泌尿外科学专题 文章编号:0253-3626(2009)09-1187-04

IFN-γ、TNF-α 和 IL-10 在慢性非细菌性前列腺炎大鼠中的表达及意义

王洪志,刘朝东,韦 超
(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察慢性非细菌性前列腺炎(Chronic abacterial prostatitis,CAP)大鼠前列腺中干扰素-γ(Interferon-γ,IFN-γ),肿瘤坏死因子-α(Tumor necrosis factor-α,TNF-α)和白细胞介素-10(Interleukin-10,IL-10)的表达,探讨这些细胞因子对CAP的作用及其机制。方法:将20只老龄SD大鼠随机分为正常对照组、CAP模型组,每组10只。观察大鼠前列腺病理形态学改变,免疫组化法检测IFN-γ,TNF-α在大鼠前列腺中的表达,ELISA法定量分析大鼠前列腺中IL-10的表达。结果:(1)CAP模型组的病理形态学呈明显炎症表现;(2)CAP模型组IFN-γ,TNF-α和IL-10表达强度显著高于正常对照组。结论:TNF-α、IFN-γ和IL-10参与了CAP的发病过程,自身免疫异常可能是CAP发病机制之一。

【关键词】前列腺炎;干扰素-γ;肿瘤坏死因子-α;白细胞介素-10;免疫异常
【中国图书分类法分类号】R697.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-11

The role of IFN-γ, TNF-α and IL-10 in the rat model for chronic abacterial prostatitis

WANG Hong-zhi, et al
(*Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the role of IFN-γ, TNF-α and IL-10 in CAP rats and approach the pathogenesis of CAP. *Methods*: 20 Aged Sprague Dawley rats were randomly divided into two groups: the control group (10 rats) and the rat model for CAP group (10 rats). The changes of prostate gland inflammation was investigated by HE stain. The expression of IFN-γ and TNF-α in rat prostatic tissue was detected by immunohistochemistry (sp). The expression of IL-10 in rat prostatic tissue was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Results*: (1) The CAP model group's histopathology express the obvious inflammation performance; (2) The IFN-γ, TNF-α and IL-10 in the rat model for CAP group were higher than the control group ($P<0.01$). *Conclusion*: CAP may be caused by abnormal autoimmunity and the IFN-γ, TNF-α and IL-10 may play an important role in the development of the CAP

【Key words】Prostatitis; IFN-γ; TNF-α; IL-10; Dysimmunity

慢性非细菌性前列腺炎(Chronic abacterial prostatitis,CAP)是泌尿外科最常见的疾病之一,对患者健康状况和生活质量有较大影响。然而,目前对其病因、发病机制还了解甚少,许多研究显示炎症介质可能参与了其发病过程[1,2]。本实验观察了CAP模型大鼠前列腺中IFN-γ、TNF-α和IL-10的表达,旨在探讨其对CAP的作用及CAP发病机制。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

选取12月龄健康雄性SD大鼠20只,均购自重庆医科大学动物实验中心,体重450~550 g,随机分为2组:正常对照组、CAP模型组,每组10只。

1.2 建立动物模型

采用魏氏[3]大鼠非细菌性前列腺炎建模方法构建模型,所需苯甲酸雌二醇购于上海通用药业有限公司(生产批号070422)。

1.3 实验处理

末次给药后24 h,取血后剖开下腹部,解剖摘取前列腺,将其中一叶前列腺组织4%多聚甲醛固定以备免疫组化实验,另一叶以备ELISA实验。

作者介绍:王洪志(1980-),男,住院医师,硕士,研究方向:慢性前列腺炎。
通讯作者:刘朝东,男,副教授,E-mail:chfliu315@163.com。

1.4 标本检测及结果判定

1.4.1 组织病理形态学 采用 HE 染色，观察前列腺组织形态学改变。炎症分级按照慢性前列腺炎组织学分类系统进行分级[4]。

1.4.2 IFN-γ 和 TNF-α 的检测 前列腺组织 IFN-γ 和 TNF-α 蛋白表达的检测采用免疫组化链霉卵白素—过氧化酶法（北京博奥森公司 SP 即用型试剂盒）。阳性反应为胞浆及腺胞腔中出现棕黄色颗粒。免疫组化结果采用多功能彩色病理图象分析系统处理，采用 MetaMorph 图像分析软件，每张切片在高倍镜下（40×10 视野）随机选择 5 个视野，测量前列腺组织阳性呈色区域的平均积分光密度值，取 5 个视野的平均值间接作为所测指标的蛋白表达量。

1.4.3 IL-10 的检测 取一叶前列腺组织，将前列腺剪碎，按每 100 mg 前列腺组织加入 0.9%氯化钠溶液 1 ml 的比例，将 0.9%氯化钠溶液和剪碎的前列腺组织加人小烧瓶，将小烧瓶放人冰水浴中，然后用匀浆器搅拌充分制成匀浆（注意搅拌时要间断暂停，以防止匀浆过热变性）。将搅拌好的匀浆吸取加人离心试管中，3 000 r/min 离心 10 min，取匀浆上清液。采用双抗体夹心 ELISA 法定量分析各组大鼠前列腺中 IL-10 的表达，ELISA 试剂盒购于北京晶美生物工程有限公司，检测灵敏度为 30 pg/ml。用全自动酶标仪在 450 nm 处读取 A 值，绘制标准曲线，根据标本 A 值在标准曲线上获得 IL-10 的浓度。

1.5 统计学方法

全部计量数据资料用 $\bar{x} \pm s$ 来表示，用 SPSS13.0 版统计软件行各组间单因素方差分析。检验水准 α 均定为 0.01。

2 结 果

2.1 病理形态学改变

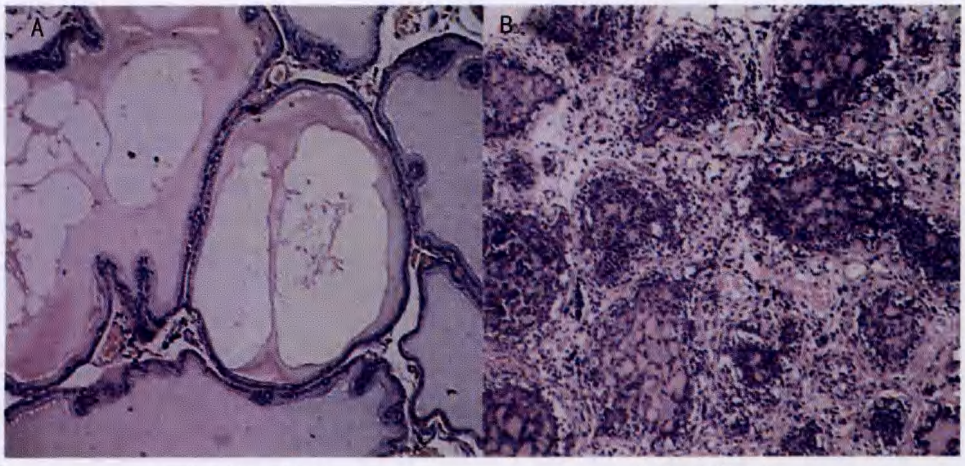
正常对照组大鼠的前列腺组织结构完整，无或仅有单个炎症细胞浸润，腺腔内有少量粉红色正常分泌物，间质无水肿，腺泡上皮排列整齐无增生现象。CAP 模型组大鼠前列腺组织呈现明显炎性改变，表现为呈充血或淤血状态，局部组织结构遭到不同程度的破坏，不均匀的组织增生或萎缩，导管扩张或损毁，部分基膜被破坏，分泌物增多，血管扩张充血，腺泡上皮细胞呈乳头状增生，可见假复层等表现，腺泡腔及间质有大量炎性细胞浸润。具体结果见图 1。

2.2 IFN-γ 和 TNF-α 免疫组化表达结果

观察免疫组织化学染色结果显示，IFN-γ 和 TNF-α 在前列腺组织中分布基本相同，在 CAP 模型中呈强阳性表达，光密度分析结果表明 CAP 模型组 IFN-γ 和 TNF-α 的表达明显高于正常对照组，有显着性差异（$P<0.01$）。具体结果见表 1，图 2、3。

2.3 IL-10 ELISA 表达结果

ELISA 检测结果显示在 CAP 模型中 IL-10 蛋白表达明显高于正常对照组。统计结果显示各组之间有显着性差异，具体结果见表 1。



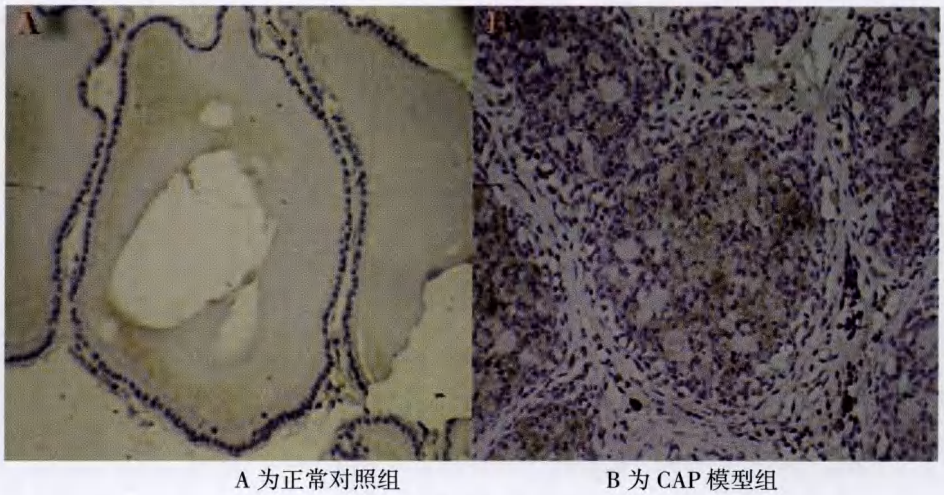
A 为正常对照组　　B 为 CAP 模型组

图 1 各组大鼠前列腺形态学表现（HE 染色×200）

表 1 大鼠前列腺 IFN-γ 和 TNF-α 与 IL-10 的含量分析结果

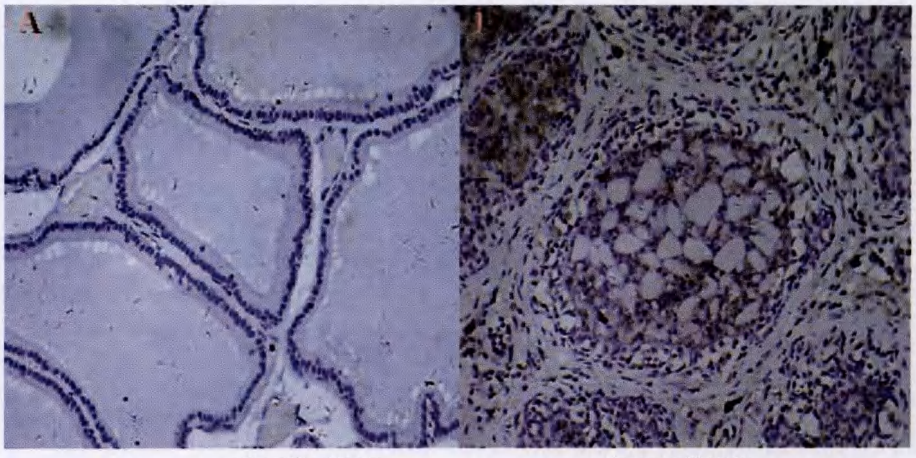
组别	IFN-γ	TNF-α	IL-10（pg/ml）
正常对照组	0.019 ± 0.003	0.372 ± 0.041	0.016 ± 0.002
CAP 模型组	0.328 ± 0.035*	32.16 ± 4.15*	330.140 ± 31.480*

与正常对照组相比：*$P<0.01$



A 为正常对照组　　B 为 CAP 模型组

图 2　各组大鼠前列腺中 IFN-γ 表达（SP×400）



A 为正常对照组　　B 为 CAP 模型组

图 3　各组大鼠前列腺中 TNF-α 表达（SP×400）

3　讨　论

慢性前列腺炎是男科的常见病，其病因及发病机制还不是很清楚，近年来对自身免疫和慢性前列腺炎的关系予以较多的关注，在国内外的研究中已经取得了一些进展，但有很多问题还不是十分清楚，需要进一步研究。

本实验采用去势和注射雌激素苯甲酸雌二醇的方法构建 CAP 大鼠模型，魏武然研究表明模型组大鼠前列腺组织病理形态学基本符合人类慢性非细菌性前列腺炎的特点[3]。目前研究表明，免疫异常在 CAP 的发病中具有重要作用，炎症介质 IFN-γ和 TNF-α 与 IL-10 参入的免疫反应可能是 CAP 的发病机制之一[1,2,5]。本实验通过观察其前列腺形态学改变及炎症介质 IFN-γ、TNF-α 与 IL-10 的表达，了解其局部的免疫状态，旨在对其发病机制进行进一步研究。

本实验观察发现 CAP 模型组大鼠前列腺组织结构呈现明显炎症表现，免疫组化及 ELISA 检测结果显示 IFN-γ、TNF-α 与中 IL-10 的过高表达，提示炎症介质与 CAP 的发生、发展有密切关系。

IFN-γ 是一种强有力的促炎性因子，当抗原、刀豆素 A 等刺激后 T 细胞可以大量分泌 IFN-γ。Ponniah 等[6]发现一些有临床症状的慢性前列腺炎患者可以产生针对 PSA 的增殖性 CD4+T 淋巴细胞反应，而在正常志愿者中则没有观察到类似的现象。Motrich[7]研究发现在 IIIA 型前列腺炎组中存在针对 PSA 的 T 淋巴细胞增值反应，并伴有 IFN-γ 水平明显升高。本实验研究发现在 CAP 大鼠前列腺内 IFN-γ 表达显着高于正常对照组（$P< 0.01$），表明其参与了 CAP 的炎症反应过程。其作用机制可能为体内的某些隐蔽抗原或前列腺特异抗原（Prostate spe-

cific antigen）激活相应的自身反应性淋巴细胞，IFN-γ产生增加。IFN-γ有诱导巨噬细胞、T细胞等细胞表达MHCⅡ类分子，从而提高抗原呈递作用，使免疫应答增强，还有活化巨噬细胞促其释放过氧化氢、产生iNOS，促进NO的合成等功能，导致内皮细胞损伤，从而参与慢性非细菌性前列腺炎炎症反应过程。

TNF-α是来源于单核巨噬细胞的促炎性细胞因子，能活化单核巨噬细胞，提高其杀伤活性。李树平[8]等研究表明CAP患者前列腺液中TNF-a可有不同程度升高。本实验研究发现，CAP模型组TNF-α蛋白表达显着高于正常对照组（$P< 0.01$），表明TNF-α参与了CAP的疾病过程，其机制可能是在某种始动因素的作用下单核巨噬细胞产生大量的TNF-α。TNF-α可以提高中性粒细胞的吞噬作用，增强超氧阴离子的产生，刺激中性粒细胞的释放作用和分泌过氧化酶，还能刺激内皮细胞产生多种粘附分子如ELAM-1、ICAM-1等，使中性粒细胞、淋巴细胞粘附到内皮细胞上，诱导血管内皮细胞产生炎症介质，引起局部的炎症反应，对前列腺组织造成炎性损伤。

IL-10又称为细胞因子合成抑制因子，主要由Ⅱ类辅助性T淋巴细胞（Th2）产生，是人类免疫反应过程中最重要的抗炎性细胞因子，它能够抑制T细胞的增殖、Thl细胞产生多种炎症因子和介质，减弱炎性反应，限制炎症的发展。

本实验发现在CAP模型大鼠前列腺组织有大量的炎症细胞浸润，炎症细胞分泌的过氧化酶、iNOS等是造成前列腺炎性损伤的基础，而大部分炎性介质都有对炎症细胞有趋化功能，而炎症细胞又能分泌炎症介质，两者互相促进，造成连锁反应，对前列腺组织造成炎性损伤，导致CAP的发生。

促炎性细胞因子与抑炎性细胞因子之间的平衡是维持正常免疫状态的基础。本实验发现模型组大鼠体内促炎性细胞因子IFN-γ、TNF-α高水平表达，造成组织炎症损伤。发现IL-10的表达也呈现高水平，为机体对维持促炎性细胞因子与抑炎性细胞因子之间的平衡做出的自身调节，高水平表达的IL-10是抑制促炎性细胞因子的过高表达。

综上所述，本实验结果显示，与空白对照组相比CAP模型组3种炎症介质表达较高水平，说明这3种炎性因子的确参与了前列腺炎的发生发展过程，它们之间的相互作用可能对前列腺炎的发生、发展和转归产生重要影响。现有文献表明绝大部分慢性前列腺炎患者没有发现病原微生物感染，而前列腺液中炎症介质往往高水平表达，结合本实验结果，由此可以推测，慢性前列腺炎可能是由于机体异常免疫反应所致，进行免疫调节抑制炎症介质的产生或者炎性介质的破坏作用，可能为慢性前列腺炎的治疗开拓新的思路。

参 考 文 献

[1] Alexander R B, Ponniah S, Hasday J, et al. Elevated levels of proinflammatory cytokines in the semen of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. Urology, 1998, 52: 744-749.

[2] Miller L J, Fischer K A, Goralnick S J, et al. Interleukin-10 levels in seminal plasma: implications for chronic prostatitis-chronic pelvic pain syndrome[J]. J Urol, 2002, 167: 753-756.

[3] 魏武然，张唯力，戴君勇.大鼠慢性非细菌性前列腺炎模型的建立[J]. 中国男科学杂志，2006，20(1)：22-24

[4] 郭应禄，李宏军.前列腺炎[M].北京：人民军医出版社，2006，204-205.

[5] 唐孝达.慢性前列腺炎/慢性盆腔疼痛综合征诊治中值得商榷的问题[J]. 中华男科学，2003，9(6)：403-406.

[6] Ponniah S, Arah I, Alexander R B. PSA is a candidate selfantigen in autoimmune chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J].Prostate, 2000, 44(1): 331-335.

[7] Motrich R D, Maccioni M, Molina R, et al. Presence of INF-gamnm secreting lymphocytes specific to prostate antigens in a group of chronic prostatitis patients[J]. Clin Immunol, 2005, 116(2): 149-157.

[8] 李树平，孟双艳，李 锐. 血清细胞因子测定在慢性前列腺炎诊断、分型中的临床意义[J]. Chinese Journal of Andrology, 2006, 11(20): 10-13.

（责任编辑：关蕴良）