

## 米非司酮对人输卵管胰岛素样生长因子-1 及其受体表达的影响

杨艳东, 王自能, 罗新, 徐建平

(暨南大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510632)

**[摘要]** 目的: 探讨米非司酮对人输卵管上皮胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 及其受体 (IGF-1R) 在增殖中、晚期表达情况的变化。方法: 取育龄妇女增殖中、晚期输卵管, 米非司酮组 (8 例) 于术前 12 h 给予米非司酮 25 mg 口服, 对照组 (7 例) 不服用米非司酮, 常规石蜡切片, 用 SP 免疫组化法和图像分析技术检测 IGF-1 及 IGF-1R 的 PU 值的表达变化。结果: 在月经周期的增殖中、晚期, 无论米非司酮组或对照组, 峡部、壶腹部、伞部上皮细胞 IGF-1 及其受体的表达, 差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); 在月经周期的增殖中、晚期, 米非司酮组和对照组在输卵管相同部位上皮细胞 IGF-1 的表达差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); 在月经周期的增殖中、晚期, 在输卵管相同部位上皮细胞 IGF-1R 的表达米非司酮组较强, 与对照组相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。结论: 米非司酮作用下, 月经周期的增殖中、晚期人输卵管上皮 IGF-1 表达与对照组无明显差异, 而 IGF-1R 的表达则明显强于对照组, 说明米非司酮可能对该时期的输卵管环境造成改变。

**[关键词]** 米非司酮; 人输卵管; 胰岛素样生长因子-1; 胰岛素样生长因子-1 受体

**[中图分类号]** R711.76 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2008)02-0143-04

### Effect of mifepristone on IGF-1 and IGF-1R of human fallopian tube

YANG Yan-dong, WANG Zi-neng, LUO Xin, XU Jian-ping

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**[Abstract]** **Aim:** To observe the effect of mifepristone on the expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and its receptor (IGF-1R) during the mid-or late proliferative phase of menstrual cycle in the epithelium of human fallopian tube. **Methods:** Fallopian tube in mid-or late proliferative phase of menstrual cycle was taken from patients of reproductive age. Patients of mifepristone group ( $n = 8$ ) took a single dose of mifepristone 25mg, 12h preoperatively. No mifepristone was given to patients of control group ( $n = 7$ ). Expression of IGF-1 and its receptor were identified using immunohistochemistry and image analysis method. **Results:** During mid-or late proliferative phase of the menstrual cycle, the expression of IGF-1 and IGF-1R showed no significant difference in the epithelium of isthmus, ampulla and fimbrium in both groups ( $P > 0.05$ ); and no significant difference of the expression of IGF-1 was found in the epithelium of the same portion of fallopian tube between group and control group ( $P > 0.05$ ); while under the effect of mifepristone, the expression of IGF-1R in the epithelium of the same portion of fallopian tube was significant increased as compared with control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** During the

mid-or late proliferative phase of the menstrual cycle, there was no significant difference of expression of IGF-1 on the epithelium of human fallopian tube between mifepristone group and control group, while the expression of IGF-1R was obviously increased under the effect of mifepristone. These indicate that mifepristone might affect the environment of human fallopian tube.

[Key words] mifepristone; human fallopian tube; insulin-like growth factor-1; insulin-like growth factor-1 receptor

米非司酮(mifepristone)为甾体类药物,其化学结构与炔诺酮相似可视为炔诺酮的衍生物。传统认为米非司酮在孕酮、糖皮质激素受体水平上拮抗孕酮和糖皮质激素的活性,伴弱雄激素活性,但无雌激素和盐皮质激素活性。临床上用小剂量米非司酮作为紧急避孕药物的有效性已得到认可,但对输卵管环境的影响,其机制不甚明确。

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGFs)是人体最重要的生长因子之一,对人体组织细胞的生长发育有广泛而重要的调节作用。越来越多的实验证据表明,无论母体来源或是胚胎来源的细胞因子在胚胎的围植入期生长起调节作用。有报道指出,所有胰岛素样生长因子家族成员(肽、受体、结合蛋白)在人类输卵管有所表达<sup>[1]</sup>。

本研究利用胰岛素样生长因子-1(IGF-1)单克隆抗体、胰岛素样生长因子-1受体(IGF-1R)单克隆抗体,SP免疫组织化学法以及图像分析技术,对比米非司酮组与对照组在输卵管上皮IGF-1、IGF-1R表达的程度,检测米非司酮治疗后输卵管环境有否改变,从而了解对配子的输送及功能是否起到有害作用,推测米非司酮的避孕作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人子宫内膜及输卵管标本均取自暨南大学附属第一医院因子宫肌瘤或子宫腺肌病接受子宫切除术的育龄妇女,年龄37~44岁,有正常妊娠、生育史,月经周期规律28~32d,末次月经时间记忆准确。患者术前半年内未使用性激素类药物或放置宫内节育器,不曾接受输卵管结扎术,手术中见输卵管形态正常。米非司酮组( $n=8$ )术前12h给予患者口服米非司酮25mg;对照组( $n=7$ )则未服米非司酮。子宫内膜组织取自子宫体近底部后壁中央,输卵管标本含峡部、壶腹部和伞部,按子宫内膜组织学分期为增殖中、晚期者。

### 1.2 方法

(1)免疫组织化学染色 将所取组织块立即置于体积分数4%中性甲醛固定,常规石蜡包埋,切片厚度为4 $\mu$ m。兔抗人IGF-1单克隆抗体、鼠抗人IGF-1R单克隆抗体购自美国NeoMarkers公司。采用SP法免疫组织化学染色,二甲氨基偶氮苯同步浸染显色法使所有切片显色时间相同,苏木素复染。实验设阳性对照及阴性对照。

(2)图像分析 在Leica QW550图像分析系统进行,在10 $\times$ 20倍镜下,对无复染IGF-1及IGF-1R免疫组化染色的每个样本随机选择5个阳性视场作为测试点,每个视场采取系统抽样的方法测量5段输卵管上皮细胞和5个背景区域的平均灰度,分别为 $G_a$ 和 $G_b$ ,每段至少包含5~10个上皮细胞,再取所测5个视场之 $G_a$ 和 $G_b$ 的均值,按公式 $PU = [(G_a - G_b) / G_{max}] \times 100$ , $G_{max}$ 等于256,为检测仪的最大灰度<sup>[2]</sup>。

(3)统计学分析 图像分析测试结果用PU均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用SPSS10.0医学统计软件进行分析,其中组内比较用单因素方差分析,组间两两比较用独立样本 $t$ 检验分析。

## 2 结果

(1)IGF-1免疫组织定位于输卵管上皮细胞内,也有少量存在于输卵管平滑肌细胞内;IGF-1R免疫组织定位于输卵管上皮细胞胞膜上,见图1~3。

(2)在月经周期的增殖中、晚期,峡部、壶腹部、伞部上皮细胞IGF-1及其受体的表达,差异无显著性( $P>0.05$ );在月经周期的增殖中、晚期,米非司酮组在输卵管不同部位上皮细胞IGF-1的表达略高于对照组,但无显著差异( $P>0.05$ );在月经周期的增殖中、晚期,在输卵管不同部位上皮细胞IGF-1受体的表达米非司酮组较强,与对照组相比差异有显著性( $P<0.05$ ),见表1,2。



棕褐色为阳性表达

图1 米非司酮组 IGF-1 在输卵管壁的表达(SP 染色 ×100)

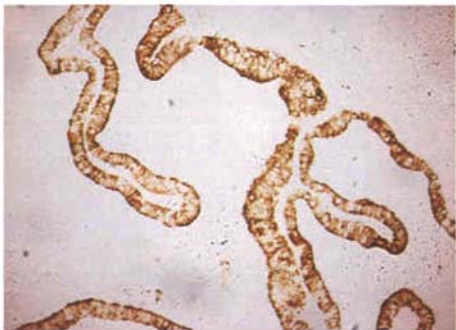


图2 米非司酮组 IGF-1R 在输卵管黏膜上皮的表达(SP 染色 ×100)

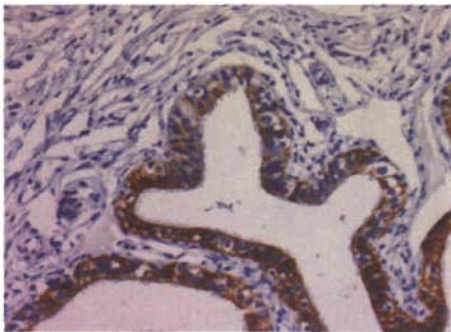


图3 米非司酮组 IGF-1R 在输卵管黏膜上皮的表达(SP 染, 苏木素复染 ×200)

表1 增殖中、晚期输卵管各部位上皮细胞 IGF-1 含量(PU) ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	壶腹部	峡部	伞部
米非司酮组	8	32.51 ± 7.03 <sup>1)2)</sup>	33.55 ± 8.09 <sup>1)2)</sup>	38.53 ± 15.79 <sup>1)2)</sup>
对照组	7	28.94 ± 15.67	29.55 ± 9.94	36.35 ± 19.25
P		0.566	0.392	0.807

1) 同组内比较,  $P > 0.05$  (下同); 2) 相同部位与对照组比较,  $P > 0.05$

表2 增殖中、晚期输卵管各部位上皮细胞 IGF-1R 含量(PU) ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	壶腹部	峡部	伞部
米非司酮组	8	39.93 ± 14.54 <sup>1)</sup>	44.08 ± 17.30 <sup>1)</sup>	44.06 ± 15.31 <sup>1)</sup>
对照组	7	25.33 ± 11.25	22.45 ± 8.85	28.84 ± 8.51
P		0.004	0.007	0.028

1) 与对照组比较,  $P < 0.05$

3 讨论

IGF 家族由两个多肽类生长因子,两类受体和6种结合蛋白组成,其中 IGF-1 由70个氨基酸组成,相对分子质量75,000,其编码基因位于12q<sup>[3-5]</sup>。IGF-1 的主要生理功能是作为生长激素(GH)的介质。近年来发现许多组织细胞能自身分泌和旁分泌 IGF-1,这对于细胞的生长调节可能更为重要<sup>[6]</sup>。IGF 无细胞内贮存形式,但有多种合成形式能通过自分泌或旁分泌方式,在局部组织发挥作用,促进细胞的分化与增殖<sup>[7]</sup>。

IGF-1 受体(IGF-1R)由4个亚基( $\alpha_2\beta_2$ )组成。位于细胞外的 $\alpha$ 链具有配体结合部位,通过二硫桥与 $\beta$ 链共价连接, $\beta$ 链为跨膜和胞内部分,具有酪氨酸激酶活性部位。IGF-1R 对 IGF-1 的结合力略高于 IGF-Ⅱ,主要介导 IGFs 的促生长作用<sup>[6]</sup>。

有研究表明育龄妇女输卵管上皮细胞的 IGF 及其受体在月经周期中出现周期性变化<sup>[8]</sup>,IGF 及其受体含量的增加与早期胚胎的成熟与运输同步,因而母体输卵管自分泌或旁分泌产生的 IGF 可能参与调控着床前胚胎的发育。研究米非司酮对大鼠输卵管黏膜上皮生长的影响发现<sup>[9]</sup>,当孕激素效应被米非司酮拮抗后,雌激素对输卵管壶腹部黏膜上皮持续发挥了促细胞增长、增殖作用,继而可能导致输卵管的功能活动增强,并与正常生理状态具有一定的差异。

本试验对育龄妇女增殖中、晚期输卵管进行研究,结果发现小剂量米非司酮作用后,输卵管上皮 IGF-1 的表达较对照组略有增加,但没有统计学意义;IGF-1R 的表达明显增加,差异有显著性。米非司酮作用后 IGF-1 在人输卵管中、晚期的表达未能出现明显变化,推测可能由于雌激素上调 IGF-1 的表达,排卵前已处于高雌激素水平作用下的高 IGF-1 表达,在低剂量米非司酮作用下,难再以大幅度增高 IGF-1 表达。

至今已被证实的 IGF 结合蛋白(IGF binding

proteins, IGF BP)有6种,其中IGFBP-1对IGF-1起即时调节作用<sup>[10]</sup>。近年有学者研究米非司酮作用于人类黄体早期输卵管后对IGFBP-1、mRNA和蛋白质的表达情况<sup>[11]</sup>,在黄体早期(LH+2 d)给予健康育龄期妇女志愿者口服米非司酮200 mg,于LH+4 d~LH+6 d在腹腔镜下行节育术,取输卵管峡部和壶腹部组织,用免疫染色对IGFBP-1在输卵管上皮细胞质中的表达进行测定,及用RT-PCR对输卵管IGFBP-1 mRNA和蛋白水平进行半定量测定,发现在服用米非司酮200 mg后,输卵管峡部和壶腹部IGFBP-1、mRNA及蛋白质的表达均显著增加( $P < 0.05$ )。

IGF-1R在本研究中出现显著增加,是否与上述研究相同,即米非司酮增加输卵管上皮的IGFBP-1表达,因而使IGF-1未能与其受体结合有关,从而导致IGF-1R表达增加则有待进一步研究。本研究结果显示,米非司酮确实在增殖中、晚期对输卵管的环境造成改变。小剂量单次口服米非司酮对这一阶段输卵管影响的持续时间,进入黄体期是否有影响需进一步探索。

#### [参考文献]

- [1] MAKAREVICH A V, SIROTKIN A V. The involvement of the GH/IGF-1 axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells[J]. Anim Reprod Sci, 1997, 48(2-4):197-207.
- [2] 申 洪. 免疫组织化学染色定量方法研究(Ⅲ)[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1): 89-90.
- [3] HUNT P, EARDLEY D D. Suppressive effects of insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) on immune responses[J]. J Immunol, 1986, 136:3994-3999.
- [4] GJERSET R A, YEARGIN J, VOLKMAN S K, et al. Insulin-like growth factor-1 supports proliferation of autoimmune thymic lymphoma cells with a pre-T cell phenotype[J]. J Immunol, 1990, 145: 3497-3501.
- [5] BINZ K, JOLLER P, FROESCH P, et al. Repopulation of the atrophied thymus in diabetic rats by insulin-like growth factor I [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(10): 3690-3694.
- [6] KRYWICKI RF, YEE D. The insulin-like growth factor family of ligands, receptors and binding proteins[J]. Breast Cancer Res Treat, 1992, 22(1): 7-19.
- [7] ROBERTS C T Jr, LASKY S R, LOWE W L Jr, et al. Molecular cloning of rat insulin-like growth factor I complementary deoxyribonucleic acids: differential messenger ribonucleic acid processing and regulation by growth hormone in extrahepatic tissues[J]. Mol Endocrinol 1987, 1(3): 243-248.
- [8] 金海燕, 王自能, 徐建平. 育龄期妇女输卵管胰岛素样生长因子和受体的测定[J]. 中华妇产科杂志, 2000, 35(11): 689-690.
- [9] 刘 俊, 孟运莲, 罗善云. 米非司酮对大鼠输卵管粘膜上皮生长的影响[J]. 武汉大学学报:医学版, 2002, 23(2):157-159.
- [10] YEN S S C, JAFFE R B, BARBIERI R L. Reproductive Endocrinology[M] (4th edit). Harcourt Asia: Saunders W B, 2001.
- [11] QIU X, SUN X, CHRISTOW A, et al. Action of mifepristone on the expression of insulin-like growth factor binding protein-1 mRNA and protein during the early luteal phase in the human oviduct[J]. Fertil Steril, 2003, 80(2): 776-82.

[责任编辑:李 弘,朱颖娜]