

雌激素受体及其作用机制^{*}

赵晓民,徐小明

(西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 目前对雌激素受体结构和功能的研究比较深入,雌激素受体与肿瘤发生机制、雌激素受体在体内的表达调控及其分子作用机理已引起人们的广泛关注。针对这一现状,对雌激素受体的结构和功能,雌激素受体在体内的分布及其作用机制、应用前景等方面的研究进展进行了综述。

[关键词] 雌激素受体;甾体激素;作用机制

[中图分类号] Q579.1⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)12-0154-05

雌激素是人类及其他高等动物体内最重要的激素之一,具有广泛的生理功能。雌激素受体(Estrogen receptor, ER)是属于甾体激素受体(Steroid hormone receptor, SHR)大家族的一种核受体,可介导雌激素实现其功能。目前,人们已经克隆出小鼠、大鼠及人 ER cDNA,并对其展开了大量研究^[14],取得了许多令人鼓舞的成果,但迄今为止,对雌激素受体与肿瘤发生机制及其在体内的表达调控、作用机理还不十分清楚,本文试图通过对雌激素受体的研究现状、进展的综述,为其进一步的深入研究提供支持。

1 ER 的结构

ER有2种亚型:一种为传统的 ER α ,另一种为最近研究发现的 ER β 。ER位于胞浆或胞核内,具有转录因子的作用。

1.1 ER 的基因结构

ER α cDNA 克隆首先是从人乳腺 MCF-7 细胞株 cDNA 库中筛选出来的,其 mRNA 所具有的阅读框架为 1 785 个核苷酸,能编码 595 个氨基酸。同时发现 - 27 位置和 - 103 位置处有类似 TATA 和 CAAT 的转录元件顺序。人类 ER β 基因位于 14q2224 处,而 ER α 基因在 6 号染色体。ER β 的蛋白含量有 530 个氨基酸,分子质量为 59 200,为核受体超家族成员。

ER cDNA 3 个框架内(inframe)的 ATG 密码子分别位于 + 99, + 234, + 258 位, + 33 位是 1 个框架内终止子。人的 ER 基因能从这 3 个不同的起始密

码子开始转录,得到 3 种 5 端非翻译区(UTR)不同而编码区相同的 mRNA,选择哪一个启动子进行转录是有组织细胞特异性的,表明启动子的组织特异性变换是调控 ER 基因表达的机制之一^[5]。

1.2 ER 的蛋白质结构

从编码区的 5 端至 3 端,ER 的蛋白质一级结构可分为 A/B、C、D、E/F 6 个功能区(以人雌激素受体(hER β)为例)^[6]。

A/B 区(1149 氨基酸)为转录调控区。在 A/B 区有一个非配基依赖性转录激活功能区 AF1,其通过与基础转录因子、辅活化因子或其他转录因子的相互作用活化目的基因。该区是长度不规则的高度可变区,调节 ER 与 DNA 的相互作用。A/B 区的调节作用是通过专一和非专一性 DNA 序列的识别来进行的,其能减少非专一性 DNA 的结合,从而选择正确的雌激素应答元件(estrogen response element, ERE),对靶基因的表达起重要的调控作用。

C 区(150214 氨基酸)为 DNA 结合区(DNA binding domain, DBD)。DBD 是富含碱性氨基酸和半胱氨酸(Cys)的高度保守区。hER DBD 有 8 个 Cys(分别位于 149, 152, 166, 169, 185, 191, 201, 204 位),参与形成 2 个锌指结构 C 和 C'。C 确定结合的特异性,控制 ER 对靶基因的专一性选择,C

的这种作用取决于锌指根部 C 端侧 Cys 邻近的 3 个保守性残基,称为 P-盒(P-box)。C' 的作用是提供非专一性选择,C 与 ERE 识别主要是由其基部称作 D-P 盒(D-box)的 5 个氨基酸残基决定的;此

* [收稿日期] 2003-11-26

[作者简介] 赵晓民(1978-),男,安徽亳州人,在读硕士,主要从事家畜生殖内分泌及胚胎毒理研究。E-mail: zxm0001@126.com

外,C 对形成二聚体也很重要。

D 区(215248 氨基酸)为一多变铰链区,允许受体曲折或改变构象。D 区可与热休克蛋白(hot-scock protdn,Hsp)结合,Hsp 可以帮助 ER 进行适当折叠,以保护疏水的配基结合区(ligandbinding domdin,LBD)并使之处于非活性状态。D 区还含有核定位信号,并具有稳定 DBD 的 DNA 结合能力的作用。

E/F 区(249530 氨基酸)中的 E 区为配基结合区,决定 ER 与特异性配基的结合,LBD 还含有 ER 二聚化过程中起重要作用的序列。E/F 区含有一个配基依赖性的转录激活功能区 AF2,其对 ER 的转录激活起调节作用。

2 ER 的功能

ER 位于脑浆或胞核内,具有转录因子的作用。ER 一旦与雌激素结合,就会发生变构形成二聚体,然后与雌激素受体反应元件(estrogen response element,ERE)结合,刺激靶基因转录,从而调节雌激素促进细胞增生,分化和维持正常的生理功能。

2.1 生殖系统中的作用

ER β 可调节个体的生殖过程,包括生殖器官的发育和生殖细胞的成熟。ER 变异可引起子宫内膜异位症,这是由于外显子 5 缺失型 ER 的功能被野生型 ER 的功能掩盖所致。在异位的内膜中,由于野生型 ER 的部分结构遭破坏,从而使外显子 5 缺失型 ER 的功能占主导地位,引起异位内膜对内生型类固醇反应迟钝,从而促进异位内膜的种植和扩散^[7]。

2.2 神经系统中的作用

正在发育脑的大脑皮质及海马中均有雌激素受体,当脑发育成熟后大部分消失。现发现这些部位大都由 ER β 介导,可能与认识、学习有关。正中隆起及垂体的雌激素受体,与雌激素反馈调节促性腺生长释放激素(GnRH)及垂体促性腺激素的释放有关。下丘脑腹内侧核的雌激素受体调节雌性性行为,下丘脑其他部位以及杏仁的雌激素受体参与调节双亲行为、攻击行为、饥渴、活动水平及体温调节等。雌激素在视前区及下丘脑靶细胞的作用是诱导孕酮受体的合成,这可能是雌激素预处理的作用基础^[8]。

2.3 肿瘤发生中的作用

人们在许多肿瘤组织中发现有 ER 存在^[911],因此 ER 可能在这些肿瘤组织的发生中起重要作用,

ER 基因表达是引发肿瘤组织的重要因素^[4]。ER α 与 ER β 共存的乳腺、卵巢及垂体肿瘤发生过程中,ER β 表达降低而 ER α 增加^[6,12],结肠癌组织中 ER β 表达也明显降低。ER β 敲除后,鼠子宫内膜对雌二醇的增生反应明显增强^[1];前列腺癌发生时 ER α 与 ER β 的表达量也有增高^[2]。另有研究^[12]表明,ER 对非雌激素作用靶器官肿瘤组织(如肺癌)也起作用。

2.4 其他作用

ER 可降低冠心病和动脉粥样硬化的发生率,其作用机理可能是 ER 调节血管基因的表达,降低血浆粘滞性,改变脂蛋白代谢^[13];雌激素(estrogen,E)与 ER 能减轻动脉硬化、减缓衰老过程^[13]。已知成骨细胞和破骨细胞中均存在 ER,雌激素促进骨钙中钙沉积是由 ER 介导的,提示雌激素与其身体基因多态性,从不同层次影响并调控着骨代谢,通过对 ER 检测可预防骨量减少及骨质疏松的危险性^[14]。另外,ER 和抗细胞凋亡蛋白(bcl-x)、促进细胞凋亡蛋白(bax)的表达及原始生殖细胞(primordial germ cells,PGCs)的分化程度、性别等因素有关,其表达水平也对 PGCs 临床预后的判断有^[9]影响。

3 ER 的分布

利用半定量 RT-PCR 技术比较了胎儿体内 ER α 与 ER β mRNA 的表达情况,可发现二者在分布上有明显差异。在小鼠胎儿的睾丸、卵巢、肾上腺以及脾脏中,ER β mRNA 水平较高,而 ER α mRNA 水平较低。ER α 在子宫的含量最丰富,在主动脉、心脏也发现有 ER α 和 ER β 的存在,但未见在冠状动脉存在的报道。最近,在猴的冠状动脉平滑肌细胞和生殖组织(卵巢,子宫)中也发现了 ER α 和 ER β ^[13]。Hodges 等^[15]发现,ER β 是 ER 在人心血管平滑肌细胞中的主要表达形式,并且推测雌激素对心血管的保护作用可能是通过血管组织中 ER β 的作用来发挥的。

在下丘脑室前核、视上核、室旁核和中纹的床核中,ER β mRNA 含量较高,ER α 在室前核、视上核、海马区等不表达或表达水平较低。在成骨细胞分化过程中,ER α 与 ER β mRNA 的表达有很大的差异,人成骨细胞培养试验^[16]表明,ER β mRNA 表达水平在培养期间逐渐上升,到矿化期时,比增殖阶段(proliferative phase)增加 10 倍,而此期间 ER α mRNA 的表达稍有增加,然后保持稳定。另外,ER

不仅存在于雌激素作用靶器官肿瘤组织如乳腺癌、子宫癌及卵巢癌组织等中,也广泛存在于非雌激素作用靶器官组织,如肺癌中^[10]。

4 ER 的作用机制

ER 的天然配体为雌二醇,ER 与雌激素结合前一般与 Hsp90 结合在一起,与雌激素结合后被激活,导致其三维结构或化学性质发生变化,解离出 Hsp90,然后,ER 再转移到细胞核内以高亲和力与靶 DNA 结合,以二聚体的形式诱发或抑制基本转录机制的装配,从而调控靶基因的转录。

4.1 ER 的二聚化作用

一般 SHR 成员是以二聚体的形式结合到各自的 DNA 识别系列上。对于 ER 来说,C 区 C 锌指结构是非专一性的 DNA 结合区,与 ER 二聚化有关,很可能是 ER 之间相互作用所需要的。其有两个区域在二聚化过程中起作用,一个是位于 LBD 的强二聚化界面(interface),一个是位于 DBD 的弱二聚化界面。但仅这种界面还不足以诱导 DBD 单体发生二聚化,因为即使在很高的浓度下,溶液中的重组 ER DBD 仍以单体形式存在。当 ER DBD 单体分别结合到 ERE 的两个半臂(half-site)上时,二聚化界面就会稳定 DBD 单体并同 ERE 结合,这种现象称为依赖于 ERE 的 DBD 二聚化作用。对于这些现象最可能的解释是:结合在 ERE 两个半臂上的 DBD 单体,通过蛋白质相互作用而稳定地结合在 ERE 上^[6]。

二聚化作用不仅发生在同种 ER 分子之间,体内外试验证明,ER α 与 ER β 也能形成异型二聚体,ER α 与 ER β 变异体都能对两种野生型起作用。这说明在 ER α 与 ER β 共存的细胞中,两者之间存在交叉谈话(cross-talk),可以共同调节雌激素应答基因的表达。ER α 与 ER β 的这种交叉信号(cross-signaling)作用,使雌激素可以在更重要的层次上调控雌激素的应答基因^[7,17]。

4.2 ER 的转录调控功能

ER 的 N 端长延伸区和 DBD 共同参与转录调控。ER 具有两个转录激活功能区 AF₁ 和 AF₂。AF₁ 位于 ER 的 A/B 区,其活性是组成型的;AF₂ 横跨 LBD 的 E/F 区,其活性是激素诱导型的。ER 可通过 AF₁ 和 AF₂ 协同作用调控雌激素应答基因,AF₁ 和 AF₂ 也可独立地起转录作用。雌二醇与 ER 的相互作用促使 LBD 发生构象变化,从而形成含有 1 个两亲性 α -螺旋的 AF₂,新形成的 AF₂ 充当辅活

化的停泊位点。这些因子又称转录中介因子(transcription intermediary factors, TIFs),也称接头因子(adaptor)。SHR 通过这种中间作用搭桥,同结合在 TATA 框的转录起始复合体相互作用,共同调节转录水平。研究发现^[18],ER 与雌二醇结合后,ER α 与 ER β 在 AP₁ 位点起相反的信号作用,雌二醇与 ER α 结合后激活转录,而与 ER β 结合后抑制转录。此外,抗雌激素药物(tamoxifen)能选择性地对 ER α 起拮抗作用,而不作用于 ER β ,这可能是由于 ER α 与 ER β 在 AF₁ 上的差异造成的。三苯氧胺长期作用于乳腺癌组织可导致 ER mRNA 的多种变异剪切,并影响 ER 的功能^[11]。试验发现^[19],ER α 和 ER β 在大鼠垂体催乳素(PRL)瘤组织中均有不同程度的表达,指示这两种正常的雌激素受体可能在己底酚(DES)诱发瘤中起一定的作用。Fan 等^[3]发现,乳腺癌中感受性基因 BRCA1 突变能增加乳腺癌、卵巢癌及前列腺癌发生的可能性。

4.3 ER 与细胞信号传导通路

过去一直认为,ER 只是一种配体依赖性转录激活因子。近年来许多试验^[20,21]证明,在无配体的情况下,ER 也可与其他细胞信号传导通路发生作用,ER 的这种激活称为 ER 的配体非依赖性激活,包括 ER 的磷酸化。ER 与生长因子、共调节因子、孕激素受体及癌基因、抑癌基因蛋白等通路的相互作用,不仅参与靶细胞的增生、分化和维持正常的生理功能,而且对与人类雌激素相关肿瘤的发病及该类肿瘤对雌激素拮抗剂等药物的耐药性有影响^[21]。

4.3.1 ER 的磷酸化 ER 有 5 个磷酸化位点,分别为 Tyr⁵³⁷(基本磷酸化位点),Ser¹⁰⁴,Ser¹⁰⁶,Ser¹¹⁸和 Ser¹⁶⁷。ER 磷酸化对 ER 功能的许多方面有影响,如 ER 磷酸化转录激活功能、ER 与 DNA 配体的结合能力以及 ER 的再循环利用等。Ser¹¹⁸突变为丙氨酸(Ala)后,ER 的活性降低约 25%,说明 ER 与 DNA 的结合和转录活性受磷酸化调节,但调节机制尚需进一步研究。

4.3.2 ER 与多肽生长因子 表皮生长因子(EGF)有类似雌激素作用,EGF 信号传导通路与 ER 的转录激活有关。EGF 通过其胞膜受体与 ER 相互作用,其他生长因子也可刺激 ER 依赖性基因的表达。肿瘤坏死因子 α (TNF α)可与 ER 结合并激活 ER,也可以同样方式激活 ER 靶基因的表达。ER A/B 区的 Ser¹¹⁸是 ER 对 EGF 反应的重要“靶点”,EGF 通过 EGF 受体 $\rightarrow$ Res $\rightarrow$ Raf $\rightarrow$ Mapkkk $\rightarrow$ Mapkk $\rightarrow$ Mapk 磷酸级联反应,使 Ser¹¹⁸磷酸化,导致 ER 激活。因

此,EGF 诱导 Ser¹¹⁸磷酸化以及由此所致的 AF₁ 活化是 ER 转录激活的原因,TGF α ,TGF-1 和胰岛素等同 EGF 一样,也通过诱导 MAPK 级联反应使 ER 活化。

4.3.3 ER 与共激活因子 甾体激素受体共激活因子 (steroid receptor coactivator, SRC) 包括 RIP-ERAP160/SRC-1, TIF2/GRIP-1, AIG1/ACTR/RAC3/POIP 和 TRAM-1 等家族成员。人 ER-LBD 的 AF₂ 区中的疏水性氨基酸朝向配体结合腔的内面,酸性氨基酸是功能性共调节因子的靶点^[22]。SRC-1 与 ER 的结合力以及对 ER 转录功能的调节均不同,配体与 ER 及 SRC-1 结合,还可促进 AF₁ 和 AF₂ 的协同作用。ER-LBD 4 个螺旋区的氨基酸所形成的疏水结构为共激活因子的结合位点^[23], P300 通过 SRC-1 间接调节 ER 的转录活性^[24]。Zwijsen 等^[25]首次发现,在天然配体的情况下,同期素 D1 与 ER 和 SRCs 形成有转录活性的三聚体,既能刺激共激活因子与 ER 的结合,又可加强 ER 与 DNA 结合。

4.3.4 ER 与癌基因蛋白 雌激素可激活原癌基因 Fos/Jun, Her2 及 Ras 等基因的表达,而这些基因蛋白又反过来调节 ER 的活性。ER 受 AP₁ 与 Jun/Jun 或 Jun-Fos 复合物调节,ER 与 Jun/Jun 和 Jun-Fos 二聚体结合,通过 AP₁ 位点,使 ER 对同一配体发生不同的反应。研究表明^[4,26],原癌基因 (c-myc)、接头蛋白 (erbB-2) 及表皮生长因子受体

(EGFR) 在各种肺癌组织中均可表达,这些基因的表达与肿瘤细胞的生长与增殖有关,其中 c-myc 的表达与细胞的“永生性”及细胞的增殖有关,EGFR 的表达与肿瘤细胞自分泌性生长信号的传导有关。

5 ER 的研究意义及展望

ER 在机体的广泛表达,表明其具有重要的生理及病理意义,进一步研究 ER 对更年期综合症及肿瘤的诊断治疗等具有重要的临床意义。绝经后妇女由于雌激素的分泌水平下降,不仅产生更年期症状,而且冠心病和骨质疏松症的发病率也明显增加。ER 两种亚型受体对靶器官肿瘤的发生和进展具有重要的研究价值^[21]。在临床上,将 ER 作为一种新型肿瘤分子标记,有助于肿瘤的诊断。另外,2 种亚型受体对配体的亲和及分布的差异,可指导新型抗雌激素药物的开发,新一代的雌激素替代物及高效能、无副作用的雌激素受体拮抗剂,可大大提高雌激素相关性疾病的内分泌治疗效果。另外,植物雌激素和 ER 有望用于肥胖症的治疗^[27]。20 年来,已积累大量有关 ER 的研究成果,ER 与许多细胞信号传导通路相互作用,更加丰富了 ER 研究的内涵。但仍有许多问题亟待解决,如 ER 基因的表达调控、ER α 与 ER β 的具体分子机制有何差异及如何相互作用、ER 与其他细胞信号通路的相互作用机制等。相信随着研究的进一步深入,ER 的临床应用必将获得重大突破。

[参考文献]

- [1] Zhang Wei-hua, Shigehira S, Sirpa M Z, et al. Estrogen receptor (ER) β , a modulator of ER in the uterus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 5936 - 5941.
- [2] Krege J, Hodgin J, Couse J, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor β [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 15677 - 15682.
- [3] Fan S, Wang J A, Yuan R, et al. BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transfected cells[J]. Science. 1999, 284: 1354 - 1356.
- [4] Thompson M C, Lynch I J, Bhardwaj B. Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and Er β isoforms in colon cancer[J]. Cancer Research, 2001, 61: 632 - 640.
- [5] Grandian K, Berkenstam A, Gustafsson J. The estrogen receptor gene: promoter organisation and expression[J]. International Journal of Biochem & Cell Biology, 1997, 29(2): 1343 - 1369.
- [6] 黄朝晖, 王金福. ER β ——一种新型的雌激素受体[J]. 生命科学, 2000, 12(3): 1296 - 1298.
- [7] 孙桂英, 金志军, 杨云纺. 雌激素受体的变异及其临床意义[J]. 国外医学妇产科分册, 1999, 26(3): 159 - 161.
- [8] 谢启文. 现代神经内分泌学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999. 372 - 378.
- [9] 徐宏勇, 李开宗, 付由池, 等. 雌激素受体和凋亡相关基因 bcl-x 及 bax 在人原发性胆囊癌中表达的临床意义[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2002, 9(2): 145 - 149.
- [10] 张仁汉, 陈茂森, 何冰. 雌二醇和三苯氧胺对小鼠肺癌基因表达的影响[J]. 中华内科杂志, 1998, 37(3): 192.
- [11] 张波, 陈道达, 王国斌, 等. 乳腺癌雌激素受体 mRNA 的变异剪切与 Tamoxifen 耐受[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2003, 32(1): 46 - 50.

- [12] Orimo A, Inoue S, Minowa O, et al. Underdevelopment uterus and reduced estrogen responsiveness in mice with disruption of the estrogen responsive finger protein gene, which is a direct target of estrogen receptor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(21): 12027 - 12032.
- [13] 陈 瑶. 雌激素的心脏保护机制及其受体的研究[J]. 国外医学妇产科分册, 2001, 28(1): 32 - 34.
- [14] 关美萍. 雌激素和雌激素受体基因突变性与骨代谢异常的关系[J]. 国外医学内分泌分册, 2000, 20(6): 299 - 301.
- [15] Hodges Y K, Tung L, Yan X D, et al. Estrogen receptors α and β : prevalence of estrogen receptor β mRNA in human vascular smooth muscle and transcriptional effects[J]. Circulation, 2000, 101(15): 1792 - 1798.
- [16] Onoe Y, Miyaura C, Ohta H, et al. Expression of estrogen receptor β in rat bone[J]. Endocrinology, 1997, 138 (10): 4509 - 4512.
- [17] Davis V L, Chan C C, Schoen T J, et al. An estrogen receptor repressor induces cataract formation in transgenic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(14): 9427 - 9432.
- [18] Peach K, Webb P, George G, et al. Differential ligand activation of estrogen receptors ER α and ER β at AP1 sites[J]. Science, 1997, 277: 1508 - 1511.
- [19] 徐 春, 李江源, 黄兆坚. 雌激素受体基因在乙萘酚诱发的大鼠催乳素瘤中的表达[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2001, 17(1): 47 - 50.
- [20] 桂黎明, 王建六, 魏丽惠. 雌激素受体与细胞信号传导通路[J]. 国内医学分子生物学分册, 2001, 23(2): 103 - 105.
- [21] Taylor A P, Osorio L, Craig R, et al. Tumor-specific regulation of angiogenic growth factors and their receptors during recovery from cytotoxic therapy[J]. Clin Canc Res, 2002, 8(4): 1213 - 1222.
- [22] Herry D M, Kalkhoven E, Hoare S, et al. A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors[J]. Nature, 1998, 387: 733 - 736.
- [23] Feng W J, Riberiro R J, Wanger R, et al. Hormone-development coactivator binding to a hydrophobic cleft on nuclear receptors[J]. Science, 1998, 280: 1747 - 1749.
- [24] Yasutomi K, Xu L, Thorsten H, et al. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors[J]. Cell, 1996, 85: 403 - 414.
- [25] Zwijsen R M, Buckle R S, Hijmans M, et al. Ligand-independent recruitment of steroid receptor coactivators to estrogen receptor by cyclin D1[J]. Genes Dev, 1998, 12: 3488 - 3498.
- [26] Chi L, Tsao M. Proto-oncogen and growth factor/ receptor expression in the establishment of primary human non-small cell lung carcinoma cell lines[J]. Am J Pathol, 1993, 142: 413 - 423.
- [27] 王 懿, 刘彩玲, 于学文. 雌激素和雌激素受体在脂肪组织中的作用[J]. 国外医学(妇幼保健分册), 2003, 14(2): 123 - 126.

Estrogen receptor and its molecular mechanism

ZHAO Xiao-min, XU Xiao-ming

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract :At present, progress has been made in the studies on estrogen receptors' structures and functions. People pay close attention to the relation between tumor's occurrence mechanism and ER, as well as ER's expression regulation and specific molecular mechanism. This paper elaborates the progress of studies on ER's structures and functions, distribution in body, molecular mechanism and applications.

Key words :estrogen receptor; steroid hormone; molecular mechanism