



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: ITGA6 通过 PI3K/AKT 信号通路调控腹壁子宫内膜异位症的机制研究
作者: 顾蓉, 黄海良, 王心蕊, 李涵璐, 刘开江, 朱颖
收稿日期: 2025-10-20
网络首发日期: 2025-11-05
引用格式: 顾蓉, 黄海良, 王心蕊, 李涵璐, 刘开江, 朱颖. ITGA6 通过 PI3K/AKT 信号通路调控腹壁子宫内膜异位症的机制研究[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251105.0944.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

ITGA6 通过 PI3K/AKT 信号通路调控腹壁子宫内膜异位症的机制研究

顾 蓉^{1,2}, 黄海良³, 王心蕊⁴, 李涵璐⁴, 刘开江⁵, 朱 颖¹

(¹ 安徽医科大学第一附属医院妇产科, 合肥 230032; ² 安徽省第二人民医院妇产科, 合肥 230032; ³ 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032; ⁴ 安徽医科大学第一临床医学院, 合肥 230032; ⁵ 上海交通大学医学院附属仁济医院妇科肿瘤科, 上海 200127;)

摘要 目的 探讨整合素 $\alpha 6$ (ITGA6) 在腹壁子宫内膜异位症(AWE)组织中的表达情况及其参与调控 AWE 的分子机制。**方法** 收集腹壁子宫内膜异位组织 36 例作为实验组, 正常在位子宫内膜组织 36 例作为对照组, 免疫组织化学技术评估 ITGA6 在两种组织中的表达差异; 设计、合成人 ITGA6 基因特异性干扰序列, 慢病毒包装后转染 Ishikawa 细胞 (人子宫内膜腺癌细胞), 构建 ITGA6 低表达细胞株; 根据其基因编码序列(CDS)构建 ITGA6 过表达细胞株; Real-time PCR 及 Western blot 检测上皮-间质转化(EMT)及血管生成相关指标的变化; 细胞划痕、Transwell 实验检测细胞侵袭迁移能力; Western blot 检测磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路的变化。**结果** 与在位子宫内膜相比, 腹壁子宫异位内膜组织中 ITGA6 阳性细胞数及表达强度均明显增强 ($P < 0.01$, $P < 0.01$); 与 NC 组相比, ITGA6 低表达组 N-cadherin、VEGF、TGF- β 表达均降低 (均 $P < 0.01$), E-cadherin 表达明显升高 ($P < 0.01$), 细胞侵袭迁移能力明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.01$), AKT 磷酸化水平显著降低。过表达 ITGA6 则与上述相反。**结论** ITGA6 通过激活 PI3K/AKT 信号通促进 Ishikawa 细胞 EMT、血管生成和侵袭迁移能力, 参与 AWE 的发生发展。

关键词 整合素 $\alpha 6$; 子宫内膜异位症; 上皮-间质转化; 血管生成; 细胞黏附

中图分类号 R 711.71

文献标志码 A

Mechanistic Study on ITGA6 Regulation of Abdominal Wall Endometriosis via the PI3K/AKT Signaling Pathway

Gu Rong^{1,2}, Huang HaiLiang³, Wang XinRui⁴, Li HanLu⁴, Liu KaiJiang⁵, Zhu Ying¹

(¹Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032; ²Dept of Obstetrics and Gynecology, Anhui No.2 Provincial People's Hospital, Hefei 230032; ³School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032;

2025-10-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82371652、82371658); 安徽省高校自然科学基金项目 (编号: 2023AH053331)

作者简介: 顾 蓉, 女, 副主任医师;

朱 颖, 女, 主任医师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail:1296937670@qq.com

⁴Frist Clinical Medical College, Anhui Medical University, Hefei 230032; ⁵Dept of Gynecologic Oncology, Renji Hospital, Shanghai University School of Medicine, Shanghai 200127)

Abstract Objective To investigate the differential expression of integrin alpha-6(ITGA6) in abdominal wall endometriosis (AWE) tissues and its molecular mechanisms in regulating AWE.

Methods 36 AWE lesions were designated as the experimental group, while 36 cases of normal endometrial tissues served as the controls. Differential expression of ITGA6 between the two groups was assessed through immunohistochemical (IHC) staining. Human ITGA6 gene-specific interference sequences were designed, synthesized, and packaged into lentiviral vectors to establish the Ishikawa cell line with ITGA6-knockdown. Similarly, the ITGA6-overexpression cell line was constructed using the coding sequence (CDS) of the gene. Real-time PCR and Western blot were performed to detect changes in EMT-related markers and angiogenesis-related indicators. Cell invasion and migration capabilities were assessed by Cell Scratch and Transwell assays. Furthermore, Western blot was conducted to profile PI3K/AKT pathway dynamics.

Results Ectopic endometrial tissues exhibited a marked increase in the number of ITGA6-positive cells and their expression intensity compared to eutopic endometrium (each $P < 0.001$). Compared with the NC group, the ITGA6-knockdown group showed significantly reduced expression of N-cadherin, VEGF, and TGF- β ($P < 0.001$; $P < 0.01$; $P < 0.01$), while E-cadherin expression was markedly increased ($P < 0.001$). Concomitantly, the invasion and migration capacities of ITGA6-low expression were significantly impaired ($P < 0.001$ for both), accompanied by a marked reduction in AKT and phosphorylated AKT(p-AKT) levels (all $P < 0.001$). Conversely, overexpressing ITGA6 resulted in opposite effects. **Conclusion** ITGA6 modulates EMT and angiogenesis in Ishikawa cells via the PI3K/AKT signaling pathway, thereby enhancing cell invasion and migration capabilities, which contributes to the pathogenesis of abdominal wall endometriosis.

Key words Integrin alpha-6; endometrial cancer; EMT; angiogenesis; cell adhesion

Fund programs National Natural Science Foundation of China (Nos.82371652, No.82371658); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No.2023AH053331)

Corresponding author Zhu Ying, E-mail:1296937670@qq.com

腹壁子宫内膜异位症 (abdominal wall endometriosis, AWE) 是子宫内膜异位症的一种特殊类型, 根据全球流行病学调查显示, 发病率约占子宫内膜异位症(endometriosis, EMS) 的 0.03%至 0.45%^[1], 其特点是子宫内膜组织种植于腹壁, 伴有浸润性生长^[2], 常继发于妇科手术, 剖宫产是最大的危险因素。前期研究^[3]已经证实子宫内膜异位症发病机制与肿瘤类似, 病理过程涉及细胞黏附、基质侵袭性破坏和新生血管生成等关键步骤。作为跨膜黏附受体, 整合素家族已被证实在肿瘤中参与多种功能调控, 整合素 $\alpha 6$ (integrin alpha-6, ITGA6)发挥的作用尤为突出^[4]。Rai et al^[5]通过免疫组化定量分析显示, 内异症患者的在位内膜中 ITGA6 表达量与盆腔的异位内膜差异有统计学意义, 提示其可能参与疾病进程。

但在 AWE 中的功能调控未被研究。因此，该研究探讨了 ITGA6 与 AWE 之间的关系，通过相关实验揭示 ITGA6 在腹壁子宫内膜异位症发生和进展中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 病例资料

将安徽医科大学第一附属医院妇产科 2018 年 1 月至 2023 年 10 月收治的 36 例 AWE 患者纳入研究，均行开放性腹壁内异灶切除术，年龄 32~43 (36.05±3.18) 岁，I 型（皮下脂肪型）26 例，II 型（腹直肌型）7 例，III 型（腹膜型）3 例。另选同时期良性肿瘤行子宫切除术 36 例作为对照组，年龄 31~42 (37.36±2.97) 岁。运用 SPSS 27 统计软件分析，两组患者年龄差异无统计学意义 ($P>0.05$)。入组标准：月经规律，组织经病理学证实；排除标准：妊娠，内分泌及代谢性疾病，恶性肿瘤，术前 6 个月使用激素治疗。

1.2 材料

人子宫内膜癌细胞 (Ishikawa) 及专用培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司，货号：CL-0823 和 CM-0283；ITGA6 干扰及过表达慢病毒购自上海吉凯基因科技有限公司，编号：GIEE0441941 和 GCPE5002046；RNA 提取试剂盒，购自信天翁生物科技有限公司（广州）；反转录试剂盒、SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒购自艾科瑞生物有限公司（湖南）；RIPA 细胞裂解液（强）、BCA 蛋白质定量试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、彩虹预染蛋白 Marker 购自上海雅酶生物医药科技有限公司；ECL 超敏化学发光检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司（上海）；ITGA6 抗体，购自爱博泰克（武汉）生物科技有限公司，货号：A3236；GAPDH 抗体购自武汉贝茵莱生物科技有限公司，货号：MAB45855；TGF- β 1 抗体（货号：AF1027），VEGA 抗体（货号：AF5131，N-cadherin 抗体（货号：AF6710），E-cadherin 抗体（货号：AF0131）均购自江苏亲科生物研究有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学分析

石蜡切片二甲苯脱蜡，依次经过乙醇浓度梯度实现水化，采用 (pH6.0) 柠檬酸钠于 96 °C 条件下实现抗原修复，自然降温后 PBS 冲洗 3 次，3% H₂O₂ 孵育 15 min 消除内源性过氧化物酶活性。依次滴加 1: 1 000 稀释的 ITGA6 一抗 4 °C 孵育过夜和 HRP 标记二抗（室温，30 min），DAB 显色、苏木精复染，切片制好后显微镜下分析结果。

1.3.2 细胞培养

专用培养基培养 Ishikawa 细胞（培养箱条件：37 °C、5%CO₂），隔天换液，倒置显微镜下观察其生长，待其汇合度为 70% ~ 80% 时无菌 PBS 清洗，0.25% 胰蛋白酶消化 3 ~ 5 min，细胞计数后，遵循实验设计进行种板及检测。

1.3.3 ITGA6 低表达及过表达细胞株构建

针对 CDS 序列设计 3 条特异性干扰序列并将其克隆到慢病毒载体 GV493 上，分别标记为 siRNA-I (TTCTCCATCGAATATGTGCTC)、siRNA-II (ATTATTCCATCTGCCTTGCTG) 和 siRNA-III (GTTTCCAGCAATTGAATATCC)。同时，设置阴性对照组，标记为 NC (TTCTCCGAACGTGTCACGT)。根据人基因库中 ITGA6 (NM_000210.4) CDS 序列，将其克隆至慢病毒过表达质粒 GV492 上，基因测序鉴定后进行细胞转染。依照慢病毒试剂盒说明书成功感染 Ishikawa 细胞，3 d 后按比例传代 (1:5)。嘌呤霉素筛选 ITGA6 低表达及过表达细胞株，其浓度 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.4 Real-time PCR

提取细胞总 RNA，Nano300 定量。反转录后应用 Real-time PCR 检测各目的基因 mRNA 表达。反应体系配置：2 $\times$ SYBR Green mixture, 10 μL ；10 $\mu\text{mol/L}$ Forward primer, 0.4 μL ；10 $\mu\text{mol/L}$ Reverse primer, 0.4 μL ；cDNA 模板, 2.0 μL ；ddH₂O, 7.2 μL ；反应程序：预变性 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s；变性 95 $^{\circ}\text{C}$, 5 s；退火及延伸 60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s。以 GAPDH 作为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析各基因表达量。

表 1 Real-time PCR 引物序列
Tab.1 The sequence of real-time PCR primers

Gene name	Sequence (5'-3')	Product size (bp)
GAPDH	F: TCGGAGTCAACGGATTTGGTC	96
	R: TGAAGGGGTCATTGATGGCA	
ITGA6	F: GCAGCCTTCAACTTGGACAC	129
	R: CACGAGCAACAGCCGCTT	
VEGF	F: CAACAAATGTGAATGCAGACCAA	157
	R: GCTCCAGGGCATTAGACAGC	
TGF- β 1	F: GTACCTGAACCCGTGTTGCT	217
	R: CCTCAATTTCCCTCCACGG	
N-cadherin	F: CCTTTTCTGCCATCAGCTTTGT	74
	R: CTCCTGGGTTCCAGCTTGTC	
E-cadherin	F: GCTGGACCGAGAGAGTTTCC	179
	R: CGACGTTAGCCTCGTTCTCA	

1.3.5 Western blot

提取细胞总蛋白，BCA 定量，SDS-PAGE 分离目的蛋白。经转膜、封闭和一、二抗孵育后，采用全自动化学发光检测仪进行 ECL 法检测目的蛋白。Quantity One 软件进行灰度，计算各目的蛋白/内参蛋白 (GAPDH)。

1.3.6 细胞划痕实验

使用 Marker 标记笔在 6 孔细胞培养板背面进行划痕标记，待细胞生长至汇合度 60% ~ 70%时，使用直径为 1 mm 的划痕器垂直于培养板、沿标记线进行细胞划痕标记，无菌

PBS 洗涤细胞 3 次，加入 2 mL 细胞培养基，显微镜下拍照，记为 0 h。同样，分别于 24 h 和 48 h 拍照留取对应点的细胞划痕图片。以 NC 组作为对照，计算细胞迁移率，并进行统计分析。细胞迁移率=（细胞划痕宽度_{0h}-细胞划痕宽度_{24h/48h}）/细胞划痕宽度_{0h}×100%。

1.3.7 Transwell 实验

细胞消化、计数，于上室中加入 200 μ L 无血清细胞悬液，下室为含 10% FBS 的细胞培养液。37 $^{\circ}$ C，5%CO₂细胞培养箱继续培养 24 h。取出小室，PBS 洗涤 3 次，4%多聚甲醛固定 30 min。PBS 洗涤 3 次，苏木紫染色 15 min，用棉签轻柔拭去上层非迁移细胞，PBS 洗涤 3 次。随机选取 5 个视野细胞进行拍照，计数后进行统计分析。

1.4 统计学处理

采用 GraphPad Prism5.0 软件进行统计分析，数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 *t* 检验验证两组之间差异性，采用单因素方差分析检验多组间的差异性，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组织化学分析

图 1 显示，在位子宫内膜腺体结构完整、形态规则；异位子宫内膜腺体结构严重破坏、纤维增生明显、细胞形态不规则。ITGA6 主要表达于腺上皮细胞和间质细胞细胞膜上，与在位内膜组织相比，腹壁异位内膜组织中 ITGA6 的表达水平明显升高，阳性细胞数显著增多（*t*=7.064，*P* < 0.001）。

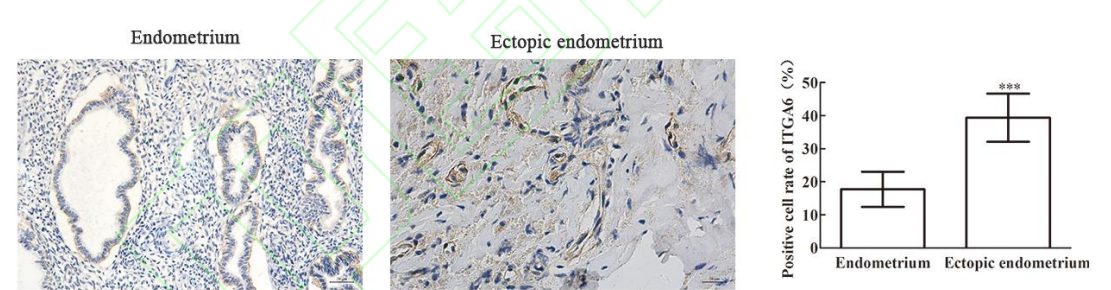


图 1 正常内膜与异位内膜 ITGA6 免疫组化分析 ×20

Fig.1 Comparative IHC staining of ITGA6 in ectopic endometrium and endometrium ×20

注：****P* < 0.001 vs Endometrium.

2.2 低表达和过表达 ITGA6 细胞株构建

与 GV493/NC 组相比，siRNA-I 组和 siRNA-II 组 ITGA6 mRNA 和蛋白表达均显著降低（*t*=6.445，*P* < 0.001；*t*=8.978，*P* < 0.001），siRNA-III 组无明显变化，差异无统计学意义；与 siRNA-I 组相比，siRNA-II 组 ITGA6 mRNA 和蛋白降低（*t*=2.432，*P* < 0.05；

$t=2.949$, $P < 0.05$) , 干 扰 效 率 更 高 。 见 图 2 。

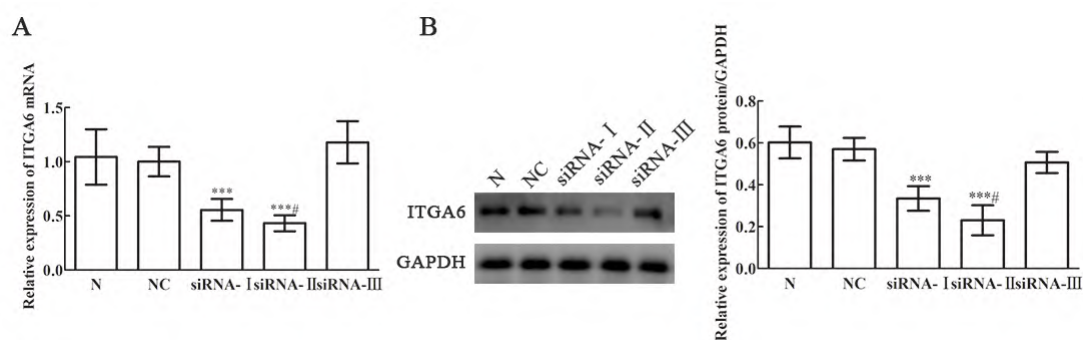


图 2 ITGA6 干扰序列筛选

Fig.2 Screening of effective siRNA constructs for ITGA6 knockdown

注：A: The mRNA expression level of siRNA-I, II, III; B: The Western blot result of siRNA-I, II, III; *** $P < 0.001$ vs NC group; # $P < 0.05$ vs siRNA-I.

选用 siRNA-II序列构建 ITGA6 低表达细胞株 (GV493/siRNA)。与 GV493/NC 组相比, GV493/siRNA 组 ITGA6 mRNA 和蛋白均降低, 差异有统计学意义 ($t=7.341$, $P < 0.001$; $t=8.512$, $P < 0.001$), 证实 ITGA6 低表达细胞株构建成功。将慢病毒包装的 ITGA6 过表达载体转染至 Ishikawa 细胞, 与 GV492/NC 组相比, ITGA6 过表达细胞株 (GV492/ITGA6) ITGA6 mRNA 和蛋白表达均明显升高 ($t=8.526$, $P < 0.001$; $t=4.753$, $P < 0.001$), 差异有统计学意义, 证实 ITGA6 过表达细胞株构建成功。见图 3。

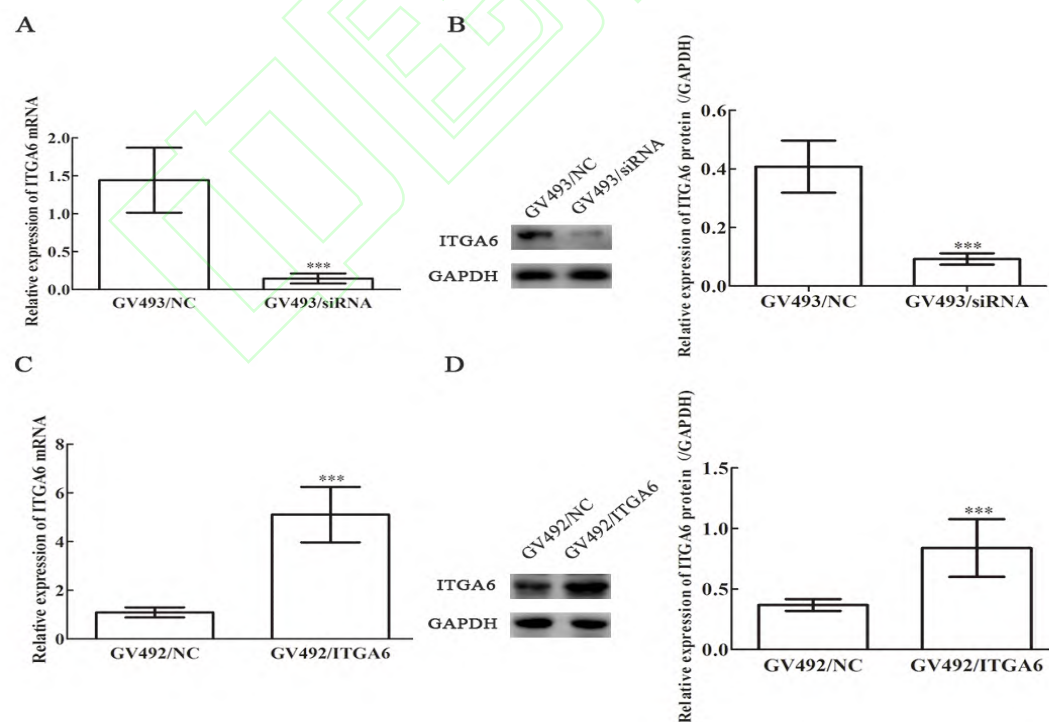


图 3 ITGA6 低表达及过表达细胞株构建

Fig.3 Construction of ITGA6 knockdown and overexpression cell lines

注：A: The mRNA expression level of ITGA6 knockdown group; B: The Western blot result of ITGA6 knockdown group; C: The mRNA expression level of ITGA6 overexpression group; D: The Western blot result of ITGA6 overexpression group; *** $P < 0.001$ vs NC group.

2.3 ITGA6 对 EMT 及血管生成相关指标的影响

Real-time PCR 和 Western blot 检测 EMT 和血管生成相关指标上皮钙黏蛋白 (E-cadherin)、神经钙黏蛋白 (N-cadherin)、血管内皮生长因子 (VEGF)、转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) mRNA 和蛋白的表达。结果显示, 与 GV493/NC 组相比, GV493/siRNA 组 N-cadherin、VEGF 和 TGF- $\beta 1$ 表达明显降低 ($t=4.651$, $P < 0.001$; $t=5.153$, $P < 0.01$; $t=4.446$, $P < 0.01$), E-cadherin 表达明显升高 ($t=3.272$, $P < 0.001$)。见图 4。

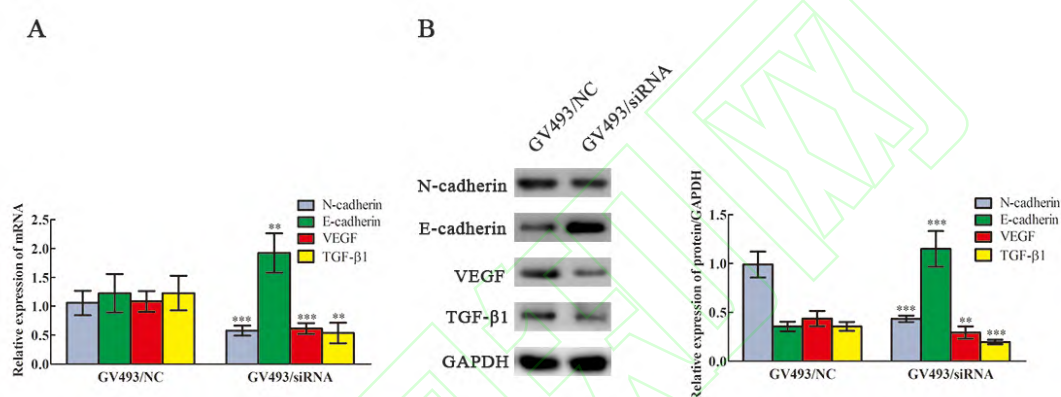


图 4 ITGA6 低表达对 EMT 及血管生成相关指标的影响

Fig.4 The effects of ITGA6 knockdown on EMT and angiogenesis

注：A: The mRNA expression level of E-cadherin, N-cadherin, VEGF and TGF- $\beta 1$ in ITGA6 knockdown group; B: The Western blot result of E-cadherin, N-cadherin, VEGF and TGF- $\beta 1$ in ITGA6 knockdown group; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs NC group.

同样, 与 GV492/NC 组相比, GV492/ITGA6 组 N-cadherin、VEGF 和 TGF- $\beta 1$ 表达则显著升高 ($t=7.158$, $P < 0.001$; $t=13.78$, $P < 0.001$; $t=6.732$, $P < 0.001$), E-cadherin 表达明显降低 ($t=6.992$, $P < 0.001$)。见图 5。

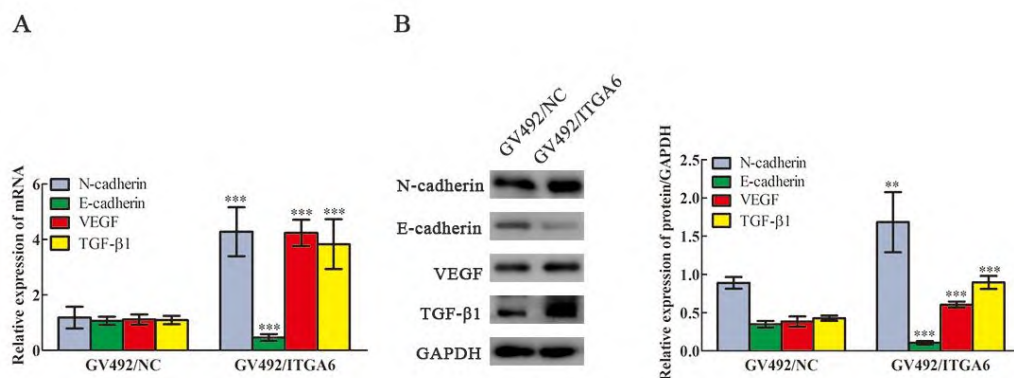


图 5 ITGA6 过表达对 EMT 及血管生成相关指标的影响

Fig.5 The effects of ITGA6 overexpression on EMT and angiogenesis

注：A: The mRNA expression level of E-cadherin, N-cadherin, VEGF and TGF- β 1 in the ITGA6 overexpression group; B: The Western blot result of E-cadherin, N-cadherin, VEGF and TGF- β 1 in the ITGA6 overexpression group; *** $P < 0.001$ vs NC group.

2.4 ITGA6 对细胞侵袭迁移能力的影响

2.4.1 ITGA6 低表达对细胞侵袭迁移能力的影响

Transwell 检测及分析结果表明，与 GV493/NC 组相比，GV493/siRNA 组细胞穿透数量显著减少，细胞侵袭能力明显降低（ $t=8.267$ ， $P < 0.001$ ）。

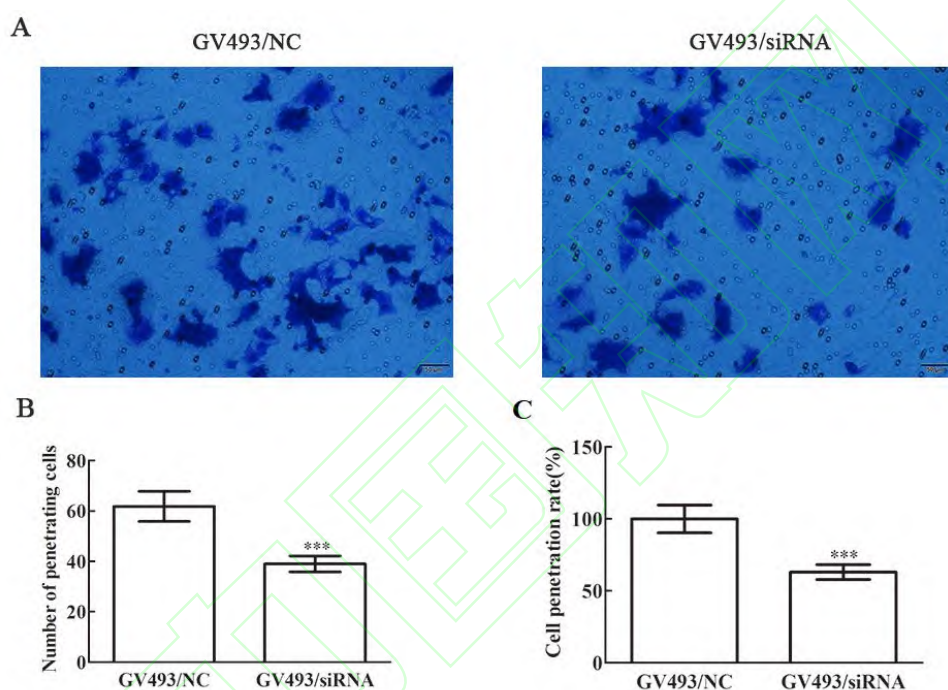


图 6 ITGA6 低表达对细胞侵袭能力的影响

Fig. 6 The effects of ITGA6 knockdown on cell invasion capability

注：A: Transwell results of GV493/NC and GV493/siRNA groups $\times 20$; B: The results of the cell penetration number in the ITGA6 knockdown group; C: The results of the cell penetration ability in the ITGA6 knockdown group; *** $P < 0.001$ vs NC group.

细胞划痕检测及分析结果表明，与 GV493/NC 组相比，GV493/siRNA 组 24h、48 h 的细胞划痕宽度显著增加，细胞迁移能力明显降低（ $t=5.265$ ， $P < 0.001$ ； $t=8.267$ ， $P < 0.001$ ）。

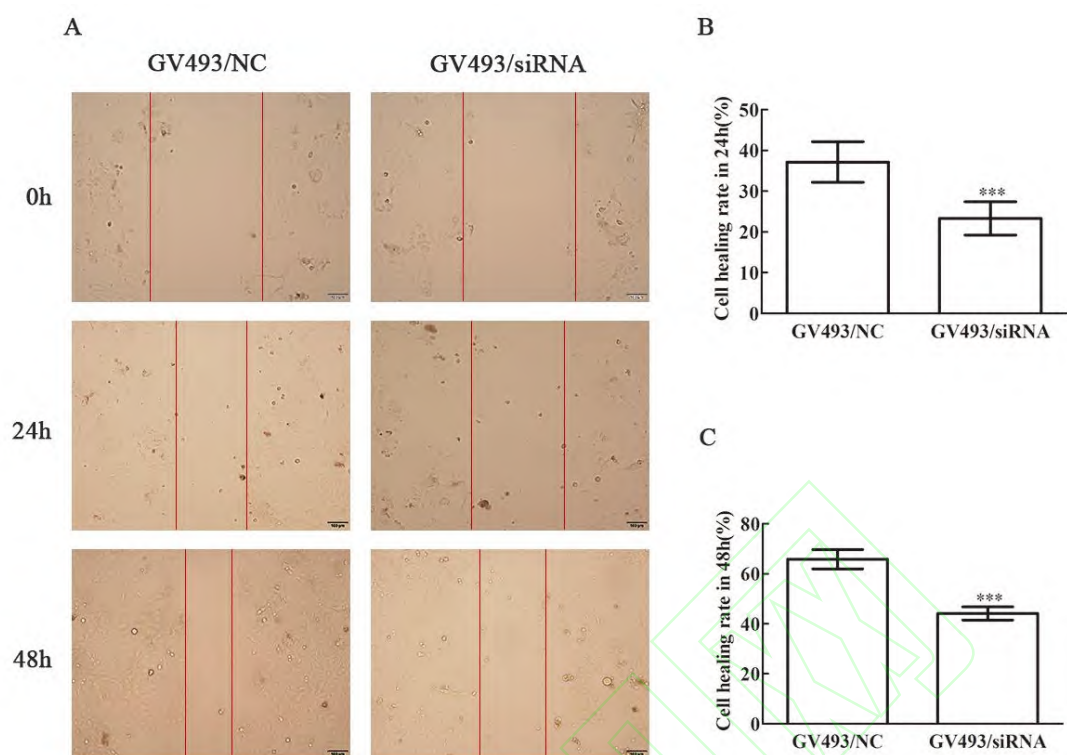


图 7 ITGA6 低表达对细胞迁移能力的影响

Fig. 7 The effects of ITGA6 knockdown on cell migration ability

注：A: Microscopic images of the ITGA6 knockdown group at 0 h, 24 h and 48 h in the wound healing assay $\times 10$; B: The wound healing rate of the NC group and the ITGA6 knockdown group at 24 h; C: The wound healing rate results of the NC group and the ITGA6 knockdown group at 48 h; *** $P < 0.001$ vs NC group.

2.4.2 ITGA6 过表达对细胞侵袭迁移能力的影响

Transwell 检测结果表明，与 GV492/NC 组相比，GV492/ITGA6 组细胞穿透数量显著增加，细胞侵袭能力明显升高 ($t=6.566$, $P < 0.001$)。

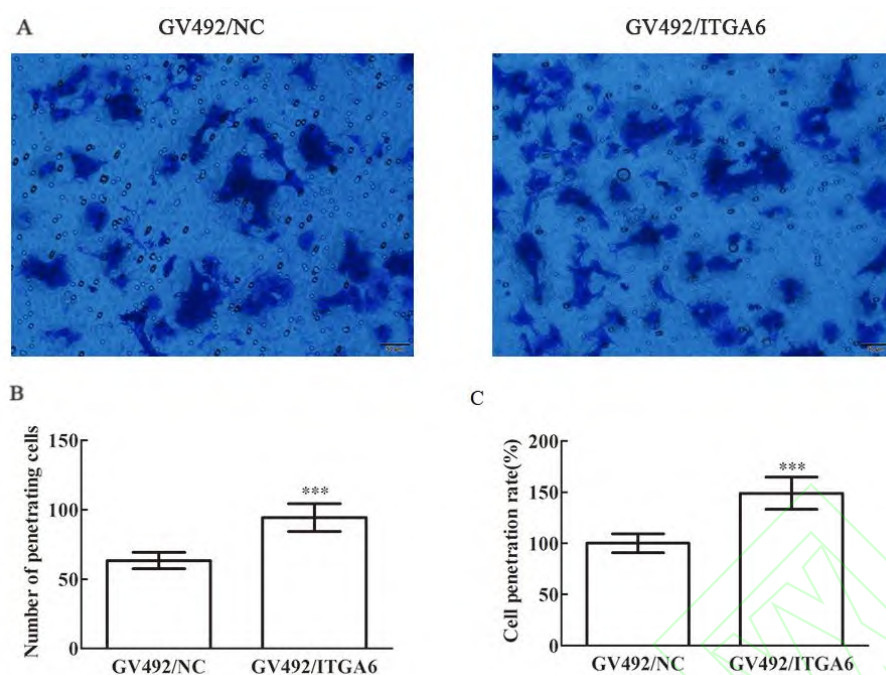


图 8 ITGA6 过表达对细胞侵袭能力的影响

Fig. 8 The effects of ITGA6 overexpression on cell invasive ability

注：A: The Transwell results of GV492/NC and GV492/ITGA6 groups $\times 20$; B: The results of the cell penetration number in the NC group and the ITGA6 overexpression group; C: The cell penetration ability in the NC group and the ITGA6 overexpression group; *** $P < 0.001$ vs NC group.

细胞划痕检测及结果表明，与 GV492/NC 组相比，GV492/ITGA6 组细胞 24h 和 48h 的细胞划痕宽度均显著减少，细胞迁移能力明显增强 ($t=3.031$, $P < 0.05$; $t=3.656$, $P < 0.001$)。

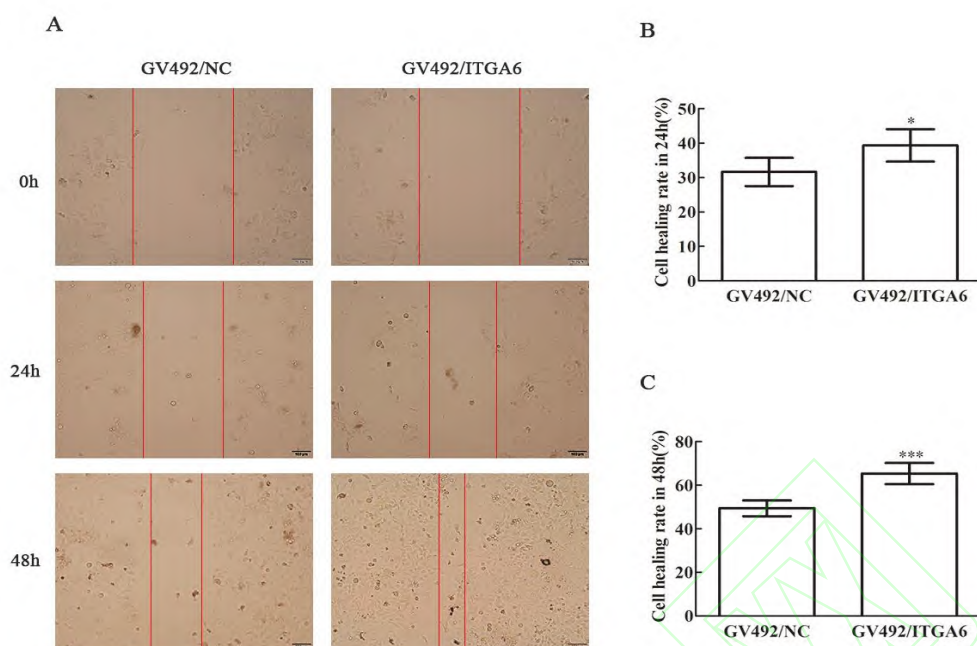


图 9 ITGA6 过表达对细胞迁移能力的影响

Fig. 9 The effects of ITGA6 overexpression on cell migratory ability

注: A: Microscopic images of the ITGA6 overexpression group at 0 h, 24 h and 48 h in the wound healing assay $\times 10$; B: The wound healing rate results of the NC group and the ITGA6 overexpression group at 24 h; C: The wound healing rate results of the NC group and the ITGA6 overexpression group at 48 h; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs NC group.

2.5 ITGA6 对 PI3K/AKT 信号通路的影响

Western blot 检测 ITGA6 低表达及过表达对 AKT 及 AKT 磷酸化水平的影响, 研究结果表明, 低表达 ITGA6 降低 AKT 磷酸化水平的表达, 抑制 AKT 磷酸化($t=4.753$, $P < 0.001$); 过表达 ITGA6 增加 AKT 磷酸化水平的表达, 促进 AKT 磷酸化($t=7.445$, $P < 0.001$)。

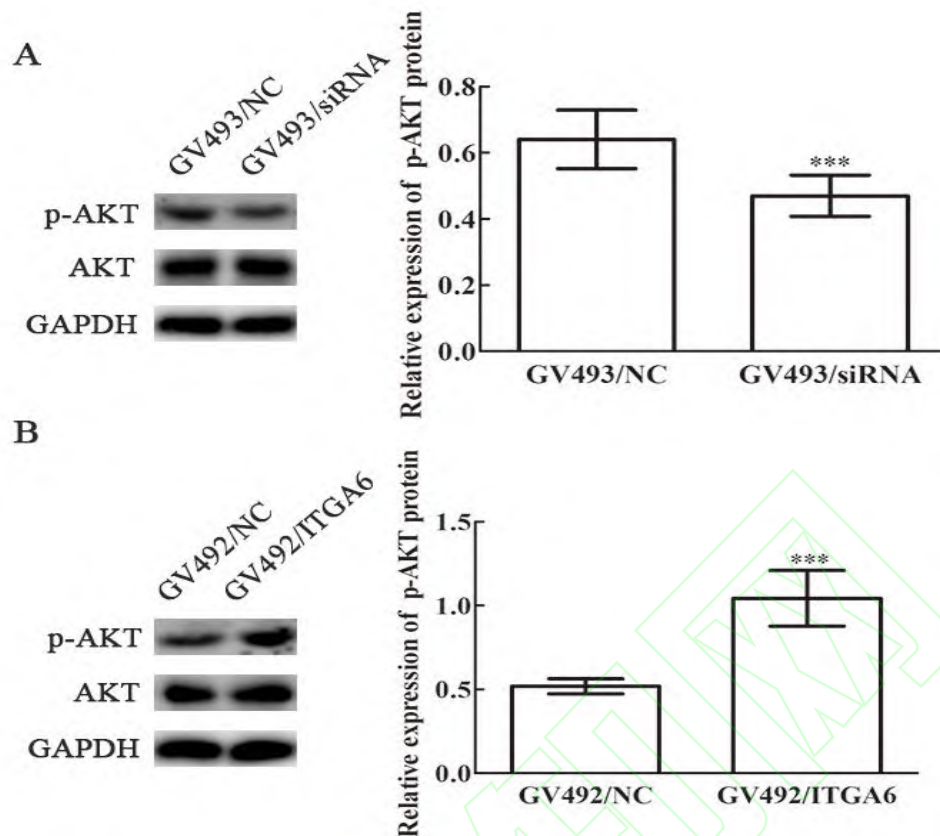


图 10 ITGA6 对 PI3K/AKT 信号通路的影响

Fig.10 The effects of ITGA6 on the PI3K/AKT signaling pathway

注：A: The Western blot results of AKT and p-AKT in the ITGA6 knockdown group, *** $P < 0.001$ vs NC group; B: The Western blot results of AKT and p-AKT in the ITGA6 overexpression group, *** $P < 0.001$ vs NC group.

3 讨论

ITGA6 在 AWE 病灶特异性高表达，可能与异位子宫内膜组织的黏附力增加和手术创伤有关。首先，整合素是层粘连蛋白主要受体，促进细胞之间、细胞-基质之间的粘连，维持细胞基底膜稳定^[6]。在 EMS 机制研究中^[7]，盆腔异位子宫内膜较在位子宫内膜的 ITGA6 表达下降，致使细胞-细胞或细胞-基质黏附力下降，子宫内膜组织易从宫腔脱落游走于盆腔。相反在腹壁子宫内膜异位组织中，ITGA6 表达升高，使它们之间黏附力增强、稳定性增加，促进了子宫内膜细胞植入。其次，有研究^[8]证实了瘢痕部位的机械应力，可以激活 YAP/TAZ 信号通路，使之与 TEAD 转录因子结合上调 ITGA6。剖宫产手术创伤可能激活疤痕部位机械传导系统，ITGA6 表达增高，此观点需要相关实验验证。

实验中上调 ITGA6 表达促进细胞 EMT 和血管生成，增强细胞侵袭、迁移能力和病灶血管新生，相反低表达则抑制细胞 EMT 和血管生成，证明腹壁子宫内膜异位病灶具备向周围组织迁移侵袭能力和丰富的血液供应。其中 EMT 在 EMS 发展中发挥重要作用^[9]。肿瘤细胞极性消失、黏附能力减弱使其具备迁移侵袭特性，上皮细胞必须经过 EMT，完成间

质细胞转化才能获得此特征^[10]。其分子表型为 E-cadherin 下调, N-cadherin 上调^[11]。另一方面, 异位病灶不断经历损伤修复, 活化的血小板通过生成 TGF- β 1, 诱导 TGF- β /Smad 信号通路促进 EMT^[12]。RT-PCR 及 Western blot 结果显示, 在 AWE 中 N-cadherin 和 TGF- β 1 表达升高, 提示与其它类型 EMS 一样, EMT 是异位内膜细胞获得侵袭和迁移能力的关键步骤, 并且受到上游基因 ITGA6 调控。

VEGF 是调控血管生成的核心因子, 通过增加血管通透性, 促进血管内皮细胞增殖和新生血管形成。TGF- β 1 作为多功能调节因子, 介导细胞增殖分化, 在 EMT 中发挥协同作用。研究^[13]显示, EMT 患者血清中 VEGF 和 TGF- β 1 水平升高, 并与 EMS 临床分期正相关。在实验中敲低 ITGA6 表达, VEGF 和 TGF- β 1 指标显著下降, 证明了腹壁子宫内膜异位病灶需要丰富的血液供应和足够的营养供给才能进行增殖侵袭, 同样受到 ITGA6 调控。ITGA6 双重调控血管生成和 EMT, 抑制 ITGA6 可以阻断 EMT 和减少血管生成。运用 ITGA6 抑制剂, 阻断其侵袭和减少血供达到缩小病灶目的, 为 AWE 临床靶向治疗提供新方向。

PI3K/AKT 信号转导途径作为细胞内核心调控系统, 通过级联磷酸化实现跨膜信号转导, 参与调控细胞增殖、程序性死亡以及代谢平衡。它是一个复杂的信号功能轴, 受多个上游基因调控, 同时又作用于下游靶器官。该通路过度激活促进肿瘤和 EMS 的发生^[14-15]。细胞因子-受体结合诱发 PI3K 膜定位并激活, 催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (PIP2) 向磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 (PIP3) 转化, 募集 AKT 使之磷酸化, 活化 AKT 通过磷酸化级联反应调控下游 VEGF、mTOR 等效应分子。上升和敲低 ITGA6 表达后, AKT 含量随之升落, 证明了 ITGA6 作为上游基因, 调控 PI3K/AKT 信号通路。临床诊疗中, AKT 抑制剂通过抑制 AKT 磷酸化降低细胞恶性生物学行为, 也可作为 AWE 新型靶向治疗^[16]。

AWE 病灶中潜在特异性调控机制上调 ITGA6 表达, 激活 PI3K/AKT 信号传导, 诱导下游靶蛋白磷酸化修饰, 驱动异位组织细胞增殖和病理血管生成, 增加异位细胞侵袭迁移潜能, 促进 AWE 发生发展。本研究从分子层面探索 AWE 发病机制, 为 PI3K/AKT 靶向治疗奠定理论基础。但仍存在局限性: ① 临床样本量较小, 免疫组化中未分析 ITGA6 阳性率是否与 AWE 临床分型、复发率相关, 需要扩大样本量补充结论; ② AWE 原代细胞获取困难, 实验基于 Ishikawa 细胞系进行研究, 远期需要原代细胞或构建动物模型验证实验结果; ③ 虽揭示了 AWE 中 ITGA6 升高对 PI3K/AKT 信号通路的调控, 但是缺少对 ITGA6 上游调控和信号通路下游靶分子作用机制的研究, 需要今后更深层次探索。

参考文献

- [1] Mittal R, Ashraf A, Gupta M, et al. Scar endometriosis: the menace of surgery[J]. J Surg Case Rep, 2023, 2023(7): rjad413. doi:10.1093/jscr/rjad413.
- [2] 支园园, 姜艳艳. 腹壁子宫内膜异位症诊治和预防专家共识(2024 年版)[J]. 社区医学杂志, 2025, 23(1): 1-8. doi:10.19790/j.cnki.JCM.2025.01.01.

- [2] Zhi Y Y, Jiang Y Y. Expert Consensus on the diagnosis, treatment, and prevention of abdominal wall endometriosis (2024 edition)[J]. J Community Med, 2025, 23(1): 1-8. doi:10.19790/j.cnki.JCM.2025.01.01.
- [3] 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. doi: 10.3760/j.issn:0529-567x.2005.01.002.
- [3] Lang J H. Cornerstone of study on endometriosis[J]. Chin J Obstet Gynecol, 2005, 40(1): 3-4. doi: 10.3760/j.issn:0529-567x.2005.01.002.
- [4] Li S, Sampson C, Liu C, et al. Integrin signaling in cancer: bidirectional mechanisms and therapeutic opportunities[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 266. doi:10.1186/s12964-023-01264-4.
- [5] Rai V, Hopkis J, Kennedy S, et al. Integrins alpha 3 and alpha 6 are differentially expressed in endometrium and endometriosis[J]. J Pathol, 1996, 180(2): 181-7. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199610)180:2181::AID-PATH620>3.0.CO;2-I.
- [6] Pang X, He X, Qiu Z, et al. Targeting integrin pathways: mechanisms and advances in therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 1. doi:10.1038/s41392-022-01259-6.
- [7] 李 亭, 李亚里, 李建民, 等. 整合素 $\alpha 6$ 在子宫内膜异位症中的表达分析[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(5): 388-90. doi: 10.3321/j.issn:0577-7402.2005.05.009.
- [7] Li T, Li Y L, Li J M, et al. Differential expression of integrin alpha 6 in endometrium and endometriosis[J]. Med J Chin People's Liberation Army, 2005, 30(5): 388-90. doi: 10.3321/j.issn:0577-7402.2005.05.009.
- [8] Dupont S, Morsut L, Aragona M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction[J]. Nature, 2011, 474(7350): 179-83. doi:10.1038/nature10137.
- [9] Liu L, Liu L, Yue C, et al. PYK2 promotes cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition in endometriosis by phosphorylating Snail1[J]. Mol Med, 2025, 31(1): 155. doi:10.1186/s10020-025-01218-1.
- [10] Xu S, Zhu C, Xu Q, et al. ARID1A restrains EMT and stemness of ovarian cancer cells through the Hippo pathway[J]. Int J Oncol, 2024, 65(2). DOI:10.3892/ijo.2024.5664. doi:10.3892/ijo.2024.5664.
- [11] 胡冰琪, 周 静, 黄俊峰, 等. 双氢青蒿素抑制非小细胞肺癌细胞迁移侵袭和血管生成拟态的初步研究[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(5): 766-71. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.05.011.
- [11] Hu B Q, Zhou J, Huang J F, et al. A preliminary study of dihydroartemisinin inhibiting migration invasion and vasculogenic mimicry of non-small cell lung cancer cells[J]. Acta Univ Med Anhui, 2023, 58(5): 766-71. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.05.011.
- [12] Zubrzycka A, Migdalska-Sęk M, Jędrzejczyk S, et al. The expression of TGF- β 1, SMAD3, ILK and miRNA-21 in the ectopic and eutopic endometrium of women with endometriosis[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2453. doi:10.3390/ijms24032453.

[13] 刘 佳, 张 燕, 陈少丽. 子宫内膜异位症患者miR-429 与HIF-1 α 、VEGF水平和临床分期的相关性及其诊断效能[J]. 广东医学, 2023, 44(11): 1435-9. doi:10.13820/j.cnki.gdyx.20232183.

[13] Liu J, Zhang Y, Chen S L. The correlation of miR-429 with HIF-1 α , VEGF levels, and clinical staging in patients with endometriosis and its diagnostic efficacy[J]. Guangdong Med J, 2023, 44(11): 1435-9. doi:10.13820/j.cnki.gdyx.20232183.

[14] Li J, Zheng J, Lin B, et al. Knockdown of NCAPG promotes the apoptosis and inhibits the invasion and migration of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells *via* regulation of EGFR/JAK/STAT3 signaling[J]. Exp Ther Med, 2023, 25(3): 119. doi:10.3892/etm.2023.11818.

[15] Madanes D, Bilotas M A, Bastón J I, et al. PI3K/AKT pathway is altered in the endometriosis patient' s endometrium and presents differences according to severity stage[J]. Gynecol Endocrinol, 2020, 36(5): 436-40. doi:10.1080/09513590.2019.1680627.

[16] Pervanidis K A, D' Angelo G D, Weisner J, et al. Akt inhibitor advancements: from capivasertib approval to covalent-allosteric promises[J]. J Med Chem, 2024, 67(8): 6052-63. doi:10.1021/acs.jmedchem.4c00075.