

子宫内膜基因表达的改变是孕激素抵抗的重要因素

李慕白 侯丽辉 吴效科

子宫内膜是合成女性甾体激素的重要组织,基底层临近子宫肌层并在月经周期中几乎无变化,而功能层对雌二醇(E_2)、孕酮、雄激素却具有高度敏感性和反应性,并且在月经正常排卵周期中发生脱落^[1]。卵巢合成的雌二醇可以激活增生期的子宫内膜发生增生变化,而黄体期合成的孕酮却可以抑制内膜细胞增生和细胞分化。研究发现这些功能及生理变化主要表现在子宫内膜相关基因的转录物组表达方面^[2]。孕激素是子宫内膜接受孕卵种植的重要调节激素,它不仅可以调节大量生长因子和细胞因子的表达,还可以调控子宫内膜表面上皮细胞的形态及分子的改变。孕激素可以引起子宫内膜基质成纤维细胞的分化,以形态学改变和特定的生物标志物上调为特征,例如催乳素、胰岛素样生长因子结合蛋白 1^[3]。而子宫内膜的蜕膜化却具有调节滋养细胞及白细胞迁移的重要功能。如果子宫没有接受受精卵着床,其体内的孕酮水平随即下降,即发生一系列生化反应,引起子宫内膜脱落,月经来潮^[1]。目前研究发现妇科相关疾病表现为子宫内膜的功能异常,是孕激素信号传导失调导致的。因此,本文探讨子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征及子宫内膜增生症病理生理学中孕激素抵抗的情况。

一、子宫内膜异位症

子宫内膜异位症是以子宫内膜的腺体基质出现在子宫体腔以外位置为特征的妇科良性疾病,主要发生在盆腔及卵巢。目前研究认为是由于月经逆行和(或)子宫内膜种植造成的。女性的月经逆行情况是经常发生的,但是子宫内膜异位症的发生率却仅仅只占 10% 左右,同时研究发现这可能是一个受损的炎症免疫反应来影响内膜细胞的内在因素,而不是清除病变因素。子宫内膜异位症最常见的症状是疼痛和

不孕,而不孕症的可能病因就是盆腔广泛性粘连影响卵母细胞的成熟和受精过程异常导致的。受精卵种植宫腔过程受损常常可以导致子宫内膜容受性异常,子宫内膜间质成纤维细胞蜕膜化^[4]。

1. 子宫内膜异位症患者在位内膜的孕激素抵抗: 子宫内膜异位症患者在位内膜和异位内膜在基因表达方面是不同的,异位内膜的芳香化酶表达升高,这说明 E_2 合成可以通过旁分泌机制来维持异位病变的发展^[5]。目前通过对子宫内膜基因表达的整体分析中发现,主要是从子宫内膜的位置(在位或异位)和月经周期各阶段来研究的。与非内异症女性分泌中期的内膜相比较,Kao 等^[6]研究发现具有轻微内异症患者的子宫内膜转录物组孕酮水平达到峰值,并且发现了 91 个基因表达显著升高,115 个基因表达显著降低^[6]。孕酮调控基因表达降调解,例如白介素 15, 脯氨酸富蛋白, B61, Dickkop9-1, glycodelin, N-乙酰氨基葡萄糖 6-氧-磺基转移酶和 GOS2, 表明孕激素反应降低^[6]。对整个月经周期子宫内膜转录物组的分析发现,具有显著差异的基因表达通常发生在内异症患者分泌早期的子宫内膜^[7]。而对内膜的分泌早期和中期研究发现孕酮调控基因表达(MIG6, FOXO1A, 金属硫因, glycodelin, ILIRI, stanniocalcin1)的调节显著下降^[7]。然而,子宫内膜异位症分泌早期的内膜更接近增生相,细胞有丝分裂和增生的特征通常也发生在增生相^[7]。这些研究表明孕酮介导的信号传导,抑制 E_2 诱导细胞有丝分裂发生抵抗。同时说明孕酮调控的异常与细胞周期和细胞分化中主要的基因表达无关^[7]。而与非内异症患者相比,内膜的分泌晚期无异常改变^[8]。

2. 孕酮受体表达: 孕激素信号传导是通过细胞内孕激素受体来调控不同基因的表达,包括分泌的子宫内膜及胚胎种植^[9]。孕激素受体信号包括两个基本亚型,即 PR-A 和 PR-B,是从两个不同基因表达上转录而来的,具有独立的基因编码。PR 两种亚型都会影响细胞对孕激素的反应。在小鼠动物实验研究中若敲除 PR-A 或 PR-B 基因,研究发现此两种亚

基金项目: 科技部国家“十一五”科技支撑计划(2007BAI20B015); 黑龙江省自然科学基金重点项目(ZJY0606-01)

作者单位: 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科

通讯作者: 侯丽辉, 教授, 博士生导师, 电子信箱: houlihui2007@sina.com; 吴效科, 电子信箱: xiaokewu2002@vip.sina.com

型均可以调控组织中的不同功能^[10]。子宫内膜异位症患者在位内膜与异位内膜孕激素受体的表达存在差异。子宫内膜异位症患者通常具有低水平的 PR 总蛋白,这主要是由于 PR-B 水平不易监测导致的^[11],异位病变 PR-B 调节下降,可能是 PR-B 启动了功能导致的^[12]。但是,对于内异症患者在位内膜的研究尚无定论。研究发现^[13],与非内异症女性内膜相比,PR 总蛋白水平结果相近似,然而信使 RNA 的表达却发现 PR-A/B 总基因在内膜的分泌早期呈升调节表达,以及在内膜分泌晚期调节下降,这主要是认为 PR-A 亚基的作用导致的^[7,13]。虽然 PR 基因表达存在差异,但是结果却表明孕激素受体在内异症患者的病理生理中具有潜在作用。

3. 孕激素受体信号传导:通过体外培养人内膜基质纤维细胞研究,发现不同信号级联都与孕酮反应的应答及 PKA 通路活性有关。PKA 被认为是蜕膜化过程的调节因子。在 E_2 存在的情况下,孕酮调节蜕膜化标志物 IGFBP1 和 PRL 的 RNA 和蛋白的表达上升。对内异症患者治疗,临床采用 10nmol/L 雌二醇和 1 μ m 孕酮,连续用药 14 天,可以提高 IGFBP1 和 PRL 水平^[3]。环腺苷酸(cAMP)是细胞内信号传导分子,可以加速人内膜基质纤维细胞的蜕膜化,促进孕酮受体的活性。cAMP 合成是通过腺嘌呤环化酶激活信号分子(例如 G 耦合受体),及经典地通过 PKA 信号调控基因表达。通过应用 0.5mmol/L 8br-cAMP(cAMP 类似物)连续 96h 治疗,可以增加非内异症女性人内膜基质纤维细胞的 IGFBP1 和 PRL 的 mRNA 及蛋白表达,但是同样的治疗方案应用于内异症患者,却可以导致 IGFBP1 及 PRLmRNA 和蛋白表达显著下降^[6]。这些体外培养的结果表明是由于 cAMP 的反应导致的,而不是孕酮调节紊乱导致的。以上这些显著的经典孕酮调控因子(IGFBP1, PRL, FOXO1A, stanniocalcin1)实际上具有双向的调节孕酮及 cAMP 的功能,这表明分泌期孕激素抵抗可能是内膜基质纤维细胞存在 1 个或多个途径,如 PKA 途径和(或)孕激素信号通路。目前 cAMP/PKA 和孕激素途径的交叉点在蜕膜化反应中的作用尚不明确。但是,目前研究采用 cAMP 联合孕酮治疗取得了 IGFBP1 最大化的表达,这表明 cAMP 可以增强孕酮目的基因的表达,即 PKA 途径与孕激素信号通路存在交叉,并且是通过孕激素受体调控的^[14]。在内异症中,通过激活 cAMP 的活性反应中孕激素受体的异常调节可以说明孕激素抵抗。孕激素受体的共同激动

剂 Hic-5 在内膜组织及体外培养人内膜基质纤维细胞的研究中发现 Hic-5 在非内异症女性的内膜基质细胞中随月经周期而变化,但在内异症女性的成纤维细胞中表达是下降的甚至无表达^[13]。然而,Hic-5 mRNA 在非内异症女性是通过 cAMP 上调,而不是内异病灶和人内膜基质纤维细胞调节的,这表明在位的子宫内膜基质细胞具有使 cAMP/PKA 途径活化的功能。这也强调了一种重要的机制,即 cAMP 可能增加孕激素受体的反应性基因表达,通过孕激素受体的共同激动剂 Hic-5 来诱导完成的。cAMP/PKA 水平和孕激素信号途径交叉在受损的内异症患者人内膜基质纤维细胞中,因此可能导致孕激素抵抗^[13]。孕激素抵抗可能也与内膜甾体激素合成异常有关。子宫内膜异位症患者的人内膜基质纤维细胞经过 cAMP 和(或)孕酮治疗,可以调节合成 E_2 的甾体激素合成酶,特别是 HSP3B1, HSD17B1 及芳香化酶的表达^[3],增加雌激素的合成与维持 E_2 调控基因在内膜分泌早期相一致^[7]。子宫内膜异位症的动物模型实验也指出孕激素抵抗出现于内异症患者的在位内膜。当正常小鼠的内膜出现在异位部位时,常导致孕酮基因反应性表达下降,与子宫内膜的容忍性密切相关^[15],同时增加总 PR-A/B 水平及 PR-B/PR-A/B 比率。在猩猩实验中诱导内异症模型发现,在位内膜孕酮调控基因表达下降,包括 glycodeclin 及 HOXA10^[4],同时孕酮受体表达调节下降与疾病进程有关^[16],缺少 FKBP52(PR 的伴随物质)可以降低子宫内膜异位症的子宫内膜孕激素受体,减轻内膜炎症,导致子宫特定的孕激素抵抗^[17]。

4. 孕激素类和子宫内膜异位症:尽管子宫内膜异位症患者的子宫内膜存在孕激素抵抗,但是临床中仍然采用一些孕激素类药物作为治疗子宫内膜异位症的药物。应用醋酸甲羟孕酮治疗 6 个月后,发现内异症患者可以显著改善盆腔痛及腹腔部位内膜病灶。醋酸去乙酰环丙氯地孕酮是一种 17 羟孕酮衍生物,它可以与乙炔雌二醇结合,显著减轻子宫内膜异位症患者的盆腔疼痛症状。但是这些药物都没有改善妊娠率,这就说明孕激素抵抗对于子宫内膜异位症患者在位内膜产生一种作用^[16,17]。相反的,应用辅助生殖技术后妊娠率显著改善,几乎达到非子宫内膜异位症女性的妊娠率,但是这种纠正孕激素抵抗的情况是否发生在辅助生殖技术调控卵巢刺激的情况下还需要进一步研究。

二、其他内膜病理学

1. 多囊卵巢综合征 (PCOS): 多囊卵巢综合征是一种育龄期女性常见的内分泌紊乱性疾病, 具有排卵障碍及高雄激素血症的特征, 可以引起月经失调、不孕, 通常与胰岛素抵抗、糖尿病、肥胖密切相关^[2]。通过对 PCOS 患者的内膜进行研究发现跨膜 4 超家族成员 4 和基质金属蛋白酶 26 调节基因表达下降, 对胚胎种植具有重要意义。尽管仍需要进一步的研究, 但是 PCOS 在高雄激素患者中确实发现了内膜存在孕激素抵抗。

2. 子宫内膜增生症及子宫内膜癌: 内膜增生症是一种以内膜细胞过度增生为主要特征, 由于雌二醇水平较高, 孕酮水平太低所引起的疾病, 也是引发内膜癌的高危因素。在临床中, 孕激素类药物被广泛应用于治疗内膜增生症, 但是孕激素类治疗却有高达 30% 的患者没有效果, 尤其是不典型增生的患者^[21]。孕激素抵抗与孕酮受体降低活性、内膜腺体细胞生长因子 α 和表皮生长因子受体失调、表皮生长因子途径调节上升、胰岛素抵抗, 还与细胞凋亡有关, 可以增加 Bcl-2, 降低 Fos 表达有关^[18]。

子宫内膜是雌二醇和孕酮作用的主要靶组织, 扰乱激素合成相关组织轴, 可能引发内膜功能受损, 当内膜功能失调时可引发甾体激素合成异常, 特别是孕酮。这可能与组织局部反应性改变有关。孕酮反应性的这些改变, 可能是由于受体的表达或活性异常导致的。在子宫内膜异位症患者异位内膜基质或成纤维细胞分离培养中发现, 抗蜕膜化的孕激素刺激和 (或) cAMP 仍然存在, 这表明细胞存在一种内在的缺陷, 研究主要集中在内膜抵抗的基因组及孕酮受体表达和功能的调控方面, 特别是共同调控因子。因此, 研究发现某些信号通路如 cAMP/PKA 途径和 (或) 孕激素信号通路, 被认为是子宫内膜异位症的发病机制, 可以识别出潜在的治疗目的, 并发展成新的治疗方法。

参考文献

- Giudice LC. Endometrium in PCOS: implantation and predisposition to endocrine CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2006, 20 (2): 235 - 244
- Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, *et al.* Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo - ovulatory women. *Endocrinology*, 2006, 147 (3): 1097 - 1121
- Aghajanova L, Hamilton A, Kwintkiewicz J, *et al.* Steroidogenic enzyme and key decidualization marker dysregulation in endometrial stromal cells from women with versus without endometriosis. *Biol Reprod*,

- 2009, 80 (1): 105 - 114
- Kim JJ, Taylor HS, Lu Z, *et al.* Altered expression of HOXA10 in endometriosis: potential role in decidualization. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13 (5): 323 - 332
- Matsuzaki S, Canis M, Vaur - Barriere C, *et al.* DNA microarray analysis of gene expression profiles in deep endometriosis using laser capture microdissection. *Mol Hum, Reprod*, 2004; 10 (10): 719 - 728
- Kao LC, Germeyer A, Tulac S, *et al.* Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease - based implantation failure and infertility. *Endocrinology*, 2003, 144 (7): 2870 - 2881
- Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, *et al.* Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology*, 2007, 148 (8): 3814 - 3826
- Sherwin JR, Sharkey AM, Mihalyi A, Simsa P, Catalano RD, D'Hooghe TM. Global gene analysis of late secretory phase, eutopic endometrium does not provide the basis for a minimally invasive test of endometriosis. *Hum Reprod*, 2008, 23 (5): 1063 - 1068
- Slayden OD, Keator CS. Role of progesterone in nonhuman primate implantation. *Semin Reprod Med*, 2007, 25 (6): 418 - 430
- Conneely OM, Mulac - Jericevic B, DeMayo F, *et al.* Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Prog Horm Res*, 2002, 57: 339 - 355
- Prentice A, Randall BJ, Weddell A, *et al.* Ovarian steroid receptor expression in endometriosis and in two potential parent epithelia: endometrium and peritoneal mesothelium. *Hum Reprod*, 1992, 7 (9): 1318 - 1325
- Wu Y, Strawn E, Basir Z, *et al.* Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR - B) in endometriosis. *Epigenetics*, 2006, 1 (2): 106 - 111
- Aghajanova L, Velarde MC, Giudice LC. The progesterone receptor coactivator Hic - 5 is involved in the pathophysiology of endometriosis. *Endocrinology*, 2009, 150 (8): 3863 - 3870
- Buzzio OL, Lu Z, Miller CD, *et al.* FOXO1A differentially regulates genes of decidualization. *Endocrinology*, 2006, 147 (8): 3870 - 3876
- Lee B, Du H, Taylor HS. Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and altered gene expression in eutopic endometrium. *Biol Reprod*, 2009, 80 (1): 79 - 85
- Jackson KS, Brudney A, Hastings JM, *et al.* The altered distribution of the steroid hormone receptors and the chaperone immunophilin FKBP52 in a baboon model of endometriosis is associated with progesterone resistance during the window of uterine receptivity. *Reprod Sci*, 2007, 14 (2): 137 - 150
- Hirota Y, Tranguch S, Daikoku T, *et al.* Deficiency of immunophilin FKBP52 promotes endometriosis. *Am J Pathol*, 2008, 173 (6): 1747 - 1757
- Chen X, Zhang Z, Feng Y, *et al.* Aberrant surviving expression in endometrial hyperplasia: another mechanism of progestin resistance. *Mod Pathol*, 2009, 22 (5): 699 - 708

(收稿: 2010 - 07 - 08)