

GnRH II 与 GnRH Ia 对子宫内膜异位症患者 离体间质细胞增殖抑制的影响

黄凤英¹, 王焕萍², 伍媚¹, 殷团芳³

(1. 中南大学湘雅二医院妇产科, 长沙 410011; 2. 河南省人民医院妇产科, 郑州 450003;

3. 中南大学湘雅二医院耳鼻喉科, 长沙 410011)

[摘要] 目的:探讨 II 型促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone II, GnRH II)与 I 型促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone I agonist, GnRH Ia)对子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)患者离体培养的子宫内膜间质细胞增殖抑制的影响。方法:将不同浓度的 GnRH II 或 GnRH Ia 加入在位及异位离体培养内膜间质细胞培养液中培养 24, 48 及 72 h, 用 MTT 法测定间质细胞的存活情况, 计算抑制率并进行比较。结果:GnRH II 或 GnRH Ia 对离体培养的子宫内膜间质细胞的细胞增殖抑制率呈剂量和时间依赖性, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 且对异位子宫内膜间质细胞的增殖抑制率高于在位, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。GnRH II 对离体间质细胞的抑制作用强于 GnRH Ia, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:GnRH II 对 EMs 患者离体培养子宫内膜间质细胞, 尤其对异位子宫内膜间质细胞的增殖有明显的抑制作用, 呈剂量和时间依赖性; 且抑制作用明显强于 GnRH Ia, 提示 GnRH II 有望成为治疗子宫内膜异位症更有效的新药。

[关键词] 子宫内膜异位症; II 型促性腺激素释放激素; I 型促性腺激素释放激素激动剂; 细胞增殖; 内膜间质细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2011.06.013

Inhibitory effect of GnRH II and GnRH Ia on the stromal cell proliferation from endometriosis patients

HUANG Fengying¹, WANG Huanping², WU Mei¹, YIN Tuanfang³

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003;

3. Department of Otolaryngology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH II) and gonadotropin-releasing hormone I agonist (GnRH Ia) on the proliferation of endometrial stromal cells in vitro from endometriosis patients. **Methods** Different concentrations of GnRH II or GnRH Ia were added into the cultured endometrial stromal cells in vitro to detect the cell proliferation inhibition by MTT test. **Results** The inhibitory rate of GnRH II or GnRH Ia on eutopic and ectopic endometrial stromal cells in vitro was both dose- and time-dependent ($P < 0.05$). Effect of GnRH II or GnRH Ia on the inhibitory rate of ectopic endometrial stromal cells was significantly higher than that of eutopic ($P < 0.05$). GnRH II had a higher inhibitory rate on the endometrial stromal cells in vitro than did GnRH Ia ($P < 0.05$). **Conclusion** GnRH II has more

收稿日期 (Date of reception) 2010-12-28

作者简介 (Biography) 黄凤英, 博士, 副教授, 主要从事子宫内膜异位症的研究。

通信作者 (Corresponding author) 殷团芳, E-mail: ytfyin@163.com

基金项目 (Foundation item) 湖南省卫生厅课题 (B2010-016)。This work was supported by Department of Public Health of Hunan Province, P. R. China (B2010-016).

antiproliferative effect on endometrial stromal cells than GnRH Ia in vitro, especially on ectopic endometrial stromal cells, suggesting that GnRH II may be more effective than GnRH Ia on endometriosis.

Key words: endometriosis; gonadotropin-releasing hormone II; gonadotropin-releasing hormone I agonists; cell proliferation; endometrial stromal cell

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs),简称内异症,主要发生于生育年龄妇女,引起盆腔疼痛和不孕等。因其发病机制不清、复发率高、治疗棘手而成为研究的热点和难点。由于内异症是一个雌激素依赖性疾病,因此,应用促性腺激素释放激素类似物(gonadotropin-releasing hormone analogue)可抑制下丘脑-垂体-卵巢轴,达到治疗该病的目的。目前,促性腺激素释放激素 I 激动剂(gonadotropin-releasing hormone I agonists, GnRH Ia)与腹腔镜手术相结合,已广泛用于内异症的治疗^[1]。促性腺激素释放激素 II(gonadotropin-releasing hormone II, GnRH II)是近年发现的、第2种形式的 GnRH,广泛分布于中枢神经系统和周围组织,如女性生殖道的内膜、卵巢颗粒细胞和胎盘等^[2]; GnRH II 与哺乳动物受体的结合能力比 GnRH I 强 100 倍以上^[3];在人类子宫内膜癌细胞 HEC-1A 和 Ishikawa,人卵巢癌细胞 EFO-21, SK-OV-3, OVCAR-3 均有 GnRH II 受体 mRNA 表达,且 GnRH II 比 GnRH I 的抗增殖作用更强^[4]。而内异症也是一个增殖性疾病和激素依赖性疾病,因此 GnRH II 是否对内异症起作用,值得探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 在位与异位子宫内膜的来源

30 例内异症患者的诊断均经腹腔镜或开腹手术证实,病理切片确诊。内异症患者在位子宫内膜通过刮宫术取得^[5];异位内膜取自卵巢巧克力囊肿的囊壁内面 0.5~1.0 mm 厚的部分,且取组织新鲜处。患者年龄 23~46(33.7±5.1)岁,月经周期规则。无其他疾病史,术前 6 个月内未接受激素治疗。患者均知情同意并签字。

1.1.2 主要试剂

GnRH II 为瑞士 Bachem 公司产品;戈舍瑞林(GnRH Ia)为以色列 ProSpec 公司产品;DMEM/F12 培养基、新生牛血清为美国 GIBICO 公司产品;IV 型胶原酶、孕酮为美国 Sigma 公司产品;胰蛋白酶、MTT 为美国 Amresco 公司产品;波形蛋白单抗、角蛋白单抗和催乳素单抗、SABC 免疫组织化学试剂盒为武汉

博士德公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及鉴定

细胞培养参照文献[6]将获取组织经漂洗后剪成碎块,加 0.1% 的 IV 型胶原酶溶液和 0.25% 的胰蛋白酶消化液(pH7.4)消化组织 2 h 后过滤、离心(800 r/min) 5 min,去上清,加入 DMEM/F12 培养基(含新生牛血清 20%),进行细胞计数,以 10^4 /mL 接种于 25 cm² 的塑料细胞培养瓶中,置 37 °C,5% CO₂ 培养箱内孵育,2~3 d 半量更换一次培养基,至细胞融合,完成细胞原代培养。采用波形蛋白、角蛋白和催乳素(PRL)鉴定培养的细胞^[7]。

1.2.2 子宫内膜间质细胞的干预

取生长状态良好的第3代在位及异位内膜间质细胞进行胰酶消化、离心后,加入含 20% 新生牛血清的 DMEM/F12 培养基吹打成细胞悬液并计数,以每孔 2×10^4 个细胞接种于 48 孔培养板,设 5 个复孔,待细胞生长融合近 80% 时,加入含 10^{-10} , 10^{-8} 及 10^{-6} mmol/L 的 GnRH II 或 GnRH Ia 的培养基 0.1 mL/孔,空白对照组只加含 2.5% NBS 的 DMEM/F12 培养基 0.1 mL/孔。分别培养 24, 48 及 72 h,加入 MTT 0.02 mL/孔,继续培养 4 h,MTT 法测定细胞生长抑制率。

1.3 统计学处理

采用 Spss16.0 软件进行统计学分析。数值用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 培养细胞形态学观察及鉴定

对 30 例异位内膜、在位内膜进行分离培养后,20 例异位内膜,25 例在位内膜培养成功,余因细菌污染培养失败;细胞活力均在 90% 以上。在倒置显微镜下观察,培养的异位内膜间质细胞形态和在位的内膜细胞相似,体积均较大,呈多角形或梭形排列,胞浆薄而透明。平铺生长,外观呈伸展、挺直状,类似成纤维细胞,也有中间宽两头尖纺锤形状的细胞,但此类细胞较在位内膜少。细胞铺满瓶底后进行消化传代,传代

后细胞多呈梭形,贴壁快,活性高,3~7 d 铺满瓶底。培养的细胞波形蛋白呈阳性,胞浆充满棕色颗粒;角蛋白阴性;经孕激素作用后催乳素(PRL)呈阳性反应,胞浆充满棕色颗粒证明为子宫内膜间质细胞。

2.2 在位及异位子宫内膜间质细胞生长曲线

随着培养时间的延长,子宫内膜间质细胞的生长数目逐渐增多,第6~8天生长最快,在位较异位快(P<0.05),以后进入生长平台期(图1)。

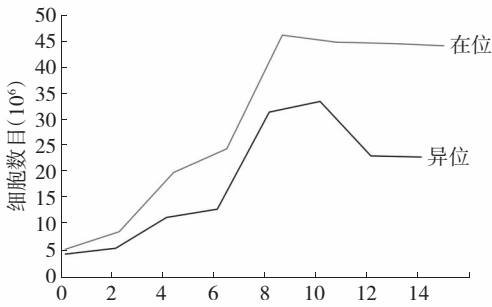


图1 在位及异位子宫内膜原代间质细胞生长曲线。 Fig. 1 Growth curve of eutopic and ectopic endometrial original stromal cells in vitro.

2.3 GnRH II 对在位与异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率比较

离体培养在位与异位子宫内膜间质细胞,培养液中加入不同浓度的GnRH II(10^-10, 10^-8及10^-6 mmol/L),分别培养24,48及72 h,结果显示:相同时间、不同浓度GnRH II对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率高于在位,呈剂量依赖性,差异有统计学意义(P<0.05);不同时间、相同浓度的GnRH II对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率高于在位,呈时

间依赖性,差异有统计学意义(P<0.05);且异位高于在位(P<0.05,表1)。

2.4 GnRH Ia 对在位与异位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较

离体培养在位与异位子宫内膜间质细胞,培养液中加入不同浓度的GnRH Ia(10^-10, 10^-8及10^-6 mmol/L),分别培养24,48及72 h,结果显示:相同时间、不同浓度GnRH Ia对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率高于在位,呈剂量依赖性,差异有统计学意义(P<0.05);不同时间、相同浓度的GnRH Ia对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率高于在位,呈时间依赖性,差异有统计学意义(P<0.05);且对异位高于在位(P<0.05,表2)。

2.5 GnRH II 与 GnRH Ia 对离体培养在位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较

离体培养在位子宫内膜间质细胞,培养液中加入不同浓度的GnRH II或GnRH Ia(10^-10, 10^-8及10^-6 mmol/L),分别培养24,48及72 h,结果显示:GnRH II对离体培养的在位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率大于GnRH Ia,差异有统计学意义(P<0.05,表3)。

2.6 GnRH II 与 GnRH Ia 对异位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较

离体培养异位子宫内膜间质细胞,培养液中加入不同浓度的GnRH II或GnRH Ia(10^-10, 10^-8及10^-6 mmol/L),分别培养24,48及72 h,结果显示:GnRH II对离体培养异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制率大于GnRH Ia,差异有统计学意义(P<0.05,表4)。

表1 GnRH II 对离体培养在位与异位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较(x±s, %)

Tab. 1 Comparison of the inhibitory rates of GnRH II on eutopic and ectopic endometrial stromal cells in vitro (x±s, %)

Table with 3 main columns for time points (24h, 48h, 72h) and sub-columns for concentrations (10^-10, 10^-8, 10^-6 mmol/L) for both '在位' and '异位' groups.

与相同时间、前一浓度比较,*P<0.05;与相同浓度、前一时间比较,#P<0.05;与相同时间、相同浓度在位比较,ΔP<0.05。

表2 GnRH Ia 对在位与异位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较(x±s, %)

Tab. 2 Comparison of the inhibitory rates of GnRH Ia on eutopic and ectopic endometrial stromal cells in vitro (x±s, %)

Table with 3 main columns for time points (24h, 48h, 72h) and sub-columns for concentrations (10^-10, 10^-8, 10^-6 mmol/L) for both '在位' and '异位' groups.

与相同时间、前一浓度比较,*P<0.05;与相同浓度、前一时间比较,#P<0.05;与相同时间、相同浓度在位比较,ΔP<0.05。

表3 GnRH II 与 GnRH Ia 对在位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较($\bar{x} \pm s, \%$)Tab. 3 Comparison of the inhibitory rates of GnRH II and GnRH Ia on eutopic endometrial stromal cells in vitro ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	24 h			48 h			72 h		
	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L
GnRH II	15.32 ± 1.43 *	26.41 ± 2.75 *	38.06 ± 4.15 *	30.41 ± 3.50 *	41.78 ± 4.49 *	53.34 ± 5.83 *	50.01 ± 3.70 *	63.29 ± 4.47 *	81.58 ± 3.44 *
GnRH Ia	5.42 ± 0.93	11.19 ± 1.29	23.97 ± 2.30	18.00 ± 2.02	28.98 ± 3.91	41.98 ± 3.86	32.20 ± 2.91	46.94 ± 4.08	60.73 ± 4.70

与 GnRH Ia 比较, * $P < 0.05$ 。

表4 GnRH II 与 GnRH Ia 对异位子宫内膜间质细胞增殖抑制率的比较($\bar{x} \pm s, \%$)Tab. 4 Comparison of the inhibitory rates of GnRH II and GnRH Ia on ectopic endometrial stromal cells in vitro ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	24 h			48 h			72 h		
	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L	10^{-10} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-6} mmol/L
GnRH II	38.42 ± 2.67 *	51.35 ± 3.70 *	62.84 ± 4.13 *	53.41 ± 3.79 *	64.47 ± 4.78 *	76.39 ± 5.71 *	70.29 ± 2.87 *	83.25 ± 3.73 *	93.39 ± 4.85 *
GnRH Ia	25.63 ± 1.24	37.53 ± 2.35	48.70 ± 3.15	38.54 ± 2.77	50.70 ± 3.46	60.65 ± 4.25	58.38 ± 1.36	69.75 ± 2.18	78.69 ± 3.75

与 GnRH Ia 比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨 论

自 Meldrum 等^[8]首先应用 GnRH_a(即 GnRH Ia)治疗内异症以来,已有很多文献报道其治疗的有效性,且因其无肝损害和雄激素过高等副作用而被认为是目前治疗内异症最有效的药物。GnRH_a治疗内异症不仅通过抑制生殖轴功能,降低雌激素水平,使异位子宫内膜萎缩;而且对体外培养的异位子宫内膜细胞有直接的抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌、抗增殖和促凋亡作用^[9-10]。

本研究以 GnRH Ia 作用于离体培养的子宫内膜间质细胞,随着 GnRH I 作用浓度的升高和作用时间的延长,GnRH Ia 对子宫内膜间质细胞的抑制率显著增加,呈剂量和时间依赖性。GnRH Ia 对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制作用明显强于在位,与上述文献^[9-10]一致,进一步证实 GnRH Ia 有效治疗内异症的途径之一是通过抑制其细胞增殖。

II 型 GnRH 受体系统的功能一直是近年来研究的热点^[11]。GnRH II 的结构从硬骨鱼到人类高度保守了 5 亿年,可能是进化中最早形成的 GnRH,因此可能有着较 GnRH I 更重要和特有的生理功能。GnRH II 的免疫反应在正常子宫内膜的间质细胞和上皮细胞中均有表达,且分泌期强于增生期,而在内异症中的表达无周期性变化,可能与人体正常月经的调节及内异症的发生有关^[12],有待于进一步证实。

研究^[3]发现:某些生殖系统肿瘤如卵巢癌、乳腺癌和前列腺癌中,I 型 GnRH 的激动剂、拮抗剂和

GnRH II 激动剂能抑制肿瘤细胞生长。用 RT-PCR 及 Southern 印迹法检测到人子宫内膜癌细胞 HEC-1A 和 Ishikawa、人卵巢癌细胞 EFO-21, SKOV-3 和 OVCAR-3 均有 GnRH II 受体 mRNA 表达;I 型受体激动剂曲普瑞林(triptorelin)和 GnRH II 均可抑制人子宫内膜癌细胞 HEC-1A, Ishikawa 和人卵巢癌细胞 EFO-21 的增殖;GnRH II 抗增殖作用强于曲普瑞林;且这种抑制作用能被 PTEN 基因(phosphatase and tensin homolog gene)所阻断^[13]。而在人卵巢癌细胞 SKOV-3,只有 GnRH II 有抗增殖作用^[14],且 GnRH II 以时间和剂量依赖性方式降低细胞的增殖,GnRH II 比 GnRH I 有更强的抗肿瘤细胞增殖作用。

本研究以 GnRH II 作用于离体培养的在位、异位子宫内膜间质细胞,并以 GnRH Ia 作对照,在一定程度上,随着 GnRH II 或 GnRH Ia 作用浓度的升高和作用时间的延长,二者对子宫内膜间质细胞的抑制率显著增加,呈剂量和时间依赖性($P < 0.05$);对异位子宫内膜间质细胞增殖的抑制作用明显强于在位($P < 0.05$);且 GnRH II 的抑制作用强于 GnRH Ia ($P < 0.05$);提示 GnRH II 用于治疗内异症可能较 GnRH Ia 更有效。其可能机制如下:1) 外源性的 GnRH II 可降低与内异症发病有关的重要免疫反应因子白介素 8 和环氧合酶 2 的分泌,对子宫内膜间质细胞有抗感染的作用^[15]。2) GnRH II 与哺乳动物受体结合能力比 GnRH I 强 100 倍以上^[3],GnRH II 和 GnRH I 同时对 GnRH I-R(I 型 GnRH 受体和 II 型 GnRH 受体)有交叉亲和力,I 型 GnRH 受体选择性地与 GnRH II 结合,是 GnRH I 的 421 倍^[16]。3) GnRH II 和 GnRH I 可能通过不同的受体和信号交

联通路调节细胞增殖或浸润行为。二者都能通过激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、细胞外信号调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated kinases, ERK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal protein kinases, JNK) 调节滋养层细胞的浸润; GnRH II 是通过转导激活内皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 受体酪氨酸激酶活性实现上述激酶的激活, 而 GnRH I 的作用是表皮生长因子受体非依赖型的^[17]。利用 RNA 干扰技术敲除 I 型 GnRH 受体, 只有 GnRH I 的促浸润作用被阻断, 而对 GnRH II 的作用没有显著影响, 表明可能存在新的特异性的 GnRH II 受体。4) 内异症患者异位内膜间质细胞蜕膜化能力减弱^[9], 由于 GnRH II 与其受体结合能力强, 因此, 它可能有着较 GnRH I 更高蜕膜化的能力而达到治疗的作用。5) II 型 GnRH 受体系统有调节激素分泌、自分泌/旁分泌的功能^[11]。6) 可能与 GnRH II 对异位内膜的靶向性强有关。上述可能机制均值得进一步探讨。

总之, 本实验发现 GnRH II 对内异症患者的子宫内间质细胞增殖有直接的抑制作用, 明显强于 GnRH Ia, 可能与 GnRH II 及其受体一些特有的作用与功能有关, GnRH II 有望开发为治疗内异症的一种较 GnRH I 更有效的新药。

参考文献:

- [1] 丰有吉, 沈铿. 妇产科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 374-376.
FENG Youji, SHEN Kong. Obstetrics and gynecology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 374-376.
- [2] Millar R P. GnRH II and type II GnRH receptors [J]. Trends Endocrinol Metab, 2003, 14(1): 35-43.
- [3] Enomoto M, Endo D, Kawashima S, et al. Human type II GnRH receptor mediates effects of GnRH on cell proliferation [J]. Zool Sci, 2004, 21(7): 763-770.
- [4] Grundker C, Gunthert A R, Millar R P, et al. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(3): 1427-1430.
- [5] 秦莉花, 秦明春, 李晟, 等. 人子宫内膜细胞原代体外培养方法 [J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(3): 8-10.
QIN Lihua, QIN Mingchun, LI Sheng, et al. Primary culture method of human endometrial cells in vitro [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2007, 27(3): 8-10.
- [6] 陈建林, 林秋华, 方小玲, 等. 孕酮对异位子宫内间质细胞 MMP22 和 MMP 表达的影响 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2005, 30(3): 307-311.
CHEN Jianlin, LIN Qiuhua, FANG Xiaoling, et al. Effect of progesterone on MMP-2 and MMP-9 expression in endometriosis

- stromal cells [J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2005, 30(3): 307-311.
- [7] 黄凤英, 刘秋红, 王焕萍, 等. GnRH II 与 GnRH Ia 对子宫内异位症患者间质细胞分泌 VEGF 作用的比较 (英文) [J]. 中南大学学报: 医学版, 2010, 35(5): 409-418.
HUANG Fengying, LIU QiuHong, WANG Huanping, et al. Effects of GnRH II and GnRH Ia on secretion of VEGF by eutopic and ectopic endometrial stromal cells of endometriosis patients (English) [J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2010, 35(5): 409-418.
- [8] Meldrum D R, Chang R J, Lu J, et al. "Medical oophorectomy" using a long-acting GnRH agonist—A possible new approach to the treatment of endometriosis [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1982, 54(5): 1081-1083.
- [9] Klemmt P A, Carver J G, Kennedy S H, et al. Stromal cells from endometriotic lesions and endometrium from women with endometriosis have reduced decidualization capacity [J]. Fertil Steril, 2006, 85(3): 564-572.
- [10] 韩利伟, 姜卫国. GnRH 对子宫内异位症内间质细胞生长增殖及血管形成的影响 [J]. 现代妇产科进展, 2008, 17(10): 737-739.
HAN Liwei, JIANG Weiguo. Effect of GnRH on the proliferation and angiogenesis of ectopic and eutopic stromal cells [J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2008, 17(10): 737-739.
- [11] 迟晓丽, 周文霞, 张永祥, 等. II 型 GnRH 及其受体系统研究进展 [J]. 军事医学科学院院刊, 2006, 30(2): 169-173.
CHI Xiaoli, ZHOU Wenxia, ZHANG Yongxiang, et al. Progress in research on GnRH II and its receptor system [J]. Bulletin of the Academy of Military Medical Sciences, 2006, 30(2): 169-173.
- [12] 邹颖, 黄凤英. GnRHII 蛋白在子宫内异位症患者中的表达及意义 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2010, 30(1): 27-32.
ZOU Ying, HUANG Fengying. Expression of GnRH II protein in patient with endometriosis and its significance [J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2010, 30(1): 27-32.
- [13] Zhao L J, Liu N, Li X P, et al. Phosphatase and tensin homolog gene inhibits the effect induced by gonadotropin-releasing hormone subtypes in human endometrial carcinoma cell [J]. Chinese Medical Journal, 2010, 123(9): 1170-1175.
- [14] Emons G, Grunker C. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation [J]. Clin Endocrinol Metabol, 2002, 87(3): 1427-1430.
- [15] Morimoto C, Osuga Y, Yano T, et al. GnRH II as a possible cytostatic regulator in the development of endometriosis [J]. Hum Reprod, 2005, 20(11): 3212-3218.
- [16] Harrison G S, Wierman M E, Nett T M, et al. Gonadotropin-releasing hormone and its receptor in normal and malignant cell [J]. Endocr Relat Cancer, 2004, 11(4): 725-748.
- [17] Liu J, MacCalman C D, Wang Y L, et al. Promotion of human trophoblasts invasion by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) I and GnRH II via distinct signaling pathway [J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(7): 1014-1021.