

尼古丁抗雌激素作用的研究进展

黄倩综述 徐丛剑* 审校

(复旦大学附属妇产科医院, 上海 200032)

摘要: 吸烟对女性生殖内分泌有很多不利影响, 然而流行病学也提示吸烟妇女患雌激素依赖性疾病的危险较低。作为香烟中碱类的主要成分尼古丁, 其抗雌激素的机制也成为研究热点。本文对尼古丁的抗雌激素作用机制, 从尼古丁对雌激素合成、代谢、转运的影响及可能的受体和受体后效应几方面进行阐述。

关键词: 吸烟; 尼古丁; 雌激素; 芳香化酶; 受体

中图分类号: R962 文献标识码: A 文章编号: 1001-0971(2006)03-0204-04

吸烟的危害众所周知, 但流行病学研究也展示了其“有利”的方面, 比如吸烟妇女患雌激素依赖性疾病的危险较低, 这引起了研究者对香烟中碱类的主要成分尼古丁的兴趣。尼古丁对女性生殖内分泌的影响, 特别是尼古丁的抗雌激素作用机制成为近年来研究的热点之一。本文主要就吸烟对女性生殖内分泌的影响, 尼古丁对体内雌激素的生物合成、代谢、转运的影响, 以及雌激素受体、烟碱受体及受体后效应几方面的研究进展作一综述。

1 概述

吸烟对女性有特殊危险。吸烟的孕妇易发生早产、自发性流产。另一方面, 大量流行病学调查提示^[1], 吸烟妇女患子宫内膜异位症、子宫内膜癌、子宫肌瘤、乳腺良性疾病(如纤维腺瘤、纤维囊肿)等雌激素依赖性疾病的危险较低。这为香烟及其成分的抗雌激素机制研究提供了依据。香烟的烟雾中含有多种成分, 包括多环芳香烃、尼古丁、烟焦油、一氧化碳、氢氰酸等。其中尼古丁在香烟的总碱类中占90%~95%。尼古丁又叫烟碱, 是一种吡啶族生物碱, 它可以通过呼吸道、鼻粘膜、皮肤迅速吸收入人体, 大约80%~90%在肝脏中代谢, 小部分经肾和肺代谢, 并通过尿液、胆汁、唾液、胃液、汗液和乳汁排泄。越来越多的文献提示, 尼古丁作为烟中碱类的主要成分, 具有抗雌激素作用。

1.1 吸烟对雌激素水平的影响

在流行病学研究中, 吸烟对雌激素水平的影响存在争议。Friedman等在20世纪80年代对绝经后吸烟(9名)和不吸烟(16名)妇女的清晨血清雌激素水平检测结果显示, 雌酮、雌二醇和脱氢表雄酮硫酸盐没有明显差异, 仅孕激素和雄烯二酮的水平在吸烟者血中明显升高。从而推测孕激素的增加可能对吸烟者的内膜癌发病率起了一定作用。然而, Bernstein等的调查结果发现, 吸烟的孕妇血、尿中雌二醇和雌三醇水平都比不吸烟的孕妇低。两者结果不一致, 可能与所选研究对象不同有关, 前者为绝经后妇女, 而后者为孕妇。Westhoff等^[2]在20世纪90年代的调查结果表明, 吸烟的育龄妇女血雌二醇的水平在月经中期和黄体期明显低于不吸烟妇女。这进一步证实了吸烟妇女体内雌激素水平较低。

1.2 吸烟的抗雌激素作用及可能意义

雌激素对细胞增殖起促进作用, 并且能诱导乳腺癌和子宫内膜癌的发生及发展。此外, 其他疾病如子宫内膜异位症、子宫肌瘤及乳腺纤维腺瘤等病灶的生长和维持也依赖于局部雌激素的作用, 因此如何拮抗或减弱雌激素的作用以治疗雌激素依赖性疾病成为研究热点, 并具有重要的临床意义。20世纪80年代的流行病学调查表明, 早在17岁以前即开始吸烟且每日吸烟不少于1包者, 发生子宫内膜异位症的危险降低(RR: 0.5, 95% CI: 0.3~0.9)。Franks也发现, 自然绝经后, 吸烟的妇女与不吸烟妇女相比, 发生子宫内膜癌的风险降低50%(RR: 0.5, 95% CI: 0.3~0.8), 尤其在绝经后使用雌激素替代治疗的妇女中, 吸烟与不吸烟相比, 子宫内膜癌风险降低70%(RR: 0.3, 95% CI: 0.1~0.8)。吸烟的妇女

收稿日期: 2005-10-18

作者简介: 黄倩, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中西医结合妇科, E-mail: qianhuang39@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 徐丛剑, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 妇科肿瘤和中西医结合妇科, E-mail: xucj@vnet.citiz.net

患子宫肌瘤、乳腺良性疾病如纤维腺瘤、纤维囊肿等雌激素依赖性疾病的危险也很低^[1]。另一方面,吸烟对女性内分泌的其他影响也与雌激素有关。吸烟妇女比不吸烟妇女绝经年龄提前至少1~1.5年。吸烟妇女骨质疏松更常见,其原因部分可由吸烟的低雌激素效应解释^[3]。绝经后雌激素替代治疗,本可改善绝经后妇女出现的潮热、阴道萎缩症状,改善体内脂代谢,降低胆固醇,还可预防骨质疏松。然而对于绝经后吸烟的妇女,这种治疗效应大大降低,吸烟者血雌二醇和雌酮的水平仅能达到不吸烟者的50%,因此降低了雌激素对骨质疏松性骨折和心血管事件发生的预防作用,这与吸烟导致雌激素的肝脏清除率增加和低雌激素水平有关。然而吸烟对治疗的影响仅限于雌激素口服给药的情况,在经皮给药时雌激素替代治疗的益处仍然可见^[4]。这些现象提示,香烟及其成分尼古丁潜在有抗雌激素作用,并且在雌激素依赖性疾病的药物研发方面有着良好的前景。

2 尼古丁抗雌激素作用的可能机制

2.1 尼古丁抑制雌激素合成

雌激素的合成需经一系列酶促反应,先由胆固醇转换为孕烯醇酮,后者经酶催化转变为孕酮,孕烯醇酮和孕酮在 17α -羟化酶的作用下分别形成 17α -羟孕烯醇酮和 17α -羟孕酮,这两种产物经 $17,20$ 裂解酶作用再分别形成脱氢表雄酮和雄烯二酮,脱氢表雄酮可转化生成睾酮,并和雄烯二酮一样由芳香化酶催化分别形成 17β 雌二醇和雌酮。

对育龄妇女而言,卵巢是雌激素生物合成的最重要来源。根据Falck在1959年提出的雌激素合成的两细胞-两促性腺激素学说,卵巢雌激素的合成是由卵泡膜细胞和颗粒细胞在卵泡刺激素(FSH)和黄体生成素(LH)的共同作用下完成的:LH与卵泡膜细胞LH受体结合后可使胆固醇形成睾酮和雄烯二酮,后两者进入颗粒细胞内成为雌激素的前身物质;FSH与颗粒细胞上FSH受体结合后激活芳香化酶,将睾酮和雄烯二酮分别转化为雌二醇和雌酮,进入血循环和卵泡液中。可见芳香化酶在雌激素生物合成中起重要作用。

除卵巢外,芳香化酶在很多组织细胞中都有表达,如胎盘合体滋养层细胞、脂肪组织、皮肤成纤维细胞、成骨细胞和脑组织等。同时这些性腺外雌激素的生物合成也成为了绝经后妇女雌激素的主要来

源。

有研究发现,吸烟者的足月胎盘中,芳香化酶的活性和表达有明显降低。尽管随着孕期延长,吸烟者和不吸烟者胎盘的芳香化酶活性和表达水平均有增加,然而重度吸烟者(每日多于20支)的增加量明显低于非吸烟者和中度吸烟者(每日少于20支),这在足月胎盘表现尤为明显。Barbieri等通过体外实验证实,香烟烟雾的水提取物可抑制体外培养的人卵泡颗粒细胞的芳香化酶活性,抑制雄烯二酮转化为雌激素,并呈剂量依赖效应。而从培养基中去除烟雾的水提取物后,芳香化酶活性的抑制可完全逆转。如果向培养基中加入超生理剂量的雄烯二酮 $73\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,可以阻断烟对芳香化酶活性的抑制。同时,烟中两种主要的低分子量成分,尼古丁与新烟碱(anabasine,香烟中的一种含量较少的成分)对颗粒细胞芳香化酶的抑制也呈剂量依赖效应。这些结果证实,尼古丁及其类似物可以直接抑制芳香化酶活性。

在绒癌细胞和足月胎盘微粒体中,尼古丁、可替宁、新烟碱均抑制雄烯酮或睾酮转化为雌激素,并呈剂量依赖效应。然而其他研究者的一些研究结果却不同。一方面,可能是由于各个研究所用的尼古丁类型不同,另一方面试验所用的人卵巢颗粒细胞来自因不孕接受体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)治疗的病人,IVF病人经过超生理剂量的促性腺激素的作用,可能会改变颗粒细胞在体内环境的状态。

也有学者认为,尼古丁的抗雌激素作用不是直接的,可能是通过抑制卵泡内膜细胞合成雄激素来实现。为避免取材的影响,Sanders^[5]选用牛的卵泡内膜与尼古丁共培养24h,结果与对照组相比,加入6,60和600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尼古丁分别使雄烯二酮的分泌量减少55%,53%,24%。可见,随着尼古丁剂量的增加,雄烯二酮的分泌量逐渐减少。而牛卵泡颗粒细胞只有当与最高剂量600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尼古丁共培养时,培养基中的雌二醇浓度才降低至对照值的12%,然而,细胞活力试验结果表明,高剂量组尼古丁对颗粒细胞产生了细胞毒性作用。低剂量组(6和60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)尼古丁对雌二醇的分泌并没有抑制作用。尼古丁对雌激素合成的抑制是通过直接抑制其合成芳香化酶,还是通过抑制卵泡内膜细胞减少雄激素的合成,或者两者兼而有之,尚需要更多的实验支持。

关于尼古丁对性腺外雌激素合成的抑制的研究

很少。有研究者曾通过体外培养两种人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 SK-BR-3, 发现去甲尼古丁的酰基衍生物和新烟碱可以抑制其芳香化酶的活性, 阻断乳腺癌细胞和组织的雌激素的局部合成。这为尼古丁的局部作用抑制雌激素合成途径提供了一些证据, 也为干预局部病灶生长的药物研究提供了思路。

2.2 影响雌激素代谢

雌二醇在肝脏中经多种细胞色素主要代谢为 C2, C4, C16-羟化雌二醇, 活性很低, 很容易从血中清除。与硫酸盐、葡萄糖醛酸盐结合后分泌入胆汁, 在小肠被肠道菌群分解, 经肝肠循环再吸收, 肾脏则将最终代谢产物经尿排出体外。对于吸烟如何影响妇女体内雌激素的代谢, 研究人员观察到吸烟可以增加雌激素在肝脏中代谢的 2-羟基化过程^[6], 导致 2-羟基雌酮生成增多, 而这些化合物的雌激素活性很低, 并且很容易从循环中清除。

2.3 对雌激素转运的影响

通常循环中的雌激素大部分以结合形式存在, 只有少部分是游离的。37% ~ 38% 与性激素结合球蛋白 (sex hormone binding globulin, SHBG) 紧密结合, 60% 与白蛋白疏松结合, 只有 2% ~ 3% 是未结合的游离雌激素。雌酮和雌二醇与 SHBG 的结合能力很弱, 它们主要与白蛋白结合。Cassidenti 等^[7]在检测吸烟和不吸烟的绝经后妇女的雌激素水平时发现, 雌酮、雌二醇、雌酮的硫酸盐和葡萄糖醛酸盐的基线水平相似, 而吸烟妇女未结合型雌二醇 (即没有结合 SHBG) 水平明显低于不吸烟者 ($P < 0.05$), SHBG 的结合能力明显高于不吸烟者 ($P < 0.001$)。由此可见, 吸烟者的 SHBG 浓度很高, 有生物学活性的雌激素浓度很低, 导致作用于靶组织的有活性的雌激素减少, 因而在吸烟的妇女身上更容易出现一些围绝经期症状, 如潮热。另一方面, 绝经后雌激素的合成主要发生在脂肪组织。脂肪组织的含量与血中 SHBG 的浓度呈负相关, 而与游离雌二醇水平呈正相关^[8]。吸烟的妇女脂肪含量相对较低, 可能也是导致 SHBG 增加, 同时活性雌激素含量减少的原因之一^[9]。

2.4 对雌激素受体的影响

17 β -雌二醇是活性最强的一种雌激素, 其生物学作用是通过两类胞内雌激素受体 (estrogen receptor) ER α 和 ER β 介导的。雌激素和受体结合后, 受体发生同源二聚化, 和靶基因上的雌激素反应元件 (estrogen response element, ERE) 结合, 顺式激活靶基

因调控区的增强子, 促进靶基因的转录。关于尼古丁对雌激素受体表达的影响的文献很少, 在一个体外培养正常乳腺导管上皮细胞的实验中, Mazhar^[10]发现, 尼古丁明显促进细胞增生和 ER 表达, 在 $650 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的低浓度时, 这种改变更明显。用 β 胡萝卜素可以明显降低由尼古丁诱导的细胞增生, 还可以预防高剂量尼古丁的细胞毒性作用。然而 β 胡萝卜素在降低由尼古丁诱导的乳腺导管上皮细胞增生时, 却不能改变尼古丁诱导的 ER 的表达。尼古丁对雌激素的拮抗与对 ER 表达的影响之间的关系, 还需要更多实验研究。

2.5 对烟碱受体及受体后效应的影响

除了雌激素受体外, 烟碱受体也可能参与了尼古丁与雌激素的相互作用。烟碱受体 (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR) 属于胆碱能受体 (AChR) 的一种, 是配体门控离子通道。nAChR 在神经节传导和控制外周神经系统和中枢神经系统的功能中十分重要, 在脑中参与多种复杂的识别功能。近年来, nAChR 在非神经组织和细胞中的广泛分布也引起了人们的关注^[11], 如在支气管上皮细胞、血管平滑肌细胞和内皮细胞中也有分布, 这些组织中 nAChR 的功能尚不确切。有学者认为, nAChR 的配体可能以自分泌和旁分泌的方式与 nAChR 结合后, 参与细胞之间信息的交流, 控制一些重要的细胞功能, 如增生、粘附、转移、分泌、存活和凋亡等。

为了研究尼古丁和雌激素之间的拮抗作用及可能的受体途径, Shingo 等^[12]将尼古丁 ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 在不同时间点 (10, 30, 45, 60, 90, 120 min) 腹腔注射雌性大鼠, 24 h 后处死, 分离海马和大脑皮质, 离心后的蛋白与含有雌激素反应元件 (ERE) 的一段同源序列的荧光标记探针共孵育后检测, 结果发现尼古丁明显抑制 ERE 的结合力。这种抑制作用持续时间长达 120 min, 24 h 后又恢复到对照组水平。为了检测尼古丁的这种抑制作用是否是通过烟碱受体途径, 在注射尼古丁前 30 min, 腹腔注射美卡拉明 (一种烟碱受体拮抗剂) 或硝苯地平 (L 型钙通道阻滞剂)。结果发现尼古丁的这种抑制作用可以完全被美加明或心痛定阻断, 推测可能与烟碱受体途径有关, 但仍需试验证明。

另有研究证实, 尼古丁可以促进钙离子内流, 加速促有丝分裂素激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 的级联放大^[13], 从而上调热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, hsp90)^[14], 后者在激

素结合位点下游,参与雌激素受体的活化,影响雌激素受体与DNA连接形成复合体。根据这些结果推测,尼古丁可能通过烟碱受体介导的MAPK激酶活化途径,上调hsp90,阻止雌激素受体与DNA复合体形成。还有一种可能是尼古丁干扰雌激素受体与配体的结合,或影响雌激素受体自身的表达。这些研究提示雌激素、尼古丁、雌激素受体、烟碱受体这四者之间存在着关联,但无确切证据证实。

2.6 受体共区域化现象

电生理研究揭示^[15],17 β -雌二醇、尼古丁和毒蕈碱能诱导离体培养的海马和脊髓中大部分星形胶质细胞的超极化,为这些细胞中功能性雌激素受体和胆碱能受体的存在提供依据。同时,双重免疫组化染色法显示:星形胶质细胞中雄激素受体(AR)、雌激素受体ER α 、ER β 与烟碱受体和毒蕈碱受体存在共区域化现象,但还需进一步研究阐明星形胶质细胞中AR、ER、胆碱能受体在神经退行性疾病中的生理作用。

3 展望

由于吸烟有很多危害,其主要成分尼古丁又与成瘾性有关,长期以来人们对尼古丁的认识很局限。随着近年来对尼古丁研究的深入,尼古丁“有利”的方面越来越引起许多研究者对其治疗作用的兴趣。大部分专家认为^[16],尼古丁本身不引起肿瘤,而是香烟中的多环芳香烃和亚硝胺导致DNA损害而致癌。目前国外很多研究认为尼古丁对帕金森病、阿尔茨海默病、溃疡性结肠炎等的治疗有帮助。在女性生殖内分泌方面,尽管尼古丁有一些不良影响,但在子宫内膜异位症、子宫肌瘤、子宫内膜癌、乳腺癌等雌激素依赖性疾病的发生发展中,局部雌激素分泌是一个很重要的影响因素。通过研究尼古丁及其类似物对靶组织局部抗雌激素作用的机制,期望能为雌激素依赖性疾病提供新的治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Baron JA, La Vecchia C, Levi F. The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 162(2):502-514.
- [2] Westhoff C, Gentile G, Lee J, et al. Predictors of ovarian steroid secretion in reproductive-age women[J]. *Am J Epidemiol*, 1996, 144(4):381-388.
- [3] Tanko LB, Christiansen C. An update on the antiestrogenic effect of smoking: a literature review with implications for researchers and practitioners[J]. *Menopause*, 2004, 11(1):104-109.
- [4] Mueck AO, Seeger H. Smoking, estradiol metabolism and hormone replacement therapy[J]. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents*, 2005, 3(1):45-54.
- [5] Sanders SR, Cuneo SP, Turzillo AM. Effects of nicotine and cotinine on bovine theca interna and granulosa cells[J]. *Reprod Toxicol*, 2002, 16(6):795-800.
- [6] Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Naganuma H, et al. Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking[J]. *N Engl J Med*, 1986, 315(21):1305-1309.
- [7] Cassidenti DL, Vijod AG, Vijod MA, et al. Short-term effects of smoking on the pharmacokinetic profiles of micronized estradiol in postmenopausal women[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 163(6 Pt 1):1953-1960.
- [8] Wu F, Ames R, Evans MC, et al. Determinants of sex hormone-binding globulin in normal postmenopausal women[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2001, 54(1):81-87.
- [9] Daniel M, Martin AD, Drinkwater DT. Cigarette smoking, steroid hormones and bone mineral density in young women[J]. *Calcif Tissue Int*, 1992, 50(4):300-305.
- [10] Mazhari NJ, Mandal AK, Thusoo TK. Carcinogenic effect of nicotine on normal mammary ductal epithelial cells and the protective role of beta-carotene[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2003, 46(1):24-27.
- [11] Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology[J]. *Prog Neurobiol*, 2004, 74(6):363-396.
- [12] Shingo AS, Yonezawa M, Sakurai K, et al. Nicotine inhibits estrogen response element binding in the rat brain[J]. *J Neural Transm*, 2000, 107(12):1491-1495.
- [13] Tang K, Wu H, Mahata SK, et al. A crucial role for the mitogen-activated protein kinase pathway in nicotinic cholinergic signaling to secretory protein transcription in pheochromocytoma cells[J]. *Mol Pharmacol*, 1998, 54(1):59-69.
- [14] Pratt WB. The role of the hsp90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signaling via MAP kinase[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997, 37:297-326.
- [15] Hosli E, Jurasin K, Ruhl W, et al. Colocalization of androgen, estrogen and cholinergic receptors on cultured astrocytes of rat central nervous system[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2001, 19(1):11-19.
- [16] Anon. Nicotine: It may have a good side. It gets people hooked on cigarettes, but researchers hope that nicotine and related compounds will have therapeutic uses. *Harv Health Lett*, 2005, 30(7):4-5.