

三苯氧胺治疗后子宫肌瘤组织性激素及其受体变化

梁晓燕^① 梁贵尚

(中山医科大学附属第一医院妇产科, 广州 510080)

提 要 对24例子子宫肌瘤患者血清雌、孕激素及多处子宫组织的雌、孕激素及其受体进行测定。结果显示:子宫肌瘤组织雌二醇(E_2), E_2 胞浆受体(EcR)、孕激素胞浆受体(PcR)、和 E_2 胞核受体(EnR)的含量均显著高于正常子宫肌组织($P < 0.05 \sim 0.001$),且增生期肌瘤组织 E_2 与 EcR 正相关 $r = 0.70$, $P < 0.05$,血 E_2 及孕酮(P)与各处宫肌组织 E_2 及 P 无关,瘤旁子宫肌与正常宫肌的组织激素和受体含量无显著差异。另16例子子宫肌瘤患者用三苯氧胺(tamoxifen, TAM)治疗4.3个月后宫体体积缩小,其中10例兼行手术者的瘤组织 E_2 及 EnR 水平显著下降,镜下可见广泛退行性变及坏死。研究提示:子宫肌瘤局部可能形成异常高的 E_2 及 E_2 受体(EP)环境,肌瘤的发生存在多中心性趋势。TAM 可抑制瘤组织对 E_2 摄取和 EcR 的核转移,并使核保留减少,从而降低 EnR 的含量,达到治疗子宫肌瘤的目的。

主题词 子宫肌瘤/药物治疗;受体,雌激素/分析;受体,孕激素/分析;三苯氧胺/治疗应用

中图分类号 R 737.33

子宫肌瘤在我国35岁以上妇女中发病率达20%。它的发生发展与雌激素过多作用有关,近40年来使用甾体类抗雌激素药物保守治疗取得一定效果。本研究从血清和子宫多处肌组织中测定雌、孕激素和其胞浆、胞核受体含量,以及用非甾体类抗雌激素药物三苯氧胺(tamoxifen, TAM)治疗后,观察血清、子宫肌及肌瘤组织雌、孕激素受体的变化和病理组织学的改变,旨在进一步探讨子宫肌瘤发生发展的规律及 TAM 的作用原理。

1 资料与方法

1.1 对象与分组

随机选择临床检查及 B 超诊断的子宫肌瘤患者40例,其中16例为治疗组,年龄33~51岁(40.5岁 \pm 5.5岁),月经周期25~35d,

治疗前3个月未用过激素类药,口服三苯氧胺(TAM)每日20mg,平均用药时间4.3个月,每1~2个月定期复查B超及血雌二醇(E_2),孕酮(P)。10例于服药停止后24h内行子宫全切术。标本经组织学证实为平滑肌瘤,分别测定正常宫肌组织(距肌瘤2~3cm),瘤旁组织(接近肌瘤的肌组织)和瘤体3处的 E_2 、P、雌激素胞浆受体(EcR)及胞核受体(EnR),孕激素胞浆受体(PcR)浓度。对照组24例子宫肌瘤患者年龄26~54岁(42.1岁 \pm 7.1岁),行子宫全切术或肌瘤剔除术,取材及测定同治疗组。患者月经周期以月经日期,血激素水平和内膜组织学来判断。

1.2 测定方法

1.2.1 受体测定 切除的子宫标本立即置液氮中保存不超过2个月,参考 Bayard 等饱和交换法^[1]检测受体量。饱和曲线及

^① 第一作者,1962年出生,女,博士,主治医师

Scatchord 作图法显示各类受体解离常数 K_d 均在 10^{-9} mol 水平, 蛋白测定参考考马斯亮蓝法^[2], DNA 含量测定用二苯胺法^[3]。

1.2.2 激素测定 组织激素测定以 Runnebaum 等方法改良^[4]组织匀浆后乙醚抽提。血清标本为取空腹血后分离血清置 -20°C 储存。用上海生物研究所提供的氘标记放免药盒, 乙醚提取回收率 E_2 平均 91%, P 平均 82%。

1.2.3 统计学处理 采用分组 t 检验及相关分析。

2 结 果

2.1 对照组血清及组织 E_2 、 P 含量

血清 E_2 、 P 在周期中出现波动, 但与组织中对应该激素无明显相关。3 处组织的 E_2 随月经周期激素水平变化而改变, 增生期升高, 分泌期下降。其中瘤组织 E_2 极显著高于相应期的正常宫肌, $P < 0.001$, 瘤旁肌介于其中间 ($P < 0.05 \sim 0.001$)。 P 在各组织相应期含量均是恒定的 (表 1)。

表 1 血清及组织 E_2 、 P 含量¹⁾ (血清 pmol/L, 组织 pmol/mg, $\bar{x} \pm s$)

血清(n)	正常宫肌(n)	瘤旁宫肌(n)	肌瘤组织(n)	
增生期 E_2	1415.7 ± 390.5(8)	59.9 ± 10.7(9) ²⁾	78.6 ± 23.5(13) ^{5), 6)}	127.0 ± 22.4(13) ³⁾
分泌期 E_2	1138.2 ± 261.8(11)	33.5 ± 16.0(9)	37.2 ± 23.2(10) ⁴⁾	95.1 ± 22.3(11) ³⁾
增生期 P	2.4 ± 0.9(8)	0.3 ± 0.1(9)	0.3 ± 0.1(13)	0.5 ± 0.2(13)
分泌期 P	38.5 ± 7.9(11)	0.8 ± 0.2(9)	0.9 ± 0.3(10)	1.0 ± 0.3(11)

1) 组织中激素含量以每 mg 组织蛋白来表示; 2) 与同组织分泌期相比 $t = 4.052$, $P < 0.001$; 3) 与同周期正常子宫肌组织相比; 分泌期 $t = 6.937$, $P < 0.001$; 增生期 $t = 8.309$, $P < 0.001$; 4) 与同周期肌瘤组织相比; $t = 5.830$, $P < 0.001$; 5) 与同周期肌瘤组织相比; $t = 5.375$, $P < 0.001$; 6) 与同周期正常子宫肌相比; $t = 2.220$, $P < 0.05$

2.2 组织 EcR、PcR、EnR 含量及在月经周期中的波动

肌瘤组织的 EcR、PcR 及 EnR 含量均显

著高于正常宫肌及瘤旁宫肌约 2 倍, 正常宫肌瘤旁肌之间 EcR 与 PcR 含量相似 (表 2)。

表 2 组织 EcR、PcR、EnR 含量¹⁾ (fmol/mg, $\bar{x} \pm s$)

组 织	EcR(n)	t	PcR(n)	t	EnR(n)	t
正常肌组织	35.9 ± 5.7(18)		57.3 ± 10.8(18) ³⁾	10.047	330.1 ± 38.0(18)	
瘤旁肌组织	34.4 ± 6.3(23) ¹⁾	11.516	50.8 ± 7.2(23) ³⁾	10.86		
肌瘤组织	61.6 ± 9.5(24) ⁴⁾	10.169	101.1 ± 15.93(24)		714.2 ± 85.5(21) ⁵⁾	17.602

1) 细胞浆受体含量以每 mg 组织蛋白来表示, 细胞核受体 (EnR) 以每 mg 组织 DNA 中的含量来表示; 2) 与肌瘤组织相比, $P < 0.001$; 3) 与肌瘤组织相比, $P < 0.001$; 4) 与正常宫肌组织相比, $P < 0.001$; 5) 与正常宫肌组织相比, $P < 0.001$

按月经周期分组比较发现: 瘤组织 EcR 和 EnR 在增生期分别为 (58.7 fmol/mg ± 12.2 fmol/mg, 694.6 fmol/mg ± 133.8 fmol/mg) 及分泌期分别为 (59.0 fmol/mg ± 13.8 fmol/mg; 732.0 fmol/mg ± 114.9 fmol/mg)

mg) 相对恒定; 而且 EnR 明显高于正常宫肌 (311.3 fmol/mg ± 60.1 fmol/mg 及 348.8 fmol/mg ± 43.3 fmol/mg) $P < 0.05$ 。瘤组织 EcR 与 E_2 在增生期呈正相关 ($r = 0.70$, $P < 0.05$)。瘤组织的 EcR 与 EnR 在分泌期呈

正相关($r=0.74$, $P<0.01$),正常宫肌无此变化。

2.3 TAM 治疗后激素及受体的变化

16例经 TAM 治疗后的患者增生期血 E_2 由 $1421.9 \text{ pmol/L} \pm 353.4 \text{ pmol/L}$ 降为 $832.4 \text{ pmol/L} \pm 207.5 \text{ pmol/L}$ ($P<0.001$)。血 P 由 $5.4 \text{ pmol/L} \pm 1.3 \text{ nmol/L}$ 上升为 $11.1 \text{ pmol/L} \pm 1.9 \text{ nmol/L}$ ($P<0.05$)。分泌期

无变化。组织 E_2 、P 的变化见表3;瘤组织 E_2 和 P 均显著下降。与对照组比较,治疗后正常子宫肌组织和瘤组织的 EcR(瘤组织 $72.31 \text{ fmol/mg} \pm 45.16 \text{ fmol/mg}$), PcR ($98.56 \text{ fmol/mg} \pm 50.14 \text{ fmol/mg}$) 均无显著差别, $P>0.05$,而瘤组织 EnR(治疗后为 $288.14 \text{ fmol/mg} \pm 41.24 \text{ fmol/mg}$) 明显降低。 $t=14.492$, $P<0.001$ 。

表3 治疗组与对照组组织 E_2 、P 的变化 (E_2 fmol/mg, P pmol/mg, $\bar{x} \pm s$)

	增生期				分泌期			
	对照组(n)	治疗组(n)	t值	P	对照组(n)	治疗组(n)	t值	P
子宫肌组织 E_2	59.8±10.7(9)	23.9±10.9(7)	6.604	<0.001	33.4±16.0(9)	26.4±8.8(3)	0.707	>0.05
瘤组织 E_2	127.5±22.4(13)	23.5±8.7(7)	11.696	<0.001	95.1±22.2(11)	11.5±4.4(3)	6.309	<0.001
子宫肌组织 P	0.3±0.1(9)	0.5±0.2(7)	2.632	<0.02	0.8±0.2(9)	0.4±0.1(3)	3.254	<0.01
瘤组织 P	0.5±0.2(13)	0.2±0.1(7)	3.704	<0.05	1.1±0.3(11)	0.4±0.2(3)	3.225	<0.01

2.4 治疗后子宫体积及临床变化

子宫体积=纵经×横经×前后径× $\pi/6$, 月经后1周内 B 超定期测量(与手术样本测量比较 $r=0.90$),治疗组16例服药前平均体积为 $246.4 \text{ cm}^3 \pm 34.4 \text{ cm}^3$, 治疗后为 $199.9 \text{ cm}^3 \pm 17.2 \text{ cm}^3$, 缩小者占75%。缩小最多达原体积的46%,最少为3%。服 TAM 半个月~1个月,有14例(88%)月经量减少,5例(31%)月经周期延长为35~45d;3例(19%)停经,黄体酮撤退性出血阳性;1例(6%)有轻度皮疹出现,服抗过敏药后可继续接受治疗,未发现血小板、肝功能及视力等变化。10例服 TAM 后手术切除的瘤体与24例对照组的瘤体对照比较,每一切片观察10个高倍视野。结果:治疗组40%出现明显退变(各种变性坏死>2/3;20%表现轻度变性(各种变性坏死<1/3) $P<0.01$ 。

3 讨 论

研究认为 E_2 对靶器官的作用取决于:①血的 E_2 浓度,②靶器官中 E_2 浓度,ER 含量、亲和力及在胞核内停留时间等。Lumsden 等

报道子宫肌瘤患者血 E_2 、P 浓度与正常人相比无异常增高^[5],本研究证明子宫肌瘤组织 E_2 、P 含量高且相对恒定。说明肌瘤局部有独立摄取血中 E_2 的能力,形成高浓度且相对恒定的 E_2 环境对其发生发展起重要的作用。同时瘤组织中过高的 E_2 升调节(up regulation)作用使局部 EcR 增高,产生异常强的活化特定基因位点的生物学效应。瘤组织异常高的 EcR 与其 EnR 相关,提示受体活化增加,核转移量也增加,更多的活化激素受体复合物与特定核内接纳体相结合,促进肌细胞过度增生^[6]。瘤组织相对高而恒定的 PcR 推测与肌瘤的大小及患者分泌功能不足致使 P 降调节(down regulation)不明显有关,这可能成为肌瘤持续生长的一个因素^[7]。多点取材证明:瘤旁宫肌与正常宫肌 EcR、PcR 含量无显著差异。瘤旁宫肌中 E_2 、P 正常的生物学效应,证实肌瘤多中心存在。但瘤旁肌 E_2 、P 含量确高于正常宫肌,可能瘤组织中摄控能力不足致 E_2 、P 弥散入瘤旁肌,或进一步诱导 E_2 、P 增加而产生新的瘤结节,尚值得研究。

服 TAM 后增生期血 E_2 降低, P 明显升高, 可能是: ①药物作用于卵巢 ER, 改变某些酶的活性(芳香化酶活性降低)抑制 E_2 生成, 使其前体 P 合成增加^[8]。②TAM 与垂体 ER 结合影响 E_2 的反馈作用以及垂体对促进性腺激素(GnRH)的敏感性受影响。③TAM 直接与下丘脑的 ER 结合使 GnRH 释放受影响。服药后, 组织中 E_2 水平在正常宫肌 E_2 及瘤组织均显著降低与 Furr (1984) 等报道一致。组织 EcR、PcR 服药后在二组患者均无显著差异, 而瘤组织 EnR 水平则显著低至正常宫肌水平, 推测 TAM 进入机体代谢生成具有高度活性的与 E_2 亲和的 4-羟基 TAM。进入靶细胞后竞争性地与 EcR 结合, 产生早期 EcR 胞核转移, 可能引起早期轻度类雌激素反应。而 TAM 与 ER 的结合力低于 E_2 。入核的 TAM-EnR 复合物解离, 受体核外转移和胞浆再循环结果使核保留减少, 同时, TAM 抑制组织摄取血 E_2 而其自身半衰期又长于 E_2 , 这样组织 E_2 -EcR 复合物减少, 胞核转移延迟, 从而达到阻止复合物生成和入核与 DNA 特异核接纳体结合, 从基因水平研究提示 ER 基因序列不同组织存在差异^[9]。可能存在肌瘤所含的 EcR 与 TAM 结合的亲合性增加, 抑制 E_2 与 EcR 的结合, 降低其对蛋白质合成的促进作用, 阻止细胞代谢生长^[10]。使瘤组织出现普遍退行性变与坏死, 肿瘤体积缩小, 临床症状缓解、消失, 达到治疗目的。

参 考 文 献

1 Bayard F, Damilano S, Robl P, *et al.* Cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone recep-

tor in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*, 1978, 46:635

2 Bardford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochem*, 1976, 72:243

3 Burton K. Study of conditions and mechanisms of piperonylamine reaction for colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem J*, 1956, 63:315

4 Runnebaum B, Klinga K, Holst TV, *et al.* Steroids in human myometrium and peripheral blood during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol*, 1973, 1:36

5 Lumsden MA. Goscrelin therapy before surgery for uterine fibroids. *Lancet*, 1987, 1:36

6 高永良. 雌孕激素受体与女性生殖系统. 国外医学妇产科学分册, 1983, (6):321

7 Gorodeski IG, Bahary CM, Beery R, *et al.* Characterization and assay of the nuclear and cytosolic progesterone (P) receptors in premarin-primed human endometrium and myometrium after single-dose P administration. *Fertil Steril*, 1986, 45:788

8 Jordan VC, Koerner S. Tamoxifen as an anti-tumour agent: Role of oestradiol and prolactin. *J Endocrinol*, 1976, 68:305

9 Taylor JA, Liy A, You M, *et al.* B region variant of the estrogen receptor gene. *Nucleic Acids Res*, 1992, 22:2895

10 Lerner LJ, Jordan VC. Development of antiestrogens and their use in breast cancer; Eighth cain memorial award lecture. *Cancer Lecture*, 1990, 50:4177

(1995-06-16收稿 1996-02-02修回)

CONCENTRATION CHANGES OF SEX HORMONES AND THEIR RECEPTORS IN THE HUMAN UTERINE LEIOMYOMA AFTER TAMOXIFEN THERAPY

Liang Xiaoyan Liang Guishang

(Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital,
Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

The E_2 and P concentration in the serum and myoma tissue of 24 patients were determined. The receptors of E_2 and P in the tissue also determined. The authors found that the concentration of E_2 , the cytosolreceptor of E (EcR), P (PcR) and nuclear receptor of E (EnR) in the myoma tissue were significantly higher than that of normal uterine tissues ($P < 0.05 \sim 0.001$). E_2 and EcR in leiomyoma demonstrated a significant positive correlation during proliferative phase ($r = 0.70$, $P < 0.05$). No relation was observed between E_2 , P concentration in serum and that in uterine tissue. There are no significant differences in tissues E_2 , P and their receptors between normal uterine tissues and myometrium juxta leiomyoma. Fourteen patients with leiomyomas were treated with tamoxifen (TAM) for 4.3 months. The uterine volume was markedly decreased, the high levels of E_2 and EnR of their leiomyomas were also decreased significantly (10 cases received hysterectomy). Large areas of various degenerative changes and necrosis were seen upon microscopic examination. This study suggest that abnormal higher concentrations of E_2 and EcR exist in leiomyoma, the growth of leiomyoma may occur in multiple center. TAM may decrease intake of E_2 from peripheral blood and reduce the concentration of EnR in leiomyoma. Therefore, it can be used in the treatment of leiomyoma effectively.

Subject headings uterine neoplasms/drug therapy; receptors, estrogen/analysis receptors, progesterone/analysis; tamoxifen/therapeutic use