

· 综述 ·

巨催乳素血症及检测方法的研究进展

柯晓安 龚凤英 朱惠娟

中国医学科学院, 北京协和医学院, 北京协和医院内分泌科, 国家卫生健康委员会内分泌重点实验室, 协和转化医学中心, 疑难重症及罕见病国家重点实验室 100730

通信作者: 朱惠娟, Email: shengxin2004@163.com

【摘要】 血清催乳素分子主要有 3 种不同存在形式, 包括单体催乳素 (23 kD)、大催乳素 (40 ~ 60 kD) 和与免疫球蛋白 G (IgG) 结合的巨催乳素分子 (150 kD)。巨催乳素分子生物活性低但有免疫活性。巨催乳素血症是高催乳素血症 (HPRL) 的常见原因之一, 常被误诊为催乳素瘤而过度诊疗。血清巨催乳素检测方法包括凝胶过滤层析法、聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 沉淀法和超滤法, 除 PEG 沉淀法在英国常规用于临床检测巨催乳素血症, 国内外临床上未广泛开展。本文就高催乳素血症中巨催乳素血症及检测方法相关问题进行综述, 以加强临床医生对巨催乳素血症的认识和提高诊疗水平。

【关键词】 高催乳素血症; 巨催乳素血症; 聚乙二醇沉淀法; 超滤法

基金项目: 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费临床与转化医学研究基金项目 (2019XK320005)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200423-04062

Research progress of macroprolactinemia and detection methods Ke Xiaolan, Gong Fengying, Zhu Huijuan. State Key Laboratory of Complex Severe and Rare Diseases, the Translational Medicine Center, Key Laboratory of Endocrinology of National Health Commission, Department of Endocrinology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: Zhu Huijuan, Email: shengxin2004@163.com

【Abstract】 There are three main forms of prolactin in serum, including monomeric prolactin (23 kD), bigprolactin (40-60 kD) and macroprolactin (150 kD) combined with immunoglobulin G (IgG). Macroprolactin has immunological activity but low biological activity. Macroprolactinemia is one of the common causes of hyperprolactinemia, which is often misdiagnosed as prolactinoma and overtreated. Serum macroprolactin detection methods mainly include gel filtration chromatography (GFC), polyethylene glycol (PEG) precipitation and ultrafiltration. Except for PEG precipitation that is routinely used in clinical screening in the United Kingdom, macroprolactin detection has not been widely carried out in clinical practice at home and abroad. This review summarizes the issue of macroprolactinemia and its detection in patients with hyperprolactinemia to strengthen clinicians' understanding and achieve accurate diagnosis and treatment.

【Keywords】 Hyperprolactinemia; Macroprolactinemia; Polyethylene glycol precipitation; Ultrafiltration

Fund program: The Non-profit Central Research Institute Fund of the Chinese Academy of Medical Sciences (2019XK320005)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200423-04062

高催乳素血症 (hyperprolactinemia, HPRL) 是临床常见的内分泌系统疾病, 患者常因月经紊乱、不育或体检发现。正常人在应激状态下, 以及女性在孕、哺乳期可出现生理性催乳素水平的升高; 而垂体催乳素瘤、下丘脑和垂体柄病变等疾病可导致催乳

素水平显著升高; 精神科药物、雌激素等亦可导致催乳素轻度升高。但临床上也常见未找到任何病因的 HPRL, 其中部分患者是由血清巨催乳素水平升高导致的。巨催乳素血症是 HPRL 的第三大非生理性病因^[1], 仅次于药物性 HPRL 和垂体催乳素瘤。

巨催乳素分子在体内生物活性低,但存在免疫原性,患者常无显著临床表现,仅有 HPRL,正常人群中磁共振成像(MRI)检查发现无功能微腺瘤的发生率为 10%^[2],易被误诊为垂体催乳素瘤,从而进行药物甚至手术治疗,造成医疗资源浪费和过度诊疗。因此,充分认识 HPRL 中的巨催乳素血症并检测血清巨催乳素分子具有重要的临床意义。因此,本文就巨催乳素血症及检测方法的研究进展进行综述。

1 催乳素的生物学特点

催乳素分子主要由腺垂体催乳素细胞合成与分泌,参与乳汁分泌、性腺发育和生殖功能调节以及免疫调节等作用。血清催乳素分子具有高度不均一性的特点,主要有 3 种存在形式,包括单体催乳素(23 kD)、催乳素二聚体(40 ~ 60 kD)和与 IgG 结合的巨催乳素分子(150 kD)。催乳素分子的 3 种主要形式在血清中的占比不同,单体催乳素分子 60% ~ 90%、大催乳素分子 15% ~ 30%、巨催乳素分子 0 ~ 10%^[3]。不同存在形式的催乳素分子生物活性和免疫原性也不相同。在体内单体催乳素分子具有免疫活性和生物活性,而巨催乳素分子有免疫活性,生物活性很低,可能是其不能穿过血管壁到达特定组织发挥作用或由于与催乳素受体结合位点受阻导致的^[3,4]。

2 巨催乳素血症及其诊断的重要性

最新的一项荟萃分析纳入全球 67 项研究,大多数研究将巨催乳素血症定义为经分离检测后单体催乳素分子的回收率小于 40%。HPRL 中巨催乳素血症的发生率为 0 ~ 55.6%,平均发生率为 18.9%^[4]。巨催乳素血症患者临床表现通常不典型,可能有月经紊乱等相关症状^[5]。血清巨催乳素分子的存在常使催乳素测定结果假性升高,导致诊断错误,尤其是存在无功能性垂体微腺瘤的患者中易被误诊为垂体催乳素腺瘤。研究表明特发性 HPRL 中有 25% ~ 68.3% 为巨催乳素血症^[1]。而巨催乳素分子的低生物活性常常不带来临床后果,定期随诊观察即可。

多巴胺受体激动剂和手术是垂体催乳素腺瘤的主要治疗方法。Zygourakis 等^[6]研究表明,一名 40 岁被诊断为催乳素瘤的患者终生应用溴隐亭治疗的费用可达 41 601 美元(卡麦角林为 70 696 美元),手术费用可达 40 473 美元。长期的药物治疗还存在一

定的不良反应,如恶心、纳差、便秘、头痛、头晕、失眠,大剂量长时间治疗时应警惕心脏瓣膜疾病的发生^[7-8]。此外,冲动控制障碍是多巴胺受体激动剂的罕见不良反应,表现为行为难以控制,如购物、赌博等^[9]。手术治疗的主要并发症为术后垂体功能减退,还有术后脑脊液鼻漏等^[10]。此外,治疗随诊过程中影像学检查使用的造影剂钆能沉积在肾脏排泄功能正常的人体组织中^[11]。因此,准确诊断巨催乳素血症,避免过度诊疗具有重要的临床意义。

3 巨催乳素血症的检测

3.1 检测适用对象 目前血清巨催乳素检测的适用对象尚无一致规定。2006 年国际垂体协会推荐针对催乳素中度升高(25 ~ 150 $\mu\text{g/L}$; 500 ~ 3 000 mIU/L)和月经规律伴有非特异性症状,如头痛等的 HPRL 患者进行检测^[12]。2011 年美国内分泌协会推荐巨催乳素的检测主要针对无症状的 HPRL 患者^[13]。2015 年美国临床内分泌医师协会和内分泌协会提出下列临床线索可辅助判断检测的必要性:无症状 HPRL 患者;无泌乳或不伴月经紊乱,促性腺激素和(或)性激素水平正常;多巴胺受体激动剂治疗后临床或生化无反应或反应差;患者垂体影像阴性^[14]。而在英国检测血清巨催乳素是诊断 HPRL 的常规流程^[15]。

3.2 主要检测方法 临床大多采用直接化学发光法测定血清催乳素水平,该方法的原理是双抗体免疫夹心测定,无法区分催乳素单体和巨催乳素分子。目前,与直接化学发光法联合的血清巨催乳素检测方法主要有凝胶过滤层析(gel filtration chromatography, GFC)法、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)沉淀法、免疫沉淀法和超滤法^[3]。其中,GFC 法和 PEG 沉淀法是较成熟的检测方法,但分别存在操作复杂、耗时和影响因素多等缺点。近来,有研究采用质谱法结合新型纳米材料 Pr-MOF-NFs 探索测定血清催乳素的可行性^[16]。

3.2.1 GFC 法 GFC 法又称为大小排阻层析,其原理是不同大小的分子进入过滤柱后,因受到不同的阻滞作用,被洗脱出的时间不同,从而达到分离的效果^[17]。GFC 法是分离血清巨催乳素分子的金标准,其优点是能区分开不同形式的催乳素分子,通过计算洗脱曲线的曲线下面积得到不同催乳素分子占

比。该方法影响因素少且重复性高,但实验操作复杂,耗时且成本高,难以广泛临床应用^[15]。有学者提出改良的 GFC 法(采用短柱)和高效液相色谱法,每个样本从上样到完成馏分收集所需时间分别为 23 min 和 16 min。虽然样品检测的时长(GFC 法一般为 2 h)缩短,但仍需要结合免疫测定才能明确结果且分离效果较差,因此只推荐应用于 PEG 沉淀后不能判断是否是巨催乳素血症的情况^[18]。

3.2.2 PEG 沉淀法 PEG 沉淀法是目前应用最广泛的检测方法。PEG 聚合物是一种惰性分子,能吸收结合水,降低蛋白质的溶解度,使免疫球蛋白及其复合物沉淀。该方法方便、廉价,且检测结果与 GFC 法相关性良好,但 PEG 沉淀法影响因素较多^[15],包括 PEG 分子量、PEG 溶液浓度和保存时间等。PEG 分子量越大和 PEG 溶液浓度越高越有助于蛋白沉淀。因 PEG 聚合物不稳定,PEG 溶液保存时间越长,沉淀效果越差。

除了 PEG 溶液的理化性质外,Chen 等^[19]研究表明,随着溶液中蛋白浓度增加,单体催乳素回收率降低,而 5 倍稀释沉淀前的血清可以提高单体催乳素的回收率。杨青青等^[20]进一步证实了血清稀释后 PEG 沉淀法可以明显提高单体催乳素的回收率及真性 HPRL 的检出率。Smith 等^[21]提出用磁辅助聚乙二醇沉淀法(MAPP)检测血清巨催乳素。该方法与传统 PEG 沉淀法相比,对真性 HPRL 和巨催乳素血症患者的检测结果一致性较高(相关系数分别为 0.987 5 和 0.939 8)。该方法利用磁性纳米颗粒替代离心步骤,能减少人力操作,为 PEG 沉淀法自动化测定提供可能。此外,Jimenez-Anon 等^[22]对 790 例 HPRL 患者进行多次 PEG 沉淀分离巨催乳素后测定,仅有 30 例患者结果不一致,因此提出同一患者只有当催乳素水平升高时才需要重新进行 PEG 沉淀分离巨催乳素。

PEG 沉淀后一般认为单体催乳素分子回收率小于 40% 即为巨催乳素血症。但因 PEG 能干扰化学发光法测定结果且当真性 HPRL 与大量巨催乳素分子同时存在时,仅根据单体催乳素分子的回收率判断容易出错。因此,不同实验室还需要建立正常健康人群 PEG 沉淀后单体催乳素水平的正常值范围^[23]。

3.2.3 免疫沉淀法 免疫沉淀法是利用琼脂糖蛋白 A 或抗人-IgG-琼脂糖免疫吸附结合并分离巨催乳素后,测定上清液中单体催乳素浓度的方法。该方法是基于琼脂糖蛋白 A 或抗人-IgG-琼脂糖对人免疫球蛋白 G 的高亲和力^[24]。抗人-IgG-琼脂糖沉淀法的缺点是孵育时间较长且稀释倍数较高,可能使结果产生误差。2003 年 Sapin 等^[25]表明琼脂糖蛋白 A 也能达到免疫吸附分离巨催乳素的效果,且孵育时间得到改进,但琼脂糖蛋白 A 同样会干扰单体催乳素的测定结果且成本较 PEG 沉淀法高。此外,血清中与 IgA、IgE 相结合的巨催乳素分子无法被分离。

3.2.4 超滤法 超滤法是根据目的分子的大小,选择特定孔径的滤过膜,通过加样和离心截留或超滤目的分子从而达到分离的效果。目前临床和实验室研究较少。超滤法能通过物理方法达到良好分离的目的,影响因素较少,所需的设备简单,操作容易且廉价,具有临床推广的前景^[15]。现有的研究表明,超滤法和 PEG 沉淀法用于检测血清巨催乳素的诊断一致性较高(>95%),且二者单体催乳素回收率呈正相关^[26],尤其是功能性 HPRL 患者。该方法应用于巨催乳素检测的可行性及有效性还需进一步探究。

4 总结与展望

巨催乳素血症常导致 HPRL 的误诊误治,现有的检测方法主要有 GFC 法、PEG 沉淀法和超滤法,其中 PEG 沉淀法应用最广泛。但目前血清巨催乳素分子检测难以常规进行,一方面可能是临床医生对巨催乳素血症的认识不够;另一方面是检测实验操作繁琐且影响因素多。因此,需加强对巨催乳素血症的认识,进一步优化现有的检测方案并探究更高效且低成本的新检测方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Vilar L, Vilar CF, Lyra R, et al. Pitfalls in the diagnostic evaluation of hyperprolactinemia [J]. *Neuroendocrinology*, 2019, 109(1):7-19. DOI:10.1159/000499694.
- [2] Galland F, Vantyghem MC, Cazabat L, et al. Management of non-functioning pituitary incidentaloma [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2015, 76(3):191-200. DOI:10.1016/j.ando.2015.

04. 004.
- [3] Saleem M, Martin H, Coates P. Prolactin biology and laboratory measurement: an update on physiology and current analytical issues [J]. Clin Biochem Rev, 2018, 39(1): 3-16.
- [4] Che Soh NAA, Yaacob NM, Omar J, et al. Global prevalence of macroprolactinemia among patients with hyperprolactinemia: a systematic review and meta-analysis [J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(21): 8199. DOI: 10.3390/ijerph17218199.
- [5] Kalsi AK, Halder A, Jain M, et al. Prevalence and reproductive manifestations of macroprolactinemia [J]. Endocrine, 2019, 63(2): 332-340. DOI: 10.1007/s12020-018-1770-6.
- [6] Zygourakis CC, Imber BS, Chen R, et al. Cost-effectiveness analysis of surgical versus medical treatment of prolactinomas [J]. J Neurol Surg B Skull Base, 2017, 78(2): 125-131. DOI: 10.1055/s-0036-1592193.
- [7] Ananthakrishnan S. The dark side to dopamine agonist therapy in prolactinoma management [J]. Endocr Pract, 2017, 3(4): e384-e386. DOI: 10.4158/EP161709.CO.
- [8] Tran T, Brophy JM, Suissa S, et al. Risks of cardiac valve regurgitation and heart failure associated with ergot- and non-ergot-derived dopamine agonist use in patients with Parkinson's disease: a systematic review of observational studies [J]. CNS drugs, 2015, 29(12): 985-998. DOI: 10.1007/s40263-015-0293-4.
- [9] Dogansen SC, Cikrikcili U, Oruk G, et al. Dopamine agonist-induced impulse control disorders in patients with prolactinoma: a cross-sectional multicenter study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(7): 2527-2534. DOI: 10.1210/je.2018-02202.
- [10] Honegger J, Nasi-Kordhishti I, Aboutaha N, et al. Surgery for prolactinomas: a better choice? [J]. Pituitary, 2020, 23(1): 45-51. DOI: 10.1007/s11102-019-01016-z.
- [11] McDonald RJ, Levine D, Weinreb J, et al. Gadolinium retention: a research roadmap from the 2018 NIH/ACR/RSNA workshop on gadolinium chelates [J]. Radiology, 2018, 289(2): 517-534. DOI: 10.1148/radiol.2018181151.
- [12] asanueva FF, Molitch ME, Schlechte JA, et al. Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2006, 65(2): 265-273. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2006.02562.x.
- [13] Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society Clinical practice guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(2): 273-288. DOI: 10.1210/je.2010-1692.
- [14] Samson SL, Hamrahian AH, Ezzat S. American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology Disease State clinical review: clinical relevance of macroprolactin in the absence or presence of true hyperprolactinemia [J]. Endocr Pract, 2015, 21(12): 1427-1435. DOI: 10.4158/EP15938.DSC.
- [15] Fahie-Wilson M, Smith TP. Determination of prolactin: the macroprolactin problem [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2013, 27(5): 725-742. DOI: 10.1016/j.beem.2013.07.002.
- [16] Sheta SM, El-Sheikh SM, Abd-Elzaher MM. A novel optical approach for determination of prolactin based on Pr-MOF nanofibers [J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(7): 1339-1349. DOI: 10.1007/s00216-018-01564-6.
- [17] Duong-Ly KC, Gabelli SB. Gel filtration chromatography (size exclusion chromatography) of proteins [J]. Methods Enzymol, 2014, 541: 105-114. DOI: 10.1016/B978-0-12-420119-4.00009-4.
- [18] Bell DA, Hoad K, Leong L, et al. A high pressure liquid chromatography method for separation of prolactin forms [J]. Ann Clin Biochem, 2012, 49(Pt 3): 285-288. DOI: 10.1258/acb.2011.011209.
- [19] Chen Y, Wang H, Yang W, et al. A new method of using polyethylene glycol (PEG) precipitation of macroprolactin to detect genuine hyperprolactinemia [J]. J Clin Lab Anal, 2016, 30(6): 1169-1174. DOI: 10.1002/jcla.21999.
- [20] 杨青青, 张晓梅, 李辉, 等. 高泌乳素血症中巨泌乳素筛查方法的研究 [J]. 蚌埠医学院学报, 2019, 44(1): 36-38. DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.01.009.
- [21] Smith T, Stern E, Tan E, et al. Macroprolactinemia detection by magnetically assisted polyethylene glycol precipitation: potential for automation [J]. J Appl Lab Med, 2020, 5(3): 494-505. DOI: 10.1093/jalm/jfaa015.
- [22] Jimenez-Anon L, Barallat J, Regidor D, et al. Assessment of intra-individual agreement in prolactin results after post-polyethylene glycol precipitation test for the estimation of macroprolactin. Should the precipitation procedure be repeated in the same patient? [J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 59(1): e27-e29. DOI: 10.1515/ccbm-2020-0858.
- [23] Smith TP, Fahie-Wilson MN. Reporting of post-PEG prolactin concentrations: time to change [J]. Clin Chem, 2010, 56(3): 484-485. DOI: 10.1373/clinchem.2009.135210.
- [24] Kasum M, Oreskovic S, Zec I, et al. Macroprolactinemia: new insights in hyperprolactinemia [J]. Biochem Med (Zagreb), 2012, 22(2): 171-179. DOI: 10.11613/bm.2012.020.
- [25] Sapin R, Kertesz G. Macroprolactin detection by precipitation with protein A-sepharose: a rapid screening method compared with polyethylene glycol precipitation [J]. Clin Chem, 2003, 49(3): 502-505. DOI: 10.1373/49.3.502.
- [26] Beda-Maluga K, Pisarek H, Romanowska I, et al. Ultrafiltration: an alternative method to polyethylene glycol precipitation for macroprolactin detection [J]. Arch Med Sci, 2015, 11(5): 1001-1007. DOI: 10.5114/aoms.2015.54854.

(收稿日期: 2020-04-23)

(本文编辑: 刘欣)