

# PTEN、EGFR和GH在子宫内膜异位症和异位恶变内膜中的表达及意义

王成鑫, 周红艳, 黄莹, 刘丽江\*

(江大病理诊断所; 江汉大学 医学院病理与病理生理学教研室, 湖北 武汉 430056)

**摘要:**目的: 研究PTEN、EGFR (epidermal growth factor receptor) 和GH (human growth hormone) 在子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs) 和异位恶变内膜中的表达及意义, 探讨EMs恶变机理及特点。方法: 应用免疫组织化学方法, 检查PTEN、人表皮生长因子受体 (EGFR) 及生长激素 (GH) 在子宫内膜异位症在位、异位及异位恶变内膜组织中的表达。结果: PTEN在24例在位、异位和异位恶变内膜中的阳性率分别为66.67% (16/24)、37.50% (9/24)和20.00% (1/5), 异位和异位恶变内膜中的阳性率远低于在位内膜, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而异位、异位恶变内膜间的阳性率差别不大, 说明两者的生物学特点相似; GH在在位、异位和异位恶变内膜的阳性率分别为87.18% (102/117)、85.38% (111/130)和80.00% (4/5); EGFR在在位、异位和异位恶变内膜中的阳性率分别为54.70% (64/117)、89.23% (116/130)和80.00% (4/5), 异位和异位恶变内膜的阳性率均高于在位内膜。GH、EGFR在异位和异位恶变内膜中的阳性率接近。因此, 提出不典型EMs (atypical endometriosis, aEM) 和EMs恶性变的诊断标准。结论: 子宫内膜异位症拥有肿瘤组织的局部浸润、远处转移等生物学特点, 容易恶变。GH、EGFR和PTEN在子宫内膜异位症的发生、发展及恶变过程中起重要作用。PTEN表达水平的下降和缺失, 同时伴有EGFR、GH的高表达可被视为内异症恶性转化的重要标志。

**关键词:** 子宫内膜异位症; 生长激素; 表皮生长因子受体; PTEN; 恶性变

**中图分类号:** R711.3202; R737.3302 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-0143(2013)05-0081-05

子宫内膜异位症(内异症, endometriosis, EMs)是指具有功能性的子宫内膜组织出现在子宫腔外的一种疾病, 发病率呈逐年增多的趋势<sup>[1-5]</sup>, 发病率达10%~15%。临床多表现为慢性盆腔痛及痛经, 约20%的患者伴有不育症<sup>[6]</sup>。根据病变部位的不同, 子宫内膜异位症可分为外在性子宫内膜异位症 (externa endometriosis, EEM)、内在性子宫内膜异位症 (interna endometriosis, IEM, 即子宫腺肌病) 和混合性子宫内膜异位症 (内在、外在性病变同时存在)。EMs虽属良性疾病, 但其所表现的生物学行为与恶性肿瘤类似, 并有1%左右的EMs发生恶变<sup>[2,7-8]</sup>。事实上, 目前尚无较大规模EMs恶变的流行病学调查, 恶变后以肿瘤组织为主, 病理取材的局限性和对EMs恶变的认识不足, 诊断中易忽略EMs的恶变, 因此, EMs实际恶变的例数应远高于1%。PTEN基因(10号染色体同源丢失性磷酸酶与张

力蛋白 (phosphatase and tensin homology deletion on chromosome ten) 的异常与肿瘤的发生密切相关, 在子宫内膜相关性疾病中PTEN均有不同的改变。表皮生长因子受体 (EGFR) 和胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 在多种人类肿瘤组织中有较高的表达, 并可促进肿瘤的生长、浸润和转移<sup>[9-10]</sup>, 而生长激素 (GH) 是通过IGF-1来发挥作用的, 因此, 笔者应用PTEN、EGFR、GH对EMs在位、异位和异位恶变内膜进行对照研究, 以探讨PTEN、EGFR、GH及相关因素在EMs的发病及恶变过程中的作用。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料

本文收集江大病理诊断所及少数外院2005-2010年间经病理证实的内异症159例, 年龄最大82岁, 最小18岁, 平均43.76岁, 发病高

收稿日期: 2013-03-16

作者简介: 王成鑫 (1954—), 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤病理。

\*通信作者: 刘丽江 (1955—), 女, 教授, 博士, 研究方向: 胃肠道肿瘤病理。E-mail: liulijiang@163.com

峰年龄31~50岁,共114例,占71.70%(114/159)。159例中IEM 97例,占61.01%(97/159),平均年龄43.78岁;EEM 51例,占32.08%(51/159),平均发病年龄37.13岁,EEM病变部位包括:卵巢18例,腹壁剖腹产手术疤痕19例,子宫颈8例,阴道壁3例,盆腔淋巴结2例,肺部1例;混合性(IEM加EEM)6例,占3.77%(6/159);内异症恶变5例,占3.15%(5/159),内异症恶变年龄在33~51岁,平均发病年龄42.80岁,其中2例在卵巢,为子宫内膜样癌;2例在盆腔、腹壁形成广泛恶变结节,其中1例间质细胞、腺上皮均发生癌变,为癌肉瘤,经询问病史,该病例7年前在外院已行子宫、双侧卵巢切除,术后病理诊断为“左输卵管、右卵巢子宫内膜异位症”,另1例为间质肉瘤,7年前在外院行子宫切除,原诊断为“子宫腺肌病”,1例盆腔、宫颈及双卵巢见内异症、非典型内异症及其恶性变(图1~图4)。

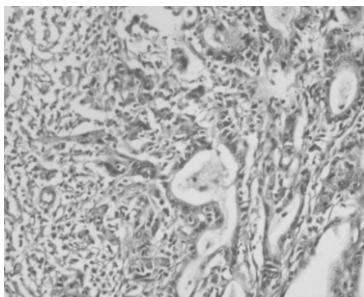


图1 子宫颈异位内膜恶变,非典型异位内膜向恶变内膜移行 HE×100

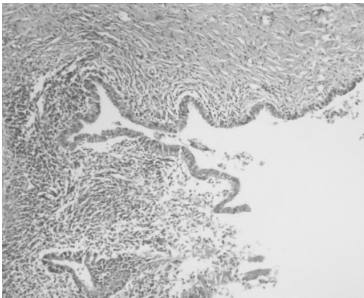


图2 同图1同一病例,卵巢的子宫内膜异位症、非典型异位内膜及异位内膜恶变 HE×100

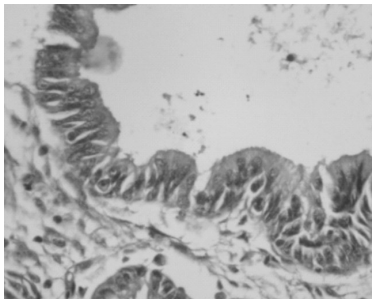


图3 卵巢异位内膜恶变,为图2放大,见细胞核深染、拉长,核仁清晰,见底层核分裂 HE×200

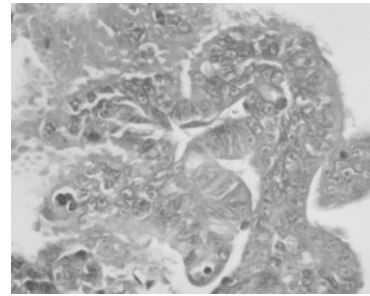


图4 和图2同一切片,卵巢的异位内膜恶变(高分化子宫内膜样癌) HE×400

## 1.2 方法

1.2.1 标本检查方法 所有病例均为手术送检标本,福尔马林固定,常规石蜡连续切片,切片厚4 μm,分别做HE及S-P法免疫组织化学检查。实验步骤按试剂盒说明书进行,采用已知阳性的GH、EGFR及PTEN组织切片作为阳性对照,用PBS液代替一抗的切片作为阴性对照。159例中,24例只做了PTEN的检查;5例异位恶变组织做了PTEN、GH、EGFR检查。

1.2.2 结果判断方法 PTEN阳性定位于细胞核,EGFR定位于细胞质和细胞膜,GH定位于细胞质,以棕黄颗粒状着色为阳性表达,阳性程度以着色程度的浅黄、黄、棕黄色及计数100个细胞内的阳性细胞数而综合判定:阴性(-):无着色或阳性细胞少于5%;弱阳性(+):浅黄色,阳性细胞在5%~25%之间;阳性(++):黄及棕黄色,阳性细胞在25%以上。

1.2.3 EMs的恶变标准 参照文献[5,11]介绍的EMs恶变的诊断方法修改制定。

1) 癌组织与良性内膜异位症并存于同一器官内或部位,二者都应该具有彼此相同的组织相关性(图1~图4);

2) 子宫体癌具有子宫内膜的非恶性部分,癌必须显示起源于该组织,而不是其他组织癌的侵犯。肿瘤组织学类型应当是已知的固有子宫内膜肿瘤的类型;

3) PTEN阴性、低表达及EGFR的高表达,也可协助恶变的诊断;

4) 镜下可见内膜异位症向恶性渐进性移行的依据,在邻近恶性肿瘤的子宫内膜异位中有非典型性病变的存在(图1,图2)。

## 1.3 试剂

即用型PTEN、EGFR、GH抗体和S-P试剂盒购于迈新生物工程公司。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS13.0统计软件行 $\chi^2$ 检验和等级相关分析。

## 2 结果

GH、EGFR在异位、在位内膜及恶变组织中的免疫组织化学染色结果如表1所示, GH在117例在位内膜中有102例阳性, 阳性率87.18%, 在130例异位内膜中111例阳性, 阳性率85.38%, 在5例异位恶变中4例阳性, 阳性率80.00%, GH

在在位、异位及异位恶变内膜中的表达无可比性; EGFR在117例在位内膜中64例阳性, 阳性率54.70%, 在130例异位内膜中116例阳性, 阳性率为89.23%, 在5例异位恶变中4例阳性, 阳性率80.00%。EGFR在异位及异位恶变内膜中的表达阳性率均高于在位内膜, 异位同在位内膜的阳性率相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。因病例太少, GH、EGFR在恶变组织中的表达均为80.00%, 虽无可比性, 但还是说明其参与了EMs的恶变过程。

表1 GH、EGFR在子宫在位、异位内膜及异位恶变内膜中的表达

病变	例数	GH			EGFR		
		阳性/n(%)	$\chi^2$	P	阳性/n(%)	$\chi^2$	P
在位内膜	117	102(87.18)	0.167	0.683	64(54.70)	37.14	<0.05
异位内膜	130	111(85.38)			116(89.23)		
在位内膜	117	102(87.18)	0.044	0.833	64(54.70)	0.43	0.512
异位恶变	5	4(80.00)			4(80.00)		
异位内膜	130	111(85.38)	0.095	0.757	116(89.23)	0.006	0.935
异位恶变	5	4(80.00)			4(80.00)		

PTEN在子宫在位内膜、异位内膜及异位内膜恶变中的表达如表2所示, 其主要表达于腺上皮细胞核, 在少数间质细胞也有表达。24例在在位内膜中有16例阳性(图5), 阳性率66.67%; 24例异位内膜中9例阳性, 阳性率37.50%, 表达明显降低, 同在位内膜相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而PTEN在异位恶变内膜中的表达最低, 主要为阴性(图6), 5例中仅1例阳性, 阳性率20.00%, 且是弱阳性表达, 异位和异位恶变内膜PTEN阳性率差别不大, 说明两者的生物学性能接近或相似, 易恶变。

表2 PTEN在子宫在位内膜、异位内膜及异位内膜恶变中的表达

病变	例数	PTEN		$\chi^2$	P
		阳性/例	阳性率/%		
在位内膜	24	16	66.67	4.09	0.043
异位内膜	24	9	37.50		
在位内膜	24	16	66.67	3.06	0.08
异位恶变	5	1	20.00		
异位内膜	24	9	37.50	0.054	0.816
异位恶变	5	1	20.00		

## 3 讨论

EMs确切的发病机理至今尚不十分清楚, 许多研究的结论相互矛盾。近来, 认为IEM和EEM

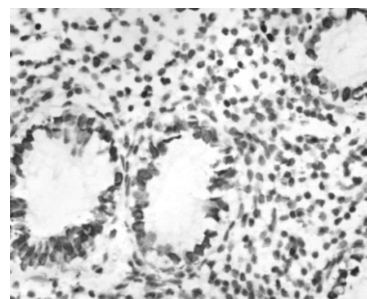


图5 PTEN在在位内膜强阳性表达(+++) 免疫组织化学 S-P法,  $\times 200$

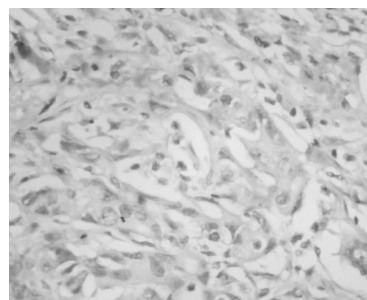


图6 PTEN在异位恶变(高分化子宫内膜样腺癌)中的阴性表达免疫组织化学 S-P法,  $\times 200$

是同一疾病过程的不同亚型, 两者均来自脱位的内膜基层, 其内的上皮、间质细胞和平滑肌也无原则上的差异<sup>[12]</sup>。EMs的发病机制可概括为转移理论和转化理论, 化生或脱落的子宫内膜碎片(腺上皮及间质细胞)像肿瘤那样, 通过黏附、侵袭和血管形成, 可以异位生存和生长<sup>[5,11,13-14]</sup>。

在EMs的发展过程中,恶性转化对患者的威胁最大,特别是卵巢的不典型子宫内膜异位症最具有恶变的潜能<sup>[2-4,11,14]</sup>。促进EMs恶性转化的因素较多,如氧化应激物、炎症、p53基因突变、无孕激素拮抗的雌激素增多、治疗EMs的达那唑等,在异位内膜恶变中均具有重要作用。动物实验已证实,环境污染中普遍存在的二恶英(TCDD)能促进EMs发生、发展及恶变。恶变最常见的组织类型是透明细胞癌和子宫内膜样癌,占60%~70%,也有少数浆液及黏液癌<sup>[11,14]</sup>。

1925年Sampson首次报道恶性肿瘤与异位子宫内膜存在于同一病变中,提出了确诊异位子宫内膜恶变的条件,在EMs恶变病例中,上皮性恶性肿瘤约占90%,肉瘤约占8%。1988年Grenade等又提出不典型EMs(atypical endometriosis, aEM)概念,形态学上,以子宫内膜腺体的异型性为主要特征,诊断要点包括:①异位的内膜样上皮细胞核深染或淡染、苍白,有中-重度的多形性;②核/浆比例增大,染色质增多;③细胞密集,呈复层及簇状突起,可伴腺体结构的不典型性;④PTEN阴性、低表达及EGFR的高表达,也支持aEM的诊断;⑤细胞核呈角现象、核仁及腺体乳头状增生。符合上述3项者不典型EMs的诊断即可确立。

有研究提出突出的核仁和细胞核呈角现象应加入aEM诊断标准,异位内膜的乳头状增生应该是子宫内膜样癌交界性病变<sup>[4]</sup>,更应该作为不典型EMs或恶性变的窗口指标,因此,加上了第⑤条,而不典型性增生向恶性上皮移行现象,在恶变发生中可能起主要作用。EMs同时伴有恶性肿瘤的病例75%发生在卵巢,25%发生在卵巢以外<sup>[4]</sup>。

PTEN是1997年发现的新的抑癌基因,具有磷酸酶活性,在细胞生长、发育、信号传导和凋亡等过程中起着重要作用。研究发现,EMs恶变存在抑癌基因PTEN的突变、缺失或表达失常,失去了其正常的调控作用,导致肿瘤的发生和发展,PTEN蛋白表达水平的下降可被视为卵巢内异症恶性转化的标志之一<sup>[11,14]</sup>。本研究结果PTEN在在位内膜中的表达较高(66.67%),以阳性与强阳性表达为主,在异位内膜中的表达明显降低(37.50%),而PTEN在异位恶变内膜中的表达最低(20.00%),且是弱阳性表达,支持PTEN表达降低是异位恶变发生发展的重要原因。

GH也促进人类子宫内膜腺体细胞增生,其

作用于肝脏或其他组织产生IGF-1对靶细胞发挥作用。IGF-1在试管内可促进有丝分裂,抑制内膜细胞凋亡,在EMs患者血浆及腹水中IGF-1水平也较高<sup>[3]</sup>,说明其参与了子宫内膜异位症的发生,也可能是内膜异位种植的先决条件<sup>[5]</sup>。近年发现卵巢本身也有合成GH的功能。本研究发现GH在在位、异位内膜和恶变内膜中有87.18%(102/117)、85.38%(111/130)和80.00%(4/5)的阳性表达,表明其参与了内异症和内异症恶变的发病过程。在手术、创伤及一些应激性刺激的作用下,可引起GH的大量分泌,这同EMs不少有流产、人流及宫腔操作史也比较一致。IGF-1的升高也是绝经期前后女性子宫颈、卵巢及子宫内膜癌的高危因素<sup>[6]</sup>。

表皮生长因子受体(EGFR)是一种细胞膜受体,具酪氨酸激酶活性,广泛地分布于正常宫内膜腺上皮中,不随月经周期改变。表皮生长因子同受体特异性结合后,引起受体C-末端酪氨酸残基的磷酸化和系列的信号传导,刺激DNA合成,促进细胞的分裂增生,介导细胞分化、黏附、迁移、侵袭和肿瘤形成等<sup>[10,15]</sup>。雌激素可促进异位内膜组织或其内的炎细胞产生的肽类生长因子以自分泌或旁分泌的形式启动EGFR信号传导通路,通过PI3K/Akt/mTOR信号途径,刺激细胞的增殖、侵袭和转移。本研究发现EGFR在在位、异位和异位恶变内膜中的阳性率分别为54.70%(64/117)、89.23%(116/130)和80.00%(4/5),异位和异位恶变内膜的阳性率均高于在位内膜,证明其参与了内异症发病和恶性变。

以上研究证实了子宫内膜异位症有肿瘤组织的一些生物学特点,如粘连、浸润、种植、转移,对其他器官造成破坏,具潜在恶性特点,特别是PTEN蛋白表达水平的下降,同时伴有EGFR、GH的高表达可被视为卵巢内异症恶性转化的重要标志。

#### 参考文献:

- [1] Bazot M, Darai E, Hourani R, et al. Deep pelvic endometriosis: MR imaging for diagnosis and prediction of extension of disease [J]. *Radiology*, 2004, 232 (2): 379-389.
- [2] Odobasic A, Pasic A, Iljazovic-Latifagic E, et al. Perineal endometriosis: a case report and review of the literature [J]. *Tech Coloproctol*, 2010, 14(Suppl 1): 25-27.
- [3] Milingos D S, Philippou A, Armakolas A, et al. Insulin-like growth factor-1Ec (MGF) expression in eutopic and ectopic endometrium: characterization of the MGF E-peptide actions in vitro [J]. *Mol Med*, 2011, 17

- (1/2):21-28.
- [4] Bayramoğlu H, Düzcan E. Atypical epithelial changes and mutant p53 gene expression in ovarian endometriosis[J]. *Pathol Oncol Res*, 2001, 7(1):33-38.
- [5] Varma R, Rollason T, Janesh K G, et al. Endometriosis and the neoplastic process [J]. *Reproduction*, 2004, 127(3):293-304.
- [6] Gao X, Outley J, Botteman M, et al. Economic burden of endometriosis[J]. *Fertil Steril*, 2006, 86:1561-1572.
- [7] Chene G, Darcha C, Dechelotte P, et al. Malignant degeneration of perineal endometriosis in episiotomy scar, case report and review of the literature[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2007, 17:709-714.
- [8] Wang C X, Zhou H Y, You X N. An investigation of the potential malignant characteristics of endometriosis[J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2005, 2(6):861-865.
- [9] Huang F, Greer A, Hurlburt W, et al. The mechanisms of differential sensitivity to an insulin-like growth factor-1 receptor inhibitor (BMS-536924) and rationale for combining with EGFR/HER2 inhibitors[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(1):161-170.
- [10] Pedersen N M, Breen K, Rødland M S, et al. Expression of epidermal growth factor receptor or ErbB3 facilitates geldanamycin-induced down-regulation of ErbB2 [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(2):275-284.
- [11] Volpi E, Peano E, Ferrero A, et al. Association between ovarian endometriosis and malignancy in the peri-menopausal period: report of two cases and review of the literature[J]. *Gynecol Surg*, 2010, 7(1):13-17.
- [12] Leyendecker G, Herberich M, Kunz G, et al. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium [J]. *Human Reproduction*, 2002, 17(10):2725-2736.
- [13] 王成鑫, 黄莹, 李艳. 子宫内膜异位症临床病理特点及发病机制探讨[J]. *江汉大学学报:自然科学版*, 2005, 33(3):86-89.
- [14] Kondi-Pafiti A, Papakonstantinou E, Iavazzo C, et al. Clinicopathological characteristics of ovarian carcinomas associated with endometriosis [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, 285(2):479-483.
- [15] Chad A, Livasy F. EGFR expression and HER2/neu overexpression/ amplification in endometrial carcinosarcoma[J]. *Oncol*, 2006, 100(1):101-106.

## Expression and Significance of PTEN, EGFR and GH in Endometriosis and Ectopic Malignant Change Endometrium

WANG Cheng-xin, ZHOU Hong-yan, HUANG Xuan, LIU Li-jiang

(Jiangda Pathologic Diagnostic Institute, Dept. of Pathology & Patho-physiology, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei, China)

**Abstract: Objective:** To study the expression and significance of PTEN, EGFR (epidermal growth factor receptor) and GH (human growth hormone) in endometriosis (EMs), malignant transformed endometrium of EMs and investigate the malignant mechanisms and the characteristics of EMs. **Methods:** Immunohistochemical S-P method was used to examine the expressions of PTEN, EGFR and GH in the eutopic, ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs. **Results:** The positive rate of PTEN in eutopic, ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs of 24 cases were 66.67% (16/24), 37.50% (9/24) and 20.00% (1/5) respectively, the positive rate in ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs was lower than that of eutopic endometrium and there was statistical difference ( $P < 0.05$ ), nevertheless the positive rate between ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs had no statistical difference ( $P > 0.05$ ) which indicated that the biologic characteristic of the two lesions were similar; The positive rate of GH in eutopic, ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs were 87.18% (102/117), 85.38% (111/130) and 80.00% (4/5) respectively; The positive rate of EGFR in eutopic, ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs were 54.70% (64/117), 89.23% (116/130) and 80.00% (4/5) respectively, the positive rate in ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs were higher than that of eutopic endometrium. The positive rate of EGFR and GH in ectopic and ectopic malignant transformed endometrium of EMs were similar. Therefore suggested the diagnostic criteria of aEM (atypical endometriosis) and malignant change of EMs. **Conclusion:** Endometriosis possesses some features of neoplasm such as adhesion, invasion, metastasis and can transform to malignant tumor. GH, EGFR and PTEN play important role in occurrence, development and malignant transformation of EMs. Especially the down regulation or loss of PTEN accompanied simultaneously with the high expression of GH and EGFR can be viewed as the important malignant transformation mark.

**Key words:** endometriosis; growth hormone (GH); epidermal growth factor receptor (EGFR); PTEN; malignant transformation

(责任编辑: 范建凤)