

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.08.001

❖ 基础研究 ❖

基于 EphA1/EphrinA1 反馈环的表达探讨 BrMC 调控子宫腺肌病的机制

郑小妹, 林叶飞, 张韶琼, 杨洁, 陈曼玲

(海南医学院第一附属医院妇科, 海南 海口 570100)

【摘要】目的: 探究肝配蛋白 A 受体 1 (EphA1) 及其配体 (EphrinA1) 在子宫腺肌病 (AM) 患者相关组织中的表达情况, 并观察 8-溴-7-甲氧基白杨素 (BrMC) 处理对子宫腺肌细胞的影响。**方法:** 采用 HE 染色对 AM 患者子宫肌层异位内膜组织、非异位内膜组织及子宫肌瘤患者正常内膜组织的形态学变化进行观察; 采用免疫组织化学染色检测 3 种组织中 EphA1 与 EphrinA1 表达情况; 分离并培养子宫腺肌细胞, 分别使用浓度为 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 的培养基处理细胞, 采用 MTT 法检测不同处理时间后细胞存活率, 处理培养 48 h 后收集细胞, 采用 TUNEL 染色与 Annexin V-FITC/PI 法检测细胞凋亡; 采用细胞划痕实验检测细胞迁移; 采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测细胞中 EphA1、EphrinA1 mRNA 与蛋白的表达水平。**结果:** AM 患者异位和非异位子宫内膜组织中 EphA1、EphrinA1 表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$); 经鉴定发现成功分离子宫腺肌细胞, 波形蛋白与 α -平滑肌肌动蛋白均表达; 经不同浓度 BrMC 处理后, 与对照组比较, 各处理组子宫腺肌细胞存活率下降, 凋亡率增加, 细胞迁移率降低; 细胞内 EphA1、EphrinA1 的 mRNA 与蛋白相对表达量降低 ($P < 0.05$)。**结论:** EphA1 与 EphrinA1 在子宫腺肌病内膜组织中表达水平升高, 经 BrMC 处理子宫腺肌细胞后, 抑制了细胞生长、迁移并促进细胞凋亡, 其机制可能与调控 EphA1/EphrinA1 反馈环相关。

【关键词】 子宫腺肌病; 8-溴-7-甲氧基白杨素; EphA1; EphrinA1

【中图分类号】 R711.71 **【文献标志码】** A

Based on the expression of EphA1/EphrinA1 feedback loop to explore the regulation mechanism of BrMC on adenomyopathy

ZHENG Xiao-mei, LIN Ye-fei, ZHANG Shao-qiong, YANG Jie, CHEN Man-ling

(Department of Gynecology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570100, Hainan, China)

【Abstract】Objective: To explore the expression of Ephrin A receptor 1 (EphA1) and its ligand (EphrinA1) in related tissues of patients with adenomyosis (adenomyosis, AM), and observe the effect of 8-bromo-7-methoxy (BrMC) treatment on uterine adenomyosis cells. **Methods:** HE staining was used to observe the morphological changes of ectopic endometrial tissue, non-ectopic endometrial tissue in AM patients and normal endometrial tissue in uterine fibroids patients, and immunohistochemical staining was performed to detect EphA1 and EphrinA1 expressions in the three tissues. Adenomyocytes were isolated and cultured, and treated with medium containing 2.5, 5.0 and 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BrMC, respectively, MTT method was used to detect cell survival rate after different treatment time, after 48 h, TUNEL staining and Annexin V-FITC/PI method were used to detect cell apoptosis, cell scratch test was used to detect the cell migration, real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot detection of the expression levels of EphA1, EphrinA1 mRNA and protein in the cells. **Results:** The expression levels of EphA1 and EphrinA1 in the endometrial tissue of ectopic and non-ectopic AM patients were higher than those in the control group ($P < 0.05$). After identification, it was found that uterine muscle cells were successfully isolated, and both vimentin and α smooth muscle actin were clearly expressed. After treatment with different concentrations of BrMC, compared with the control group, the survival rate of adenomyosis cells in each treatment group decreased, the apoptosis rate increased, and the cell migration rate decreased, at the same time, intracellular the relative expressions of EphA1 and EphrinA1 mRNA and protein were reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of EphA1 and EphrinA1 increased in endometrial tissue of adenomyosis, after BrMC treatment of adenomyosis, it inhibited cell growth, migration and promoted cell apoptosis, the mechanism may be related to the regulation of EphA1/EphrinA1 feedback loop.

【Key words】 Adenomyosis; 8-bromo-7-methoxychrysin; EphA1; EphrinA1

基金项目: 海南省卫生健康行业科研项目(21A200064)

作者简介: 郑小妹(1983-), 女, 硕士, 副主任医师。E-mail: zhengxiaomei570100@163.com

通讯作者: 陈曼玲。E-mail: cml666@163.com

子宫腺肌病(adenomyosis, AM)被定义为子宫内
膜向肌层良性浸润,随后弥散性生长的现象,临床表
现为经量过多、痛经、慢性盆腔疼痛、怀孕后胎停与
流产等,严重威胁着全世界妇女的健康^[1-2]。目前,
AM 发病机制尚未明确,诊断主要依靠超声检查和
磁共振成像检查及病理检查,但由于缺乏一致认可的
术语和对病灶分类的共识,其诊断受到了一定的
阻碍^[3]。此外,尽管以往已有多项研究试图解释
AM 的发病机理,但是具体的分子机制仍然尚未完
全明确。由于其具有异位病灶增殖速度快及向其他
组织转移的特点,难以在早期诊断出来,所以多数患
者只能选择在后期进行全子宫切除术。

Eph 受体酪氨酸激酶家族是各种细胞功能的关键
调节剂,包括增殖、分化、炎症、细胞内信号传导
等。EphA1 属于受体酪氨酸激酶家族成员,EphrinA1
是酪氨酸激酶受体的配体之一,EphA1/EphrinA1
反馈环参与了血管生成及肿瘤的发生发展等过程^[4-6],
其在多种肿瘤及其他疾病中的作用研究也
受到了广泛关注,但是否与 AM 有关尚不清楚。白
杨素是一种广泛存在于多种植物中的黄酮类化合
物,具有广泛的生物活性。越来越多的研究^[7-9]表
明,白杨素可能在心血管、糖尿病、神经系统、代谢和
肿瘤疾病中均发挥一定的作用。此外,有研究^[10]表
明,白杨素能够抑制多种肿瘤细胞生长并诱导其发
生凋亡。8-溴-7-甲氧基白杨素(8-bromo-7-methoxy-
chrysin, BrMC)是白杨素的一种衍生物,其对肿瘤细
胞的作用效果要优于白杨素。本研究欲检测 EphA1、
EphrinA1 在子宫腺肌病内膜组织中的表达,进
一步分离子宫腺肌细胞通过体外实验探讨 BrMC 对
子宫腺肌病的作用及对 EphA1/EphrinA1 轴的影响。

1 材料与方 法

1.1 一般资料

选取 2018 年 6 月至 2020 年 12 月在海南医学
院第一附属医院进行子宫切除术治疗的 40 例 AM
患者为研究对象(研究组),年龄(43.28 ± 4.06)岁。
分泌期 24 例,增殖期 16 例,收集所有患者的子宫肌
层异位内膜组织和非异位内膜组织。另选取 40 例
同期在医院进行全子宫切除术的子宫肌瘤患者正
常子宫内膜组织为对照组,年龄(44.82 ± 4.69)岁。
将获取的各组子宫内膜组织迅速置于液氮中冷冻,
保存于 -80 °C。排除近期接受激素类药物治疗、其
他恶性肿瘤与疾病的患者。

1.2 材料与试剂

BrMC(长沙市中心医院实验室),胎牛血清(南
京维森特生物公司),DMEM 培养基、山羊血清和胰

蛋白酶(美国 Sigma 公司),HE 染色试剂、免疫组化
染色试剂和 MTT 试剂(南京凯基生物公司),TUNEL
细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德生物公司),An-
nexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(北京康为世
纪公司),Trizol 试剂(南京诺唯赞公司),反转录试
剂盒(上海生工生物工程公司),实时荧光定量 PCR
试剂盒(日本 Takara 公司),Bradford 蛋白检测试
剂盒和 PVDF 膜(上海碧云天生物研究所),兔抗人
Vimentin、 α -SMA、EphA1、EphrinA1 多克隆抗体(英
国 Abcam 公司),鼠抗人 β -actin 多克隆抗体和辣根
过氧化物酶标记的山羊抗兔(北京中杉金桥)。

1.3 方 法

1.3.1 HE 染色 将不同来源的子宫内膜组织样
本置于 4% 多聚甲醛中,固定 24 h,常规石蜡包埋,
制备约 4 μ m 的组织切片。取切片置于二甲苯脱
蜡,梯度酒精再脱水,进行 HE 染色。结束后流水冲
洗,脱水,透明,封片,在光学显微镜下观察组织形
态变化并拍摄图像。

1.3.2 免疫组织化学染色 取子宫内膜组织切片
放置于烤箱内高温处理 1 h,脱蜡脱水,柠檬酸钠修
复抗原,0.3% 过氧化氢液孵育 10 min,10% 山羊血
清封闭,以兔抗人 EphA1 多克隆抗体(1:100)与兔
抗人 EphrinA1 多克隆抗体(1:100)作为一抗,4 °C
孵育过夜;第 2 天,PBS 冲洗干净,加入对应的二抗
(1:1 000),室温孵育 1 h。采用 DAB 显色和苏木精
复染后,脱水,透明,封片,在光学显微镜下观察组
织染色情况。

1.3.3 子宫腺肌细胞的原代培养与鉴定 将 AM
患者的子宫内膜组织在无菌超净工作台上剪成大小
为 1 mm × 1 mm × 1 mm 的组织块,加入 0.1% I 型
胶原酶,置于 37 °C 培养箱孵育 6 h,添加 10% 胎牛
血清的 DMEM 培养基,筛网过滤,以 1 000 r/min 离
心 10 min,弃上清,重复 3 次;再以含 10% 胎牛血
清的 DMEM 培养基重悬沉淀,进行常规培养。待细胞
生长至铺满培养瓶底时,使用 0.25% 胰蛋白酶消
化、传代。通过倒置显微镜观察不同时间段的细胞
形态。调整细胞密度为 1×10^5 个/mL,接种在 12 孔
板中,进行爬片处理,PBS 冲洗,4% 多聚甲醛固定,
0.5% Triton X-100 孵育 20 min,PBS 清洗,0.3% 过
氧化氢孵育 10 min,PBS 再次清洗,5% 胎牛血清液
封闭 30 min,以兔抗人 Vimentin 多克隆抗体
(1:200)与兔抗人 α -SMA 多克隆抗体(1:200)作为
一抗,4 °C 孵育过夜;次日弃一抗工作液并清洗,加
入对应的二抗(1:500),室温孵育 1 h。采用 DAB 显
色和苏木素复染,滴加蒸馏水终止反应,取出爬片,脱
水,透明,封片,在光学显微镜下观察细胞染色情况。

1.3.4 细胞分组与处理 将 1.3.3 培养的子宫腺肌细胞调整密度为 1×10^5 个/mL, 吸取 100 μ L 植入 96 孔板中, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱过夜培养。将细胞分为对照组、2.5、5.0 和 10.0 μ mol/L BrMC 组。对照组细胞正常培养; 不同浓度 BrMC 组细胞分别使用含终浓度为 2.5、5、10 μ mol/L BrMC 的培养基培养, 每组设置 6 个复孔。48 h 后收集细胞, 用于后续 1.3.5-1.3.9 的实验研究。

1.3.5 MTT 法 将子宫腺肌细胞按照 1.3.4 进行分组, 并添加不同浓度 BrMC (2.5、5、10 μ mol/L) 后, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱培养, 分别在培养 24、48 及 72 h 时, 每细胞孔中加入 20 μ L MTT, 接着置于培养箱内孵育 4 h, 弃去培养液, 吸取 150 μ L DMSO 加入细胞孔内, 摇床振荡, 观察到蓝紫色结晶充分溶解后停止, 采用酶标仪测定各反应孔在 490 nm 处的 OD 值, 计算各处理组细胞存活率, 细胞存活率 (%) = OD 值实验组/OD 值对照组 $\times 100\%$ 。

1.3.6 TUNEL 染色 收集各组子宫腺肌细胞, PBS 洗涤细胞, 4% 多聚甲醛固定, 0.3% Triton X-100 孵育 5 min, 加入 TUNEL 检测液后, 放在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱内避光孵育 1 h, PBS 洗涤, 进行涂片。在荧光显微镜观察细胞染色情况, 随机选择 6 个视野, 统计视野下 TUNEL 阳性细胞与总细胞数目, 计算 TUNEL 阳性率, TUNEL 阳性率 (%) = TUNEL 阳性细胞/总细胞数目 $\times 100\%$ 。

1.3.7 流式细胞术 采用 0.25% 胰蛋白酶消化各处理组子宫腺肌细胞, PBS 洗涤后加入 binding buffer 重悬, 调整密度为 1×10^6 个/mL, 吸取 100 μ L 细胞悬液移入洁净流式管内, 加入 10 μ L Annexin V-FITC 试剂液, 涡旋混匀, 再加 5 μ L PI 染液混匀, 室温下避光孵育 10 min, 立即通过流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.3.8 细胞划痕实验 使用记号笔在 6 孔板后均匀画线, 隔 0.5 cm 画一道, 将各处理组子宫腺肌细胞分别按 5×10^5 个/孔的密度接种于画线后的培养板内, 放于 5% CO_2 、37 $^{\circ}$ C 恒温箱内孵育过夜。次日取出培养板, 使用无菌移液枪枪头画线, 尽量垂直于培养板底部, PBS 轻轻洗去划痕下细胞。继续培养

24 h 后, 取出培养板, 观察划痕愈合情况并拍照, Image J 软件分析, 计算细胞划痕愈合率, 细胞划痕愈合率 (%) = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.3.9 RT-qPCR Trizol 法提取各处理组子宫腺肌细胞总 RNA, 经反转录合成 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 法测定各样品中 EphA1、EphrinA1 在 mRNA 水平上的表达变化, 按照试剂盒说明书配制反应体系, 在定量检测系统上设置合理化扩增程序, 进行扩增反应。结束后, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 EphA1、EphrinA1 的 mRNA 相对表达量, 以 β -actin 作为标准化内参, 实验重复 3 次。

1.3.10 Western blot 使用 RIPA 蛋白裂解液提取各处理组子宫腺肌细胞总蛋白, Bradford 法检测蛋白浓度。将蛋白样品与适量缓冲液混合, 加热至 100 $^{\circ}$ C 煮沸变性。制备 10% SDS-PAGE, 待胶凝固后, 将等量样品上样至胶孔, 电泳分离蛋白并转至 PVDF 膜, 将膜浸入 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 再与兔抗人 EphA1 多克隆抗体 (1:1 000)、兔抗人 EphrinA1 多克隆抗体 (1:1 000) 共置于 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜; 次日弃去一抗工作液, 加入对应二抗 (1:5 000), 室温孵育 1 h。ECL 显色, 利用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 23.0 及 Graphpad Prism 8.30 软件对数据进行统计分析。计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同子宫内膜组织形态学和 EphA1 与 EphrinA1 表达情况比较

光镜下正常子宫内膜组织结构完整, 子宫组织无内膜浸润; 异位子宫肌层内可见子宫内膜腺体和子宫内膜间质分布, 周围有肥厚的平滑肌, 子宫组织内膜浸润; 非异位子宫组织内膜浸润, 病灶处于炎症病理状态。见图 1。

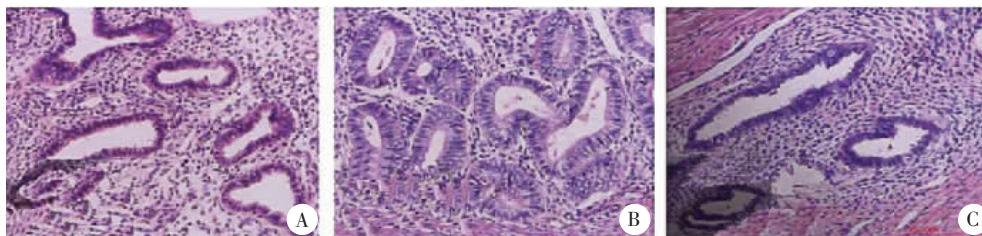


图 1 HE 染色观察不同子宫内膜组织形态学 (100 \times)

A. 正常子宫内膜组织; B. 子宫肌腺病异位子宫内膜组织; C. 子宫肌腺病非异位子宫内膜组织。

免疫组织化学染色检测不同子宫内膜组织中 EphA1 与 EphrinA1 表达, 相较于正常子宫内膜组织,

EphA1 与 EphrinA1 在子宫腺肌病异位和非异位子宫内膜组织中的阳性表达率均升高 ($P < 0.05$)。见图 2。

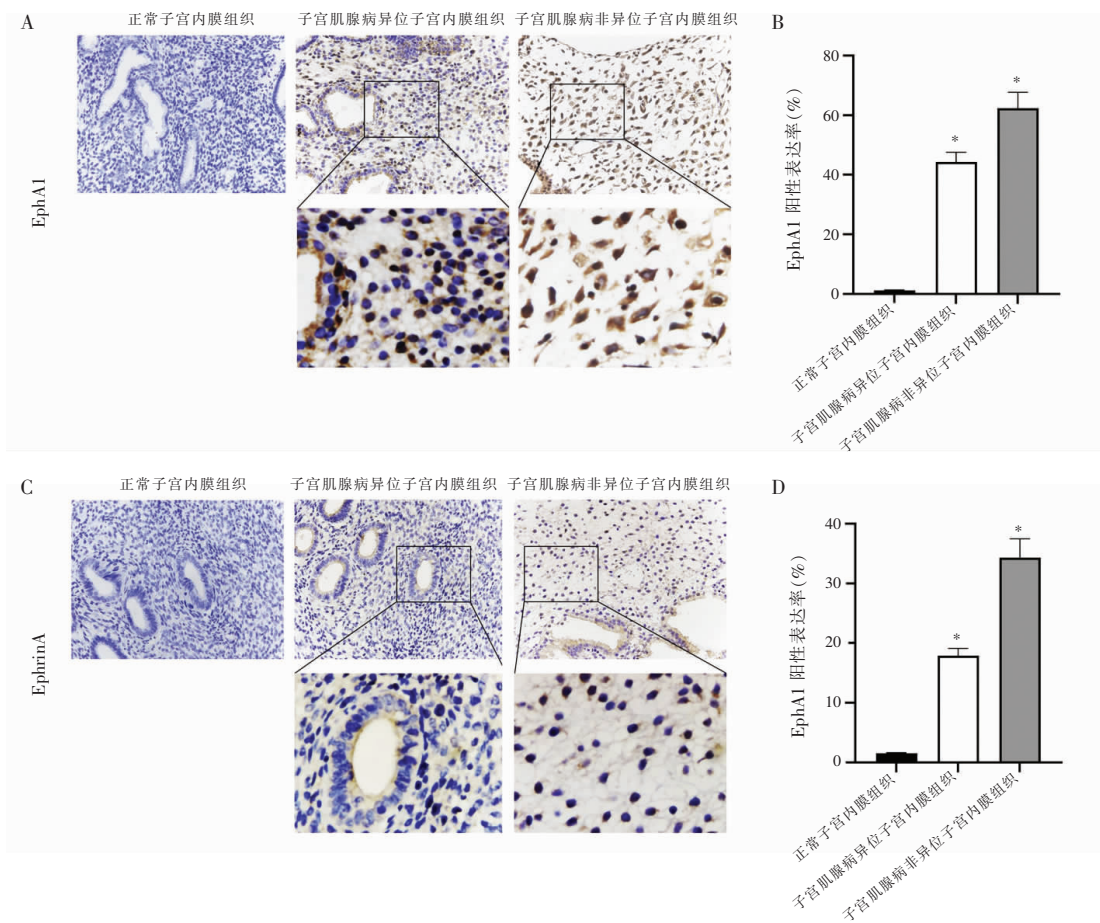


图 2 免疫组织化学染色检测不同子宫内膜组织中 EphA1 与 EphrinA1 表达

A. 不同子宫内膜组织中 EphA1 染色结果图(100x); B. 不同子宫内膜组织中 EphA1 阳性表达率比较; C. 不同子宫内膜组织中 EphrinA1 染色结果图(400x); D. 不同子宫内膜组织中 EphrinA1 阳性表达率比较。* $P < 0.05$, 与正常子宫内膜组织比较。

2.2 子宫腺肌细胞的观察与鉴定

培养 5 d 后, 通过倒置显微镜观察到间质细胞呈直状梭形排列。通过免疫细胞化学法鉴定到波形

蛋白与 α -平滑肌肌动蛋白均表达于细胞内, 由此说明原代培养的细胞为子宫腺肌细胞。见图 3。

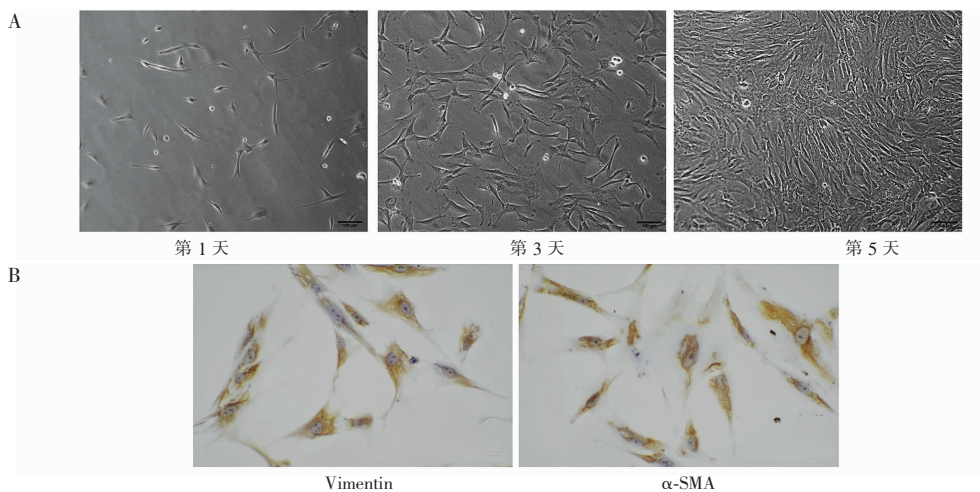


图 3 子宫腺肌细胞观察与鉴定

A. 倒置显微镜观察子宫腺肌细胞形态(100x); B. 免疫细胞化学染色检测波形蛋白(Vimentin)与 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达(200x)。

2.3 BrMC 处理后对子宫腺肌细胞存活率的影响

MTT 检测显示,在经过不同浓度 BrMC (2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$) 处理后,在 24、48 和 72 h 时,检测到子宫腺肌细胞存活率均较对照组的存活率下降 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 BrMC 处理后对子宫腺肌细胞凋亡的影响

TUNEL 染色结果显示,各组子宫腺肌细胞的 TUNEL 阳性率比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较,2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 组的子宫腺肌细胞 TUNEL 染色细胞数目均增加,TUNEL 阳性率均升高 ($P < 0.01$)。见图 4。流式细胞术检测结果显示,2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 组的子宫腺肌细胞凋亡率均大于对照组 ($P < 0.05$)。见图 5。

表 1 不同浓度 BrMC 处理后不同时间点的子宫腺肌细胞存活率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6, \%$)

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	98.34 \pm 9.12	98.06 \pm 9.37	96.81 \pm 9.32
LBrMC ($\mu\text{mol/L}$)			
2.5	92.56 \pm 8.87 *	85.56 \pm 8.25 *	78.34 \pm 7.54 *
5	88.34 \pm 8.46 *	79.34 \pm 7.11 *	68.34 \pm 6.37 *
10	81.34 \pm 8.08 *	70.34 \pm 6.98 *	57.34 \pm 5.49 *
F 值	214.056	305.674	378.561
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* $P < 0.05$, 与对照组比较。

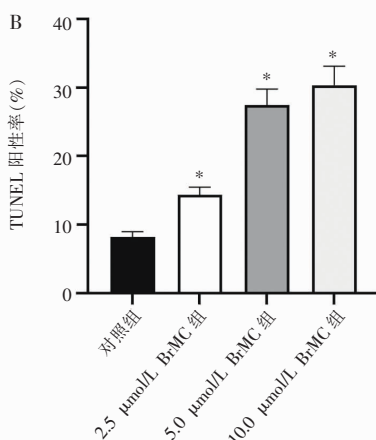
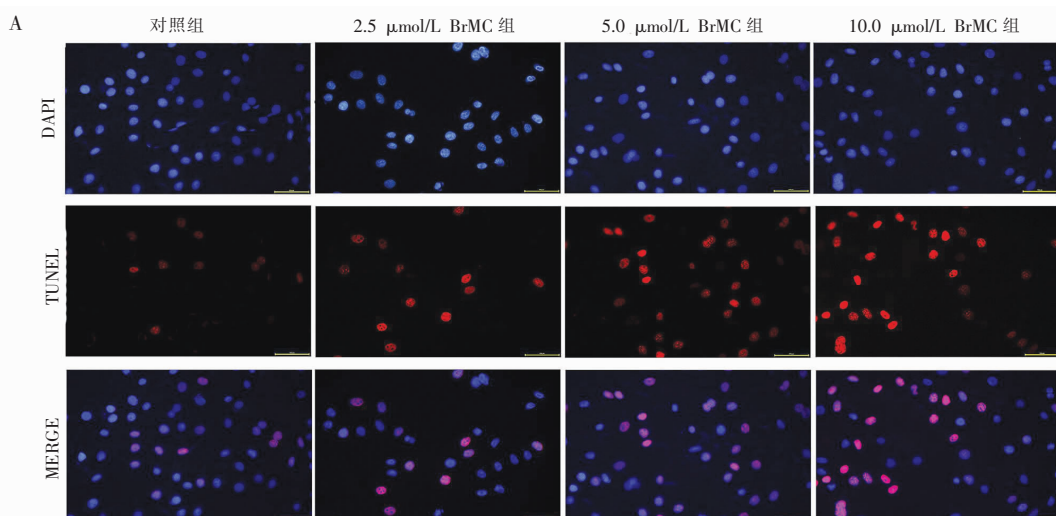


图 4 TUNEL 染色检测子宫腺肌细胞凋亡

A. 各组子宫腺肌细胞 TUNEL 染色结果图; B. 各组子宫腺肌细胞 TUNEL 阳性率统计比较。* $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.5 BrMC 处理后对子宫腺肌细胞迁移的影响

细胞划痕实验检测各处理组子宫腺肌细胞的迁移能力,与对照组比较,2.5 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 组、5 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 组和 10 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 组的子宫腺肌细胞划痕愈合率均减小 ($P < 0.05$)。见图 6。

2.6 BrMC 处理后对子宫腺肌细胞 EphA1/EphrinA1 表达的影响

RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示,经过 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ BrMC 处理后的子宫腺肌细胞中,EphA1、EphrinA1 mRNA 与蛋白的相对表达量均下调 ($P < 0.05$)。见图 7 及图 8。

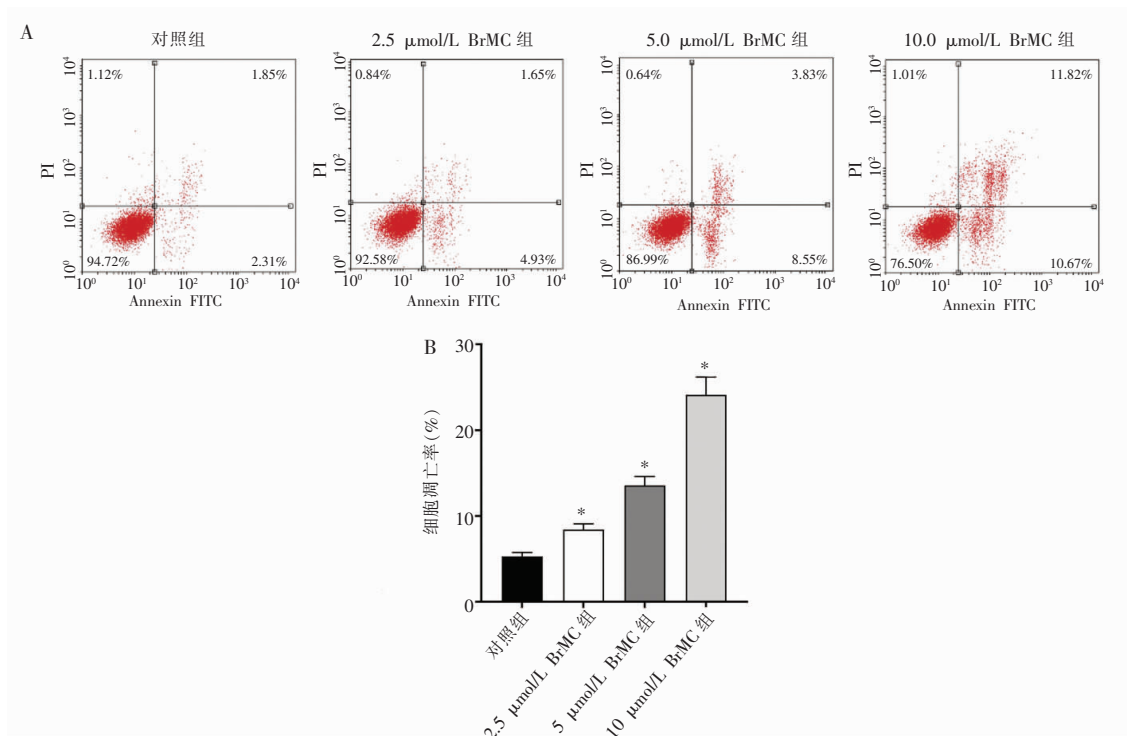


图 5 流式细胞术检测子宫腺肌细胞凋亡

A. 各组子宫腺肌细胞流式细胞术检测结果图; B. 各组子宫腺肌细胞凋亡率比较。* $P < 0.05$, 与对照组比较。

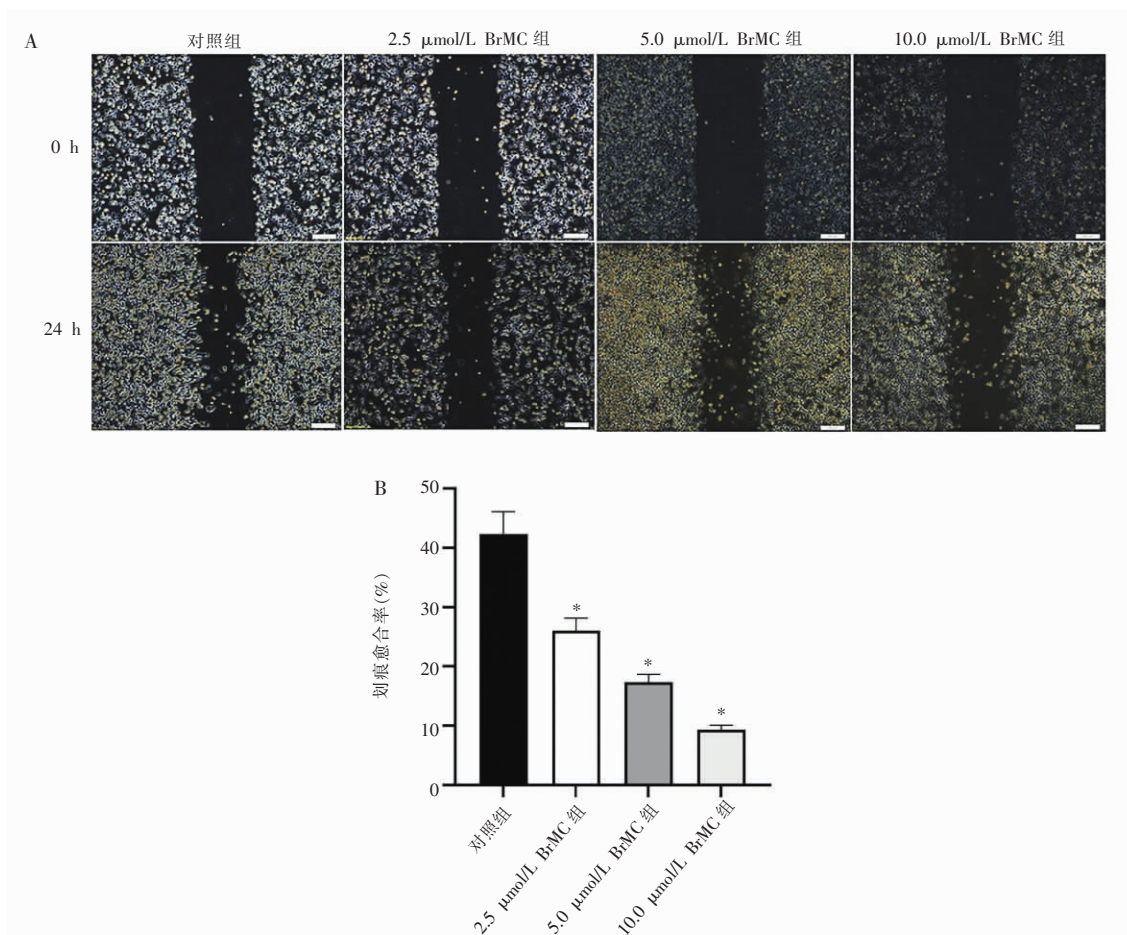


图 6 细胞划痕实验检测子宫腺肌细胞迁移

A. 各组子宫腺肌细胞划痕愈合检测结果图; B. 各组子宫腺肌细胞划痕愈合率比较。* $P < 0.05$, 与对照组比较。

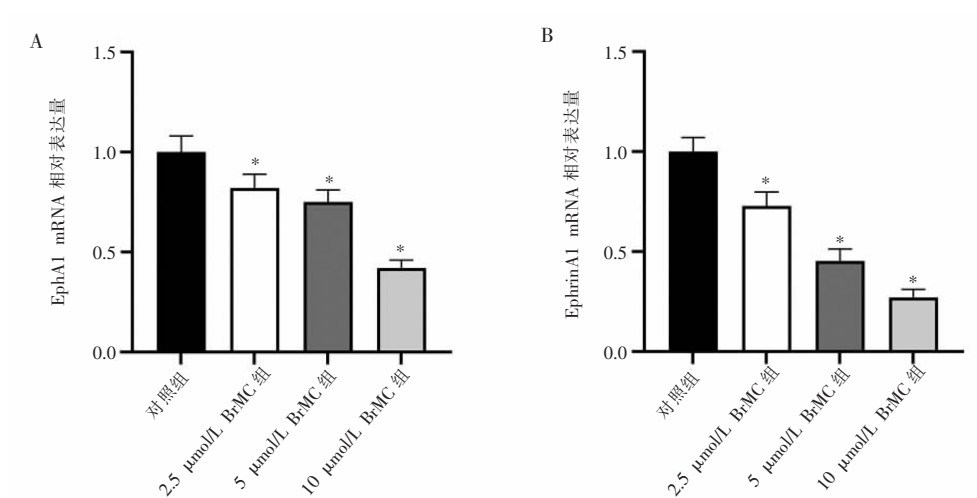


图7 实时荧光定量 PCR 子宫腺肌细胞 EphA1 与 EphrinA1 mRNA 表达

A. 各组子宫腺肌细胞中 EphA1 mRNA 表达量统计比较;B. 各组子宫腺肌细胞中 EphrinA1 mRNA 表达量统计比较。* $P < 0.05$,与对照组比较。

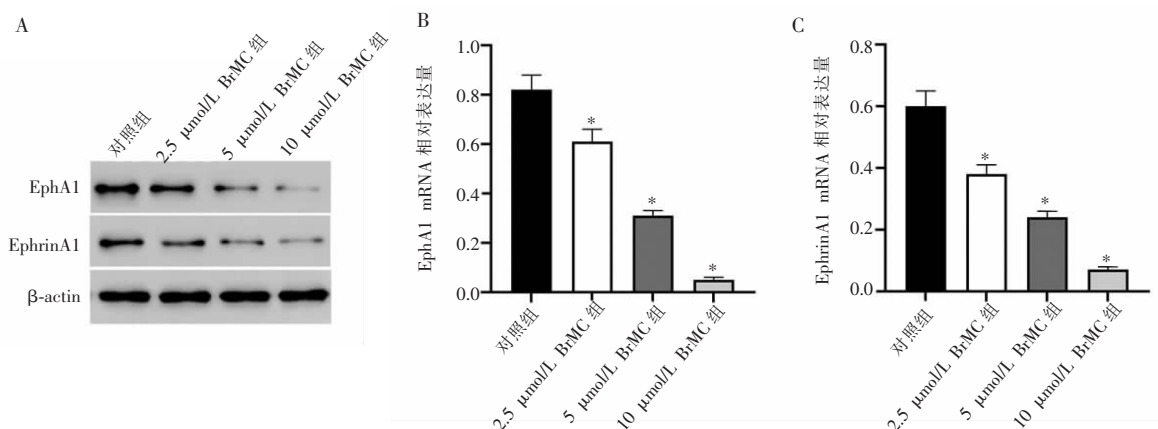


图8 Western blot 检测子宫腺肌细胞 EphA1 与 EphrinA1 蛋白表达

A. 各组子宫腺肌细胞中 EphA1、EphrinA1 蛋白条带检测结果图;B. 各组子宫腺肌细胞中 EphA1 蛋白表达量统计比较; C. 各组子宫腺肌细胞中 EphrinA1 蛋白表达量统计比较。

3 讨论

子宫腺肌病是女性常见的一种慢性妇科疾病,患者会出现月经不调和进行性痛经等症状。子宫腺肌病具有某些类似于肿瘤的特性,体现为异常的增殖、侵袭和迁移。子宫腺肌病与子宫内膜异位症具有相似的病因,子宫内膜异位症是由功能性子宫内膜组织定位并在子宫腔外生长所引起的。然而,子宫腺肌症始于子宫内膜和子宫肌层之间边界的破坏,子宫内膜组织和腺体进入子宫肌层,导致子宫肌层肥大和增生^[2]。虽然使用药物进行保守治疗,如促性腺激素释放激素激动剂和曼月乐均已显示出治疗症状性子宫腺肌病的某些临床优势,但仍然有一些患者在使用药物治疗后出现持续性异常症状和加重的痛经,而最终不得不进行子宫切除术^[11],这使得患者遭受到身心创伤,因此,迫切需要开发新颖有效的子宫腺肌病治疗方法。

目前,BrMC 的抗肿瘤作用及机制已被逐渐揭

示。曹晓正等^[12]的研究表明,BrMC 能够逆转人宫颈癌 SiHa 细胞系球形成细胞的上皮-间质转化作用;孙姝雯等^[13]研究发现 BrMC 逆转肝癌干样细胞活化的 THP-1 源性肿瘤相关巨噬细胞诱导静脉内皮细胞 HUVEC-12 细胞管结构的形成,并减少 VEGF 的分泌。本研究显示,在经过 BrMC 处理后,与对照组比较,子宫腺肌细胞存活率下降,凋亡水平升高,并抑制了细胞的转移,由此在细胞水平上说明 BrMC 可能用于子宫腺肌病的临床治疗。

靶标筛选对于阐明小分子药物的药理机制至关重要,已成为药物发现过程中必不可少的步骤。目前,关于子宫腺肌病的发病机制仍处于不断探索阶段,该过程由多个因素共同介导。Ephrin-A1 是一种被糖基磷脂酰肌醇锚定的质膜蛋白,最初被鉴定为可溶性因子。受体 EphA 与 Ephrin-A1 结合后,通过邻苯丙氨酸被定义为正向信号,将其酪氨酸激酶活性介导的下游信号传递给受体细胞,接着 Ephrin-A 将该信号传递给配体细胞,这便是 Fyn 酪氨酸激酶

活性介导的反向信号途径^[14]。EphA1 和 Ephrin-A1 在多种癌症中异常表达,并影响肿瘤细胞的生物学行为,这可能是一种新型的潜在治疗靶点。与良性乳腺癌细胞 MCF-10A 相比,侵袭性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中 Ephrin-A1 的表达下调^[15];在神经胶质瘤中观察到 EphA2 和 Ephrin-A1 在肿瘤组织中的表达水平可能是潜在的诊断及预后标志物^[16];在肝癌和结肠癌中 Ephrin-A1 的高水平表达与不良预后呈正相关^[17];在晚期胃癌组织中通过 mRNA 表达分析表明,大多数患者中 EphA1-EphA4 过表达,高表达的 EphA1 和 EphA2 与不良预后相关^[18]。在本研究中,通过检测发现子宫腺肌病内膜组织中 EphA1 和 Ephrin-A1 均高表达,由此推测这一反馈环可能参与调控子宫腺肌病的发生与发展。而细胞实验进一步检测发现,在经过 BrMC 处理子宫腺肌细胞后,EphA1、EphrinA1 mRNA 与蛋白的相对表达量均被下调,由此说明 BrMC 能够抑制子宫腺肌中 EphA1 与 EphrinA1 的异常高表达。

综上,EphA1 与 EphrinA1 的异常表达可能在子宫腺肌病的发病病程中发挥重要作用,通过在细胞水平上探索 BrMC 对子宫腺肌病的作用发现,BrMC 能够抑制子宫腺肌病细胞增殖与转移,并诱导细胞发生凋亡,下调 EphA1 与 EphrinA1 的表达,这说明 BrMC 可能通过抑制 EphA1 与 EphrinA1 的异常表达调控子宫腺肌病的进展,但其具体的分子生物学机制还需要进一步研究。

参考文献

[1] Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, *et al.* Endometrial causes of recurrent pregnancy losses; endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis [J]. *Fertility and Sterility*, 2021, 115(3): 546 - 560.

[2] Protopapas A, Grimbizis G, Athanasiou S, *et al.* Adenomyosis; disease, uterine aging process leading to symptoms, or both? [J]. *Facts, Views & Vision in ObGyn*, 2020, 12(2): 91 - 104.

[3] Lacheta J. Uterine adenomyosis; pathogenesis, diagnostics, symptomatology and treatment [J]. *Ceska Gynekologie*, 2019, 84(3): 240 - 246.

[4] Barquilla A, Pasquale EB. Eph receptors and ephrins; therapeutic opportunities [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2015, 55: 465 - 487.

[5] Chu M, Zhang C. Inhibition of angiogenesis by leflunomide via tar-

geting the soluble ephrin-A1/EphA2 system in bladder cancer [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1539.

[6] Cui Y, Wu BO, Flamini V, *et al.* Knockdown of EPHA1 using CRISPR/CAS9 suppresses aggressive properties of ovarian cancer cells [J]. *Anticancer Research*, 2017, 37(8): 4415 - 4424.

[7] Khoo BY, Chua SL, Balaran P. Apoptotic effects of chrysin in human cancer cell lines [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11(5): 2188 - 2199.

[8] Ganai SA, Sheikh FA, Baba ZA. Plant flavone Chrysin as an emerging histone deacetylase inhibitor for prosperous epigenetic-based anticancer therapy [J]. *Phytotherapy Research: PTR*, 2021, 35(2): 823 - 834.

[9] Chen N, Wang R, Lu LJ, *et al.* Synthesis of chrysin derivatives and screening of antitumor activity [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2020, 22(5): 444 - 451.

[10] Salari N, Faraji F, Jafarpour S, *et al.* Anti-cancer activity of chrysin in cancer therapy: a systematic review [J]. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 2022, 13(4): 681 - 690.

[11] Maruyama S, Imanaka S, Nagayasu M, *et al.* Relationship between adenomyosis and endometriosis; different phenotypes of a single disease? [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2020, 253: 191 - 197.

[12] 曹晓正, 杨小红, 曹建国, 等. 8-溴-7-甲氧基白杨素逆转人宫颈癌 SiHa 细胞系球形形成细胞上皮-间叶样表型转化 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(5): 668 - 671.

[13] 孙姝雯, 崔迎红, 邹辉, 等. BrMC 对肿瘤相关巨噬细胞条件培养基诱导内皮细胞管结构形成的影响 [J]. *湖南师范大学学报 (医学版)*, 2016, 13(2): 1 - 4.

[14] Ieguchi K. Eph as a target in inflammation [J]. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, 2015, 15(2): 119 - 128.

[15] Fox BP, Kandpal RP. Invasiveness of breast carcinoma cells and transcript profile: Eph receptors and ephrin ligands as molecular markers of potential diagnostic and prognostic application [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 318(4): 882 - 892.

[16] Li X, Wang L, Gu JW, *et al.* Up-regulation of EphA2 and down-regulation of EphrinA1 are associated with the aggressive phenotype and poor prognosis of malignant glioma [J]. *Tumor Biology*, 2010, 31(5): 477 - 488.

[17] Yamamoto H, Tei M, Uemura M, *et al.* Ephrin-A1 mRNA is associated with poor prognosis of colorectal cancer [J]. *International Journal of Oncology*, 2013, 42(2): 549 - 555.

[18] Inokuchi M, Nakagawa M, Baogok N, *et al.* Prognostic significance of high EphA1-4 expression levels in locally advanced gastric cancer [J]. *Anticancer Research*, 2018, 38(3): 1685 - 1693.

(收稿日期: 2023 - 03 - 09

修回日期: 2023 - 05 - 07)