

## P450 芳香化酶与多囊卵巢综合征

重庆医科大学附属第一医院辅助生育中心 (400016) 田 君综述 丘 彦审校

**摘 要** P450 芳香化酶是雄激素转化为雌激素的限速酶,其表达具有组织特异性,在不同的组织中转化不同的底物,产生不同活性的雌激素,P450 的表达受多种调节因子的作用,多囊卵巢综合征患者卵巢中 P450 芳香化酶的表达异常的,造成卵巢激素分泌紊乱,影响卵泡成熟和排卵,但是多囊卵巢综合征妇女卵巢中芳香化酶的表达缺陷还是亢进尚无定论,寻找调节 P450 芳香化酶的特异蛋白也是未来的研究方向之一,就 P450 芳香化酶在卵巢综合征中的表达及影响因素作综述。

**关键词** P450 芳香化酶 多囊卵巢综合征 CYP19 基因

多囊卵巢综合征 (PCOS)是以持续性无排卵、高雄激素血症或胰岛素抵抗为特征的临床症候群,常始于青春期,有高度的异质性,临床上以卵巢功能障碍为显著标志,P450 芳香化酶与甾体激素的代谢密切相关,其调节机制异常被认为是 PCOS 患者排卵障碍和雄激素过多的重要原因之一。

### 细胞色素 P450 芳香化酶的作用原理与表达

P450 芳香化酶是 CYP19 基因的产物,是细胞色素 P450 产物中唯一由单基因编码的酶<sup>[1]</sup>。CYP19 是细胞色素 P450 基因超家族成员之一,P450 家族成员之间的一级结构差异较大,但空间结构却有着较大的相似性,含有由含铁血红素和半胱氨酸组成的活性中心,主要分布在内质网和线粒体内膜上<sup>[2]</sup>。人 CYP 基因位于染色体 15q21.1,其主要特点为具有组织特异性表达,产生不同的产物,用聚合酶链反应 (PCR) 和快速扩增互补 DNA 末端检测发现,CYP19 基因在不同组织的转录产物 5' 末端不相同,在胎盘组织,转录产物 5' 末端主要为未翻译外显子 .1;在卵巢,5' 末端为外显子 .2;而在脂肪细胞中,有 3 种不同的 5' 末端, .4、.3 和 .1,这种组织特异性在于该基因的组织特异性启动子调节,CYP19 基因这种运用选择性启动子调节组织特异性表达的特点,对人体不同部位雌激素的合成调节具有重要意义<sup>[3]</sup>。

细胞色素 P450 芳香化酶是催化雄烯二酮和睾酮转变为雌酮和雌二醇 (E<sub>2</sub>) 的关键酶,其数量和活性直接决定了正常和异常组织中雌激素的水平,P450 芳香化酶活性在多种组织中表达,如卵巢、脂肪组织、肌肉、肝脏及乳腺组织,另外,多数乳腺肿瘤及子宫、睾丸、肾上腺肿瘤和异位种植的子宫内膜中都有 P450 芳香化酶的活性表达。外周组织芳

香化酶表达,可使血中雌激素水平升高,导致绝经后子宫内膜的生长和子宫出血;局部组织的芳香化酶活性升高,通过旁分泌和自分泌作用调节内膜的生长。P450 芳香化酶在不同的组织发挥不同的雌激素转化功能,作为单基因编码产物,其转录产物翻译起始位点位于外显子 .1,因而各组织的 P450 芳香化酶具有相同的结构和功能,相同功能的 P450 芳香化酶作用于不同的组织中特异性的雄激素底物,产生不同活性的雌激素<sup>[4]</sup>,在脂肪组织,P450 芳香化酶作用的底物为肾上腺皮质产生的雄烯二酮,产物为雌酮 (E<sub>1</sub>);在胎盘,其底物是胎儿肾上腺和肝脏共同产生的 16-羟硫酸脱氢表雄酮,产物为 E<sub>3</sub>;在卵巢,主要底物为睾酮,产物为 E<sub>2</sub>,少部分为由雄烯二酮转化生成的 E<sub>1</sub>;在子宫内膜,底物为雄烯二酮产物—E<sub>1</sub>。

### 影响 P450 芳香化酶在卵巢中表达的因素

在卵巢颗粒细胞,P450 芳香化酶的活性主要受卵泡刺激素 (FSH) 的调节,FSH 与位于细胞膜的受体结合后,激活腺苷酸环化酶,产生环磷酸腺苷 (cAMP),随后通过激活蛋白激酶 A (PKA) 使 cAMP 反应元件结合蛋白 (CREB) 磷酸化。磷酸化的 CREB 与芳香化酶启动子 的 CREB 应答元件 (CREB response element) 结合,始动 P450arom 基因的转录,在 FSH 的作用下,表达增加的 P450arom 改变了结缔组织生长因子 (CTGF) 的表达,CTGF 可以促进卵泡颗粒细胞的生长和分化,影响卵泡的优势化<sup>[5]</sup>。另外黄体生成激素 (LH) 通过刺激卵泡膜细胞分泌雄激素也能间接地刺激 P450 芳香化酶的表达。

研究发现,一些调节因子及药物也可以影响 P450 芳香化酶的表达,如:血小板衍生生长因子 (PDGF)、胰岛素样生长因子 I (IGF-I)、表皮生长因子 (EGF)、转化生长因子 (TGF-β) 等 PDGF 修饰

颗粒细胞 FSH-cAMP 途径,该途径是 FSH 诱导芳香化酶启动的关键,直接刺激芳香化酶活性,促进雄激素向雌激素转化<sup>[6]</sup>;IGF-I 通过增加类固醇生成因子-1(SF-1)的表达上调 P450 芳香化酶的表达和活性,促进雄激素向雌激素的转化<sup>[7]</sup>;EGF 通过影响 FSH 受体的表达和孕酮的产生来调节颗粒细胞的活动,抑制雌激素的合成,Ghersevich 等<sup>[8]</sup>发现 EGF 在转录水平抑制芳香化酶的活性,同时 EGF 还抑制 I 型 17 羟甾脱氢酶 mRNA 的转录,使 17 羟甾脱氢酶活性也下降,从而阻断了  $E_1$  与  $E_2$  间的转化,使  $E_2$  合成量更少;TGF- $\beta$  与 EGF 受体结合后可抑制颗粒细胞芳香化酶的活性从而减少  $E_2$  的产生,这一抑制作用在 PCOS 患者的卵巢颗粒细胞中明显增强<sup>[9]</sup>。一些药物如 8 溴环磷腺苷 ( $\beta$ -Br-cAMP)、丙戊酸钠 (VPA)、来曲唑等也是通过影响 P450 芳香化酶来起作用的, $\beta$ -Br-cAMP 是 cAMP 的类似物,可直接通过扩散方式进入细胞内,使底物蛋白磷酸化,进而影响内源性核酸内切酶活性,增强内源性 P450 芳香化酶侧链裂解酶的转录水平,促进雄激素向雌激素的转化<sup>[10]</sup>;VPA 能刺激 P450 芳香化酶 mRNA 的表达,引起雌激素分泌增加<sup>[11]</sup>;来曲唑是第三代芳香化酶抑制剂,能够抑制芳香化酶,阻断雄激素底物转化为雌激素,使循环周围靶组织的雌激素水平下降,增加卵泡对 FSH 的敏感性,促进卵泡生长<sup>[12]</sup>。

P450 芳香化酶的表达受多种调节因子的作用,研究发现,这些调节因子往往是相互关联,相互影响的,而且在月经周期的不同时间调节的作用也存在差别,P450 芳香化酶功能异常并非单一因素所致,P450 芳香化酶 mRNA 阳性细胞本身对各种调节因子的反应性对其表达也存在密切的联系<sup>[13]</sup>。

### P450 芳香化酶与 PCOS 的关系

PCOS 是高度异质性的临床症候群,不同患者的病理生理特征差异较大,约有 50% 的 PCOS 患者有高雄激素血症,其中的雄烯二酮在外周脂肪组织转化为  $E_1$ ,又由于卵巢内募集后发育的小窦状卵泡不能继续发育成熟,即优势卵泡选择受阻,无主导卵泡生成,持续分泌较低水平的  $E_2$ ,因而  $E_1 > E_2$ ,外周循环这种失调的雌激素水平使下丘脑促性腺激素释放激素 (GnRH) 脉冲分泌亢进,垂体分泌过量 LH,升高的 LH 刺激卵巢卵泡膜细胞和间质细胞产生过量的雄激素,进一步升高雄激素的水平,从而形成“恶性循环”。卵巢颗粒细胞内细胞色素 P450 芳香化酶是雄激素转化为雌激素的最后一步限速酶,其表达水平及活性直接决定了卵泡液及外周组

织中的雄激素水平。目前,关于 P450 芳香化酶在 PCOS 妇女卵巢组织中的表达水平及调控机制尚不清楚。

### 一、PCOS 卵巢组织中 P450 芳香化酶表达受限

P450 芳香化酶是雄激素转化为雌激素的限速酶,PCOS 患者血清中雄激素水平升高,提示可能存在芳香化酶活性缺陷,有研究用 PDGF 刺激 PCOS 患者芳香化酶的活性,发现能有效促进卵巢颗粒细胞分泌  $E_2$ ,说明 PCOS 患者存在 P450 芳香化酶功能不足,刺激其活性能有效促进雄激素向雌激素转化;Kafali 等<sup>[14]</sup>使用芳香化酶抑制剂——来曲唑诱导雌性大鼠 PCOS 模型,取得与人 PCOS 相似的内分泌改变及组织学变化;Deshpande 等<sup>[15]</sup>研究认为,PCOS 患者血循环中  $E_2$  水平降低与细胞色素 P450 芳香化酶 mRNA 水平降低有关。

### 二、P450 芳香化酶表达正常或亢进

早期 PCOS 的研究认为,高雄激素血症是导致无排卵的主要因素,但临床观察发现,PCOS 患者无论是否纠正雄激素过多,补充适量促性腺激素即可诱导卵泡发育,说明无排卵的主要因素不在于雄激素过多。实验室检查也发现,卵泡液中雌激素总体水平并不减少甚至升高,且  $E_1 > E_2$ ,表现为  $E_2$  水平相对降低,提示 P450 芳香化酶的活性并未降低,而是作用的雄激素底物改变为雄烯二酮导致的  $E_1/E_2$  比值增高,PCOS 妇女血清中持续高水平的 LH 刺激卵巢卵泡膜细胞和间质细胞产生大量的雄烯二酮也刺激了 P450 芳香化酶 mRNA 的表达<sup>[16]</sup>。Franks 等<sup>[17]</sup>报道 PCOS 患者卵巢内雌激素反应明显升高,芳香化酶功能亢进;Ja Marca 等<sup>[18]</sup>在研究胰岛素增敏剂对 PCOS 的作用时发现,二甲双胍可以直接作用于卵巢,降低 P450 芳香化酶活性,减少雌激素的合成,并解除卵泡液中雌激素对 FSH 的负反馈,使 FSH 受体表达增多,促进卵泡发育,提示 P450 芳香化酶活性增高可能与 PCOS 患者卵巢功能障碍有关,有研究发现,使用芳香化酶抑制剂诱导排卵效果相当或优于氯米芬,尤其适用于 PCOS 患者,提示 PCOS 患者排卵障碍可能与 P450 芳香化酶表达升高有关<sup>[19]</sup>。

P450 芳香化酶在 PCOS 妇女卵巢中的表达是一个多调节因子作用的过程,2003 年人类基因组计划的完成让我们认识到大多数疾病的发生是发生在蛋白质水平<sup>[20]</sup>,利用蛋白质组学的相关技术可能可以寻找到调节 P450 芳香化酶表达的特异蛋白质,进而丰富 PCOS 发病机制的研究,但相关研究报道很少,值得关注。

参 考 文 献

[1] Iwabuchi J, Wako S, Tanaka T, et al. Analysis of the p450 aromatase gene expression in the Xenopus brain and gonad [J]. Steroid Biochem Mol Biol, 2007, 107 (3-5): 149-155.

[2] Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, et al. Reproductive system: aromatase and estrogens [J]. Mol Cell Endocrinol, 2002, 193 (1-2): 137-143.

[3] Vincent H, Helene B, Herve M, et al. Differential Regulation of Two 3' End Variants of P450 Aromatase Transcripts and of a New Truncated Aromatase Protein in Rabbit Preovulatory Granulosa Cells [J]. Endocrinology, 2003, 144 (11): 4790-4798.

[4] Ailawadi RK, Jobanputra S, Kataria M, et al. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study [J]. Fertil Steril, 2004, 81 (2): 290-296.

[5] Harlow CR, Bradshaw AC, Rae MT, et al. Oestrogen formation and connective tissue growth factor expression in rat granulosa cells [J]. Endocrinology, 2007, 192 (1): 41-52.

[6] Klinghoffer RA, Muetting-Nelsen PF, Faerman A, et al. The two PDGF receptors maintain conserved signaling in vivo despite divergent embryological functions [J]. Mol Cell, 2001, 7 (2): 343-354.

[7] Srianni R, Chimento A, Malirindi R, et al. Insulin-like growth factor-1, regulating aromatase expression through steroidogenic factor-1, supports estrogen-dependent tumor Leydig cell proliferation [J]. Cancer Res, 2007, 67 (17): 8368-8377.

[8] Ghersevich S, Poutanen M, Tapanainen J, et al. Hormonal regulation of rat 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in cultured rat granulosa cells: effects of recombinant follicle-stimulating hormone, estrogens, androgens, and epidermal growth factor [J]. Endocrinology, 1994, 135 (5): 1963-1971.

[9] Lorenzo PL, Liu IK, Illera JC, et al. Influence of epidermal growth factor on mammalian oocyte maturation via tyrosine-kinase pathway [J]. J Physiol Biochem, 2001, 57 (1): 15-22.

[10] Lambard S, Galeraud-Denis I, Bouraima H, et al. Expression of aromatase

in human ejaculated spermatozoa: a putative marker of motility [J]. Mol Hum Reprod, 2003, 9 (3): 117-124.

[11] Arlt W. Dehydroepiandrosterone replacement therapy [J]. Semin Reprod Med, 2004, 22 (4): 379-388.

[12] Mitwally MF, Biljan MM, Casper RF. Pregnancy outcome after the use of an aromatase inhibitor for ovarian stimulation [J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 192 (2): 381-386.

[13] Stocco C, Kwintkiewicz J, Cai Z. Identification of regulatory elements in the Cyp19 proximal promoter in rat luteal cells [J]. Mol Endocrinol, 2007, 39 (4): 211-221.

[14] Kafali H, Iriadam M, Ozardl I, et al. Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease [J]. Arch Med Res, 2004, 35 (2): 103-108.

[15] Deshpande RR, Chang MY, Chapman JC, et al. Alteration of cytokine production in follicular cystic ovaries induced in mice by neonatal estradiol injection [J]. Am J Reprod Immunol, 2000, 44 (2): 80-88.

[16] Auvray P, Nativelle C, Bureau R, et al. Study of substrate specificity of human aromatase by site directed mutagenesis [J]. Eur J Biochem, 2002, 269 (5): 1393-1405.

[17] Franks S, Mason H, White D, et al. Etiology of anovulation in polycystic ovary syndrome [J]. Steroids, 1998, 63 (5-6): 306-307.

[18] la Marca A, Morgante G, Palumbo M, et al. Insulin-lowering treatment reduces aromatase activity in response to follicle-stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome [J]. Fertil Steril, 2002, 78 (6): 1234-1239.

[19] Barroso G, Menocal G, Felix H, et al. Comparison of the efficacy of the aromatase inhibitor letrozole and clomiphene citrate as adjuvants to recombinant follicle-stimulating hormone in controlled ovarian hyperstimulation: a prospective, randomized, blinded clinical trial [J]. Fertil Steril, 2006, 86 (5): 1428-1431.

[20] Hughes C, Elgasm M, Layfield R, et al. Genomic and post-genomic approaches to polycystic ovary syndrome-progress so far: Mini Review [J]. Hum Reprod, 2006, 21 (11): 2766-2775.

## 青春期多囊卵巢综合征及其代谢特征

南京医科大学第一附属医院临床生殖医学中心 (210029) 李 梅综述 刘嘉茵 崔毓桂审校

**摘 要** 多囊卵巢综合征是育龄妇女中常见的内分泌和代谢紊乱性疾病,以持续性无排卵和高雄激素血症为基本特征。近年许多研究发现,多囊卵巢综合征越来越多地发生于青春期女性中,除对青少年的生活质量产生不利影响,还包括一系列不断增加的并发症,如不孕症、高胰岛素血症以及相关的 2 型糖尿病、血脂代谢障碍及心血管疾病等。早期识别青春期多囊卵巢综合征,有利于及时纠正,阻断其内分泌紊乱,防止近期及远期并发症的发生。

**关键词** 多囊卵巢综合征 青春期 代谢综合征

多囊卵巢综合征 (PCOS) 是一种起病多因性、临床表现高度多态性的内分泌紊乱疾病。其在育龄妇女中的发病率约为 5%~10%,青少年中 PCOS 的发病率目前尚无明确数据。近年来,许多学者发现 PCOS 的发病可追溯到青春期,育龄期 PCOS 可能是青春期 PCOS 的延续。但是由于青春期发育过程中生理性不规则排卵、高雄激素血症及多囊卵巢的形态学特点与 PCOS 的临床特征十分相似,常使青春期 PCOS 不易及时发现,造成诊断和治疗的延误。本

文就青春期 PCOS 的临床及内分泌代谢特点进行综述,着重强调如何早期识别青少年中的 PCOS。

### 青春期 PCOS 的临床特征

过去一直认为,PCOS 是一个发生于育龄期的内分泌紊乱性疾病,但是近年研究表明 PCOS 最初表现为出生时的小于胎龄儿,到儿童时期,低出生体重 (LBW) 儿出现快速生长,导致肥胖的发生及阴毛初现提前 (PP); 不排卵及高雄激素血症是其青少年时期的主要特点,同时代谢紊乱及心血管疾病的发病率增加。