论著

文章编号:1000-5404(2007)13-1308-03

乳酸盆底注射诱导小鼠非细菌性前列腺炎及前列腺上皮内瘤样变

陈 琦[1],彭洪英[1],杨 戎[2],魏莎莉[2],王德林[3],谭 毅[1] (重庆医科大学:[1]实验动物中心,[2]生殖生理学教研室,[3]附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

提 要:目的 乳酸的盆底聚集可能在慢性非细菌性前列腺炎发病过程中起着始动作用,采用盆底注射乳酸诱导小鼠前列腺组织的炎症改变加以验证。**方法** 对小鼠进行第1、2、4、7天多次盆底乳酸注射诱发前列腺炎症,并于第2、3、5、8天摘取前列腺组织制作组织学标本,进行HE染色观察。**结果** 组织切片反映出前列腺组织按照盆底乳酸注射时间的延长依次出现了以间质充血水肿,间质及腺泡周围炎性浸润,腺泡腔内出现炎性分泌物为代表特征的炎症病变,最后一组标本中除炎症反应外还观察到了较为明显的腺泡上皮增生,类似于人类的前列腺上皮内瘤(prostatic intra-epithelial neoplasia, PIN)样变。**结论** 经乳酸盆底注射诱导的小鼠前列腺炎症改变类似于临床患者的病理表现,提示乳酸的盆底聚集在慢性前列腺炎发病机制中起到了重要作用;本实验中观察到的前列腺炎症后PIN样改变为研究慢性前列腺炎与前列腺癌前病变的发生提供了良好的动物模型。

关键词:乳酸;非细菌性前列腺炎;前列腺上皮内瘤

中图法分类号:R363.13;R697.33 **文献标识码**:A

Pelvic floor injection of lactic acid induced histological nonbacterial prostatitis and consequent PIN-like lesion in mice

CHEN Qi[1], PENG Hong-ying[1], YANG Rong[2], WEI Sha-li[2], WANG De-lin[3], TAN Yi[1] ([1] Laboratory Animal Center, [2]Division of Reproduction Physiology, [3]Department of Urology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective Lactic acid is supposed to trigger the process of chronic nonbacterial prostatitis. To prove this hypothesis, lactic acid was introduced as an irritating agent to induce mice's histological nonbacterial prostatitis by pelvic floor injection. Methods Adolescent mice received repeated injections of lactic acid (0.03 mol/L, 0.1 ml per time) on the 1st, 2nd, 4th, 7th days. Each of them was sacrificed on the second day after their last injection. All dissected prostates were fixed in formalin and then sectioned for HE staining. Results The prostates undergoing serials of inflammatory changes sequenced as: edema and venous dilation in the stroma, lymphocytes infiltration of the stroma and periglandular region, inflammatory exudates within the acinus. Besides, distinctive epithelial proliferation change was observed on the 8th day which is basically similar to PIN-like lesion in human prostate. Conclusion Lactic acid induced histological prostatitis replicates the pathological changes observed in clinical patients, suggesting the aggregation of lactic acid in the pelvic region plays an important role in the pathogenesis of chronic nonbacterial prostatitis. This study also supports the association between chronic prostatitis and later prostate cancer in a mouse model.

Key words: lactic acid; nonbacterial prostatitis; PIN

慢性前列腺炎的发病机制目前尚不清楚,近年来国内外关于慢性非细菌性前列腺炎发病机制的研究大量涌现,从免疫、神经、肌肉等多个层面提出了不少新观点,但至今仍没有突破性的进展[1]。该病的发生与频繁的射精活动有关[2],作者参考了盆底相关肌肉的结构和功能特点[3],结合该患者盆底静脉淤血扩张[4],考虑频繁射精后肌肉反复产生乳酸而局部静脉回运不畅可能导致局部组织长期处于高乳酸环境,而这一长期酸性环境可能诱导前列腺等临近组织的非细菌性炎症,尝试使用乳酸这一局部代谢产物作为炎症诱导剂,经盆底间隙注射后通过组织切片观察小鼠前列腺的病理变化,探讨乳酸盆底聚集在慢性非细菌性前列腺炎发病机制中的作用。

作者简介:陈 琦(1983-),男,重庆市人,硕士研究生,主要从事生殖医学基础方面的研究。电话:13426376153, E-mail: cqfoxvictor@hotmail.com

通讯作者:谭 毅,电话:(023)68485997,E-mail: tanyee66@hotmail.com

收稿日期:2006-04-26;修回日期:2006-06-13

1　材料与方法

1.1　实验动物

健康、成年雄性清洁级昆明(KM)小鼠 40 只，45～50 日龄，体质量 18～25 g，由重庆医科大学实验动物中心提供，饲养于清洁级环境中。

1.2　实验分组

将动物随机(抽签法)分为 10 组，每组 4 只小鼠，分为 2 个乳酸浓度组(Lac1 和 Lac2)，每组分别含有 1 个相对应的生理盐水对照组。

1.2.1　大剂量单次注射组(Lac1)　　使用 1～4 组小鼠，其中 1～3 组小鼠于第 1 天注射 0.1 mol/L 的乳酸 0.1 ml，第 4 组为生理盐水对照组，于第 1 天注射生理盐水 0.1 ml，该 4 组小鼠分别于第 2、5、8 天处死并分离获得前列腺组织。

1.2.2　小剂量多次注射组(Lac2)　　5～8 组注射 0.03mol/L 乳酸，9 组为生理盐水对照组。见表 1。

表 1　小剂量多次注射组具体操作

组别	注射时间	注射剂量(0.03 mol/L)	处死时间点
5	第 1 天	0.1 ml	第 2 天
6	第 1、2 天	0.1 ml	第 3 天
7	第 1、2、4 天	0.1 ml	第 5 天
8	第 1、2、4、7 天	0.1 ml	第 8 天
9	第 1、2、4、7 天	0.1 ml	第 8 天

1.2.3　正常对照组　　第 10 组为空白对照组，不做任何处理，于第 8 天处死并摘取前列腺组织。

1.3　操作方法

实验小鼠均采用耻骨上偏右侧进针，进针后针头方向微偏内下，将试剂注射于盆底腔隙内。摘取前列腺组织时，用断颈法瞬间处死小鼠，迅速分离前列腺并置于 10% 甲醛溶液中。

石蜡包埋、切片、HE 染色、光学显微镜观察。

2　结果

2.1　Lac1 病理观察

组织切片中 1～3 组的前列腺组织均存在散在炎症反应，证明乳酸的盆底聚集能够导致小鼠前列腺病变。但这几组注射剂量和各组切片的病理表现缺乏一致性，也不能反映组织病变的进程。第 4 组病理观察中未观察到明显的炎症反应。

2.2　Lac2 病理观察

与大剂量单次注射相比，小剂量多次注射的结果在各组间显示了可以分辨的组织病理改变过程：空白对照组(10 组)显示正常的前列腺组织(图 1)，生理盐水对照组(9 组)的 4 张切片中均未见炎症反应迹象。第 5、6 组切片中，前列腺的病理改变主要表现为间质的水肿以及间质中血管的扩张充血(图 2A)，与正常组相比，腺泡间距因间质水肿明显扩大，腺泡受挤压变形的现象也很显著。其中第 6 组中部分切片的腺泡分泌旺盛，可见腺泡腔内充满了粉红色的分泌物(图 2B)，但这两组切片中均未见到炎性细胞的浸润。

第 7 组切片中，前列腺组织出现了以间质炎性细胞浸润为主的病理改变，其中 1 个标本的炎症反应非常明显，整个前列腺组织的间质有多量被炎性细胞浸润，其余 3 个标本的炎症反应呈局灶性，主要为腺泡周围以及附近间质的淋巴细胞浸润，腺泡内的炎性细胞少见(图 2C)。

在第 8 组切片中，突出的表现一方面是腺泡周围炎症减轻，更多的腺泡腔内观察到了炎性分泌物(图 2D)；另一方面，一些腺泡内伴有上皮不典型增生(图 2D)，其中部分腺泡发生了非常明显的上皮增生(图 2E)，其表现类似于人类的前列腺上皮内瘤(prostatic intra-epithelial neoplasia，PIN)样变。



图 1　正常小鼠前列腺组织　(HE×200)



A：第 5、6 组(HE×100)；B：第 6 组(HE×400)；C：第 7 组(HE×400)；D：第 8 组，腺泡腔内见炎性渗出物(HE×400)；E：第 8 组，簇状增生(HE×400)

图 2　大剂量多次注射乳酸组小鼠前列腺组织观察

3　讨论

男性射精时伴随盆底相关肌肉的剧烈收缩，乳酸作为细胞无氧代谢的产物，在肌肉剧烈运动时容易大量产生堆积，加之频繁射精者盆底动脉经常充血而静脉回流不畅，频繁射精后肌肉产生的乳酸更易于在盆底聚集。运动生理学研究表明乳酸的局部堆积可能是运动后肌肉酸痛、力量下降及痉挛等症状产生的重要原因之

一[5]。尿动力学研究则证实,尿频、尿急、尿不尽等下尿路症状均与盆底和尿道周围肌肉收缩功能下降和紊乱有关[6]。临床上,相当数量的慢性前列腺炎患者具有明显的会阴/肛周坠胀、酸痛症状。这些症状的出现可能也与患者盆底静脉回流不畅以及乳酸的堆积有关。

为了考察乳酸盆底堆积对前列腺的影响,本实验采用了2个乳酸剂量组对小鼠进行造模,一组为单次大剂量注射,目的是证明乳酸盆底注射能够诱导前列腺炎性改变。另一组为小剂量多次注射,目的是复制频繁射精后盆底乳酸堆积的过程。

小剂量乳酸多次盆底注射诱导了小鼠前列腺有序的病理改变:第5、6组切片中,乳酸堆积的时间较短,且累计剂量较小,主要为前列腺功能性的改变,典型表现为间质的水肿和小血管的充血,腺泡内的分泌也以代偿性增多为主,而并无炎性细胞浸润和组织结构的破坏。作者认为前列腺间质的血管扩张充血是盆底血管扩张淤血的一个表现,可能是频繁射精后患者出现会阴/肛周坠胀不适的原因,而腺泡内代偿性分泌旺盛可能与部分患者在患前列腺炎后出现的尿后滴白有关。

第7、8组切片提示了该模型中前列腺的炎症浸润是从间质开始,随后向腺泡内发展,第7组切片中即使在间质炎症细胞很密集时,也只有少数的腺泡腔内分布有炎症细胞。这可能是临床上很多具有明显前列腺炎症状的患者,但在其前列腺液中白细胞不增高或是白细胞增高与症状不成正比的原因[7]。该两组图片中的炎症表现在形态上与夏同礼等[8]在人类前列腺炎中观察到的炎症改变(从间质到腺泡)吻合。两者在组织学上的相似性提示了人类前列腺炎的发生也可能是来自于腺体周边环境的影响,而并非经腺管逆行感染所致,本实验证明乳酸可能在这一过程中起到了始动作用。

除炎症反应外,第8组切片还观察到小鼠前列腺上皮的增生改变,这与人类的前列腺PIN样变非常类似[9],PIN是国际上公认的前列腺癌前病变,是预测前列腺癌很有价值的标志。Rosenzweig等[10]对大鼠皮下注射苯肾上腺素诱导了大鼠前列腺炎并在炎症后不久也观察到了大鼠前列腺PIN样改变,均提示了鼠类动物早期前列腺炎症与日后前列腺上皮增生及癌前病变的发生有密切联系。尽管如此,由于种属差异很大,目前尚无法判定在人的前列腺中是否有类似情况,关于前列腺组织早期炎症导致癌变的机制也尚需进一步研究[11]。

本实验在操作过程中为防止小鼠因过度精神压力而产生前列腺神经源性炎症对实验结果造成干扰[12,13],注射时尽量保证动作快速轻柔,减少对小鼠的刺激。为选择适当的注射方法,预实验中在多只小鼠身上使用美蓝试液进行盆底试验性注射,通过剖腹观察盆腔内美蓝染色的区域来确定注射的位置和进针角度。实验中对注射用试剂和器材严格消毒,注射过程在无菌操作台完成,最大限度排除注射时带入病原体,保证无菌前列腺炎模型的制作。

总之,本实验结合临床观察的线索以及前期流行病学调查的结果首次从乳酸这一局部代谢产物的角度去探讨慢性非细菌性前列腺炎的发病机制,首次通过盆底注射乳酸的方法在小鼠身上诱导了具有临床可比性的非细菌性前列腺炎症以及后续PIN样改变,证实乳酸的盆底聚集在非细菌性前列腺炎发病机制中起到了重要作用。关于乳酸在盆底肌肉的生成代谢情况以及受哪些因素调控、如何与其他致病因素共同作用诱发前列腺病变等问题尚需进一步研究阐明。

(致谢:本实验中所有的组织切片由重庆医科大学组织胚胎学教研室姜蓉老师制作,在此对姜老师的工作表示由衷的感谢。同时感谢重庆医科大学生殖生理学教研室刘孝云老师在实验中提供的诸多帮助!)

参考文献:

[1] Pontari M A, Ruggieri M R. Mechanisms in prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. J Urol, 2004, 172(3): 839-845.

[2] 彭洪英, 陈 琦, 陈 平, 等. 对129名慢性前列腺炎患者症状差异的调查和原因分析[J]. 重庆医科大学学报, 2005, 30(6): 866-869.

[3] 吴雄飞. 膀胱尿道肌肉结构概要[M]//金锡御,宋 波. 临床尿动力学. 北京: 人民卫生出版社,2002: 6-14.

[4] Honjo H K, Kamoi Y, Naya O, *et al*. Effects of acupuncture for chronic pelvic pain syndrome with intrapelvic venous congestion: preliminary results[J]. Int J Urol, 2004, 11(8): 607-612.

[5] Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors[J]. Sports Med, 2003, 33(2): 145-164.

[6] 吴阶平. 泌尿外科[M]. 济南:山东科学技术出版社,1993: 845-853.

[7] Schaeffer A J, Knauss J S, Landis J R, *et al*. Leukocyte and bacterial counts do not correlate with severity of symptoms in men with chronic prostatitis: the National Institutes of Health Chronic Prostatitis Cohort Study[J]. J Urol, 2002, 168(3): 1048-1053.

[8] 夏同礼. 前列腺炎的组织病理学改变[M]//郭应禄,李宏军. 前列腺炎. 北京: 人民军医出版社, 2003: 219-232.

[9] 孔祥田, 夏同礼. 前列腺癌前病变[M]//夏同礼. 现代泌尿病理学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 509-522.

[10] Rosenzweig N, Horodniceanu J, Abramovici A. Phenylephrine-induced neurogenic prostatitis facilitates the promotion of PIN-like lesions in rats[J]. Prostate, 2004, 59(1):107-113.

[11] Palapattu G S, Sutcliffe S, Bastian P J, *et al*. Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights[J]. Carcinogenesis, 2005, 26(7): 1170-1181.

[12] Gatenbeck L, Aronsson A, Dahlgren S, *et al*. Stress stimuli-induced histopathological changes in the prostate: an experimental study in the rat[J]. Prostate, 1987, 11(1): 69-76.

[13] Keith I M, Jin J, Neal D, Jr., *et al*. Cell relationship in a Wistar rat model of spontaneous prostatitis[J]. J Urol, 2001, 166(1): 323-328.

(编辑 薛国文)