

· 综述 ·

糖皮质激素受体基因及其变异在库欣综合征中的作用

刘洋 卢琳 龚凤英 朱惠娟 潘慧

【摘要】 库欣综合征是由于各种原因所致的皮质醇异常分泌增多,引起高皮质醇血症、代谢紊乱的临床综合征,糖皮质激素受体(GR)是皮质醇结合靶点。GR 的表达量、基因变异及其通路中多个因子(热休克蛋白、11 β 羟基类固醇羟化酶、芳烃受体作用蛋白、睾丸核受体 4 和 Brg1 蛋白)在库欣综合征及相关并发症的发病机制中发挥重要作用。作用于 GR 及相关通路的药物包括 GR 拮抗剂米非司酮、热休克蛋白抑制剂和 11 β 羟基类固醇羟化酶抑制剂等对库欣综合征的治疗具有重大意义。

【关键词】 糖皮质激素受体;库欣综合征;垂体 ACTH 腺瘤;治疗

基金项目:中华医学会临床医学科研专项资金-下丘脑垂体研究项目(13050940479);国家临床重点专科基金(WBYZ2011-873);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(CAMS-2017-I2M-1-011)

Role of glucocorticoid receptor and related gene mutation in Cushing's syndrome Liu Yang, Lu Lin, Gong Fengying, Zhu Huijuan, Pan Hui. Key Laboratory of Endocrinology, National Health and Family Planning Commission, Department of Endocrinology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Beijing 100730, China
Corresponding author: Lu Lin, Email: lulin88@sina.com

【Abstract】 Cushing's syndrome is a collection of metabolic disturbance caused by hypercortisolism due to various mechanisms. Cortisol acts through glucocorticoid receptor (GR). The expression and gene mutation of GR, as well as several molecules in its signal pathway, including heat-shock protein (HSP), 11 β -hydroxyl steroid hydroxylase (11 β -HSD), aryl hydrocarbon receptor interacting protein, testicular orphan receptor 4 and Brg1, play important roles in the pathogenesis of Cushing's syndrome and related complications. Medications targeting GR and related pathways for treating Cushing's syndrome, including GR antagonist mifepristone, HSP inhibitor silibinin and 11 β -HSD inhibitors, have demonstrated great clinical potentials.

【Key words】 Glucocorticoid receptor; Cushing's syndrome; Pituitary ACTH adenoma; Management

Fund program: The Hypothalamic-Pituitary Research Project, Clinical Medical Project of Chinese Medical Association(13050940479); National Key Program of Clinical Science(WBYZ2011-873); CAMS Innovation Fund for Medical Science (CAMS-2017-I2M-1-011)

库欣综合征是一组由于各种原因所致的皮质醇异常分泌增多,引起高皮质醇血症、代谢紊乱的临床综合征,最常见病因包括垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)腺瘤(即库欣病)、异位肿瘤分泌 ACTH、肾上腺肿瘤等。皮质醇通过与不同组织细胞的糖皮质激素受体(GR)结合,发挥生物学效应。而诊断库欣综合征的重要方法——大、小剂量地塞米松抑制试

验,正是利用了皮质醇对 GR 的负反馈调节作用。近年来,多项研究发现 GR 在库欣综合征的发生和临床表现中起重要作用。

1 GR 及其编码基因

GR 是一种核受体,由位于第 5 号染色体的 NR3C1 (Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 1) 基因编码。最早于 1985 年, Hollenberg 等^[1] 对 NR3C1 基因及其表达和功能进行了详细描述。GR 有两种异构体 (GR α 和 GR β), 其中 GR α 发挥主要的生理作用。GR 蛋白质结构中包括 3 个功能区: (1) 配体结合区: 作用为结合配体 (即糖皮质激素),

结合热休克蛋白(HSP),且为多种转录因子的结合靶点。(2)DNA 结合区:作用为与靶基因的糖皮质激素受体反应元件(GRE)结合,上调或抑制靶基因的表达。(3)氨基末端结构域^[2]。

GR 蛋白在无配体结合时位于细胞质中,与 HSP(主要是 HSP90)形成寡聚复合物;在配体皮质醇的作用下,GR 与 HSP90 解离并转入核内,进一步与靶基因结合,调控其表达^[3]。编码 ACTH 前体的阿片-促黑素细胞皮质素原(POMC)基因即受到 GR 的负向调节,包括顺式抑制和反式抑制两种作用方式^[4]。除此之外,GR 还可调控多个基因的表达,包括编码白细胞介素、角蛋白的基因等^[4]。

2 GR 在库欣综合征相关肿瘤发生中的作用

2.1 GR 表达量 GR 在转录或翻译水平的下调可破坏皮质醇的负反馈调节作用,从而引起垂体 ACTH 分泌细胞的生长与增殖不受控制。Huizenga 等^[5]在 22 例人垂体 ACTH 腺瘤标本中的 6 例检出 NR3C1 基因的杂合性丢失。Mu 等^[6]发现,在大剂量地塞米松无法抑制的垂体 ACTH 腺瘤标本中,GR α mRNA 水平显著降低。然而,Dahia 等^[7]检测到垂体 ACTH 腺瘤中 GR mRNA 处于高水平或与正常垂体组织相同,其中 GR α 与 GR β mRNA 的相对比例无显著差异。GR 在肾上腺皮质病变的表达在近期有所报道。Tacon 等^[8]检测到,肾上腺皮质癌标本中 GR α mRNA 水平显著升高,并通过蛋白印迹法和免疫组织化学染色验证了这一发现。另有 1 例报道在肾上腺大结节样增生患者中发现 NR3C1 基因的无义突变,引起家族性 GR 单倍剂量不足^[9]。

2.2 NR3C1 基因变异 目前为止,文献报道的 NR3C1 基因变异包括错义突变、移码突变、无义突变等以及 Bcl I 等基因多态性,大多数与系统性糖皮质激素抵抗有关^[10]。在垂体 ACTH 腺瘤及肾上腺皮质肿瘤的研究中也有报道。2016 年我国一项垂体瘤外显子组测序研究,在 20 例垂体 ACTH 腺瘤检查出 2 例体细胞 NR3C1 基因错义突变^[11]。而在亚临床库欣综合征伴肾上腺意外瘤患者的肿瘤组织中,同样发现 NR3C1 基因体细胞突变位点,且突变型 GR 蛋白入核、结合靶 DNA 的能力受损^[12]。突变位点较集中于 NR3C1 基因序列的配体结合区,这一结构域对于 GR 的正常功能起重要作用^[13]。

2.3 GR 通路相关分子 GR 通路涉及多个分子,

包括分子伴侣、转录因子等,在 GR 的生理、病理效应中发挥作用。目前为止,至少 5 个分子对于垂体及垂体 ACTH 腺瘤中 GR 表达与功能的调节有重要影响。(1)分子伴侣 HSP90、HSP70 在胞质中作用于 GR,使 GR 保持对激素配体的高亲和构型^[3]。Riebold 等^[14]发现,相比于正常垂体组织,垂体 ACTH 腺瘤的 HSP90 表达水平更高,并且在 HSP90 C 末端抑制剂水飞蓟素的作用下,GR 转录增多,AtT20 细胞增殖、ACTH 前体即 POMC 分泌水平得以控制。(2)11 β 羟基类固醇羟化酶 1 型(11 β HSD1)和 2 型(11 β HSD2)是一对同工酶,11 β HSD2 可以将皮质醇分子转化为无活性的皮质酮,而 11 β HSD1 则主要将无活性的皮质酮转化为皮质醇^[15]。11 β HSD1 在不同部位选择性增加糖皮质激素的活性,在脂肪组织、肝脏、肌肉等表达较高,对于高皮质醇血症的外周效应起重要作用^[16]。11 β HSD2 在 ACTH 腺瘤细胞中表达上调,将减少皮质醇与 GR 结合的数量,使得 GR 的下一步反应受到抑制^[17]。(3)芳烃受体作用蛋白(aryl hydrocarbon receptor interacting protein, AIP)是近年来发现的一个分子。AIP 不仅能与芳烃受体结合,还可与 HSP90、GR 相互作用^[18]。约在 15% 的家族性孤立性垂体腺瘤家系中检测到 AIP 基因的胚系突变^[19]。尽管更多的 AIP 基因胚系突变是在垂体生长激素腺瘤、肢端肥大症或催乳素瘤中发现的,仍有部分垂体 ACTH 腺瘤患者具有此基因突变^[20-21]。(4)睾丸核受体 4(TR4)可作用于 POMC 基因的启动子序列,从而促进垂体 ACTH 腺瘤细胞中 POMC 基因的表达与 ACTH 的分泌。免疫共沉淀研究证实,TR4 可以直接作用于 GR,破坏 GR 与靶基因启动子的结合^[22]。(5)Brg1 是组成转录反式抑制复合体的三磷酸腺苷酶亚单位^[23]。Brg1 在垂体细胞中与 POMC 基因启动子序列结合;当由激素配体激活的 GR 进入细胞核后,在反式抑制复合物的作用下,POMC 基因启动子序列发生组蛋白去乙酰化,POMC 基因转录受阻。Brg1 的缺失将引起 GR 的负反馈作用受损。约 50% GR 抵抗的垂体 ACTH 腺瘤缺少这一蛋白。

3 GR 与库欣综合征相关并发症

GR 广泛分布于身体各个组织器官,并发挥组织特异性的下游效应。库欣综合征患者高皮质醇血

症的继发症状累及多个系统,包括糖、脂代谢紊乱、骨质疏松、精神异常等。而 NR3C1 基因的变异改变了皮质醇的敏感性。携带 NR3C1 基因 A3669G 突变的库欣综合征患者继发糖尿病的发病率显著降低^[24]。NR3C1 基因的 Bcl I 变异型增强了 GR 蛋白对于皮质醇分子的亲和性,使得患者代谢状态恶化,骨密度降低^[25-26]。Bcl I 变异型的携带者平均体重指数更高^[26]。但也有研究不支持库欣综合征患者的骨量丢失、骨折等并发症与 GR 基因多态性的相关性^[27]。

皮质醇可通过血-脑屏障,损害大脑的结构和功能,引发焦虑、抑郁、认知障碍等精神症状^[28]。过量皮质醇激活脑内 GR,对海马等边缘系统产生毒性作用,在大鼠模型中,激活的 GR 使得海马中促凋亡因子增多,GR 还可以通过调节 P53 的表达来影响凋亡进程^[29]。

4 利用 GR 治疗库欣综合征

对于库欣病患者,目前一线治疗方案为经鼻蝶窦入路垂体腺瘤切除术,放射治疗、双侧肾上腺切除是二线疗法。对于异位 ACTH 综合征、肾上腺皮质腺瘤等引起的库欣综合征,手术治疗同样为首选。然而有一定比例的患者手术、放射治疗效果不佳或出现复发,或无法耐受手术打击,药物治疗亦是缓解患者症状、控制并发症的利器。

大剂量米非司酮可拮抗 GR,米非司酮及其 3 种活性代谢物与 GR 都具有较高的亲和力(分别为 100%、61%、48% 和 45%),高于地塞米松(23%)和皮质醇(9%)。国外多中心临床试验表明,库欣综合征患者接受米非司酮治疗后症状缓解率为 75% ($n=37$) 至 87% ($n=50$),对于异位 ACTH 综合征亦有效果^[30]。美国 FDA 已于 2012 年批准米非司酮用于治疗继发高血糖的库欣综合征患者。水飞蓟素作为 HSP90 抑制剂,可促进 GR 入核,对垂体 ACTH 腺瘤及其引起的库欣综合征的治疗作用在体外、动物模型体内得到验证,可使肿瘤体积缩小,血清 ACTH、皮质醇水平显著降低^[14]。11 β HSD1 在不同组织选择性增加糖皮质激素的活性,可作为 GR 上游调控因子。基于肥胖、2 型糖尿病或代谢综合征小鼠模型的动物实验表明,选择性 11 β HSD1 抑制剂可改善胰岛素敏感性、糖耐量和血脂异常^[15]。Gibbs 等^[31]药物代谢动力学研究证实,肥胖症患者口服选择性 11 β HSD1 抑制剂后,脂肪组织的

11 β HSD1 可被有效抑制。但目前尚无在库欣综合征患者中的应用,其治疗潜力需要进一步临床试验及长期随访观察。

GR 在库欣综合征的发生和继发外周表现中均发挥重要作用。到目前为止,针对 GR 蛋白及 NR3C1 基因开展的机制研究以及药物治疗探究已崭露头角,未来更加深入的研究将进一步推动人们对于库欣综合征的认识,使患者得到更为全面、有效、个性化的治疗。

参 考 文 献

- [1] Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, et al. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA [J]. *Nature*, 1985, 318 (6047): 635-641.
- [2] Schaaf MJ, Cidlowski JA. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and resistance [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2002, 83 (1-5): 37-48.
- [3] Kirschke E, Goswami D, Southworth D, et al. Glucocorticoid receptor function regulated by coordinated action of the Hsp90 and Hsp70 chaperone cycles [J]. *Cell*, 2014, 157 (7): 1685-1697. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.038.
- [4] Dostert A, Heinzel T. Negative glucocorticoid receptor response elements and their role in glucocorticoid action [J]. *Curr Pharm Des*, 2004, 10 (23): 2807-2816.
- [5] Huizenga NA, de Lange P, Koper JW, et al. Human adrenocorticotropin-secreting pituitary adenomas show frequent loss of heterozygosity at the glucocorticoid receptor gene locus [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83 (3): 917-921. DOI: 10.1210/jcem.83.3.4648.
- [6] Mu YM, Takayanagi R, Imasaki K, et al. Low level of glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid in pituitary adenomas manifesting Cushing's disease with resistance to a high dose-dexamethasone suppression test [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1998, 49 (3): 301-306. DOI: 10.1046/j.1365-2265.1998.00520.x.
- [7] Dahia PL, Honegger J, Reincke M, et al. Expression of glucocorticoid receptor gene isoforms in corticotropin-secreting tumors [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82 (4): 1088-1093. DOI: 10.1210/jcem.82.4.3861.
- [8] Tacon LJ, Soon PS, Gill AJ, et al. The glucocorticoid receptor is overexpressed in malignant adrenocortical tumors [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94 (11): 4591-4599. DOI: 10.1210/jc.2009-0546.
- [9] Bouligand J, Delemer B, Hecart AC, et al. Familial glucocorticoid receptor haploinsufficiency by non-sense mediated mRNA decay, adrenal hyperplasia and apparent mineralocorticoid excess [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (10): e13563. DOI: 10.1371/journal.pone.0013563.
- [10] Zhu HJ, Dai YF, Wang O, et al. Generalized glucocorticoid resist-

- ance accompanied with an adrenocortical adenoma and caused by a novel point mutation of human glucocorticoid receptor gene[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(4): 551-555.
- [11] Song ZJ, Reitman ZJ, Ma ZY, et al. The genome-wide mutational landscape of pituitary adenomas[J]. Cell Res, 2016, 26(11): 1255-1259. DOI: 10.1038/cr.2016.114.
- [12] Vitellius G, Fagart J, Delemer B, et al. Three novel heterozygous point mutations of NR3C1 causing glucocorticoid resistance[J]. Hum Mutat, 2016, 37(8): 794-803. DOI: 10.1002/humu.23008.
- [13] Charmandari E, Kino T, Ichijo T, et al. A novel point mutation in helix 11 of the ligand-binding domain of the human glucocorticoid receptor gene causing generalized glucocorticoid resistance[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(10): 3986-3990. DOI: 10.1210/jc.2006-2830.
- [14] Riebold M, Kozany C, Freiburger L, et al. A C-terminal HSP90 inhibitor restores glucocorticoid sensitivity and relieves a mouse allograft model of Cushing disease[J]. Nat Med, 2015, 21(3): 276-280. DOI: 10.1038/nm.3776.
- [15] Morgan SA, Hassan-Smith ZK, Lavery GG. Mechanisms in endocrinology: tissue-specific activation of cortisol in Cushing's syndrome[J]. Eur J Endocrinol, 2016, 175(2): R83-R89. DOI: 10.1530/EJE-15-1237.
- [16] Morgan SA, McCabe EL, Gathercole LL, et al. 11 β -HSD1 is the major regulator of the tissue-specific effects of circulating glucocorticoid excess[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(24): E2482-E2491. DOI: 10.1073/pnas.1323681111.
- [17] Korbonits M, Bujalska I, Shimoto M, et al. Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoenzymes in the human pituitary: induction of the type 2 enzyme in corticotropinomas and other pituitary tumors[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(6): 2728-2733. DOI: 10.1210/jcem.86.6.7563.
- [18] Tahir A, Chahal HS, Korbonits M. Molecular genetics of the aip gene in familial pituitary tumorigenesis[J]. Prog Brain Res, 2010, 182: 229-253. DOI: 10.1016/S0079-6123(10)82010-2.
- [19] Daly AF, Vanbellinghen JF, Khoo SK, et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(5): 1891-1896. DOI: 10.1210/jc.2006-2513.
- [20] Scudder CJ, Niessen SJ, Catchpole B, et al. Feline hypersomatotropism and acromegaly tumorigenesis: a potential role for the AIP gene[J]. Domest Anim Endocrinol, 2017, 59: 134-139. DOI: 10.1016/j.domaniend.2016.11.005.
- [21] 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. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2010.01406.x.
- [22] Zhang D, Du L, Heaney AP. Testicular receptor-4: novel regulator of glucocorticoid resistance[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(8): 3123-3133. DOI: 10.1210/jc.2016-1379.
- [23] Bilodeau S, Vallette-Kasic S, Gauthier Y, et al. Role of Brg1 and HDAC2 in GR trans-repression of the pituitary POMC gene and misexpression in Cushing disease[J]. Genes Dev, 2006, 20(20): 2871-2886. DOI: 10.1101/gad.1444606.
- [24] Trementino L, Appolloni G, Concettoni C, et al. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G with decreased risk of developing diabetes in patients with Cushing's syndrome[J]. Eur J Endocrinol, 2012, 166(1): 35-42. DOI: 10.1530/EJE-11-0722.
- [25] van Schoor NM, Dennison E, Lips P, et al. Serum fasting cortisol in relation to bone, and the role of genetic variations in the glucocorticoid receptor[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2007, 67(6): 871-878. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.02978.x.
- [26] Moreira RP, Bachega TA, Machado MC, et al. Modulatory effect of Bel I GR gene polymorphisms on the obesity phenotype in Brazilian patients with Cushing's disease[J]. Clinics (Sao Paulo), 2013, 68(5): 579-585. DOI: 10.6061/clinics/2013(05)01.
- [27] Trementino L, Appolloni G, Ceccoli L, et al. Bone complications in patients with Cushing's syndrome: looking for clinical, biochemical, and genetic determinants[J]. Osteoporos Int, 2014, 25(3): 913-921. DOI: 10.1007/s00198-013-2520-5.
- [28] Andela CD, van Haalen FM, Ragnarsson O, et al. Mechanisms in endocrinology: Cushing's syndrome causes irreversible effects on the human brain: a systematic review of structural and functional magnetic resonance imaging studies[J]. Eur J Endocrinol, 2015, 173(1): R1-R14. DOI: 10.1530/EJE-14-1101.
- [29] 杨晨蝶, 幸兵. 库欣综合征所致精神症状的机制[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(10): 1438-1441. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2014.10.031.
- [30] Castinetti F, Conte-Devolx B, Brue T. Medical treatment of Cushing's syndrome: glucocorticoid receptor antagonists and mifepristone[J]. Neuroendocrinology, 2010, 92(Suppl 1): 125-130. DOI: 10.1159/000314224.
- [31] Gibbs JP, Emery MG, McCaffery I, et al. Population pharmacokinetic/pharmacodynamic model of subcutaneous adipose 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) activity after oral administration of AMG 221, a selective 11 β -HSD1 inhibitor[J]. J Clin Pharmacol, 2011, 51(6): 830-841. DOI: 10.1177/0091270010374470.

(收稿日期: 2017-06-15)