

G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路对女性生殖系统影响的研究进展

申亚辉, 马艳华*

作者单位: 300142 天津, 联勤保障部队第九八三医院妇产科

作者简介: 申亚辉, 毕业于空军军医大学, 本科, 住院医师, 主要研究方向为辅助生殖

* 通信作者, E-mail: mayanhua@sina.com

【关键词】GPR30/EGFR; 信号通路; 生殖系统; 女性生殖系统疾病

【中图分类号】R 714.259 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2021)10-033-06

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.10.09

目前, 生殖系统疾病 (reproductive system diseases, RSD) 已经成为威胁女性生殖健康的重要病因。随着科研工作的不断深入, 发现生殖系统细胞的增殖与分化失衡是引起 RSD 的重要机制。有研究表明 G 蛋白偶联受体 30 (G protein coupled receptor 30, GPR30)/表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR) 信号通路的异常会影响细胞的增殖与分化等生物学功能, 因此 GPR30/EGFR 信号通路可能影响 RSD 的进程, 本文将对 GPR30/EGFR 信号通路近年的相关研究做一简要综述。

1 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号转导通路的结构组成

雌激素调控了女性生殖系统和第二性征的发育过程, 雌激素受体 α (estrogen receptor, ER α) 和雌激素受体 β (estrogen receptor, ER β) 是雌激素经典受体的两种主要类型, 两者均属于甾体激素受体, 定位于细胞浆和细胞核内。雌激素进入细胞同 ER α 和 ER β 发生特异性结合, 在细胞核中通过调控目的基因的表达而产生相应的生物学效应, 该过程耗时较长。雌激素也具备一种不依赖 ER α 和 ER β 的快速非经典基因组效应, 介导该过程的是一种位于细胞膜上的新型雌激素受体——GPR30 分子^[1], 当雌激素与 GPR30 分子发生特异性结合后, 可以通过 GPR30/EGFR 信号通路在数秒内产生生理应答效应^[2]。GPR30/EGFR 信号通路的核心分子主要包括 GPR30、EGFR、促分裂原活化的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK)、磷脂酰肌醇-3-激酶

(phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 及丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinase, Akt)。

1.1 G 蛋白偶联受体 30 的基本结构和功能

人类的 GPR30 分子基因位于染色体 7p22.3 上, 有 4 个转录剪接变体编码, 其蛋白结构含有 375 个氨基酸分子, 分子量约为 40K ~ 50KDa。通过嗜水性分析, 结果显示 GPR30 分子具有 7 次跨膜疏水区, 属于 G 蛋白偶联跨膜受体家族中的一员。其跨膜区含有 6 个彼此交替的细胞内外袢, 该结构由 20 ~ 26 个氨基酸残基组成^[3]。GPR30 分子在人体的多个器官呈现为高表达状态, 例如卵巢、子宫、心脏和肺脏等。当其与雌激素结合后可产生快速非经典基因组效应, 传递外界信号分子与神经信息, 活化下游不同的信号转导途径, 产生相应的生物学效应。

1.2 表皮生长因子受体的基本结构和功能

EGFR 分子的编码基因位于染色体 7p12 上, 它是一种由 1 186 个氨基酸组成的受体型酪氨酸跨膜糖蛋白, EGFR 分子是该蛋白家族中首个被发现的分子, 其家族成员主要包括 EGFR/ErbB1 (HER1)、ErbB2 (HER2)、ErbB3 (HER3) 和 ErbB4 (HER4)。这 4 种分子可以相互形成共 28 种同源或异源二聚体, 其中较为特殊的是 ErbB2, 它的分子结构不包含配体结合域, 机体内也不存在可以直接激活它的配体, 但 ErbB2 却是和其他分子形成异源二聚体的首选分子^[4]。EGFR 可以与表皮生长因子 (epithelial growth factor, EGF)、亲肝素结合表皮生长因子 (heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF)、双调蛋白 (amphiregulin, AR) 等 11 种配体分子相结合, 形成同源或异源二聚体, 随后发生构象改变并与腺嘌呤

核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)相结合,促进胞内酪氨酸激酶区的活化进程,诱导下游多种信号通路的激活,将生物信号从细胞外转化到细胞内^[5]。

1.3 丝裂原活化蛋白激酶系统的基本结构和功能

MAPK 是一类普遍存在于哺乳动物细胞内的蛋白激酶,它的底物磷酸化位点均为 P/L-X-T/S-P。MAPK 主要包括细胞外信号调节激酶 1 (extracellular signal-regulated kinase 1, ERK1) 和 2、C-Jun N 端激酶/应激活化蛋白激酶(c-jun n-terminal kinase 1-3/stress activated protein kinases, JNK 1-3/SAPK)、p38 isoforms (p38) 和细胞外信号调节激酶 5 (extracellular signal-regulated kinase 5, ERK 5)。根据分子种类的不同,MAPK 信号转导通路主要被分为 Ras/ERK 信号通路、JNK 信号通路与 p38 信号通路,其中 ERK 信号通路主要介导生长因子相关刺激引发的细胞反应,后两者与细胞的应激与炎症反应有关^[6]。MAPK 信号通路可以在生长因子、炎症及压力等因素的刺激下被激活,而引发酶促级联反应,最后可通过活化细胞核转录因子、细胞骨架蛋白以及生物酶类等多种底物,对机体细胞的增殖、分化、凋亡等周期以及炎症反应等过程发挥调控作用^[7]。

1.4 磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶的基本结构和功能

作为原癌基因家族中的一员,PI3K 是一种细胞内的磷脂酰肌醇激酶。PI3K 由一个 p110 催化亚单位和一个 p85 调节亚单位组成,两者的相对分子质量分别为 110kDa 和 85kDa。p110 具有磷脂酰肌醇激酶活性和蛋白激酶活性,依据脂质底物的特异性和同源性将其分为 I、II、III 共 3 种亚型。当机体在多种信号刺激下,可以激活 PI3K 分子,后者可将底物磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2)催化转变为磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)。PIP3 是一种细胞内重要的第二信使,参与调控细胞下游多项生理活动^[8]。

Akt 是 PI3K 信号通路下游一个重要的效应分子靶点,相对分子质量为 60kDa,又称为蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)。在哺乳动物的细胞内,Akt 蛋白家族包含 Akt1/PKB α 、Akt2/PKB β 、Akt3/PKB γ 共 3 种亚型。虽然 3 者编码基因不同,但是它们在氨基酸排列上有约 80% 的同源性,并且在结构上均有 3 个不同的功能区,分别为蛋白氨基末端的小血小板-C 激酶底物同源结构域(pleckstrin homology domain, PHD)、中心催化结构域、蛋白羧基末端的调节区。蛋白羧基调节区包含约 40 个氨基酸序列,序列中的疏水基是蛋白激酶的重要特征。该区域中 Ser124 和 Thr450 磷酸化是 Akt 完全活化的必须条件,两者的磷酸化可以引起级联反应,广泛参与调控细胞的增殖、分化、旁分泌和凋亡等多种生理病理过程^[9]。

2 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路的调节机制

2.1 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体/丝原活化蛋白激酶信号通路的调节机制

雌激素或其它刺激因子同 GPR30 分子发生特异性结合后,可以活化与该分子相偶联的 G 蛋白。激活的 G 蛋白把位于膜内的鸟嘌呤核苷二磷酸(guanosine diphosphate, GDP)交换成鸟嘌呤核苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP),导致与 GTP 结合的 G $\beta\gamma$ 二聚体和 G α 蛋白(G α) 亚单位解离。游离于细胞中的 G $\beta\gamma$ 二聚体可以诱发其下游 Src 家族酪氨酸激酶(sarcoma family tyrosine kinases, SFKs)的活化过程,进而促进 Src 衔接蛋白的第 317 位酪氨酸残基的磷酸化,后者可以激活间质金属蛋白酶(matrix metallo proteinase, MMP),而被激活的 MMP 可以切割肝素结合性表皮生长因子(heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF),促使其从细胞表面的释放发生。被释放的 HB-EGF 可作为配体反式激活 EGFR 使其形成异源二聚体。随后 EGFR 发生自身活化,在与 ATP 发生特异性结合的情况下,快速激活 MAPK 系统,之后通过 ERK 分子途径上调转录因子 c-fos 的表达,调控细胞核中相应基因的表达。该通路的持续激活可影响细胞增殖等生理活动,甚至引发癌变的发生^[10]。

2.2 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体/磷脂酰肌醇-3-激酶信号通路的激活机制

活化的 EGFR 异源二聚体除了通过 MAPK 途径发挥作用之外,也可以利用 PI3K 分子途径影响细胞生理活动。EGFR 异源二聚体通过激活 PI3K 分子诱发 PIP3 在细胞膜上聚集,接着将具有抗凋亡和促进细胞增殖作用的 PKB/Akt 通过 PH 结构域募集到膜磷脂上活化。活化的 Akt 对内皮型一氧化氮合酶活性具有正相关作用,通过诱导一氧化氮(NO)的产生参与细胞转导过程,促进细胞生长和增殖,然而 EGFR 的反式激活是 GPR30 介导 PI3K 活化的前提^[11]。随着对分子机制研究的深入,发现活化的 EGFR 异源二聚体也可以动员细胞内游离的 Ca²⁺,以 Ca²⁺为介导参与到细胞的增殖发育过程。

3 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路对生殖系统的影响

3.1 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与卵巢

卵巢是雌性动物体内产生卵细胞与分泌性激素的一对性腺体。在对仓鼠卵巢发育的研究中发现,仓鼠卵巢中颗粒细胞和支持细胞的细胞膜表面存在着大量的 GPR30 分子,并且其表达过程受促性腺激素的调节;当敲除雌性仓鼠的 GPR30 基因之后,小鼠的始基卵泡无法成熟,说明 GPR30/EGFR 信号通路可能参与了仓鼠始基卵泡的形成过程^[12]。大多数雌性哺乳动物在胎儿时期,

卵母细胞就进入了减数分裂周期,之后停滞于减数分裂第一次中期(双线期)。当机体进入青春后期,在促性腺激素、主要为黄体生成素(luteinizing hormone, LH)的调节下,卵泡内被阻滞的卵母细胞重新进入分裂周期。Fan 等^[13]在重启分裂周期的研究中,发现卵巢中颗粒细胞内的 MAPK 信号通路介导了促性腺激素的生理功能,调控了卵母细胞的成熟和排卵的过程。作为对比,该实验团队敲除了新生小鼠的 ERK1/2 基因,之后发现此类小鼠的卵母细胞减数分裂恢复、排卵等生理过程均存在重大缺陷。学者们对不同物种的卵母细胞减数分裂过程进行研究,证实 GPR30/EGFR 信号通路参与了维持哺乳动物、斑马鱼的卵母细胞减数分裂阻滞的发育过程,然而其具体机制仍不明朗^[14-15]。直到近段时间,研究发现 GPR30/EGFR 信号通路在雌二醇(estradiol, E₂)刺激下活化后,会引发 MAPK 激酶依赖的连接蛋白 43(connexin 43, CX 43)磷酸化,后者引起山羊卵丘复合体缝隙连接通透性下降,从而调节山羊卵母细胞减数分裂的生理过程,然而该活动的具体机制还需进一步深入研究^[16]。

3.2 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与子宫

子宫作为女性产生月经和孕育胎儿的器官, GPR30/EGFR 信号通路在子宫的发育和功能作用中发挥了十分重要的作用。Dennis 等^[17]利用 GPR30 选择性激动剂(G-1)处理小鼠,结果显示实验小鼠的子宫内膜上皮细胞增殖效率明显提高;在对比实验中,使用 GPR30 选择性抑制剂(G-15)处理小鼠,结果发现实验小鼠的子宫内膜上皮增殖的效应降低了 50%,该实验证明了 GPR30/EGFR 信号通路参与了雌激素诱发小鼠子宫内膜上皮增殖的生理学效应。子宫作为孕育胎儿的器官,子宫容受性是指子宫内膜接纳胚胎进行定位、黏附以及侵入子宫内膜的能力。Dymara-Konopka^[18]研究发现在雌激素介导下,被激活的 GPR30/EGFR 信号通路可以通过 PI3K-Akt 途径促进 NO 的合成。NO 是一种血管舒张剂,可以通过调节胎盘血管反应性,降低其血管阻力和强化滋养细胞浸润能力等生理过程,在促进胚胎存活和胎盘营养转运等方面发挥着十分重要的作用^[19]。因此可以推断 GPR30/EGFR 信号通路以 NO 为介导来舒张子宫血管,促进子宫内膜螺旋小动脉的形成与植入,诱发子宫内膜的蜕膜化改变,提高子宫内膜的容受性。Feng 等^[20]对滋养层细胞进行研究,发现使用 G-1 激活 GPR30/EGFR 信号通路,能够强化妊娠滋养层细胞的增殖、侵袭能力,同时可以抑制滋养细胞的凋亡,促进胚胎植入,影响机体妊娠结局。

3.3 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与胚胎

Yu 等^[21]使用 G-15 处理妊娠小鼠的胚胎,结果发现其囊胚与子宫壁的亲和力发生显著下降,影响小鼠的胚

胎着床率,因此可以得出结论:GPR30/EGFR 信号通路介导的雌激素快速效应可能影响了小鼠囊胚着床过程。Zhang 等^[22]在后续的研究中发现, GPR30/EGFR 信号通路对小鼠胚胎发育的影响主要与细胞骨架蛋白的聚集有关。后者可以诱导细胞内整合素活性发生变化以及诱发小鼠囊胚在子宫内膜中的精确着床,从而调节胚胎的发育过程。在正常妊娠中,滋养层细胞发挥着侵入子宫内膜的作用,其数量和功能与维持胚胎正常发育密切相关。在滋养细胞的发育过程中,胞内的 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)蛋白参与了维持其增殖-凋亡平衡的调节过程。研究者利用雌激素或 G-1 来激活滋养细胞内 GPR30/EGFR 信号通路,然后使用 Western blot 分析技术监测,结果显示 Bcl-2 蛋白的表达效率明显升高,同时滋养细胞的增殖与侵袭能力得到极大促进;而在对比实验中,当 GPR30/EGFR 信号通路受到抑制时, Bcl-2 蛋白的转录效率也显著降低,后续引发滋养细胞的大量凋亡,不仅引发胚胎侵袭能力下降,而且还破坏了胎盘绒毛屏障完整性,导致胚胎停育^[23-25]。然而针对 GPR30/EGFR 信号通路在胚胎发育中的具体分子机制,以及其在人类生殖系统中的作用还需要更深入的研究。

4 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与女生殖系统疾病

4.1 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与卵巢癌

卵巢癌是所有妇科恶性肿瘤中最常见的一种,该病在发病前期几乎无明显症状,因此大多数患者几乎是在晚期才被确诊,这严重影响了卵巢癌患者的治疗。在 GPR30/EGFR 信号通路对卵巢癌影响的研究中发现, GPR30 分子在卵巢癌早期的表达活性显著高于晚期,其差异具有统计学意义;并且在对不同恶性程度的卵巢癌患者的统计中也显示, GPR30 分子在恶性程度高的卵巢癌组织中的表达活力低于良性和非恶性卵巢肿瘤组织。人卵巢腺癌细胞-3(ovarian adenocarcinoma cell-3, OVCAR-3)是一种 ERα(-)/GPR30(+)人卵巢癌细胞系,具有高表达 GPR30 分子的能力,当使用 G-1 处理此系细胞,结果显示其细胞增殖周期被阻滞于亚 G1 期,其生物活性受到显著抑制,以上研究表明 GPR30/EGFR 信号通路对于卵巢癌的发生与发展起到负相关效应^[26]。

然而,另外的一些研究得到不同的结论,马焱等^[27]研究证实, GPR30 异常表达与卵巢癌病理类型和卵巢肿瘤的分期也存在关联,例如,在卵巢上皮肿瘤(epithelial ovarian cancers, EOCs)中,浆液性肿瘤中 GPR30 表达强度明显高于黏液性。Smith 等^[28]在对 89 例卵巢癌患者的研究过程中发现, GPR30 分子在“高风险”的 EOCs 内的表达强度明显高于“低风险”的 EOCs;并且 GPR30 分子高表达的 EOCs 患者 5 年生存率为 33.3%,与 GPR30

分子低表达的 EOCs 患者 5 年生存率(72.4%)存在着明显差异。为了解其内在分子调节机制,在卵巢癌细胞株(OVCAR 5)的体外实验中,研究者使用 E_2 和 G-1 处理此类细胞,经过监测证实, E_2 和 G-1 可以通过 GPR30/EGFR/MAPK 途径,激活转录因子 c-fos,促进癌细胞株的增殖、迁移与侵袭^[29]。关于此类矛盾的研究结果,仍需进一步深入研究。

此外在 GPR30 分子对卵巢癌预后的监测功能的研究中表明,细胞核中的 GPR30 预测卵巢癌患者的总体生存率和 5 年无进展生存率较差,而且细胞质中 GPR30 的表达无法预测卵巢癌患者的预后。研究还表明,GPR30 的表达是影响卵巢癌患者整体生存的独立预后因素,而对于患者 5 年无进展生存率无预测性^[30]。对此种结果仍有两个主要问题需要解答:GPR30 在核内聚集的机制和细胞核中 GPR30 的功能。

4.2 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与子宫内腺癌

根据子宫内腺癌(endometrial cancer, EC)的组织学分类和肌层浸润程度,可以将其分 I 型(雌激素依赖型)和 II 型(雌激素非依赖型)。I 型 EC 发病的最重要因素是持续暴露于内源性或外源性雌激素刺激,与 I 型 EC 相比,II 型 EC 的主要发病原因是基因突变,并且其临床表现和预后都较差。但是也有研究发现,一些 II 型的 EC 可能部分依赖雌激素,同 I 型 EC 可能具有相似的发病机制^[31]。当雌激素与 GPR30 分子发生特异性结合后,可以通过活化 GPR30/EGFR 信号通路,参与 EC 的病理调节过程^[32]。

Zhang 等^[33]通过活检发现,GPR30 分子在 EC 组织中的表达活力明显高于正常子宫内膜,并且其表达效率同病程分期、病理学分级和肌层浸润深度有关。该分子在 I 型和 II 型 EC 中的表达相似,且绝经期间无差异。2,2',4,4'-四溴二苯醚(2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether, BDE47)是一种雌激素干扰物,具有 GPR30 激动剂的作用。Zhang 等^[34]在其分子机制的研究中发现,当使用 E_2 或者 BDE47 处理 GPR30(+)子宫内腺癌细胞株(ishikawa-BDE47、HEC-1B-BDE47),通过免疫染色技术监测显示,被激活的 GPR30 分子通过 MMP-EGFR 途径来活化 MAPK(ERK)系统,结果出现 ishikawa-BDE47、HEC-1B-BDE47 的增殖与浸润能力得到极大地强化。

磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)是一种抑癌基因,它也参与了 EC 的发病过程,在对 EC 细胞株的(HEC-1A、ishikawa)研究中,利用流式细胞仪检测显示 PTEN 下调对人子宫内膜癌细胞系-1A(human endometrial carcinoma-1A, HEC-1A)和 ishikawa 细胞的凋亡有明显的抑制作用,而 PTEN 的过度表达则促进了细胞的凋亡^[35]。Ignatov 等^[36]发现木黄酮(gankyrin)也能

够激活 GPR30 分子,从而影响 GPR30/EGFR 信号通路的调控效用。在近期的研究中证实,木黄酮在 EC 组织中高表达,并且与 PTEN 表达模式呈负相关;当木黄酮蛋白发生过表达时,通过 PI3K/AKT 途径促进细胞周期蛋白 D1 的转录过程,从而提高 EC 细胞的增殖效率,研究提示该过程与 E_2 驱动 GPR30/EGFR 信号通路有关^[36]。综上所述,GPR30/EGFR 信号通路调节了 EC 发生与发展的病理过程,其可能成为未来治疗 EC 的重要靶向因子。

4.3 G 蛋白偶联受体 30/表皮生长因子受体信号通路与子宫肌瘤

子宫肌瘤是女性生殖系统中最为常见的一种良性肿瘤,其病理机制主要是子宫平滑肌细胞的异常增生,临床症状以经期延长、经量增多、下腹疼痛甚至出现贫血为主,严重者还可能丧失生育能力。学者 Tian^[37]通过利用免疫组化染色技术,对正常的子宫平滑肌组织和子宫肌瘤组织进行对比测定,结果显示后者中的 GPR30 表达显著高于前者,表明过表达的 GPR30 分子引起子宫局部高雌激素状态,促进子宫肌瘤的发生。

Liu 等^[38]从 41~49 岁女性体内提取出子宫肌瘤细胞(ht-utLM)和正常的子宫平滑肌细胞,利用氯化镉($CdCl_2$, 金属雌激素)和 G-15 处理以上被提出的细胞,使用 Western blot 分析技术与免疫组化技术监测 GPR30 与其下游各分子表达情况,并且观察平滑肌细胞的增殖与分裂情况。通过对比实验发现:雌激素依赖 GPR30 对子宫肌瘤增殖的促进作用可能是通过 GPR30/EGFR 信号通路实现的,活化的 GPR30 分子可以促进细胞内 Src 的磷酸化,后者通过激活 MMP2/9-EGFR-MAPK/ERK 途径增强子宫平滑肌瘤的增殖效应,促进肌瘤的生长与浸润。

由于环境污染不断加重,近些年关于环境雌激素引发癌症的病例报道屡见不鲜。作为具有代表性的环境雌激素之一,双酚 A(bisphenol A, BPA)广泛存在于塑料等制品中,人群摄入的概率不断增加,严重威胁人类的身体健康。学者 Li 等^[39]使用 BPA 处理子宫肌瘤细胞,随后通过 Western blot 法和 Real-time PCR 法监测细胞内 GPR30/EGFR 信号通路分子蛋白的表达情况,结果显示组织中 GPR30 和 EGFR 的表达水平明显升高,并且在 BPA 作用下子宫平滑肌瘤细胞的增殖效应显著强化,研究者认为这种效应可能与 GPR30/EGFR 信号通路以及其下游 MAPK/ERK/c-fos 分子途径的激活有关,说明其与 E_2 诱发子宫肌瘤可能具有相同的分子机制。

4.4 G 蛋白偶联受体 30 与子宫内膜异位症

子宫内膜异位症(endometriosis, EMT)是指具有生长活性的子宫内膜细胞侵入子宫内膜以外的组织中而形成的一种的妇科疾病,最常见的部位为卵巢与宫底韧带,临床主要以进行性加重痛经和性交痛为症状。根据统计数据显示,大约 40%~50% 的 EMT 患者存在生育问题^[40]。

Plante 等^[41]对 GPR30/EGFR 信号通路在 EMT 中的调控作用进行研究,发现 GPR30 分子在子宫内膜中呈现周期性表达,其中子宫内膜增殖期表达最高。此外,相比起正常人的子宫内膜,EMT 患者的正常内膜和异位的子宫内膜中 GPR30 的表达均明显过高。根据已知 GPR30/EGFR 信号通路具有促细胞增殖效应,这些信息提示 GPR30/EGFR 信号通路参与了 EMT 的发病过程。

在其分子机制的研究中,许多学者都把研究重点集中在低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 上,认为 GPR30/EGFR 信号通路参与调控了机体内 HIF-1 α 的动态平衡,该分子可以诱发 EMT 的内膜异位与异常血管生成^[42]。HIF-1 α 分子对于氧气浓度高度敏感,当氧气浓度正常时,HIF-1 α 在蛋白酶作用下会发生大量降解;反之,当氧气浓度大幅度降低时,HIF-1 α 分子就出现稳定聚集,进入细胞核从而启动血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和 MMP-9 靶基因的大量转录,其表达产物是 EMT 细胞病理侵袭和血管生成的关键^[43]。而在 GPR30/EGFR 信号通路与 HIF-1 α 分子间联系的研究中,研究者通过收集正常和异位内膜标本,随后将收集到的子宫内膜间质细胞 (endometrial stromal cells, ESCs) 在体外分离培养。在实验中分别利用 E2 或 G-1 处理 ESCs,之后利用 RT-PCR 技术监测 GPR30 和 HIF-1 α 分子的表达情况,结果显示实验细胞中这两种分子表达显著增加,并且 ESCs 的迁移和血管生成能力得到极大强化。作为对比,当使用 G-15 之后,这种效应则被阻滞^[44]。然而在 GPR30/EGFR 信号通路如何激活 HIF-1 α 分子的具体机制仍不明朗,仍需要进一步深入研究。

5 总结与展望

近年来,随着科研工作者的不断努力,GPR30/EGFR 信号通路相关结构、功能以及调节机制的研究得以不断深入。研究证实生殖系统发育和 RSD 与 GPR30/EGFR 信号通路及其调解网络之间存在密切联系,这也更加深刻说明了 GPR30/EGFR 信号通路在机体正常发育与疾病进程中的重要性。然而我们也不得不意识到 GPR30/EGFR 信号通路仍然存在着诸多的研究难题:GPR30/EGFR 信号通路的具体生理活化机制;各类生物化学因子如何影响 GPR30/EGFR 信号通路的活性;GPR30/EGFR 信号通路如何调控生殖系统的发生与发育过程;GPR30/EGFR 信号通路在 RSD 的病程中所发挥的作用。这些疑难问题的解决,对于希望经由 GPR30/EGFR 信号通路而治愈 RSD 的治疗策略至关重要。相信伴随着每一名医学科研人员与临床工作者的不断努力,RSD 严重影响女性生殖健康的困境一定会被打破,从而能够为更多饱受病痛折磨的患者带来康复的曙光。

【参考文献】

- [1] Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, et al. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling [J]. Science (New York, N. Y.), 2005, 307 (5715): 1625-1630.
- [2] Wang ZY, Yin L. Estrogen receptor alpha-36 (ER- α 36): A new player in human breast cancer [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2015, 418 (Pt 3): 193-206.
- [3] Cygankiewicz AI, Jacenik D, Wm K. GPER receptor - the new player in estrogen signaling [J]. Postepy Biochemii, 2015, 61 (1): 52-60.
- [4] Wee P, Wang Z. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways [J]. Cancers, 2017, 9 (5): 52.
- [5] Liu X, Zhu P, Sham KW, et al. Identification of a membrane estrogen receptor in zebrafish with homology to mammalian GPER and its high expression in early germ cells of the testis [J]. Biology of Reproduction, 2009, 80 (6): 1253-1261.
- [6] Chang LF, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades [J]. Nature, 2001, 410 (6824): 37-40.
- [7] 袁瑞利, 平毅, 黄玲玲, 等. GPR30 在妇科疾病中的研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25 (8): 1480-1484.
- [8] Fruman DA, Rommel C. PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2014, 13 (2): 140-156.
- [9] Jeyamohan S, Moorthy RK, Kannan MK, et al. Parthenolide induces apoptosis and autophagy through the suppression of PI3K/Akt signaling pathway in cervical cancer [J]. Biotechnology Letters, 2016, 38 (8): 1251-1260.
- [10] Filardo EJ, Quinn JA, Frackelton AR, et al. Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30: stimulation of adenylyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis [J]. Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.), 2002, 16 (1): 70-84.
- [11] Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, et al. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling [J]. Science, 2005, 307 (5715): 1625-1630.
- [12] Wang C, Prossnitz E, Roy SK. Expression of G protein-coupled receptor 30 in the hamster ovary: differential regulation by gonadotropins and steroid hormones [J]. Endocrinology, 2007, 148 (10): 4853-4864.
- [13] Fan HY, Liu Z, Shimada M, et al. MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility [J]. Science (New York, N. Y.), 2009, 324 (5929): 938-941.
- [14] Thomas P. Reprint of "role of G protein-coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in maintenance of meiotic arrest in fish oocytes" [J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2018, 176 (100): 23-30.
- [15] Pan B, Li J. The art of oocyte meiotic arrest regulation [J]. Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E, 2019, 17 (1): 8.
- [16] Zhang H, Wei Q, Gao Z, et al. G protein-coupled receptor 30 mediates meiosis resumption and gap junction communications downregulation in goat cumulus-oocyte complexes by 17 β -estradiol [J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2019, 187: 58-67.
- [17] Dennis MK, Burai R, Ramesh C, et al. In vivo effects of a GPR30 antagonist [J]. Nature Chemical Biology, 2009, 5 (6): 421-427.

- [18] Dymara-Konopka W, Laskowska M. The role of nitric oxide, ADMA, and homocysteine in the etiopathogenesis of Preeclampsia-Review [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20 (11): 2757.
- [19] Gullino S, Buzzella F, Simoncini T. Nitric oxide and the biology of pregnancy [J]. *Vascular Pharmacology*, 2018, 110(1): 71-74.
- [20] Feng X, Zhou L, Mao X, et al. Association of a reduction of G-protein coupled receptor 30 expression and the pathogenesis of preeclampsia [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 16 (5): 5997-6003.
- [21] Yu LL, Qu T, Zhang SM, et al. GPR30 mediates the fast effect of estrogen on mouse blastocyst and its role in implantation [J]. *Reproductive Sciences* (Thousand Oaks, Calif.), 2015, 22 (10): 1312-1320.
- [22] Zhang SM, Yu LL, Qu T, et al. The changes of cytoskeletal proteins induced by the fast effect of estrogen in mouse blastocysts and its roles in implantation [J]. *Reproductive Sciences* (Thousand Oaks, Calif.), 2017, 24 (12): 1639-1646.
- [23] 陈芳, 黄丹丹, 王芳. 原因不明复发性流产患者蜕膜组织中蛋白激酶的表达及其与细胞凋亡的相关性研究 [J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21 (11): 101-103, 107.
- [24] 潘翠娇, 王玉霞. 稽留流产患者滋养细胞中 Fox O3a 转录因子的表达 [J]. *暨南大学学报 (自然科学与医学版)*, 2017, 38 (6): 504-508.
- [25] 闰广伟, 丁燕子, 邢金芳, 等. 低氧对滋养细胞 HIF-1 α , BNIP3 表达及自噬和侵袭能力的影响 [J]. *郑州大学学报*, 2018, 53 (2): 198-201.
- [26] Ignatov T, Modl S, Thulig M, et al. GPER-1 acts as a tumor suppressor in ovarian cancer [J]. *Journal of Ovarian Research*, 2013, 6(1): 51.
- [27] 马焱, 刘爽, 亚力坤·穆罕默德, 等. GPR30 在卵巢癌发生发展中的变化及意义 [J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(10): 1043-1046.
- [28] Smith HO, Arias-Pulido H, Kuo DY, et al. GPR30 predicts poor survival for ovarian cancer [J]. *Gynecologic Oncology*, 2009, 114 (3): 465-471.
- [29] Hernández-Silva CD, Villegas-Pineda JC, Pereira-Suárez AL. Expression and role of the G protein-coupled estrogen receptor (GPR30/GPER) in the development and immune response in female reproductive cancers [J]. *Front Endocrinol*, 2020, 11 (1): 544.
- [30] Zhu CX, Xiong W, Wang ML, et al. Nuclear G protein-coupled oestrogen receptor(GPR30) predicts poor survival in patients with ovarian cancer [J]. *The Journal of International Medical Research*, 2018, 46(2): 723-731.
- [31] Wan J, Yin Y, Zhao M, et al. The positivity of G-protein-coupled receptor-30 (GPR 30), an alternative estrogen receptor is not different between type 1 and type 2 endometrial cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53): 90897-90904.
- [32] Li Y, Jia YH, Bian Y, et al. Autocrine motility factor promotes endometrial cancer progression by targeting GPER-1 [J]. *Cell Communication and Signaling:CCS*, 2019, 17(1): 22.
- [33] Zhang L, Li Y, Lan L, et al. Tamoxifen has a proliferative effect in endometrial carcinoma mediated via the GPER/EGFR/ERK/cyclin D1 pathway: A retrospective study and an in vitro study [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2016, 437: 51-61.
- [34] Zhang F, Peng L, Huang Y, et al. Chronic BDE-47 exposure aggravates malignant phenotypes and chemoresistance by activating ERK through ER α and GPR30 in endometrial carcinoma [J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 1079.
- [35] Zhang XH, Hu P, Xie YQ, et al. Long noncoding RNA HOTAIR promotes endometrial carcinoma cell proliferation by binding to PTEN via the activating phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt signaling pathway [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2019, 39 (23): e00219-e00251.
- [36] Chen YQ, Fei HL, Zhu HL. Bu Shen yang Xue prescription has treating effect on endometrial cancer through FSH/PI3K/AKT/gankyrin/HIF- α /cyclinD 1 pathway in ishikawa cells [J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2018(1): 8412984.
- [37] Tian R, Wang Z, Shi Z, et al. Differential expression of G-protein-coupled estrogen receptor-30 in human myometrial and uterine leiomyoma smooth muscle [J]. *Fertility and Sterility*, 2013, 99 (1): 256-263. e3.
- [38] Liu J, Yu L, Castro L, et al. A nongenomic mechanism for "metalloestrogenic" effects of Cadmium in human uterine leiomyoma cells through G protein-coupled estrogen receptor [J]. *Archives of Toxicology*, 2019, 93 (10): 2773-2785.
- [39] Li Z, Lu Q, Ding B, et al. Bisphenol a promotes the proliferation of leiomyoma cells by GPR30-EGFR signaling pathway [J]. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2019, 45 (7): 1277-1285.
- [40] Lin YH, Chen YH, Chang HY, et al. Chronic niche inflammation in Endometriosis-Associated infertility: current understanding and future therapeutic strategies [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8): 2385.
- [41] Plante BJ, Lessey B, Taylor RN, et al. G protein-coupled estrogen receptor (GPER) expression in normal and abnormal endometrium [J]. *Reproductive Sciences* (Thousand Oaks, Calif.), 2012, 19(7): 684-693.
- [42] Zhang L, Xiong W, Li N, et al. Estrogen stabilizes hypoxia-inducible factor 1 α through G protein-coupled estrogen receptor 1 in eutopic endometrium of endometriosis [J]. *Fertility and Sterility*, 2017, 107(2): 439-447.
- [43] Tafani M, De Santis E, Coppola L, et al. Bridging hypoxia, inflammation and estrogen receptors in thyroid cancer progression [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2014, 68(1): 1-5.
- [44] Zhang L, Xiong W, Fu T, et al. Oestrogen receptors and hypoxia inducible factor 1 α expression in abdominal wall endometriosis [J]. *Reproductive Bio Medicine Online*, 2020, 41 (1): 11-18.

(收稿日期:2020-11-04 编辑:向晓莉)