

女性腺性膀胱炎膀胱平滑肌层 α_1 -AR 表达的研究

林明恩, 姚友生, 蔡奕川

(中山大学附属第二医院泌尿外科, 广东 广州 510120)

摘要: 【目的】研究 α_1 -肾上腺素能受体 (α_1 -Adrenergic receptor, α_1 -AR) 在女性腺性膀胱炎 (cystitis glandularis, CG) 患者膀胱三角区及逼尿肌中平滑肌细胞的表达情况; 探讨 α_1 -AR 在引起下尿路症状、膀胱过度活动症中的作用机制。【方法】采用免疫组织化学法检测 32 例女性腺性膀胱炎患者及 9 例正常女性膀胱逼尿肌及三角区肌层中 α_1 -AR 的表达情况, 并结合尿动力学进行分析。【结果】32 例腺性膀胱炎患者膀胱逼尿肌及三角区肌层的 α_1 -AR 表达阳性细胞数比正常对照组显著增加, 两者具有正相关关系 ($P < 0.0001$); 32 例腺性膀胱炎患者中, 尿动力学表现为不稳定膀胱的 9 例患者的逼尿肌及三角区肌层 α_1 -AR 表达阳性细胞数均比非不稳定膀胱患者的表达显著增加 ($P < 0.0001$)。20 例膀胱出口梗阻患者的逼尿肌及三角区肌层 α_1 -AR 表达与非膀胱出口梗阻患者无明显差异 ($P > 0.05$)。【结论】女性腺性膀胱炎患者膀胱逼尿肌层、三角区肌层的 α_1 -AR 表达存在正相关关系, 提示 CG 可同时引起此两部位 α_1 -AR 表达增加。 α_1 -AR 表达增加可能是引起女性腺性膀胱炎逼尿肌压升高、不稳定膀胱等引起的下尿路症状的原因之一。

关键词: 腺性膀胱炎; α_1 -肾上腺素能受体; 逼尿肌; 尿流动力学

中图分类号: R694.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)05-0557-05

 α_1 -Adrenergic Receptor in Vesical Smooth Muscle of Cystitis Glandularis in Female

LIN Ming-en, YAO You-sheng, CAI Yi-chuan

(Department of Urology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】 To study the expression of α_1 -adrenergic receptor in the vesical smooth muscle of female patients with cystitis glandularis, and explore the mechanism of action how α_1 -adrenergic receptor evoked overactive bladder and low urinary tract symptoms. 【Methods】 Immunohistochemistry was applied to detect the expression of α_1 -adrenergic receptor in the vesical smooth muscle of 32 patients with cystitis glandularis in female and the same site samples from 9 normal women were used as control group. The relationship between urodynamic changes and the expression of α_1 -adrenergic receptor were analyzed. 【Results】 There was statistical significance of the expression of α_1 -adrenergic receptor in detrusor and triangular smooth muscle between the two groups ($P < 0.0001$). Among the 32 patients with cystitis glandularis, there was statistical significance of the expression of α_1 -adrenergic receptor in detrusor and triangular smooth muscle between 9 patients with unstable bladder and the other patients. There was not statistical significance of the expression of α_1 -adrenergic receptor in detrusor and triangular smooth muscle between 20 patients with bladder outlet obstruction and the other patients. 【Conclusion】 There was positive correlation of the expression of α_1 -adrenergic receptor between detrusor and triangular smooth muscle of the patients with CG, and this revealed that CG may cause the increase of the expression of α_1 -adrenergic receptor in vesical smooth muscle. The increasing expression of α_1 -adrenergic receptor's may be one of the reasons of the low urinary tract symptoms which were evoked by accentuation of pressure of detrusor and unstable bladder.

Key words: cystitis glandularis; α_1 -adrenergic receptor; detrusor; urodynamics

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(5):557-561]

腺性膀胱炎 (cystitis glandularis, CG) 是一种膀胱黏膜增殖性、化生性病变^[1], 是女性最常见的泌

收稿日期: 2007-06-02

基金项目: 广东省科技计划项目 (0711220600356)

作者简介: 林明恩 (1979-), 男, 广东揭阳市人, 硕士研究生; 姚友生, 副教授, 硕士生导师, 通讯作者, E-mail: yousheng_yao_gz@hotmail.com.

尿外科疾病之一,好发于膀胱三角区、膀胱颈部及输尿管口周围,临床上可表现为反复发作的尿频、尿急、尿痛、尿失禁或遗尿等膀胱过度活动(overactive bladder, OAB)症状,病史中也可有长期膀胱颈口梗阻及伴随症状。目前对其发病的病理生理、预防复发机理等方面了解仍较少,因此临床治疗效果也不满意,且复发率较高。而诱发 OAB 可能是与 α_1 肾上腺素能受体(α_1 -AR)活性增强有关^[2]。研究表明其亚型 α_{1D} -AR 与膀胱激惹症状包括尿频尿急和夜尿增多等有关^[3],同时引起尿流动力学的改变。而目前国内外对腺性膀胱炎中 α_{1D} -AR 变化的研究还未见文献报道。为此,我们检测了女性腺性膀胱炎患者膀胱逼尿肌、三角区肌层的 α_{1D} -AR 的表达,并结合尿流动力学检查进行研究,探讨 α_{1D} -AR 的变化在腺性膀胱炎病理生理变化中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 临床资料

2005 年 5 月至 2006 年 2 月,在我科确诊为腺性膀胱炎的女性患者 32 例,年龄 21~74 岁,中位年龄 51 岁;病史 2 月~10 年,中位数 7 月。主要症状为尿频、尿急,其中 22 例伴有夜尿增多、排尿不尽感;9 例伴有排尿困难;8 例伴有下腹部疼痛不适;3 例伴有性交疼痛;15 例伴有血尿;5 例伴有焦虑、紧张、失眠等精神症状。全部已行经尿道膀胱电切术,术后病理诊断均为腺性膀胱炎。

正常女性 9 例作为对照组,年龄 41~64 岁,中位年龄 52 岁;无下尿路症状,膀胱镜检查未见异常。

1.2 标本获取

试验组膀胱平滑肌均取自经尿道电切手术,每个病例取两组标本:一组为膀胱三角区病变部位,手术电刀切至平滑肌层;另一组为输尿管间脊中点上方 2 厘米膀胱体部处,电切至平滑肌层。手术均为同一主刀完成。对照组膀胱平滑肌取自经尿道电切手术或膀胱镜下取活检,切下部位与深度同前。再将标本置于 -80℃ 冰箱中保存;统一作常规石蜡包埋切片,厚度约为 4 μm 。

1.3 试剂及方法

用于免疫组化的 SP 系列试剂盒为北京中山公司产品 PV-9000 (即用型), α_{1D} -AR 抗体为美国

Santa Cruz 公司产品,浓度为 200 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 。免疫组化 SP 法主要步骤:石蜡切片常规脱蜡至水,EDTA/枸橼酸钠溶液浸泡,微波炉等处理进行抗原修复;三蒸水孵育后,依次滴加封闭血清,一抗(4 过夜),二抗(室温 20~30 min),辣根酶标记卵白素工作液(室温 15~20 min)。每张切片滴加新鲜配置的 DAB 染色,显微镜下观察以控制反应时间,苏木素复染,中性树胶封片。一抗按 1:3750 稀释,二抗为即用型。

1.4 结果判断

采用半定量法,染色阳性标准为细胞膜、胞浆出现黄褐色或棕褐色颗粒。以免疫组化染色较多的区域取 10 个高倍视野,分别计数 100 个细胞,取其平均数,作为阳性细胞数。

1.5 尿流动力学检查

采用美国乔纳斯尿流动力测定仪。膀胱测压管采用 F8 双腔导管,经尿道插入法,测压介质为等渗盐水,水温约 37℃,注入速度为 60 mL/min。测定患者残余尿、尿量、膀胱压力、逼尿肌肌电图、逼尿肌压力以及尿流率等指标,并根据国际尿控协会标准分析其尿流动力学表现。

1.6 统计学处理

采用 SPSS11.5 软件进行分析,各组阳性细胞表达数比较采用配对资料的 t 检验和独立样本的 t 检验,并计算相关系数。检验水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 免疫组织化学结果

所有病例逼尿肌、三角区肌层中均有阳性细胞表达;对照组逼尿肌层均有阳性表达,6 例三角区肌层中可见阳性表达。表达情况见表 1 及图 1~4:

表 1 各组肌层阳性细胞表达情况
Table 1 Positive cells expression in each group

| Group | n | Positive cells | t | P |
|------------------------------|----|----------------|------|--------|
| Patient Detrusor (A) | 32 | 74 \pm 7 | 4.22 | 0.0001 |
| Triangular Smooth Muscle (B) | 32 | 61 \pm 22 | | |
| Control Detrusor (C) | 9 | 20 \pm 5 | 5.38 | 0.0001 |
| Triangular Smooth Muscle (D) | 9 | 5 \pm 4 | | |

The correlation coefficient of A and B: $r=0.875$ ($P<0.0001$), and the correlation coefficient of C and D: $r=0.547$ ($P=0.128$).

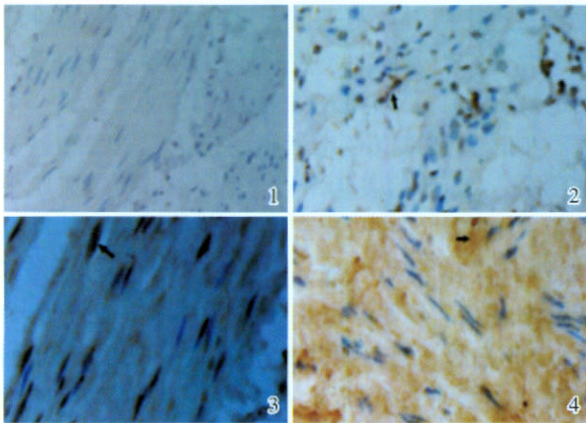


图 1 CG 膀胱逼尿肌 PBS 阴性对照
 图 2 正常膀胱逼尿肌 α_{1D} -AR 染色阳性
 图 3 CG 膀胱三角区肌层 α_{1D} -AR 染色阳性
 图 4 CG 膀胱逼尿肌 α_{1D} -AR 染色阳性
 Fig.1 CG negative detrusor with PBS control(x400)
 Fig.2 Normal bladder α_{1D} -AR positive detrusor(x400)
 Fig.3 CG α_{1D} -AR positive triangular smooth muscle(x400)
 Fig.4 CG α_{1D} -AR positive detrusor(x400)

2.2 尿流动力学结果

不稳定膀胱 9 例, 充盈期逼尿肌压 22 ~132 cmH₂O; 膀胱出口梗阻或尿道阻力增加 20 例; 逼尿肌无力 6 例, 排尿期逼尿肌压 2 ~20 cmH₂O; 高顺应性膀胱 2 例, 膀胱容量 650 ~680 mL, 初始尿意灌注量 250 ~300 mL; 逼尿肌括约肌不协调 (DSD) 9 例; 低顺应性膀胱 3 例; 尿流动力学正常 4 例。还有 1 例患者储尿期出现漏尿, 咳嗽时最小漏尿压 11 cmH₂O, valsalva 动作时最小漏尿压 16 cmH₂O。各种尿动力学表现见表 2。

表 2 尿流动力学结果
 Table 2 Results of Urodynamics

| | n | Percentage (%) |
|----------------------------|----|----------------|
| Unstable Bladder | 9 | 28.1 |
| Bladder Outlet Obstruction | 20 | 63.5 |
| Detrusor Muscle Weakness | 6 | 18.8 |
| High Compliance Bladder | 2 | 6.3 |
| Normal | 4 | 12.5 |
| DSD | 9 | 28.1 |
| Low Compliance Bladder | 3 | 9.4 |

2.3 尿流动力学与免疫组化结果的关系

将尿流动力学结果为不稳定膀胱的 9 例归为不稳定膀胱组, 其余 23 例患者归为患者对照组,

比较两组膀胱肌层 α_{1D} -AR 表达的关系。情况如表 3。由表 3 可以看出不稳定膀胱患者膀胱逼尿肌、三角区肌层 α_{1D} -AR 表达均比非不稳定膀胱患者有增加, 两者均有显著性差异。而不稳定膀胱组和患者对照组的膀胱逼尿肌及三角区肌层的 α_{1D} -AR 表达均比正常组高, 差异有统计学意义 (P<0.0001)。

表 3 不稳定膀胱组与患者对照组 α_{1D} -AR 表达情况
 Table 3 Expression of α_{1D} -AR between Unstable Bladder Group and Control Group

| Group | n | Positive cells | t | P |
|--------------------------|----|----------------|------|-------|
| Detrusor | | | | |
| Unstable Bladder | 9 | 88 ±5 | 2.42 | 0.024 |
| Control | 23 | 69 ±8 | | |
| Triangular Smooth Muscle | | | | |
| Unstable Bladder | 9 | 81 ±12 | 3.1 | 0.005 |
| Control | 23 | 52 ±1 | | |

2.4 尿动力学中梗阻组与非梗阻组比较

将尿流动力学结果为膀胱出口梗阻或尿道压增高患者 20 例归为梗阻组, 其余患者共 12 例归为患者对照组。比较两组膀胱肌层 α_{1D} -AR 表达情况, 结果如表 4。由表 4 可以看出膀胱出口梗阻患者膀胱逼尿肌、三角区肌层 α_{1D} -AR 表达与非膀胱出口梗阻患者两者无显著性差异。而梗阻组和患者对照组的膀胱逼尿肌及三角区肌层的 α_{1D} -AR 表达均比正常对照组高, 差异有统计学意义 (P<0.0001)。

表 4 梗阻组与患者对照组 α_{1D} -AR 表达情况
 Table 4 Expression of α_{1D} -AR between obstruction group and patient control group

| Group | n | Positive cells | t | P |
|--------------------------|----|----------------|-------|-------|
| Detrusor | | | | |
| Obstruction | 20 | 73 ±6 | 0.608 | 0.662 |
| Patient Control | 12 | 77 ±7 | | |
| Triangular Smooth Muscle | | | | |
| Obstruction | 20 | 61 ±20 | 0.803 | 0.558 |
| Patient Control | 12 | 66 ±9 | | |

3 讨 论

腺性膀胱炎 (CG) 的临床症状是以尿频、尿急为主的膀胱过度活动症 (OAB), 而我们已知 OAB

症状的产生与交感和副交感神经分泌的神经递质(如儿茶酚胺类、乙酰胆碱等)或其他体液的支配而影响逼尿肌与尿道括约肌不随意收缩作用有关^[4]。肾上腺素能受体(adrenergic receptor, AR)是神经递质去甲肾上腺素和内分泌激素肾上腺素在靶细胞上的特异性受体,可分为 α_1 、 α_2 三类^[5]。其中 α_1 -AR主要分布在逼尿肌、膀胱颈等部位,可使平滑肌收缩,产生排空效应; α_1 -AR功能亢进时可诱发膀胱逼尿肌不稳定,引起不稳定膀胱^[2,6]。而 α_2 -AR则主要在膀胱体部,使平滑肌松弛产生膀胱容积增大,促进储尿;Kakizaki等^[7]认为 α_1 -AR和胆碱能受体是维持膀胱内压的主要因素,引起膀胱内压增高,诱发不稳定膀胱(unstable bladder)等症状主要可能是与 α_1 -AR活性增强,通过负反馈减少对逼尿肌收缩的抑制有关。Gu等^[8]应用 α_1 -AR阻滞剂观察正常与有膀胱输出道梗阻的白鼠,发现均可使膀胱内压降低,增加膀胱容量、尿潴留等作用;并且有膀胱输出道梗阻或膀胱过度活动组作用更明显,原因可能是膀胱过度活动者 α_1 -AR表达增加或功能亢进。

Malloy^[9]研究发现人类膀胱逼尿肌上有 α_1A -AR、 α_1D -AR两种受体亚型表达,未见 α_1B -AR表达。其中 α_1A -AR约占34%, α_1D -AR约占66%。而在膀胱出口梗阻患者中, α_1 -AR表达增加,其中 α_1D -AR比例增高,达75%^[10]。有研究发现 α_1D -AR与介导膀胱收缩的内源性神经递质如去甲肾上腺素、肾上腺素的亲和力是 α_1A -AR和 α_1B -AR的10到100倍^[10,11]。Chen等^[12]研究发现敲除了 α_1D -AR的大鼠比正常大鼠的排尿次数减少、排尿量增加,膀胱测压也显示膀胱容量及尿量都有一定程度的增加。

本研究发现对照组9例正常膀胱逼尿肌肌层中均可见 α_1D -AR阳性表达,阳性细胞数为 20 ± 5 ,三角区肌层有3例未见阳性表达,阳性细胞数为 5 ± 4 ,两者有显著性差异。提示 α_1D -AR主要表达于正常膀胱逼尿肌层中,在三角区平滑肌层中仅有少量表达,这一结果与文献基本一致^[13]。

在32例CG患者中膀胱三角区肌层和逼尿肌层中 α_1D -AR均有阳性细胞表达。逼尿肌层中阳性细胞数为 74 ± 17 ,而在三角区肌层中 61 ± 22 ,两者与正常膀胱之间差异有统计学意义。提示CG患者膀胱逼尿肌层、三角区平滑肌的 α_1D -AR均比正常膀胱有显著增加。三角区肌层、膀胱颈上的 α_1 -AR可以介导平滑肌收缩,增加输出道阻力,抑制排尿。而逼尿肌的 α_1 -AR则可以促进膀胱排尿。

两者表达比例增加不平衡,可能会造成膀胱输出道压力升高以及同时发生膀胱内压增高,加重不稳定膀胱发生,产生LUTS与OAB症状。

在所选32例CG患者膀胱三角区肌层和逼尿肌层中 α_1D -AR的表达率有显著性差异,逼尿肌中的阳性表达(74 ± 17)比三角区(61 ± 22)要高(12 ± 4),两者之间相关系数 $r = 0.875$ ($P < 0.0001$),有统计学意义,两者存在正相关关系。我们认为CG患者膀胱三角区肌层和逼尿肌层中 α_1D -AR的表达存在相关关系,提示由同一病因引起,可能由于膀胱平滑肌细胞对交感神经兴奋性提高引起的。有学者在研究不稳定膀胱和尿道梗阻中认为排尿阻力增加使膀胱收缩代偿增加,逼尿肌的功能和组织学发生改变,组织氧分压下降和血供不足,发生缺血再灌注病变,反复激活的水解酶导致细胞膜发生改变,局部自由基和脂质过氧化物聚积,使平滑肌和神经兴奋性增加导致尿频、尿急以及不稳定膀胱的发生^[14,15]。

本研究另外发现,尿流动力学诊断为不稳定膀胱的9例患者逼尿肌、三角区中的 α_1D -AR表达均比余下的23例患者要高(差异有统计学意义),提示 α_1D -AR为诱发CG患者不稳定膀胱发生的原因之一。尿流动力学诊断为膀胱出口或尿道梗阻的20例患者逼尿肌、三角区中的 α_1D -AR表达与余下的12例患者的表达均无统计学意义($P > 0.05$),提示引起CG患者膀胱三角区平滑肌层和逼尿肌中 α_1D -AR表达增加可能是由于CG腺体病变刺激引起,梗阻本身不是主要原因。也可能是由于样本量不够大,未能揭示之间的差异。

综上所述,CG可同时引起女性腺性膀胱炎膀胱逼尿肌及三角区肌层 α_1D -AR表达增加。 α_1D -AR表达增加可能是引起女性腺性膀胱炎逼尿肌压升高、不稳定膀胱的原因之一。

参考文献:

- [1] DELNAY K M, STONEHILL W H, GOLDMAN H, et al. Bladder histological changes associated with chronic indwelling urinary catheter [J]. J Urol, 1999, 16(4): 1106-1110.
- [2] ANDERSON K E. Mode of action of adrenoreceptor antagonists in the treatment of low urinary tract symptoms [J]. Br J Urol, 2000, 85(Suppl 2):12-18.
- [3] SCHWINN D A. The role of alpha12adrenergic receptor subtypes in lower urinary tract symptoms [J]. BJU Int,

- 2001, 88(Suppl): 27- 34.
- [4] WYNDAELE J J. The overactive bladder [J]. BJU Int, 2001, 88(2):135- 138.
- [5] RAYMOND JR, HOATOWICH M, LEFKOWITZ, et al. Adrenergic receptors: models for regulation of signal transduction processes [J]. Hypertension, 1999, 15:119- 131.
- [6] MORITA T, MASUDA H, TOSAKA A, et al. Sex different in function and distribution of beta - adrenoceptor in rabbit urinary bladder [J]. J Urol, 1998, 159: 555- 558.
- [7] KAKIZAKI H, KOYANAGI T. Current view and status of the treatment of lower urinary tract symptoms and neurogenic lower urinary tract dysfunction [J]. BJU Int, 2000, 85(Suppl 2): 25- 30.
- [8] GU BAOJUN, ASHIZUKA O, IGAWA Y. Role of supraspinal α_1 -adrenoceptors for voiding in conscious rats with and without Bladder outlet obstruction [J]. J Urol, 2002, 167: 1887- 1891.
- [9] MALLOY B J, PRINCE D T, PRICE P R, et al. α_1 - Adrenergic receptor subtypes in human detrusor [J]. J Urol, 1998, 160: 937- 943.
- [10] HAMPEL C, DOLBER P C, SMITH M R, et al. Modulation of bladder α_1 -adrenergic receptor subtype expression by bladder outlet obstruction [J]. J Urol, 2002, 167(2): 1513- 1521.
- [11] BOSCH R. Instability of the bladder: Pathophysiology unknown? A synopsis of clinical points of interest [J]. Neurourol Urodyn. 1990, 9(7): 563- 565.
- [12] CHEN Q, TAKAHASHI S, ZHONG S, et al. Function of lower urinary tract in mice lacking α_1d - adrenoceptor [J]. J Urol, 2005, 174(1): 370- 374.
- [13] STEWARD W F, VON ROOYEN J B, CUNDIFF G W, et al. Prevalence and burden of overactive bladder in United States [J]. World J Urol, 2003, 20(4):327- 336.
- [14] ELBADAWJ A, MAILEMARIAM S, YALLA S V. Structural basis of geriatric voiding dysfunction: prospective ultrastructural/urodynamics evaluation of its natural evolution [J]. J Urol, 1997, 157(5):1814- 1822.
- [15] BOSCH R. Instability of the bladder: Pathophysiology unknown? A synopsis of clinical points of interest [J]. Neurourol Urodyn, 1990, 9(4):563- 565.

(编辑 徐杰)

(上接第 556 页 from page 556)

- localization of lymph node [J]. Surg Oncol, 1993, 2(2): 137- 143.
- [6] GIULIANO A E, HAIGH P I, BRENNAN M B, et al. Prospective observational study of sentinel lymphdenectomy with out further axillary dissection in patients with sentinel node negative breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2000, 18(13):2553- 2559.
- [7] KLEVESATH M B, BOBROW L G, PINDER S E. The value of immunohistochemistry in sentinel lymph node histopathology in breast cancer [J]. Br J Cancer, 2005, 92(12): 2201- 2205.
- [8] GALIMBERTI V. How safe is a sentinel node biopsy [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(2):114- 118.
- [9] AL SHIBLI K I, MOHAMMED H A, MIKALSEN K S, et al. Sentinel lymph nodes and breast carcinoma: analysis of 70 cases by frozen section [J]. Ann Saudi Med, 2005, 25(2):111- 114.
- [10] 郑镇木, 黄少明, 徐达传. 乳腺癌前哨淋巴结活检的研究进展 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2003, 21(3): 293- 294.
- [11] STATHOPOULOS E N, SANIDAS E, KAFOUSI M, et al. Detection of CK19 mRNA - positive cell in the peripheral blood of breast cancer patients with histologically and immunohistochemically negative axillary lymph nodes [J]. Ann Oncol, 2005, 16(3): 240- 246.
- [12] PENDAS S, DAUWAY E, COX C E, et al. Sentinel node biopsy and cytokeratin staining for the accurate staging of 478 breast cancer patients [J]. Am Surg, 1999, 65(6):500- 505.
- [13] CHOI S H, BARSKY S H, CHANG H R. Clinicopathologic analysis of sentinel lymph node mapping in early breast cancer [J]. Breast J, 2003, 9(3): 153- 162.
- [14] 冯玉梅, 郝希山, 于泳, 等. CK19 作为微转移癌检测基因标志的假基因干扰及解决方法 [J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23(4): 330- 331.
- [15] VAILE G, SANZAGNI A, PRUNERI G, et al. Histopathologic examination of axillary sentinel lymph node breast carcinoma patients [J]. J Surg Oncol, 2004, 85(3): 123- 128.
- [16] FLEISSIG A, FOLLOWFIELD L J, LANGRIDE C L, et al. Post-operative arm Morbidity and quality of life. Results of the ALMANAC randomised trial comparing sentinel lymph node biopsy with standard axillary treatment in the management of patient with early breast cancer [J]. Breast cancer Res Treat, 2006, 95(3): 279- 293.

(编辑 徐杰)