

肾上腺皮质肿瘤神经内分泌学特性的初步研究

何昊玮¹, 郑军华^{2*}, 高建平¹, 徐丹枫³

(1. 南京军区南京总医院泌尿外科, 南京军区泌尿男科中心, 南京 210002; 2. 同济大学附属第十人民医院泌尿外科, 上海 200072; 3. 第二军医大学长征医院泌尿外科, 上海 200003)

[摘要] **目的:**探讨肾上腺皮质肿瘤的神经内分泌学特性。**方法:**对长征医院 1999 年 6 月至 2005 年 6 月收治的 99 例肾上腺皮质肿瘤患者进行回顾性分析。应用单克隆抗体免疫组化技术链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶连接法(S-P 法)检测 99 例肾上腺皮质肿瘤组织中神经特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)、嗜铬素 A(CgA)、突触素(Syn)的表达, 收集患者的一般资料, 包括患者年龄、临床症状、检验结果、病理类型等, 进行统计学处理。**结果:**三种蛋白在肾上腺皮质腺瘤中均有大量表达, NSE 阳性率为 80%, CgA 阳性率为 48.9%, Syn 阳性率为 75.6%。在皮质腺瘤中的表达率为 NSE 77.8%, CgA 22.2%, Syn 77.8%。在正常肾上腺组织中的表达率为 NSE 20%, CgA 0%, Syn 10%。NSE、CgA、Syn 三种蛋白在肾上腺皮质腺瘤和肾上腺皮质腺癌之间的表达没有显著性差异($P>0.05$), 但均比正常肾上腺组织明显升高($P<0.05$)。**结论:**肾上腺皮质肿瘤无论腺瘤、腺癌, 均表现出神经内分泌学特性, 提示其发生与肾上腺皮质中的神经内分泌细胞的异常增殖有关。

[关键词] 肾上腺皮质肿瘤; 神经内分泌学; 神经特异性烯醇酶; 嗜铬素 A; 突触素

[中图分类号] R 736.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)10-1072-03

Neuroendocrinology of adrenalcortical tumors: a primary study

HE Hao-wei¹, ZHENG Jun-hua^{2*}, GAO Jian-ping¹ (1. Department of Urology, Nanjing General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Center of Urologic Andrology of PLA Nanjing Military Area Command, Nanjing 210002, China; 2. Department of Urology, the 10th People's Hospital of Shanghai, Tongji University, Shangzheng 200072; 3. Department of Urology, Chanzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the neuroendocrine properties of adrenalcortical tumors. **Methods:** We retrospectively reviewed the clinical data of 99 adrenalcortical tumor patients, who were treated in Changzheng Hospital from June 1999 to June 2005. Expression of neuron specific enolase (NSE), chromogranin A (CgA) and synaptophysin (Syn) proteins were examined by immunohistochemistry (S-P method) using monoclonal antibodies. The general data of patients, including the age, symptoms, laboratory findings, and pathological types, were collected and subjected to statistical analysis with SAS v6.12 software. **Results:** The expression of all the above 3 proteins was found in adrenalcortical adenoma tissues, with the positive rate of NSE being 80%, the positive rate of CgA being 48.9%, and the positive rate of Syn being 75.6%; the positive rates in the adrenalcortical carcinoma tissues were 77.8%, 22.2%, and 77.8%, respectively; and those in the normal adrenal tissues was 20%, 0%, and 10%, respectively. The positive rates of 3 proteins in adrenalcortical tumors was significantly higher than those in the normal adrenal tissues ($P<0.05$); there was no significant difference between those of different adrenalcortical tumors. **Conclusion:** Both adrenalcortical adenomas and adrenalcortical carcinomas possess neuroendocrine properties, indicating that their development is associated with abnormal differential of neuroendocrine cells in adrenal cortex.

[KEY WORDS] adrenal cortex neoplasms; neuroendocrinology; neuron specific enolase; chromogranin A; synaptophysin

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 27(10):1072-1074]

既往认为肾上腺皮质及髓质来自不同的胚层, 肾上腺皮质起源于中胚叶, 髓质起源于神经外胚层, 髓质属于弥散性神经内分泌系统(diffuse neuroendocrine system, DNES), 皮质则不属于 DNES 系统。但目前国外有资料显示, 肾上腺皮质亦有一定的神经内分泌分化^[1], 这就对传统肾上腺皮质发生学提出挑战。国内外曾有许多学者提出肾上腺皮质肿瘤具有神经内分泌倾向^[2], 但目前尚无定论。神经特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)、嗜铬素

A(chromogranin A, CgA)、突触素(synaptophysin, Syn)是目前最常见应用于诊断神经内分泌肿瘤的特异性标志物。本研究通过应用单克隆抗体免疫组化技术链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶连接法(S-P 法)

[基金项目] 上海市科委基金(014119042, 054119604)。Supported by Fund of Science Committee of Health Department of Shanghai Municipal Government(014119042, 054119604)。

[作者简介] 何昊玮, 硕士, 医师。

* Corresponding author. E-mail: zhengjh0471@sina.com

检测 99 例肾上腺皮质肿瘤组织及 10 例正常肾上腺组织中 NSE、CgA、Syn 的表达, 探讨肾上腺皮质肿瘤的神经内分泌倾向, 为肾上腺皮质肿瘤发生机制的研究及临床治疗方法的改进提供进一步的依据。

1 材料和方法

1.1 一般资料 第二军医大学长征医院 1999 年 6 月至 2005 年 6 月收治的肾上腺皮质肿瘤患者 99 例。肾上腺皮质腺瘤 90 例, 男性 39 例, 女性 58 例, 年龄 11~85 岁[平均(45.10±8.57)岁], 肿瘤直径 0.6~6 cm[平均(2.77±1.47)cm]。肾上腺皮质腺癌 9 例, 男性 5 例, 女性 4 例, 年龄 26~55 岁[平均(43.23±13.26)岁], 肿瘤直径 3~25 cm[平均(10.71±7.63)cm]。99 例肿瘤患者均经 B 超、CT 或 MRI 影像学发现肾上腺占位, 结合临床症状、实验室检查及术后病理明确诊断。另选 10 例患者的正常肾上腺组织(从新鲜尸体取肾时取下的正常肾上腺组织)做对照, 其中男性 6 例, 女性 4 例。

1.2 临床症状 99 例患者病程 1 周至 35 年, 其中无自觉症状者 26 例, 高血压 61 例, 腰区胀痛 27 例, 心慌 21 例, 胸闷 9 例, 四肢乏力 30 例, 肢端麻木 5 例, 多饮、多尿 3 例, 双下肢水肿 3 例, 性征异常 1 例, 多汗 7 例, 消瘦 1 例, 向心性肥胖、多毛 7 例, 面部色素沉着 1 例, 月经紊乱 2 例。

1.3 辅助检查 99 例肿瘤患者均经 B 超、CT 或 MRI 影像学确诊发现肾上腺占位, 并行血液生化检查, 血钾降低(<3.5 mmol/L)45 例, 24 h 尿香草扁桃酸(vanilmandelic acid, VMA)为 0.27~95 μg , 异常升高 7 例。血皮质醇为 21.42~640 $\mu\text{g/L}$, 升高 43 例。血 ACTH 为 2.3~134.8 ng/L, 升高 9 例。血醛固酮 11.2~1491 $\mu\text{g/L}$, 升高 31 例。

1.4 实验材料及方法 所有标本均用 10% 甲醛液固定并石蜡包埋, 5 μm 厚连续切片, S-P 免疫组化染色。相应免疫组化抗体、S-P 超敏试剂盒、DAB 显色试剂盒、多聚赖氨酸均购自福州迈新生物技术开发有限公司, 免疫组化程序按试剂盒说明书进行。以细胞核或细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性。

1.5 质量控制 取实验室内已知各抗体的肾上腺肿瘤阳性染色切片作阳性对照, 每批均设立空白对照(PBS 液替代一抗)、替代对照(以相应血清代替一抗)及阴性对照(已知正常组织的阴性切片)。病理诊断标准参照 WHO 肾上腺肿瘤的组织学分类, 病理及免疫组化结果均由病理专业医师复查后确诊。

1.6 统计学处理 所有资料应用 SAS 软件 v6.12 版分析处理, 以 $P<0.05$ 作为检验标准。

2 结果

阳性物均位于胞质内, 呈棕黄色。(1)正常肾上腺组织: 大部分为阴性表现。有 2 例 NSE 表现为阳性, 免疫阳性物质主要在球状带。部分可见 NSE 阳性神经纤维穿插于细胞间或沿血管分布。CgA 阳性物质不存在于皮质内。有 1 例 Syn 染色阳性, 主要在球状带和网状带。(2)皮质腺瘤患者中有 80.0%(72/90) NSE 染色为阳性, 48.9%(44/90) CgA 染色为阳性, 75.6%(68/90) Syn 染色为阳性(图 1A~1C)。(3)皮质腺癌患者中有 77.8%(7/9) NSE 染色为阳性, 22.2%(2/9) CgA 染色为阳性, 77.8%(7/9) Syn 染色为阳性(图 1D~1F)。在肾上腺皮质腺瘤与皮质腺癌之间, NSE、CgA、Syn 的表达没有显著差异($P>0.05$), 但均高于正常肾上腺组织($P<0.05$)。

3 讨论

NSE 是一种糖酵解酶, 正常存在于神经元内、周围神经组织内和神经内分泌组织特别是摄取胺并脱羧细胞(APUD)内。Syn 是目前发现的最显著的、特异的神经内分泌细胞标识物之一, 在已知的良恶性神经、上皮性质的神经内分泌肿瘤等均有表达^[3]。CgA 和 Syn 是共同存在于神经内分泌细胞和肿瘤中的物质, 可作为诊断神经内分泌肿瘤的特异性标志物。

本研究发现, 三种蛋白在肾上腺皮质肿瘤中均有大量表达, 在皮质腺瘤中 NSE、CgA、Syn 的阳性率分别为 79.4%、46.5%、71.9%, 在腺癌中则为 77.8%、22.2%、77.8%, 这与 Schroder 等^[4]的研究结果相似。证明肾上腺皮质肿瘤具有神经内分泌分化特性。

在本研究中, NSE、Syn 在正常肾上腺皮质组织中也有少量表达, 而 CgA 则无表达, 与 Haak 等^[5]的研究结果类似。因此正常的肾上腺皮质细胞可能也具有一定的神经内分泌特性。Haak 推测, 在正常肾上腺中存在一种胎儿肾上腺的残存物, 这种物质在胚胎发生时构成皮质的 80%, 但出生后很快消失。这些灶性细胞被认为是祖母细胞(干细胞), 因此正常的肾上腺皮质也可能具有一定的神经内分泌特性。若这些细胞过度克隆、分化, 就可能产生肿瘤。本研究发现, 3 种蛋白在肾上腺皮质腺瘤以及皮质腺癌中的表达要显著高于正常肾上腺组织。因此我们推测, 正常肾上腺皮质中具有神经内分泌特性细胞的异常增殖可能与皮质肿瘤的形成有关。

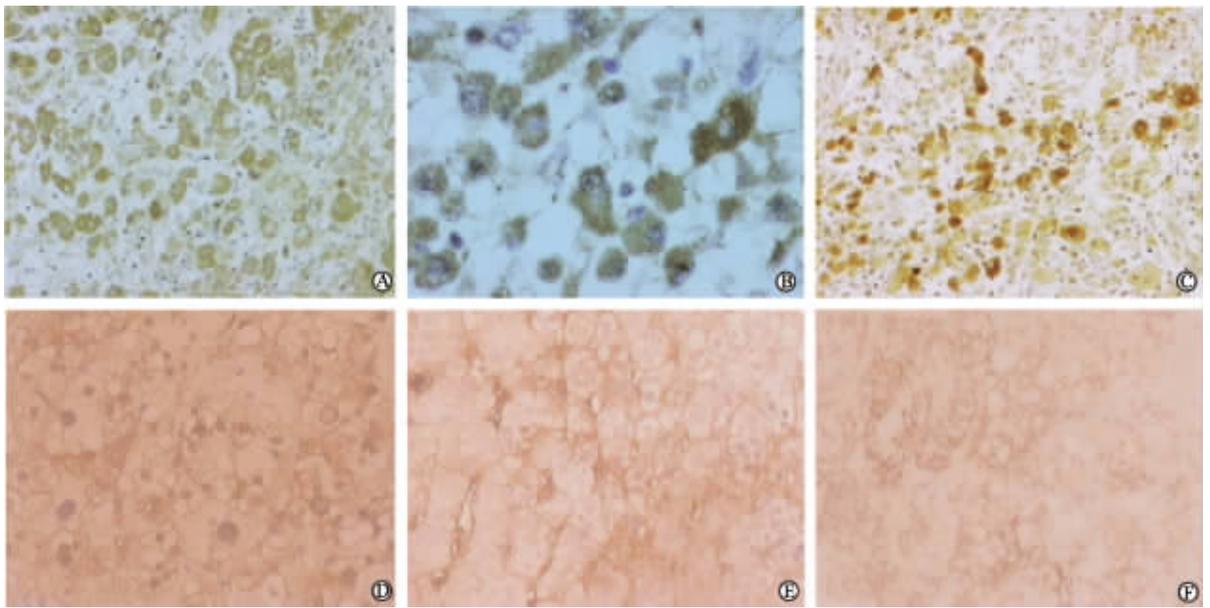


图 1 正常肾上腺、肾上腺皮质腺瘤和皮质腺癌的 NSE、CgA 和 Syn 染色结果

Fig 1 Staining results of NSE, CgA and Syn expression in normal adrenal cortex, adrenocortical adenomas and carcinomas(SP, × 400)

A: Adrenocortical adenomas NSE(+); B: Adrenocortical adenomas CgA(+); C: Adrenocortical adenomas Syn(+); D: Adrenocortical carcinomas NSE(+); E: Adrenocortical carcinomas CgA(+); F: Adrenocortical carcinomas Syn(+)

Ehrhart 等^[6]认为, DNES 是神经内分泌细胞的形态发生学及胚胎发生学的异型增殖, 通过合成具有生物活性的化学介质来调节靶器官的生长、发育及分化。肿瘤含有占主导地位的神内分泌细胞很常见也早有报道。以非神经内分细胞为主导的肿瘤也含有少量的神经内分细胞, 这是细胞异型分化的结果。

国内有研究^[2]提示肾上腺皮质增生的病例亦表现出神经内分特性, 且结节部位亦有皮质细胞的异常增生, 性质与腺瘤相似。因此提示肾上腺皮质腺瘤发生亦是皮质细胞的异常增生、分化, 肾上腺皮质肿瘤的发生学与 DNES 有着密切的关系。张利朝等^[7]同时检测了肾上腺皮质和髓质中 CgA、NSE 和 SYN 的表达, 发现这 3 种蛋白不仅在髓质中表现为强阳性表达, 而且在肾上腺肿瘤皮质中也可见 CgA、NSE 和 SYN 免疫组化染色阳性细胞, 认为这 3 种蛋白在肾上腺皮质肿瘤形成中起一定作用。在我们的研究中, 3 种内分特异性蛋白在肾上腺皮质腺瘤与腺癌中均有大量的表达, 两者之间的表达率无显著性差异, 这也进一步证明了肾上腺皮质腺瘤、腺癌的形成与其神经内分特性关系密切。

目前, DNES 与肾上腺皮质的关系, 神经内分因素在肾上腺皮质肿瘤发生中的作用仍没有定论。本研究通过对 99 例肾上腺皮质肿瘤的免疫组化分

析, 可以认为肾上腺皮质肿瘤的发生与发展同肾上腺皮质中的神经内分细胞的异常增殖有关, 抑制神经内分细胞的异常分化有助于预防和治疗肾上腺皮质肿瘤的形成。

(志谢 本文得到长征医院病理科李玉莉教授的极大帮助与支持, 在此表示感谢!)

[参考文献]

[1] Ehrhart-Bornstein M, Hilbers U. Neuroendocrine properties of adrenocortical cells[J]. Horm Metab Res, 1998, 30:436-439.

[2] 王 杰, 宿 飞, 程继义. 肾上腺皮质腺瘤与增生的神经内分分化特性[J]. 西北国防医学杂志, 2002, 23:265-267.

[3] Komminoth P, Roth J, Schroder S, et al. Overlapping expression of immunohistochemical markers and synaptophysin mRNA in pheochromocytomas and adrenocortical carcinomas[J]. Lab Invest, 1995, 72:424-431.

[4] Schroder S, Padberg B, Achilles E, et al. Immunohistochemistry in adrenocortical tumors: A clinicopathological study of 72 neoplasms[J]. Virchows Arch, 1992, 420:65-70.

[5] Haak H R, Flenren G J. Neuroendocrine differentiation of adrenocortical tumors[J]. Cancer, 1995, 75:860-864.

[6] Ehrhart Bornstein M, Hinson J P, Bornstein S R, et al. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis[J]. Endocr Rev, 1998, 19:101-143.

[7] 张利朝, 胡卫列, 廖秋灵, 等. 肾上腺髓质分泌物在皮髓质中分布特点的研究[J]. 中国医师杂志, 2006, 8:750.

[收稿日期] 2007-06-12

[修回日期] 2007-10-04

[本文编辑] 孙 岩