维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)01-0048-04

ER、PR、VEGF 及其受体在原因不明月经过少发病机制中的作用

袁 瑞 ,乐爱文,姚珍薇,耿 力

(重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016)

【摘 要】目的:通过对子宫内膜组织中雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、血管内皮生长因子((VEGF)及其受体(KDR)表达的研究,探讨原因不明月经过少的发病机制。方法:2004 年 9 月至 2005 年 12 月重庆医科大学附属第一医院以前瞻性方法观察月经过少组(观察组)和正常月经组(对照组)患者各 40 例,采用酶联免疫测定法,测定两组血清 6 项性激素,包括卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌激素(E2)、催乳素(PRL)、孕酮(P)及睾酮(T),通过免疫组化半定量测定两组子宫内膜组织中 ER、PR、VEGF、KDR 的表达水平。结果:两组血清性激素水平 FSH、LH、E2、PRL、P 及 T 差异无显著性意义($P>0.05$);观察组子宫内膜 ER、VEGF 和 KDR 的表达明显低于对照组(P 值分别为 <0.05);两组子宫内膜腺上皮细胞 PR 的表达差异无显著性意义($P>0.05$)。结论:子宫内膜组织中 ER、VEGF 和 KDR 的异常表达可能导致原因不明的月经过少。

【关键词】月经过少;血管内皮生长因子;雌激素受体;孕激素受体

【中国图书分类法分类号】R711.51 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-06-15

Functions of vascular endothelial growth factor, estrogen receptor and progesterone receptor in the pathogenesis mechanism of hypomenorrhea

YUAN Rui et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To discuss the possible pathogenesis mechanisms of hypomenorrhea by investigating the expression of estrogen receptors(ER), progesterone receptors(PR), vascular endothelial growth factor(VEGF)and kinase insert domaincontaining receptor (KDR)in the endometrium. *Methods*: We designed a prospective study on forty patients with hypomenorrhea as study group, and forty women with normal menorrea as control, all of them being treated in The First Affiliated Hospital Of Chongqing Medical University between September, 2004 and December, 2005. Follicle stimulatinghormone (FSH), luteinizinghormone (LH), estradiol(E2), prolactin(PRL), progesterone(P)and testosterone(T)were examined by ELISA. And the expression of ER、PR、VEGF and KDR were examined by immunohistochemical semiquantitative nalysis. *Results*: There was no significant difference in FSH, LH, E2, PRL, P and T between the two groups ($P>0.05$). The expressions were remarkably of endometrial ER、VEGF and KDR in the study group as extremely lower than those in the control group, and the statistical difference between the two groups were all significant($P<0.05$). And there was no significant difference in the expression of PR between the two groups($P>0.05$). *Conclusion*: ER、VEGF and KDR may be relevant to the occurrence of hypomenorrhea.

【Key words】Hypomenorrhea; Vascular endothelial growth factor (VEGF); Estrogen receptors(ER); Progesterone receptors(PR)

一次月经出血量少于 30ml, 称为月经过少,是近年来逐渐引起临床关注的一类症状。其危害是影响孕卵在子宫内膜种植,导致反复流产、不孕、是闭经的前驱症状等。经典理论认为性激素水平下降[1]、子宫内膜损伤(如 Asherman 综合征)、先天性子宫发良不良及内科疾病等是其主要原因。但在临床中我们发现越来越多的育龄妇女, 一般情况良好,既往月经正常,无明确子宫内膜损伤史,性激素水平也在正常范围,却出现月经逐渐过少的症状,予性激素替代治疗,无明显效果甚至无效,我们称为原因不明月经过少。这是传统经典学说所无法解释的。同时,我们对大量月经过少患者进行宫腔镜检查发现,月经过少患者中有许多病员的子宫内膜光滑菲薄,表现为生长发育不良。与传统的子宫内膜损伤、疤痕学说并不吻合。面对大量由此导致的反复流产、不孕症患者,

作者介绍:袁 瑞(1964-)女,副教授,副主任医师,博士,主要研究方向:妇科内窥镜及肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

目前临床尚无解决方案。雌激素是通过与雌激素受体(Estrogen Receptor,ER)结合而发挥其生物学效应。作用体现在:一方面促进子宫内膜血管的周期性重建，主要通过介导血管内皮生长因子(VEGF)的表达来实现;另一方面促进子宫内膜的增生修复。目前,我们的病员雌激素水平正常,由此我们自然想到是否雌激素受体环节出现障碍。

本文通过对子宫内膜组织中雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、血管内皮生长因子(VEGF)、血管内皮生长因子受体(KDR)的检测,探讨月经过少的发病机制，试图为进一步研究和治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 对象

观察组:2004 年 9 月至 2005 年 12 月因月经过少在重庆医科大学附属第一医院就诊的患者 40 例,年龄 25~39 岁,平均 30.63 ± 2.56 岁。主述既往月经正常,出现月经过少的时间 3~24 月,平均 6.58 ± 9.32 月,有 18 例曾接受性激素周期性治疗无效,合并继发不孕 12 例,反复流产 10 例。原因不明月经过少纳入标准:(1)经量少于 30ml,经期少于 3 天,(2)性激素水平检测在正常范围,(3)宫腔镜检查:子宫内膜光滑菲薄,宫腔无粘连,输卵管开口清晰可见,(4)排外子宫先天性畸形,(5)B 超:子宫内膜厚度 <5mm。

对照组:同期因其他原因在我院就诊或行全子宫切除的正常月经妇女 40 例,年龄 28~40 岁,平均 32.63 ± 2.56 岁。其中粘膜下子宫肌瘤 13 例,子宫内膜息肉 12 例,异常子宫出血 6 例,子宫中隔 4 例,取宫内节育器 5 例。

两组病例均无内外科疾病如糖尿病、甲状腺、肾上腺等内分泌疾患。为了避免不同月经周期体内性激素水平变化对检测结果的影响,两组病例均选择在卵泡期手术取材,检查前 3 月未接受性激素治疗。

1.2 设备与方法

1.2.1 手术设备 美国史赛克公司 5.07mm 连续灌流宫腔检查及治疗镜,灌流液为 5%葡萄糖液或 5%甘露醇液。B 超声仪为 Dornier AI5200S 型实时线阵超声仪，探头频率为 315MHz。

1.2.2 手术方法(1)宫腔镜检查术:常规用 2%利多卡因宫颈局部浸润麻醉，膨宫压力设为 100mmHg，灌流液流速为 240ml/min,

1.2.3 标本采集 (1)观察组:宫腔镜检查术中取适量内膜组织,10%甲醛溶液固定,常规送病理检查,免疫组化法测定 ER、PR、VEGF 及 KDR。(2)对照组:粘膜下子宫肌瘤、子宫内膜息肉、子宫中隔、异常子宫出血、取宫内节育器的患者在行宫腔镜检查时取适量子宫内膜组织常规病理检测,采用免疫组化法测定 ER、PR、VEGF 及 KDR。

1.2.4 检测方法 (1)所有组织常规石蜡包埋,切片厚 5μm,HE染色,光镜观察。(2) ER、PR、VEGF 及 KDR 的检测,采用 SP 免疫组化法进行。(3)结果判断及半定量分析:测定 ER、PR、VEGF 及 KDR 的表达量:细胞核内的棕黄色颗粒为 ER、PR 的阳性产物,细胞质内的棕黄色颗粒为 VEGF 及 KDR 的阳性产物。用图像分析仪 Leica Q500IW 进行灰度测定,每 1 例标本在高倍(×400)光镜下随意取 3 个视野,测定子宫内膜 ER、PR、VEGF 及 KDR 的表达量,得出每个视野的均灰度值(无单位)。灰度值与 ER,PR 和 VEGF 和 KDR 的表达量成反比。

1.2.5 性激素检查时间 于卵泡期空腹状态上午 9 时以前抽取静脉血检查。

1.2.6 性激素检查方法 采用酶联免疫测定法，药盒为美国 Biocheck 公司生产,测定血清 6 项性激素:包括卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌激素(E2)、催乳素(PRL)、孕酮(P)及睾酮(T)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS613.0 软件包数据以 ($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 ER 和 PR 在子宫内膜中的表达

ER 和 PR 主要在子宫腺上皮细胞、内膜基质细胞和血管内皮细胞的胞核内表达。ER 在原因不明月经过少组子宫内膜中的表达明显弱于正常对照组子宫内膜,($P<0.05$)(图 1~2,表 1);PR 在两组中的表达则无显著性差异($P>0.05$)(表 1)

2.2 VEGF 和 KDR 在子宫内膜中的表达

VEGF 和 KDR 主要表达于腺上皮细胞和血管内皮细胞的胞质内;VEGF 和 KDR 在原因不明月经过少组子宫内膜中的表达明显减弱,与正常子宫内膜相比有显著性差异($P<0.001$)(图 3~6,表 1)。

2.3 两组血清 6 项激素水平比较。

见表 2

3 讨 论

在正常妇女的月经周期中,子宫内膜雌激素受体含量呈周期性变化,雌、孕激素的作用又是通过

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 原因不明月经过少组和正常对照组子宫内膜 ER、PR、VEGF 及 KDR 免疫反应平均灰度值比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组(n=40)	观察组(n=40)	t	P
ER	113.98 ± 6.45	123.31 ± 13.56	2.639	0.013
PR	116.84 ± 9.36	117.73 ± 11.40	0.564	0.573
VEGF	123.38 ± 13.46	159.56 ± 9.81	10.218	0.001
KDR	126.25 ± 13.65	145.16 ± 7.26	4.68	0.001

表 2 两组血清性激素水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组(n=40)	观察组(n=40)	P
E2(pmol/L)	204.99 ± 118.06	218.17 ± 106.26	0.726
P(nmol/L)	2.26 ± 0.68	2.48 ± 1.18	0.378
FSH(IU/L)	56.78 ± 1.98	54.48 ± 1.69	0.752
LH(IU/L)	6.53 ± 2.53	5.86 ± 2.66	0.286
PRL(nmol/L)	14.26 ± 8.21	12.56 ± 6.81	0.489
T(nmol/L)	1.56 ± 0.32	1.52 ± 0.46	0.861

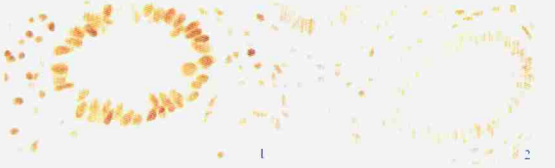


图 1 ER 在对照组子宫腺上皮细胞和内膜基质细胞中的表达 ×132(下同)。(SP 法,×400)
图 2 ER 在原因不明月经过少组子宫腺上皮细胞和内膜基质细胞中的表达。(SP 法,×400)

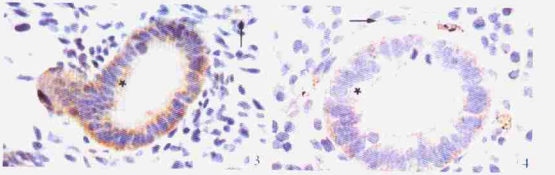


图 3 VEGF 在对照组子腺上皮细胞(*)和血管内皮细胞(↑)中的表达。(SP 法,×400)
图 4 VEGF 在原因不明月经过少组子宫腺上皮细胞(*)和血管内皮细胞(↑)中的表达。(SP 法,×400)

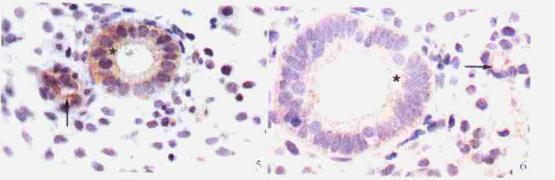


图 5 KDR 在对照组子腺上皮细胞(*)和血管内皮细胞(↑)中的表达。(SP 法,×400)
图 6 KDR 在原因不明月经过少组子宫腺上皮细胞(*)和血管内皮细胞(↑)中的表达。(SP 法,×400)

维普资讯 http://www.cqvip.com

子宫内膜细胞中特异的激素受体改变来调节的[1]。本文观察组与正常对照组子宫内膜在增生期血卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌激素(E2)、催乳素(PRL)、孕酮(P)及睾酮(T)水平无差异,两组PR表达水平相比差异无显著性意义。但ER、VEGF及KDR表达在观察组低于对照组,差别有显著性。说明雌激素可能通过与其受体结合发挥作用,进而影响VEGF及KDR的表达。

子宫内膜新血管形成的过程,受多种因子调控,其中VEGF被认为是作用最强、特异性最高的调控因子。VEGF主要作用于血管内皮细胞,与内皮细胞上的KDR和Flt-1受体高亲和力结合后可作为内皮细胞特异性有丝分裂原,诱导内皮细胞增生、毛细血管袢形成,同时还可增加微血管通透性,通过诱导间质产生,促进体内新血管的生成[2]。本研究中观察到观察组和正常对照组子宫内膜腺上皮和血管内皮细胞同时表达VEGF和KDR,提示自分泌或旁分泌是VEGF促进血管生成的重要途径。VEGF通过自分泌或旁分泌机制刺激血管内皮增生、移位和结构形成,促进血管生长发育并维持血管的通透性。Herve MA[3]实验发现通过VEGF旁分泌途径调节,E2增加子宫内膜KDR表达。

本研究结果表明雌激素可能是VEGF表达增强的主要调节因素之一。Hyder[4]发现在VEGF基因上有和ER基因上雌激素反应元件(estrogen responsive element,ERE)高度同源的两个核苷酸序列,分别位于VEGF基因的5'和3'非翻译区,这两个序列可以和ERβ或ERa特异地结合。ER的表达与VEGF的表达存在正相关。Buteau-Lozano[5]等发现人VEGF 0.7kb片段启动子(+54/+749),它序列有80%与ERE序列同源,其能与ER结合。Matthew Stoner[6]发现在VEGF基因GC/GT近端及远端通过ERa/Sp1和ERa/Sp3表达,Koos RD[7]研究也表明ERa与VEGF基因启动子富含GC区Sp1/Sp3相联系。Koduri S[8]认为ERa变异体能增加VEGF表达。

通过以上实验我们认为可能是由于ER下降使VEGF及KDR下降,减少子宫内膜血管形成,子宫内膜增生修复困难导致原因不明月经过少。当然ER减少机制及其它调控作用有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Jabbour HN,Kelly RW,Fraser HM,et al.Endocrine regulation of menstruation[J].Endocr Rew,2006;27(1):17-46.

[2] Wagatsuma A,Tamaki H,Ogita F.Sequential expression of vascular endothelial growth factor,Flt -1,and KDR/Flk -1 in regenerating mouse skeletal muscle[J].Physiol Res,2006;[Epub ahead of print].

[3] Herve MA,Medyri G.Regulation of the vascular endothelial growth factor(VEGF)receptor Flk-1/KDR by estradiol through VEGF in uterus[J].J Endicrinol,2006;188(1):91-99.

[4] Hyder SM,Nawaz Z,Chiappetta C,et al.Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor[J].Cancer Research,2000;60(12):3183-3190.

[5] Buteau-Lozano F.Transcriptional Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor by Estradiol and Tamoxifen in Breast Cancer Cells A Complex Interplay between Estrogen Receptors and β [J].Cancer Research,2002;62(17):4977-4984.

[6] Stoner M,Wormke M,Saville B,et al.Estrogen regulation of vascular endothelial growth factor gene expressionin ZR-75 breast cancer cells through interaction of estrogen receptor alpha and SP proteins[J].Oncogene,2004;23(5):1052 1063.

[7] Koos RD,KaziAA.New insight into the transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor expression in the endometrium by estrogen and relaxin[J].Ann N Y Acad Sci,2005;1041:233-247.

[8] Koduri S,Goldhar AS,Vonderhaar BK.Activation of vascular endothelial growth factor(VEGF)by the ER-alpha variant,ER Delta3 [J].Breast Cancer Res Treat,2006;95(1):37-43.

(上接第 47 页)

[J].Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,2005;29(3):637-648.

[9] Vigneron S,Prieto S,Bernis C,et al.Kinetochore localization of spindle checkpoint proteins:who controls whom [J].Mol Biol Cell,2004;15(10):4584-4596.