

性早熟女童血浆 ghrelin 水平与腺垂体激素的关系

朱红, 陈黎勤, 蒋优君, 梁黎

(浙江大学医学院附属儿童医院内分泌科, 浙江杭州 310003)

[摘要] 目的:探讨性早熟女童血浆 ghrelin 与腺垂体激素的关系。方法:84例年龄在6~9岁的性早熟女童根据第二性征发育情况、骨龄、子宫、卵巢容积及 GnRH 激发试验的结果分为特发性中枢性早熟(ICPP)和单纯乳房早发育(PT)组,采用放射免疫法测定性早熟女童空腹血浆 ghrelin 水平,化学发光法测定 ACTH、TSH、PRL、GH、LH、FSH,并与对照组比较。结果:①ICPP 组血浆 ghrelin 为 $\text{Log}(2.42 \pm 0.26) \text{ng/L}$,明显低于 PT 组和对照组 [$\text{Log}(2.62 \pm 0.21) \text{ng/L}$, $\text{Log}(2.58 \pm 0.44) \text{ng/L}$, $P < 0.05$];而对照组与 PT 组两组之间比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。②Tanner III 期的 ICPP 女童 ghrelin 为 $\text{Log}(2.31 \pm 0.24) \text{ng/L}$ 明显低于 Tanner I 期的 ICPP 女童 [$\text{Log}(2.53 \pm 0.24) \text{ng/L}$, $P < 0.05$]。③经双变量相关分析,性早熟女童血浆 ghrelin 水平与 ACTH、PRL 及 GnRH 激发后的 LH_{15} 、 LH_{30} 、 LH_{60} 呈负相关 (r 分别为 -0.248 、 -0.235 、 -0.445 、 0.405 、 0.398 , 均 $P < 0.05$);而与 GH、GnRH 激发后的 FSH_{15} 及 LH_0^{-2} 、 FSH_0^{-2} 无相关。结论:ICPP 女童血浆 ghrelin 水平下降, Tanner III 期女童血浆 ghrelin 低于 Tanner I 期, GnRH 激发后与 LH 呈负相关。这可能与性启动有关。

[关键词] 垂体激素类;前叶;青春期,早熟;肽类激素/血液;促黄体激素/血液;雌二醇/血液;卵泡刺激素/血液;促肾上腺皮质激素/血液;促性腺素释放激素/类似物和衍生物

[中图分类号] R 725.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2008)05-0506-05

Relationship of plasma ghrelin and adenohipophyseal hormone levels in female precocious puberty

ZHU Hong, CHEN Li-qing, JIANG You-jun, LIANG Li (*The Affiliated Children's Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship of plasma ghrelin and adenohipophyseal hormone levels in female precocious puberty. **Methods:** A total of 84 patients aged from 6 to 9 years were enrolled in this study. They were divided into idiopathic central precocious puberty (ICPP) and premature thelarche (PT) groups according to their secondary sexual characteristics, bone age, volumes of uterus and ovary, and results of GnRH test. Plasma ghrelin levels were measured by radioimmunoassay. ACTH, TSH, PRL, GH, LH and FSH were measured by

收稿日期: 2007-09-17 修回日期: 2008-02-27

基金项目:浙江省科技厅科研基金资助项目(2004C33035);浙江省教育厅资助项目(20040213);浙江省卫生厅资助项目(2006A075)。

作者简介:朱红(1968-),女,硕士,副主任医师,从事儿童保健专业。

通讯作者:蒋优君(1964-),女,硕士,主任医师,从事儿童内分泌专业;E-mail:jiangyoujun888@163.com.

chemoluminescence technique. **Results:** Ghrelin levels in ICPP group were $\text{Log}(2.42 \pm 0.26) \text{ ng/L}$, which were significantly lower than those in PT group and controls [$\text{Log}(2.62 \pm 0.21) \text{ ng/L}$ and $\text{Log}(2.58 \pm 0.44) \text{ ng/L}$, respectively, $P < 0.05$]. However there was no significant difference between PT group and controls ($P > 0.05$). Ghrelin levels of ICPP girls with Tanner III were $\text{Log}(2.31 \pm 0.24) \text{ ng/L}$, significantly lower than those of ICPP girls with Tanner I [$\text{Log}(2.53 \pm 0.24) \text{ ng/L}$, $P < 0.05$]. By bivariate correlation analysis, ghrelin levels in precocious puberty girls were negatively correlated with ACTH, PRL and LH_{15} , LH_{30} and LH_{60} in GnRH test ($r = -0.248, -0.235, -0.445, 0.405, 0.398$, respectively, $P < 0.05$). No significant correlation was found between ghrelin and GH, LH_0^{-2} , FSH_0^{-2} , and FSH_{15} , FSH_{30} and FSH_{60} in GnRH test. **Conclusions:** ICPP girls have lower plasma ghrelin levels, which are decreased with the development of Tanner stage. The plasma ghrelin levels are negatively correlated with ACTH, PRL and LH.

[Key words] Pituitary hormones, anterior; Puberty, precocious; Peptide hormones/blood; Luteinizing hormone/blood; Estradiol/blood; Follicle stimulating hormone/blood; Corticotropin/blood; Gonadorelin/analogs

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2008, 37(5):506-510.]

1999年Kojima等^[1]首先从大鼠胃黏膜细胞中分离到ghrelin,随后在人的胃黏膜中也发现有ghrelin表达,之后又在动物实验中发现下丘脑弓状核、腺垂体、性器官、心脏、胰腺、肾脏等部位均有ghrelin的表达。推测ghrelin除了有调节生长激素分泌外,可能还有更广泛的生理作用^[2-5]。动物实验发现ghrelin对垂体其它激素如PRL、ACTH、GH、LH等均有作用,但在人体中,它与其它腺垂体激素的关系报告极少。本研究通过测定性早熟女童血浆ghrelin水平,分析它与腺垂体激素的关系,探讨在性早熟女童中ghrelin对其它垂体激素的作用。

1 对象与方法

1.1 对象 选取2005年7月1日—2005年9月1日期间,因8岁之前出现乳房发育(均无初潮)来我院门诊的性早熟女童为研究对象,年龄6~9岁,骨龄 \geq 年龄1岁共84例;以同期6~9岁,体检身高或性发育正常的健康青春前期女童作为对照组,共20例。

1.2 方法

1.2.1 生长发育评价:性早熟女童均于入院时测身高、体重,由专人评估第二性征发育(乳房、

阴毛、外生殖器),拍摄左手腕骨片,用TW₃法评估骨龄;盆腔B超了解子宫、卵巢、卵泡的发育,计算子宫和卵巢的容积(长 \times 宽 \times 高 \times $\pi/6$)。

1.2.2 化验及检查:性早熟女童均于上午8时空腹取血,采用化学发光法测定促肾上腺皮质激素(ACTH)、促甲状腺素(TSH)、黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、生长激素(GH)、泌乳素(PRL),试剂由美国DPC公司提供;同时测定ghrelin。然后行促性腺激素释放激素激发试验(GnRH激发试验):戈那瑞林 $2.5 \mu\text{g/kg}$ (最大量 $<100 \mu\text{g}$)稀释后静脉注射,注射后15 min、30 min、60 min留血清,采用化学发光法测定血清LH、FSH。LH和FSH灵敏度均为 0.1 IU/L ,ACTH、PRL、GH、TSH灵敏度分别为 9 ng/L 、 $0.5 \mu\text{g/L}$ 、 $0 \sim 0.1 \mu\text{g/L}$ 、 $0.002 \mu\text{IU/ml}$,如在测定值以下,按最小测定值计算。

1.2.3 分组:根据中华医学会儿科学会内分泌遗传代谢组拟订的中枢性性早熟以及部分性性早熟的诊断标准^[6],将84例性早熟女童分为特发性中枢性性早熟(ICPP)组和单纯乳房早发育(PT)组。

1.2.4 Ghrelin检测:采静脉血 2 ml ,注入含 $10\% \text{ EDTA}$ $30 \mu\text{l}$ 和抑肽酶 $20 \mu\text{l}$ 的试管中,充

分混匀,静置 4 h 后 3 000 r/min 离心 15 min,分离血浆,冻存在 -70 C 冰箱内,血浆 ghrelin 水平包括有活性的 N 端辛酰化 ghrelin 和无活性的 N 端去辛酰化 ghrelin,采用放射免疫试剂盒(美国凤凰药业公司提供,杭州市二医院放免中心检测),测定灵敏度为 10 ng/L。

1.3 统计学处理 血浆 ghrelin、ACTH、GH、PRL、TSH 及经 GnRH 激发后的 LH、FSH,先经以 10 为底的对数转换,基础 LH、FSH 经平方根转换,转换后数据符合正态分布;三组之间的比较采用单因素方差分析(两两比较采用 LSD 检验);两组之间比较采用独立样本 *t* 检验;ghrelin 与基础 LH、FSH、GnRH 激发后的 LH、FSH 和 ACTH、PRL、GH 的关系采用双变量相关分析。统计学显著性检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 性早熟女童血浆 ghrelin 水平 ICPP 组女童血浆 ghrelin 水平低于 PT 组及对照组 ($P<0.05$),而 PT 组与对照组比较差异无显著性 ($P>0.05$),见表 1。ICPP 组女童 Tanner III 期 ghrelin 低于 Tanner I 期 ($P<0.01$),见表 2。

2.2 性早熟女童血浆 ghrelin 水平与腺垂体激素的关系 采用双变量相关分析,血浆 ghrelin 水平与 ACTH、PRL、GnRH 激发后的 LH₁₅、LH₃₀、LH₆₀ 呈负相关;而与 FSH₁₅、FSH₃₀、

FSH₆₀、GH、TSH、GH、LH₀⁻²、FSH₀⁻² 无相关。见表 3。

表 1 ICPP、PT 与青春前期女童血浆 ghrelin 的水平

Table 1 The levels of plasma ghrelin in girls of precocious puberty

组别	n	年龄/岁	Log ghrelin/ (ng · L ⁻¹)
ICPP	49	7.91±0.54	2.42±0.26*
PT	35	7.64±0.52	2.62±0.21
对照组	20	7.61±0.93	2.58±0.44
		<i>F</i> =2.144	<i>F</i> =5.129
		<i>P</i> =0.123	<i>P</i> =0.008

与 PT 组和对照组比较,* $P<0.05$

表 2 不同 Tanner 期 ICPP 女童血浆 ghrelin 水平

Table 2 The levels of plasma ghrelin in girls in different Tanner stage of girls

Tanner 期	n	年龄/岁	Log ghrelin/ (ng · L ⁻¹)
I	25	7.93±0.61	2.53±0.24
II	24	7.91±0.41	2.31±0.24
		<i>t</i> =0.132	<i>t</i> =3.186
		<i>P</i> =0.896	<i>P</i> =0.003

表 3 性早熟女童血浆 ghrelin 水平与腺垂体激素的关系

Table 3 The relationship of plasma ghrelin and adenohipophyseal hormone

	LH ₀ ⁻²	FSH ₀ ⁻²	Log E2	Log ACTH	Log PRL	Log GH	Log TSH
<i>r</i>	0.115	0.148	-0.089	-0.248	-0.235	-0.187	0.012
<i>P</i>	0.296	0.180	0.422	0.023	0.031	0.089	0.910
	Log LH ₁₅	Log LH ₃₀	Log LH ₆₀	Log FSH ₁₅	Log FSH ₃₀	Log FSH ₆₀	
<i>r</i>	-0.445	-0.405	-0.398	-0.028	-0.121	-0.099	
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.799	0.274	0.371	

注:LH₀、FSH₀为 LH、FSH 的基础值;LH₁₅、FSH₁₅、LH₃₀、FSH₃₀、LH₆₀、FSH₆₀分别为 GnRH 静脉注射后 15 min、30 min、60 min 的 LH、FSH 值

3 讨论

Ghrelin 除了由胃黏膜上皮细胞分泌外,下丘脑弓状核、腺垂体、性器官均有分泌 ghrelin

的功能。动物实验发现卵巢切除的大鼠,血浆 ghrelin 水平上升,当应用雌激素替代治疗后,ghrelin 水平下降^[7]。又有报告,向大鼠脑室内注射 ghrelin,垂体 LH 脉冲分泌下降,而 GH 分

泌增加^[8]。这些研究结果提示ghrelin可能与性发育有关。中枢性性早熟女童存在着下丘脑-垂体-性腺轴的提前活动而导致性发育的提前。在性早熟的早期,基础LH、FSH、E2并无明显增高,但GnRH激发后LH、FSH增高明显并以LH增高为主。本研究结果显示,ICPP女童血浆ghrelin水平低于PT女童及青春前期的健康女童,并随着Tanner期的进展而下降,而PT女童的ghrelin水平与对照组比较差异无显著性。本研究还发现,性早熟女童血浆ghrelin水平与基础LH、FSH、E2无关,而与GnRH激发后15 min、30 min、60 min的LH呈负相关。这些结果提示血浆ghrelin可能与性启动有关,但是,其因果关系目前尚不清楚。

动物实验及小样本的人体研究还发现,ghrelin除了有促进GH分泌外,还有促进PRL、ACTH、COR的分泌,而对TSH、LH、FSH无促进作用,其机制不清^[9-11]。但也有持相反的观点,认为ghrelin只能使GH分泌增多而对ACTH、PRL、TSH、皮质醇并无作用^[12]。同样,有报告认为ghrelin能抑制PRL、LH的分泌^[8,13],因此,ghrelin与垂体其它激素的关系目前尚不清楚。本研究显示,性早熟女童血浆ghrelin与GnRH激发后的LH呈负相关,还与ACTH、PRL呈负相关,而与TSH、FSH、GH无相关关系。以往的研究^[14]提示性早熟儿童(除外周围性性早熟),除了有下丘脑-垂体-性腺轴(HPG轴)的提前活动外,还有下丘脑-垂体-肾上腺轴的提前活动,且下丘脑-垂体-肾上腺轴的活动可先于HPG轴活动数年,在性激素及LH上升之前,外周血中的促肾上腺皮质激素、皮质醇、脱氢表雄酮已开始上升,并随着Tanner期的进展而升高;而在性发育的儿童,血浆ghrelin水平并随着Tanner期的进展而下降。因此,在性早熟的女童血浆ghrelin与ACTH呈负相关。至于它们两者之间的有无相互作用,作用机制如何尚需进一步研究。

PRL为垂体前叶所分泌的一种激素,有文献报告性早熟的女童血清PRL浓度高于青春前期儿童^[15],而性早熟的儿童ghrelin水平低于青春前期的儿童,但它们之间有无因果关系,相互作用如何需要更进一步的研究。

References:

- [1] KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. *Nature*, 1999, 402: 656-660.
- [2] KORBONITS M, GROSMAN A B. Ghrelin: update on a novel hormonal system [J]. *Eur J Endocrinol*, 2004, 151: S67-S70.
- [3] WANG Y H, ZHU S G (王越晖, 祝世功). Discovery and research progress of ghrelin [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology* (中国病理生理杂志), 2001, 17(12): 1256-1259. (in Chinese)
- [4] CHANOINE J P. Ghrelin in growth and development [J]. *Horm Res*, 2005, 63(3): 129-138.
- [5] TENA-SEMPERE M. Exploring the role of ghrelin as novel regulator of gonadal function [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2005, 15(2): 83-88.
- [6] DU M L, MA H M (杜敏联, 马华梅). Suggestion of diagnosis and treatment in central precocious puberty [J]. *Chinese Journal of Pediatrics* (中华儿科杂志), 2003, 41(4): 272-273. (in Chinese)
- [7] MASTSUBARA M, SAKATAL I, WADA R, et al. Estrogen modulates ghrelin expression in the female rat stomach [J]. *Peptides*, 2004, 25(2): 289-297.
- [8] FURUTA M, FUNABASHI T, KIMURA F. Intracerebroventricular administration of ghrelin rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 288(4): 780-785.
- [9] TAKAYA K, ARIYASU H, KANAMOTO N, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(12): 4908-4911.
- [10] DI VITO L, BROGLIO F, BENSO, A, et al. The GH-releasing effect of ghrelin, a natural GH secretagogue, is only blunted by the infusion of exogenous somatostatin in humans [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2002, 56(5): 643-648.
- [11] BROGLIO F, BENSO, A, CASTIGLIONI C, et al. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and

- elderly subjects [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003,88(4):1537-1542.
- [12] BHATTI S F, DUCHATEAU L, VAN HAM L M, et al. Effects of growth hormone secretagogues on the release of adenohipophyseal hormones in young and old healthy dogs [J]. *Vet J*, 2006,172(3):515-525.
- [13] TENA-SEMPERE M, AGUILAR E, FERNANDEZ-FERNANDEZ R, et al. Ghrelin inhibits prolactin secretion in prepubertal rats [J]. *Neuroendocrinology*, 2004,79(3):133-141.
- [14] JIANG Y J, CHEN L Q, LIANG L, et al(蒋优君, 陈黎勤, 梁黎, 等). The relationship of serum dehydroepiandrosterone levels and female precocious puberty [J]. *Journal of ZheJiang University: Medical Sciences* (浙江大学学报: 医学版), 2005, 34(4): 308-311. (in Chinese)
- [15] XU S M, LI L(许苏眉, 李龙). Serum sex-hormone content by radioimmunoassay on female sexual precocious [J]. *Journal of Zhenjiang Medical College*(镇江医学院学报), 1999, 9(3): 348-349. (in Chinese)

[责任编辑 黄晓花]

我校医学院形态中心在全国医学院校实验室中率先建成数字切片库

浙江大学医学院形态中心(病理学与组织学实验室)于2008年8月率先在全国医学院校实验室建成数字切片库,并首次应用于数字化实验教学,这是形态学实验教学方式的全新理念。

数字切片(即虚拟切片)系统,主要由自动显微镜、数码摄像头、自动图像扫描采集软件、数字切片浏览器和计算机系统组成。系统通过计算机控制自动显微镜移动,并对观察到的组织切片(或图像)进行全自动聚焦扫描,逐幅自动采集数字化的显微图像,高精度、多视野、无缝隙自动拼图,自动拼接成一幅定态切片的数字图像。

数字切片库的建立具有多种用途及意义:其一、高清晰度的数字切片系统,全天候开放,有利于学生课前预习及课后复习,可完全取代显微镜。使开设组织胚胎学(正常)与病理解剖学(异常)实验课合并为一门《正常与异常形态学对照比较实验课》独立课程成为可能。其二、避免因组织切片资源紧缺,学生在复习考试期间,组织切片的破损与丢失(尤为难以获得的切片),既节约了教学消耗,又提高教学资源的利用率,更有利于资源共享。其三、考试内容统一,不受切片质量影响,确保了考试的客观性。其四、将不断更新数字切片库,丰富了教学内容,特别是理论课堂选择典型的病例(或组织图像)演示,十分直观,通俗易懂,提高学生的学习兴趣。

数字切片应用前景广泛,还可以为各种级别的教学、医师培训、学术交流中专家讲学、病例会诊、病理读片会、病理科信息管理、科研结果的核实等提供有效的教学工具和交流平台。