

凋亡促进分子 TFAR19 与子宫肌瘤关系的研究*

白茹,仇秋明 (北京市怀柔区妇幼保健院,北京 101400)

摘要:目的 检测子宫肌瘤患者血清 TFAR19 活性。方法 随机选择北京市怀柔区妇幼保健院妇产科住院接受手术的子宫肌瘤患者 45 例,其中 $6\text{ cm} \leq$ 单个最大肌瘤直径 $\leq 10\text{ cm}$ 的患者 29 例(A 组)、单个最大肌瘤直径 $> 10\text{ cm}$ 的患者 16 例(B 组),同时随机选取育龄期健康体检者 25 例作为对照组(C 组),A、B 组于入院当晚采集外周静脉血,C 组于体检当天采集外周静脉血,采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测子宫肌瘤患者血清中 TFAR19 活性。结果 A 组、B 组、C 组 TFAR19 活性分别为 25.32 ± 1.93 , 14.41 ± 2.28 , 34.79 ± 4.65 活性单位;各组间 TFAR19 活性差异有统计学意义($F=7.93$, $P=0.01$);与 C 组相比, B 组($q=5.606$, $P<0.001$)、A 组($q=3.055$, $P=0.034$)间 TFAR19 活性差异具有统计学意义;A 组、B 组之间 TFAR19 活性差异有统计学意义($q=3.086$, $P=0.033$)。各组之间年龄差异无统计学意义($F=2.086$, $P=0.132$)。结论 子宫肌瘤患者血清 TFAR19 表达下调抑制了细胞凋亡过程,参与了子宫肌瘤的发生,并且与肌瘤的大小相关,肌瘤直径越大,TFAR19 表达越低。

关键词:子宫肌瘤;TFAR19;细胞凋亡

中图分类号:R711.74;R446 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)05-094-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.025

Relationship between Apoptosis Promoting Effector Molecule TFAR19 and Uterine Myoma

BAI Ru, QIU Qiu-ming

(Maternal and Child Health Hospital of Beijing Huairou, Beijing 101400, China)

Abstract: **Objective** To examine serum TFAR19 activity in uterine myoma patients. **Methods** 45 of operation patients with uterine myoma in Beijing Huairou Maternal and Child Health Hospital were recruited. Among them, diameter of maximal myoma from 6 to 10 centimeters were 29 (group A), diameter of maximal myoma more than 10 centimeters were 16 (group B). In addition, 25 unrelated healthy women of childbearing age from physical examination center were enrolled as controls (group C), all of the peripheral venous blood was collected after admission. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to examine serum TFAR19 activity in uterine myoma patients. **Results** The activity of TFAR19 in group A, group B and group C were 25.32 ± 1.93 , 14.41 ± 2.28 and 34.79 ± 4.65 respectively. The TFAR19 activity in each group was statistically significant difference ($F=7.93$, $P=0.01$). Compared with group C, the TFAR19 activity in group B ($q=5.606$, $P<0.001$), group A ($q=3.055$, $P=0.034$) was statistically significant difference. The TFAR19 activity in uterine myoma patients subgroups (group A, group B) was statistically significant difference ($q=3.086$, $P=0.033$). Age between each groups was not statistically significant difference ($F=2.086$, $P=0.132$). **Conclusion** The decrease of TFAR19 can inhibit apoptosis. Participating the occurrence of uterine myoma, it is connected with diameter of myoma. The larger diameter of myoma, the lower TFAR19 activity of examination will be.

Keywords: myoma patients; TFAR19; apoptosis

子宫肌瘤(uterine myoma)是妇科常见的良性肿瘤,好发于 30~50 岁的妇女,其在育龄妇女中的发病率约为 20%~25%,并呈逐年上升趋势^[1]。子宫肌瘤可引起盆腔压迫症状、子宫异常出血、疼痛、不孕症等一系列症状及并发症。流行病学资料显示^[2]子宫肌瘤相关性不孕占所有不孕症患者的 5%~10%,其既可作为独立因素存在导致不孕,又可引起反复流产。近年来,子宫肌瘤的病因学及发病机制已成为妇科领域的研究热点。细胞凋亡在子宫肌瘤的发生和发展中起着至关重要的作用,细胞凋亡异常成为子宫肌瘤发生的原因之一,TFAR19 作为促凋亡分子在细胞凋亡过程中具有

重要的枢纽作用,但子宫肌瘤患者 TFAR19 活性变化国内外尚未见报道。因此,本试验拟检测子宫肌瘤患者血清 TFAR19 活性。

1 材料和方法

1.1 研究对象 随机选择 2013 年 5 月~2014 年 10 月在我院妇产科住院接受手术的子宫肌瘤患者 45 例,其中 $6\text{ cm} \leq$ 单个最大肌瘤直径 $\leq 10\text{ cm}$ 的患者 29 例(A 组),平均年龄 36.31 ± 1.10 岁,单个最大肌瘤直径 $> 10\text{ cm}$ 的患者 16 例(B 组),平均年龄 35.38 ± 1.19 岁;同时,从我院体检中心随机选取育龄期健康女性体检者 25 例作为对照组(C 组),平均年龄 33.52 ± 0.80 岁。A、B 组与入院当

* 作者简介:白茹(1981-),女,本科,主治医师,研究方向:妇科, Tel:13901018552, E-mail: BaiRu608@163.com。

晚采集外周静脉血,C组于体检当天采集外周静脉血,全部于 -79°C 保存。

1.2 入选标准 A,B组须满足术前三个月内未经任何治疗,且术后病理诊断仅为子宫平滑肌瘤。所有患者及对照组人群均为育龄期未绝经妇女,且须排除肝脏、肾脏、心脏、结核病、内分泌、妇科炎症、子宫肿瘤、女性生殖系统肿瘤等其他肿瘤病史。

1.3 试剂、仪器 所用人凋亡相关蛋白 TFAR19 定量检测试剂盒购自博耀生物科技有限公司(上海);使用 $A_{415\text{nm}}$ 酶标仪进行样本检测。

1.4 TFAR19 活性检测方法 分别在酶标包被板上设待测样品孔、标准品孔、空白孔。在标准品孔中加 $50\ \mu\text{l}$ 标准品,根据其 $A_{415\text{nm}}$ 值制作标准曲线。其次依次在待测样品孔中加入样品稀释液 $40\ \mu\text{l}$ 、血清样本 $10\ \mu\text{l}$ 、酶标试剂 $50\ \mu\text{l}$ (除空白孔)。混匀后放入 37°C 恒温箱孵育 $60\ \text{min}$,取出后洗板 5 次,再依次加入显色液 A,B, 37°C 恒温箱显色 $15\ \text{min}$,最后加入终止液 $50\ \mu\text{l}$ 终止反应。以空白孔调零,检测样本 $A_{415\text{nm}}$ 值,即 TFAR19 催化产生的吸光度 A,将其代入标准曲线得出相对应的 TFAR19 活性单位。以上操作均严格按照试剂盒说明书完成。

1.4 统计学分析 统计分析均用 SPSS16.0 统计软件完成。采用单因素方差分析(F检验)比较各组的年龄;采用多个均数之间两两比较的 q 检验(SNK法)比较各组间血清 TFAR19 活性;用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示连续性资料数据; $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果 A组,B组,C组 TFAR19 活性分别为 25.32 ± 1.93 , 14.41 ± 2.28 和 34.79 ± 4.65 活性单位,各组间 TFAR19 活性差异有统计学意义($F=7.93$, $P=0.01$);与C组相比,B组($q=5.606$, $P<0.001$)、A组($q=3.055$, $P=0.034$)间 TFAR19 活性差异具有统计学意义;A组、B组之间 TFAR19 活性差异有统计学意义($q=3.086$, $P=0.033$)。各组之间年龄差异无统计学意义($F=2.086$, $P=0.132$)。

3 讨论 细胞凋亡是指人体为维持自身正常生理状态稳定而发生的细胞程序性死亡,正常细胞凋亡的意义是清除机体感染、衰老、变异等处于异常状态下的细胞,该过程发生的同时也伴随细胞增殖,正常情况下细胞凋亡应与细胞增殖形成动态平衡,一旦这种平衡被打破,疾病将随之而来。凋亡异常受多种基因及其诱导产生的因子、蛋白调控,目前研究认为细胞凋亡至少受三种通路调控:①线粒体通路:多种促细胞凋亡信号的调控可诱导线粒体通透性转变孔过度开放,使得线粒体跨膜电位崩解、

内膜肿胀、基质渗透压增高,导致线粒体膜间隙的细胞色素 C(Cytochrome C, Cytc)转移至细胞浆内,再加上线粒体功能丧失,共同引发凋亡^[3]。②死亡受体通路:位于细胞表面的死亡受体均属肿瘤坏死因子家族,其可将自身携带的凋亡信号传递至细胞内,激活胞内促凋亡效应分子诱导细胞凋亡^[4]。③内质网通路:内质网是调节机体蛋白质合成、合成后折叠、钙离子储存的重要细胞器,多种生理、病理条件引发的这三种生理功能的异常称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS),若 ERS 导致内环境的破坏过于严重且不能及时修复,则发生细胞凋亡。此外,ERS 还可以激活 caspase-12,使得 caspase-3 被剪切而发生细胞凋亡^[5]。

因此,我们不难推出:肿瘤细胞的过度增殖或许与细胞凋亡通路被阻断有关,促凋亡分子的表达下调、缺失以及抗凋亡分子的表达上调或许参与了上述细胞凋亡通路的阻断过程而达到抗凋亡效果。研究显示^[6,7],抗凋亡分子 Bcl-2, Bcl-X1 的表达均可通过线粒体途径决定肿瘤细胞的凋亡与否:Bcl-2 过表达可引起线粒体凋亡途径受阻;肿瘤患者在化疗时通过下调 Bcl-2, Bcl-X1 的表达可以恢复化疗药物以及对凋亡的敏感性。此外,凋亡抑制蛋白(inhibitors of apoptosis, IAPs)可以通过抑制效应 caspase-3, caspase-7 和 caspase-9 阻断内质网通路抗肿瘤细胞凋亡^[8]。

作为细胞凋亡通路具体执行者的凋亡促进分子 TFAR19,该基因定位于人染色体 19q12~q13.1,由 5 个内含子及 6 个外显子组成。目前研究发现^[9]:TFAR19 蛋白的表达下调可抑制细胞凋亡,TFAR19 在多种肿瘤患者体内表达明显下降,如卵巢上皮性癌等。

本实验研究结果显示:子宫肌瘤患者血清 TFAR19 表达下调抑制了细胞凋亡过程,参与了子宫肌瘤的发生,并且与肌瘤直径的大小相关,肌瘤直径越大,TFAR19 表达越低,这说明 TFAR19 的低表达可能阻断了细胞凋亡通路,但具体机制尚不清楚,有待我们深入研究。总之,本研究的核心意义在于,为子宫肌瘤的治疗思路开辟新方向,临床上治疗子宫肌瘤也许可以从分子水平入手,让那些具有子宫切除术潜在风险的患者避免手术的痛苦,让那些有生育要求的育龄期患者看到希望。

参考文献:

- [1] 郭艳,郭宏,郝国栋.腹腔镜下子宫肌瘤剔除术后复发相关危险因素的临床分析[J].当代医学,2011,17(17):116-117.
Guo Y, Guo H, Hao GD. Clinical analysis of the risks associated with relapse in laparoscopic myomectomy

- [J]. Contemporary Medicine, 2011, 17(17): 116-117.
- [2] Rackow BW, Taylor HS. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity[J]. Fertil Steril, 2010, 93(6): 2027-2034.
- [3] Li H, Zhu H, Xu CJ, et al. Cleavage of BID by caspase-8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis[J]. Cell, 1998, 94(4): 491-501.
- [4] 王海燕, 王来栓, 归绥琪. 细胞凋亡通路研究进展[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 2003, 23(5): 490-492.
- Wang HY, Wang LS, Gui SQ. The research advancement of apoptotic pathway[J]. Foreign Medical Sciences, Section of Pathophysiology and Clinical Medicine, 2003, 23(5): 490-492.
- [5] Rao RV, Hetmel E, Castro-Obregon S, et al. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(36): 33869-33874.
- [6] Hinz S, Trauzold A, Boenicke L, et al. Bcl-XL protects pancreatic adenocarcinoma cells against CD95 and TRAIL-receptor-mediated apoptosis[J]. Oncogene, 2000, 19(48): 5477-5486.
- [7] Fulda S, Meyer E, Debatin KM. Inhibition of TRAIL induced apoptosis by Bcl-2 overexpression[J]. Oncogene, 2002, 21(15): 2283-2294.
- [8] Ng CP, Bonavida B. X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) blocks Apo2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis of prostate cancer cells in the presence of mitochondrial activation; sensitization by overexpression of second mitochondria-derived activator of caspase/direct IAP-binding protein with low pI (Smac/DIABLO)[J]. Mol Cancer Ther, 2002, 1(12): 1051-1058.
- [9] 冯静, 崔恒, 魏丽惠, 等. TFAR19蛋白在卵巢上皮性癌中的表达[J]. 中国妇产科临床杂志, 2002, 3(3): 164-167.
- Feng J, Cui H, Wei LH, et al. Expression of TFAR19 protein in epithelial ovarian cancer[J]. Chin J Clin Obstet Gynecol, 2002, 3(3): 164-167.

收稿日期: 2015-11-19

修回日期: 2016-05-30

(上接 93 页) 瘤大小、ER 水平、PR、Ki-67 指数存在显著相关性。HER2 无过表达 (HER-2⁻) 较 HER2 过表达 (HER-2⁺) 乳腺癌较多表现为高组织分级、腋窝淋巴结阴性、ER 阴性、PR 阳性及 Ki-67 ≥ 20%, 与以前的研究存在部分差异, 有待继续研究。

HER2 阳性肿瘤的分化较差, 对靶向治疗反应好。2007 年和 2010 年美国临床肿瘤学会/美国病理医师学院 (ASCO/CAP) 分别发布了乳腺癌 HER2 检测指南以及 ER/PR 检测指南^[9,10]。国内专家组也于 2009 年发布了中国乳腺癌 HER2 检测指南^[11], 上述指南就三种肿瘤标志物的标准化检测和报告进行了详尽阐述, 可供广大医师参考。ER、PR 和 HER2 能够同时判定乳腺癌的预后和预测治疗反应, 其检测结果直接影响患者的治疗方案, 因此检测的准确性和标准化对研究 HER2 与 ER、PR 关系也至关重要。

总之, 乳腺癌的临床病理特征与激素受体和 HER2 密切相关, 了解乳腺癌 HER2 表达状况及与其他预测因子的关系及生物学特征, 可以为临床医师在乳腺疾病的诊疗中提供重要参考。

参考文献:

- [1] 唐平, 魏兵, 杨雯娟, 等. 乳腺癌预后/预测因子[J]. 中华病理学杂志, 2011, 40(2): 73-76.
- Tang P, Wei B, Yang WJ, et al. Prognostic factors of breast cancer[J]. Chinese Journal of Pathology, 2011, 40(2): 73-76.
- [2] Ravdin PM, Siminoff LA, Davis GJ, et al. Computer program to assist in making decisions about adjuvant therapy for women with early breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2001, 19(4): 980-991.
- [3] Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009[J]. Ann Oncol, 2009, 20(8): 1319-1329.
- [4] Carey LA. Through a glass darkly: advances in understanding breast cancer biology, 2000 ~ 2010[J]. Clin Breast Cancer, 2010, 10(3): 188-195.
- [5] Jatoi I, Anderson WF, Rosenberg PS. Qualitative age-interactions in breast cancer: a tale of two diseases? [J]. Am J Clin Oncol, 2008, 31(5): 504-506.
- [6] Figueroa-Magalhaes MC, Jelovac D, Connolly RM, et al. Treatment of HER2-positive breast cancer[J]. Current Treatment Options in Oncology, 2014, 23(2): 128-136.
- [7] Nishimura R, Osako T, Okumura Y, et al. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer[J]. Exp Ther Med, 2010, 1(5): 747-754.
- [8] Patnayak R, Jena A, Rukmangadha N, et al. Hormone receptor status (estrogen receptor, progesterone receptor), human epidermal growth factor-2 and p53 in South Indian breast cancer patients: A tertiary care center experience[J]. Indian J Med Paediatr Oncol, 2015, 36(2): 117-122.
- [9] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer[J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 1(1): 1843.
- [10] Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer[J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(6): 907-922.
- [11] 《乳腺癌 HER2 检测指南 (2009 版)》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南 (2009 版)[J]. 中华病理学杂志, 2009, 38(12): 836-840.

收稿日期: 2016-06-20

修回日期: 2016-08-25