

• 临床论著 •

更年期综合征患者白细胞雌激素受体的变化及六味地黄丸的疗效

第二军医大学长海医院内分泌科(上海 200433) 张家庆 邹大进

内容提要 应用放射配体结合测定法,测定22例更年期综合征患者白细胞雌激素受体(ER)的含量,并与12名正常育龄妇女比较。结果表明,更年期综合征患者白细胞ER的含量明显低于正常育龄妇女。提示更年期综合征的发病不仅与雌激素水平下降有关,而且也与细胞内ER下降有关。应用六味地黄丸治疗2个月后,除症状改善外,可使白细胞ER含量及血浆雌二醇(E_2)水平明显增高。这可能是此种中药发挥疗效的基础。

关键词 雌激素受体 雌二醇 更年期综合征 六味地黄丸

更年期综合征的发病一般认为与雌激素缺乏有关,但与细胞内雌激素受体(ER)是否有关,似未见研究。细胞内ER水平下降,必然使雌激素的生物效应受到影响。本文观察更年期综合征患者白细胞ER水平和几种激素的变化以及应用六味地黄丸(简称六地丸)治疗本病2个月后对白细胞ER水平的影响。现报告如下。

对象与方法

一、对象

1. 患者组: 为22例更年期综合征患者,平均年龄50.6岁。其诊断标准: (1)自然停经半年至2年以内的妇女; (2)有明显的更年期综合征的症状,如潮红、出汗、情绪改变等; (3)血中雌二醇(E_2)明显降低,促卵泡素(FSH)和促黄体素(LH)水平明显升高; (4)临床检查排除其他器质性病变。22例又随机均分为: (1)六地丸治疗组(8例绝经1~2年,3例停经半年); 六地丸每日9g,早晚分服,共服2个月。 (2)谷维素治疗组(7例绝经1~2年,4例停经半年); 以谷维素作为安慰剂,每日60mg,早晚分服,共服2个月。

2. 正常组: 育龄妇女共12例,年龄22~40岁,平均34岁。月经周期正常,均无口服避孕药史,无心、肝、肾、肺等系统疾病。

二、方法

1. 白细胞ER测定: 采用放射配体结合测定法,测定正常组及患者组服药前与服药2个月后完整白细胞内的ER水平。主要参考Danel^①和顾氏^②等法加以改进,简述如下。

(1)分离外周血白细胞: 取晨8时静脉血,加2倍体积的去钙镁Hanks液(国产AR试剂配制)稀释混匀,再加入总体积一半的3% DextranT-500(Pharmacia公司产品),倒转混匀后直立静置15~30min,吸出富含白细胞的上层液,600g离心5min,在细胞沉淀中加所取血量一半的溶红细胞缓冲液,置37℃水浴10min,然后用Hanks液冲洗2次,调节白细胞浓度至 10^7 细胞/ml左右备用。

(2)白细胞与 $[^3H]$ 雌二醇的结合: 取 10^7 细胞/ml左右的白细胞悬液1ml,加入不同浓度(0.05~1.0nM)间取5个浓度或饱和浓度(1.0nM) $[^3H]-E_2$ (上海生物化学研究所产品,放射比度45ci/mmol,放化纯度97%)为总结合管,在平行管中再加入200倍过量的己烯雌酚(Pharmacia公司产品),置37℃水浴1h,保温结束后,各管加冰冷的磷酸盐-生理盐水缓冲液(PBS)3ml终止反应。上述各管1300g离心5min,沉淀再用PBS冲洗2次即洗去游离 $[^3H]-E_2$ 。用甲酸0.1ml使细胞消化,加入4ml闪烁液,在FJ-2105型液闪计数仪上计数。计数效率32%。

(3) 白细胞 ER 结合位点的计算: 总结合管的 cpm 减去非特异性结合的 cpm, 即为特异结合的 cpm, 再换算成结合位点/细胞。

甾体激素受体的测定结果用饱和浓度的标记配体作一点分析。一点分析法得到的结果, 实际上是 Scatchard 作图上的一点, $[^3\text{H}]\text{-E}_2$ 最大特异结合量(R_s)反映 ER 的数量, 两法结果呈正相关。此结果可作为细胞受体数多少的比较。将同一血样品的细胞悬液分成 4 份, 同时测定 $[^3\text{H}]\text{-E}_2$ 的特异结合量。平行管间的变异系数为 $9.98 \pm 5.62\%$ ($\bar{x} \pm S$)。

2. 激素水平测定: 每一血标本分别测定 FSH、LH 和 E_2 , 皆用放射免疫测定法。受试者的标本均一批测定。FSH、LH 放免药盒为上海生物制品研究所产品, E_2 放免药盒为上海内分泌研究所产品。考虑到月经周期时激素和白细胞 ER 的变化⁽³⁾, 育龄妇女对照组均在黄体期(月经周期第 22 天、血孕酮水平明显增高 $> 20\text{nmol/L}$) 抽血检测, 便于比较。

3. 统计学处理: 各项数值均用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm S$)表示, 用 t 检验比较两组均值。

表 2 患者组用药前后血浆 FSH、LH、 E_2 及白细胞 ER 水平 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	测定时期	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	E_2 (pmol/L)	白细胞 ER (R_s 位点/细胞)
六地丸	11	治 疗 前	62.4 ± 23.0	34.7 ± 12.4	214.0 ± 110.1	355 ± 154
		治 疗 后	$30.5 \pm 10.4^*$	$14.9 \pm 8.4^*$	$257.2 \pm 226.5^*$	$884 \pm 252^*$
谷维素	11	治 疗 前	63.3 ± 17.0	40.2 ± 10.3	153.8 ± 52.5	388 ± 143
		治 疗 后	61.5 ± 18.5	38.8 ± 12.3	167.8 ± 44.8	364 ± 98

*与治疗前比较 $P < 0.001$

治疗组, 本病的临床表现(如潮红、出汗、心悸、焦虑、腰酸、腰痛等)均明显好转。而用谷维素治疗组, 本病的临床表现无明显改善。

讨 论

一、中西医对更年期综合征的认识: 绝经期后由于卵泡数目下降, 卵泡上颗粒细胞与卵泡膜细胞上促性腺激素受体减少, 逐渐丧失对垂体促性腺激素的敏感性, 结果使雌激素水平显著降低, 对下丘脑、垂体反馈抑制作用下降, 故 FSH、LH 增高。这与本文的结果一致。中

结 果

一、患者组 FSH、LH、 E_2 及 ER 的变化: 更年期综合征患者 FSH、LH 显著高于正常对照组, E_2 、ER 均显著低于正常对照组。见表 1。

表 1 两组血浆 FSH、LH、 E_2 及白细胞 ER 的比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	E_2 (pmol/L)	白细胞 ER (R_s 位点/细胞)
患者	22	$62.9 \pm 20.0^*$	$37.5 \pm 11.4^*$	$183.9 \pm 81.5^*$	$372 \pm 149^*$
正常	12	10.2 ± 4.7	11.5 ± 2.1	918.9 ± 335.9	1143 ± 255

*与正常组比较 $P < 0.001$

二、患者组用药前后 FSH、LH、 E_2 及 ER 的比较: 本组 11 例更年期综合征患者应用六地丸治疗 2 个月后, 血 FSH、LH 水平较治疗前明显下降 ($P < 0.001$), 血 E_2 及白细胞 ER 则明显升高 ($P < 0.001$)。另一组患者用谷维素治疗 2 个月后, 血 FSH、LH、 E_2 和 ER 与治疗前比较无明显变化 ($P > 0.05$)。见表 2。

三、患者组用药前后临床表现: 用六地丸

医认为肾为先天之本, 与人体生殖功能有密切关系, 肾有阴阳, 肾气属阳, 肾精属阴。张景岳认为“真阴不足”是老年女性衰老的重要机理。女性年过 49, 肾精不足, 多出现肾阴虚证象。故西医治疗以补充雌激素替代疗法为主, 而中医的治疗则为滋补肾阴。

二、更年期综合征患者白细胞 ER 的变化: 近年来的研究表明⁽⁴⁾, 动物子宫随着年龄的增加对雌激素的反应降低。进一步研究认为, 这种反应性降低, 至少部分与子宫肌和内膜细胞中 ER 降低有关⁽⁵⁾。此外老年大鼠下丘脑、垂体

细胞ER均明显减少,同时伴随着 E_2 生物学效应的降低⁽⁶⁾。但人类老年时ER的变化是尚待探索的问题⁽⁷⁾。本文证明更年期综合征患者不仅有 E_2 的降低,而且白细胞ER也明显降低,这无疑是 E_2 生物学效应降低的重要证据。对于白细胞ER降低的原因推测有以下可能:(1)更年期综合征患者血中雌激素水平明显降低,而雌激素对ER有正向调节作用,由于正向调节作用降低,故白细胞ER水平降低;(2)ER是一种代谢更新很快的蛋白质,老年时全身代谢特别是蛋白质代谢降低,因此受体合成可能受到影响⁽⁸⁾。白细胞ER的降低,是否是全身靶器官(组织)中ER减少的反映,还需要做进一步的研究。不过从动物试验和本文的初步研究结果来看,更年期综合征患者白细胞ER下降,随之可能有靶细胞(组织)内ER降低,出现更年期综合征的一系列临床表现。

三、六地丸治疗对血FSH、LH、 E_2 及白细胞ER的影响:本文证明,更年期综合征患者服用六地丸2个月后血FSH、LH明显下降,血 E_2 及白细胞ER则明显升高,说明滋补肾阴的药物可以提高更年期综合征患者激素内环境的稳定能力,使下丘脑—垂体—卵巢轴及ER各个层次的功能都有改善。 E_2 及白细胞ER的升高,可以负反馈抑制垂体FSH、LH的分泌,使血FSH、LH水平明显下降,同时观察到临床表现有明显改善。迄今在西药中(除 E_2 外)很少具有增加ER的作用,而中药却有这类疗效是值得注意的。当然绝经在某种意义上说是一个不可逆的过程,而改善更年期综合征的临床表现却是能够做到的,其中提高血中雌激素水平和靶

细胞ER含量是治疗的关键⁽⁹⁾,所以目前国外已不再争论能否应用雌激素治疗,而着重讨论如何采用雌激素治疗的问题。研究认为当血中 E_2 达到440pmol/L时即可产生疗效,一旦低于184~220pmol/L,即没有疗效⁽¹⁰⁾。六地丸能同步提高本病患者血中 E_2 和白细胞ER的水平,这可能是此种中药发挥疗效的基础。六地丸使 E_2 和白细胞ER升高的机理以及长期维持用药的问题尚待深入研究。

参 考 文 献

1. Danel L, et al. Specific estrogen binding sites in human lymphoid cells and thymic cells. *J Steroid Biochem* 1983; 18: 359.
2. 顾百诚,等.人白细胞雌二醇受体的测定. *中华内分泌代谢杂志* 1986; 2: 102.
3. 邹大进,等.正常月经周期中白细胞雌激素受体的变化. *解放军医学情报* 1990; 4(5):240.
4. Belisle A, et al. Effect of aging on the dissociation kinetics and estrogen receptor-nuclear interactions in mouse uteri: correlation with biological effect. *Endocrinology* 1986; 118: 750.
5. Han Z, et al. Effect of aging on populations of estrogen receptor-containing cells in the rat uterus. *Exp Cell Res* 1989; 180: 234.
6. Nelson JF, et al. Aging of the hypothalamo-pituitary-ovarian axis hormonal influences and cellular mechanism. *J Steroid Biochem* 1989; 27: 699.
7. 邹大进,等.神经递质和激素受体在老年期的改变. *解放军医学情报* 1989; 3(5):242.
8. Saceda M, et al. Regulation of the estrogen receptor in MCF-7 cell by estradiol. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 1157.
9. Casper RF, et al. Neuroendocrinology of menopausal flushes: an hypothesis of flushes mechanism. *Clin Endocrinol* 1985; 22: 293.
10. Hupert LC. Hormonal replacement therapy: benefits, risk, dose. *Med Clin North Am* 1987; 71: 23.

· 简 讯 ·

贵州省中西医结合学会于4月20~22日在黔西县召开了农村基层中西医结合老年疾病研讨会,来自农村基层的中西医结合医务工作者代表共45人。有14位代表就农村基层老年疾病如动脉硬化性梗塞、肺心病、肺部感染、慢支、阴道炎、皮肤病、老年性股骨骨折、老年性肝炎及常见老年病流行病学防治、用药要点等方面作了中心发言,并请有关专家作了专

题讲座。

会议期间还成立了由息峰县卫生局长任国忠等11人组成的贵州省中西医结合学会农村基层专业委员会筹备组,并拟于明年适当时候召开成立大会和学术交流会,为93年全国会议作准备。

(李志伟)

Abstracts of Original Articles

Changes of Leucocytic Estrogen Receptor Levels in Patients with Climacteric Syndrome and Therapeutic Effect of Liuwei Dihuang Pills(六味地黄丸)

Zhang Jia-qing(张家庆), Zhou Da-jing(邹大进)

Dept. of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai (200433)

The numbers of estrogen receptor (ER) in human peripheral leucocytes in 22 women with climacteric syndrome were measured by radioligand method. The results were compared with those of 12 normal child-bearing-age women. It was found that the contents of leucocytic ER in climacteric syndrome patients were significantly lower than normal child-bearing-age women. The authors used a Chinese prescription—Liuwei Dihuang Pills (LDP) to treat the patients for 2 months. The numbers of leucocytic ER were significantly increased after treatment. The data indicate that decrease of ER levels in cell may involve in the pathogenesis of climacteric syndrome. LDP not only increases plasma estradiol levels, but also increases the leucocytic ER levels. This may be the basis of the therapeutic effect on the disease.

Key Words estrogen receptor, estradiol, climacteric syndrome, Liuwei Dihuang Pills

(Original article on page 521)

Study on the Treatment of Endometriosis with Removing Blood Stasis and Purgation Method

Wang Da-zeng(王大增), Wang Zu-qian(王祖倩), Zhang Zhi-feng(张志枫)

Long Hua Hospital, Shanghai College of TCM, Shanghai (200032)

According to the method of differentiation of symptom complexes of traditional Chinese medicine (TCM), endometriosis is a disease of blood stasis and mass in the lower portion of abdomen. 76 cases were treated by TCM prescription named endometriotic pill No 1 with rhubarb as the main ingredient. The chief functions of the rhubarb were removing blood stasis, disintegrating mass and purgation. The total effective rate was 80.26%. Among them, the effective rate of dysmenorrhea was 88.89%, that of pelvic pain was 66.72%, that of intercourse pain 72.12%, and diminishing in size of mass or nodule 22.15%; 3 cases of 22 infertility got pregnant (13.63%). The results revealed that the endometriotic pill No 1 yielded distinct improvement in the treatment of endometriosis, including clinical symptoms and signs, laboratory assay of blood rheology, serum Ig, subgroup of T lymphocyte (OKT system) and PG.

Key Words endometriosis, method of removing blood stasis and purgation, blood rheology, humoral immunity, subgroup of T lymphocyte, prostaglandin

(Original article on page 524)

Effects of Gossypol and GnRHa on the Prostaglandins Contents of Endometriotic Cell and in Situ

Huang He-feng(黄荷凤), Wang Man(王曼)

Dept. of Obstetrics and Gynecology, Zhejiang Medical University, Hangzhou (310006)

In order to study a direct effect of some traditional and western medicine on the prostaglandins (PGs) of endometriosis, endometriotic cell and endometrial cell in situ were cultured in vitro. 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ and thromboxane (TXB $_2$) were measured in the above cells using the RIA from the superfusates. These PGs changes after gossypol acetate, progesterone, danazol and gonadotrophin releasing hormone agonist (GnRHa) treatment were studied. High PGs levels were observed in endometriotic cell, and higher in endometrial cell in situ of patients than in endometrial cell of healthy persons ($P < 0.01$). After treatment with drug (but not GnRHa), the prostacyclin (PGI $_2$)