

雌激素受体 β 表达与良性前列腺增生症组织炎症 临床病理特征的关系*

郭建兵¹, 陈泽昱¹, 赵瑞宁², 曹德宏¹, 杨璐¹, 曾浩¹, 董强¹, 柳良仁^{1△}, 魏强¹

1. 四川大学华西医院 泌尿外科/泌尿外科研究所(成都 610041); 2. 宁夏医科大学总医院 泌尿外科(银川 75004)

【摘要】 目的 探讨良性前列腺增生症(BPH)中前列腺组织炎症的临床病理特征与雌激素受体 β (ER β)表达的关系。**方法** 纳入2012年2~12月行经尿道前列腺电切术的BPH患者50例,收集临床资料,并将切除的前列腺组织行HE染色与ER β 免疫组织化学染色,按组织炎症分级进行分组分析BPH组织炎症的病理学特征及其与ER β 表达的关系。**结果** HE染色示45例(90%)患者的前列腺组织发现伴有慢性组织炎症,其中轻度炎症发生率62%(31/50),中度炎症发生率20%(10/50),重度炎症发生率8%(4/50)。组织炎症程度越严重,其血清前列腺组织特异性抗原(PSA)水平越高,前列腺体积越大,最大尿流率越低($P<0.05$)。免疫组化染色进一步发现BPH组织炎症处100%(45例)表达ER β ,在不同炎症程度的BPH组织中,组织炎症严重程度愈强,ER β 的表达愈弱($\chi^2=13.646, P=0.034$),ER β 的表达与组织炎症的严重程度呈负相关($r=-0.721, P=0.016$)。**结论** 组织炎症在BPH前列腺组织中广泛存在,且前列腺炎症程度越严重,ER β 表达越低。

【关键词】 良性前列腺增生症 ER β 组织炎症

良性前列腺增生症(benign prostatic hyperplasia, BPH)是老年男性的常见疾病,但是其发病机制目前尚不明确。年龄与有功能的睾丸被认为是BPH发病的重要危险因素^[1]。近些年来,越来越多的临床与基础研究表明慢性前列腺组织炎症可能是造成BPH发病的另一危险因素^[2]。然而,目前对于BPH组织炎症的发生、进展等关键问题并不明确。动物实验发现成年大鼠接受大剂量雌激素刺激之后,可诱导前列腺组织出现明显的增生,并伴发慢性自发性炎症^[3]。因此,雌激素与前列腺组织炎症、BPH发病具有重要联系。目前研究发现雌激素受体(estrogen receptor, ER) α 可诱导小鼠前列腺组织炎症^[3],但是对于ER β 在BPH前列腺组织中的表达情况及其与组织炎症的关系,目前尚不明确。因此,本研究分析BPH前列腺组织中ER β 的表达情况,了解前列腺组织中ER β 的表达,这对于了解慢性前列腺组织炎症的发病机制及发现新的治疗靶点具有重要意义。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集于2012年2~12月于四川大学华西医院泌尿外科住院行经尿道前列腺电切术治疗的BPH症患者组织标本。排除标准:①前列腺癌患者;②曾接受前列腺穿刺或手术患者;③尿常规中白细胞异常患者;④反复尿路感染患者;⑤尿道狭窄等尿道疾病患者;⑥留置尿管患者;⑦有其他重大疾病不适于手术患者。所有标本均取自术中。术中采用

无菌操作获得标本后,采用生理盐水冲洗血迹后,体积分数为4%多聚甲醛固定24 h。

1.2 临床资料的收集

所有患者均收集年龄、性别、身高、体质量、既往史及现病史等资料,以及术前血清前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)水平、前列腺体积、最大尿流率、膀胱容量、残余尿量,国际前列腺症状评分(international prostate symptom score, IPSS)等临床信息。

1.3 HE染色

取术中标本制成石蜡切片,常规HE染色。根据2001年北美慢性前列腺炎协作网和国际前列腺炎协作网推荐的组织学分类将病理学切片进行组织炎症分级^[4],按组织炎症分级进行分组,从低到高依次为G0组(无炎症)、G1组(轻度炎症)、G2组(中度炎症)、G3组(重度炎症)。

1.4 免疫组织化学染色和评分判定

抗ER β 抗体购自加拿大BioGenex公司;EnVision试剂盒购自丹麦DAKO公司;具体操作步骤如下:石蜡组织切片;3%过氧化氢室温避光处理20 min; pH 9.0 Tris-EDTA抗原修复液95℃孵育箱孵育40 min;3%正常羊血清处理;第一抗体,37℃,30 min,4℃过夜;EnVision处理液37℃,30 min;DAB显色,苏木素复染;1%盐酸酒精15 s,自来水流水20 min;梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂封片。随机选取5个400倍镜视野,分别计数阳性细胞数与阴性细胞数。根据着色强度分为:阴性(0分)、弱阳性(1分)、中等阳性(2分)、强阳性(3分);采用H-score评分标准:H-score=阳性强度/100个总细胞中的阳性细胞数目。然后将H-score结果作为免疫组织化学染色评分标准:阴性(-): ≤ 50 ,弱阳性(+):51~100,中等阳性(++):101~200,强阳性(+++):201~300。读片由一名泌尿外科医生与一名病理科医生共同读片,如有争议,由与高年资病理科

* 国家自然科学基金(No. 81370855, No. 81200551, No. 81460148),四川省科技厅课题(No. 2015SZ0230),四川省卫计委科研课题(No. 16PJ297),四川省卫计委2015年卫生计生适宜技术推广项目资助和四川大学华西医院1·3·5工程项目资助

△ 通信作者, E-mail: liuliangren5-17@163.com

医生商量后决定。

1.5 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 各组间比较采用方差分析(ANOVA); 计数资料采用频数描述, 组间比较采用卡方检验; 相关分析采用 Spearman 相关, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本特征与炎症程度的关系

见表 1。共纳入 50 例进行经尿道前列腺电切术的 BPH

患者, 其中 45 例(90%)存在组织炎症(G1~G3)。G0 组占 10%(5/50); G1 组占 62%(31/50); G2 组占 20%(10/50); G3 组占 8%(4/50)。

随着炎症分级从 G0~G3 组的逐步升高, 血清 PSA 水平逐渐增高($P < 0.05$); G0 组到 G2 组前列腺体积增加($P < 0.05$); G0 组到 G2 组年龄变化不明显, 仅 G3 组年龄大于前 3 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); G0 组与 G1 组的最大尿流率无明显差异, G2 组、G3 组则逐步下降($P < 0.05$); G0 组与 G1 组的 IPSS 评分无明显差异, G2、G3 组则逐步升高($P < 0.05$)。

表 1 纳入患者的基本信息

项目	G0 组($n=5$)	G1 组($n=31$)	G2 组($n=10$)	G3 组($n=4$)
年龄/岁	68.20 $\pm$ 5.62	67.10 $\pm$ 8.45	67.90 $\pm$ 6.45	72.10 $\pm$ 5.12*
血清 PSA/(ng/mL)	2.03 $\pm$ 1.03	3.06 $\pm$ 2.92*	6.54 $\pm$ 3.86*·#	9.96 $\pm$ 4.26*·#·\$
前列腺体积/mL	38.50 $\pm$ 6.50	42.70 $\pm$ 4.32	46.10 $\pm$ 5.35*·#	45.30 $\pm$ 12.30*
最大尿流率/(mL/s)	8.21 $\pm$ 2.86	8.30 $\pm$ 3.15	7.50 $\pm$ 1.20*	5.90 $\pm$ 3.12*·#·\$
IPSS 评分	19.30 $\pm$ 7.35	19.10 $\pm$ 2.19	23.90 $\pm$ 5.72*	27.70 $\pm$ 5.13*·#·\$

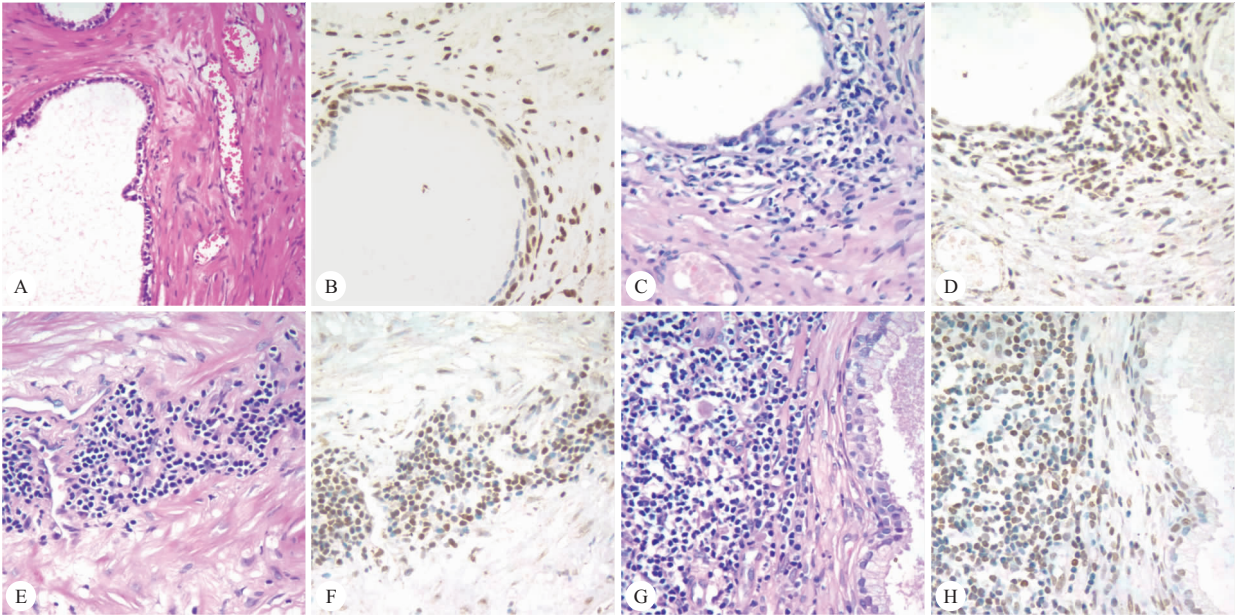
* $P < 0.05$, 与 G0 组比较; # $P < 0.05$, 与 G1 组比较; \$ $P < 0.05$, 与 G2 组比较

2.2 BPH 组织中 ER β 的表达

见附图。ER β 在 BPH 组织炎症处均有表达, 其主要表达于细胞核; 上皮细胞与基质细胞均有表达, 上皮细胞以基底上皮细胞为主。HE 染色中, 在 BPH 慢性炎症区域, 炎症细胞数量明显增加, ER β 阳性细胞明显富集; 在非炎症细胞

聚集区域, ER β 阳性细胞散在于组织间。

见表 2。在不同炎症程度的 BPH 组织中, 炎症程度愈强, ER β 的表达愈弱($\chi^2 = 13.646, P = 0.034$); ER β 的表达与炎症的严重程度呈负相关($r = -0.721, P = 0.016$), 差异有统计学意义。



附图 BPH 手术组织中 HE 染色($\times 400$)与 ER β 免疫组织化学染色(Envision $\times 400$)
A、B: G0 组; C、D: G1 组; E、F: G2 组; G、H: G3 组

炎性程度分组	ER β 表达			
	— ($n=0$)	— ($n=18$)	++ ($n=24$)	+++ ($n=8$)
G0 ($n=5$)	0	1	1	3
G1 ($n=31$)	0	9	19	3
G2 ($n=10$)	0	5	3	2
G3 ($n=4$)	0	3	1	0

3 讨论

BPH 是老年男性的常见疾病, 其在 50 岁男性的发病率约 50%, 60 岁男性的发病率约 60%, 90 岁男性发病率约 100%^[1]。但是其目前发病原因并不明确。长期以来, 学者认为年龄与有功能的睾丸是男性 BPH 发病的重要危险因

素。然而,老年男性随着年龄增长,睾丸功能逐渐减退,睾丸所分泌的睾酮、雌激素水平明显下降。但是由于老年男性体内芳香化酶的作用,睾酮经芳香化酶作用转化为雌激素,男性体内的睾酮水平保持稳定或稍增高,从而老年男性体内出现了雌激素/睾酮比值水平增高的现象^[5]。同时,BPH好发于睾酮水平减退的老年男性,而未发生在睾酮水平较高青年男性。可见,除睾酮等雄激素外,雌激素在老年男性 BPH 的发病过程中亦发挥着重要作用。PRINSA 等^[5]通过研究提出老年男性体内不断增长的雌激素/睾酮比值刺激了前列腺组织,导致了前列腺组织“生长在唤醒”,最终导致了 BPH。可见,研究雌激素与 BPH 的关系对于了解 BPH 的发病至关重要。

国外研究发现 42.8%~77.6% 的 BPH 组织具有慢性组织炎症,且慢性组织炎症与 BPH 患者的症状呈正相关^[6-7]。本研究发现 90%(45 例)BPH 手术组织具有组织学慢性炎症,且伴有慢性炎症的 BPH 患者,其 PSA 水平更高,前列腺体积更大,症状更为严重,这可能与本研究纳入患者均为具有手术适应症的 BPH 患者有关,而文献^[1]纳入的患者均为进行药物治疗的 BPH 患者。相比药物治疗适应症的 BPH 患者,具有手术适应症的患者往往前列腺体积更大,PSA 更高,且症状更为严重。

有研究认为Ⅳ型慢性前列腺炎是导致 BPH 发病的第三个重要危险因素^[2,8],但是,BPH 的Ⅳ前列腺炎如何发生、如何进展等关键问题,目前尚未阐明。体外实验证实雌激素可诱导前列腺基质细胞成纤维细胞生长因子(FGF)-2、FGF-7、转化生长因子(TGF) β 1 等生长因子分泌增加,并促进前列腺细胞增殖。虽然雌激素在体外试验中未发现具有促进上皮细胞增殖的作用,但是其所分泌的 FGF-2 等生长因子,具有促进基质细胞增殖的作用^[9]。同时,动物实验证实大鼠接受长时间雌激素干预后,其前列腺组织局部表现为前列腺增生、鳞状化生与自发性炎症的发生。为避免动物体内性腺轴的影响,BIANCO 等^[3]采用性腺轴机能减退和芳香酶过度表达的动物模型,发现雌激素亦具有促进前列腺局部炎症发生的作用。因此,雌激素可能具有诱导前列腺组织炎症,并促进前列腺细胞增殖的功能。

研究发现前列腺组织中具有 ER β 的表达,但目前对于 ER β 的具体表达位置尚存在争议^[5,9]。本研究免疫组化染色发现:BPH 组织炎症(45 例)处 ER β 100% 表达,ER β 的主要表达位置为前列腺基底上皮细胞的细胞核与基质细胞的细胞核。同时,HE 染色发现发生前列腺组织炎症的区域,淋巴细胞明显富集,相关分析发现其炎症区域内 ER β 表达与炎症程度呈负相关,这提示 ER β 可能与前列腺慢性组织炎症具有重要联系。但是,研究发现雌激素刺激 ER β 基因敲除小鼠,小鼠前列腺表现出前列腺肥大与组织炎症,而雌激素刺激 ER α 基因敲除小鼠,前列腺表现并未表现出前列腺组织炎症^[5,10]。因此,部分学者怀疑 ER α 介导了小鼠前

列腺组织中的慢性组织炎症的作用,而 ER β 可能发挥减缓或抑制炎症^[10]。

总之,本研究发现人类 BPH 手术标本中 ER β 与前列腺组织慢性组织炎症呈负相关,再次证实 ER β 可能在老年 BPH 患者前列腺内,雌激素可能通过 ER β 发挥减缓或抑制前列腺组织炎症的作用。本研究仅为观察性研究,研究组目前正在通过细胞实验及动物实验进一步验证该结论,期待能够为 BPH 患者提供新的治疗靶点及疾病防治新思路。

参 考 文 献

- [1] LIM KB. Epidemiology of clinical benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol*,2017,4(3):148-151.
- [2] NICKEL JC, ROEHRBORN CG, O'LEARY MP, *et al*. The Relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms:examination of baseline data from the REDUCE Trial. *Eur Urol*,2008,54(6):1379-1384.
- [3] BIANCO JJ, HANDELSMAN DJ, PEDERSEN JS, *et al*. Direct response of the murine prostate gland and seminal vesicles to estradiol. *Endocrinology*,2002,143(12):4922-4933.
- [4] 杨 璐,赵 凯,张 奥,等.良性前列腺增生与前列腺癌之间组织炎症的病理学特征和差异. *四川大学学报(医学版)*,2013,44(5):760-763.
- [5] PRINSA GS, KORACH KS. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids*,2008,73(3):233-244.
- [6] FENG T, HOWARD LE, VIDAL AC, *et al*. Serum cholesterol and risk of lower urinary tract symptoms progression: results from the reduction by dutasteride of prostate cancer events study. *Int J Urol*,2017,24(2):151-156.
- [7] GANDAGLIA G, BRIGANTI A, GONTERO P, *et al*. The role of chronic prostatic inflammation in the pathogenesis and progression of benign prostatic hyperplasia (BPH). *BJU Int*,2013,112(4):432-441.
- [8] TAOKA R, KAKEHI Y. The influence of asymptomatic inflammatory prostatitis on the onset and progression of lower urinary tract symptoms in men with histologic benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol*,2017,4(3):158-163.
- [9] WU Q, SHI J, CHEN L, *et al*. Regulation of proliferation and differentiation of prostatic stromal cells by oestradiol through prostatic epithelial cells in a paracrine manner. *BJU Int*,2008,101(4):497-502.
- [10] MIZOGUCHI S, MORI K, WANG Z, *et al*. Effects of estrogen receptor β stimulation in a rat model of non-bacterial prostatic inflammation. *Prostate*,2017,77(7):803-811.

(2018-06-27 收稿,2018-10-30 修回)

编辑 吕 熙