

· 基础研究 ·

雌激素受体在人类垂体腺瘤中的表达

朱雨岚 刘伟 吴海威 王维治

【摘要】 目的 检测雌激素受体(estrogen receptor, ER)在人类不同类型激素垂体腺瘤中的表达,探讨垂体腺瘤中分泌不同类型激素的腺瘤细胞与 ER 免疫组化阳性细胞之间的关系。方法 采用免疫组化 S-P 法对 53 例垂体腺瘤标本进行激素分型,检测垂体腺瘤中 ER 蛋白的表达。采用免疫组化双标法检测多激素分泌型垂体腺瘤中垂体激素合并 ER 表达的情况。结果 53 例垂体腺瘤标本中,部分 PRL(5/7)、FSH(2/3)、LH(1/1)单激素腺瘤及部分多激素腺瘤有 ER 蛋白表达,而全部 GH、ACTH、TSH 单激素腺瘤均无 ER 蛋白表达,4 例无功能腺瘤无 ER 蛋白表达。在 33 例多激素型垂体腺瘤标本中,22 例有 ER 蛋白表达,其中 PRL+ER 双标染色阳性标本 10 例、LH+ER 双标染色阳性标本 9 例、FSH+ER 双标染色阳性标本 7 例、GH+ER 双标染色阳性标本 2 例,33 例标本的 ACTH+ER 和 TSH+ER 的双标染色均为阴性。结论 垂体腺瘤患者的性别不影响肿瘤组织中 ER 蛋白的表达。垂体腺瘤中,分泌 PRL、LH 或 FSH 的垂体腺瘤细胞可表达 ER;分泌 ACTH 或 TSH 的垂体腺瘤细胞不表达 ER;分泌 GH 的垂体腺瘤细胞是否表达 ER 可能与该垂体腺瘤是否同时分泌 PRL 有关。ER 在 PRL、LH 及 FSH 垂体腺瘤细胞的发生、发展中发挥作用。

【关键词】 垂体腺瘤;雌激素受体

Expression of estrogen receptor in human pituitary adenomas

ZHU Yulan, LIU Wei, WU Haiwei, et al

Department of Neurology, the Second Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150086, China

【Abstract】 Objective To examine the expression of estrogen receptor(ER) in different hormone-producing pituitary tumors in order to study the relationship between the specific hormone-secreting adenoma cells and the ER-immunoreactive tumorous pituitary cells. Methods Immunohistochemical S-P method was used to identify the hormone-producing adenoma type and to detect the expression of ER protein. Immunohistochemical double-staining method was applied to detect the coexpression of ER and one specific pituitary hormone. Results In 53 adenomas, ER protein was found in some adenomas expressing only PRL (5/7), FSH(2/3) or LH(1/1), and in some plurihormonal adenomas, while no ER protein was detected in adenomas expressing only GH, ACTH and TSH. No ER protein was found in 4 nonfunctioning tumors. In 33 plurihormonal pituitary tumors, ER protein was detected in 22 cases. Among them, PRL and ER double staining was found in 10 specimens, LH and ER double staining in 9 specimens, FSH and ER double staining in 7 specimens, and GH and ER double staining in 2 specimens. Double staining did not characterize the nuclear ER positivity in cells containing cytoplasmic reactivity for ACTH or TSH in 33 cases. Conclusion The sex of the patients did not affect the expression of ER in pituitary tumors. The PRL-, LH- or FSH- producing adenoma cells can express ER, while neither ACTH- nor TSH- producing adenoma cells express ER. Whether GH-secreting tumorous cells express ER may be related to the pituitary adenoma secreting PRL or not. ER may play an important role in the occurrence and development of the PRL-, LH- or FSH- secreting adenomatous cells.

【Key word】 pituitary tumor; estrogen receptor(ER)

雌激素受体(estrogen receptor, ER)与垂体腺瘤

及其他垂体激素之间的关系以及垂体腺瘤是否存在多激素分泌一直是有争议的问题。ER 是一种基因转录因子,本研究采用免疫组化 S-P 法及免疫组化双标法在细胞水平检测 53 例人类垂体腺瘤中 ER 蛋白的表达,旨在探讨 ER 在不同激素类型的垂体腺瘤中以及分泌特定类型激素的垂体腺瘤细胞中表

收稿日期:2005-03-02

基金项目:黑龙江省留学归国人员基金课题(LOOC 005)

作者单位:150086 哈尔滨市,哈尔滨医科大学第二临床医学院神经内科

作者简介:朱雨岚,女,1962 年 11 月生,黑龙江省齐齐哈尔市人,医学博士,主任医师,科副主任。Tel:0451-86605841

达的情况。

1 材料与方法

1.1 材料 收集哈尔滨医科大学附属二院 1999 年 11 月至 2002 年 2 月间经病理检查证实的垂体腺瘤术后标本 53 例,所有标本均用 10% 福尔马林固定,常规石蜡包埋。男性 25 例,女性 28 例,男:女为 1:1.12。发病年龄 19~69 岁,平均(42.17±14.85)岁。

1.2 方法 (1)免疫组化 S-P 法:采用免疫组织化学 S-P 法对 53 例标本进行 6 种激素〔催乳素(prolactin, PRL)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、促卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促甲状腺激素(thyroid-specific hormone, TSH)、生长激素(growth hormone, GH)和促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)〕染色分型,并检测标本中 ER 蛋白的表达。切片厚 4 μm,检测 ER 的标本在染色前先用 EDTA 水浴法进行抗原修复后再按说明进行染色。试验中用同等条件下固定、包埋的乳腺癌组织做阳性对照,用 PBS 取代第一抗体做阴性对照。检测 ER 蛋白的阳性结果为胞核呈棕黄色;检测 PRL、LH、FSH、TSH、GH 或 ACTH 6 种激素的阳性结果为胞浆呈棕黄色。随机观察 10 个高倍镜视野,计数每个视野的阳性细胞并算出百分比,阳性细胞百分比>5%为(+)。(2)免疫组化双标法:采用免疫组织化学双标法检测 33 例多激素分泌型垂体腺瘤标本中垂体激素合并 ER 表达的情况。多克隆兔抗人 GH、PRL、ACTH 抗体及单克隆鼠抗人 LH、

FSH、TSH、ER 抗体购自福州迈新生物技术开发公司,免疫组织化学双标试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。ER 用 BCIP/NBT 显色,垂体激素用 AEC 显色。采用非免疫血清替代一抗做阴性对照。免疫组化双标染色中,ER 染色阳性结果为胞核中见蓝紫色颗粒,PRL、LH、FSH、TSH、GH 和 ACTH 激素染色阳性结果为胞浆呈红色。

1.3 统计学处理 分类资料用频率(%)表示,所有数据利用 SAS 软件进行统计学分析,采用 χ^2 检验, P 值<0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 ER 蛋白与患者性别的关系 本实验中有男性 25 例,女性 28 例,免疫组化结果显示,男性垂体腺瘤患者 ER 蛋白阳性率为 52.0%(13/25),女性为 60.7%(17/28),两者比较无统计学差异($P>0.05$)。

2.2 ER 蛋白在全部垂体腺瘤中的表达 在 53 例受检垂体腺瘤标本中,单激素腺瘤占 30.19%(16/53),多激素腺瘤占 62.26%(33/53),无功能腺瘤占 7.55%(4/53)。ER 蛋白在各种单激素腺瘤、多激素腺瘤及非功能腺瘤中的表达情况详见表 1 及图 1、2。

2.3 在表达 ER 的多激素分泌型垂体腺瘤中,各种垂体激素与 ER 共同表达的双标染色结果 见表 2 及图 3~5。

3 讨论

1936 年 Cramer 和 Horning 等首先报告,长期服

表 1 ER 蛋白在 53 例垂体腺瘤中的表达(免疫组化 S-P 法)

例数	单激素腺瘤						多激素腺瘤					无功能腺瘤
	PRL	FSH	LH	GH	ACTH	TSH	6 种	5 种	4 种	3 种	2 种	
例数	7	3	1	3	1	1	3	3	5	10	12	4
ER 染色阳性例数	5	2	1	0	0	0	3	2	3	6	8	0

表 2 多激素型垂体腺瘤中各种垂体激素 + ER 双标染色结果

腺瘤类型	例数	垂体激素阳性例数(垂体激素 + ER 双标染色阳性例数)					
		PRL ⁺ (+ ER ⁺)	LH ⁺ (+ ER ⁺)	FSH ⁺ (+ ER ⁺)	TSH ⁺ (+ ER ⁺)	ACTH ⁺ (+ ER ⁺)	GH ⁺ (+ ER ⁺)
6 激素型	3	3(1)	3(2)	3(1)	3(0)	3(0)	3(1 [*])
5 激素型	3	3(2)	3(1)	1(0)	2(0)	3(0)	3(0)
4 激素型	5	1(0)	5(1)	5(2)	1(0)	3(0)	5(0)
3 激素型	10	5(3)	5(2)	4(2)	5(0)	3(0)	8(0)
2 激素型	12	7(4)	5(3)	3(2)	1(0)	0(0)	8(1 [#])
总计	33	19(10)	21(9)	16(7)	12(0)	12(0)	27(2)

注: * 为 6 激素腺瘤,此肿瘤标本中 PRL + ER 与 GH + ER 的双标染色结果均为阳性

[#] 仅表达 PRL 与 GH 两种激素,且 PRL + ER 与 GH + ER 的双标染色结果均为阳性

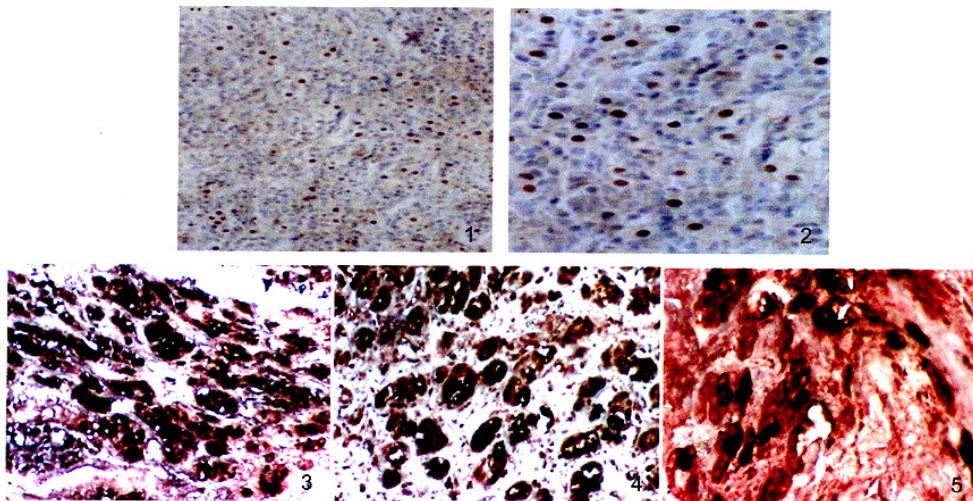


图 1 ER 蛋白在垂体腺瘤组织中的表达(SP, ×20)

图 2 ER 蛋白在垂体腺瘤组织中的表达(SP, ×40)

图 3 ER 蛋白及 PRL 双阳性细胞(免疫组化双标染色, ×40)

图 4 ER 蛋白及 LH 双阳性细胞(免疫组化双标染色, ×20)

图 5 ER 蛋白及 FSH 双阳性细胞(免疫组化双标染色, ×40)

用雌激素可诱发鼠垂体前叶肿瘤的形成。后来的研究证实,雌激素诱发的垂体腺瘤动物模型在许多方面与人类类似。雌激素的作用主要通过其受体介导,因此阐明 ER 与垂体腺瘤之间的关系非常重要。

笔者的结果显示,在单激素腺瘤中,PRL(5/7)、FSH(2/3)、LH(1/1)腺瘤有 ER 蛋白表达,而 ACTH、GH、TSH 腺瘤没有 ER 蛋白表达;非功能腺瘤也无 ER 蛋白表达。关于 PRL 腺瘤及促性腺激素腺瘤(FSH 腺瘤和 LH 腺瘤)可表达 ER 蛋白的观点已得到一些学者的公认^[1, 2],因为许多资料表明,雌激素可直接促进 PRL 基因表达^[3]或通过某些原癌基因^[4]、成纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)-4^[5]、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β ^[6]及垂体瘤转化基因(pituitary tumor-transforming gene, PTTG)等间接参与 PRL 腺瘤的形成^[7];Shupnik 等^[8]发现在鼠 LH β 基因上游的调节序列中含有雌激素反应元件,雌激素可以刺激 LH β 基因转录加快 2~5 倍。但是有关 ACTH、TSH 及 GH 细胞是否有 ER 表达一直存在争议。Zafar 等^[9]证明仅在促性腺激素腺瘤、PRL 腺瘤、非功能腺瘤和同时有 PRL 染色阳性的 GH 腺瘤中可见到 ER mRNA 表达,其余类型的单激素腺瘤及不合并有促性腺激素及 PRL 肿瘤成分的多激素分泌性腺瘤均检测不到 ER mRNA。笔者通过免疫组化双标染色方法进一步

发现,在 33 例多激素分泌型垂体腺瘤中,胞浆染色呈 PRL 阳性的腺瘤细胞中 ER 表达的阳性率最高,为 52.63% (10/19);胞浆染色呈 FSH 阳性和 LH 阳性的腺瘤细胞中 ER 表达阳性率相近,分别为 43.75% (7/16)和 42.86% (9/21);胞浆染色呈 TSH 阳性及 ACTH 阳性的腺瘤细胞中无 ER 蛋白表达。这一试验结果与笔者在单激素垂体腺瘤中所看到的 ER 表达情况是吻合的。

值得思考的是,虽然在单激素 GH 腺瘤中笔者没有发现有 ER 蛋白的表达,但是在 27 例含有 GH 染色阳性腺瘤细胞的多激素分泌型垂体腺瘤标本中,笔者发现 2 例 GH 胞浆染色阳性标本的 ER 胞核染色也为阳性,并且此 2 例标本中 PRL+ER 的双标染色结果同样为阳性,因此笔者推测这两例标本所含有的 ER 阳性细胞很可能是 PRL/GH 混合细胞。1986 年 Boock 等首先报道了 PRL/GH 混合腺瘤,它是一种既可产生 PRL 又可产生 GH 的双激素分泌型垂体腺瘤。Friend 等^[9]采用免疫组化法对 41 例垂体腺瘤进行研究,发现其中 2 例 PRL 腺瘤均为 ER 阳性,4 例 GH 腺瘤均为 ER 阴性,5 例 PRL/GH 混合腺瘤中,以 PRL 腺瘤细胞为主的 2 例为 ER 阳性,以 GH 腺瘤细胞为主的 3 例为 ER 阴性。Zafar 等^[10]也证实,在 PRL/GH 混合腺瘤中 ER 是否阳性与 PRL 表达水平有关。因为目前已有大量证据表明 GH 细胞

与 PRL 细胞起源于同一表达 GH 的生长激素干细胞。故有人提出 GH 细胞与 PRL 细胞分化的关键点在于 ER 基因的调节,当 ER 基因上调时,祖代细胞便分化为 PRL 细胞,下调时便分化为 GH 细胞。

ER 很可能在 PRL、LH、FSH 垂体腺瘤细胞的发生与发展中起到重要作用,但关于 ER 与 GH 腺瘤细胞或 PRL/GH 混合腺瘤细胞的关系尚待进一步探讨。数十年前,探讨 ER 在人类乳腺癌中表达的研究成功,为乳腺癌治疗开辟了一条相对安全、有效的新途径,垂体与乳腺组织相似,也是雌激素作用的重要靶器官,我们希望通过进一步研究 ER 与垂体腺瘤的关系,能够为阐明垂体腺瘤的发病机制并探索新的治疗垂体腺瘤的方法提供一个新思路。

参考文献

- 1 佟晓光,杨树源,张建宁,等. 垂体腺瘤中雌激素受体基因的表达. 中国神经精神疾病杂志, 2000, 26: 132-134.
- 2 佟晓光,杨树源,张建宁. 垂体泌乳素腺瘤中 ER 基因表达与肿瘤增殖活性的关系. 中国临床神经外科杂志, 2001, 6: 90-92.
- 3 Kim KE, Day RN, Maurer RA. Functional analysis of the interaction of a tissue-specific factor with an upstream enhancer element of the rat prolactin gene. Mol Endocrinol, 1988, 2: 1374-1381.

- 4 Sarkar DK, Hentges ST, De A, et al. Hormonal control of pituitary prolactin-secreting tumors. Front Biosci, 1998, 6: 934-943.
- 5 Schechter JE, Pattison A, Pattison T. Development of the vasculature of the anterior pituitary: ontogeny of basic fibroblast growth factor. Dev Dyn, 1993, 197: 81-93.
- 6 Pastorcic M, Sarkar DK. Downregulation of TGF-beta 1 gene expression in anterior pituitary cells treated with forskolin. Cytokine, 1997, 9: 106-111.
- 7 Heaney AP, Horwitz GA, Wang Z, et al. Early involvement of estrogen-induced pituitary tumor transforming gene and fibroblast growth factor expression in prolactinoma pathogenesis. Nat Med, 1999, 5: 1317-1321.
- 8 Shupnik MA, Rosenzweig BA. Identification of an estrogen-responsive element in the rat LHβ gene. J Biol Chem, 1991, 266: 17084-17091.
- 9 Friend KE, Chiou YK, Lopes MB, et al. Estrogen receptor expression in human pituitary: correlation with immunohistochemistry in normal tissue, and immunohistochemistry and morphology in macroadenomas. J Clin Endocrinol Metab, 1994, 78: 1497-1504.
- 10 Zafar M, Ezzat S, Ramyar L, et al. Cell-specific expression of estrogen receptor in the human pituitary and its adenomas. J Clin Endocrinol Metab, 1995, 80: 3621-3627.

· 消 息 ·

关于举办第四届全军保健医学学术研讨会 暨保健医学进展学习班的通知

为加强干部保健队伍建设,不断提高医疗保健工作质量和服务水平,更新知识,从临床实用和提高出发,拟于 2005 年 10 月在沈阳军区大连疗养院举办全军保健医学学术研讨会暨保健医学进展学习班,届时将邀请军内著名保健医学及老年医学专家作专题授课,同时进行保健医学学术交流。主要内容包括中老年常见病的诊治及临床基础、预防保健、疗养康复、心理及护理等方面的研究成果、经验交流、文献综述等,来稿请用中文 Word 编辑(附软盘)。参加会议者将给予全军继续教育学分。有论文者发给论文证书。投稿截止日期为 2005 年 8 月 15 日。无稿件者也可报名参加学术会和学习班。以报名表形式或电话报名均可。

来稿请寄:北京市复兴路 28 号解放军总医院“解放军保健医学杂志”编辑部,邮政编码:100853,信封左下角注明“会议征文”。联系人:范英鲜。电话:0201-935373(军),010-66935373(地)。传真:010-68176365。E-mail:PLABJYX@301hospital.com.cn。