

# 雌激素受体与胆管疾病的研究进展

万云燕 李文岗

雌激素受体(estrogen receptors, ERs)包括 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$ 。ERs 分布在细胞内,当与雌激素结合后,可形成二聚体结合到 DNA 的雌激素反应元素(estrogen-responsive elements, EREs),对基因转录发挥调节作用。ERs 在人正常胆管上皮细胞中不表达,但在胆管疾病患者的胆管上皮细胞中有 ERs 表达<sup>[1]</sup>。因此,越来越多的学者开始致力于研究 ERs 在胆管疾病中的作用,希望能找到一种新的治疗靶点。本文对近年来这方面的研究做一综述。

## 1 ERs 与胆管上皮细胞增生的关系

正常大鼠胆管上皮细胞有少量 ERs 表达,实施胆总管结扎后,大鼠的胆管上皮细胞显著增生,增生细胞中 ERs 阳性细胞明显增多,主要表现为 ER- $\beta$  表达增加。增生的大鼠胆管上皮细胞内信号调节激酶 p-ERK1/2 和接头蛋白 Shc 表达增加,使用 ER- $\beta$  拮抗剂他莫昔芬和 ICI182,780 可阻断这种变化,并且两种药物作用效果相似<sup>[2]</sup>。这说明雌激素诱导大鼠胆管上皮细胞增生可能主要是通过诱导 ER- $\beta$  过表达实现的。在体外实验中也证实,雌激素可能通过 ERs/Src/Shc/ERK 途径诱导大鼠胆管上皮细胞增生<sup>[3]</sup>。Alvaro 等<sup>[1]</sup>的研究结果表明,在受体和受体后水平,雌激素能和胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及 VEGF 相互作用,对大鼠胆管细胞的增殖发挥协同作用。ERs 拮抗剂则可通过直接抑制增生和激活 Fas/Fas ligand 凋亡途径来抑制细胞增生,但也不排除存在其他机制的可能<sup>[1,4]</sup>。另外,缺血、缺氧也可以诱导大鼠胆管上皮细胞 ERs 表达上调<sup>[5-6]</sup>。最近的研究结果表明,与膜-细胞骨架连接蛋白家族结合的磷酸化蛋白 50 [ezrin-radixin-moesin (ERM) binding phosphoprotein 50, EBP50]

也参与了 ERs 的信号转导过程,EBP50 的过表达和异常分布可能介导了雌激素诱导的大鼠胆管上皮细胞增生<sup>[7]</sup>。

## 2 ERs 与胆管良性疾病的关系

本文中的胆管良性疾病是一组以胆管上皮细胞为主要损害目标的慢性淤胆性疾病。尽管这组疾病病因各异,但它们有一个共同的特点:肝内胆管损害,残余胆管增生和肝小叶内胆管淤积。

原发性胆汁性肝硬化是一种典型的多发于女性的疾病。Alvaro 等<sup>[8]</sup>对原发性胆汁性肝硬化患者的组织标本用免疫组织化学染色后发现,在疾病的不同阶段,ER- $\beta$  染色呈阳性的细胞比率为 50% ~ 65%,在疾病的 I ~ III 期,随着细胞的增生,ER- $\alpha$  染色呈阳性的细胞比率由 1% 上升至 12%,而在胆管缺失最严重的 IV 期,ER- $\alpha$  表达为阴性,同时增殖细胞核抗原的表达也为阴性。这说明 ER- $\alpha$  可能参与调节胆管细胞的增生。这为原发性胆汁性肝硬化提供了新的治疗思路:即在疾病早期使用 ER- $\alpha$  激动剂促进胆管增生,延缓疾病的进展。

多囊肝是另一种多发于女性的疾病。通过免疫组织化学染色和促胰液素反应已证明,肝囊肿上皮细胞为胆管上皮细胞<sup>[9-10]</sup>。Torricc 等<sup>[9]</sup>用免疫组织化学方法证实肝囊肿上皮细胞有大量 ERs(主要为 ER- $\beta$ )、IGF-1 和 IGF-1R 表达,来源于肝囊肿上皮细胞的永生细胞系也有 ERs、IGF-1 和 IGF-1R 表达。雌二醇和 IGF-1 均能刺激细胞显著增生,两者之间有协同效应,而 ICI182,780 和  $\alpha$ -IR3 (IGF-1R 阻断抗体)分别抑制其增生效应。这说明雌激素和生长因子可能协同作用促进了囊肿的增大。Isse 等<sup>[11]</sup>则发现多囊肝内皮细胞中 ER- $\alpha$  的表达与细胞内 IL-6 及磷酸化的信号转导及转录活化因子 3 (phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3, pSTAT3)的水平呈正相关。Isse 等<sup>[11]</sup>认为雌激素在多囊肝中可能通过 ER- $\alpha$ /IL-6/pSTAT3 信号途径发挥作用。因此,使用雌激素拮抗剂或选择性雌激素受体调节剂可能会延缓多囊肝的病程进展。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2010.05.029

基金项目:福建省杰出青年基金(2009D014)

作者单位:350108 福州,福建医科大学(万云燕);361003 厦门大学附属第一医院肝胆胰血管外科(李文岗)

通信作者:李文岗,Email: lwg11861@163.com

### 3 ERs 与胆管癌的关系

#### 3.1 ERs 与 IGF-1R 在胆管癌中的作用

Alvaro 等<sup>[12]</sup>采用免疫组织化学染色的方法检测男性和绝经后女性的肝内胆管癌标本各 9 例,发现每例标本中均有 ER- $\alpha$ 、ER- $\beta$ 、IGF-1 和 IGF-1R 的表达。进一步比较 Mz-ChA-1 细胞系(来源于人胆囊癌组织),HuH-28 细胞系(来源于人肝内胆管癌组织)和 TFK-1 细胞系(来源于人肝外胆管癌组织)的受体表达情况,发现 HuH-28 细胞系也有 ER- $\alpha$ 、ER- $\beta$ 、IGF-1 和 IGF-1R 表达;雌二醇和 IGF-1 均可明显促进 HuH-28 细胞系增殖并抑制其凋亡,两者间存在叠加效应。雌二醇和 IGF-1 的作用能分别被 ICI182,780 和  $\alpha$ IR3 所抑制,此外, $\alpha$ IR3 还可部分抑制雌二醇对 HuH-28 细胞系的作用,转染 IGF-1R 反义寡核苷酸的 HuH-28 细胞系增生也明显受到抑制。这表明 IGF-1R 参与了雌二醇对胆管癌细胞的正调节作用。这和胆管上皮细胞良性增生中所观察到 ERs 和生长因子受体间存在串话的现象是一致的。虽然人肝内胆管癌细胞中 ER- $\beta$  的表达和良性增生的胆管上皮细胞相似,但 ER- $\alpha$  表达却明显增加<sup>[8]</sup>。这说明 ER- $\alpha$  在肝内胆管癌的进展中可能发挥了重要作用。Alvaro 等<sup>[12]</sup>采用免疫印迹法检测发现 TFK-1 细胞系和 Mz-ChA-1 细胞系中也有 IGF-1 和 IGF-1R 表达,不过两者在 Mz-ChA-1 细胞系中的表达较低。而在 TFK-1 细胞系和 Mz-ChA-1 细胞系中未能检测到 ER- $\alpha$  表达,但检测到 ER- $\beta$  的表达高于 HuH-28 细胞系中的表达;采用定量 RT-PCR 方法能检测到这两个细胞系有 ER- $\alpha$  的表达。Alvaro 等<sup>[12]</sup>认为造成这种检测结果的差异原因是 TFK-1 细胞系和 Mz-ChA-1 细胞系中 ER- $\alpha$  表达量过低。雌二醇和 IGF-1 也可诱导这两个细胞系增殖,但增殖指数明显低于 HuH-28 细胞系,进一步证明了 ER- $\alpha$  在胆管癌中的作用。然而,在和雌二醇共孵育的 TFK-1 细胞系和 Mz-ChA-1 细胞系虽然也观察到了 ER- $\beta$  表达的下调,但仍未能检测到 ER- $\alpha$  的表达,或许和 ER- $\alpha$  表达过低有关。

#### 3.2 ERs 与 IL-6 在胆管癌中的作用

Isse 等<sup>[11]</sup>把雌二醇分别与 SG231 细胞系(表达 ER- $\alpha$  和 ER- $\beta$ )和 HuCCT-1 细胞系(仅表达 ER- $\beta$ )共孵育后发现:雌激素能通过 ER- $\alpha$  诱导人胆管癌细胞系 IL-6 表达增加,对癌细胞增生发挥正调节作用,而 ER- $\beta$  的作用则相反。抗 IL-6 的中和抗体能显著抑制雌激素的促增生作用。选择性的 ER- $\alpha$  激动剂 PPT 也能促进 IL-6 的表达增加,而选择性的

ER- $\alpha$  抑制剂氟维司群和选择性的 ER- $\beta$  激动剂二磷酸吡啶核苷酸则抑制其表达。在雌二醇诱导的雌性小鼠胆管上皮细胞中,细胞内 IL-6 及核内 pSTAT3 表达也相应增加。因此,Isse 等<sup>[11]</sup>认为,雌激素可能通过 ER- $\alpha$ /IL-6/pSTAT3 信号途径对胆管癌细胞增殖发挥正调节作用,IL-6 的启动子含有环腺苷酸反应元件和转录因子 AP-1 结合位点,ERs 也能通过这两个结合位点间接作用发挥调节作用。

#### 3.3 ERs 与 VEGF 在胆管癌中的作用

雌激素可以诱导雌激素敏感肿瘤的新生血管形成,VEGF 在这个过程中发挥了重要作用。Mancino 等<sup>[13]</sup>对 7 例肝内胆管癌患者的活组织检查标本进行免疫组织化学染色,发现几乎所有胆管癌细胞的 VEGF-A、VEGF-C 及其受体 VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3 染色均为强阳性,而正常胆管细胞仅 VEGFR 染色阳性。HuH-28 细胞系也有相同的 VEGF 及 VEGFR 表达,雌二醇能使其表达明显增加,雌二醇的正调节作用几乎能被 ERs 或 IGF-1R 拮抗剂完全抑制。这说明 ERs 和 IGF-1R 可能在调节 VEGF 及 VEGFR 表达中发生了串话。为进一步证实 VEGF 及 VEGFR 在胆管癌细胞增殖中的作用,Mancino 等<sup>[13]</sup>把抑制剂 VEGF-TRAPR1R2 和雌二醇与 HuH-28 细胞系共孵育,结果雌激素的促增殖作用明显受到抑制。雌激素可通过激活胆管癌细胞的 ERs 和 IGF-1R,增加 VEGF 的表达和释放,然后 VEGF 可能通过自分泌方式调节细胞增殖,同时以旁分泌的方式促进肿瘤新生血管形成,最终促进胆管癌的生长和扩散<sup>[13-14]</sup>。但在人肝外胆管癌标本中,却未能发现 VEGFR 高表达<sup>[15]</sup>。这或许和肝外胆管癌的 ER- $\alpha$  低表达有关。

#### 3.4 ERs 参与调节胆管癌细胞中 EBP50 的表达

EBP50 是一种接头蛋白,定位于正常胆管细胞的顶区。已证实乳腺肿瘤进展和 EBP50 表达及 ERs 之间存在正相关<sup>[16]</sup>。Fouassier 等<sup>[7]</sup>将雌二醇和 SK-ChA-1 细胞系共孵育,发现增生细胞的 EBP50 表达明显增加,并在细胞内重分布。这表明 EBP50 也参与介导了雌激素的促增生反应。雌激素可能通过诱导 EBP50 过表达并在细胞内重新分布,干扰 EBP50 和 PTEN 蛋白或  $\beta$ -连环蛋白的正常结合,并可能影响细胞核和细胞质中的支架蛋白复合体,从而发挥对胆管癌细胞的调控作用<sup>[7,17]</sup>。

#### 3.5 ERs 与环氧酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2)在胆管癌中的作用

COX-2 是前列腺素 E2 合成的限速酶,它能通

过合成前列腺素 E2 促进胆管癌细胞增殖并抑制凋亡,多项研究证实胆管癌细胞中有 COX-2 表达<sup>[18-19]</sup>。在肿瘤细胞中多种炎症介质和生长因子均可诱导 COX-2 表达,目前发现某些组织中 ERs 也参与调节 COX-2 的表达<sup>[20]</sup>。因此,有学者推测在胆管癌中 ERs 可能也对 COX-2 的表达发挥了调节作用<sup>[1]</sup>。

综上所述,ERs 在正常胆管上皮细胞、良性增生的胆管上皮细胞和胆管癌细胞中的表达存在明显差异,雌激素作用的组织特异性被认为与不同组织表达的 ERs 类型有关。最近 Park 等<sup>[21]</sup>对上海的胆管癌患者 6 个常见的 ERs 变异基因型进行分析,发现部分 ERs 基因型和胆管癌有关,尤其是在男性胆管癌患者中更为明显。这也进一步说明,在胆道系统不同的雌激素受体类型或亚型可能介导了不同的信号转导机制。ERs 参与调节了细胞内生长因子及受体、炎症介质、接头蛋白的表达,通过各种途径调控细胞的增生和凋亡。ERs 可能还参与了对胆管癌细胞 COX-2 表达的调节,但目前尚无直接证据。除了经典的雌激素受体,胆道系统是否也表达各种雌激素膜受体,即胆道系统中是否也同样存在雌激素的非基因组信号转导途径,尚需进一步研究。通过对胆道系统 ERs 的研究,可能为胆管疾病寻找到一种新的治疗靶点。

## 参考文献

- [1] Alvaro D, Mancino MG, Onori P, et al. Estrogens and the pathophysiology of the biliary tree. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(22):3537-3545.
- [2] Alvaro D, Alpini G, Onori P, et al. Estrogens stimulate proliferation of intrahepatic biliary epithelium in rats. *Gastroenterology*, 2000, 119(6):1681-1691.
- [3] Alvaro D, Onori P, Metalli VD, et al. Intracellular pathways mediating estrogen-induced cholangiocyte proliferation in the rat. *Hepatology*, 2002, 36(2):297-304.
- [4] Han P, Kang HL, Li HL, et al. Antiproliferation and apoptosis induced by tamoxifen in human bile duct carcinoma QBC939 cells via upregulated p53 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 385(2):251-256.
- [5] 李文岗,胡素贤,黄晓强,等.动脉化门静脉胆管微血管数量对胆管上皮细胞核增殖及雌激素受体表达的影响. *吉林大学学报:医学版*, 2006, 32(4):586-589.
- [6] 李文岗,胡素贤,段伟东,等.完全失去动脉血供后大鼠肝门部胆管微血管数对胆管上皮细胞核增殖和 ER 表达影响. *中华肝胆外科杂志*, 2007, 13(8):548-550.
- [7] Fouassier L, Rosenberg P, Mergely M, et al. Ezrin-radixin-moe-

sin-binding phosphoprotein (EBP50), an estrogen-inducible scaffold protein, contributes to biliary epithelial cell proliferation. *Am J Pathol*, 2009, 174(3):869-880.

- [8] Alvaro D, Invernizzi P, Onori P, et al. Estrogen receptors in cholangiocytes and the progression of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*, 2004, 41(6):905-912.
- [9] Torrice A, Alvaro D, Onori P, et al. 96 Estrogens and IGF1 promote the proliferation of hepatic cyst epithelium in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *J Hepatol*, 2006, 44(Suppl 2):S42-43.
- [10] Masyuk AI, Masyuk TV, Sprinter PL, et al. Cholangiocyte cilia detect changes in luminal fluid flow and transmit them into intracellular Ca<sup>2+</sup> and cAMP signaling. *Gastroenterology*, 2006, 131(3):911-920.
- [11] Isse K, Specht SM, Lunz JG, et al. Estrogen stimulates female biliary epithelial cell interleukin-6 expression in mice and humans. *Hepatology*, 2010, 51(3):869-880.
- [12] Alvaro D, Barbaro B, Franchitto A, et al. Estrogens and insulin-like growth factor 1 modulate neoplastic cell growth in human cholangiocarcinoma. *Am J Pathol*, 2006, 169(3):877-888.
- [13] Mancino A, Mancino MG, Glaser SS, et al. Estrogens stimulate the proliferation of human cholangiocarcinoma by inducing the expression and secretion of vascular endothelial growth factor. *Dig Liver Dis*, 2009, 41(2):156-163.
- [14] DeMorrow S. Cholangiocarcinoma: Estrogen-induced autocrine effects of VEGF on cell proliferation. *Dig Liver Dis*, 2009, 41(2):164-165.
- [15] Tang D, Nagano H, Yamamoto H, et al. Angiogenesis in cholangiocellular carcinoma: expression of vascular endothelial growth factor, angiopoietin-1/2, thrombospondin-1 and clinicopathological significance. *Oncol Rep*, 2006, 15(3):525-532.
- [16] Song J, Bai J, Yang W, et al. Expression and clinicopathological significance of oestrogen-responsive ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein 50 in breast cancer. *Histopathology*, 2007, 51(1):40-53.
- [17] Georgescu MM. NHERF1: molecular brake on the PI3K pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(2):106.
- [18] Choi HJ, Kim HJ, Choi JH. Expression of c-erbB-2 and cyclooxygenase-2 in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepatogastroenterology*, 2009, 56(91/92):606-609.
- [19] Gatto M, Alvaro D. New insights on cholangiocarcinoma. *World J Gastrointest Oncol*, 2010, 2(3):136-145.
- [20] Xu LH, Han C, Wu T. A Novel positive feedback loop between peroxisome proliferator-activated receptor- $\delta$  and prostaglandin E2 signaling pathways for human cholangiocarcinoma cell growth. *J Biol Chem*, 2006, 281(45):33982.
- [21] Park SK, Andreotti G, Rashid A, et al. Polymorphisms of estrogen receptors and risk of biliary tract cancers and gallstones: a population-based study in Shanghai, China. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5):842-846.

(收稿日期: 2010-05-17)

(本文编辑: 张玉琳)