

一氧化氮合酶在子宫内膜癌组织中的检测及意义

叶海燕¹, 沙孝珍¹, 周忠江², 陈 劼¹, 冯华英¹, 林仲秋¹, 谭玉婷¹

(1. 中山医科大学孙逸仙纪念医院妇科, 广东 广州 510120; 2. 第一军医大学南方医院心内科, 广东 广州 510515)

摘要:【目的】检测正常子宫内膜、增生过长子宫内膜及子宫内膜癌组织中一氧化氮合酶(NOS)的活性比, 探讨 NOS 与子宫内膜癌间的关系。【方法】NOS 活性及蛋白含量均用美国 BACKMAN 公司的核酸及蛋白分析仪检测。【结果】子宫内膜癌组织中一氧化氮合酶含量显著增高($P < 0.01$), 而增生过长子宫内膜和正常子宫内膜相比 NOS 含量无显著差异($P > 0.05$), 子宫内膜癌组织中, 随分化程度的降低, NOS 含量增多($P < 0.001$), 与恶性程度呈正相关。【结论】一氧化氮合酶含量的增多可能是子宫内膜癌发生及生长过程中的一个值得注意的因素。子宫内膜癌组织中 NOS 增高可能是 NO 合成增多的原因之一。

关键词: 癌; 子宫内膜样; 一氧化氮合酶/检测

中图分类号: R737.33 文献标识码: A 文章编号: 100-257X(2001)06-0473-03

Detection and Significance of the Activity of Nitric Oxide Synthase in Endometrial Carcinoma Tissue

YE Hai-yan, SHA Xiao-zhen, ZHOU Zhong-jiang, CHEN Qing, FENG Hua-ying,
LING Zhong-qiu, TAN Yu-ting

(1. Department of Gynecology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen Medical University, Guangzhou 510120, China;
2. Department of Cardiology, Nanfang Hospital, the First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: 【Objective】To study the relationship between nitric oxide synthase (NOS) and endometrium neoplasm by comparing the activity of NOS in normal endometrium carcinoma tissue, endometrial hyperplasia and endometrium carcinoma tissue. 【Methods】Nucleic acid and protein analyzer were used to examine the activity of NOS. 【Results】The activity of NOS was significantly higher in endometrium carcinoma tissue than that in normal endometrium tissue and endometria hyperplasia tissue ($P < 0.05$). The activity of NOS increased with the low differentiating degree of the tumor ($P < 0.05$). 【Conclusion】The study suggests that NO produced by activated macrophagocytes in the tumor tissue may play a role of immunomodulation. The increase of NOS may be a factor which is to be emphasized in endometrium neoplasm.

Key words: endometrium carcinoma; nitric oxide synthase/detect

子宫内膜癌是妇科常见恶性肿瘤, 发病率呈逐年上升趋势, 晚期患者五年生存率无明显增加。随着一氧化氮(nitric oxide, NO)研究的逐渐深入, NO 与肿瘤生物学行为的关系亦倍受关注, NO 与子宫内膜癌的研究国内外报道甚少, 本研究通过检测正常子宫内膜、增生过长子宫内膜及子宫内膜癌

组织中一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)的比活性, 探讨 NOS 在子宫内膜癌发生、发展中的作用。

1 材料与方 法

收稿日期: 2001-08-23

基金项目: 中山医科大学孙逸仙纪念医院科研基金项目(F002000099)

作者简介: 叶海燕(1967-), 女, 湖北黄梅人, 在读硕士, 主治医师, 妇科肿瘤专业, 现在广东省人民医院妇产科(广州, 510080)。

©1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1.1 一般资料

1999年4月~2000年8月我院妇科住院手术病人,术后病理证实为子宫内膜癌者25例,其中高分化16例,中分化4例,低分化5例,年龄30~66岁,平均48.2岁。对照组25例为同期在我院妇科门诊手术室行诊断性刮宫的病人,经病理确诊为腺瘤型增生过长2例,腺囊型增生过长6例,轻度增生过长6例,增生期子宫内膜6例,分泌期子宫内膜5例,年龄30~61岁,平均42.9岁。

1.2 标本采集与处理

取手术患者子宫内膜组织,避开出血坏死部分,取下后立即置-85℃低温冰箱保存。取组织1.0g,剪碎,置玻璃匀浆器,加TEGM缓冲液1.5mL,研碎,UMIVER SL 16R型低温(4℃)离心机离心(15 650×g),5min,取上清-20℃保存待测。

1.3 观察指标

组织中NOS的测定:NOS催化L-精氨酸生成NO,NO与二价铁配合物(显色剂)形成有色物,在540nm波长处测其消光值大小,即代表NOS活性。NOS检测试剂盒购自南京聚力生物工程研究所。按试剂盒说明加样测吸光度A值,吸光度A值及组织蛋白浓度测定均采用美国BACKMAN公司生产的DU 600核酸及蛋白分析仪进行检测。

1.4 统计学处理

所有实验数据均用均数±标准差标示,用SPSS 8.0统计软件进行统计分析,3个组资料的比较采用方差分析F检验,组间比较采用LSD检验。

2 结果

2.1 内膜癌、增生过长及正常子宫内膜组织中 NOS 活性比较

内膜癌、增生过长及正常子宫内膜组织中NOS活性比较详见表1。

表1 内膜癌、增生过长及正常子宫内膜组织NOS活性
Table 1 The activity of NOS in endometrium carcinoma, endometria hyperplasia and normal endmetrium tissue ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	m/z (NOS)/(U·mg ⁻¹)
Endometrium carcinoma	25	20±8
Endometria hyperplasia	14	14±4 ¹⁾
Normal endmetrium	11	13±5 ²⁾

1) Compared with endometrial hyperplasia, P<0.05; 2) compared with normal endometrial, P<0.01

由表1可以看出,子宫内膜癌组织与增生过长子宫内膜组织相比,NOS活性差异有显著性(P<0.05),增生过长内膜组织NOS活性高于正常子宫内膜组织,但二者差异无统计学意义,子宫内膜癌组织与正常子宫内膜组织中NOS活性相比,有明显的统计学差异(P<0.01)。

2.2 子宫内膜癌组织中不同分化程度的 NOS 活性比较

子宫内膜癌组织中不同分化程度的NOS活性比较详见表2。

表2 子宫内膜癌组织中不同分化程度NOS活性
Table 2 The activity of NOS in of endometrium carcinoma with different differentiating degree ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	m/z (NOS)/(U·mg ⁻¹)
Low differentiation	5	25±4 ¹⁾
Moderate differentiation	4	23±5
High differentiation	16	17±8

1) Compared with high differentiation P<0.05

由表2可以看出,低分化组NOS活性最高,与中分化相比,二者差异无统计学意义,与高分化相比,二者差异有显著性(P<0.05),中分化与低分化相比,NOS活性虽高,二者差异亦无统计学意义。

3 讨论

一氧化氮(NO)是由一氧化氮合酶(NOS)催化L-精氨酸(L-Arg)而生成的一种无机气体。自20世纪80年代被发现以来,作为信使、介质和细胞功能调节因子,参与体内众多的生理和病理过程^[1]。Science杂志1992年将其评为明星分子,以突出其生物重要性^[2]。NO作为一种介质,在形成有致癌作用的亚硝酸盐、DNA损伤和炎症有关的基因突变方面具有重要作用。NO在生理条件下起着有益和有害的双重作用,NO持续高浓度地存在于慢性炎症组织中,可损伤DNA并导致基因突变和癌症^[3]。NOS是其生物合成的关键酶,存在于人体很多细胞中。NOS分为3型:内皮型(eNOS)、神经型(nNOS)、和诱生型(iNOS)。前两型在正常生理情况下就处于转录、翻译、和催化NO合成状态,iNOS在正常生理情况下不表达,主要产生于巨噬细胞(MΦ)、炎性中性粒细胞、组织中的免疫细胞和胰岛等。只有当其被内毒素、细胞因子等激活时才表达iNOS的mRNA,再翻译成iNOS,iNOS需形

成二聚体才有活性,其催化NO合成不需Ca²⁺/钙调素的参与,iNOS可以催化L-Arg产生大量的NO^[1,4,5]。

随着NO研究的深入,NO与肿瘤生物学行为以及NO在抗肿瘤中的作用日益受到关注。研究资料显示NOS在许多肿瘤细胞中广泛表达,如,神经细胞瘤、结肠腺癌、卵巢癌、肺的鳞状细胞癌等^[5]。NOS在肿瘤生物学中的作用,仍知道的较少,但在一些原发性肿瘤组织中,这种酶的活性与肿瘤恶性程度呈正相关。人乳腺癌中,eNOS和nNOS以及NO的生物合成,在浸润导管恶性肿瘤中,III级分化的肿瘤NO生物合成明显高于II级分化的肿瘤^[6]。

本文研究结果显示,子宫内膜癌组织中NOS活性明显高于增生过长子宫内膜组织及正常子宫内膜组织,而且随着分化程度的降低NOS活性呈升高趋势,说明子宫内膜癌的发生可能和NOS活性增高有关,NOS活性的升高和肿瘤的恶性程度有关。这和Thomsen^[6]的研究结果相似。他对36例卵巢癌和5例交界性卵巢肿瘤组织细胞提取液进行了NO及NOS测定,并与其生物学行为进行了研究,分析表明NOS和肿瘤分化程度有重要关系($P=0.014$),并用精氨酸转化法进行了NOS活性测定,发现中分化、低分化和未分化肿瘤组织中iNOS含量远远高于良性、交界性及高分化肿瘤,后者几乎测不到^[7]。美国学者Bentz^[8]用抗ecNOS单克隆抗体染色方法研究了内皮构成型NOS(ecNOS)在内膜癌中的表达,研究发现在内膜癌中ecNOS广泛表达,在胞浆和胞核中尤为突出,且在内膜癌不同组织学类型中构成型一氧化氮合酶(ecNOS)染色的频度和强度无统计学差异,而内膜肿瘤侵袭肌层厚度超过1/2的有18例,比那些侵袭肌层厚度不超过1/2($n=27$)在细胞浆中有明显

高表达($P<0.04$)。生存率减少有关。最后认为ecNOS染色强度的增加和侵袭转移程度相关,和生存率减少有关^[8]。这些结论与本研究结果相一致。

虽然已有很多实验检测到肿瘤细胞株及组织标本中高水平的NO,但NO对肿瘤细胞生物学行为的作用机制仍未明了,NO与肿瘤的生物学行为及与子宫内膜癌的发生、发展及生物学行为的关系还有待我们在今后进行更进一步的研究。

参考文献:

- [1] Moncada S, Palmer R M, Higgs E A, *et al.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. *Pharmacological Reviews*, 1991, 43(2): 109.
- [2] Vallance P, Moncada S. Nitric oxide: from mediator to medicine[J]. *J Roy Coll Phys*, 1994, 28(1): 209.
- [3] Ohshima H, Bartsch H. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis[J]. *Mutat Res*, 1994, 305(2): 253.
- [4] Angard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine[J]. *Lancet*, 1994, 343(8907): 1199.
- [5] Sagar S M, Singh G, Modson D F, *et al.* Nitric oxide and anticancer therapy[J]. *Cancer Treat Rev*, 1995, 21(2): 159.
- [6] Thomsen L L, Milles D W, Happerfield L, *et al.* Nitric oxide synthase activity in human breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 1995, 72(1): 41.
- [7] Lindy L, Thomsen J M, Sargent J M, *et al.* Nitric oxide synthase activity in fresh cells from ovarian tumour tissue: relationship of enzyme activity with clinical parameters of patients with ovarian cancer[J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, 15(10): 1365.
- [8] Bentz B G, Barnes M N, Haines G K, *et al.* Cytoplasmic localization of endothelial constitutive nitric oxide synthase in endometrial carcinomas[J]. *Tumour Biol*, 1997, 18(5): 290.

(编辑 张恩健)

·简讯·

首届全国中青年神经病学学术会议在广州召开

由中山医科大学承办的首届全国中青年神经病学学术会议于2001年9月19~23日在广州市的广东大厦胜利召开。这次会议是我国中青年神经病学工作者的首次全国性学术盛会。大会的组织委员会由国内各大医院优秀的中青年神经病学专家所组成。中山医科大学附属第一医院神经科主任张成教授担任大会主席。来自国内各省、自治区、直辖市、香港以及美国、法国等地海外华人的300多名代表参加了本次会议。本次会议共收到来稿500多篇,内容涉及神经病学各领域的基础和临床研究。会议包括专题报告、大会发言、分会场发言、卫星会议等。会议期间,专家们还分析了我国神经病学研究的优势和存在的问题,讨论了我国神经病学今后的发展方向,这将进一步推进我国神经病学事业向着更高的目标迈进。

(苏全喜,张成)