

· 临床研究 ·

## 性早熟女童血清 ghrelin 水平与生殖激素关系研究\*

罗小娟<sup>1▲</sup>, 陈蔚<sup>2</sup>, 曹科<sup>1</sup>, 徐霞<sup>3△</sup>

(1. 深圳市儿童医院检验科, 广东深圳 518026; 2. 深圳市儿童医院内分泌科, 广东深圳 518026; 3. 广州医学院检验系 510182)

**摘要:**目的 探讨性早熟女童血清生长激素释放肽(ghrelin)与生殖激素的关系。方法 将 87 例年龄在 5~9 岁的性早熟女童根据第二性征发育情况、骨龄、子宫、卵巢容积及促性腺激素释放激素(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, 34 例年龄相当的健康女童作为对照组, 采用夹心法酶联免疫吸附试验测定空腹血清 ghrelin 水平, 化学发光法测定雌二醇(E<sub>2</sub>)、黄体生成素(LH)、促卵泡激素(FSH)、泌乳素(PRL)、孕酮(PRGE)、睾酮(TSTO)及 GnRH 激发后的 LH<sub>30</sub>、LH<sub>60</sub>、LH<sub>90</sub>、FSH<sub>30</sub>、FSH<sub>60</sub>、FSH<sub>90</sub>。结果 ICPP 组血清 Log(ghrelin)为(2.728±0.304)ng/L, 明显高于对照组 [(2.567±0.304)ng/L, P<0.05]; PT 组血清 Log(ghrelin)为(2.613±0.300)ng/L, 与 ICPP 组和对照组比较差异均无统计学意义(P>0.05); Tanner II 期的 ICPP 女童 Log(ghrelin)为(2.733±0.356)ng/L 与 Tanner III 期(2.722±0.210)ng/L 比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 经双变量相关分析, 性早熟女童血清 ghrelin 水平与 E<sub>2</sub>、LH、FSH、PRL、PRGE、TSTO 和 GnRH 激发后的 LH<sub>30</sub>、LH<sub>60</sub>、LH<sub>90</sub>、FSH<sub>30</sub>、FSH<sub>60</sub>、FSH<sub>90</sub> 均无相关(P>0.05)。结论 ICPP 女童血清 ghrelin 水平显著高于对照组, 但性早熟女童血清 ghrelin 与生殖激素无相关性。

**关键词:**性早熟; 胃促生长素; 生殖激素; 女童

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.31.007

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)31-3257-03

## The study on relationship of serum ghrelin and reproductive hormones in girls with precocious puberty\*

Luo Xiaojuan<sup>1▲</sup>, Chen Wei<sup>2</sup>, Cao Ke<sup>1</sup>, Xu Xia<sup>3△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518026 China;

2. Department of Endocrinology, Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518026 China;

3. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Medical College, Guangzhou, Guangdong 510182, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship of serum ghrelin and reproductive hormones in girls with precocious puberty. **Methods** A total of 87 patients aged from 5 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. 34 cases age-matched healthy girls as control group. The serum ghrelin levels were measured by Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay, Estradiol(E<sub>2</sub>), Luteinizing hormone(LH), Follicle stimulating hormone(FSH), Prolactin(PRL), Progesterone(PRGE), Testosterone(TSTO) and LH<sub>30</sub>, LH<sub>60</sub>, LH<sub>90</sub>, FSH<sub>30</sub>, FSH<sub>60</sub>, FSH<sub>90</sub> stimulated by GnRH were measured by chemiluminescence immunoassay. **Results** Ghrelin levels in ICPP group was Log(2.728±0.304)ng/L, which was significantly higher than Log(2.567±0.304)ng/L in controls(P<0.05). Ghrelin levels in PT group were Log(2.613±0.300)ng/L, there was no significant difference between PT group and ICPP, PT and controls(P>0.05). Ghrelin levels of ICPP girls with Tanner II were Log(2.733±0.356)ng/L, showed no significant difference with Log(2.722±0.210)ng/L of Tanner III. By bivariate correlation analysis, no significant correlation was found between ghrelin and E<sub>2</sub>, LH, FSH, PRL, PRGE, TSTO and LH<sub>30</sub>, LH<sub>60</sub>, LH<sub>90</sub>, FSH<sub>30</sub>, FSH<sub>60</sub>, FSH<sub>90</sub> stimulated by GnRH(P>0.05). **Conclusion** Ghrelin levels in ICPP group were significantly higher than those in controls. There is no significant correlation between ghrelin and reproductive hormones in girls with precocious puberty.

**Key words:** precocious puberty; ghrelin; reproductive hormones; girls

1999年,生长激素释放肽(ghrelin)首先从大鼠胃组织中得到分离和纯化,随后研究发现 ghrelin 在肠道、胰腺、肾、甲状腺、睾丸、卵巢、脑垂体、下丘脑等组织中也有表达,发挥广泛的生理学功能<sup>[1-4]</sup>。最新研究表明,ghrelin 可能作为一个全新的促性腺轴调节因子,参与下丘脑-垂体-性腺轴的调控<sup>[4]</sup>。目前,ghrelin 水平在矮小和肥胖儿童研究较多<sup>[5-7]</sup>,对性早熟儿童研究甚少。本研究通过测定性早熟女童血清 ghrelin 水平,分析 ghrelin 与生殖激素的关系,探讨 ghrelin 在性早熟女童生

殖激素分泌和调控中的作用,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2011 年 7 月 1 日至 2011 年 9 月 1 日,因 8 岁之前出现乳房发育或 10 岁之前出现月经初潮,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 87 例,患儿年龄 5~9 岁,检测骨龄大于或等于年龄 1 岁。并随机选取同期于该院儿童保健科常规体检 5~9 岁,身高和性发育正常的健康青春前期女童 34 例作为对照组。

## 1.2 方法

**1.2.1 生长发育评价及相关筛查** 性早熟女童均于入院时测量身高、体质量,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 Tanner 和 Whitehouse 提出的 TW3 法评估骨龄;盆腔 B 超了解子宫、卵巢、卵泡的发育。筛查肝、肾功能、甲状腺功能、促肾上腺皮质激素、皮质醇,必要时进行腹部 B 超、下丘脑垂体 CT 或 MRI 以排除先天性甲状腺功能低下、先天性肾上腺皮质增生症、肾上腺肿瘤、下丘脑-垂体肿瘤等。

**1.2.2 化验及检查** 性早熟女童均于上午 8:00~10:00 空腹采集静脉血,采用全自动化学发光仪(ADVIA Centaur XP)及配套试剂(西门子医学诊断产品有限公司提供)测定雌二醇( $E_2$ )、黄体生成素(LH)、促卵泡激素(FSH)、泌乳素(PRL)、孕酮(PRGE)、睾酮(TSTO),灵敏度分别为 7.0 pg/mL、0.07 IU/L、0.3 IU/L、0.3 ng/mL、0.21 ng/mL、0.35 nmol/L,如在测定值以下,按最小测定值计算。同时收集血清于 -70℃ 冰箱冻存(用于批量检测 ghrelin)。然后进行促性腺激素释放激素(GnRH)激发试验:戈那瑞林 2.5  $\mu$ g/kg(最大量小于 100  $\mu$ g)稀释后静脉注射,注射后 30、60、90 min 留血清,采用化学发光法测定 GnRH 激发后的 LH<sub>30</sub>、LH<sub>60</sub>、LH<sub>90</sub> 及 FSH<sub>30</sub>、FSH<sub>60</sub>、FSH<sub>90</sub>。采用 MB-580 多功能酶标分析仪(深圳汇松科技发展有限公司生产)及人血清 ghrelin 酶联免疫分析试剂盒(美国 R&D 公司生产)批量测定 ghrelin 水平,操作严格按照试剂盒说明书进行,结果判定以酶标仪读数为准。血清 ghrelin 水平包括有活性的 N 端酰基化 ghrelin 和无活性的 N 端去酰基化 ghrelin,测定灵敏度为 15 ng/L。

**1.2.3 分组** 经上述病史采集及全面的体格检查,根据下丘脑-垂体-性腺轴是否提前激活(GnRH 激发试验),按照 2007 年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)性早熟诊治指南标准<sup>[8]</sup>,将 87 例性早熟女童分为特发性中枢性性早熟(ICPP)组 53 例和单纯乳房早发育(PT)组 34 例,并随机选取同期于本院儿童保健科常规体检 5~9 岁,身高和性发育正常的健康青春前期女童 34 例作为对照组。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 版统计学软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析(两两比较采用 LSD-*t* 检验);两组之间比较采用独立样本 *t* 检验;性早熟女童血清 ghrelin 水平与性激素的关系采用双变量相关分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 ICPP、PT 与对照组女童血清 Log(ghrelin)水平比较结果** 经方差分析,3 组年龄均值差异无统计学意义( $P > 0.05$ );3 组血清 Log(ghrelin)均值不完全相等( $P < 0.05$ ),ICPP 组明显高于对照组( $P < 0.05$ ),PT 组与 ICPP 组和对照组比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

**2.2 Tanner II 期 ICPP 女童 ghrelin 与 Tanner III 期比较结果** Tanner II 期 ICPP 女童 ghrelin 与 Tanner III 期比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

**2.3 性早熟女童血清 Log(ghrelin)水平与性激素的关系** 血清 ghrelin、 $E_2$ 、LH、FSH、PRL、PRGE、TSTO、GnRH 激发后的 LH<sub>30</sub>、LH<sub>60</sub>、LH<sub>90</sub> 及 FSH<sub>30</sub>、FSH<sub>60</sub>、FSH<sub>90</sub> 数值均呈偏态分布,经以 10 为底的对数转换后数据符合正态分布;采用双变量相关分析,血清 ghrelin 水平与  $E_2$ 、LH、FSH、PRL、PRGE、TSTO、GnRH 激发后的 LH<sub>30</sub>、LH<sub>60</sub>、LH<sub>90</sub>、FSH<sub>30</sub>、FSH<sub>60</sub>、FSH<sub>90</sub>

均无相关性( $P > 0.05$ ),见表 3、4。

表 1 3 组女童血清 Log(ghrelin)水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	Log(ghrelin)(ng/L)
ICPP 组	53	7.87±0.58	2.728±0.304*
PT 组	34	7.61±0.53	2.613±0.300
对照组	34	7.64±0.73	2.567±0.304
<i>F</i>		2.515	3.298
<i>P</i>		0.116	0.040

\*: $P=0.017$ ,与对照组比较。

表 2 不同 Tanner 期 ICPP 女童血浆 Log(ghrelin)水平( $\bar{x} \pm s$ )

Tanner 分期	<i>n</i>	年龄(岁)	Log(ghrelin)(ng/L)
II	32	7.75±1.19	2.733±0.356
III	21	8.00±1.22	2.722±0.210
<i>t</i>		-0.739	0.138
<i>P</i>		0.463	0.891

表 3 性早熟女童血清 Log(ghrelin)水平与性激素的关系

相关性	$E_2$	LH	FSH	PRL	PRGE	TSTO
<i>r</i>	0.008	-0.042	0.002	0.048	-0.021	-0.161
<i>P</i>	0.944	0.701	0.986	0.661	0.846	0.139

表 4 性早熟女童血清 Log(ghrelin)水平与 GnRH 激发试验后性激素的关系

相关性	LH <sub>30</sub>	LH <sub>60</sub>	LH <sub>90</sub>	FSH <sub>30</sub>	FSH <sub>60</sub>	FSH <sub>90</sub>
<i>r</i>	-0.079	0.071	0.086	0.054	0.071	0.078
<i>P</i>	0.467	0.514	0.426	0.618	0.514	0.471

## 3 讨论

ghrelin 是近年来新发现的一种小分子活性肽,已被证实为生长激素分泌物质受体(GHS-R)的内源性配体,因具有促进生长激素(GH)释放的作用而将其命名为 ghrelin,主要由胃底的 X/A 样细胞分泌,随血流分布而作用于下丘脑弓状核和垂体。2003 年,Gaytan 等<sup>[9]</sup>首次发现 ghrelin 及其受体蛋白在人类卵巢中的表达并精确定位。新近研究表明 ghrelin 除了促进 GH 释放和参与调节摄食行为外,可能作为一个全新的促性腺轴调节因子,参与青春期发育的启动及内分泌调控。ghrelin 在人类正常生长发育过程中的作用还不完全清楚。Whatmore 等<sup>[10]</sup>对 121 名 5~18 岁健康儿童青少年研究显示,血清 ghrelin 与年龄、青春期进程呈负相关,青春前期比青春前期有更高的 ghrelin 水平。本研究结果显示 ICPP 女童血清 ghrelin 水平显著高于对照组,与正常青春期发育不同,这可能与异常性启动(性早熟)有关,但是,ghrelin 水平的改变是性早熟导致的结果或是原因,需要进一步对其调控机制进行深入的研究。

目前 ghrelin 与生殖激素的相关报道多限于动物实验或小样本人类研究,且结论尚有争议,其生理学意义亦不明确。国外有文献报道,给成年雌大鼠脑室注射 ghrelin,可抑制大鼠整个发情周期 LH 的分泌,而对卵巢切除的雌大鼠,LH 和 GnRH 的分泌均受到抑制;体外实验却相反,ghrelin 则剂量依赖地刺激垂体组织基础 LH 和 FSH 的分泌<sup>[11-12]</sup>。另外,不管在雌大鼠发情周期的哪一个阶段,ghrelin 均可抑制 GnRH 激发

的 LH 的分泌,而仅仅在发情期抑制 FSH 的分泌。重复给予 ghrelin,对青春过渡期雄鼠而言,能显著降低血清 LH、TSTO 水平,并部分地延迟青春期启动;而对雌鼠,并不能改变血清促性腺激素、雌激素水平和青春期启动时间。Iqbal 等<sup>[13]</sup>在绵羊第三脑室注射 ghrelin,显著降低血浆 LH 水平,但对催乳素、皮质醇无影响。Kluge 等<sup>[14]</sup>对 10 名健康男性研究显示:给予 ghrelin,能显著降低血浆 LH、TSTO 平均水平,延迟 LH 释放并降低其脉冲幅度。然而, Messini 等<sup>[15]</sup>对 10 名有正常月经周期的妇女研究显示:在月经周期第 3 天、卵泡后期、黄体中期分别静脉注射 ghrelin,血清 FSH、LH、E<sub>2</sub>、PRGE 基础值并未改变,对 GnRH 激发的 LH 和 FSH 分泌也无影响。同样, Lebenthal 等<sup>[16]</sup>研究显示,给予男童药理剂量的睾酮(达到青春期水平),能显著降低其 ghrelin 水平,但给予 E<sub>2</sub>,女童却无上述改变,并且男童和女童 ghrelin 水平都与性激素无相关。上述研究因研究对象(鼠、羊、人,性别,年龄,个体完整与否), ghrelin 剂量,体内、外试验不同,结果不尽相同。这表明 ghrelin 生物学功能及对生殖激素调控的复杂性,本研究显示 ICPP 女童血清 ghrelin 水平与生殖激素 E<sub>2</sub>、LH、FSH、PRL、PRGE、TSTO、GnRH 激发后的 LH 及 FSH 均无相关性。推测 ghrelin 在性早熟女童生殖激素分泌方面并未起主要的生理或病理调控作用。目前, ghrelin 和生殖激素的相互关系仍需要大样本多中心研究,并且需对整个青春发育期进行更深入的纵向研究。

#### 参考文献:

- [1] Korbonits M, Grosman AB. Ghrelin: update on a novel hormonal system[J]. *Eur J Endocrinol*, 2004, 151 Supple 1: S67-70.
- [2] Tena-Sempere M. Exploring the role of ghrelin as novel regulator of gonadal function[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2005, 15(2): 83-88.
- [3] Chanone JP. Ghrelin in growth and development [J]. *Horm Res*, 2005, 63(3): 129-138.
- [4] Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis[J]. *Vitam Horm*, 2008, 77: 285-300.
- [5] Iniguez 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.
- [6] 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 in-

gestion[J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(2): 117-123.

- [7] 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.
- [8] 王慕逊, 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.
- [9] 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.
- [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] Fernandez-Fernandez R, Tena-Sempere M, Navarro VM, et al. Effects of ghrelin upon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin secretion in adult female rats: in vivo and in vitro studies[J]. *Neuroendocrinology*, 2005, 82(5/6): 245-255.
- [12] Fernandez-Fernandez R, Navarro VM, Barreiro ML, et al. Effects of chronic hyperghrelinemia on puberty onset and pregnancy outcome in the rat [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(7): 3018-3025.
- [13] Iqbal J, Kurose Y, Canny B, et al. Effects of central infusion of ghrelin on food intake and plasma levels of growth hormone, luteinizing hormone, prolactin, and cortisol secretion in sheep [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(1): 510-519.
- [14] Kluge M, Schussler P, Uhr M, et al. Ghrelin suppresses secretion of luteinizing hormone(LH) in humans[J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(8): 3202-3205.
- [15] Messini CI, Dafopoulos K, Chalvatzas N, et al. Effect of ghrelin on gonadotrophin secretion in women during the menstrual cycle[J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(4): 976-981.
- [16] Lebenthal Y, Gat-Yablonski G, Shtaf B, et al. Effect of sex hormone administration on circulating ghrelin levels in prepubertal children [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 91(1): 328-331.

(收稿日期: 2012-04-31 修回日期: 2012-07-16)

(上接第 3256 页)

- disease and steatohepatitis[J]. *Ugeskr Laeger*, 2012, 174(8): 488-490.
- [11] 叶小峰, 张中平. 中西医结合治疗对非酒精性脂肪肝患者肝纤维化的影响[J]. *实用临床医药杂志*, 2011, 15(24): 130-131.
- [12] 王昊. 中西医结合治疗非酒精性脂肪肝 112 例疗效分析[J]. *中国现代医生*, 2009, 47(22): 55-56.
- [13] 林仕群. 中西医结合治疗脂肪肝的疗效观察[J]. *临床合*

理用药, 2010, 3(9): 19-20.

- [14] 王光尚. 中西医结合治疗脂肪肝 66 例的疗效观察[J]. *广西医学*, 2011, 33(10): 1389-1390.
- [15] Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, et al. Natural course of nonalcoholic fatty liver disease in southern China: A prospective cohort study[J]. *J Dig Dis*, 2012, 13(3): 153-160.

(收稿日期: 2012-05-17 修回日期: 2012-06-25)