

· 综述 ·

原发性色素结节性肾上腺皮质病的致病机制及遗传学研究进展

李欣雅 郑方道

天津医科大学总医院内分泌代谢科 300052

通信作者:郑方道, Email: fqzheng@163.com

【摘要】 原发性色素结节性肾上腺皮质病 (PPNAD) 作为一种罕见的库欣综合征的病因, 与编码 cAMP 依赖的蛋白激酶 A 的调节亚基 R1 α 的 PRKA1A 基因的失活突变相关。目前研究发现, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 C1 (mTORC1) 信号通路、5-羟色胺受体及糖皮质激素受体的异常表达参与 PPNAD 致病过程。对家系的调查发现, PPNAD 突变位点和外显率具有多样性, 对上述方面最新进展进行综述, 有助于对 PPNAD 的认识和精准诊治。

【关键词】 原发性色素结节性肾上腺皮质病; 病因学; 遗传学

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.015

Recent progress of pathogenic mechanism and genetics in primary pigmented nodular adrenocortical

disease Li Xinya, Zheng Fangqiu. Department of Endocrinology and Metabolism, The General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Zheng Fangqiu, Email: fqzheng@163.com

【Abstract】 Primary pigmented nodular adrenocortical disease (PPNAD), as a rare cause of Cushing's syndrome is associated with inactivation of the PRKA1A gene which encode the cAMP-dependent protein kinase A regulatory subunit R1 α . Mammalian rapamycin target protein C1 (mTORC1) signaling pathway, as well as the abnormal expression of serotonin receptor and glucocorticoid receptor are involved in the pathogenesis process of PPNAD. Genetics and pedigree analysis has revealed the diversity of mutation sites and penetrance in PPNAD. Reviewing the latest developments in these areas is helpful to the precise diagnosis and treatment of PPNAD.

【Key words】 Primary pigmented nodular adrenocortical disease; Etiology; Genetics

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.015

近年有越来越多对原发性色素结节性肾上腺皮质病 (PPNAD) 及其致病相关的细胞、分子机制探索及遗传学、家系调查研究。现综述如下。

1 PPNAD 概述

PPNAD 为一种罕见的非促肾上腺皮质激素 (ACTH) 依赖性库欣综合征的病因, 其占库欣综合征的比例小于 1%, 女性多见, 可单独发病, 亦称为孤立型原发性色素结节性肾上腺皮质病 (iPPNAD)^[1]。其多数作为 Carney 综合征的部分表现而发病。Carney 综合征是一种罕见的遗传性疾病, 是以黏液瘤、皮肤色素沉着、内分泌功能亢进为特征的综合征, 基本特点为多发性内分泌肿瘤和皮肤、心脏累及^[2-3]。PPNAD 多数在儿童和青少年时期被诊断, 在 20 ~ 30 岁达到发病高峰^[4-6]。临床可表

现为全身皮肤菲薄、痤疮、多毛、紫纹、满月脸、多血质、颈部脂肪垫等典型库欣综合征症状群, 也可由女性继发闭经、儿童生长迟缓、高血压、骨质疏松等为首发症状就诊。实验室检查表现为高皮质醇血症, 皮质醇分泌昼夜节律消失, ACTH 明显降低, 24 h 尿游离皮质醇异常升高, 大、小剂量地塞米松试验不能被抑制, 或大剂量地塞米松抑制试验后尿皮质醇水平反常性升高^[5, 7-9]。常规 CT 或核磁检查多数无特异性发现, 导致临床诊断困难, 也有报道提示肾上腺增粗或小结节影。此外, NP-59 闪烁扫描 ([¹³¹I]-6 β -碘甲基-19-去甲胆固醇 SPECT/CT) 检查多显示双侧肾上腺摄取增加, 对诊断具有特异性, 但该检查尚未在临床推广^[10]。PPNAD 诊断多依赖于术后病理及病变组织免疫组化检查, 免疫组化特点为病变增生

结节内细胞 α -抑制素、突触素阳性,而突触素的这种显色特征提示 PPNAD 具有类似肾上腺皮质肿瘤的神内分泌性质^[11]。这可能与某些特定的基因突变有关。PPNAD及Carney综合征均可能是家族性或散发性的,作为库欣综合征中唯一一种遗传性疾病,约 50% PPNAD有家族发病倾向,呈常染色体显性遗传^[12]。

2 PPNAD 的致病机制研究

目前研究相对明确的是Carney综合征或 PPNAD 均与编码 cAMP 依赖的蛋白激酶 A(PKA)调节亚基 R1 α 的PRKAR1A基因失活突变相关。2001 年制定的 Carney综合征诊断标准中提出,携带PRKAR1A基因的失活突变已作为次要标准^[12]。PKA 是由 2 个调节亚基和 2 个催化亚基构成的四聚体,PRKAR1A基因定位在 17q 22-24,目前认为是一个抑癌基因,调节亚基的失活突变可引起 PKA 活性增强而致病。

失活突变的PRKAR1A基因型在 Carney 综合征患者中的突变检出率为 41%^[13],在 PPNAD 患者中的突变检出率高达 82%^[14]。另外,在很多的 PPNAD先证者及一级亲属中发现,还有位于 2q31 的编码磷酸二酯酶的 PDE11A^[15]和位于 5q13 的 PDE8B^[16]的基因突变。对于 PPNAD 致病的细胞机制方面有研究显示,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 C1 途径也参与了致病过程,其在肾上腺皮质细胞中被 PKA 信号转导激活,引发Bcl-2凋亡家族中 Bad 蛋白过度磷酸化,导致凋亡抵抗,细胞存活增加,这些改变可能是肿瘤形成的原因^[17],这可能为该病的治疗提供了新的靶点。Bram等^[18]提出,PPNAD组织中由于 PKA 的活化可刺激 5-羟色胺合成的同工酶——色氨酸羟化酶 2(Tph2)的异常转录增加,该酶正常情况下分布于中枢神经系统而非肾上腺组织,同时,PKA 活化也刺激 5-羟色胺受体 4、6、7 的表达,而异常的 5-羟色胺通路介导引起高皮质醇血症。由此,也提供了一种PPNAD未来的治疗方向。

文献报道,大多数 PPNAD 患者在临床上进行大剂量地塞米松抑制试验时,24 h 尿游离皮质醇水平存在反常性的升高,部分患者亦不升高。Chen等^[19]对该现象进行了对照研究,发现在大、小剂量地塞米松抑制试验后,PPNAD患者 24 h 尿皮质醇水平持续升高,而与之对照的双侧肾上腺大结节增生及肾上腺皮质腺瘤组则未见此种升高。Bourdeau等^[20]在体外研究了地塞米松对于 PPNAD 患者诱导皮质醇分泌的作用,而在其他的肾上腺腺瘤或者肾上腺皮

质大结节样增生症中未见到这种异常分泌的现象,提出在 PPNAD 组织中异常表达了皮质醇受体,外源性的糖皮质激素对其直接作用,而不经其他中间物质介导,并且受体的上调表达与PRKAR1A编码基因的突变无关。虽然对该受体上调的分子学及病因学机制目前研究尚不明确,但此现象可作为临床上鉴别影像学表现不典型的PPNAD患者的依据,或对其早期诊断具有较大意义。

PPNAD 表现出一些异于其他肾上腺疾病的组织学及神经内分泌特性,突触素作为一种神经内分泌的标记蛋白,在PPNAD组织和正常肾上腺组织中表现出染色差异,并且在镜下组织也显示出其神经内分泌特性的超微结构,如发育良好的粗面内质网、线粒体及囊泡样结构^[11]。这提示可对非 ACTH 依赖性库欣综合征的各种不同病因,如腺瘤及大结节样增生等进行更多免疫组化分析,进一步明确其更多神经内分泌特性。另外,与正常肾上腺组织相比,PPNAD组织中生长抑素受体过表达,目前应用奥曲肽对部分患者进行短期临床试验暂未发现对皮质醇分泌产生显著影响,但值得对长效生长抑素类似物进一步研究^[21]。

3 PPNAD 的遗传学特点

在 Carney 综合征或者 iPPNAD 患者中虽可见散发病例,但两者均为常染色体显性遗传病,然而,肾上腺皮质增生的PRKAR1A突变携带者并非一定发病,受性别和年龄的影响,其不同家系中表现出的外显率也不同。Navarro Moreno等^[22]总结了 4 个 iPPNAD的家系调查,其中包括 15 例携带PRKAR1A基因突变的患者(7 例女性和 8 例男性)及其 4 例一级亲属,携带突变的患者中 6 例女性和 1 例男性逐渐出现库欣综合征的表现并被诊断为PPNAD,且各个患者表现出的库欣综合征的症状不尽相同,其中 4 例患者发病较早(10~17 岁)。4 个家系中共鉴定了两种不同的PRKAR1A基因突变:c. 709-7_709-2del6(3 个家系)和 c. 1A>G/p. Met1Val(一个家系)。由此发病特点可以看出外显率是不稳定的,c. 709-7_709-2del6 突变位于编码PRKAR1A基因内含子 7 序列中,作为外显子 8 的剪接位点,此突变引发了外显子 8 的跳跃现象。这些突变也可导致不稳定的 mRNA 生成被无义介导的 mRNA 衰变降解(NMD),但由于剪接受体序列的存在,正常的 mRNA 也可在一些组织中少量表达,这可以解释部分 PPNAD患者可表现为轻度库欣综合征的症状。另

有文献阐述, PRKAR1A 基因的 c. 709 (-7-2) del6 或 M1V 突变与 iPPNAD 关联性较大^[6, 23-24]。M1V 是 PRKAR1A 基因的起始密码子。Pereira 等^[23]报道了两个无关联的携带 M1V 突变的家系, 其中患者的发病年龄及临床表现的严重性方面具有显著的变异性。目前, 已经发现超过 125 种 PRKAR1A 基因突变, 其中大多数出现在编码蛋白的外显子序列中^[25-26]。另外, PPNAD 所致的高皮质醇血症可能周期循环交替出现, 也可出现自发缓解事件^[22]。在女性和年轻的携带者中 PPNAD 更易发病。可能性别和青春期激素水平的变化参与了表型表达的微环境的调节, 提示应对带有此基因突变的家系中较为年轻的携带者加强皮质醇水平的检测并关注其生长发育情况。

另外, Bertherat 等^[27]描述了 353 例患者及 80 种不同的基因型, 指出在几个不同种族背景的不相关家族中独立发生两个更为常见的热点突变, 即内含子 7 中的 c. 709-7del6 和外显子 5 中的 c. 491-492delTG, 而 c. 491-492delTG 更倾向为 de novo 突变, 并与心脏黏液瘤、甲状腺肿瘤相关。

4 总结

有研究表明, 双侧肾上腺切除术联合术后长期激素替代治疗仍为 PPNAD 患者的标准治疗方案, 可减少术后因难以调控血、尿皮质醇水平而引起的相关并发症^[28-29]。对于部分术前症状较轻的患者, 行单侧肾上腺切除术或对侧肾上腺次全切除术, 症状也有可能得到长期缓解^[30]。可术前行肾上腺静脉取血或 NP-59 闪烁扫描鉴别肾上腺分泌优势侧, 术后持续监测皮质醇分泌情况, 避免肾上腺危象的发生, 在存在复发情况时及时行对侧肾上腺切除术。患者术后高皮质醇血症缓解, 且库欣综合征的临床表现逐渐消失意味着手术成功, 但患者如未行双侧肾上腺完全切除, 残存的肾上腺组织可能仍存在自主分泌功能, 尽管 24 h 尿游离皮质醇正常, 但皮质醇分泌失去昼夜节律, 这种异常的分泌模式与抑郁症、饮食失调等慢性并发症相关^[31]。

尽管 PPNAD 是非 ACTH 依赖的库欣综合征很罕见的原因, 但当一些患者表现出高皮质醇血症的典型库欣综合征临床表现, 并在大剂量地塞米松抑制试验中出现反常的尿皮质醇升高, 或者儿童或青少年表现出生长发育迟缓和体重明显增加这种非典型表现时, 尤其在影像学 CT/MRI 未能给出明显的证据时, 要注意与本病进行鉴别。目前关于致病机制的研究为疾病的认识及诊治提供了更多的方向,

遗传学及相关家系调查更说明了其致病上的异质性和多态性。这提示应对先证者及一级亲属进行基因检测, 掌握该家系中突变情况分布, 提供遗传咨询。

参 考 文 献

- [1] da Silva RM, Pinto E, Goldman SM, et al. Children with Cushing's syndrome: primary pigmented nodular adrenocortical disease should always be suspected [J]. *Pituitary*, 2011, 14 (1): 61-67. DOI: 10.1007/s11102-010-0260-5.
- [2] Carney JA, Gordon H, Carpenter PC, et al. The complex of myxomas, spotty pigmentation, and endocrine overactivity [J]. *Medicine (Baltimore)*, 1985, 64 (4): 270-283.
- [3] Carney JA. Carney complex: the complex of myxomas, spotty pigmentation, endocrine overactivity, and schwannomas [J]. *Semin Dermatol*, 1995, 14 (2): 90-98.
- [4] Talaei A, Aminoroaya A, Taheri D, et al. Carney complex presenting with a unilateral adrenocortical nodule: a case report [J]. *J Med Case Rep*, 2014, 8: 38. DOI: 10.1186/1752-1947-8-38.
- [5] Correa R, Salpea P, Stratakis CA. Carney complex: an update [J]. *Eur J Endocrinol*, 2015, 173 (4): M85-M97. DOI: 10.1530/EJE-15-0209.
- [6] Groussin L, Horvath A, Jullian E, et al. A PRKAR1A mutation associated with primary pigmented nodular adrenocortical disease in 12 kindreds [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91 (5): 1943-1949. DOI: 10.1210/jc.2005-2708.
- [7] Stratakis CA. Cushing syndrome in pediatrics [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2012, 41 (4): 793-803. DOI: 10.1016/j.ecl.2012.08.002.
- [8] Vezzosi D, Vignaux O, Dupin N, et al. Carney complex: clinical and genetic 2010 update [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2010, 71 (6): 486-493. DOI: 10.1016/j.ando.2010.08.002.
- [9] Louisset E, Stratakis CA, Perraudin V, et al. The paradoxical increase in cortisol secretion induced by dexamethasone in primary pigmented nodular adrenocortical disease involves a glucocorticoid receptor-mediated effect of dexamethasone on protein kinase A catalytic subunits [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94 (7): 2406-2413. DOI: 10.1210/jc.2009-0031.
- [10] Vezzosi D, Tenenbaum F, Cazabat L, et al. Hormonal, radiological, NP-59 scintigraphy, and pathological correlations in patients with Cushing's syndrome due to primary pigmented nodular adrenocortical disease (PPNAD) [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100 (11): 4332-4338. DOI: 10.1210/jc.2015-2174.
- [11] Stratakis CA, Carney JA, Kirschner LS, et al. Synaptophysin immunoreactivity in primary pigmented nodular adrenocortical disease: neuroendocrine properties of tumors associated with Carney complex [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84 (3): 1122-1128. DOI: 10.1210/jcem.84.3.5549.
- [12] Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86 (9): 4041-4046. DOI: 10.1210/jc.86.9.4041.

- [13] Kirschner LS, Sandrini F, Monbo J, et al. Genetic heterogeneity and spectrum of mutations of the PRKAR1A gene in patients with the carney complex [J]. Hum Mol Genet, 2000, 9 (20): 3037-3046.
- [14] Groussin L, Kirschner LS, Vincent-Dejean C, et al. Molecular analysis of the cyclic AMP-dependent protein kinase A (PKA) regulatory subunit 1A (PRKAR1A) gene in patients with Carney complex and primary pigmented nodular adrenocortical disease (PPNAD) reveals novel mutations and clues for pathophysiology: augmented PKA signaling is associated with adrenal tumorigenesis in PPNAD [J]. Am J Hum Genet, 2002, 71 (6): 1433-1442. DOI: 10.1086/344579.
- [15] Horvath A, Boikos S, Giatzakis C, et al. A genome-wide scan identifies mutations in the gene encoding phosphodiesterase 11A4 (PDE11A) in individuals with adrenocortical hyperplasia [J]. Nat Genet, 2006, 38 (7): 794-800. DOI: 10.1038/ng1809.
- [16] Horvath A, Giatzakis C, Tsang K, et al. A cAMP-specific phosphodiesterase (PDE8B) that is mutated in adrenal hyperplasia is expressed widely in human and mouse tissues: a novel PDE8B isoform in human adrenal cortex [J]. Eur J Hum Genet, 2008, 16 (10): 1245-1253. DOI: 10.1038/ejhg.2008.85.
- [17] de Jossineau C, Sahut-Barnola I, Tissier F, et al. mTOR pathway is activated by PKA in adrenocortical cells and participates *in vivo* to apoptosis resistance in primary pigmented nodular adrenocortical disease (PPNAD) [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23 (20): 5418-5428. DOI: 10.1093/hmg/ddu265.
- [18] Bram Z, Louiset E, Ragazzon B, et al. PKA regulatory subunit 1A inactivating mutation induces serotonin signaling in primary pigmented nodular adrenal disease [J]. JCI Insight, 2016, 1 (15): e87958. DOI: 10.1172/jci.insight.87958.
- [19] Chen S, Li R, Lu L, et al. Efficacy of dexamethasone suppression test during the diagnosis of primary pigmented nodular adrenocortical disease in Chinese adrenocorticotrophic hormone-independent Cushing's syndrome [J]. Endocrine, 2018, 59 (1): 183-190. DOI: 10.1007/s12020-017-1436-9.
- [20] Bourdeau I, Lacroix A, Schürch W, et al. Primary pigmented nodular adrenocortical disease: paradoxical responses of cortisol secretion to dexamethasone occur *in vitro* and are associated with increased expression of the glucocorticoid receptor [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88 (8): 3931-3937. DOI: 10.1210/jc.2002-022001.
- [21] Bram Z, Xekouki P, Louiset E, et al. Does somatostatin have a role in the regulation of cortisol secretion in primary pigmented nodular adrenocortical disease (ppnad) a clinical and *in vitro* investigation? [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99 (5): E891-E901. DOI: 10.1210/jc.2013-2657.
- [22] Navarro Moreno C, Delestienne A, Marbaix E, et al. Familial forms of Cushing's syndrome in primary pigmented nodular adrenocortical disease presenting with short stature and insidious symptoms: a clinical series [J]. Horm Res Paediatr, 2018, 89 (6): 423-433. DOI: 10.1159/000488761.
- [23] Pereira AM, Hes FJ, Horvath A, et al. Association of the M1V PRKAR1A mutation with primary pigmented nodular adrenocortical disease in two large families [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95 (1): 338-342. DOI: 10.1210/jc.2009-0993.
- [24] Horvath A, Bertherat J, Groussin L, et al. Mutations and polymorphisms in the gene encoding regulatory subunit type 1-alpha of protein kinase A (PRKAR1A): an update [J]. Hum Mutat, 2010, 31 (4): 369-379. DOI: 10.1002/humu.21178.
- [25] Papanastasiou L, Fountoulakis S, Voulgaris N, et al. Identification of a novel mutation of the PRKAR1A gene in a patient with Carney complex with significant osteoporosis and recurrent fractures [J]. Hormones (Athens), 2016, 15 (1): 129-135. DOI: 10.14310/horm.2002.1627.
- [26] Liu Q, Tong D, Liu G, et al. Carney complex with PRKAR1A gene mutation: a case report and literature review [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96 (50): e8999. DOI: 10.1097/MD.0000000000008999.
- [27] Bertherat J, Horvath A, Groussin L, et al. Mutations in regulatory subunit type 1A of cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent protein kinase (PRKAR1A): phenotype analysis in 353 patients and 80 different genotypes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94 (6): 2085-2091. DOI: 10.1210/jc.2008-2333.
- [28] Powell AC, Stratakis CA, Patronas NJ, et al. Operative management of Cushing's syndrome secondary to micronodular adrenal hyperplasia [J]. Surgery, 2008, 143 (6): 750-758. DOI: 10.1016/j.surg.2008.03.022.
- [29] Nieman LK, Biller BM, Findling JW, et al. Treatment of Cushing's syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100 (8): 2807-2831. DOI: 10.1210/jc.2015-1818.
- [30] 周宇政, 文进, 张学斌, 等. 原发性色素结节性肾上腺皮质病的外科治疗 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2017, 38 (4): 264-267. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6702.2017.04.007.
- [31] Sarlis NJ, Chrousos GP, Doppman JL, et al. Primary pigmented nodular adrenocortical disease: reevaluation of a patient with carney complex 27 years after unilateral adrenalectomy [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82 (4): 1274-1278. DOI: 10.1210/jcem.82.4.3857.

(收稿日期: 2018-10-13)

(本文编辑: 饶颖)