

• 临床检验研究论著 •

性早熟女童血清胃饥饿素与性激素水平变化研究^{*}罗小娟¹, 曹科¹, 杨方华¹, 刘霞², 张琴², 陈蔚²

(深圳市儿童医院:1. 检验科; 2. 内分泌科, 广东深圳 518026)

摘要: 目的 研究性早熟女童血清胃饥饿素(ghrelin)与性激素水平变化。方法 87 例性早熟女童根据促性腺激素释放激素(GnRH)激发试验结果及卵巢、子宫、第二性征发育情况等分为单纯性乳房早发育(SPT)组和中枢性性早熟(CPP)组, 34 例年龄匹配的健康女童作为对照组, 血清 ghrelin 采用酶联免疫吸附试验定量法测定, 黄体生成素(LH)、促卵泡激素(FSH)、雌二醇(E2)、孕酮(PRGE)、泌乳素(PRL)、睾酮(TSTO)及 GnRH 激发后 30、60、90 min 的 LH、FSH 采用化学发光法测定。结果 CPP 组血清 ghrelin 明显高于对照组($P < 0.05$); SPT 组与对照组、CPP 组与 SPT 组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。CPP 组血清性激素 5 项(LH、FSH、E2、PRL、PRGE)明显高于对照组和 SPT 组($P < 0.05$), SPT 组和对照组血清性激素 5 项比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 3 组的 TSTO 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 CPP 女童血清 ghrelin 及性激素 5 项 LH、FSH、E2、PRL、PRGE 水平明显升高。

关键词: 性早熟; 性激素; 酶联免疫吸附测定**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.006**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2014)15-1981-03Study on change of serum ghrelin and sex hormones levels in girls with precocious puberty^{*}Luo Xiaojuan¹, Cao Ke¹, Yang Fanghua¹, Liu Xia², Zhang Qin², Chen Wei²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Endocrinology, Shenzhen

Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518026, China)

Abstract: Objective To investigate the change of serum ghrelin and sex hormones levels in girls with precocious puberty.

Methods 87 girls with precocious puberty were divided into the simple premature thelarche(SPT) and central precocious puberty(CPP) groups according to the results of gonadotropin releasing hormone(GnRH) stimulation test, size of ovary and uterus, and developmental status of the secondary sex characteristics, with 34 age-matched healthy girls as control group. The serum ghrelin level was quantitatively measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), luteinizing hormone(LH), follicle stimulating hormone(FSH), estradiol(E2), progesterone(PRGE), prolactin (PRL), testosterone (TSTO) and LH and FSH stimulated by GnRH after 30, 60, 90 min were measured by chemoluminescence technique. **Results** The ghrelin level in the CPP group was significantly higher than that in the control group($P < 0.05$); there was no statistically significant difference between the SPT group and the control group and between the CPP group and the SPT group($P > 0.05$). The 5 indexes of sex hormone (LH, FSH, E2, PRL, PRGE) in the CPP group were significantly higher than those in the SPT group and the control group($P < 0.05$), but no statistically significant difference existed between the SPT group and the control group($P > 0.05$); the TSTO level had no statistically significant difference among 3 groups($P > 0.05$). **Conclusion** The serum levels of ghrelin and 5 indexes of sex hormone (LH, FSH, E2, PRL, PRGE) in girls with CPP are significantly increased.

Key words: precocious puberty; reproductive hormones; enzyme-linked immunosorbent assay

近年来,性早熟发病率明显上升,但其确切病因及发病机制尚未完全阐明,受遗传、代谢、环境、饮食及营养等多因素影响。胃饥饿素(ghrelin)在人类卵巢中的定位及表达为性早熟研究提供了新思路^[1],目前 ghrelin 研究多限于肥胖和矮小儿童^[2-4],性早熟女童 ghrelin 相关报道少见。本研究通过测定性早熟女童血清性激素 6 项黄体生成素(LH)、促卵泡激素(FSH)、雌二醇(E2)、孕酮(PRGE)、泌乳素(PRL)、睾酮(TSTO)及 ghrelin 水平,分析性早熟女童血清性激素及 ghrelin 水平变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取于 2011 年 6 月 30 日至 2012 年 8 月 31 日因 8 岁前出现乳房发育增大,阴毛、腋毛生长,月经来潮等,来深圳市儿童医院内分泌科就诊的性早熟女童为研究对象,年

龄 5~9 岁,共 87 例。按照中华人民共和国卫生部制订的性早熟诊疗指南(试行)、中华医学会儿科学会内分泌遗传代谢组制定的中枢性(真性)性早熟诊治指南及相关标准^[5-7],将 87 例性早熟女童分为单纯性乳房早发育(SPT)组 34 例和中枢性性早熟(CPP)组 53 例,选取同期于儿保科体检的健康女童作为对照组,生长发育正常,年龄 5~9 岁,共 34 例。

1.2 方法

1.2.1 生长发育评价及检查 性早熟女童均于入院时测身高、体质量,由专科医生检查第二性征发育程度,盆腔 B 超了解卵巢、卵泡及子宫的发育情况。筛查肝肾功能、皮质醇、促肾上腺皮质激素、 17α -羟基孕酮、甲状腺功能等,必要时行下丘脑-垂体 MRI 以排除肝肾疾病、肾上腺、甲状腺疾病及下丘脑-垂体肿瘤等。

* 基金项目:深圳市科技局资助项目(201203070);深圳市发改委重点实验室资助项目([2012]866)。作者简介:罗小娟,女,主管技师,主要从事儿童内分泌专业研究。

1.2.2 促性腺激素释放激素(GnRH)激发试验 所有性早熟女童于上午空腹静脉注射戈那瑞林(马鞍山丰原制药有限公司,国药准字号 H10960063)2.5 μg/kg,并于注射前及注射后30、60、90 min 抽静脉血 3 mL,留取血清备用。

1.2.3 血清 ghrelin 及性激素检测 ghrelin 水平采用酶联免疫吸附试验定量法检测,仪器为 MB-580 多功能酶标分析仪由深圳汇松科技发展有限公司提供;试剂盒由美国 R&D 公司提供,性激素及 GnRH 激发试验 30、60、90 min 时 LH 及 FSH 水平采用化学发光法检测,采用全自动化学发光仪 ADVIA Centaur XP 及配套试剂由西门子医学诊断产品有限公司提供,严格按照仪器标准操作规程及试剂盒说明书进行检测。

1.3 统计学处理 ghrelin 数据呈偏态分布,经对数转换后符合正态分布(方差齐);两组之间比较采用独立样本 t 检验;3 组之间的比较采用单因素方差分析(两两比较采用 LSD-t 检验)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SPT 组与 CPP 组辅助检查结果均值比较 性早熟女童进行 GnRH 激发试验的结果显示,CPP 组 LH 峰值、LH 峰/FSH 峰比值与 SPT 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);彩色 B 超扫描性器官结果显示,CPP 组左右卵巢体积(LOV、ROV)及子宫长度明显增大,与 SPT 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),亦符合 CPP 及 SPT 的诊断标准,见表 1。

2.2 SPT 组、CPP 组与对照组女童年龄及血清 ghrelin 水平比较结果 经方差分析,3 组年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$);血清 Log(ghrelin) 差异有统计学意义($P < 0.05$),经 LSD-t 检验,CPP 组 Log(ghrelin) 明显高于对照组($P < 0.05$),

SPT 组与对照组、CPP 组与 SPT 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 SPT 组与 CPP 组辅助检查结果均值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	LH 峰 (IU/L)	LH 峰/ FSH 峰	ROV (mL)	LOV (mL)	子宫长度 (cm)
SPT 组	2.75±1.15	0.22±0.10	0.85±0.15	0.88±0.11	2.72±0.62
CPP 组	17.19±8.96	0.97±0.43	2.42±0.60	2.48±0.55	4.04±0.96
<i>t</i>	5.77	6.17	9.15	10.24	4.89
<i>P</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表 2 各组女童年龄及血清 ghrelin 水平比较

组别	年龄(岁)	Log(ghrelin)(ng/L)
SPT 组	7.61±0.53	2.61±0.29
CPP 组	7.87±0.58	2.73±0.31
对照组	7.64±0.73	2.57±0.30
<i>F</i>	2.52	3.29
<i>P</i>	0.12	0.04

2.3 SPT 组、CPP 组与对照组女童血清性激素水平比较结果 CPP 组血清性激素 5 项(LH、FSH、E2、PRL、PRGE) 明显高于对照组和 SPT 组($P < 0.05$),SPT 组和对照组血清性激素 5 项比较差异无统计学意义($P > 0.05$);TSTO 3 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 各组女童血清性激素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	LH(IU/L)	FSH(IU/L)	E2(pg/mL)	PRL(ng/mL)	PRGE(ng/mL)	TSTO(nmol/L)
SPT 组	0.25±0.14	2.21±0.76	15.52±2.72	6.53±1.51	0.175±0.09	0.59±0.17
CPP 组	1.42±0.37	3.59±0.81	23.26±4.21	8.58±1.92	0.287±0.12	0.57±0.16
对照组	0.24±0.12	2.17±0.64	15.09±2.65	6.49±1.48	0.173±0.11	0.54±0.15
<i>F</i>	13.97	10.75	11.34	3.74	7.33	0.25
<i>P</i>	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.78

3 讨 论

近年来,儿童性早熟的发病率呈明显上升趋势,性早熟是一种青春发育的异常,表现为性发育启动年龄显著提前(女童在 8 岁前、男童在 9 岁前),以女童多见,是儿科内分泌系统的常见发育异常。性早熟会影响患儿最终成人身高并容易导致心理障碍,危害儿童身心健康。CPP 是缘于下丘脑提前增加了促性腺激素释放激素的分泌和释放量,提前激活下丘脑-垂体-性腺轴功能,导致性腺发育并分泌性激素,使内、外生殖器发育和第二性征呈现^[6]。本研究显示 CPP 女童血清性激素 5 项水平明显升高,与文献[8]报道一致,反映了其下丘脑-垂体-性腺轴功能的活化与启动。但下丘脑-垂体-性腺轴从青春期抑制静止状态到青春期启动活化状态,其确切的激活机制目前尚不完全明确。性早熟,尤其是特发性中枢性性早熟确切病因及分子触发机制尚未完全阐明,ghrelin 的发现为性早熟研究提供了新的思路。

ghrelin 是 1999 年由日本学者在大鼠胃组织中发现的小分子活性肽,2003 年首次在人类卵巢中发现 ghrelin 及其受体蛋白表达。新近研究显示 ghrelin 可能作为下丘脑-垂体-性腺轴的一个全新调节因子,参与性激素分泌的调控及青春期发育

的启动^[9]。ghrelin 在人类正常生长发育过程中的作用尚不完全明确。对 121 名 5~18 岁健康儿童青少年研究表明,血清 ghrelin 与年龄及青春期进程呈负相关,随着年龄增长,青春期 ghrelin 水平较青春期明显下降^[10]。本研究结果显示 CPP 女童虽然青春期发育提前,但血清 ghrelin 水平却显著高于青春期健康女童,这可能与异常性启动或者性激素水平升高有关,但是,其血清 ghrelin 水平的改变与性早熟是否存在因果关系,ghrelin 与性激素之间又存在何种调节关系,仍需要进一步对其生物学功能及其对性激素调控的分子机制进行深入研究。

目前 ghrelin 与性激素的相关报道多见于多囊卵巢综合征及绝经期妇女研究,且结论尚存争议。有研究表明绝经后妇女采用雌激素替代治疗后,其血浆乙酰化 ghrelin 水平显著增加^[11]。但也有报道持不同观点,认为体内雌激素的改变并不会导致血浆 ghrelin 水平的显著改变^[12]。Gambineri 等^[13] 研究显示多囊卵巢综合征患者血浆 ghrelin 水平与雄激素显著负相关,经抗雄激素治疗,ghrelin 水平显著增高。但也有研究表明 ghrelin 水平与雄激素过多无相关性^[14]。本研究显示 CPP 女童血清 ghrelin 及性激素 5 项水平均显著高于对照组,至于 ghrelin 在性早熟女童青春期发育启动及性激素调控方面所起的

作用仍需对其分子发病机制进行研究,尤其需对整个青春发育期进行深入的纵向研究。

参考文献

- [1] Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, et al. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(2): 879-887.
- [2] Martos-Moreno GA, Barrios V, Martínez G, et al. Acylated ghrelin levels in pre-pubertal obese children at diagnosis and after weight reduction: effect of oral glucose ingestion[J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(2): 117-123.
- [3] Bellone S, Prodam F, Savastio S, et al. Acylated and unacylated ghrelin levels in normal weight and obese children: influence of puberty and relationship with insulin, leptin and adiponectin levels [J]. *J Endocrinol Invest*, 2012, 35(2): 191-197.
- [4] Iníguez G, Román R, Youlton R, et al. Ghrelin plasma levels in patients with idiopathic short stature[J]. *Horm Res Paediatr*, 2011, 75(2): 94-100.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 性早熟诊疗指南(试行)[J]. 中国儿童保健杂志, 2011, 19(4): 390-392.
- [6] 王慕遂, 杜敏联, 沈永年, 等. 中枢性(真性)性早熟诊治指南[J]. 中华儿科杂志, 2007, 45(6): 426-427.
- [7] 郑荣秀, 刘戈力. 女童性早熟的临床诊断程序[J]. 实用儿科临床

(上接第 1980 页)

达情况及对细胞功能的影响目前尚未清楚。

在 hMSH2 基因中存在 IVS12(-6)T>C 多态性,该多态性位于 hMSH2 基因 13 外显子 5' 端剪接位点,该位点在不同的肿瘤中可能存在不同的作用^[12]。有些研究提示,该位点与 hMSH2 基因 mRNA 外显子 13 的异常剪接及大肠癌的发生相关^[5-7]。但是一些研究结果并不支持该位点与 hMSH2 基因 mRNA 外显子 13 的异常剪接及大肠癌的发生相关^[8-10]。研究者还对散发性结直肠癌及健康对照样本基因组中的 hMSH2 基因外显子 13 及其侧翼的区域进行扩增及 DNA 序列分析,结果显示散发性结直肠癌及健康对照样本均未发现基因组 hMSH2 基因外显子 13 缺失,提示该缺失是转录或转录后加工发生的。分析外显子 13 两侧的序列发现,散发性结直肠癌及健康对照样本存在 IVS12(-6)T>C 突变,频率分别为 69.5% 和 52.3%,该多态性的频率低于 mRNA 外显子 13 缺失的频率,两者之间并不完全一致,提示 IVS12(-6)T>C 突变可能不是导致 hMSH2 基因 mRNA 外显子 13 缺失的原因。

总之,本研究表明,外周血白细胞 hMSH2 基因 mRNA 外显子 13 缺失及 IVS12(-6)T>C 多态性是人群中常见的变异,与散发性结直肠癌无相关性;IVS12(-6)T>C 多态性不影响外周血白细胞 hMSH2 基因 mRNA 外显子 13 异常剪接。

参考文献

- [1] Iyer An, Plueienik A, Burdeet V, et al. DNA mismatch repair: functions and mechanisms[J]. *Chem Rev*, 2006, 106(2): 302-320.
- [2] Peltomäki P. Deficient DNA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(7): 735-740.
- [3] Poulogiannis G, Frayling IM, Arends MJ. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome[J].

杂志, 2011, 26(8): 557-560.

- [8] 柯江维, 段荣, 杨利. 化学发光技术检测性激素在女童性早熟诊断的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(9): 892-893.
- [9] Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropin axis[J]. *Vitam Horm*, 2008, 77(1): 285-300.
- [10] Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, et al. Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents[J]. *Clin Endocrinol*, 2003, 59(5): 649-654.
- [11] Kellokoski E, Poykko SM, Karjalainen AH, et al. Estrogen replacement therapy increases plasma ghrelin levels[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(5): 2954-2963.
- [12] Dafopoulos K, Chalvatzas N, Kosmas G, et al. The effect of estrogens on plasma ghrelin concentrations in women[J]. *J Endocrinol Invest*, 2010, 33(2): 109-112.
- [13] Gambineri A, Pagotto U, Tschop M, et al. Anti-androgen treatment increases circulating ghrelin levels in obese women with polycystic ovary syndrome[J]. *J Endocrinol Invest*, 2003, 26(7): 629-634.
- [14] Schofl C, Horn R, Schill T, et al. Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(10): 4607-4610.

(收稿日期:2014-03-02)

Histopathology, 2010, 56(2): 167-179.

- [4] Li D, Hu F, Wang F, et al. Prevalence of pathological germline mutations of hMLH1 and hMSH2 genes in colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e51240.
- [5] Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 1027-1038.
- [6] Zahary MN, Kaur G, Abu Hassan MR, et al. Germline mutation analysis of MLH1 and MSH2 in Malaysian Lynch syndrome patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(8): 814-820.
- [7] Luce MC, Marra G, Chauhan DP, et al. In vitro transcription/translation assay for the screening of hMLH1 and hMSH2 mutations in familial colon cancer[J]. *Gastroenterology*, 1995, 109(4): 1368-1374.
- [8] Xia L, Shen W, Ritacca F, et al. A truncated hMSH2 transcript occurs as a common variant in the population: implications for genetic diagnosis[J]. *Cancer Res*, 1996, 56(10): 2289-2292.
- [9] Goessl C, Plaschke J, Pistorius S, et al. An intronic germline transition in the HNPCC gene hMSH2 is associated with sporadic colorectal cancer[J]. *Eur J Cancer*, 1997, 33(11): 1869-1874.
- [10] Palicio M, Blanco I, Tórtola S, et al. Intron splice acceptor site polymorphism in the hMSH2 gene in sporadic and familial colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(3): 535-537.
- [11] Pagenstecher C, Wehner M, Friedl W, et al. Aberrant splicing in MLH1 and MSH2 due to exonic and intronic variants[J]. *Hum Genet*, 2006, 119(1/2): 9-22.
- [12] Wu S, Chen J, Ji Y, et al. Association between the hMSH2 IVS12-6 T>C polymorphism and cancer risk: a meta-analysis[J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(6): 1193-1198.

(收稿日期:2014-01-28)