

不同年龄段前列腺外周带基质细胞超微结构差异*

王永传¹ 韩邦旻¹ 朱平² 杨洁² 夏术阶^{1△}

(1 上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科 上海 200080 2 上海交通大学医学院电镜室 上海 200025)

摘要 目的:研究不同年龄段前列腺外周带基质细胞超微结构并探讨其意义。方法:透射电镜观察 3 例年轻组(23-、26-、32- 岁)和 3 例老年组(56-、64-、71- 岁)正常前列腺外周带和 3 例前列腺癌组织的超微结构。Masson's Trichrome 染色法观察前列腺外周带基质胶原的分布情况。结果:年轻组、老年组前列腺外周带间质均以平滑肌细胞分布为主,间杂成纤维细胞,但老年组平滑肌细胞和成纤维细胞体积较大、形态不规则。与正常年轻组相比,老年组前列腺外周带成纤维细胞存在明显老化和肌化改变,部分细胞内与蛋白合成相关的细胞器粗面内质网发达,呈现肌成纤维细胞特征。与年轻组和老年组外周带相比,前列腺癌基质中功能更加活跃的肌成纤维细胞和胶原蛋白数量增加明显。Masson's Trichrome 染色支持超微观察到的基质胶原分布差异:年轻组<老年组<前列腺癌组。结论:不同年龄段前列腺外周带基质细胞超微结构间存在差异,老年组前列腺外周带和前列腺癌基质组织中具有活性的肌成纤维细胞的增加可能是造成老年前列腺癌高发和恶性进展的重要病理基础之一。

关键词: 前列腺;外周带;基质细胞;超微结构

中图分类号:R697.3 R737.25 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2011)01-84-03

Ultrastructural Difference of Stromal Cells from Normal Human Prostate Peripheral Zone of Varying Ages*

WANG Yong-chuan¹, HAN Bang-min¹, ZHU Ping², YANG Jie², XIA Shu-jie^{1△}

(1 Department of Urology, Shanghai Jiao Tong University Affiliated First People's Hospital, School of Medicine, 200080, Shanghai, China;

2 Department of Cell Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, 200025, Shanghai, China)

ABSTRACT Objective: To characterize the phenotype of stromal cells from the human prostate peripheral zone (PZ) of varying ages. **Methods:** The ultrastructural features of stromal cells from normal prostate PZ of 3 young donors (23, 26 and 32 years old), 3 old donors (56, 64 and 71 years old) and 3 cases of prostate cancer tissue specimen were compared by transmission electron microscopy, also the distribution of collagen were determined by Masson's Trichrome staining. **Results:** Smooth muscle cells in the stroma of PZ-old and PCa groups were larger in size and number than those in the PZ-young group. Fibroblasts in the stroma of PZ-old and PCa groups showed phenotype of myodifferentiation and more active cellular function, characterized by prominent protein synthesis associated cytoplasmic apparatus, e.g. rough endoplasmic reticulum. Masson's Trichrome staining supported the result of different extracellular collagen ratio in different groups as follows: PZ-young < PZ-old < PCa group. **Conclusions:** There were age-related ultrastructural variations of stromal cells from prostate PZ. The presentation of myofibroblasts in the stroma of PZ-old and PCa groups may be one of the important factors for prostate malignant development and progression.

Key Words: Prostate; Perihelal zone; Stromal cell; Ultrastructure

Chinese Library Classification(CLC): R697.3, R737.25 **Document code:** A

Article ID : 1673-6273(2011)01-84-03

前言

前列腺癌(Prostate Cancer, PCa)是严重危害老年男性健康的疾病^[1],其发病机制尚不完全清楚。基质-上皮对话(Crosstalk between stroma-epithelium)在前列腺的生长发育以及病变过程中发挥着核心作用^[2,3]。临床观察发现绝大多数 PCa 发生于前列腺外周带(Peripheral Zone, PZ)。我们前期研究发现外周带和移行带基质细胞超微结构存在显著差异^[4],且外周带基质细胞比移行带基质细胞更能够促进前列腺恶性上皮细胞的生长^[5]。然而,不同年龄阶段人前列腺外周带基质细胞超微结

构尚需进一步研究,因此,本研究通过观察不同年龄阶段人前列腺外周带基质细胞超微结构,探讨基质微环境对老年男性 PCa 的影响。

1 材料和方法

1.1 标本取材

正常前列腺组织标本取自尸体供者以及上海交通大学附属第一人民医院因膀胱癌行根治性全切的供者,其中年轻组(23-、26-、32- 岁)、老年组(56-、64-、71- 岁)3 例前 PCa 组织标本取自根治性前列腺切除术患者(57-、65-、67- 岁),Gleason 评

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目(81072096),上海市教育委员会科研创新重点项目(102216)

作者简介:王永传(1974-)男,博士研究生,主治医师,研究方向:前列腺肿瘤的基础与临床研究, E-mail: chinawyc2004@163.com

△通讯作者:夏术阶, E-mail: xsjurologist@163.com

(收稿日期:2010-11-02 接受日期:2010-11-27)

分 6-8 分。按照 McNeal 区带解剖法分别取 1 mm³ 和 1 cm³ 大小外周带组织两块,分别用 2%戊二醛(4℃保存)和 4%多聚甲醛固定,分别行透射电镜及 Masson's Trichrome 染色。

1.2 透射电镜观察细胞超微结构

0.01 M PBS 漂洗用 2%戊二醛固定(大于 2 h)的 1 mm³ 外周带标本;1%锇酸固定 2 h(4℃);乙醇梯度脱水;环氧丙烷置换 10 min×2 次;环氧树脂与环氧丙烷浸透;包埋、切片;2%枸橼酸铅及醋酸双氧铀染色,透射电镜(Philip CM-120, Eindhoven, 荷兰)观察并照相。

1.3 Masson's Trichrome 染色

石蜡切片脱蜡至水,37℃温箱内孵育 2 h,流水冲洗切片至黄色褪去;浸入 Weigert's 铁苏木素液 5 min;1%盐酸酒精分化;浸入丽春红酸性品红染液 5 min;浸入磷钼酸溶液 5 min;苯胺蓝染液复染 5 min;1%冰醋酸处理 1 min,常规脱水、透明、封片并照相。观察不同组胶原的分布情况。胶原蛋白呈蓝色,胞核呈蓝黑色,平滑肌等其他组织呈现红色。

2 结果

年轻组正常前列腺外周带腺腔上皮细胞呈高柱状,细胞间连接紧密,核大而圆,常染色质分布比例多,胞浆内可见大量分泌性颗粒(图 1A);基底细胞扁平状,贴近基底膜与成纤维细胞、平滑肌细胞分隔,腺腔基底膜规整,毗邻的平滑肌细胞长梭型;成纤维细胞间杂于大量的平滑肌细胞中,形态纤细狭长,体积较小,胞浆内细胞器少,胞核内异染色质较多,部分细胞发生线粒体嵴断裂呈空泡样改变,提示细胞功能减退;周围可见纵横交错的成熟胶原组织(图 1B),局部可见到凋亡的上皮细胞。

老年组正常前列腺外周带腺腔宽大,呈大泡或囊泡状,腺上皮较年轻组萎缩,呈单层扁平或矮柱状,细胞核固缩靠近基底部,核内异染色质增多,胞浆体积缩小,可见许多代表细胞退化性变的空泡化改变。腺腔周围可见形态不规则的平滑肌和成纤维细胞分布,平滑肌细胞为主,且细胞体积较大,胞浆内密布微丝和密体,大量疏松胶原组织在周围散在分布(图 1D)。成纤维细胞形态宽大,浆/核比例增大,核膜锯齿状凹陷,胞浆内出现代表细胞肌化改变的微丝、密体和密斑,还可见较多与蛋白合成功能旺盛相关的细胞器,如扩张的粗面内质网(图 1E)。未见到凋亡细胞。

PCa 组腺体结构紊乱,腺腔消失,上皮和间质细胞混杂,形态不规则。成纤维和平滑肌细胞体积较老年组进一步增大,周围可见大量新生胶原组织(图 1G)。成纤维细胞核膜呈典型的锯齿状凹陷,核内常染色质比例高,胞浆内与蛋白合成相关的细胞器粗面内质网明显扩张,提示功能活跃,还可见微丝和密体、密斑等肌化特征,局部可见脂滴形成(图 1H)。Masson's Trichrome 染色进一步证明电镜下观察到的基质胶原表达水平:年轻组<老年组<PCa 组(图 1C、F、I)。

3 讨论

前列腺具有随年龄增长呈阶段性生长的特点^[6]。青春前期前列腺发育成熟后,组织中各种成分随年龄增长仍处于不断变化中,表现为上皮不断减少,间质增加。前列腺疾病也具有典型的年龄分布特征,前列腺增生和 PCa 常见于 50 岁以上的男性,发

病率随年龄增长^[7],但其发病机理及病理基础尚不完全清楚。我们前期研究已发现,前列腺基质细胞在外周带和移行带间存在功能状态和区域性分布差异^[4],体外培养的外周带基质细胞能够促进前列腺癌细胞 PC-3 的成瘤性生长,而移行带基质细胞则起抑制作用^[5]。近来众多研究发现,衰老的基质细胞在促进上皮细胞癌变过程中发挥了重要的作用^[8,9]。因此,我们进一步观察了不同年龄段前列腺外周带基质细胞的超微结构,并结合 PCa 超微结构对比研究发现以下不同点:①年轻组外周带平滑肌细胞分布稀疏,而老年组平滑肌细胞数量显著增多,可见代表细胞老化改变的空泡出现。这可能与老年男性体内雄激素水平降低、雌/雄激素比例升高有关,而雌激素能够显著促进前列腺基质细胞向平滑肌细胞表型的改变^[10]。因此,老年男性体内雌激素比例的升高可能是导致前列腺基质细胞肌化表型改变的一个重要因素。而平滑肌细胞可通过分泌负性生长因子转化生长因子 β (Transforming Growth Factor-β, TGF-β) 影响周围上皮的生长^[11],但是 TGF-β 也能够促进成纤维细胞向蛋白合成功能更加活跃的肌成纤维细胞的转化,从而促进周围上皮组织的生长^[12],二者之间可能存在一个动态的平衡。②年轻组外周带成纤维细胞体积较小,胞浆内细胞器少,核内异染色质较多,提示功能减退。老年组外周带和 PCa 组部分成纤维细胞出现肌化特征,符合肌成纤维细胞的特点,这种细胞体积较大,虽有代表细胞老化改变的空泡出现,但是以粗面内质网为代表的蛋白合成有关的细胞器增多,可以通过分泌更多的细胞因子和细胞外基质影响周围上皮的生理和病理性生长,如伤口瘢痕愈合时^[13]和癌组织中的“活性基质”^[14]。③正常前列腺间质结缔组织随年龄增加逐渐增多,在老年组呈疏松波状,PCa 组织结构紊乱,无完整基底膜,但也可见大量新生疏松结缔组织。Masson's trichrome 染色法进一步证实上述结缔组织主要为胶原,且表达水平依次为年轻组<老年组<PCa 组。体外原代培养的前列腺上皮细胞在胶原蛋白处理过的培养皿上生长状态明显好于一一般的培养皿,表明胶原蛋白对上皮细胞生长的重要性^[15]。而胶原蛋白在前列腺主要由成纤维细胞和肌成纤维细胞分泌。这种年龄相关的基质细胞表型差异造成的胶原分泌水平的不同,可能也是影响不同年龄段前列腺外周带上皮生长的机制之一。

年龄增加相关的前列腺外周带基质细胞超微结构表型的改变,可能是基质细胞生长的一种适应性改变,即部分老龄化的外周带基质细胞蛋白合成和旁分泌代谢能力逐渐增加^[16]。这一点符合“拮抗性多效理论(Antagonistic pleiotropy)”^[17],即部分基质细胞分裂达到一定限度进入衰老阶段后仍然保持着代谢活性,这种改变在早期可以保护机体不致于发生肿瘤,而到老年期则衰老促使产生可溶性炎症细胞因子、上皮生长因子及不可溶性的胞外基质重构酶等,从而改变局部组织微环境、刺激邻近细胞增殖和恶性肿瘤形成和进展^[9]。

综上,不同年龄段前列腺外周带基质细胞超微结构存在差异,说明前列腺基质细胞的表型变异是一动态过程,年龄相关的前列腺基质细胞的肌化改变可能触发 PCa 在老年阶段高发的重要病理基础之一。

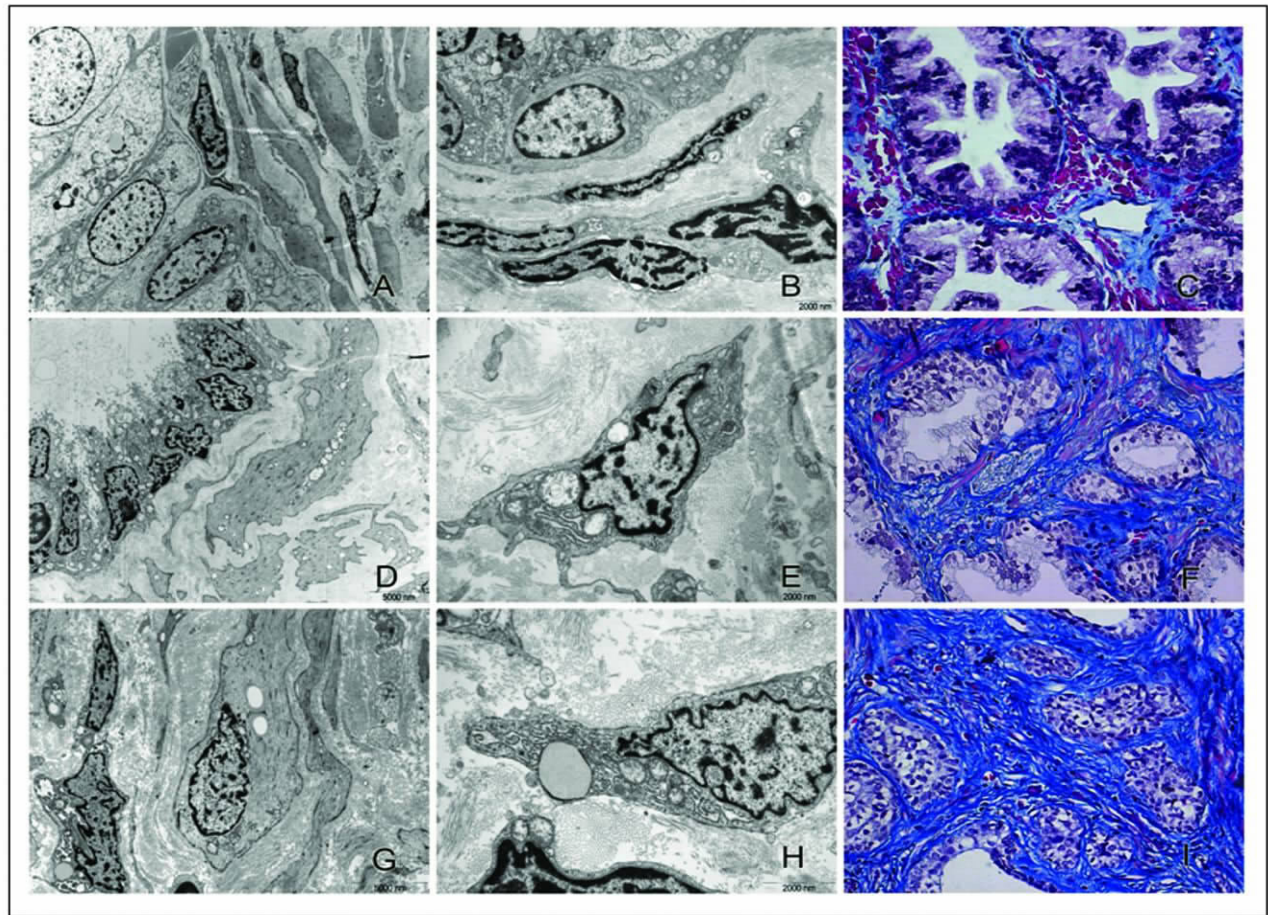


图1 不同年龄段人正常前列腺外周带基质和前列腺癌基质超微结构及 Masson's Trichrome 染色结果

注 :A 32 岁前列腺外周带上皮和平滑肌细胞超微结构(× 4200) B 32 岁前列腺外周带成纤维细胞超微结构(× 7400) D 64 岁前列腺外周带上皮和平滑肌细胞超微结构(× 4200) E 64 岁前列腺外周带成纤维细胞超微结构(× 7400) G 65 岁前列腺癌基质平滑肌细胞超微结构(× 4200) F 65 岁前列腺癌基质成纤维细胞超微结构(× 7400) C、F、I 分别代表 32 岁、64 岁前列腺外周带和 65 岁 PCa 组织的 Masson's Trichrome 染色结果(× 400)。

Figure 1 Ultrastructure and Masson's Trichrome staining of the young and aged normal human prostate PZ and Prostate Cancer(Pca) tissue specimen
Note :A Ultrastructure image of epithelia and smooth muscle cells of the prostate PZ from donor of 32-yrs (× 4200), B Ultrastructure image of fibroblasts of the prostate PZ from donor of 32-yrs (× 7400), D Ultrastructure image of epithelia and smooth muscle cells of the prostate PZ from donor of 64-yrs (× 4200), E Ultrastructure image of fibroblasts of the prostate PZ from donor of donor of 64-yrs (× 7400), G Ultrastructure image of smooth muscle cells of the prostate PZ from donor of donor of 65-yrs (× 4200), F Ultrastructure image of smooth muscle cells of the PCa tissue from donor of 65- yrs (× 7400), C,F and I represent the Masson's Trichrome results of the prostate PZ from donors of 32-, 60-yrs and PCa tissue specimen from donor of 65-yrs, respectively (× 400).

参考文献(Reference)

[1] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2010,60(5):277-300

[2] Cunha GR, Hayward SW, Wang YZ, et al. Role of the stromal microenvironment in carcinogenesis of the prostate [J]. Int J Cancer, 2003,107(1):1-10

[3] Niu YN, Xia SJ. Stroma-epithelium crosstalk in prostate cancer [J]. Asian J Androl, 2009,11(1):28-35

[4] 孙宏斌,夏术阶,俞彰,等. 前列腺移行带及外周带基质细胞表型特征的研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2007,28(9):605-608(in Chinese)
Sun Hong-bin, Xia Shu-jie, Yu Zhang. Stroma cells phenotype in the transition zone and peripheral zone in human prostate[J]. Chin J Urol, 2007, 28 (9): 605-608(in Chinese)

[5] Zhao FJ, Han BM, Yu SQ, et al. Tumor formation of prostate cancer cells influenced by stromal cells from the transitional or peripheral zones of the normal prostate[J]. Asian J Androl, 2009,11(2):176-182

[6] 夏术阶,滕建波. 前列腺组织阶段性增长的特性研究 --1306 例定量分析[J]. 中华泌尿外科杂志, 1998,19(04):36-38(in Chinese)
Xia Shu-Jie, Teng Jian-bo. The characteristic pattern of the growth of human prostate with age [J]. Chin J Urol, 1998,19 (04): 36-38(in Chinese)

[7] Hsing AW, Tsao L, Devesa SS. International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality [J]. Int J Cancer, 2000,85(1): 60-67

[8] Krtolica A, Parrinello S, Lockett S, et al. Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001,98(21):12072-12077

[9] Parrinello S, Coppe JP, Krtolica A, et al. Stromal-epithelial interactions in aging and cancer: senescent fibroblasts alter epithelial cell differentiation[J]. J Cell Sci, 2005,118(Pt 3):485-496

(下转第 117 页)

- (A Report of 27 Cases) [J]. Journal of Practical Radiology, 2003 ,19 (4) :377-378
- [2] Yajima K, Kanda T, Nakagawa S, et al. Self-expandable metallic stents for palliation of malignant esophageal obstruction:special reference to quality of life and survival of patients [J]. Dis Esophagus, 2004,17(1):71-75
- [3] Xinopoulos D, Dimitroulopoulos D, Tsamakidis K, et al. Palliative treatment of advanced esophageal cancer with metal-covered expandable stents.A cost-effectiveness and quality of life study [J]. J BUON, 2005,10(4):523-528
- [4] Wang M Q, Sze D Y, Wang Z, et al. Delayed complication after esophageal stent placement. For treatment of malignant esophageal obstructions and esophagorespiratory fistulas [J].JVIR,2001,12 (4): 465-474
- [5] Yoon CJ, Shin JH, Song HY, et al. Removal of retrievable esophageal and gastrointestinal stents: experience in 113 patients [J]. AJR Am J Roentgenol, 2004,183(5):1437-1444
- [6] Verschuur EM, Repici A, Kuipers EJ, et al. New design esophageal stents for the palliation of dysphagia from esophageal or gastric cardia cancer: a randomized trial [J]. Am J Gastroenterol, 2008,103 (2): 304-312
- [7] Neyaz Z, Srivastava DN, Thulker S, et al. Radiological evaluation of covered self-expandable metallic stents used for palliation in patients with malignant esophageal strictures [J]. Acta Radiol, 2007, 48 (2): 156-164
- [8] Homann N, Nofzt MR, Klingenberg-Nofzt RD, et al. Delayed complications after placement of self-expanding stents in malignant esophageal obstruction:treatment strategies and survival rate [J]. Dig Dis Sci, 2008,53(2):334-340
- [9] Shenfine J, McNamee P, Steen N, et al. A pragmatic randomized controlled trial of the cost-effectiveness of palliative therapies for patients with inoperable oesophageal cancer [J]. Health Technol Assess, 2005,9(iii) :1-121

(上接第86 页)

- [10] Zhang J, Hess MW, Thurnher M, et al. Human prostatic smooth muscle cells in culture: estradiol enhances expression of smooth muscle cell-specific markers[J]. Prostate, 1997,30(2):117-129
- [11] Nemeth JA, Sensibar JA, White RR, et al. Prostatic ductal system in rats: tissue-specific expression and regional variation in stromal distribution of transforming growth factor-beta 1 [J]. Prostate, 1997,33 (1):64-71
- [12] Gerdes MJ, Larsen M, Dang TD, et al. Regulation of rat prostate stromal cell myodifferentiation by androgen and TGF-beta1 [J]. Prostate, 2004,58(3):299-307
- [13] Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast[J]. Wound Repair Regen, 2005,13(1):7-12
- [14] Tuxhorn JA, Ayala GE, Smith MJ, et al. Reactive stroma in human prostate cancer: induction of myofibroblast phenotype and extracellular matrix remodeling[J]. Clin Cancer Res, 2002,8(9):2912-2923
- [15] Ilio KY, Nemeth JA, Lang S, et al. The primary culture of rat prostate basal cells[J]. J Androl, 1998,19(6):718-724
- [16] Campisi J. Aging, tumor suppression and cancer: high wire-act! [J]. Mech Ageing Dev, 2005,126(1):51-58
- [17] Hornsby PJ. Senescence and life span[J]. Pflugers Arch, 2010,459(2): 291-299