

磷酸二酯酶 5(PDE5)在人增生前列腺移行带中的表达及分布 *

忻志祥¹ 王大伟² 盛 畅² 徐 晨³ 鲁 军^{1△}

(1 上海交通大学第一人民医院泌尿外科 上海交通大学泌尿外科研究所 上海 200080 ;

2 上海浦东新区人民医院 上海 201200 ; 3 上海交通大学医学院组织学与胚胎学教研室 上海 20050)

摘要 目的 探讨磷酸二酯酶 5 在人前列腺移行带组织中的表达与分布。方法 应用免疫组化 SP 法 ,选择前列腺增生患者 34 例 ,检测 PDE5 表达及分布。结果 34 例标本中 PDE5 均呈阳性表达。PDE5 在前列腺移行带的腺组织上皮普遍呈中等表达 ,间质部分弱表达。结论 PDE5 在人增生前列腺组织中分布 ,但分布不均 ,表明不同 PDE5 可能行使不同的功能。

关键词 磷酸二酯酶 5 ,前列腺增生 ,免疫组化

中图分类号 :R697.32 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2012)18-3538-03

Expression and Distribution of Phosphodiesterase type 5 (PDE5) in the Transitional Zone of Benign Prostatic Hyperplasia*

XIN Zhi-xiang¹, WANG Da-wei², SHENG Chang², XU Chen³, LU Jun^{1△}

(1 Department of Urology, Shanghai First People's Hospital, Institute of Urology, Shanghai jiaotong University, Shanghai 200080, China;

2 Shanghai Pudong New Area People's Hospital 201200; 3 Dept. of Histology and Embryology, Shanghai Jiaotong University, 20050, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the Expression and Distribution of Phosphodiesterase 5 (PDE5) in the transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia. **Methods:** The immunohistochemical SP method was used to detect the expression of PDE5 in the transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia. **Results:** All sections were immunopositive for PDE5. The immnuointensity of PDE 5 was relatively moderate in the epithelium of glandular structures. In contrast, PDE5 showed immunoactivity in the fibromuscular stroma but its immnuointensity was faint. **Conclusion:** PDE5 is widely distributed in the transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia, but the distribution is not even, indicating that different PDE5 may execute the different functions.

Key words: Phosphodiesterase 5; Benign Prostatic Hyperplasia; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification: R697.32 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3538-03

前言

前列腺增生(BPH)是中老年男性下尿路症状(LUTS)的最常见原因,其发病率随年龄增长而逐年增高,严重影响老年男性的生活质量。目前临床上常用的药物为 α 受体阻滞剂和5 α 还原酶抑制剂。 α 受体阻滞剂通过阻滞分布在前列腺及膀胱颈平滑肌表面的 α 肾上腺素受体,松弛膀胱颈部与前列腺内平滑肌,降低后尿道压力及排尿阻力,缓解流出道梗阻动力性因素。5 α 还原酶抑制剂能选择性地抑制5 α 还原酶,阻止睾酮转化为双氢睾酮,缩小前列腺体积,解除梗阻症状^[1]。然而,仍有20%患者需通过手术治疗缓解症状^[2]。

晚近,研究表明一氧化氮/环磷酸鸟苷(NO/cGMP)信号通路密切参与下尿路的调控^[3]。一氧化氮(NO)在局部生成、扩散后,与鸟苷酸环化酶结合并激活鸟苷酸环化酶,催化GTP转化为cGMP,激活依赖cGMP的蛋白激酶(protein kinaseG, PKG),介导膀胱颈、前列腺平滑肌舒张^[4-10]。PDEs是一个超级酶家族,分为11个家族,其中PDE5特异性催化cGMP水解^[11]。

Jckert等^[12]通过对前列腺癌对侧叶正常组织行免疫荧光实

验,结果显示PDE5大量分布于前列腺移行带的腺组织中。然而,关于PDE5在人增生前列腺移行带中的表达及分布尚无文献报道,本研究采用免疫组织化学法观察PDE5在人增生前列腺移行带中表达,为临床治疗BPH/LUTS提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集上海交通大学附属第一人民医院2009年8月至2011年8月期间耻骨上前列腺增生剜除术手术病例34例。患者均为有症状的BPH患者。均行直肠指诊(DRE)、经直肠超声检查(TRUS)、国际前列腺症状评分(IPSS)、生活质量评分(QOL)、血前列腺特异性抗原(PSA)检查。所有标本均经10%福尔马林固定,常规脱水,石蜡包埋切片,4 μ m厚,行HE染色镜检观察,确诊。作免疫组化化学标记,采用SP法,所用PDE5A(K-20)抗体试剂,购于美国SANTA CRUZ公司。二抗HRP抗体购于丹麦DAKO公司。

1.2 实验方法

组织样本10%福尔马林固定过夜,冲洗,酒精梯度脱水,浸

* 基金项目 浦东新区科技发展基金创新资金(PKJ2009-Y-29)

作者简介:忻志祥(1986-)男,硕士研究生,主要研究方向:男性功能障碍、男性下尿路症状基础研究

Δ 通讯作者:鲁军,电话:021-63240090 E-mail: 842320@163.com

(收稿日期:2012-02-23 接受日期:2012-03-18)

腊,石蜡包埋,在石蜡切片机中切成 5μm 厚切片,置于载玻片上。切片经梯度酒精脱蜡至水,3%双氧水阻断内源性过氧化物酶,0.01M 枸橼酸钠抗原修复 15min,10%牛血清蛋白室温下封闭 30min,加一抗(1:100),滴加于切片上,4℃过夜,次日晨滴加 HRP 二抗(1:200),37℃恒温箱中 30min,各步骤均用 PBS 充分振洗,DAB 显色,常规脱水、苏木素复染、透明、树脂封片。同时进行省略一抗(PBS 代替)空白对照。

1.3 统计学分析

由两位以上病理学专家阅片。免疫组化判断标准为:-,无表达;+,弱表达;++,中等表达;+++,强表达。

2 结果

2.1 免疫组化观察

2.2 34 例前列腺增生患者 PDE5 染色比较

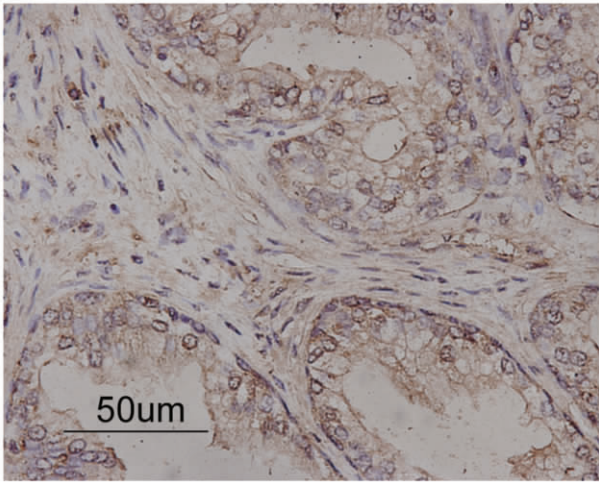


图 2 cGMP-PDE5 在前列腺腺体上皮分泌细胞强阳性表达(++) ,在前列腺基质中弱阳性表达(+)(40×)

Fig.2 PDE5 was abundantly presented in the secretory epithelium of glandular structures as well as in fibromuscular stroma, but not evenly(40×)

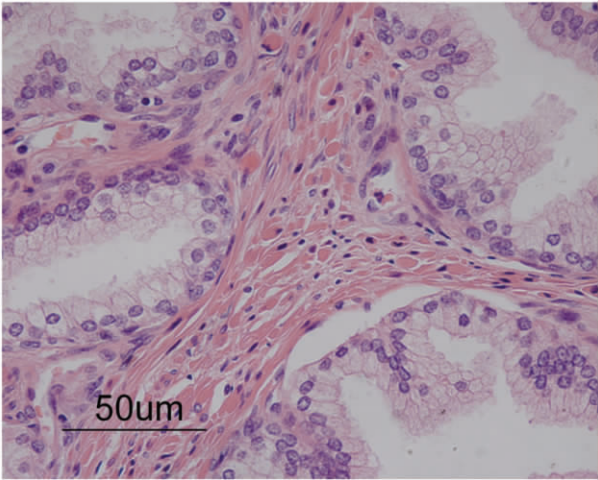


图 1 人增生前列腺移行带 HE 染色(40×)

Fig.1 HE staining for transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia (40×)

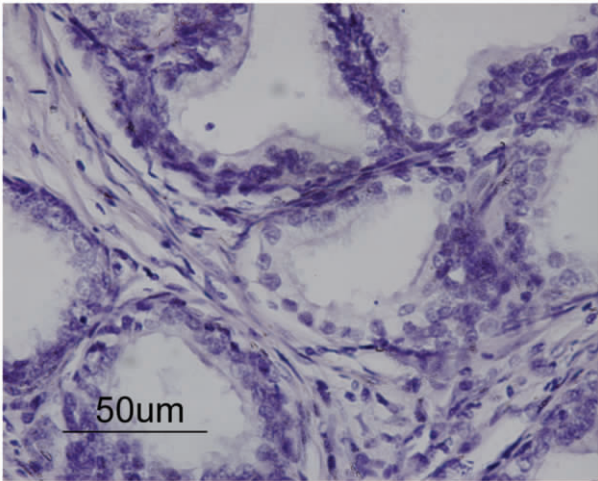


图 3 人增生前列腺移行带空白对照 (40×)

Fig.3 Negative control for transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia(40×)

表 1 34 例前列腺增生患者 PDE5 染色强弱比较

Table 1 Summary of PDE5 IHC of the transitional zone of Benign Prostatic Hyperplasia

组织 n(%)	- 无表达	+ 弱表达	++ 中等表达	+++ 强表达
Tissue n(%)	Negative, -	Weak , +	Modrate, ++	Strong, +++
PDE5				
前列腺上皮	0	13(38.2)	17(50.0)	4(11.8)
Prostatic epithelium	0	13(38.2)	17(50.0)	4(11.8)
前列腺基质	0	18(53.0)	11(32.3)	5(14.7)
Prostatic stromal	0	18(53.0)	11(32.3)	5(14.7)

3 讨论

cGMP 是细胞内重要的第二信使 ,cGMP 的合成和降解受到严格调控,而 PDEs 催化水解是细胞内降解 cGMP 的唯一途径^[13]。PDE 大家族共包括 11 个家族,同一家族中的不同成员在不同的组织、细胞和亚细胞区域中表达,精确调控各种细胞功能,而同一种 PDE 由于调控方式的不同也行使不同的功能。这

样,特定的 PDE 同工酶可以调节细胞内特定的一套信号通路,产生特定的生理作用,而 PDE 同工酶又可被其他的信号通路所调节,最终实现对细胞功能的精细调节^[14]。

流行病学提示 BPH/LUTS 与勃起功能障碍(ED)具有许多共同的高危因素,因此应用 PDE5 抑制剂治疗 BPH/LUTS 已受到普遍关注。临床服用 PDE5 抑制剂(西地那非、伐地那非、他达拉非)患者 IPSS 评分、生活质量指数(QOL)及 IIEF 评分改善

均优于对照安慰组患者^[15]。我们实验显示 34 例标本中 PDE5 均呈阳性表达。PDE5 在增生前列腺移行带的腺组织上皮普遍呈中等表达,间质部分弱表达,这同 Uckert 等^[12]在正常前列腺移行带中得出的结论相似。我们认为 PDE5 可能同时参与调控人前列腺移行带间质平滑肌的动态活力及腺组织的分泌功能和组织增殖。体外实验中前列腺移行带组织被去甲肾上腺素或内皮素-1 诱导产生的张力,可被产生 NO 的硝普钠、PDE5 抑制剂西地那非等部分逆转,提示胞内 cGMP 升高可舒张前列腺平滑肌^[16,17]。PDE5 抑制剂尚可提高 NO/cGMP 信号通路抑制前列腺间质细胞增生及向成纤维细胞转化能力^[18]。值得注意的是,我们并未发现增生的移行带组织中 PDE5 过度表达。这可解释为:有学者研究发现膀胱逼尿肌而非前列腺及尿道平滑肌可能为 PDE5 抑制剂的主要作用靶点^[19]。这也解释了为什么临床 PDE5 抑制剂在改善患者主观症状的同时并不改善膀胱残余尿和最大尿流率。

LUTS 是困扰中老年患者的常见疾病。自主神经系统功能亢进、膀胱逼尿肌过度活动、盆腔血供缺血状态等均与 LUTS 发病密切相关。研究发现 PDE5 抑制剂能作用于 LUTS 发病的不同机制。慢性脊髓损伤所致的膀胱过度活动小鼠模型中,PDE5 抑制剂能降低膀胱传入神经兴奋,抑制非排尿性膀胱收缩^[20]。伐地那非可通过降低自发性高血压大鼠模型膀胱分泌血管内皮生长因子等,改善大鼠下尿路缺血状态^[21]。鉴于 LUTS 发病机制复杂,PDE5 在下尿路中尤其是膀胱组织中的分布及作用机制有待进一步阐明。

综上所述,我们实验结果显示 PDE5 在人增生前列腺组织中分布,但分布不均,表明 PDE5 可能行使不同的功能。

参考文献(References)

- [1] Emberton M, Zinner N, Michel MC, et al. Managing the progression of lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia: therapeutic options for the man at risk[J]. BJU Int, 2007, 100: 249-253
- [2] Lu-Yao GL, Barry MJ, Chang CH, et al. Transurethral resection of the prostate among Medicare beneficiaries in the United States: time trends and outcomes[J]. Urology, 1994,44:692-699
- [3] Smet PJ, Jonavicius J, Marshall VR, et al. Distribution of nitric oxide synthase-immunoreactive nerves and identification of the cellular targets of nitric oxide in guinea-pig and human urinary bladder by cGMP immunohistochemistry[J]. Neuroscience, 1996, 71: 337-348
- [4] Bustamante S, Orensanz LM, Recio P, et al. Functional evidence of nitrergic neurotransmission in the human urinary bladder neck [J]. Neurosci Lett, 2010, 477:91-94
- [5] Takeda M, Tang R, Shapiro E, et al. Effects of nitric oxide on human and canine prostates[J]. Urology, 1995,45: 440-446
- [6] Yoshimura N, Seki S, De Groat WC. Nitric oxide modulates Ca⁽²⁺⁾ channels in dorsal root ganglion neurons innervating rat urinary bladder [J]. J Neurophysiol, 2001, 86: 304-311

- [7] Kawano T, Zoga V, Kimura M, et al. Nitric oxide activates ATP-sensitive potassium channels in mammalian sensory neurons: action by direct S-nitrosylation[J]. Mol Pain, 2009, 5: 12
- [8] Yoshimura N, Seki S, Chancellor MB, et al. Targeting afferent hyperexcitability for therapy of the painful bladder syndrome [J]. Urology, 2002, 59 (Suppl. 1): 61-67
- [9] Kedia GT, Uckert S, Jonas U, et al. The nitric oxide pathway in the human prostate: clinical implications in men with lower urinary tract symptoms[J]. World J Urol, 2008, 26:603-609
- [10] Hedlund P. Nitric oxide/cGMP-mediated effects in the outflow region of the lower urinary tract - is there a basis for pharmacological targeting of cGMP?[J]. World J Urol, 2005, 23: 362-367
- [11] Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use[J]. Pharmacol Rev, 2006, 58: 488-520
- [12] Uckert S, Oelke M, Stief CG, et al. Immunohistochemical Distribution of cAMP- and cGMP-Phosphodiesterase (PDE) Isoenzymes in the Human Prostate[J]. Eur Urol, 2006, 49(4): 740-745
- [13] Houslay M D. Adaption in cAMP signalling processes: a central role in cyclic AMP phosphodiesterases [J]. Semin Cell Dev Biol, 1998 Apr, 9(2):161-167
- [14] Houslay M D, Kolch W. Cell-type specific integration of cross-talk between extracellular signal regulated kinase and cAMP signaling[J]. Mol Pharmacol, 2000 Oct,58(4):659-668
- [15] Liu L, Zheng S, Han P, et al. Phosphodiesterase-5 Inhibitors for Lower Urinary Tract Symptoms Secondary to Benign Prostatic Hyperplasia: A Systematic Review and Meta-analysis [J]. Urology, 2011,77 (1): 123-129
- [16] Uckert S, Küthe A, Jonas U, et al. Characterization and functional relevance of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes of the human prostate[J]. J Urol, 2001,166(6):2484-2490
- [17] Kedia GT, Uckert S, Kedia M, et al. Effects of phosphodiesterase inhibitors on contraction induced by endothelin-1 of isolated human prostatic tissue[J]. Urology, 2009,73(6):1397-1401
- [18] Zenzmaier C, Sampson N, Pernkopf D, et al. Attenuated proliferation and trans-differentiation of prostatic stromal cells indicate suitability of phosphodiesterase type 5 inhibitors for prevention and treatment of benign prostatic hyperplasia [J]. Endocrinology, 2010,151 (8): 3975-3984
- [19] Köhler TS, McVary KT. The relationship between erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms and the role of phosphodiesterase type 5 inhibitors[J]. Eur Urol, 2009,5(1):38-48
- [20] Behr-Roussel D, Oger S, Caisey S, et al. Vardenafil decreases bladder afferent nerve activity in unanesthetized, decerebrate, spinal cord-injured rats[J]. Eur Urol, 2011,59(2):272-279
- [21] Morelli A, Filippi S, Comeglio P, et al. Acute vardenafil administration improves bladder oxygenation in spontaneously hypertensive rats [J]. J Sex Med, 2010,7(1 Pt 1):107-120