·综 述·

雌激素受体影响泌乳素瘤发生的作用途径

Pathways of estrogen receptors participate in prolactinomas genesis

朱孔江,杨 辉 (第三军医大学新桥医院神经外科,重庆 400037)

[关键词] 雌激素受体;垂体腺瘤;泌乳素瘤
[中图分类号] R651.1;R584 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2014)01-0084-03

腺垂体通过分泌激素和细胞可逆性改变来对内外环境中的信息做出反应,但可逆的细胞功能性改变可能发展为增生、分化,甚至是腺瘤。垂体腺瘤约占颅内新生物的 10%~25%,14% 的尸检中可发现垂体腺瘤,影像学检查显示每 6 人中便有 1 人出现垂体偶发肿瘤。在确诊为垂体腺瘤的患者中,约 50% 为泌乳素(prolactin,PRL)瘤[1]。PRL 瘤的发生与多种因素有关,如表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)、c-Myc 原癌基因、垂体特异性转录因子 1(pituitary specific transcriptional factor-1,Pit-1)、促分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、中枢多巴胺 D2 样受体(D2R)、垂体瘤转化基因(Pituitary tumor transforming gene,PTTG)等。近年来关于雌激素受体(estrogen receptors,ERs)参与 PRL 瘤发生发展的研究较多,本文综述了 ERs 如何通过上述多种途径直接或间接参与 PRL 瘤的发生发展,以阐明其作用机制。

1 雌激素参与影响 PRL 瘤发生发展的相关证据

很多研究表明雌激素(estrogen,E_2)参与垂体瘤的发生发展过程。在妊娠期高 E_2 水平刺激下,孕妇垂体增大 15%~30%,其中 PRL 细胞增加 17%~50%。男性变性者因长期服用 E_2,患垂体腺瘤的几率增高。长期应用 E_2 诱发垂体腺瘤动物模型,其在内分泌和免疫组化上和人 PRL 瘤相似,即血清 PRL 浓度明显升高,具有 E_2 依赖性,垂体由增生性改变发展为肿瘤性改变,停用 E_2 后肿瘤逐渐缩小,但当肿瘤发展到一定阶段后也可不依赖 E_2 而继续生长。

2 ERs 介导 E_2 发挥作用

E_2 通过细胞内 ERs 介导的多种机制发挥作用,影响细胞的生长、发育、分化、稳定。ERs 属核受体超家族成员,有两种亚型(ERα、ERβ),在人类分别由染色体 6q25.1 和 14q23-24.1 基因编码。细胞膜上也有 ERs 表达,可能与核受体来自同一基因。ERs 由 6 个结构域构成:A/B 段参与分子间和分子内的相互作用,激活基因转录;C 段为 DNA 结合域,使 ERs 二聚体与 DNA 上特定雌激素受体反应元件(estrogen response elements,EREs)结合;D 段为铰链区,使受体二聚化并与侣伴蛋白 Hsp 结合;C 末端 E/F 段为配体结合域。ERs 的作用包括四个方面:经典途径、EREs 非依赖的基因组作用、配体非依赖的基因组作用、非基因组作用。经典途径即胞核中的 E_2-ERs 直接激活启动子的 EREs,调节转录;EREs 非依赖作用即核 E_2-ERs 通过蛋白质间的相互作用影响转录因子复合物,间接调节转录;配体非依赖作用即通过蛋白激酶级联反应磷酸化激活核 ERs,调节转录,而不需 E_2 参与;非基因组作用即膜 E_2-ERs 启动蛋白激酶级联反应,影响胞浆蛋白功能[2]。

3 ERs 影响 PRL 瘤发生发展的途径

3.1 ERs 直接影响 PRL 分泌和肿瘤发生的相关研究

有学者猜测受体的改变或受体与膜基质相关蛋白关系的改变可能是垂体瘤发生的早期事件[1]。ERs 作为致癌基因 v-erbA的细胞同系物与很多脑肿瘤有关,除结缔组织和内皮外,正常腺垂体细胞亚型中均发现有 ERs 表达,尤其在 PRL 细胞中 ERs 相对高表达。对垂体腺瘤标本进行免疫组化研究,结果显示 60% ERs 阳性的肿瘤为 PRL 瘤[3]。ERs mRNA 普遍高表达于 PRL 免疫阳性细胞。RT-PCR 检测 PRL 瘤中有 ER mRNA 表达,而在非 PRL 腺瘤中则未检测到,这表明 PRL 瘤中 ERs 表达发生了变化,提示其可能参与了 PRL 瘤的发生。

在 PRL 基因远端增强子区内 -1587~-1563 之间存在 EREs 序列,这是 ERs 直接调控 PRL 转录的基因结构基础。研究表明 E_2 能够诱发垂体瘤的关键在于 ERs 表达的改变,例如 E_2 在体外可诱导垂体腺瘤细胞增殖,且与激素浓度无关,联合应用选择性雌激素受体调节剂他莫昔芬可抑制该效应,表明瘤细胞的增殖仅与 ERs 表达有关。敲除 ERβ 基因对小鼠垂体前叶 PRL 表达没有影响,然而敲除 ERα 基因则引起 PRL 表达降低[4],提示 ERα 与 PRL 瘤的关系更为密切。

3.2 ERα 与 EGF 协同促进 PRL 瘤增殖分化

EGF 可以调节多种细胞的功能,参与促进 PRL 细胞分泌、增殖和分化等。有报道 EGF 受体参与促进大鼠垂体瘤 GH3 细胞增殖和诱导 PRL 基因转录,这一作用可被 ERs 完全阻断剂 ICI182780 和 ERα 阻断剂 MPP 所阻断,而不能被 ERβ 阻断剂 PHTPP 阻断[5],其机制可能为 EGF 通过信号转导磷酸化激活 ERα,进而诱发了细胞增殖与 PRL 基因表达。

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201401036
[基金项目] 国家自然科学基金(81071043)
[收稿日期] 2013-08-16 [修回日期] 2013-08-25

3.3 ERs 与 TGFβ-Smad 通路协同促进 c-Myc 表达

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein 4, BMP-4)属转化生长因子(transforming growth factor beta, TGF-β)家族,在 PRL 瘤模型中过表达。TGF-β 信号经细胞表面受体通过转录调控子 Smads 蛋白传导至胞核,从而激活或抑制靶基因的转录,其中 BMP4-Smad4 通路参与促进 PRL 细胞内原癌基因 c-Myc激活,c-Myc 可与染色体 DNA 结合后调节 PRL 细胞生长、分化及恶性转化[1]。免疫共沉淀证明 BMP-4 通过 Smad4 与 ERs 的交叉信号通路发挥协同放大作用,促进 c-Myc 表达和 PRL 细胞增生,这种放大作用可分别被 ERs 完全阻断剂 ICI182780 所阻断。BMP4-Smad4-ERs 的协同放大作用不依赖于 EREs,而与转录起始位点上游 -2000 ~ -5000bp 区域有关。

3.4 ERs 与 Pit-1 协同调节 PRL 基因转录

Pit-1 在 PRL 等垂体细胞都有表达并参与影响细胞功能。E_2 可以逆转卵巢切除引起的 Pit-1β mRNA 表达水平低下,Pit-1 mRNA 和 ERs mRNA 共同定位于 PRL 免疫阳性部位,在腺瘤细胞中 Pit-1 mRNA 与 ERs 蛋白也共定位,以 E_2 刺激大鼠垂体瘤 GH3 和 PR1 细胞后,ERs 迅速与 Pit-1 发生共沉淀,这些研究提示 ERs 与 Pit-1 之间存在相互作用。表达 Pit-1 的垂体细胞家族在过度表达 ERα 时可以分化为包括 PRL 细胞在内的多种成熟细胞,提示 Pit-1 与 ERα 协同参与调节垂体细胞分化。在 PRL 基因上有 4 个 Pit-1 位点及 1 个 EREs,核内 ERs 须与 Pit-1 结合后才能激活 PRL 远端增强子,当 Pit-1220 苏氨酸磷酸化可以抑制由雌激素诱导的 PRL 基因激活,提示 Pit-1 与 ERs 协同作用调节 PRL 基因转录。

3.5 ERα 通过配体非依作用调节 PRL 瘤分泌与增殖

ERα 可以通过细胞内的多种信号途径被激活,称为 ERα 的配体非依赖性作用。例如,胞内 MAPK 信号通路磷酸化激活 ERs 的激活功能域,介导非类固醇类活化剂对基因的活化作用;环磷酸腺苷(cAMP)通过激酶 A(PKA)以配体非依赖形式激活 ERs。未结合配体的 ERα 可与 DNA 反应元件结合,参与激活 PRL 基因远端增强子[6]。ERα 也可调节 PRL 启动子活性,例如在无 E_2 作为配体的环境,ICI182780 可降低 PRL 启动子的基础活性[7]。ERα 还可以调节某些生长因子的表达,例如 ICI182780 刺激大鼠垂体瘤 MMQ 细胞系,能够抑制其 PRL 分泌,同时也调节转化生长因子 TGFβ-3、TGFβ-RII 的表达,后二者与泌乳素瘤的发生密切相关[8]。

3.6 ERs 与 MAPK 信号途径交互作用

Ras/MEK/ERK 信号通路接受胞膜的丝裂原和生长因子信号,通过级联反应激活 MAPK,反式激活转录因子,改变基因表达,促进生长和增殖。各类垂体瘤中均发现 MEK1/2 及其下游的 ERK1/2 过度磷酸化。E_2 诱导的 PRL 表达需要 MAPK 信号通路参与,例如在 PR1 和 GH3 细胞中,E_2 可以诱导 PRL 表达上调,激活细胞外信号调节激酶 ERK1 和 ERK2,ICI182780 不仅阻断 PRL 上调,而且阻断 ERK1 和 ERK2 的激活,说明 ERs 介导了 ERK 激酶的激活。经 MEK 抑制剂 PD98059 和 UO126 预处理可以阻断 E_2 诱导的 PRL 表达,这进一步证明了 E_2 通过 ERs 激活 MAPK 信号通路,促进 PRL 基因转录。

3.7 ERα 拮抗多巴胺对垂体分泌及增殖的抑制作用

中枢多巴胺能系统通过激活泌乳素细胞上 D2R 抑制 PRL 释放和减少 PRL 细胞增殖,缺乏 D2R 的小鼠 PRL 细胞迅速增殖并形成肿瘤。在 PRL 水平较低的动情间期,弓状核大于 80% 的多巴胺能神经元 ERα 呈阳性表达,而在动情前期 ERα 表达显著下降,提示 ERα 参与调节下丘脑多巴胺(dopamine, DA)的释放[9]。在体外 E_2 可减少腺垂体细胞 D2R 表达,在外源性生长激素转基因小鼠的垂体中 ERα 与 D2R 基因表达呈负相关,核 ERs 介导 E_2 调节 D2R 两种亚型 D2L 和 D2S 的比率,即 D2S 与 ERα 表达负相关,而 D2L 与 ERα 表达正相关[10]。

3.8 ERs 调节 PTTG 表达

PTTG 在活体内可调节碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)分泌,抑制染色单体的分离,从而调节垂体血管生成和肿瘤形成。其同源基因 PTTG1 在垂体瘤中高表达,与 PRL 细胞的早期增生反应、血管生成、泌乳素瘤发展相一致。E_2 可诱导 PTTG 表达上调,在体与离体实验均表明拮抗 E_2 可抑制垂体瘤 PTTG 表达,PRL 瘤中 ERβ 的表达与 PTTG 成正比[11],以上结果提示 ERα 参与调节垂体细胞 D2R 数量和亚型比率,削弱了 DA 对 PRL 细胞分泌、增殖功能的抑制作用。

[参考文献]

[1] Dworakowska D, Grossman AB. The pathophysiology of pituitary adenomas[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2009, 23(5): 525 - 541.

[2] Bjornstrom L, Sjoberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes[J]. Mol Endocrinol, 2005, 19(4): 833 - 842.

[3] Burdman JA, Pauni M, Heredia Sereno GM, et al. Estrogen receptors in human pituitary tumors[J]. Horm Metab Res, 2008, 40(8): 524 - 527.

[4] Couse JF, Yates MM, Walker VR, et al. Characterization of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in estrogen receptor (ER) Null mice reveals hypergonadism and endocrine sex reversal in females lacking ERα but not ERβ[J]. Mol Endocrinol, 2003, 17(6): 1039 - 1053.

[5] Ben Jonathan N, Chen S, Dunckley JA, et al. Estrogen receptor-α mediates the epidermal growth factor-stimulated prolactin expression and release in lactotrophs[J]. Endocrinology, 2009, 150(2): 795 - 802.

[6] Carroll JS, Liu XS, Brodsky AS, et al. Chromosome-wide mapping of estrogen receptor binding reveals long-range regulation requiring the forkhead protein FoxA1[J]. Cell, 2005, 122(1): 33 - 43.

[7] Adamson AD, Friedrichsen S, Semprini S, et al. Human prolactin gene promoter regulation by estrogen: convergence with tumor necrosis factor-α signaling[J]. Endocrinology, 2008, 149(2): 687 - 694.

[8] Lv H, Li C, Gui S, et al. Effects of estrogen receptor antagonist on biological behavior and expression of growth factors in the prolactinoma MMQ cell line[J]. J Neurooncol, 2011, 102(2): 237 - 245.

[9] Hou Y, Yang SP, Voogt JL. Changes in estrogen receptor-α expression in hypothalamic dopaminergic neurons during proestrous prolactin surge [J]. Endocrine, 2003, 20(1 - 2): 131 - 138.

[10] Wu ZB, Li CZ, Zong XY, et al. Correlation of alternative splicing of the D2 dopamine receptor mRNA and estrogen receptor mRNA in the prolactinomas and gonadotrope tumors[J]. J Neurooncol, 2009, 94(1):

135 – 139.
[11] Passos VQ, Fortes MA, Giannella Neto D, et al. Genes differentially expressed in prolactinomas responsive and resistant to dopamine agonists[J]. Neuroendocrinology, 2009, 89(2): 163 – 170.
[12] Watkins RJ, Read ML, Smith VE, et al. Pituitary tumor transforming gene binding factor: a new gene in breast cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(9): 3739 – 3749.

(编辑:雷 艳)

肝内胆管虚拟手术可视化模型构建与仿真研究进展

Research progress of visualization model establishment for intrahepatic duct virtual surgery

袁 野[1],李 恺[2] (第三军医大学:1. 学员旅二队;2. 基础部人体解剖学教研室,重庆 400038)

[关键词] 虚拟手术;肝内胆管系统;构建模型
[中图分类号] R814.42;R657.4 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2014)01-0086-03

肝脏是人体内最大的实质性器官,对其进行复杂手术操作的风险具有不可预见性,因为肝内胆管系统纷繁交错,胆管管径细小,分支分布不规则且变异多,临床缺乏肝内胆管手术切除的"金标准"可供参照,且不同的患者存在个体差异。但是如果准确掌握肝内胆管立体构象并能够精确设计手术路径以避免术中胆管破裂和肝内出血,那么就能极大地提高手术成功率。在数字图像处理技术、虚拟仿真应用迅速发展的背景下,可视化人体数据集的建立使得在计算机上构建肝内管道系统三维数字模型、实现肝内胆管虚拟手术仿真成为可能。目前,如果采用中国数字化可视人体数据集和临床 CT、MRI 等影像资料对肝内胆管系统进行三维可视化处理,利用三维可视化图像研究肝内胆管的立体结构特征并有针对性地设计肝脏手术切除路径,利用计算机构建肝脏虚拟手术仿真平台的研究,那么这些研究结果对于建立肝脏外科虚拟手术模拟系统、实现肝内管道系统三维数字化模型,具有非常重要的基础理论意义和临床应用价值。

1 肝内胆管虚拟手术可视化模型的意义

由于肝内胆管分支分布复杂,患者存在个体差异且缺乏临床肝内胆管手术切除的"金标准"可供参照,因此,有效地展示肝内胆管病变部位的立体解剖构象与其毗邻的结构对于肝内胆管的手术实施具有重要的临床意义。目前,肝内胆管的手术方式主要有:活体肝移植术(1iving donor liver transplantation, LDLT)和肝脏部分切除术。活体肝移植在数量上虽已达到一定的规模,但在操作过程中仍具有较大的手术风险[1-2]。肝脏部分切除术在解除胆管狭窄的同时清除了病灶,其对肝内胆管肿瘤及肝内胆管结石的治疗有相当的效果,但复杂的肝内管道系统增加了手术操作的难度。周泉波等[3]在 2012 年报道了 80 例肝内胆管细胞癌患者在经过手术治疗后普遍存活率低下。此外,由于存在肝内胆管的个体差异且缺乏手术切除的"金标准",这对于复杂的肝内胆管手术的操作具有不可预见性,因此在术前给临床医师提供能进行手术方案制定和模拟的肝内胆管三维解剖可视化模型是迫切需要的。

利用数字医学的虚拟现实技术技术能有效显示肝内管道与病灶及其毗邻关系的三维解剖结构关系,解决肝内胆管系统解剖结构复杂且密集的问题,能针对肝胆外科手术切除治疗中的难点,利用其立体构象特征设计手术路径,因此其具有重要的临床指导意义[4-5]。以影像学数据为基础的三维重建可视化技术发展十分迅速,尽管其弥补了二维图像的空间感的不足,对计算机辅助肝内胆管手术起到了一定的指导作用,但还未涉及肝内胆管系统三维数据的测量。在利用虚拟手术器械进行术前模拟和手术仿真还未见报道[6-7]。因此,针对活体肝脏移植需求及肝内胆管手术特点构建肝内胆管虚拟手术模型和仿真系统,在准确显示肝内胆管立体构象三维数据的同时,根据病灶实际情况与其毗邻结构设计合理的个体化肝脏虚拟手术方案,其具有准确的手术定位优势和广泛的临床应用价值,而准确把握肝内管道的立体解剖结构与病灶及其毗邻关系,正确选择手术路径为肝内胆管手术的顺利实施提供了有力的保证,通过虚拟现实的方式构建一个实时的三维操作环境,构建肝内胆管虚拟手术模型,通过模拟肝内胆管手术过程并不断地完善方案以实现手术操作的安全、有效。本研究拟采用数字化可视人体技术手段,结合虚拟现实技术来建立肝内胆管虚拟手术可视化模型,准确描述肝内胆管立体构象和其毗邻结构,并获取三维结构参数来模拟肝内胆管的虚拟切除,为肝内胆管手术模拟治疗系统的研究和肝脏数字解剖学的深入提供技术手段,其具有重要的基础理论意义和临床应用价值。

2 国内外现状与进展

随着图形处理技术、计算机三维成像技术和虚拟现实(Virtual Reality, VR)等现代信息学技术的发展,数字化可视人体已

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201401037
[基金项目] 重庆市科委自然科学基金计划资助项目(CSTC, 2010BB5174)
[通讯作者] 李 恺,E-mail:304598443@qq.com
[收稿日期] 2013-08-26 [修回日期] 2013-09-25