

## • 综述 •

## 库欣病的分子发病机制

魏薇 王卫庆

**【摘要】** 库欣病是垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)腺瘤分泌过多 ACTH,刺激肾上腺过度合成和分泌糖皮质激素所致。家族性内分泌综合征伴垂体 ACTH 腺瘤与多发性内分泌腺瘤病(MEN)-1 及 GNAS1 基因突变相关。散发性库欣病的发病机制涉及 PTTG、p27 基因和激素相关受体、配体的异常表达,造成垂体 ACTH 细胞的过度增殖和激素分泌。进一步了解库欣病的分子发病机制对早期诊断和靶向治疗有重要意义。

**【关键词】** 库欣病;基因突变;基因表达异常;受体-配体异常表达

**The molecular pathogenesis of Cushing's disease** Wei Wei, Wang Weiqing. Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Clinical Center for Endocrine and Metabolic Diseases, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China  
Corresponding author: Wang Weiqing, Email: wqingw@hotmail.com

**【Abstract】** Cushing's disease is a condition of an excess of the steroid hormone cortisol in the blood caused by a pituitary corticotrophic adenoma secreting adrenocorticotrophic hormone. Cushing's disease in familial endocrine syndromes with pituitary adenomas is related to the gene mutation of MEN-1 and GNAS1. And the abnormal expression of the PTTG and p27 genes, hormone related receptors and ligands are involved in the pathogenesis of sporadic Cushing's disease, which cause the proliferation of the corticotroph cells and excessive ACTH secretion. Further understanding of the molecular pathogenesis of Cushing's disease is helpful in early diagnosis and targeted therapy.

**【Key words】** Cushing's disease; Gene mutation; Abnormal gene expression; Abnormal expression of receptors and ligands

(Int J Endocrinol Metab, 2014, 34: 203-206)

库欣病是由于垂体肿瘤分泌过多促肾上腺皮质激素(ACTH),刺激肾上腺皮质过度合成和分泌皮质醇引起的一系列症候群,占库欣综合征的 65%~70%。首选治疗方法为经鼻蝶窦垂体瘤切除术,术后缓解率 65%~90%,但仍有 5%~20%的患者复发,需进一步治疗<sup>[1]</sup>。目前针对库欣病的靶向治疗药物较少,对其分子发病机制的认识尚不明确。越来越多的学者关注到垂体 ACTH 腺瘤存在受体的异常表达,本文就库欣病的分子发病机制作一简要综述。

垂体 ACTH 腺瘤多为良性,恶性十分罕见,仅占库欣病的 0.1%~0.2%<sup>[2]</sup>。大部分垂体 ACTH 腺瘤为散发性。家族性内分泌综合征伴垂体 ACTH 腺瘤可见于多发性内分泌腺瘤病 1 型(MEN-1)、McCune-Albright 综合征等,其发病机制分别与 MEN-1 基因及 GNAS1 基因突变相关<sup>[3-4]</sup>。散发性库欣病的发病机制主要与肿

瘤相关基因和激素相关受体、配体的异常表达相关。

### 1 垂体肿瘤转移基因(PTTG)

PTTG 位于染色体 5q33,由 5 个外显子组成,是一种强有力的肿瘤转化基因,编码相对分子质量为 22 ku 的蛋白质,参与细胞周期调控。PTTG 在正常组织中弱表达甚至检测不到,一旦表达增多会抑制细胞有丝分裂中染色体的分离,引起细胞过度增殖,从而促进肿瘤形成。Salehi 等<sup>[5]</sup>利用免疫组织化学染色技术验证了功能性垂体瘤组织中 PTTG 蛋白表达均为阳性,其阳性程度由强到弱依次为:生长激素瘤>ACTH 腺瘤>催乳素瘤,而正常垂体组织中 PTTG 蛋白的表达为阴性。在功能性垂体瘤中,侵袭性垂体瘤 PTTG mRNA 表达水平显著升高,提示 PTTG 基因表达增加可能与垂体瘤的侵袭性相关<sup>[6]</sup>。

### 2 p27 基因

p27<sup>Kip1</sup> 是一种抑癌基因,位于染色体 12p13,由 2 个外显子组成,编码 p27<sup>Kip1</sup> 蛋白。p27<sup>Kip1</sup> 蛋白为一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白,可特异性结

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2014.03.017

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌代谢病科,上海市内分泌代谢病临床医学中心

通信作者:王卫庆,Email: wqingw@hotmail.com

合细胞周期蛋白依赖性激酶——细胞周期蛋白复合物,通过化学构象变化来抑制其活性,直接干预细胞周期由 G<sub>1</sub> 期向 S 期转换,从而抑制细胞增殖。p27<sup>Kip1</sup> 基因敲除小鼠会出现多器官病理性增生,其中 18%(3/17 例)p27<sup>Kip1-/-</sup>小鼠在 24 月龄时出现垂体 ACTH 腺瘤<sup>[7]</sup>。但目前尚无 p27 基因突变致库欣病的报道。p27<sup>Kip1</sup> 基因调节发生在转录后水平,垂体 ACTH 腺瘤的形成与 p27<sup>Kip1</sup> 基因在蛋白表达水平的下调有关。p27<sup>Kip1</sup> 蛋白主要通过磷酸化降解失活,研究发现垂体 ACTH 腺瘤细胞中 p27<sup>Kip1</sup> 磷酸化程度较正常垂体组织增多,导致 p27<sup>Kip1</sup> 蛋白表达水平降低。Bellodi 等<sup>[8]</sup>通过构建 p27 杂合性缺失小鼠,发现编码角化不良蛋白 Dyskerin 的 DKC1 基因表达降低,可导致 p27 相关核糖体翻译功能缺失,导致包括垂体 ACTH 腺瘤在内多种垂体瘤的发生,进一步证明 p27<sup>Kip1</sup> 表达水平下调与垂体 ACTH 腺瘤的发生相关。

### 3 激素相关异常受体、配体表达

3.1 下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴相关受体 正常的 HPA 轴负反馈调节机制是人体内维持肾上腺糖皮质激素稳态的关键。垂体 ACTH 腺瘤患者 HPA 轴反馈调节紊乱,主要与促肾上腺皮质激素释放激素受体(CRH-R)、促肾上腺皮质激素受体(ACTH-R)及糖皮质激素受体(GR)的异常表达相关。

CRH 作用于垂体细胞的 CRH-R,通过激活腺苷酸环化酶系统,诱导 ACTH 释放入血,刺激皮质醇分泌。Tateno 等<sup>[9]</sup>发现库欣病患者垂体 ACTH 腺瘤组织中 CRH-R mRNA 的表达量是无功能垂体瘤组织的 13 倍。提示垂体 ACTH 腺瘤中 CRH-R 过表达,使得垂体细胞对 CRH 的刺激敏感性增强,从而过度分泌 ACTH 并刺激双侧肾上腺分泌皮质醇,引起库欣病。

ACTH-R 属于黑皮质素 2 受体家族,由 5~7 个跨膜 G 蛋白耦联受体组成,主要表达于肾上腺皮质细胞。正常垂体细胞也存在 ACTH-R 的表达,通过分泌 ACTH 与细胞表面 ACTH-R 结合产生超短负反馈作用来抑制和减少自身 ACTH 分泌。Morris 等<sup>[10]</sup>发现 72.73%(16/22)库欣病患者垂体 ACTH 腺瘤细胞中存在编码 ACTH-R 的 mRNA 缺失。垂体细胞 ACTH-R 表达阳性的患者术前 ACTH 水平明显低于 ACTH-R 表达阴性的患者,提示 ACTH-R 表达缺失使 ACTH 分泌负反馈调节减弱或消失,引起血浆 ACTH 水平升高。

GR 是核受体超家族中的成员,分为 GR $\alpha$  及 GR $\beta$

两种亚型,均由 5 号染色体同一基因编码,为 GR 基因同一转录产物通过不同方式剪切的结果。GR 在脑内分布广泛,以下丘脑 CRH 神经元和垂体 ACTH 细胞最为丰富。正常垂体 ACTH 细胞通过 GR 与肾上腺皮质束状带细胞分泌的皮质醇结合,产生负反馈调控来抑制 ACTH 分泌。Ebisawa 等<sup>[11]</sup>发现 GR 在垂体 ACTH 腺瘤组织及正常垂体组织中的定位及表达水平有显著差异。正常垂体中 GR 的表达仅限于细胞质,表达阳性的细胞如散点状分布,而垂体 ACTH 腺瘤中 GR 主要在细胞核中表达,且表达丰富。

3.2 血管加压素受体(VPR) 血管加压素是一种由下丘脑室旁核小细胞神经元合成的多肽类激素,通过与 VPR 结合发挥作用。VPR 属于 G 蛋白耦联受体家族,由 7 个跨膜区域的多肽单链组成。目前已发现 3 种 VPR,分别为 VP1R、VP2R 及 VP3R。其中 VP3R 主要表达于垂体 ACTH 细胞表面,通过与 CRH 结合依次激活磷脂酶 C,刺激甘油二酯和 1,4,5-三磷酸肌醇的产生,引起 Ca<sup>2+</sup> 内流,从而刺激垂体 ACTH 细胞分泌。Luque 等<sup>[12]</sup>发现 3 种 VPR 在垂体 ACTH 腺瘤中均有表达,其中 VP3R 的表达占主导。垂体 ACTH 腺瘤中 VP3R 的 mRNA 表达水平较其他类型垂体腺瘤和正常垂体组织显著增多。去氨加压素可以刺激垂体 ACTH 腺瘤组织中 Ca<sup>2+</sup> 的释放、阿片促黑激素皮质素原(POMC)基因的表达和 ACTH 的分泌,但对正常垂体组织无效。Wang 等<sup>[13]</sup>的前瞻性研究发现垂体 ACTH 腺瘤组织中 VP1R、VP3R 及 CRH-R 表达呈强阳性,而 VP2R 表达个体差异性较大。VP2R 表达水平与术前 ACTH 分泌水平及 CRH 兴奋后 ACTH 升高程度呈正相关。提示垂体 ACTH 腺瘤组织中 VP3R 与 VP2R 的异常表达与库欣病的发生相关。

3.3 生长抑素受体(SSTR) 生长抑素是一种广泛存在于中枢神经系统、胃肠道各部位和胰腺内的神经多肽类胃肠激素,可抑制生长激素、胰高血糖素、胃泌素等的释放和分泌,调节正常细胞和肿瘤细胞的增殖及分化,并作为中枢神经系统的递质参与调节大脑运动和识别。生长抑素与 SSTR 结合产生生理作用。SSTR 为一类 G 蛋白耦联受体,已发现的 SSTR 有 5 种亚型,包括 SSTR-1~5。生长抑素与 SSTR 结合后分别通过抑制腺苷酸环化酶和细胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流,激活磷酸酪氨酸磷酸酶,抑制酪氨酸激酶活化等信号转导途径抑制肿瘤细胞的生长及过表达。目前,临床上应用于治疗库欣病的生长抑素类似物包括奥曲肽、兰瑞肽、帕瑞肽等,其中奥曲

肽、兰瑞肽与 SSTR-2 亲和力较好,帕瑞肽与 SSTR-1,2,3,5 型均有较强的结合能力。垂体 ACTH 腺瘤中主要表达 SSTR-5, SSTR-2 在高皮质醇血症作用下表达减弱。Ben-Shlomo 等<sup>[14]</sup>发现在 AtT-20 细胞(小鼠垂体腺瘤细胞株)中帕瑞肽对 ACTH 分泌功能的短期及长期抑制作用均强于奥曲肽。此外,帕瑞肽在撤药后仍有抑制 cAMP 聚集,减少 ACTH 分泌的作用。一项帕瑞肽治疗库欣病的 3 期临床试验研究显示,帕瑞肽可显著降低尿游离皮质醇水平和缩小垂体瘤体积<sup>[15]</sup>。

**3.4 多巴胺受体(DR)** DR 为 7 个跨膜区域组成的 G 蛋白耦联受体家族。目前已分离出 5 种多巴胺受体,分为 D1 类(D1、D5)和 D2 类(D2、D3 和 D4)受体。多巴胺通过与细胞表面 DR 结合,促使细胞内腺苷酸环化酶活性降低,抑制激素的合成和释放。Pivonello 等<sup>[16]</sup>利用受体-配体结合试验、免疫组化染色及 RT-PCR 技术,分别从 mRNA 及蛋白表达水平验证垂体 ACTH 腺瘤组织存在 D2R 的表达。体外实验发现,多巴胺受体激动剂溴隐亭或卡麦角林能抑制 D2R 表达阳性的垂体 ACTH 腺瘤组织分泌 ACTH,而对 D2R 表达者阴性无效。75%(15 例)垂体瘤术后未缓解的库欣病患者对卡麦角林治疗有效,进一步证明垂体 ACTH 腺瘤中存在 D2R 的表达, D2R 可作为库欣病有效治疗靶点<sup>[17]</sup>。垂体 ACTH 腺瘤组织主要表达 D2R 和 SSTR-5, SSTR1-4 及 D4R 表达量很低,甚至检测不到。60%垂体 ACTH 腺瘤组织中存在 D2R 和 SSTR-5 的共表达,23%仅有 DR2 表达,余下 17%无 DR 及 SSTR 表达,值得注意的是侵袭性垂体 ACTH 腺瘤组织中缺乏 SSTR-5 及 D2R 表达<sup>[18]</sup>。基于垂体 ACTH 腺瘤组织中存在 DR2 和 SSTR-5 共表达,Feelders 等<sup>[19]</sup>提出帕瑞肽-卡麦角林-酮康唑阶梯疗法治疗库欣病并获得良好效果。

**3.5 肝 X 受体  $\alpha/\beta$ (LXR $\alpha/\beta$ )** LXR $\alpha$  和 LXR $\beta$  是核受体超家族成员,均由一个高度保守锌指 DNA 结合域和一个低度保守配体结合域组成。LXR $\alpha$  mRNA 在肝脏和脂质代谢相关组织中表达丰富,而 LXR $\beta$  mRNA 存在于大部分组织中。LXR $\alpha$  和 LXR $\beta$  与维甲酸类 X 受体(RXR $s$ )形成 LXR-RXR 异二聚体, LXR-RXR 与 LXR 顺式反应元件相结合发挥作用。近年来,有研究者报道 LXR $s$  参与调控类固醇激素的合成。Matsumoto 等<sup>[20]</sup>在垂体 ACTH 腺瘤组织中检测到 LXR $\alpha$  mRNA 及蛋白的表达。LXR 激动剂 TO901317(TO)可诱导大鼠 GH3 细胞系及小鼠 AtT-20 细胞系中 POMC 基因转录。电泳迁移率变化分析示 LXR-RXR

异二聚体通过与大鼠 POMC 启动子区域 73 位至 52 位碱基位点结合来激活 POMC 基因的转录, LXR 通过增强 POMC 的转录作用于垂体 ACTH 腺瘤的形成。Hashimoto 等<sup>[21]</sup>发现 LXR $\beta$  的过表达可抑制 POMC 转录,垂体 ACTH 腺瘤中 LXR $\alpha/\beta$  的比值远高于其他类型垂体肿瘤及正常垂体组织。

**3.6 睾丸激素核受体 4(TR4)** TR4 为核受体超家族成员中的一员,编码一相对分子质量为 67 ku 的蛋白质,与 TR2 具有很高的同源性。TR4 作为转录因子调节视黄酸受体在内的多条信号转导通路,对精子形成、脂蛋白调节和中枢神经系统发生起到重要作用。最新研究证实,垂体 ACTH 腺瘤中存在 TR4 过表达,免疫组化染色示 TR4 主要定位于垂体 ACTH 细胞的胞质中,84%(10/12)垂体 ACTH 腺瘤中 TR4 呈强阳性表达<sup>[22]</sup>。体外实验证明,TR4 在 AtT-20 细胞系中的过表达可引起 POMC 基因转录及翻译水平分别增加 7 和 5 倍,从而使 ACTH 的分泌水平增加 30%。利用 shRNA 抑制 TR4 表达后, POMC 的转录和翻译水平下降, ACTH 的分泌减少。将抑制 TR4 表达的 AtT-20 细胞转染至裸鼠体内,与对照组裸鼠(仅转染 AtT-20 细胞株)共同培养 3 周后,发现实验组裸鼠垂体 ACTH 腺瘤体积更小,外周血 ACTH 水平更低。提示通过抑制 TR4 表达可为库欣病的靶向治疗提供一个新的思路。

**3.7 骨形态发生蛋白(BMP)-4 及 BMP 受体** BMP $s$  是转化生长因子  $\beta$  超家族成员,为一类多功能分泌型蛋白,在骨的发育过程中起重要作用,同时具有调节细胞分化、迁移、黏附、增殖及凋亡等多种生理功能。近年来,越来越多的研究表明 BMP-4 在垂体 ACTH 腺瘤的发生中发挥着重要作用。Giacomini 等<sup>[23]</sup>发现垂体 ACTH 腺瘤组织中 BMP-4 mRNA 及蛋白的表达水平较正常垂体组织降低,并通过体外实验证实 BMP-4 可抑制 AtT-20 细胞系细胞增殖及 ACTH 的分泌。抑制 BMP-4 下游信号转导物 Smad1 活性或使用 BMP-4 抑制剂 noggin 可诱导裸鼠垂体 ACTH 腺瘤的发生,提示在体内抑制 BMP-4 活性可导致垂体 ACTH 腺瘤的发生。

BMP-4 通过抑制 CRH 信号通路下游丝裂原活化蛋白激酶的活性,减少 POMC 基因的转录及 ACTH 的分泌。研究发现,生长抑素与 BMP 具有协同作用。在 AtT-20 细胞系中,加入 BMP-4 抑制剂 noggin 可减弱生长抑素对 ACTH 分泌的抑制作用。帕瑞肽及奥曲肽通过上调 BMP 信号通路中 Smad-1,5,8,活化素受体样激酶 3 及 BMP II 型受体活性,下调 Smad 6,7



活性来减弱 CRH 对 ACTH 分泌的刺激<sup>[24]</sup>。提示可利用 BMP 和生长抑素协同作用的特点,设计库欣病的靶向治疗药物。

综上所述,库欣病的发生和发展与多种因素相关,主要由激素分泌相关受体、配体表达异常,造成垂体 ACTH 细胞的过度增殖和激素分泌引起。通过对以上发病机制的进一步认识有助于库欣病的早期诊断和针对特异性受体的靶向治疗。

### 参 考 文 献

- [1] Tritos NA, Biller BM, Swearingen B, et al. Management of Cushing disease[J]. Nat Rev Endocrinol, 2011, 7(5): 279-289.
- [2] Pinchot S N, Sippel R, Chen H. ACTH-producing carcinoma of the pituitary with refractory Cushing's Disease and hepatic metastases: a case report and review of the literature[J]. World J Surg Oncol, 2009, 7: 39.
- [3] Stratakis CA, Tichomirowa MA, Boikos S, et al. The role of germline AIP, MEN1, PRKAR1A, CDKN1B and CDKN2C mutations in causing pituitary adenomas in a large cohort of children, adolescents, and patients with genetic syndromes[J]. Clin Genet, 2010, 78(5): 457-463.
- [4] Riminucci M, Collins MT, Lala R, et al. An R201H activating mutation of the GNAS1 (Galpha) gene in a corticotroph pituitary adenoma[J]. Mol Pathol, 2002, 55(1): 58-60.
- [5] Salehi F, Kovacs K, Scheithauer BW, et al. Immunohistochemical expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) in pituitary adenomas: a correlative study of tumor subtypes[J]. Int J Surg Pathol, 2010, 18(1): 5-13.
- [6] Jia W, Lu R, Jia G, et al. Expression of pituitary tumor transforming gene (PTTG) in human pituitary macroadenomas [J]. Tumour Biol, 2013, 34(3): 1559-1567.
- [7] Roussel-Gervais A, Bilodeau S, Vallette S, et al. Cooperation between cyclin E and p27 (Kip1) in pituitary tumorigenesis[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(9): 1835-1845.
- [8] Bellodi C, Krasnykh O, Haynes N, et al. Loss of function of the tumor suppressor DKC1 perturbs p27 translation control and contributes to pituitary tumorigenesis[J]. Cancer Res, 2010, 70(14): 6026-6035.
- [9] Tateno T, Izumiyama H, Doi M, et al. Differential gene expression in ACTH-secreting and non-functioning pituitary tumors[J]. Eur J Endocrinol, 2007, 157(6): 717-724.
- [10] Morris DG, Kola B, Borboli N, et al. Identification of adrenocorticotropin receptor messenger ribonucleic acid in the human pituitary and its loss of expression in pituitary adenomas [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(12): 6080-6087.
- [11] Ebisawa T, Tojo K, Tajima N, et al. Immunohistochemical analysis of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and glucocorticoid receptor in subclinical Cushing's disease due to pituitary macroadenoma[J]. Endocr Pathol, 2008, 19(4): 252-260.
- [12] Luque RM, Ibáñez-Costa A, López-Sánchez LM, et al. A cellular and molecular basis for the selective desmopressin-induced ACTH release in Cushing disease patients: key role of AVPR1b receptor and potential therapeutic implications [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(10): 4160-4169.
- [13] Wang FF, Tang KT, Yen YS, et al. Plasma corticotrophin response to desmopressin in patients with Cushing's disease correlates with the expression of vasopressin receptor 2, but not with that of vasopressin receptor 1 or 3, in their pituitary tumours[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012, 76(2): 253-263.
- [14] Ben-Shlomo A, Schmid H, Wawrowsky K, et al. Differential ligand-mediated pituitary somatostatin receptor subtype signaling: implications for corticotroph tumor therapy [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(11): 4342-4350.
- [15] Colao A, Petersenn S, Newell-Price J, et al. A 12-month phase 3 study of pasireotide in Cushing's disease[J]. N Engl J Med, 2012, 366(10): 914-924.
- [16] Pivonello R, Ferone D, de Herder WW, et al. Dopamine receptor expression and function in corticotroph pituitary tumors[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(5): 2452-2462.
- [17] Pivonello R, De Martino MC, Cappabianca P, et al. The medical treatment of Cushing's disease: effectiveness of chronic treatment with the dopamine agonist cabergoline in patients unsuccessfully treated by surgery[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(1): 223-230.
- [18] de Bruin C, Pereira AM, Feelders RA, et al. Coexpression of dopamine and somatostatin receptor subtypes in corticotroph adenomas[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(4): 1118-1124.
- [19] Feelders RA, de Bruin C, Pereira AM, et al. Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in Cushing's disease[J]. N Engl J Med, 2010, 362(19): 1846-1848.
- [20] Matsumoto S, Hashimoto K, Yamada M, et al. Liver X receptor-alpha regulates proopiomelanocortin (POMC) gene transcription in the pituitary[J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(1): 47-60.
- [21] Hashimoto K, Matsumoto S, Ishida E, et al. Liver X receptor-alpha/beta expression ratio is increased in ACTH-secreting pituitary adenomas[J]. Neurosci Lett, 2011, 494(1): 34-37.
- [22] Du L, Bergsneider M, Mirsadraei L, et al. Evidence for orphan nuclear receptor TR4 in the etiology of Cushing disease [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(21): 8555-8560.
- [23] Giacomini D, Pérez-Pereda M, Theodoropoulou M, et al. Bone morphogenetic protein-4 inhibits corticotroph tumor cells: involvement in the retinoic acid inhibitory action[J]. Endocrinology, 2006, 147(1): 247-256.
- [24] Tsukamoto N, Otsuka F, Miyoshi T, et al. Effects of bone morphogenetic protein (BMP) on adrenocorticotropin production by pituitary corticotrope cells: involvement of up-regulation of BMP receptor signaling by somatostatin analogs[J]. Endocrinology, 2010, 151(3): 1129-1141.

(收稿日期: 2013-11-22)