,说明 Slug 的下调提示其预后较差。

综上所述,本研究发现不同类型的子宫平滑肌肿瘤组织中 E-cadherin 和 β -catenin 均出现高表达,同时伴有 Slug 的表达下调,说明 MET 确实存在于子宫平滑肌肿瘤的发生发展过程,并且与细胞分化程度、浸润转移和病理分期有关。

4 参考文献

- [1] 田蔚,杨吉龙,王国文,等. 间叶上皮表型转化在肿瘤发生及演进中的作用[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(2): 156 - 160.
- [2] VOULGARIS A, PINTZAS A. Epithelial-mesenchymal tran-

sition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1796(2): 75 - 90.

- [3] SUBRAMANIAM M M, NAVARRO S, LLOMBARTBOSCH A. Immunohistochemical study of correlation between histologic subtype and expression of epithelial-mesenchymal transition-related proteins in synovial sarcomas [J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(8): 1001 - 1009.
- [4] 王翠翠, 张巍, 刘春霞, 等. 滑膜肉瘤中 E-、N-cadherin 和 β -catenin 的表达及意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(8): 874 - 879.
- [5] 郑燕君, 孙保存, 赵秀兰, 等. 上皮间充质转化对肺鳞状细胞癌侵袭和迁移能力的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(5): 265 - 270.
- [6] 王映梅, 范林妮, 马世荣, 等. 免疫组织化学染色常见问题及解决方法 [M]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(2): 231 - 232.
- [7] 阳志军, 李力. 子宫肉瘤的新分期与临床意义 [J]. 实用妇产科杂志, 2011, 27(6): 410 - 412.
- [8] 谢幸妇产科学 [M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 310.
- [9] 王丽. 32 例子宫富于细胞型平滑肌瘤临床分析 [J]. 河南外科学杂志, 2016, 22(1): 44 - 45.
- [10] 冯锦霞, 夏忠胜, 钟娃, 等. 肠道子宫内位异位症 3 例报告并文献复习 [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(7): 670 - 673.
- [11] 李香丽, 张小影, 臧立, 等. 间充质上皮细胞转化在肿瘤进展中的作用机制研究进展 [J]. 山东医药, 2015, 10(16): 102 - 105.
- [12] 陈谦, 高超, 张磊. 乳腺癌组织中 E-cadherin 和 CD105 的表达 [J]. 山东医药, 2015, 8(5): 32 - 34.
- [13] 张俊霞, 郭轶. N-cad 和 vimentin 在直肠腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 重庆医学, 2014, 43(8): 935 - 940.
- [14] 魏娉, 路三军, 严金海, 等. Slug 与食管癌侵袭转移间的关系及其调控机制研究 [J]. 东南大学学报(医学版), 2016, 35(4): 569 - 574.
- [15] 董伟, 朱慧庭. 子宫高度富于细胞性平滑肌瘤 14 例临床病理学特征 [J]. 诊断病理学杂志, 2013, 20(3): 137 - 140.

(2018-09-12 收稿, 2018-11-05 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 雷妍