

·综述·

VEGF-A 在子宫内膜异位症中的研究进展

郭路路, 王伟, 郝敏[△]

【摘要】 子宫内膜异位症(EMs)是育龄妇女的多发病,主要引起盆腔疼痛及不孕,近几年发病率有明显上升趋势。如同肿瘤的生长及复发,异位 EMs 病灶周围的血管化程度是影响子宫内膜细胞增殖、转移和 EMs 病灶复发的重要因素,因此抑制血管内皮生长因子 A(VEGF-A)成为了 EMs 治疗的新目标。近年来对 VEGF-A 在 EMs 中作用的相关研究,如 VEGF-A 作为 EMs 的诊断标志物、VEGF-A 基因多态性、VEGF-A 抑制剂用于 EMs 的治疗以及微小 RNA(miRNA)对 VEGF 的表达调控等都取得了一定的进展,有助于进一步揭示 EMs 的发病、病灶转移以及复发的机制,以便更准确地评估 EMs 病情的进展及复发。现综述近年来 VEGF-A 在 EMs 中的研究进展。

【关键词】 子宫内膜异位症;血管内皮生长因子 A;多态性,单核苷酸;血管生成抑制剂;微 RNAs

The Research Progress of VEGF-A in Endometriosis GUO Lu-lu, WANG Wei, HAO Min. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: HAO Min, E-mail: 2yuanhaomin@163.com

【Abstract】 Endometriosis (EMs) is a frequent occurrence of women with reproductive age, which mainly causes pain and infertility. As tumor growth and recurrence of ectopic EMs around the lesion vascularization degree of endothelial cell proliferation, metastasis and recurrence of EMs lesions of important factors, so the inhibition of vascular endothelial growth factor has become the new target of EMs treatment. Recent studies on the role of VEGF-A in EMs, such as VEGF, as a diagnostic marker of EMs, VEGF-A gene polymorphism, VEGF-A receptor inhibitor for the treatment of EMs and microRNA(miRNA) expression of VEGF in regulating, have made certain progress, help to further reveal the onset of EMs, recurrent focal shift and focal mechanisms, as well as more accurately assess the EMs of progression and recurrence. Recent advances in the research of VEGF-A in EMs are reviewed.

【Keywords】 Endometriosis; Vascular endothelial growth factor A; Polymorphism, single nucleotide; Angiogenesis inhibitors; MicroRNAs

(J Int Obstet Gynecol, 2018, 45:111-114)

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)虽为妇科良性疾病,但具有侵袭性及复发性,临床表现最典型的症状为盆腔疼痛,70%~80%的患者有不同程度的盆腔疼痛,包括痛经、慢性盆腔痛、性交痛、肛门坠痛等,同时 EMs 患者中 40%~50%合并不孕^[1]。近年来 EMs 发病率不断上升,严重影响患者的生活质量,受到国内外妇产科医师的高度重视。但 EMs 发病机制目前仍没有明确的阐述。“在位内膜决定论”学说认为子宫内膜在宫腔外需黏附、侵袭以及血管形成过程,得以种植、生长并发生病变^[2]。EMs 异位病灶周围的血管化程度是影响内膜细胞增殖、转移的重要因素,同时女性生理特有的周期性新血管形成的特点,使得血管内皮生长因子 A (vascular endothelial

growth factor A, VEGF-A)在女性生殖系统疾病的发生、发展中有着重要的影响,因此近几年对 VEGF-A 的研究成为了 EMs 的重要研究方向,越来越多的研究表明 VEGF-A 在 EMs 病灶的血管生成过程中发挥着极为重要的作用^[3]。

1 VEGF-A 作为 EMs 诊断标志物的研究进展

目前 EMs 的诊断水平和临床疗效不断提高,但仍然缺乏敏感度、特异度高的诊断标志物^[4]。诊断 EMs 最有效方法为腹腔镜检查,但因其有创,容易忽略微小病灶,对早期和特殊位置的 EMs 诊断率低,且手术并发症发生率和诊断费用较高限制了其临床应用。研究 EMs 的无创性诊断标志物对于病灶未能被超声发现,但是具有慢性盆腔痛及不孕等临床症状的 EMs 患者的早期诊断极其重要。这其中包括几乎所有的轻中度 EMs,部分没有侵犯卵巢和腹膜的

作者单位:030001 太原,山西医科大学附属第二医院妇产科

通信作者:郝敏, E-mail: 2yuanhaomin@163.com

[△]审校者

中重度 EMs。为探索敏感度和特异度均佳的生物标志物, Moety 等^[5]通过检测经腹腔镜诊断的 112 例研究对象(61 例 EMs 患者, 51 例健康妇女)的血清和腹腔液中 VEGF-A 的浓度, 发现 EMs 患者的血清中 VEGF-A 浓度 $[(2\ 158.37 \pm 1\ 026.87)\text{pg/mL}]$ 与健康妇女 $[(286.83 \pm 77.07)\text{pg/mL}]$ 比较, 差异有统计学意义($P < 0.001$), 且腹腔液中的 VEGF-A 的浓度 $[(3\ 174.67 \pm 2\ 857.60)\text{pg/mL}]$ 与健康妇女 $[(214.30 \pm 68.74)\text{pg/mL}]$ 比较, 差异也有统计学意义($P < 0.001$)。同样 Cho 等^[6]选取 82 例研究对象, 其中 49 例 EMs 患者腹腔液中 VEGF-A 浓度 $[(665.63 \pm 212.52)\text{pg/mL}]$ 与 33 例为非 EMs 患者(15 例为皮样囊肿, 18 例为卵巢良性囊肿)腹腔液中 VEGF-A 浓度 $[(217.41 \pm 37.19)\text{pg/mL}]$ 比较, 差异有统计学意义($P = 0.043$)。从以上研究发现 EMs 患者的血液及腹腔液中的 VEGF-A 浓度均高于健康妇女, 但如果将 VEGF-A 作为临床 EMs 的诊断标志物, 仍需要对大量 EMs 患者及健康妇女的血液及腹腔液中 VEGF-A 的水平进行检测研究。

同时 Moety 等^[5]的研究还发现 61 例 EMs 患者(25 例为 I、II 期 EMs 患者, 36 例为 III、IV 期 EMs 患者)中, III、IV 期 EMs 患者腹腔液 VEGF-A 浓度 $[(3\ 926.1 \pm 3\ 421.8)\text{pg/mL}]$ 高于 I、II 期 EMs 患者 $[(2\ 047.5 \pm 1\ 059.6)\text{pg/mL}]$, 两者比较差异有统计学意义($P = 0.034$), 研究发现 EMs 患者的临床分期级别越高, 腹腔液 VEGF-A 浓度也越高。在临床工作中, 由于轻度 EMs 患者的诊断及分期在非手术的情况下仍缺乏高效且经济的诊断方法, 随着对血液、腹腔液及病灶组织中 VEGF-A 研究的深入, VEGF-A 可能会成为下一个用于 EMs 诊断的标志物, 并有助于对患者进行术前 EMs 分期评估。

2 EMs 患者 VEGF-A 基因多态性研究进展

人类的基因启动子区存在一些多态性位点, 这些多态性位点可能通过改变基因的转录活性影响蛋白的表达, 继而导致人类对疾病易感性的个体差异^[7-9]。一项研究通过对病理组织切片证实为 EMs 家庭的两代 4 个成员进行检测, 发现腹腔液 VEGF-A 水平均高于健康妇女, 表明 VEGF-A 基因的多态性可能是影响 EMs 易感性的原因^[10]。刘青等^[11]用聚合酶链反应(PCR)检测 344 例 EMs 患者(EMs 组)和 360 名健康妇女(对照组)的 VEGF-A 基因 2 个多态性位点的基因型频率分布情况, 结果表明-460C/T 多态的基因型和等位基因频率分布在 EMs 组与对

照组间差异均无统计学意义($P > 0.05$); 2 组-1154G/A 多态的 AA、GA、GG 3 种基因型频率分别是 1.7%、28.8%、69.5% 和 5.8%、32.8%、61.4%, 2 组比较差异有统计学意义($P = 0.006$); G、A 等位基因频率分别是 83.9%、16.1% 和 77.8%、22.2%, 2 组比较差异有统计学意义($P = 0.004$); 与 GA/AA 基因型相比, 携带 GG 基因型明显增加 EMs 的发病风险($OR = 1.43$)。但是 Zhao 等^[12]对澳大利亚 958 例家族遗传性 EMs 患者与 959 例健康妇女 VEGF-A 基因启动子区-460T/C, +405G/C, +936C/T 多态基因型的研究中并没有发现明显的证据证明 VEGF-A 基因的多态性导致 EMs 易感性的增加。另外在 Szczepańska 等^[13]对波兰 154 例 EMs 不孕患者和 385 例生育功能正常的妇女(对照组)的研究中也未发现-460T/C, +405G/C, +936C/T 的多态性与 EMs 导致的不孕有关。分析刘青等^[11]与 Zhao 等^[12]、Szczepańska 等^[13]结论不同可能是因为样本量不同以及种族差异而导致。

尽管目前国内外对 VEGF-A 基因多态性导致人群对 EMs 易感性差异的研究仍没有统一的结论, 但 VEGF-A 基因多态性仍有很大的研究价值。EMs 是一种受众多环境、遗传因素共同作用的疾病, 且具有家族聚集性。随着分子生物学技术的不断提高, 研究 DNA 上的多态位点, 可以了解 EMs 的发病机制, 并可以提早预防, 且将来针对导致 VEGF-A 高表达的序列可采用基因靶向治疗阻断 VEGF-A 的复制、转录等, 减少其生成, 不仅可以预防 EMs 的发生, 也可以为 EMs 患者提供另一种治疗途径。

3 VEGF-A 抑制剂治疗 EMs 的研究进展

异位子宫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 EMs 进展的基本条件, VEGF-A 是目前公认的最关键的促血管生成因子^[14], 因此对 VEGF-A 抑制剂的研究成为治疗 EMs 的重要研究方向。Yildiz 等^[15]使用帕唑帕尼、舒尼替尼、索拉非尼 3 种可以抑制血管生长的药物分别作用于 3 组 EMs 小鼠模型, 后经免疫组织化学处理及病理学检测后发现, 与未经药物处理的 EMs 小鼠模型相比, 3 种药物可以明显降低小鼠组织 EMs 的评分。Soysal 等^[16]的动物实验中一组使用能够与血管内皮特异性结合, 并能够抑制肿瘤血管生长的药物贝伐单抗作用于 EMs 小鼠模型, 另一组使用促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)作用于 EMs 小鼠模型, 贝伐单抗组子宫内膜异位面积减小 55.8%, GnRHa 组减小 56.19%, 未经处理的 EMs 小鼠模型

减小 6.2%, 贝伐单抗组与未经处理组比较差异有统计学意义($P < 0.001$), 贝伐单抗组和 GnRHa 组比较差异无统计学意义($P = 0.62$), 提示贝伐单抗能减少 EMs 病灶, 但不优于 GnRHa。两项研究都表明 VEGF-A 抑制剂在 EMs 动物模型上的应用效果显著, VEGF-A 抑制剂的研究也是 EMs 各方面研究中进展较快的一项。

另外 Xu 等^[17]将具有抗炎及抗血管生成作用的脂氧素 A(LXA4)用于 EMs 小鼠模型, 实验组异位病灶面积[(13.58±4.01)mm²]比未使用药物处理的对照组的异位病灶面积[(23.20±7.49)mm²]明显减小($P = 0.0002$); 研究还通过免疫组织化学检测 2 组 VEGF-A 的表达水平, 使用逆转录 PCR(RT-PCR)技术检测 VEGF-A mRNA 的表达水平, 结果也表明实验组 VEGF-A 及其 mRNA 的表达水平均明显低于对照组; Xu 等^[17]的研究结果除与 Yildiz 等^[15]和 Soysal 等^[16]的研究结果相印证之外, 还从分子水平解释了 VEGF-A 抑制剂在 EMs 小鼠模型中降低 VEGF-A 的表达, 进而减少内膜异位病灶面积的机制。

4 微小 RNA(miRNA)调控 VEGF 表达的研究进展

miRNA 是一种小型的非编码 RNA, 可作为转录后表达调控因子, 减少其目标 mRNA 的表达, 抑制其翻译或促进其降解。近年来在肿瘤、心血管等疾病的研究中, 均发现 miRNA 在病变组织中异常表达^[18-20]。miRNA 是近年来发现的重要的基因表达调控因子, 在许多疾病发展中发挥着重要作用^[21]。文献报道 miRNA 可以调控 VEGF-A 的表达, 进而调控血管的生成^[22]。所以在 EMs 的研究领域中有学者提出疑问, miRNA 是否可以通过调控 VEGF-A 的表达, 进一步调控 EMs 病灶的发生与发展。Liu 等^[23]研究表明, EMs 患者 miR-15a-15p 高表达, 同时 miR-15a-15p 的表达与 VEGF-A mRNA 的表达呈负相关。为研究 VEGF-A 的低表达是否由 miR-15a-15p 高表达引起, 研究中还使用 miR-15a-15p 类似物转染子宫内膜基质细胞, 结果证明转染后可下调 VEGF-A 表达。另外 Liu 等^[23]的研究还证明了 miR-15a-15p 类似物转染后是通过与 VEGF-A 基因上游非编码区结合来抑制 VEGF-A 表达。

但在其他学者的研究中并没有得出相同的结论。许晓月等^[24]通过检测 EMs 患者的卵巢 EMs 囊肿间质细胞与在位内膜间质细胞中 miR-15b、miR-17-5p、miR-222 和 VEGF mRNA 的表达, 分析 miRNA

对 EMs 血管形成的影响, 发现卵巢 EMs 囊肿间质细胞与在位内膜间质细胞比较, miR-17-5p 表达降低(0.81±0.11 vs. 1.71±0.32, $P = 0.007$), miR-222 表达升高(1.66±0.41 vs. 0.94±0.26, $P = 0.026$), miR-15b 的表达水平差异无统计学意义(2.91±0.61 vs. 1.43±1.18, $P = 0.068$)。但卵巢 EMs 囊肿细胞与正常子宫内膜细胞相比, VEGF-A mRNA 的表达水平差异无统计学意义(1.9±1.3 vs. 1.8±2.1, $P = 0.795$)。因此认为 miRNA 对 VEGF-A 的表达并没有调控作用。分析前后两位研究者结论不同的原因, 可能是不同 miRNA 调控 VEGF-A 的作用机制不同, 可能表现为促进作用, 也可能为抑制作用, 同时两位研究者均没有直接进行 VEGF-A 蛋白表达水平的检测。

5 其他调控 VEGF-A 表达通路的研究进展

关于调控 VEGF-A 表达的上下通路研究较多集中于肿瘤领域, 但在 EMs 的研究中也取得了一些进展。如在一些肿瘤的研究中证实转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)可以调控 VEGF-A 的表达^[25], 同样 Young 等^[26]使用人腹膜间皮细胞作为研究对象发现, TGF- $\beta 1$ 可以通过上调分化抑制因子 1(ID1)上调 VEGF-A 的表达。ID1 在 20 多种人类癌症中被证实过度表达, 因而被描述为致癌基因, 主要是基于 ID1 可以上调 VEGF-A 的转录, 进而促进血管生成^[27]。另外 Zhang 等^[28]在对异位及正常的子宫内膜细胞的研究中均发现雌激素与雌激素受体 α (ER α)结合, 作用于 β -catenin 基因启动子, 上调 β -catenin 的表达, β -catenin 再与 VEGF-A 的启动子结合上调 VEGF-A 的表达。两种通路都在一定程度上解释了 VEGF-A 的表达调控机制, 同时也为 EMs 的药物及基因靶向治疗提供了更多的思路。

6 展望

血管形成在 EMs 病理生理中起重要作用, VEGF-A 是调控血管生长的重要因子, 对 VEGF-A 的深入研究有助于揭示 EMs 的发病机制。将来 VEGF-A 有可能成为诊断 EMs 的重要标志物并广泛应用于临床, 使更多 EMs 患者受益。VEGF-A 抑制剂也可能成为临床治疗 EMs 的一类重要药物。对于 VEGF-A 基因多态性、miRNA 及其他通路调控 VEGF-A 表达的机制, 仍需要进行大量的研究才能更完整地揭示 EMs 的发病机制, 同时也将会使基因靶向治疗 EMs 成为可能。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症的诊治指南[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(3): 161-169.
- [2] 郎景和. 子宫内膜异位症研究的新里程 [J]. 中华妇产科杂志, 2005, 40(1): 3-4.
- [3] Gescher DM, Haensel A, Meyhöfer-Malik A, et al. The importance of angiogenesis for the pathogenesis of endometriosis [J]. Zentralbl Gynakol, 2003, 125(7/8): 243-246.
- [4] 汪沙, 段华. 子宫内膜异位症生物标志物的研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(5): 392-394.
- [5] Moety HA, Khalil GI, Sharkawy RME, et al. Non-invasive prediction of endometriosis revisited; 3 biomarkers as Angiopoietin -2, Interleukin-1 β and Vascular Endothelial Growth Factor [J]. Open J Obstet Gynecol, 2013, 3(7): 528-535.
- [6] Cho S, Choi YS, Jeon YE, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its soluble receptor-1 in endometriosis[J]. Microvasc Res, 2012, 83(2): 237-242.
- [7] Hubner RA, Houlston RS. Single Nucleotide Polymorphisms and Cancer Susceptibility [M]// The Molecular Basis of Human Cancer. New York: Springer, 2017.
- [8] Oldridge DA, Wood AC, Weichert -Leahey N, et al. Genetic predisposition to neuroblastoma mediated by a LMO1 super - enhancer polymorphism[J]. Nature, 2015, 528(7582): 418421.
- [9] Xu Q, Liu JW, Yuan Y. Comprehensive assessment of the association between miRNA polymorphisms and gastric cancer risk[J]. Mutat Res Rev Mutat Res, 2015, 763: 148-160.
- [10] Balasubramanian SP, Brown NJ, Reed MW. Role of genetic polymorphisms in tumour angiogenesis [J]. Br J Cancer, 2002, 87(10): 1057-1065.
- [11] 刘青, 李琰, 赵健, 等. VEGF 基因多态性与子宫内膜异位症和子宫腺肌病遗传易感性研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2009, 26(2): 165-169.
- [12] Zhao ZZ, Nyholt DR, Thomas S, et al. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and the risk of familial endometriosis [J]. Mol Hum Reprod, 2008, 14(9): 531-538.
- [13] Szczepańska M, Mostowska A, Wirstlein P, et al. Involvement of vascular endothelial growth factor -460 C/T, +405 G/C and +936 C/T polymorphisms in the development of endometriosis [J]. Biomed Rep, 2015, 3(2): 220-224.
- [14] Rocha AL, Reis FM, Taylor RN. Angiogenesis and endometriosis[J]. Obstet Gynecol Int, 2013, 2013: 859619.
- [15] Yildiz C, Kacan T, Akkar OB, et al. Effects of Pazopanib, Sunitinib, and Sorafenib, Anti-VEGF Agents, on the Growth of Experimental Endometriosis in Rats[J]. Reprod Sci, 2015, 22(11): 1445-1451.
- [16] Soysal D, Kızıldağ S, Saatlı B, et al. A novel angiogenesis inhibitor bevacizumab induces apoptosis in the rat endometriosis model [J]. Balkan J Med Genet, 2015, 17(2): 73-80.
- [17] Xu Z, Zhao F, Lin F, et al. Lipoxin A4 inhibits the development of endometriosis in mice: the role of anti -inflammation and anti - angiogenesis[J]. Am J Reprod Immunol, 2012, 67(6): 491-497.
- [18] Economou EK, Oikonomou E, Siasos G, et al. The role of microRNAs in coronary artery disease: From pathophysiology to diagnosis and treatment[J]. Atherosclerosis, 2015, 241(2): 624-633.
- [19] Cheng G. Circulating miRNAs: roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 81: 75-93.
- [20] Asiaf A, Ahmad ST, Arjumand W, et al. MicroRNAs in Breast Cancer: Diagnostic and Therapeutic Potential [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1699: 23-43.
- [21] Nothnick WB. MicroRNAs and Endometriosis: Distinguishing Drivers from Passengers in Disease Pathogenesis [J]. Semin Reprod Med, 2017, 35(2): 173-180.
- [22] Ramón LA, Braza -Boils A, Gilabert -Estellés J, et al. microRNAs expression in endometriosis and their relation to angiogenic factors [J]. Hum Reprod, 2011, 26(5): 1082-1090.
- [23] Liu XJ, Bai XG, Teng YL, et al. miRNA-15a-5p regulates VEGFA in endometrial mesenchymal stem cells and contributes to the pathogenesis of endometriosis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(16): 3319-3326.
- [24] 许晓月, 骆黎静, 魏薇. miR-15b, miR-17-5p, miR-222 对子宫内膜异位症血管形成的影响 [J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(12): 934-937.
- [25] Kaminska B, Wesolowska A, Danilkiewicz M. TGF beta signalling and its role in tumour pathogenesis [J]. Acta Biochim Pol, 2005, 52(2): 329-337.
- [26] Young VJ, Ahmad SF, Brown JK, et al. Peritoneal VEGF -A expression is regulated by TGF - β 1 through an ID1 pathway in women with endometriosis[J]. Sci Rep, 2015, 5: 1685.
- [27] Xie W, Li X, Ren G, et al. Expression and importance of inhibitor of DNA binding helix -loop -helix protein in salivary adenoid cystic carcinoma[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2010, 48(6): 434-437.
- [28] Zhang L, Xiong W, Xiong Y, et al. 17 β -Estradiol promotes vascular endothelial growth factor expression via the Wnt/ β -catenin pathway during the pathogenesis of endometriosis [J]. Mol Hum Reprod, 2016, 22(7): 526-535.

(收稿日期: 2017-10-19)

[本文编辑 王琳]