

Tamoxifen 对大鼠腹前列腺上皮细胞形态结构及 酸性磷酸酶、硫酸素焦磷酸酶活性的影响

陶 钧 朱继业 王一飞 吴明章

(上海第二医科大学)

雌激素是促进前列腺增殖和肿瘤发生的重要因素。本世纪30年代, Parkes 和 Zuckerman 就发现给予雌激素能造成动物前列腺的显著增生^[1]。Grayhack 于60年代证实雄性大鼠阉割后, 给予雌激素和睾酮治疗, 前列腺增生的速度超过单纯给睾酮的大鼠^[2]。1976年, Walsh 和 Wilson 首次用雌二醇和3 α , 17 β -雄烷二醇成功地诱导了犬前列腺的增殖^[3]。近年来的研究还发现, 下丘脑、垂体、睾丸和前列腺组织都有雌激素受体^[4], 提示雌激素可能在不同水平发挥作用。

鉴于雌激素对前列腺组织的生长具有刺激作用, 以及考虑到这种作用可能是雌激素对内分泌系统综合作用的反映, 本文报道 Tamoxifen 对大鼠腹前列腺上皮细胞形态结构和 ACP 及 TPPase 活性的抗雌激素效应, 并初步探讨其作用机制。

Tamoxifen 能与雌激素竞争结合雌激素受体, 从而阻断雌激素对靶细胞的刺激作用^[5]。Tamoxifen 进入大鼠体内后羟化形成单羟和双羟 Tamoxifen, 后两者在体内均具有抗雌激素作用^[6]。Funke 等已证明 Tamoxifen 能拮抗外源性雌激素对前列腺上皮的影响^[7]。但目前关于 Tamoxifen 阻断内源性雌激素后, 前列腺发生的改变所知无几。此外, Tamoxifen 对于前列腺超微结构和细胞化学方面的影响, 报道甚少。

材 料 与 方 法

正常雄性成年大鼠(Sprague Dawley)18只, 体重258-428克, 随机分为实验和对照两组。实验组11只,

对照组7只。实验组每天饲喂 Tamoxifen 100 mg/kg 体重(Tamoxifen 由上海第十二制药厂提供), 用花生油将该药研磨为糊状物, 经食道给药。对照组则只给相应量的花生油。5天后处死动物, 取腹前列腺、睾丸和副睾, 称重后固定于 PAF 液中, 留取部分腹前列腺组织用于冰冻切片和固定于2%的戊二醛溶液。

一、形态学观察 腹前列腺、睾丸以及副睾头、体、尾部组织石蜡包埋后 HE 染色, 光镜观察。部分腹前列腺组织按常规电镜包埋切片, 透射电镜观察。

二、细胞化学观察 腹前列腺组织冰冻切片后做酸性磷酸酶(ACP Gomori 法)和硫酸素焦磷酸酶(TPPase, Novikoff 及 Goldfischer 法^[8])染色, 光镜观察。部分腹前列腺组织经2%戊二醛溶液前固定, 6小时后做电镜 TPPase 活性观察。孵育液的配制与光镜的相同, 孵育120分钟, 其余步骤与一般电镜细胞化学方法相似。

结 果

一、器官重量

实验组大鼠腹前列腺重量比对照组的显著减轻, 并具有统计学意义($P<0.01$)(图1)。两组动物睾丸、副睾的重量差异没有统计学意义($P>0.05$)(图2、图3)。

二、形态学改变

对照组大鼠腹前列腺腺泡发达, 腺上皮细胞呈高柱状, 胞浆强嗜碱性, 核上方淡染的高尔基区清晰。电镜下, 高柱状的腺上皮细胞分为三个区域, 即基部的核区, 中间的高尔基区以及近腔面的顶区。核区粗面内质网丰富, 呈平行排列; 高尔基区内高尔基复合体发达; 顶区为大量略呈扩张的粗面内质网。在高尔基复合体髓质及细胞的顶区有大量分泌颗粒。实验组腹

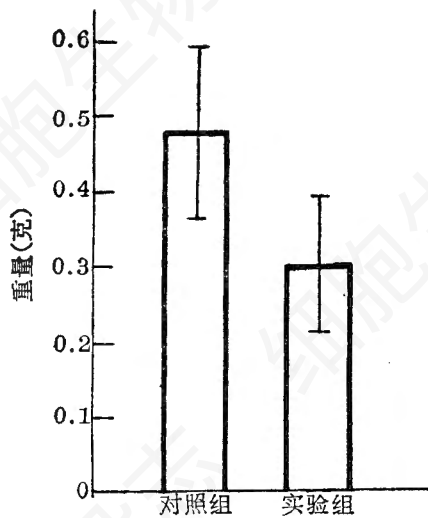


图1 两组动物腹前列腺重量的比较
($P < 0.01$)

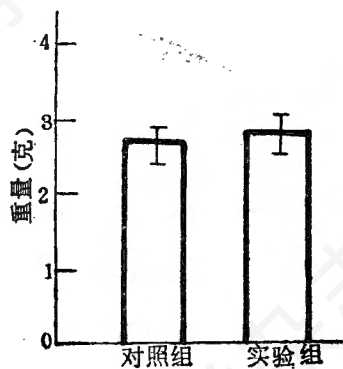


图2 两组动物睾丸重量比较
($P > 0.05$)

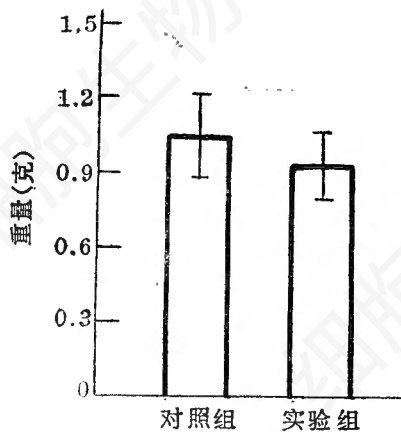


图3 两组动物副睾重量的比较
($P > 0.05$)

前列腺呈显著退变。腺泡皱缩,腺上皮细胞低柱状或立方状,胞浆减少,嗜碱性减弱,高尔基区缩小;电镜下最显著的改变是粗面内质网和高尔基复合体退变。粗面内质网排列稀疏,且失去平行构象,大部分粗面内质网腔膨胀,也有部分呈萎缩塌陷。高尔基复合体的退变表现为该区域缩小,髓质内很少或几乎没有分泌颗粒形成。电镜下,实验组腹前列腺上皮细胞的另一显著变化是有大量次级溶酶体形成,可出现于细胞的各个区域,但以基底部为主。有些次级溶酶体巨大,其面积几乎与核相等,呈髓鞘样变。此外,细胞核也呈一定程度的退变,染色质凝聚、趋边,部分核膜皱缩,使核呈分叶状(图版图1—3)。

两组动物睾丸及副睾均未见显著形态学改变。

三、酶活性的改变

ACP 对照组腹前列腺上皮细胞胞浆中可见大量细小颗粒状反应沉淀物,在高尔基区尤为集中。实验组 ACP 反应强度明显减弱,沉淀物呈斑块状,主要位于细胞基部。结果见表1)

表1 实验组与对照组腹前列腺ACP活性

组别	酶 活 性			
	+	++	+++	++++
实验组	7	4	0	0
对照组	0	0	4	3

酶活性判断标准:

+ 沉淀颗粒稀少,着色极淡。

++ 沉淀颗粒略多、略大,着色淡,分布均匀。

+++ 沉淀颗粒多,呈棕色,散布于胞浆中,能衬托出阴性的核。

++++ 沉淀颗粒与+++相同,但着色更深,呈深棕色至黑色。

TPPase

光镜 对照组腹前列腺上皮细胞中该酶活

性强,反应沉淀面积大,位于核上方细胞的中部。实验组酶反应弱,沉淀区缩小,由于细胞呈低柱状,故位置相对接近细胞游离缘。(结果见表2)

表2 实验组与对照组腹前列腺 TPPase 活性

组别	酶 活 性			
	+	++	+++	++++
实验组	11	0	0	0
对照组	0	1	4	2

酶活性判断标准:

++ 反应弱,核上着色面积小,色淡,呈小块状。

+++ 着色面积略大,色略深,呈不规则小块状。

++++ 反应强,核上着色清晰,呈深棕色,面积与核相似。

+++++ 反应更强,面积与++++相同,但颜色更深呈黑色。

电镜 在对照组腹前列腺上皮细胞球形的高尔基复合体中,可见大量 TPPase 阳性反应的高尔基膜囊堆。近内侧的阳性膜囊平行排列,近外侧为一些颗粒状的阳性小泡。实验组上皮细胞高尔基区该酶反应明显减弱,并显示了高尔基复合体结构和功能的退变。整个高尔基区缩小,膜囊堆稀疏,酶阳性反应主要定位于一些较粗大的、形态不一的颗粒。在这些颗粒之间可见有膨胀的囊状结构。稀疏的膜囊堆之间几乎没有分泌颗粒,与正常组形成明显对照(图版图5,6)。

讨 论

前列腺上皮细胞具有旺盛的合成蛋白质与分泌功能。这些功能的结构基础表现在细胞内有丰富的粗面内质网和发达的高尔基复合体,以及大量分泌颗粒。本实验重点观察了这些结构的变化。Brands 和 Kjaerhein 曾分别研究了切除睾丸和给予雌激素后大鼠腹前列腺上皮细

胞结构的变化,发现腹前列腺上皮细胞的退行性改变主要表现为细胞高度下降,细胞内粗面内质网和高尔基复合体萎缩,次级溶酶体增多。本实验的结果表明,服用 Tamoxifen 后,大鼠腹前列腺上皮细胞产生了相似的形态学改变。所不同的是本实验中实验组粗面内质网腔主要表现为不同程度的扩张,却未见 Brands 报道的去睾后粗面内质网呈螺旋状(spiral figure)构象^[9]。此外,本实验组上皮细胞的次级溶酶体不仅量多、体积大,而且几乎均呈髓鞘样变,被吞噬物难以辨认。而 Brands 发现去睾4—8天后,尽管线粒体、粗面内质网等被吞入溶酶体内,但其形态学改变往往并不显著^[9],其原因可能是由于去睾后前列腺上皮细胞内溶酶体的自噬作用虽然增强,但水解酶活力却不高。而在本实验中,不仅溶酶体的自噬作用增强,自体消化能力也较强。

由于在光镜 TPPase 的基础上应用了电镜细胞化学技术,清晰地观察了高尔基复合体结构上的变化。不仅表明球形高尔基复合体缩小,膜囊堆减少,并提示膜囊有崩解的可能。高尔基体髓质内分泌颗粒的减少或消失,也进一步说明其加工、分泌功能的减退。

ACP 的测定显示了服用 Tamoxifen 后大鼠腹前列腺上皮细胞分泌功能的下降,也提示了细胞结构的退变。前列腺上皮细胞的分泌颗粒和溶酶体都具有 ACP 活性。结合超微结构的观察,发现对照组 ACP 活性主要定位于细胞顶部以及高尔基复合体髓质的分泌颗粒,显示了旺盛的加工、分泌功能;而实验组呈斑块状的酶反应沉淀可能即为巨大的髓鞘样变的次级溶酶体。因此,即使实验组上皮细胞内有微弱的酶活性,其意义也与对照组的不同。

副睾的结构与功能也是依赖雄激素刺激的,Brands 曾发现去睾能造成大鼠副睾上皮与腹前列腺上皮相似的形态学改变^[9]。本实验中实验组副睾重量虽有所下降,但尚无统计学意义,副睾各段在结构上也没有明显的退行性变化,与 Brands 去睾所造成的结果不同。

前列腺是雄激素的靶器官,但是,雄激素的分泌和作用尚受到其他一些激素的调控,雌激素是一重要因素。在一定条件下,雌激素能增强垂体细胞对LH-RH的敏感性,以致使雄激素分泌增加^[11]。催乳素则能增加雄激素靶细胞中雄激素受体的含量^[12],有利于雄激素效应的发挥,而雌激素又是催乳素释放的促进剂^[13]。近年来,前列腺中雌激素受体的发现证明雌激素尚能直接作用于前列腺^[4]。这些均表明雌激素在维持前列腺的结构与功能中起着积极的作用,从而提示在前列腺增殖或肿瘤的内分泌治疗中,通过拮抗雌激素效应,间接地抑制雄激素和催乳素的作用,以及抑制雌激素、对前列腺的直接作用可能可以作为阻碍前列腺生长的一种途径。我们推测Tamoxifen由于在不同水平与雌激素竞争受体而抑制雌激素的作用,可能既产生去势样作用(减少雄激素分泌),也产生切除垂体样效果(抑制催乳素分泌),并直接作用于前列腺,从而造成大鼠腹前列腺的损害。本实验仅在这方面做了一些初步观察,尚有待进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] Parkes, AS. Zuckerman, S., 1935, *Lancet*

1: 925.

[2] Grayhack, JT., 1963, *Invest. Urol.* 1: 121.

[3] Walsh, PC. Wilson, JD, 1976, *J. Clin. Invest.* 57: 1093.

[4] Hawkins, EF. et al., 1975, *Steroids* 26: 458.

[5] Jordan, VC. et al., 1980, *Cancer Treat. Res.* 64(6-7): 745.

[6] Wakeling, AE. Slater SR, 1980, *Cancer Treat. Res.* 64 (6-7): 741.

[7] Funke P-J et al., 1982, *Acta Endocrinologica* 100: 462.

[8] Noviloff, AB. Goldischer S, 1961, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 47: 802.

[9] Brands, D. 1974, In "Male Accessory Sex Organs-Structure and Function in Mammals" P 184 ed D Brands, New York.

[10] Kjaerhein, A., et al., 1974, *Lab Invest.* 31: 391.

[11] Steinberger, E. 1977, P 1 ed ATK Cockett, N. Y.

[12] 严培荣, 1981, 国外医学 泌尿分册, 1(3): 29.

[13] Webber, MM, 1981, In "The Prostate Cell, Part B" P 63 eds G. P. Murphy et al., New York.

环腺苷酸磷酸二酯酶的电镜细胞化学

黄春发 汪德耀

(厦门大学细胞生物学研究室)

应云书

(中国科学院生物物理所)

3', 5'-环腺苷酸磷酸二酯酶[EC 3. 1. 4; 17, cAMP-PDE] 是 Sutherland 和 Rall (1958)^[1]首次从牛心匀浆液中作为一种能水解 3', 5'-cAMP 为 5'-AMP 的酶而发现的。Drummond 和 Perrot-Yee (1961)^[2], Cheung (1967)^[3]指出该酶在不同组织含量不同, 脑组织活性最高。Thompson 和 Appleman

(1971)^[4]在研究鼠脑组织时, 发现该酶有两种不同的形式, 其中之一可能是 cGMP-PDE。近年来, 有人^[5]用 DEAE-纤维素阴离子交换层析法, 不连续蔗糖梯度离心法, 聚丙烯酰胺凝胶电泳等, 将该酶分为可溶相酶和膜结合酶两大类。用组织化学最早研究 cAMP-PDE 的是 Shanta 等 (1966)^[6], 其过程基本上类似于