

# 雌二醇及孕酮对体外培养的人垂体泌乳素瘤细胞的作用探讨

温燕平 梁贵尚

(附属第一医院妇产科)

**摘要** 研究 $17\beta$ -雌二醇( $E_2$ )和孕酮(P)对人泌乳素瘤的影响。从11例病人手术切除标本组织进行体外培养,分为4组:单纯加雌二醇组;单纯加孕酮组;同步加雌二醇和孕酮组;序贯加雌二醇和孕酮组。结果显示:①培养液加 $10^{-10}\sim 10^{-6}\text{mol/L}$ 雌二醇,泌乳素(PRL)分泌较赋形剂对照组显著增多,在雌二醇 $10^{-9}\sim 10^{-6}\text{mol/L}$ 无改变。PRL分泌与雌二醇 $10^{-9}\sim 10^{-6}\text{mol/L}$ 呈负相关,其水平在雌二醇 $10^{-10}\text{mol/L}$ 较 $10^{-9}\text{mol/L}$ 低。②加入 $10^{-11}$ 至 $10^{-6}\text{mol/L}$ 的不同浓度孕酮对泌乳素水平无影响,当孕酮浓度 $10^{-5}\text{mol/L}$ 则水平明显降低。③比较同步加雌二醇和孕酮与单纯加雌二醇时可见泌乳素分泌无差异。④在加雌二醇后序贯给雌二醇和孕酮显示从雌二醇转换孕酮时,泌乳素分泌较持续给雌二醇减少。

**关键词** 泌乳素瘤;泌乳素;雌二醇;孕酮;组织培养

**中图分类号** R 736.4

垂体泌乳素瘤在垂体瘤中是最常见的一种,约占40%~60%,其病因及发病机理尚未明瞭。本研究采用11例垂体泌乳素瘤患者的瘤组织进行体外培养及激素实验,旨在探讨雌二醇及孕酮在垂体泌乳素瘤发病中的作用,为

临床评估泌乳素瘤合并妊娠的安全性及治疗垂体泌乳素瘤提供依据。

## 材料与方 法

**病例情况** 见附表。

附表 11例垂体泌乳素瘤患者临床病理情况

| 病 例 性 别 | 年 龄<br>(岁) | 临床主诉 | 血PRL<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | 血生长激素<br>( $\mu\text{g/L}$ ) | 溴隐亭<br>治疗 | 病 理 |        |
|---------|------------|------|-----------------------------|------------------------------|-----------|-----|--------|
| 1       | 女          | 28   | 月经不调伴溢乳                     | 66.5                         | >50       | 无   | 混合型垂体瘤 |
| 2       | 女          | 24   | 闭经、溢乳                       | 48.9                         | 7.0       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 3       | 男          | 26   | 进行性视力下降                     | >200                         | 1.2       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 4       | 男          | 40   | 视力下降伴头晕                     | >200                         | 未 测       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 5       | 女          | 35   | 继发闭经                        | >200                         | 1.2       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 6       | 男          | 38   | 视力下降                        | >200                         | 0.7       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 7       | 女          | 31   | 月经稀发、溢乳                     | 52.0                         | 未 测       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 8       | 女          | 30   | 闭经、溢乳                       | >200                         | 2.1       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 9       | 女          | 35   | 闭经、溢乳                       | 56.0                         | 1.0       | 无   | 嫌色细胞瘤  |
| 10      | 女          | 47   | 头痛、视朦                       | >200                         | 0.9       | 无   | 嗜酸性细胞瘤 |
| 11      | 女          | 25   | 闭经、溢乳                       | >200                         | 1.7       | 无   | 嫌色细胞瘤  |

注: PRL 正常值 $0\sim 23\mu\text{g/L}$ , 生长激素正常值 $<10\mu\text{g/L}$

## 材料来源

F-10(HAM)培养基、IV型胶原酶、P.B.S缓冲液等均为Sigma公司产品;  $17\beta$ -雌二醇( $E_2$ )纯品为Serva公司产品; 孕酮(P)纯品由上海第九制药厂提供。人血清PRL测定试剂盒及人血清生长激素(GH)测定试剂盒分别为天津利科生物科技有限公司和上海生物制品研究所产品。

## 实验过程

垂体瘤组织通过脑外科手术获得。瘤细胞单层培养的方法参照文献介绍<sup>[1,2]</sup>。细胞接种后72h已贴壁生长,即开始各种激素实验。

于实验日,将培养板中每孔的培养液轻轻吸出,加入含0.5%人血清白蛋白的HF<sub>10</sub>培养液(每孔1ml)置培养箱中温育2h,吸出培养液,再加入含不同浓度雌二醇或孕酮的0.5%人血清白蛋白HF<sub>10</sub>,在培养箱中温育24h, $E_2$ 和P预先单独溶解在纯乙醇中。每次实验均设空白对照、乙醇对照及不同浓度的激素组对比,每组均设2~3孔。24h后吸出培养液置-20℃低温储存待测。

在单纯雌激素实验中,设立的 $E_2$ 浓度(mol/L)组分别为 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$   $E_2$ 组。在单纯孕酮实验中,P的实验浓度(mol/L)分别为 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  P组。在雌、孕激素同步实验中,各激素浓度组中 $E_2$ 浓度是相同的,均为 $10^{-7}$ mol/L,而P浓度分别为 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  mol/L;此外还设立了 $10^{-7}$  mol/L  $E_2$ 对照。在雌、孕激素序贯实验中,除对照组外,瘤细胞先与 $10^{-7}$ mol/L的 $E_2$ 作用24h后,再加入P作用24h,各组中P浓度分别为 $10^{-11}$ 、 $10^{-10}$ 、 $10^{-9}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ mol/L,同样也设立了单纯 $10^{-7}$ mol/L的 $E_2$ 对照。

培养液中PRL与GH的放射免疫测定,质控指标符合要求。

采用自体比较的t检验及直线相关分析作统计学处理。

## 结果

11例垂体泌乳素瘤组织体外培养过程中,有1例同时分泌PRL和GH(GH在培养液中的浓度 $>50\mu\text{g/L}$ ),其余均为单纯分泌PRL(此时的GH在培养液中的浓度 $<5\mu\text{g/L}$ )。

### 雌二醇对瘤细胞分泌PRL的影响

本实验是采用病例序号1~5的瘤组织,以不同浓度的雌二醇( $E_2$ )对培养的瘤细胞分泌PRL的作用观察。PRL值是5次实验结果的均值,即将每次实验中,各组PRL值换算成同次实验中空白对照组PRL值的百分数后,各次实验的均值。将空白与乙醇对照组的PRL值进行自体比较 $P>0.05$ 。将空白对照组与各个不同浓度 $E_2$ 组比较,除 $10^{-5}$ mol/L  $E_2$ 组 $P>0.05$ 外,其余组均为 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 。不同浓度 $E_2$ 对瘤细胞分泌PRL的作用不同, $E_2$ 浓度与PRL分泌呈剂量相关性,当 $E_2$ 浓度高达 $10^{-5}$  mol/L时,对PRL分泌几乎无影响,而 $E_2$ 浓度在 $10^{-9}$ mol/L~ $10^{-6}$ mol/L之间,随 $E_2$ 浓度减低,瘤细胞产生PRL作用增强,当 $E_2$ 浓度小于 $10^{-9}$ mol/L,也即为 $10^{-10}$  mol/L时,PRL分泌下降。

### 孕酮单独作用对瘤细胞分泌PRL的影响

本组采用了6、7两例患者的瘤组织进行实验。结果表明:不同浓度的孕酮(P)对瘤细胞分泌PRL无影响。但当P浓度高达 $10^{-5}$  mol/L时,两例患者的瘤细胞均显示PRL分泌明显下降。

### 雌二醇、孕酮同步作用时对瘤细胞分泌PRL的影响

8、9两例患者的瘤组织用于本实验。结果表明: $E_2$ 与不同浓度P同时加入培养液,PRL的分泌与空白对照或乙醇对照比较,均明显增高;但与单纯 $E_2$ 对照组比较,则无明显差异。说明 $E_2$ 与不同浓度的P同时加入培养液,瘤细胞的PRL分泌并不随P浓度的不同而改变。

### 雌二醇、孕酮序贯作用对瘤细胞分泌PRL的影响

本组采用了 10、11 两例患者的瘤组织。 $E_2$ 、P 序贯作用对瘤细胞分泌 PRL 的影响。

当  $E_2$  与 P 序贯加入培养液中, PRL 的分泌与加入的 P 浓度相关。将 PRL 分泌与 P 浓度作一直线相关分析,  $r = -0.85, P < 0.05$ , 说明 PRL 的分泌与 P 呈负直线相关。

## 讨 论

早在 10 多年前人们已了解到, 雌激素在人类可通过刺激垂体泌乳素细胞增生使血清 PRL 水平升高。女性基础血清 PRL 浓度高于男性, 且垂体对药理性的刺激如促甲状腺素释放激素 (TRH)、多巴胺拮抗剂的反应明显高于男性, 妇女妊娠时血 PRL 浓度的改变均主要与雌激素作用相关。目前一般公认雌激素可刺激正常垂体细胞合成、储存和分泌 PRL 及提高血 PRL 水平。但雌激素与垂体泌乳素瘤的关系尚有不少争议。虽然已成功复制由  $E_2$  诱导的大白鼠 PRL 瘤的模型, 但  $E_2$  在人体 PRL 瘤发病中的作用并未肯定。

本实验显示人垂体泌乳素瘤细胞在体外培养过程中分泌 PRL 的功能受  $E_2$  调节, 并与  $E_2$  呈剂量相关性。当  $E_2$  浓度高于  $10^{-9}$  mol/L 时, 刺激 PRL 分泌的作用随  $E_2$  浓度的增高而降低;  $E_2$  浓度达  $10^{-5}$  mol/L 时, 对 PRL 分泌几乎无作用。这种剂量相关性可能与  $E_2$  的细胞毒性作用有关。在别的细胞培养系统中, 高浓度的  $E_2$  显示明显的细胞毒性作用<sup>[3]</sup>。此外, 亦可能与高浓度的  $E_2$  对雌激素受体 (ER) 的降调节有关。然而在本实验研究的浓度范围内, 总是  $E_2$  刺激 PRL 分泌的作用与优势, 即使在相对抑制作用最强的  $10^{-5}$  mol/L  $E_2$  浓度时, PRL 的分泌仍高于对照组。当  $E_2$  浓度小于  $10^{-9}$  mol/L (即为  $10^{-10}$  mol/L) 时, 刺激 PRL 分泌的作用减弱。是否随  $E_2$  浓度的降低, PRL 的分泌继续减少, 本实验未能证实。

孕酮对人垂体泌乳素瘤细胞及垂体泌乳素细胞的作用迄今未明, 争议较大。在不同动物实验中, 孕酮对 PRL 及 PRL 瘤的作用结果各异。本实验中不同浓度的孕酮单独作用于人

PRL 瘤细胞时, 并不明显改变其 PRL 分泌, 仅浓度高达  $10^{-5}$  mol/L 时抑制 PRL 分泌。而不同浓度 P 与  $E_2$  同时加入培养液中, PRL 的分泌与  $E_2$  对照组比较无明显改变。提示当 P 浓度在  $10^{-11} \sim 10^{-6}$  mol/L 时, 无论单独或与  $E_2$  同时作用于人垂体泌乳素瘤细胞, 并不改变 PRL 分泌, 而当 P 浓度增大至  $10^{-5}$  mol/L 时, 单独作用可引起 PRL 分泌降低, 机制不明。但当  $E_2$  先作用于瘤细胞然后加入 P, PRL 的分泌较单独  $E_2$  作用时降低, 且与 P 呈负直线相关。这些结果表明, 在  $E_2$  与瘤细胞作用后, P 方可发挥其抑制 PRL 分泌的作用。此可能由于  $E_2$  作用后, 刺激 P 受体 (PR) 产生, 而 P 的作用需要 PR 存在。关于 P 如何减低  $E_2$  对 PRL 分泌的刺激作用, 目前尚未清楚。在大鼠垂体肿瘤细胞 (GH<sub>3</sub>)<sup>[6]</sup> 及哺乳类动物的生殖道<sup>[7]</sup> 均发现 P 可以通过阻止 ER 的合成而减少 ER 的数目, 从而降低  $E_2$  的刺激作用。然而 P 是否还通过其它机制减少瘤细胞释放 PRL, 目前尚不清楚。

## 参 考 文 献

1. 邓洁英, 等. 单层培养的垂体生长激素分泌瘤细胞对生长激素释放激素和生长抑素的反应. 中华内分泌代谢杂志 1989; 5:32
2. Ishibashi M, Yamaj T. Direct effects of thyro tropinreleasing hormon, cyproheptadine, and dopamine on adrenocorticotropin secretion from human corticotroph adenoma cells in vitro. J Clin Invest 1981; 68:1018
3. Lippman M, et al. Model system for the study of estrogen action in tissue culture. J Steroid Biochem 1976; 7:1045
4. Pichon MF, et al. Estrogen receptors in human pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab 1980; 51:897
5. Labrie F, et al. Sex steroids interact with dopamine at the hypothalamic and pituitary levels to modulate prolactin secretion. J Steroid Bioch 1980; 12:323
6. Haug E. Progesterone suppression of estrogen-stimulated prolactin secretion and es-

trogen receptor levels in rat pituitary cells.  
Endocrinology 1979, 104:429  
7. Brenner RM, West NB. Hormonal regula-

tion of the reproductive tract in female  
mammals. Ann Rev Physiol 1975, 37:273  
(1992-06-12收稿 1992-11-16修回)

## EFFECTS OF $17\beta$ -ESTRADIOL AND PROGESTERONE ON HUMAN PITUITARY PROLACTINOMA CELLS IN VITRO

Wen Yanping Liang Guishang

(Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital)

This study was to examine the effects of  $17\beta$ -estradiol and progesterone on human prolactinoma cells. Tissues were obtained from surgical specimens of 11 patients and were allocated into 4 groups:  $E_2$ -treated group P-treated group, the simultaneous addition of  $E_2$  plus P group and sequential administration of  $E_2$  plus P group. The results are as follows: ① The addition of  $10^{-10}\sim 10^{-6}$  mol/L  $E_2$  into the culture media significantly increased PRL secretion compared to that in vehicle-treated controls. The PRL level was unaltered in  $E_2$  concentration of  $10^{-5}$  M. There was a negative correlation between PRL secretion and  $E_2$  concentration of  $10^{-9}\sim 10^{-6}$  mol/L. The PRL level was lower in  $10^{-10}$  mol/L  $E_2$  wells than that in  $10^{-9}$  mol/L  $E_2$  wells. ② The addition of different concentrations from  $10^{-11}$  mol/L to  $10^{-6}$  mol/L P did not affect the PRL level. But while the concentration was  $10^{-5}$  mol/L P, the PRL level was found remarkable decrease. ③ Comparison between the simultaneous addition of  $E_2$  plus P and  $E_2$  alone treated group revealed that there was no difference in PRL secretion. ④ Sequential administration of  $E_2$  plus P after  $E_2$  treatment showed that PRL secretion declined in wells switched from  $E_2$  to P, relative to that in wells maintained continuously in  $E_2$ .

**Key words** prolactinoma; prolactin (PRL); estradiol; progesterone; cell culture