

垂体腺瘤专题

【编者按】 垂体腺瘤为腺垂体发生的良性肿瘤。垂体腺瘤生长部位特殊,周围解剖结构复杂,部分垂体腺瘤呈侵袭性生长,肿瘤的微环境,对肿瘤的生长,侵袭有较大影响,并与肿瘤的预后不良有关;此外,垂体腺瘤中的一部分为生长激素腺瘤,临床表现主要为生长激素分泌过多所引起的肢端肥大症或巨人症,过多的生长激素会对机体多系统造成严重影响。控制垂体腺瘤的生长及生长激素腺瘤的过度分泌,对改善患者预后具有重要意义。本刊特邀刊登同济医院神经外科雷霆教授团队撰写的2篇高水平研究论文,对垂体腺瘤的生长及生长激素腺瘤的激素分泌机制进行研究。

垂体生长激素腺瘤激素分泌与细胞内质网应激的相关性及临床意义研究

王子涵,雷琢玮,江迁,王全基,李兴波,黄逸民,张卓,陈娟,雷霆

摘要 目的:探讨垂体生长激素腺瘤中内质网应激与生长激素(GH)分泌之间的相关性及其临床意义。方法:回顾性分析华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科2021年9月至2022年11月经鼻蝶入路手术切除垂体腺瘤治疗的垂体腺瘤患者20例的临床资料。收集肿瘤组织,制作切片采用免疫组化染色检测肿瘤组织内质网应激蛋白(GRP78、XBP-1s、p-eIF-2 α)表达水平,并与患者术前GH水平进行相关性分析;提取患者肿瘤组织进行原代培养,使用内质网应激刺激剂衣霉素(Tm)、毒胡萝卜素(Tg),内质网应激抑制剂4-苯基丁酸(4-PBA)进行干预,检测生长激素腺瘤细胞GH分泌的改变及垂体特异性转录因子Pit-1转录及表达水平的变化。结果:①GRP-78、XBP-1s及p-eIF-2 α 的表达水平均与患者术前GH水平呈显著正相关(均 $P<0.0001$);②内质网应激刺激剂Tm、Tg促进生长激素腺瘤细胞分泌GH(均 $P<0.001$);③内质网应激抑制剂4-PBA可以明显降低Tm对生长激素腺瘤细胞GH分泌的促进作用($P<0.0001$);④内质网应激刺激剂Tm、Tg促进生长激素腺瘤细胞Pit-1基因在转录水平的表达(Tm组 $P<0.001$,Tg组 $P<0.0001$)及翻译水平的表达(Tm组 $P=0.0093$,Tg组 $P=0.0030$);使用siRNA干扰生长激素腺瘤细胞Pit-1表达后,GH分泌下降($P<0.0001$),且降低了Tm对GH分泌的促进作用;⑤内质网应激抑制剂4-PBA在转录($P<0.0001$)及翻译水平($P<0.0001$)均可以明显降低Tm对生长激素腺瘤细胞Pit-1基因表达的促进作用($P<0.0001$)。结论:垂体生长激素腺瘤GH分泌水平与内质网应激水平之间呈明显正相关;内质网应激促进生长激素腺瘤细胞分泌GH,抑制内质网应激可减少生长激素腺瘤细胞分泌GH;内质网应激促进生长激素腺瘤细胞Pit-1的表达,抑制内质网应激减少生长激素腺瘤细胞Pit-1的表达。

关键词 垂体瘤;内质网应激;生长激素;垂体特异性转录因子

中图分类号 R741;R741.02;R651.1 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20221064

本文引用格式:王子涵,雷琢玮,江迁,王全基,李兴波,黄逸民,张卓,陈娟,雷霆.垂体生长激素腺瘤激素分泌与细胞内质网应激的[J].神经损伤与功能重建,2023,18(4):187-192.

The Correlation between Growth Hormone Secretion and Endoplasmic Reticulum Stress in Pituitary Growth Hormone Adenoma and Its Clinical Signification WANG Zi-han, LEI Zhuo-wei, JIANG Qian, WANG Quan-ji, LI Xing-bo, HUANG Yi-min, ZHANG Zhuo, CHEN Juan, LEI Ting. Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract Objective: To investigate the correlation between endoplasmic reticulum (ER) stress and growth hormone (GH) secretion in pituitary GH adenomas and its mechanism. **Methods:** The clinical data of 20 patients with pituitary adenomas treated by transsphenoidal approach in the Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology from September 2021 to November 2022 were analyzed retrospectively. The tumor tissues were collected and sections were made for immunohistochemical staining. The correlation between the expression of ER stress protein and the preoperative GH level was analyzed. The tumor tissues of patients were extracted for primary culture and intervened with ER stress stimulants Tm, Tg and ER stress inhibitor 4-PBA to detect the changes of GH secretion and pituitary specific transcription factor (Pit-1) expression in GH adenoma cells. **Results:** (1) Expression levels of GRP-78, XBP-1s and p-eIF-2 α were all positively correlated with preoperative GH level (all $P<0.0001$). (2) ER stress

作者单位

华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科

武汉 430030

基金项目

国家自然科学基金(No. 82173136)

收稿日期

2022-12-04

通讯作者

雷霆

tlei@tjh.tjmu.edu.

cn

stimulants Tm and Tg promoted the secretion of GH in GH adenoma cells (both $P < 0.001$). (3) ER stress inhibitor 4-PBA could significantly reduce the promoting effect of Tm on GH secretion in GH adenoma cells ($P < 0.0001$). (4) ER stress stimulators Tm and Tg promoted the expression of PiT-1 gene at both the transcriptional level (Tm group $P < 0.001$, Tg group $P < 0.0001$) and the translational level (Tm group $P = 0.0093$, Tg group $P < 0.003$) in GH adenoma cells. (5) ER stress inhibitor 4-PBA could significantly reduce the promoting effect of Tm on PiT-1 gene expression in GH adenoma cells at both transcriptional level ($P < 0.0001$) and translation level ($P < 0.0001$). **Conclusion:** There was a significant positive correlation between ER stress and GH secretion in pituitary GH adenomas. ER stress could promote GH secretion in GH adenoma cells, and inhibition of ER stress could reduce GH secretion. ER stress could promote PiT-1 expression in GH adenoma cells, and inhibition of ER stress could reduce PiT-1 expression in GH adenoma cells.

Keywords pituitary adenoma; endoplasmic reticulum stress; growth hormone; pituitary specific transcription factor (PiT-1)

垂体腺瘤为腺垂体发生的良性肿瘤,其发病率约占所有颅内肿瘤15%。生长激素腺瘤约占垂体腺瘤的20%,临床表现主要为生长激素(growth hormone, GH)分泌过多所引起的肢端肥大症或巨人症^[1],过多的GH会对机体多系统造成严重影响,心血管和呼吸系统疾病是导致肢端肥大症患者死亡的重要原因。本课题组在已知的垂体生长激素腺瘤经典信号通路上深入探索,完善了垂体生长激素腺瘤内多信号传导网络及交叉通讯机制^[2]。经典的信号通路为G蛋白 α 亚单位(stimulatory G protein α subunit, G α)的基因上存在体细胞点突变(gsp 癌基因),该点突变导致腺苷酸环化酶持续激活,使得环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)在胞内蓄积,造成GH过度分泌(PKA途径);但只有约40%生长激素腺瘤患者的gsp 癌基因为阳性^[1,3],且国内早期的研究得到的结果为33.3%^[4],说明在生长激素腺瘤中,还存在着其他通路促进GH的合成。雷霆、Adams等^[5]早期的研究表明,生长激素腺瘤细胞,尤其是gsp(-)的生长激素腺瘤细胞中存在着较高的磷脂酰肌醇(phosphatidyl inositol, PI)转换率,及基础三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP₃)水平^[6],且激活PKC可显著提高GH分泌^[5],提示生长激素腺瘤细胞中,PKC通路对GH分泌的调控同样具有关键作用。有早期研究发先,人工合成的生长激素释放肽(growth hormone releasing peptide, GHRP-6)作用于GHRP-6受体,介导PI水解,生成甘油二酯和IP₃,作用于内质网上的IP₃受体(IP₃R),促进内质网Ca²⁺释放至胞浆,进而激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)及其下游效应器,产生刺激GH分泌的生物学效应(PKC途径)^[7]。IP₃作为PKC信号转导系统中的关键分子,可结合内质网上的IP₃R,引起内质网内Ca²⁺的释放,进而引起下游信号通路。而内质网内大量Ca²⁺的释放,引起内质网内外Ca²⁺浓度的失衡,可能是内质网应激的主要诱因之一^[8]。

内质网应激是细胞应对外界刺激,如缺氧、营养缺乏等产生的反应。其主要过程为异常蛋白质积累在功能达到极限的内质网内,引起未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)^[9],UPR可恢复未折叠/错误折叠的蛋白质的正确折叠,从而恢复内质网稳态,使细胞对刺激产生适应;而在无法解决内质网应激的情况下,UPR可消除不可逆转的损伤细胞^[10-13]。然而内质网应激在垂体腺瘤中的作用及其对GH分泌的影响目前还少有研究。

本研究旨在探究垂体生长激素腺瘤中内质网应激与激素分泌水平的相关性,并探索其内在机制,为抑制该类患者体内GH水平提供可能的干预措施,并为临床上对生长抑素类似物药物不敏感的现象提供可能的耐药机制及干预靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 临床资料 选取2021年9月至2022年11月华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科收治的垂体腺瘤患者20例,其中男9例,女11例;年龄28~67岁,平均年龄(45.65±10.23)岁;均通过单一术式(经鼻蝶入路手术切除垂体腺瘤)治疗。

本研究经我院医学伦理委员会审批通过,患者对本研究知情并签署同意书。

1.1.2 主要材料、试剂与仪器 兔IgG-免疫组化试剂盒购自博士德生物公司(货号SA1022);GH ELISA试剂盒购自Elabscience公司(货号E-EL-H0177c);GRP-78抗体购自Proteintech生物公司(货号11587-1-AP);XBP-1s购自Abclonal生物公司(货号A17007);p-eIF-2 α 购自Abclonal生物公司(货号AP0324);PiT-1购自Abclonal生物公司(货号AP17976);逆转录试剂Hifair[®] III 1st Strand cDNA Synthesis Kit购自Yeastar公司(货号11139ES10);荧光

定量 PCR 试剂 Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix (Low Rox Plus) 购自 Yeasen 公司 (货号 11202ES08)。

倒置荧光显微镜为 OLYMPUS CKX5; 恒温摇床为 ZHICHENG-ZWY103B; 低温离心机为 Sigma-SK15; RNA 浓度检测仪为 Nanodrop OneC-W; 荧光定量 PCR 仪为 ABI-Prism 7500 Real-Time PCR System; ECL 曝光仪为 Gene Gnome XQR。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 检测患者术前 GH 水平、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)-1 水平。收集患者 MRI 资料, 作为 Knosp 分级的依据; 收集手术记录, 统计肿瘤最大径范围。

1.2.2 组织标本与免疫组织化学染色 术中取得垂体腺瘤组织, 其石蜡切片经 4% 多聚甲醛固定, 包埋切片, 每个组织制备 3 张切片。将切片置于 60 °C 烤箱烘烤 2 h 脱蜡后, 梯度复水, 微波修复抗原, PBS 振洗 5 min × 3 次; 后 5% BSA 避光孵育 1 h, 然后添加相应一抗, 4 °C 过夜孵育; 然后用 3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化氢酶, PBST 振洗 5 min × 3 次, 后加羊抗兔二抗孵育 2 h, PBST 漂洗后滴加 SABC 于 37 °C 孵育 30 min, 后 1:50 稀释 DAB 显色液, 滴加于标本上, 15 s 后于自来水中洗去多余显色液, 随后苏木素染核 15 min, 盐酸酒精分化 2 s, 氨水返蓝 10 s, 梯度脱水透明处理后, 用中性树胶封片。免疫组化染色照片用 Image J 批量定量分析。

1.2.3 原代细胞培养 将手术中收集的新鲜垂体瘤组织样本被浸泡在装有生理盐水中的 50 mL 离心管中, 置于冰上运送至实验室。在直径 100 mm 的培养皿中, 用手术刀片将肿瘤标本切割成 < 1 mm³ 的小组织切片, PBS 漂洗, 转移至 15 mL 离心管中, 以 1200 r/min 的转速离心 4 min, 去掉上清液。然后在离心管中加入 4 mL 0.25% 胰酶, 然后将离心管放入培养箱摇床中, 温度为 37 °C, 转速为 80 rpm, 摇动 30 min, 去掉上清液。将含有 10% 胎牛血清、1% 青-链霉素的 DMEM 培养液 2 mL 加入试管中, 混合均匀后, 组织液用 40 μm 滤网过

滤, 得到细胞悬液。然后将细胞悬液转移到 6 孔板中。原代细胞在恒温 37 °C、95% 空气和 5% 二氧化碳的环境中培养 24 h, 用 PBS 漂洗细胞, 加入新鲜培养液。

1.2.4 GH 水平检测 使用内质网应激刺激剂衣霉素 (tunicamycin, Tm) (1.0 μg/mL)、毒胡萝卜素 (thapsigargin, Tg) (1.0 μmol/L) 以及内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸 (4-Phenylbutyric acid, 4-PBA) (10 μmol/L) 处理体外培养的生长激素腺瘤细胞 24 h, 吸取细胞上清, 转移至 1.5 mL 离心管中, 1000 g 离心 10 min, 得到不含细胞碎片的上清。然后根据人 GH ELISA 试剂盒操作说明, 进行细胞上清中 GH 浓度检测。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 用于检测体外培养的生长激素腺瘤细胞内垂体特异性转录因子 Pit-1 的转录水平。6 孔板中加入 TRIzol 1 mL 裂解细胞, 根据 TRIzol 试剂盒说明书进行 RNA 提取操作, 最后将 RNA 溶解于 20 μL DEPC 水中。按逆转录试剂盒说明书逆转录为 cDNA。Pit-1、GAPDH 引物序列见表 1, 以 GAPDH 为内参, 按照实时荧光定量 PCR 反应说明书配 20 μL 体系进行反应。应用 2^{-ΔΔCt} 法进行相对表达量计算。

1.2.6 免疫蛋白印迹 免疫印迹法用于检测体外培养的生长激素腺瘤细胞内垂体特异性转录因子 Pit-1 的蛋白表达水平, 根据细胞蛋白提取试剂盒说明书提取细胞总蛋白, 转膜后孵育 Pit-1 (1:1000) 和 GAPDH (1:3000) 一抗, 4 °C 过夜; 用抗体稀释液稀释对应的 HRP 标记的二抗 (1:5000), 在室温下摇床孵育 2 h。ECL 显色, 应用凝胶成像系统分析。

1.2.7 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 使用 siRNA 干扰生长激素腺瘤细胞 Pit-1 表达, 在 Sigma-Aldrich 网站设计 siRNA 序列, 见表 2, siRNA 合成由北京擎科生物公司完成。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 9.0 软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比

表 1 Pit-1、GAPDH 引物序列

基因	正向引物	反向引物
Pit-1	CCCGGAAATCCGAGAAGCTGG	CGGCAGATGGTTGTTTGACTG
GAPDH	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	GGTGAAGAATGGGAGTTGCT

表 2 Pit-1 的 siRNA 序列

序列	正向引物	反向引物
si-1	GCCAUCAACCUAUGGAGUGAUTT	AUCACUCCAUAAGGUUGAUGGCTT
si-2	CAAGUCUGAAUCAGAGUUUAUTT	AUAAACUCUGAUUCAGACUUGTT
si-3	CAAACAACAAUCUGCCGAUUUTT	AAAUCGGCAGAUUGUUGUUUGTT

较采用 *t* 检验或方差分析;相关性研究采用线性回归分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生长激素腺瘤细胞内质网应激与 GH 分泌水平的相关性

入组的 20 例垂体腺瘤患者均通过单一术式(经鼻蝶入路手术切除垂体腺瘤)治疗,肿瘤最大径范围 0.4 ~ 3.1 cm, Knosp 分级、术前 GH 和术前 IGF-1 水平见表 3。

应用内质网应激通路中的 3 个相关蛋白标志物 (GRP-78、XBP-1s、p-eIF-2 α) 对入组的 20 例垂体瘤标本进行免疫组化染色(图 1)及定量分析,结果显示:① GRP-78 表达水平与患者术前 GH 水平呈显著正相关 ($r=0.7477, P < 0.0001$) (图 2A);② XBP-1s 表达水平与患者术前 GH 水平呈显著正相关 ($r=0.6635, P < 0.001$) (图 2B);③ p-eIF-2 α 表达水平与患者术前 GH 水平呈显著正相关 ($r=0.7924, P < 0.001$) (图 2C)。

2.2 内质网应激刺激剂促进生长激素腺瘤细胞分泌 GH

分别给予内质网应激刺激剂 Tm、Tg 处理生长激素腺瘤细胞 24 h 后, ELISA 检测上清中 GH 水平结果显示: Tm 组和 Tg 组上清中的 GH 水平高于对照组(均 $P < 0.001$), 提示内质网应激可促使生长激素腺瘤细胞分泌 GH, 见图 3。

2.3 内质网应激抑制剂抑制生长激素腺瘤细胞分泌 GH

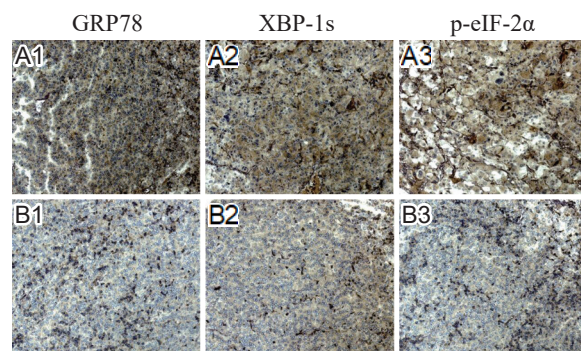
单独及联合使用内质网应激刺激剂 Tm、内质网应激抑制剂 4-PBA 处理生长激素腺瘤细胞 24 h 后, ELISA 检测上清中 GH 水平结果显示: Tm⁻4-PBA⁻组 GH 水平低于 Tm⁻4-PBA⁺组 ($P=0.0049$); Tm⁺4-PBA⁺组 GH 水平低于 Tm⁺4-PBA⁻组 ($P < 0.0001$), 提示 4-PBA 可以明显降低 Tm 对生长激素腺瘤细胞 GH 分泌的促进作用, 见图 4。

2.4 内质网应激刺激剂促进生长激素腺瘤细胞 PiT-1 基因表达, 进而促进 GH 分泌

PiT-1 是重要的组织特异性转录因子, 对 GH 分泌起重要调控作用^[14]。分别给予 Tm、Tg 处理生长激素腺瘤细胞 24 h 后, 荧光定量 PCR 及免疫蛋白印迹检测结果显示: Tm 组和 Tg 组 PiT-1 基因转录水平高于对照组(均 $P < 0.001$), Tm 组和 Tg 组 PiT-1 蛋白表达水平高于对照组 ($P=0.0093$ 或 $P=0.0030$), 提示 Tm、Tg 均可促进生长激素腺瘤细胞 PiT-1 基因的转录和蛋白表达, 见

表 3 入组的垂体生长激素腺瘤患者基本信息

序号	性别	年龄/岁	GH/(ng/mL)	IGF-1/(ng/mL)	最大径/cm	Knosp 分级/级
1	男	28	71.00	301.23	2.70	2
2	女	45	76.10	173.31	2.20	2
3	男	37	31.10	412.00	1.50	1
4	女	59	23.00	412.26	1.80	2
5	女	30	68.00	646.43	2.20	3
6	男	55	25.60	629.91	1.40	1
7	男	50	18.90	551.32	1.30	1
8	女	55	38.23	895.02	1.00	1
9	男	44	18.45	666.21	1.30	2
10	女	42	55.32	538.82	3.10	3
11	女	43	0.74	246.22	2.10	2
12	女	67	7.10	735.09	2.10	2
13	男	34	1.15	326.73	2.00	1
14	男	31	4.20	213.32	0.40	1
15	女	40	2.48	516.82	1.30	2
16	女	54	3.90	727.62	1.50	1
17	男	55	2.12	386.64	1.80	2
18	女	46	6.35	694.58	1.70	2
19	男	44	6.43	535.68	1.30	2
20	女	54	5.43	238.21	1.80	1



注: (A1-A3) 该患者术前 GH 68.00 ng/mL; (B1-B3) 该患者术前 GH 6.43 ng/mL

图 1 垂体生长激素腺瘤肿瘤切片免疫组化染色($\times 200$)

图 5、图 6。

为了进一步证实内质网应激通过促进 PiT-1 表达进而促进 GH 分泌, 使用 siRNA 干扰生长激素腺瘤细胞 PiT-1 的表达, 再给予 Tm 处理生长激素腺瘤细胞 24 h 后, ELISA 检测上清中 GH 水平结果显示: 干扰 PiT-1 表达后, 生长激素腺瘤细胞 GH 分泌水平明显减少, 且降低了 Tm 对 GH 分泌的促进作用, 见图 7。

2.5 内质网应激抑制剂 4-PBA 使 PiT-1 的转录及表达降低

单独及联合使用内质网应激刺激剂 Tm、内质网应激抑制剂 4-PBA 处理生长激素腺瘤细胞 24 h 后, 荧光

定量PCR及免疫蛋白印迹检测结果显示: $Tm^+ 4-PBA^+$ 组的 $PiT-1$ 基因转录水平和 $PiT-1$ 蛋白表达水平均显著低于 $Tm^+ 4-PBA^-$ 组(均 $P < 0.0001$), 提示 4-PBA 可明显降低 Tm 对生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 基因表达的促进作用, 见图 8、图 9。

3 讨论

垂体生长激素腺瘤是以生长激素过度分泌为特征的神经内分泌肿瘤, 累及全身多个系统, 患者早期表现为巨人症或肢端肥大症, 长期的激素异常导致难以控制的糖尿病和高血压, 并刺激肿瘤增殖、侵袭引发严重占位效应导致患者失明, 甚至昏迷、死亡^[15,16]。

PKA、PKC 信号通路, 以及二者之间的交叉通讯形成的复杂信号传导网络, 在垂体生长激素腺瘤的生长、侵袭以及激素分泌中起着重要作用。而 IP_3 作为生长激素腺瘤细胞中 PKC 信号通路中的关键物质, 其主要作用是与内质网上的 IP_3 受体结合, 促进内质网内的 Ca^{2+} 释放, 进而引起下游信号通路。而 Ca^{2+} 大量释放引起的内质网钙耗竭, 以及内质网内外 Ca^{2+} 浓度梯度的改变, 被认可能是内质网应激的重要诱因之一^[9]。

本研究表明, 生长激素腺瘤细胞的 GH 分泌水平与细胞内质网应激水平正相关, 并且内质网应激可能是通过促进生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 基因的表达而引起 GH 分泌增多。结合垂体生长激素腺瘤细胞内的

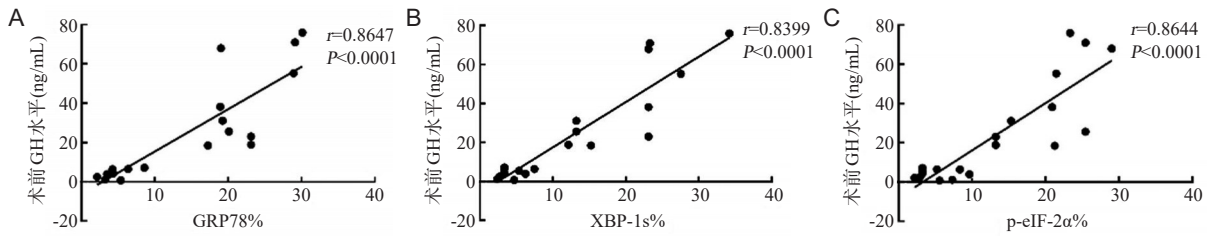


图 2 生长激素腺瘤细胞内质网应激与 GH 分泌水平的相关性

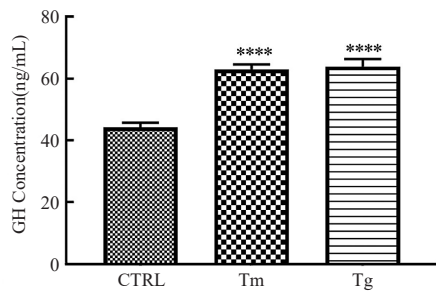


图 3 Tm 、 Tg 对生长激素腺瘤细胞分泌 GH 水平的影响

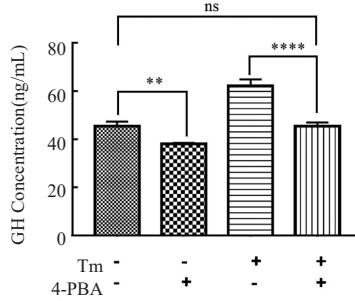


图 4 Tm 、4-PBA 单独及联合使用对生长激素腺瘤细胞分泌 GH 水平的影响

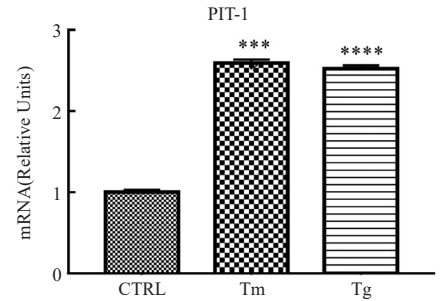


图 5 Tm 、 Tg 对生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 基因转录水平的影响

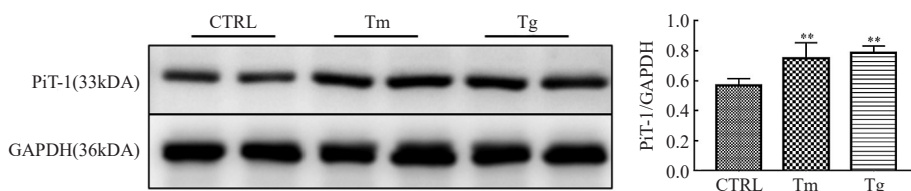


图 6 Tm 、 Tg 对生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 蛋白表达水平的影响

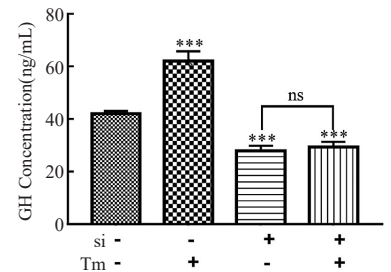


图 7 siRNA 干扰生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 表达后, Tm 对 GH 水平的影响

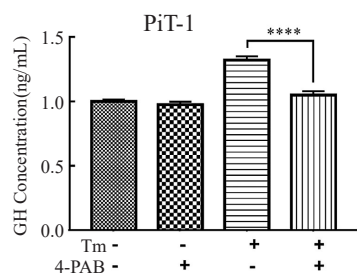


图 8 Tm 、4-PBA 单独及联合使用对生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 基因转录水平的影响

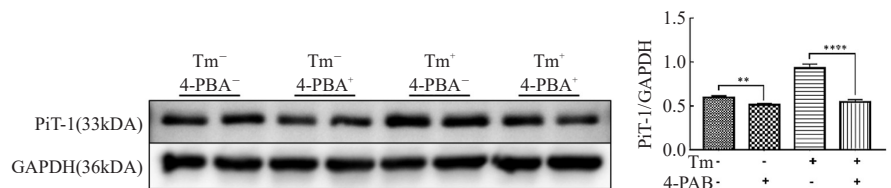


图 9 Tm 、4-PBA 单独及联合使用对生长激素腺瘤细胞 $PiT-1$ 蛋白表达水平的影响

信号传导通路,我们推测出其可能的机制为细胞内升高的IP₃导致内质网内Ca²⁺过度释放,引起内质网内外Ca²⁺稳态失调,从而导致内质网应激,内质网应激通过刺激PiT-1的表达从而促进GH分泌,这也许是细胞内GH分泌的一种促进机制^[8,17]。

尽管外科手术切除仍为目前垂体生长激素腺瘤的首选治疗方案,但40%~45%的垂体生长激素腺瘤呈侵袭性生长,无法全切,主流药物治疗生长抑素类似物(somatostatin analogue, SSA)价格昂贵,且仅能使约38%的患者GH降至正常,药物敏感性差^[18],尤其是对于gsp阴性的生长激素腺瘤患者来说,其对SSA药物产生抵抗的可能性较gsp阳性患者高^[19]。同时,还有研究发现,在芳香烃基受体相互作用蛋白(aryl hydrocarbon receptor interacting protein, AIP)基因突变的生长激素腺瘤患者中,SSA药物对GH的抑制作用更差^[20],说明对于高水平GH的抑制仍面临较大挑战。本研究发现,通过抑制垂体生长激素腺瘤细胞的内质网应激,可减少其GH的分泌,为临床上抑制生长激素腺瘤患者体内生长激素水平提供了新的可能的干预措施,具有一定的临床价值,值得进一步研究。

参考文献

[1] Lei T, Adams EF, Buchfelder M, et al. Relationship between protein kinase C and adenylyl cyclase activity in the regulation of growth hormone secretion by human pituitary somatotrophinomas[J]. *Neurosurgery*, 1996, 39: 569-575.

[2] 雷霆,叶飞,王俊文. 人垂体腺瘤细胞信号转导网络间交叉通讯机制与靶向药物治疗前景[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35: 799-801.

[3] Spada A, Mantovani G, Lania AG, et al. Pituitary Tumors: Genetic and Molecular Factors Underlying Pathogenesis and Clinical Behavior[J]. *Neuroendocrinology*, 2022, 112: 15-33.

[4] 白祥军,雷霆,刘擘,等. gsp瘤基因在国人肢端肥大症患者垂体肿瘤中的表达[J]. *中华实验外科杂志*, 2000, 17: 52-53.

[5] Adams EF, Lei T, Buchfelder M, et al. Biochemical characteristics of human pituitary somatotrophinomas with and without gsp mutations: in vitro cell culture studies[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80: 2077-2081.

[6] Jones TH, Kennedy RL, Justice SK, et al. Pituitary adenomas with high and low basal inositolphospholipid turn over: The stimulatory effect of kinins and an association with Interleukin-6 secretion[J]. *Clin Endocrinol*, 1993, 39: 433-439.

[7] Lei T, Buchfelder M, Fahlbusch R, et al. Growth hormone releasing peptide (GHRP-6) stimulates phosphatidylinositol(PI) turnover in human pituitary somatotroph cells[J]. *J Mol Endocrinol*, 1995, 14: 135-138.

[8] Krebs J, Agellon LB, Michalak M. Ca(2+) homeostasis and endoplasmic reticulum (ER) stress: An integrated view of calcium signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460: 114-121.

[9] Chen X, JR Cubillos-Ruiz. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21: 71-88.

[10] Wiseman RL, Mesgarzadeh JS, Hendershot LM. Reshaping endoplasmic reticulum quality control through the unfolded protein response[J]. *Mol Cell*, 2022, 82: 1477-1491.

[11] Chen X, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021,21: 71-88.

[12] Marciniak SJ, Chambers JE, Ron D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21: 115-140.

[13] Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 421-438.

[14] 范月超,雷霆,舒凯,等. 垂体特异转录因子 pit-1 在垂体瘤中的表达及意义的实验研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16: 858-861.

[15] Dineen R, Stewart PM, Sherlock M. Acromegaly[J]. *QJM*, 2017, 110: 411-420.

[16] Gadelha MR, Kasuki L, Lim DST, et al. Systemic Complications of Acromegaly and the Impact of the Current Treatment Landscape: An Update[J]. *Endocr Rev*, 2019, 40: 268-332.

[17] Groenendyk J, Agellon LB, Michalak M. Calcium signaling and endoplasmic reticulum stress[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2021, 363: 1-20.

[18] Melmed S, Bronstein MD, Chanson P, et al. A Consensus Statement on acromegaly therapeutic outcomes[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14: 552-561.

[19] 陈娟,谢蕊繁,陈曦,等. 垂体GH腺瘤GH分泌生化特征及与gsp瘤基因表达相关性[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2015, 14: 327-330.

[20] 雷琢玮,陈娟,谢蕊繁,等. 人垂体生长激素腺瘤临床生化特征与芳香烃基受体相互作用蛋白基因表达的相关性[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32: 614-617.

(本文编辑:唐颖馨)