DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.13.015
第25卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 13
2003年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2003

文章编号:1000-5404(2003)13-1153-04

论著

雄激素对大鼠前列腺不同分叶雄激素受体及其 mRNA 表达的影响

江 军[1],金锡御[2],靳凤烁[1],王洛夫[1] (第三军医大学:[1]附属大坪医院野战外科研究所泌尿外科,重庆 400042;[2]附属西南医院全军泌尿中心,重庆 400038)

提 要:目的 探讨雄激素对大鼠前列腺腹叶及侧叶1(Lateral lobe part 1, LP1)、侧叶2(Lateral lobe part 2, LP2)、雄激素(Androgen receptor, AR)及AR mRNA表达的影响。方法 选用健康成年雄性Wistar大鼠,随机分成以下3组:正常对照组(N组);雄激素去势组(C组,共56只):经阴囊手术切除双侧睾丸,制成雄激素去势动物模型,再分成去势后1 d(C1)、3 d(C3)、7 d(C7)及14 d(C14)四个时相点;雄激素替代组(T组,共28只):双侧睾丸切除后14 d,丙酸睾丸酮0.5 ml(2.5 mg/只)皮下注射,1次/d,分成雄激素替代后1 d(T1,14只),7 d(T7,14只)两个时相点。应用免疫组织化学及半定量PCR方法分别检测大鼠前列腺LP1及LP2 AR、AR mRNA的表达。结果 鼠前列腺腹叶、LP1及LP2对雄激素调节的敏感性不同,在腹叶及LP1,雄激素与AR表达呈正相调节关系,雄激素去势后,AR表达下调,AR mRNA呈一过性上调;而在LP2,情形与前者明显不同,雄激素去势后,AR mRNA表达持续上调,而对AR表达无明显影响。结论 鼠前列腺不同分叶对雄激素调节敏感性与其AR表达的调节方式不同有关。

关键词:大鼠;前列腺;雄激素受体
中图法分类号:R322.64;R392.11;R977.1+2 文献标识码:A

Expressions of AR and AR mRNA in the separate lobes of adult rat prostate after androgen ablation and replacement

JIANG Jun, JIN Xi-yu, JIN Feng-shuo, WANG Luo-fu (Department of Urology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of androgen receptor (AR) and AR mRNA of the ventral lobe, lateral lobe part 1 (LP1) and lateral lobe part 2 (LP2) in the Wistar rat prostate after androgen manipulation. **Methods** Healthy adult male Wistar rats were randomly divided into 3 groups: control group (N), castration group (C) and androgen replacement group (T). In castration group, orchiectomy was performed through the scrotum. In androgen replacement group, testosterone propionate (2.5 mg/d) was injected subcutaneously for 14 d after castration. Expressions of AR and AR mRNA in the separate lobes of the adult Wistar rat prostate after androgen ablation and replacement were determined by immunohistochemistry and semi-quantitative PCR. **Results** Different autoregulation of AR protein and mRNA was observed in the ventral lobe, LP1 and LP2 of rat prostate after androgen manipulation. In the ventral lobe and LP1, immunoreactive nuclear AR markedly decreased in staining intensity in the glandular epithelium 2 d after castration compared to that in the intact rats. Epithelial immunostaining continued to decline and was absent at day 7 and returned to normal level 3 d after testosterone replacement. There was a transient increase in AR mRNA demonstrated by RT-PCR within 3 d and returned to control level within 7 d after castration in the ventral lobe and LP1 of rat prostate. In contrast, in LP2, the epithelial cells showed continued expressions of both AR protein and mRNA 14 d following androgen withdrawal. **Conclusion** These results suggest that there might be a different regulation of AR mediated by androgen in ventral lobe, LP1 and LP2 of rat prostate.

Key words: rat; prostate; androgen receptor

前列腺是雄激素依赖性器官,体内循环雄激素的存在是前列腺生长发育乃至前列腺增生(Benign prostatic hypertrophy, BPH)和前列腺癌(Prostatic carcinoma, Pca)发生的基本前提条件[1]。但雄激素对不同功能区人前列腺调节作用呈现出明显的异质性(Heterogeneity)。在相同雄激素水平条件下,人BPH主要来源于移行区,而外周区及中央区并不增生[2]。研究显示,

作者简介:江 军(1964-),男,湖北省随州市人,博士,副主任医师,副教授,主要从事前列腺增生发病机制方面的研究。电话:(023)68757364
收稿日期:2002-09-15;修回日期:2003-01-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

雄激素去势后，大鼠前列腺不同分叶（腹叶、侧叶及背叶）组织对雄激素调节的敏感性也明显不同。雄激素去势后，腹叶组织细胞凋亡、组织萎缩明显，而对侧叶却影响较小，但其机制并不清楚[3]。本实验以雄性Wistar大鼠为模型，研究雄激素去势对鼠前列腺侧叶不同分区LP1、LP2雄激素受体表达的影响。

1 材料和方法

1.1 动物分组及处理

健康雄性Wistar大鼠98只，体质量（312.3±21.5）g（第三军医大学实验动物中心提供），随机分成以下几组：正常对照组（N组，14只）；雄激素去势组（C组，共56只）。雄激素去势组1.5%的戊巴比妥钠按30 mg/kg腹腔注射麻醉后，经阴囊手术切除双侧睾丸，制成雄激素去势动物模型，再分成去势后1（C1，14只）、3（C3，14只）、7（C7，14只）及14 d（C14，14只）4个时相点；雄激素替代组（T组，共28只）：双侧睾丸切除后14 d，丙酸睾丸酮0.5 ml（2.5 mg/只）皮下注射，1次/d，分成雄激素替代后1 d（T1，14只），7 d（T7，14只）两个时相点。分别取上述各组及时相点动物各8只，麻醉处死，锐性分离取出前列腺复合体（Prostatic complex）置于冰生理盐水中，小心除去周围脂肪及结缔组织，参照文献[3]分离侧叶LP1及LP2。1/2置入液氮内保存以提取总RNA，另1/2置入10%福尔马林固定，石蜡包埋行免疫组织化学染色。

1.2 AR的免疫组织化学检测

实验步骤参照Goulding[4]方法并稍加修改，一抗为加兔抗鼠AR多克隆抗体，二抗为生物素标记的羊抗兔。

1.3 AR mRNA的RT-PCR

每组各取3只动物，分别分离腹叶、LP1和LP2，提取总RNA。以β-actin为对照。引物序列：AR（鼠源性）引物序列设计参照Prins等[5]的方法，产物为486 bp；正义引物：5′-AGT GAA ATG GGA CCT TGG ATG G-3′；反义引物：5′-GGC TCA ATG GCT TCC AGG ACA T-3′。β-actin cDNA引物参照宝灵曼试剂说明书，产物为587 bp；正义引物：5′-CCA AGG CCA ACC GCG AGA AGA TGA C-3′；反义引物：5′-AGG GTA CAT GGT GGT GCC GCC AGA C-3′。退火温度55 ℃。RT-PCR产物检测，以Gel Doc 2000凝胶扫描分析系统（美国Bio-Rad）扫描凝胶，以电泳带灰度积分值为PCR产物定量指标，以β-actin为参照，计算AR mRNA的相对变化。

2 结果

2.1 AR免疫组织化学观测

在正常对照组AR主要位于上皮细胞核，染色呈深褐色，间质细胞少见，腹叶、LP1及LP2之间无明显差别，见图1。睾丸切除后3 d，腹叶及LP1组织AR蛋白质表达下调，近端腺上皮细胞核染色消失，远端导管细胞仍可见少数胞核染成浅褐色，说明腹叶近端细胞AR表达下降快，见图2，第7天完全消失；LP2与腹叶及LP1不同，去势后第7天上皮细胞核AR染色深，说明AR表达没有明显下调，第14天，染色才略有下降，见图3。雄激素替代治疗后1 d，腹叶及LP1上皮细胞核内AR染色即明显恢复，远端腺管细胞恢复较近端快，染色也较深，第7天完全恢复正常。

2.2 AR mRNA RT-PCR半定量分析

AR mRNA及β-actin RT-PCR产物凝胶电泳见图4～7，半定量分析见图8。腹叶及LP1：雄激素去势后AR mRNA呈一过性上调趋势，与正常对照相比，雄激素去势后1 d，AR mRNA表达分别升高约38%和17%，第3天分别升高105%和80%达高峰。第7天开始下降，但仍较正常对照高60%和40%。第14天已恢复至正常对照水平，雄激素替代治疗后AR mRNA表达下调；而在LP2，雄激素去势后1 d，与腹叶及LP1相似AR mRNA上调约35%，第3天升高约150%，第7天230%，第14天时仍较正常对照高154%左右，呈持续高表达状态，雄激素替代后AR mRNA表达下调，替代治疗1 d，AR mRNA较去势后第14天下调25%左右，第7天仍比正常对照高105%左右。对照β-actin各时相点电泳带灰度一致好。



图1 正常大鼠前列腺腹叶AR免疫组织化学染色呈强阳性反应 （S-P× 400）

Fig 1 Strong positive reaction of AR in intact rat prostate ventral lobe （S-P×400）

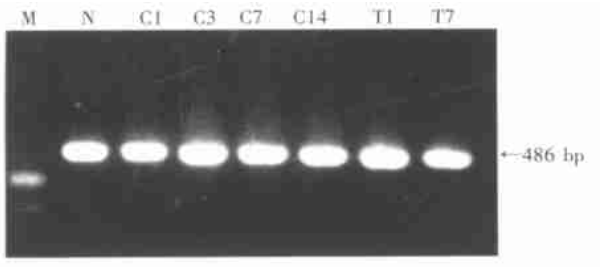
图2 雄激素去势后3 d大鼠前列腺腹叶AR免疫组织化学染色呈弱阳性反应 （S-P× 400）

Fig 2 Weak positive reaction of AR in rat prostate ventral lobe after androgen ablation （S-P× 400）

图3 雄激素去势后14 d大鼠前列腺侧叶LP2 AR免疫组织化学染色呈较强阳性反应 （S-P× 400）

Fig 3 Relatively strong positive reaction of AR in rat prostate lateral lobe part 2 at day 14 after androgen ablation （S-P× 400）

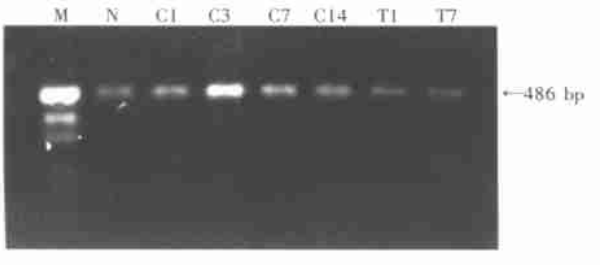
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



M: PCR Marker; N: PCR product in the intact rat prostate; C1—C14: PCR products at day 1, 3, 7, 14 after androgen ablation; T1—T7: PCR products at day 1, 7 after androgen replacement

图 4　鼠前列腺雄激素去势后及替代后不同时间β-actin mRNA 表达无变化

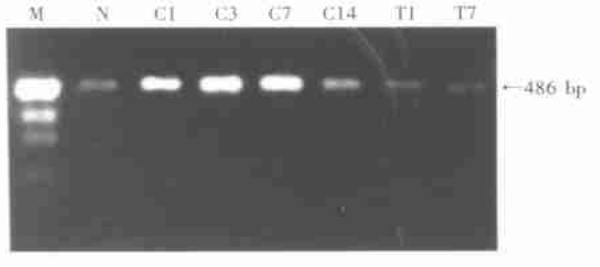
Fig 4　Stable expressions of β-actin mRNA in rat prostate after androgen ablation and replacement



M: PCR Marker; N: PCR product in the intact rat prostate; C1—C14: PCR products at day 1, 3, 7, 14 after androgen ablation; T1—T7: PCR products at day 1, 7 after androgen replacement

图 5　鼠前列腺腹叶雄激素去势后及替代后不同时间 AR mRNA 表达变化

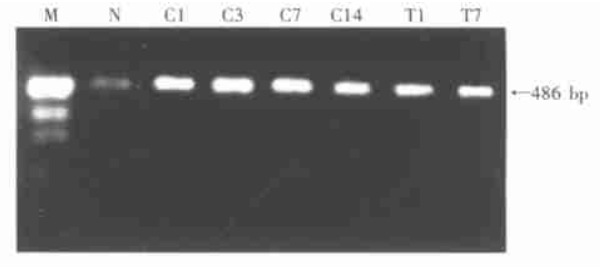
Fig 5　Expressions of AR mRNA in rat prostate after androgen ablation and replacement



M: PCR Marker; N: PCR products in intact rat prostate; C1—C14: PCR products at day 1, 3, 7, 14 after androgen ablation; T1—T7: PCR products at day 1, 7 after androgen replacement

图 6　鼠前列腺 LP1 雄激素去势后及替代后不同时间 AR mRNA 表达变化

Fig 6　Expressions of AR mRNA in rat prostate lateral part 1 after androgen ablation and replacement



M: PCR Marker; N: PCR products in intact rat prostate; C1—C14: PCR products at day 1, 3, 7, 14 after androgen ablation; T1—T7: PCR products at day 1, 7 after androgen replacement

图 7　鼠前列腺 LP2 雄激素去势后及替代后不同时间 AR mRNA 表达变化

Fig 7　Expressions of AR mRNA in rat prostate lateral part 2 after androgen ablation and replacement

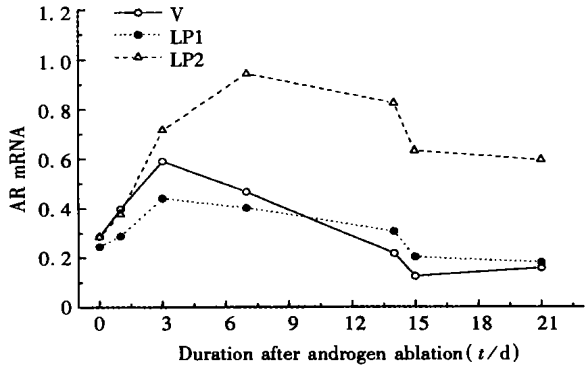


图 8　去势及雄激素治疗后前列腺 AR mRNA 变化

Fig 8　Changes of AR mRNA expressions in rat prostate after androgen ablation and replacement

3　讨论

前列腺增生是老年男性的常见病, 迄今为止, 其发病机制尚不清楚。年龄及正常睾丸功能是前列腺增生发生的基本前提条件。青春期前切除睾丸则不发生前列腺增生, 成年后雄激素去势导致前列腺萎缩。但 McNeal[2] 的研究表明, 前列腺增生并不是整个前列腺增生, 前列腺增生主要发生于前列腺尿道周围移行区, 中央区及外周区腺体不增生。所以, 尽管人前列腺不同分区均有相同雄激素受体表达, 但对雄激素的调节反应却明显不同。与此相类似, 大鼠前列腺内存在雄激素敏感的腹叶及相对不敏感的侧叶, 并且侧叶可分 LP1 及 LP2 两部分。本实验研究大鼠前列腺不同分叶雄激素受体对雄激素调节反应, 探讨前列腺增生发生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

的可能机制。

AR属于细胞核转录因子(Transcriptional factors)超家族,雄激素必须首先与细胞浆内AR相结合,促进其向细胞核内转运,在细胞核内与DNA链上特异性性激素反应元件(Sex hormone reaction element)相结合,调节着细胞的转录水平,从而控制着雄激素敏感性组织细胞的生长发育及分化[6]。所以,人们一直将AR表达水平作为雄激素对组织细胞调节作用的重要标志。

本实验表明,在雄激素敏感的腹叶、LP1,雄激素去势后第3天上皮细胞核内AR染色变浅,稀疏,第7天完全消失。而在雄激素非敏感的LP2,雄激素去势对AR表达无明显影响,只是在去势后14 d,细胞核内AR表达略有下降,但仍维持较高表达水平。说明组织雄激素敏感不同,其AR表达调节方式不同。在雄激素敏感的腹叶、LP1 AR表达与雄激素水平呈正相关,而在LP2,雄激素对AR表达无明显影响,提示在腹叶、LP1和LP2雄激素调节的信号传导可能不同。本实验进一步表明,雄激素去势后,腹叶和LP1 AR mRNA表现为一过性上调,而在LP2则表现为持续性上调,至第14天AR mRNA仍维持在较高水平,说明雄激素对腹叶、LP1和LP2 AR调节差异与AR基因转录调节不同有关,雄激素去势后LP2组织AR mRNA持续高表达状态可能是其AR稳定表达的重要原因。目前有关雄激素与前列腺AR mRNA表达的调节关系仍存在一些争议。Takeda等[6]认为,雄激素去势后腹叶前列腺AR mRNA表达并不升高,Northern杂交所观察到的升高现象可能是相对其它类型RNA升高所造成的假象。本实验支持雄激素下调AR mRNA的观点。这是因为:本实验以看家基因(House-keeping gene)β-actin为对照,以AR mRNA与β-actin mRNA表达灰度比值作为AR mRNA表达的相对强度,消除其它类型RNA波动对AR mRNA表达丰度的影响,能较准确地反映AR mRNA的表达水平;雄激素替代治疗后AR mRNA表达下调。而其它研究结论的差异可能与观察的时相不同有关。本实验也显示,与正常对照相比去势后第1天AR mRNA无明显升高,第3~7天达高峰后又呈下降趋势,观察的时相不同,所得的结论可能会不一致。至于雄激素去势后为什么腹叶及LP1 AR mRNA升高,AR表达水平反而下降?原因并不清楚。有人推测可能与AR基因转录后调节改变有关,雄激素去势可能会导致AR mRNA稳定性下降,转运障碍,蛋白质合成下降[7~9]。另一方面雄激素去势后腹叶、LP2 AR mRNA上调并不持久,为一过性改变,但其详细机制有待进一步研究证实。

本实验结果说明,在雄激素敏感性不同的组织,雄激素对其受体表达调节不同,这可能会导致雄激素介导的生长因子表达也不同,对前列腺生长调节作用也将有明显差异。

参考文献:

[1] Oesterling J E. The origin and development of benign prostatic hyperplasia. An age-dependent process[J]. J Androl, 1991, 12(6): 348—355.

[2] McNeal J E. Normal history of the prostate[J]. Am J Surg Pathol, 1988, 12(8): 619—633.

[3] Banerjee S, Banerjee P P, Zirkin B R. Cell proliferation in the dorsal and lateral lobes of the rat prostate during postnatal development[J]. J Androl, 1993, 14(5): 310—318.

[4] Goulding H, Pinder M S, Cannon P C, *et al*. A new immunohistochemical antibody for assessment of estrogen receptor status on routine formalin-fixed tissue[J]. Sample, 1995, 26(3): 291—294.

[5] Prins G S, Woodham C. Autologous regulation of androgen receptor mRNA in the separate lobes of the rat prostate gland[J]. Biol Reprod, 1995, 53(3): 609—619.

[6] Takeda H, Hakamoto T, Kokontis J, *et al*. Autoregulation of androgen receptor expression in rodent prostate: immunohistochemical and *in situ* hybridization analysis[J]. Biochem Biophy Res Commun, 1991, 177(1): 488—496.

[7] Zhou Z X, Wong C I, Sar M, *et al*. The androgen receptor: an overview[J]. Recent Prog Horm Res, 1994, 49: 249—274.

[8] McConnell J D. Prostatic growth: New insights into hormone regulation[J]. Br J Urol, 1995, 76 (Suppl 1): 5—10.

[9] Foxley G J, Dong Q, Handelsman D J. Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for mouse androgen receptor mRNA[J]. Endocrine, 2001, 15(2): 193—198.

(编辑 刘洪娥)

(上接1152页)

的效果。颈内静脉、股静脉、锁骨上、下静脉由于体表投影较好,血管粗,通路好,易于穿刺等特点在迅速提高血容量、抗休克方面起到十分重要的作用。临床上在麻醉、危重病治疗中使用广泛。327例置管病人中抗休克施行急救手术286例,死亡6例,抢救成功率达98%,其成功之处与中心静脉置管后能快速补液、输血,迅速提高有效循环血量、监测中心静脉压,为诊断和手术提供依据及可靠的循环保证。

在抢救休克中由于是快速置管对操作技术和无菌技术要求较高,切不可因快速置管而违反操作规程。327例置管病人中,发生误穿、血肿、感染等不良反应就有28例,占0.08%。值得提出的是,在严重血气胸病人穿刺中,由于颈内静脉穿刺一旦误入胸腔,其胸腔内心、肺出血与动脉血液不便区分,最好采用股静脉进行穿刺。本组就发生1例心脏刀刺伤伴血气胸病人,穿刺误入胸腔,当时心脏出血与动脉血液一时不能区分,后经手术证实穿刺针误入了胸腔。

关键词:深静脉置管;创伤休克;急救

中图法分类号:R472.2 文献标识码:B

参考文献:

[1] 仲剑平. 医疗护理技术操作常规[M]. 第4版. 北京:人民军医出版社, 1998. 99—100.

(编辑 栗 嘉)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net