维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253 - 3626(2005)04 - 0530 - 03

生长抑素逆转三苯氧胺对性激素内环境影响的实验研究

曾希志,姚榛祥

(重庆医科大学附属第一医院内分泌外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨八肽生长抑素奥曲肽(OCT)对三苯氧胺(TAM)所致实验性大鼠性激素内环境失衡的逆转作用。方法:Wistar 雌鼠接受致癌剂二甲基苯蒽 8 周后随机分为对照组和治疗组,治疗组采用 OCT,TAM 或二者联合治疗 14 周。应用酶免疫分析法测定血清中雌二醇(E_2)、孕酮(P)、泌乳素(PRL)、卵泡刺激素(FSH)和黄体生成素(LH)的水平。结果:血清 E_2 和 P 含量在 TAM 组均明显高于对照组($P<0.05$),而 OCT + TAM 组与对照组无明显差异($P>0.05$);PRL 含量在 OCT 组、TAM 组和 OCT + TAM 组(1.40ng/ml)均显著低于对照组(2.85ng/ml)($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:OCT 在体内可以拮抗 TAM 对内源性雌激素的影响,从而减少因性激素内环境不平衡所致的副作用。

【关键词】奥曲肽;三苯氧胺;实验性乳腺癌

【中国图书分类法分类号】R737.905 【文献标识码】A 【收稿日期】2004 - 12 - 08

An experimental study on the effect of somatostatin in antagonizing the maladjustment of sexual hormones homeostasis induced by tamoxifen

ZENG Xizhi, et al

(*Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of somatostatin (SST) analog octreotide (OCT) in antagonizing the maladjustment of sexual hormones homeostasis induced by tamoxifen(TAM) in rat. *Methods*: Eight weeks after DMBA(a single dose 100mg/kg body weight by subcutaneous injection) application, the female Wistar rats were randomized to control and treatment groups. Rats in treatment groups underwent TAM(1mg/kg 5 times weekly for 14 weeks by subcutaneous injection), OCT(0.1mg/kg bid for 14 weeks by subcutaneous injection), or the combination of both. The levels of sexual hormones (estradiol, progesterone, prolactin, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone) were assessed by enzyme immunoassay(EIA). *Results*: The levels of estradiol and progesterone in serum were remarkably higher in TAM group(21.69pg/ml, 6.14ng/ml) than in control group(16.92pg/ml, 4.13ng/ml) respectively ($P<0.05$, $P<0.01$), and there was no significant difference between OCT + TAM group(14.58pg/ml, 3.88ng/ml) and control group. The prolactin concentrations in serum in the three treatment groups were lower than in control group($P<0.05$, $P<0.01$). *Conclusion*: OCT can antagonize the effect of TAM to ascend the level of endogenous estrogen, and abolish the ill - effects resulting from maladjustment of sexual hormones homeostasis.

【Key words】Octreotide; Tamoxifen; Experimental mammary carcinoma

三苯氧胺(tamoxifen,TAM)已广泛用于雌激素受体(estrogen receptor,ER)阳性的各期乳腺癌的辅助治疗,但因其对性激素内环境的影响,在用药过程中出现的 TAM 耐受及肿瘤进展是不容忽视的临床现象。因此,强化 TAM 疗效、减少抗癌耐受的研究具有重要临床意义。近年研究已证明生长抑素(somatostatin, SST)能抑制多种肿瘤细胞的增殖,且具有抑制各种激素释放的作用。因此,我们在用二甲基苯蒽(DMBA)诱发大鼠乳腺癌过程中,研究了人工合成的八肽生长抑素奥曲肽(octreotide,OCT)与 TAM 联合应用对性激素内环境的影响,旨在探索 SST 与 TAM 作为乳腺癌联合内分泌治疗方案的可行性,为临床提供理论依据。

作者介绍:曾希志(1964 -),男,副教授,博士,主要研究方向:乳腺癌内分泌治疗。

1 材料与方法

1.1 大鼠乳腺肿瘤的诱导及治疗分组

未交配 Wistar 雌鼠 100 只,鼠龄 45 ± 3d,体重 90 ~ 110g,由重庆医科大学实验动物中心提供。将 2gDMBA

维普资讯 http://www.cqvip.com

(Fluka,瑞士)溶于 10ml 吐温－80(重庆东方试剂厂产品),加入注射用水至 200ml,DMBA 终浓度为 10mg/ml。按 100mg/kg 体重,于每只大鼠的右侧后腿皮下一次性注射。8 周后,随机将 96 只大鼠(因喂养原因死亡 4 只)分为四组,每组 24 只:OCT 组,将溶于生理盐水的 OCT,按 0.1mg/kg 体重,皮下注射,每日 2 次,共 14 周;TAM 组,用溶于麻油的 TAM(Sigma,美国),按 1mg/kg 体重,皮下注射,每周 5 次,共 14 周;OCT＋TAM 组,OCT 与 TAM 联合应用,剂量和疗程同上;单纯诱癌组(即对照组),皮下注射等量麻油。因实验结束前,又死亡 12 只,均不纳入实验,实际具完整数据的动物数为 OCT 组 21 只,TAM 组 22 只,OCT＋TAM 组 21 只,对照组 20 只。

1.2 标本来源、制备

各组大鼠分别于治疗结束停药两周内,经阴道涂片检查[1],证实为间情期(Diestrus)再采集血液标本。摘除眼球通过眼球血管取血液 5ml,凝固后离心 3000r/min×5min,收集血清,置入－20℃冰箱保存。

1.3 血清性激素水平测定

1.3.1 试剂 雌二醇(estradiol,E_2)、孕酮(progesterone,P)、泌乳素(prolactin,PRL)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone,FSH)及黄体生成素(luteinizing hormone,LH)检测试剂盒均为 BIODATA 公司产品。

1.3.2 方法 用酶免疫分析法(Enzyme Immunoassay,EIA)(磁性固相法)。

1.3.3 步骤 ①成对标号试管:实验管、阴性对照管、试剂空白管;②向阴性对照管加入 150μl 零标准品,向实验管加入相应待测血清;③加入 200μl 酶标抗 E_2(或 P、PRL、FSH、LH)的抗体,混匀,37℃温育 20min;④加入 200μl 酶标 E_2(或 P、PRL、FSH、LH)的衍生物,振荡,37℃温育 20min;⑤加入 200μl 充分混匀的分离试剂,37℃温育 5min;⑥倾去上清、加入酶底物液,37℃温育 30min;⑦加入 1.0ml 终止液终止反应;⑧磁性分离沉淀磁珠;⑨反应液于光度计 492nm 处进行比色测定。

1.4 统计学处理

实验结果以均数±标准差表示,采用方差分析,SPSS 8.0 软件运算。

2 结 果

各组大鼠血清 E_2、P、PRL、FSH 和 LH 水平见表 1。TAM 组:E_2 和 P 的含量明显高于对照组($P<0.05$,$P<0.01$),PRL 含量明显低于对照组($P<0.01$);OCT 组:E_2、P 和 PRL 的含量均低于对照组($P<0.05$);OCT＋TAM 组:E_2、P 的含量与对照组无显著性差别($P>0.05$),E_2 明显低于 TAM 组($P<0.01$),P 的含量明显高于 OCT 组($P<0.05$),但低于 TAM 组($P<0.01$)。FSH、LH 的含量各组之间均无显著性差别($P>0.05$)。

表 1 各组大鼠血清性激素含量比较

Group	n	E_2(pg/ml)	P(ng/ml)	PRL(ng/ml)	FSH(mIU/ml)	LH(mIU/ml)
Control	20	16.92±3.52	4.13±1.03	2.85±0.67	1.36±0.42	3.61±1.34
OCT	21	12.33±2.80*	2.81±0.84*	1.89±0.41*	1.57±0.48	3.36±1.27
TAM	22	21.69±4.91$^{**\triangle\triangle}$	6.14±1.56$^{**\triangle\triangle}$	1.33±0.36$^{**\triangle}$	1.42±0.39	3.48±1.19
OCT＋TAM	21	14.58±3.89$^{\blacktriangle\blacktriangle}$	3.88±0.75$^{\triangle\blacktriangle}$	1.40±0.33$^{**\triangle}$	1.39±0.33	3.43±1.20

Compared with the control group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$; Compared with the OCT group, $^{\triangle}P<0.05$, $^{\triangle\triangle}P<0.01$; Compared with the TAM group, $^{\blacktriangle}P<0.05$, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P<0.01$

3 讨 论

本研究对血清性激素水平测定结果显示,TAM 治疗组血清 E_2 水平显著高于对照组($P<0.01$),血清 P 的含量也高于对照组($P<0.05$),而 PRL 含量较对照组为降低($P<0.01$),TAM 对 LH 和 FSH 的血清浓度无明显影响,说明 TAM 可改变体内性激素的状态,其机理尚不清楚。可能的解释有:①TAM 在下丘脑水平发挥抗雌激素效应,导致垂体分泌促性腺激素增多,刺激 E_2 产生,后者通过负反馈作用调节促性腺激素达到新的平衡,表现为 E_2 水平增加,而 FSH、LH 无明显改变;②TAM 直接刺激卵巢分泌甾体激素[2]。结果表明 TAM 可能扰乱下丘脑－垂体－性腺轴的功能,血清的 P 增加和 RRL 的降低可能对 TAM 的抗癌效应起作用,而内源性 E_2 水平的增加,将对 TAM 的抗癌效应产生不利的影响。TAM 不仅影响性激素内环境的平衡,而其本身为部分雌激素拮抗剂,兼有雌激素样和/或抗雌激素样双重作用。Parker 等[3]研究发现,TAM 结合 ER 后诱导转录活性功能亚型－1(transcriptional activation function－1,TAF－1),显示弱的雌激素样作用。体外研究也观察到,TAM 能够刺激培养的子宫内膜细胞生长,增加 PR 的表达[4];Gottardis 等[5]研

维普资讯 http://www.cqvip.com

究表明,移植于同一裸鼠的子宫内膜癌细胞和乳腺癌细胞,对 TAM 治疗呈反相关系,即 TAM 对前者呈刺激作用而对乳腺癌细胞株为抑制作用,提示 TAM 显示的雌激素或抗雌激素效应具有组织特异性。可能正是由于 TAM 弱的雌激素效应和对体内雌激素水平的影响,使在临床应用 TAM 治疗乳腺癌过程中出现对 TAM 的耐药性,以及对性激素靶器官造成影响,如子宫内膜增生、息肉等[6,7];还发现可增加子宫内膜癌的危险性[8,9]。

OCT 作为生长抑素长效类似物,可抑制体内各种激素的产生。我们用 OCT 治疗 DMBA 大鼠模型也观察到,OCT 组的血清 E_2、P、PRL 均低于对照组($P<0.05$),而 LH、FSH 无明显变化,说明 OCT 对雌性大鼠性腺轴的功能有抑制作用,机制可能是 OCT 与垂体的生长抑素受体(somatostatin receptor, SSTR)结合,抑制生长激素(growth hormone, GH)、PRL 等激素的释放;而下丘脑垂体卵巢间的反馈调节本身就是一个复杂的过程,受诸多因素影响,因此 FSH、LH 无明显改变是可能的;van der Meer 等[10]研究认为 OCT 可通过抑制 IGF-1/IGFBP3 水平,而降低卵巢对 FSH 的敏感性。本研究结果提示,OCT 可以抑制 E_2、PRL 的产生,通过间接作用机制,抑制乳腺癌生长。在本研究中联合应用 TAM 与 OCT 的治疗组,血清 E_2、P、LH、FSH 含量与对照组无明显差别,而 PRL 水平下降,E_2、P 水平低于 TAM 组,说明联合用药时,OCT 可拮抗 TAM 导致的 E_2、P 水平改变,且可加强 TAM 对 PRL 的抑制作用。已证明 PRL 具有使啮齿类哺乳动物产生乳腺肿瘤的作用[11]。另外,Mishima 等[12]在体外和体内研究均证明,生长抑素类似物对子宫内膜癌的生长具有抑制作用。因此,我们认为 OCT 与 TAM 联合应用,不仅增强对乳腺癌的抑制作用,而且可以协同调节体内性激素至平衡状态,从而减少因激素不平衡造成的副作用。

参 考 文 献

[1] 施新猷. 医学动物实验方法[M]. 第 1 版,北京:人民卫生出版社,1980;141-143.

[2] Sunderland MC, Osborne CK. Tamoxifen in the premenopausal patients with metastatic breastcancer: a review[J]. J Clin Oncol, 1991;9(7):1283-1287.

[3] Parker MG. Function of estrogen receptor as a transcriptional factor: a target for antiestrogen[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1991;667-676.

[4] Neven P, Shepherd JH, Lowe DG. Tamoxifen and the gynecologist[J]. Br J Obstet Gynecol, 1993;100(10):893-897.

[5] Gottardis MM, Robinson SP, Satyaswaroop PG, et al. Contrasting actions of tamoxifen on endometrial and breast tumor growth in the athymic mouse[J]. Cancer Res, 1988;48(4):812-815.

[6] Mourits MJ, de Vries EG, Willemse PH, et al. Ovarian cysts in women receiving tamoxifen for breast cancer[J]. Br J Cancer, 1999;79(11-12):1761-1764.

[7] Chang J, Powles TJ, Ashley SE, et al. Variation in endometrial thickening in women with amenorrhea on tamoxifen[J]. Breast Cancer Res Treat, 1998;48(1):81-85.

[8] Labrie F, Labrie C, Belanger A, et al. EM-652 (SCH 57068), a third generation SERM acting as pure antiestrogen in the mammary gland and endometrium[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1999;69(1-6):51-84.

[9] Isaksson E, Cline JM, Skoog L, et al. p53 expression in breast and endometrium during estrogen and tamoxifen treatment of surgically postmenopausal cynomolgus macaques[J]. Breast Cancer Res Treat, 1999;53(1):61-67.

[10] van der Meer M, de Boer JA, Hompes PG, et al. Octreotide, a somatostatin analogue, alters ovarian sensitivity to gonadotrophin stimulation as measured by the follicle estimulating hormone threshold in polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod, 1998;13(6):1465-1469.

[11] Vonderhaar BK. Prolactin: the forgotten hormone of human breast cancer[J]. Pharmacol Ther, 1998;79(2):169-178.

[12] Mishima M, Yano T, Jimbo H, et al. Inhibition of human endometrial cancer cell growth in vitro and in vivo by somatostatin analog RC-160[J]. Am J Obstet Gynecol, 1999;181(3):583-590.