

# Expression and Clinical Significance of NGF and PGE<sub>2</sub> in the Urine of Female Patients with Overactive Bladder

Qiang Chi<sup>1</sup>, Zhiyong Wang<sup>1</sup>, Ying Liu<sup>1</sup>, Dianbin Song<sup>1</sup>, Fenghai Zhou<sup>2</sup>, Yangmin Wang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Urology, The Affiliated Hospital to Chengde Medical College, Chengde Hebei

<sup>2</sup>Department of Urology, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou Gansu

Email: chi\_qiang.2007@163.com

Received: Jul. 14<sup>th</sup>, 2018; accepted: Jul. 30<sup>th</sup>, 2018; published: Aug. 7<sup>th</sup>, 2018

## Abstract

**Objects:** We investigated changes in urinary NGF and PGE<sub>2</sub> in women with OAB. **Methods:** The study groups included 65 women with OAB and 20 without bladder symptoms who served as controls. Evaluation included patient history, urinalysis, a voiding diary and urodynamic studies. Urine samples were collected. NGF and PGE<sub>2</sub> were measured using enzyme-linked immunosorbent assay and compared between the groups. In addition, correlations between urinary NGF and PGE<sub>2</sub>, and urodynamic parameters in patients with OAB were examined. **Results:** Urinary NGF and PGE<sub>2</sub> were significantly increased in patients with OAB compared with controls ( $p < 0.05$ ). In patients with OAB urinary, PGE<sub>2</sub> positively correlated with volume at first desire to void and maximum cystometric capacity ( $p < 0.05$ ). Urinary NGF did not correlate with urodynamic parameters in patients with OAB. **Conclusions:** NGF and PGE<sub>2</sub> have important roles in the development of OAB symptoms in female patients. Urinary levels of these factors may be used as markers to evaluate OAB symptoms.

## Keywords

Bladder, Nerve Growth Factor, Prostaglandins, Urine, Female

# NGF和PGE<sub>2</sub>在女性OAB患者尿液中的表达及临床意义

迟 强<sup>1</sup>, 王志勇<sup>1</sup>, 刘 英<sup>1</sup>, 宋殿宾<sup>1</sup>, 周逢海<sup>2</sup>, 王养民<sup>2</sup>

<sup>1</sup>承德医学院附属医院泌尿外科, 河北 承德

<sup>2</sup>兰州军区兰州总医院全军泌尿外科中心, 甘肃 兰州

Email: chi\_qiang.2007@163.com

收稿日期: 2018年7月14日; 录用日期: 2018年7月30日; 发布日期: 2018年8月7日

## 摘要

**目的:** 探讨女性膀胱过度活动患者尿液中NGF和PGE<sub>2</sub>的表达。**方法:** 通过病史采集、尿液分析、排尿日记及尿流动力学检查将65位女性OAB患者纳入病例组, 将20位正常女性志愿者纳入对照组。应用酶联免疫吸附试验检测两组患者尿液中NGF和PGE<sub>2</sub>的表达水平。并对病例组患者尿液中NGF、PGE<sub>2</sub>的水平与尿动力学参数变化之间的关联性进行分析。**结果:** NGF和PGE<sub>2</sub>在病例组患者尿液中的表达明显高于对照组( $p < 0.05$ )。病例组患者尿液中PGE<sub>2</sub>的表达与患者初始尿意膀胱容量和膀胱最大容积呈正相关( $p < 0.05$ ), 而病例组患者尿液中NGF的表达与尿流动力学参数间无相关性。**结论:** NGF和PGE<sub>2</sub>在女性OAB患者的疾病演进过程中发挥重要作用, 尿液中这些因子的水平可作为评价OAB症状的潜在指标。

## 关键词

膀胱, 神经生长因子, 前列腺素, 尿液, 女性

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

膀胱过度活动症(Overactive Bladder, OAB)是一种以尿急症状为特征的症候群, 常伴有尿频和夜尿症状, 可伴或不伴有急迫性尿失禁; 尿动力学上可表现为逼尿肌过度活动(Detrusor instability, DI or Detrusor overactivity, DO), 也可为其其它形式的尿道-膀胱功能障碍。OAB 无明确的病因, 不包括由急性尿路感染或其它形式的膀胱、尿道局部病变所致的症状。目前该病是一个经验诊治尚缺乏相关实验室检查指标的疾病。最新的流行病调查显示全世界患有 OAB 的患者中女性占 16.9% [1]。虽然关于 OAB 的基础与临床研究报道很多, 但仍不能完满解释该病的发病机制。目前大多数学者认为该病的发生与神经递质的释放和炎性因子介入有直接关系。

NGF 是具有神经元营养和促突起生长双重生物学功能的一种神经细胞生长调节因子, 它对中枢及周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用。有研究表明[2] [3] OAB 患者的尿频、尿急症状可能与 NGF 在膀胱组织中的高表达有关。也有报道[4]指出 PGE<sub>2</sub> 在调节患者下尿路症状中发挥重要作用。前列腺素分布在膀胱组织的粘膜层和肌层, 其释放是通过逼尿肌的拉伸、神经刺激、粘膜层的炎症反应等。前列腺素与能够降低膀胱收缩阈值并通过对辣椒辣素敏感的传入神经共同来控制膀胱的排尿反射。考虑到 NGF 与 PGE<sub>2</sub> 在 OAB 患者储尿期膀胱症状的相关性, 我们通过检测女性 OAB 患者的尿液中 NGF 与 PGE<sub>2</sub> 的变化, 有助于 OAB 的诊断及疗效评估。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 研究对象

病例组选自 2010 年 9 月 11 日到 2012 年 9 月 21 日我院泌尿外科就诊的女性 OAB 患者共 65 例(年龄

分布范围 21~78 岁, 平均年龄 55.5 岁)。主诉为尿急、尿频伴有或不伴有尿失禁。所有患者均记录排尿日记, 每日的排尿次数均在 8 次以上。上述患者均通过询问病史、体格检查及 CT、静脉肾盂造影(Intravenous Urography, IVU)、膀胱镜检查、实验室检查(尿常规、中段尿培养)排除神经系统疾患、先天畸形和泌尿系感染等。另选 20 位健康女性志愿者(年龄分布范围 28~65 岁, 平均年龄 47.3 岁)作为对照组。

## 2.2. 尿液样本的采集和准备

收集各组人员晨起中段尿 100 ml。所有尿液样本被  $5000 \times \text{rpm}$  离心 10 min。分离出上清液, 等分装入 Ep 管, 每管 1.5 ml, 冷藏在  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中备用。

## 2.3. 酶联免疫吸附试验检测尿液中 NGF 和 $\text{PGE}_2$ 水平

### 2.3.1. 酶标 NGF 抗体

1) 过碘酸盐氧化法标记: 将 1 mg 辣根过氧化物酶(HRP)溶解于 0.1 ml 双蒸水, 加 0.1 ml  $\text{NaIO}_4$  (0.06 mol/L)置  $4^{\circ}\text{C}$  温箱氧化 30 min, 多次混匀, 再加 0.1 ml 乙二醇(0.16 mol/L)放置室温 30 min, 终止氧化。然后加入纯化的兔抗人 NGF 多克隆抗体(DADE-BEHRING 公司) 1 mg, 充分混匀, 装透析袋, 在 pH 9.7, 0.05 mol/L 碳酸缓冲液 10,000 ml 搅拌透析过夜, 使酶与抗体结合; 2) 纯化: 每管加 0.05~0.1 ml  $\text{NaBH}_4$  (5 mg/ml)置  $4^{\circ}\text{C}$  温箱温育 2 h, 加等量  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  饱和调 pH 至 7.8, 逐滴加, 置  $4^{\circ}\text{C}$  温箱温育 30 min,  $3500 \times \text{rpm}$  离心 30 min, 弃上清液, 沉淀物溶于少量 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.4),  $4^{\circ}\text{C}$  温箱透析过夜, 离心去除不溶物即得到酶标 NGF 抗体。

### 2.3.2. 两组尿液标本中 NGF 检测

在聚苯乙烯微量板内加入 100  $\mu\text{L}$  包被液(pH9.6  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ - $\text{NaHCO}_3$  缓冲液)稀释的酶标 NGF 抗体放  $4^{\circ}\text{C}$  温箱过夜, 洗板 5 次后拍干; 加入 100  $\mu\text{L}$  封闭液(pH7.2, 含 1% BSAB 的 PBS 缓冲液)在  $4^{\circ}\text{C}$  温箱过夜, 洗板 5 次后拍干, 可存放于  $4^{\circ}\text{C}$  温箱保存备用。将封闭后的微量板内加入 100  $\mu\text{L}$  经稀释后(用 Tris-HCL 缓冲液稀释)的标准品(美国, Biological 公司)及标本,  $37^{\circ}\text{C}$  温育 60 min, 洗板 5 次后拍干; 加入 1:18,000 稀释(pH7.2, PBS 缓冲液)的酶标抗体 100  $\mu\text{L}$   $37^{\circ}\text{C}$  温育 45 min, 洗板 5 次后拍干; 然后加入显色剂 A 液及 B 液(TMB 底物显色剂)各 50  $\mu\text{L}$  在  $37^{\circ}\text{C}$  温育 10 min; 最后加入终止液(0.2 mol/L,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 50  $\mu\text{L}$ 。用 Denley Dragon 酶标仪(芬兰, Model MK-2)测定样本吸光度值(450 nm), 以标准品浓度与吸光度值关系曲线换算标本中 NGF 水平。

### 2.3.3. 两组尿液标本中 $\text{PGE}_2$ 检测

应用高灵敏度  $\text{PGE}_2$  试剂盒(美国, R & D 公司)按说明书要求严格操作(标本用标本稀释液 1:1 稀释, 取出反应板, 加入稀释后的标准液 50  $\mu\text{L}$  标准品, 加入待测样品 50  $\mu\text{L}$  于相应孔中, 立即加入 50  $\mu\text{L}$  的生物素标记的抗体, 盖上膜板, 轻轻震荡混匀,  $37^{\circ}\text{C}$  温育 1 h。将浓缩洗涤液用蒸馏水 50 倍稀释后备用。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 震荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干。重复此操作 3 次。每孔加入 80  $\mu\text{L}$  的亲辣根过氧化物酶, 轻轻震荡混匀,  $37^{\circ}\text{C}$  温育 30 min。甩去孔内液体, 每孔加满洗涤液, 震荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干。重复此操作 3 次。每孔加入底物 A 液、B 液各 50  $\mu\text{L}$ , 轻轻震荡混匀,  $37^{\circ}\text{C}$  温育 10 min。避免光照。取出酶标板, 迅速加入 50  $\mu\text{L}$  终止液, 加入终止液后立即测定结果。在 450 nm 处测定各孔的吸光度值)。用 Denley Dragon 酶标仪(芬兰, Model MK-2)测定样本吸光度值, 以标准品浓度与吸光度值关系曲线换算标本中  $\text{PGE}_2$  水平。

## 2.4. 尿流动力学检测

所有病例组患者均给予连续记录 3 天排尿日记, 并行尿流动力学检查(包括最大尿流率测定、残余尿

测定、初始尿意膀胱容量、最大膀胱容量及充盈期膀胱压力-容积测定)。DO 被诊断为在膀胱充盈期,非排尿意识下出现的逼尿肌收缩所致膀胱测压图上出现压力波动,其幅度超过 15 cm H<sub>2</sub>O。

### 3. 统计学分析

所有数据采用 SPSS 12.0 软件进行统计学处理,所有数据用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间比较采用 *t* 检验,  $p < 0.05$  认为差异有显著性意义。皮尔森积矩相关系数用来评价 NGF 和 PGE<sub>2</sub> 与尿流动力学参数的相关性,  $p < 0.05$  认为有统计学意义。

## 4. 结果

### 4.1. 尿流动力学检测结果

病例组中存在尿急伴有急迫性尿失禁的患者有 21 例(32%)。病例组患者在初始尿意膀胱容量和膀胱最大容积分别为  $129.2 \pm 78.4$  和  $291.1 \pm 114.3$  ml。存在 DO 的患者有 23 例(35%)。

### 4.2. 尿液中 NGF 和 PGE<sub>2</sub> 的检测结果

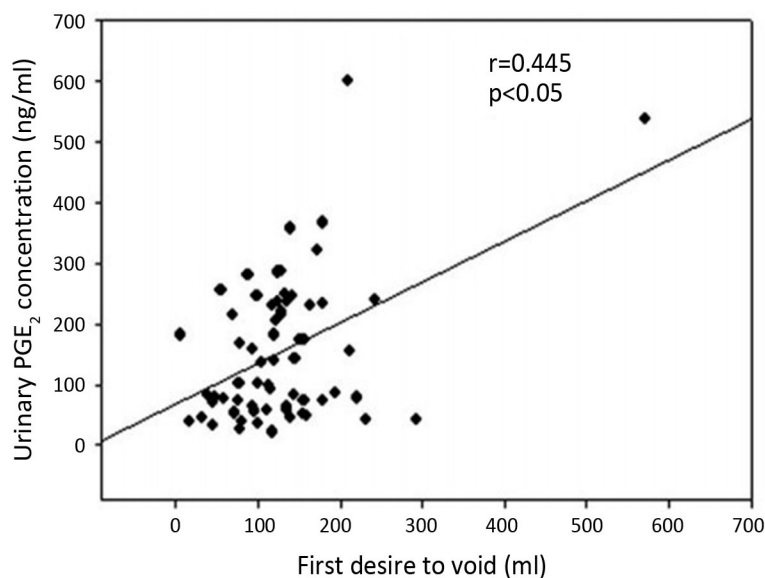
病例组中 NGF、PGE<sub>2</sub> 的水平较对照组明显升高( $p < 0.05$ ) (如表 1)。病例组中 PGE<sub>2</sub> 的水平与初始尿意膀胱容量和膀胱最大容积均呈正相关( $p < 0.05$ ) (如图 1、图 2),但与最大尿流率、残余尿量及逼尿肌过度活动无关。病例组中 NGF 的水平与尿流动力学参数无相关性。

**Table 1.** Urinary NGF and PGE<sub>2</sub> in controls and female patients with OAB

**表 1.** 尿液中 NGF 与 PGE<sub>2</sub> 的水平

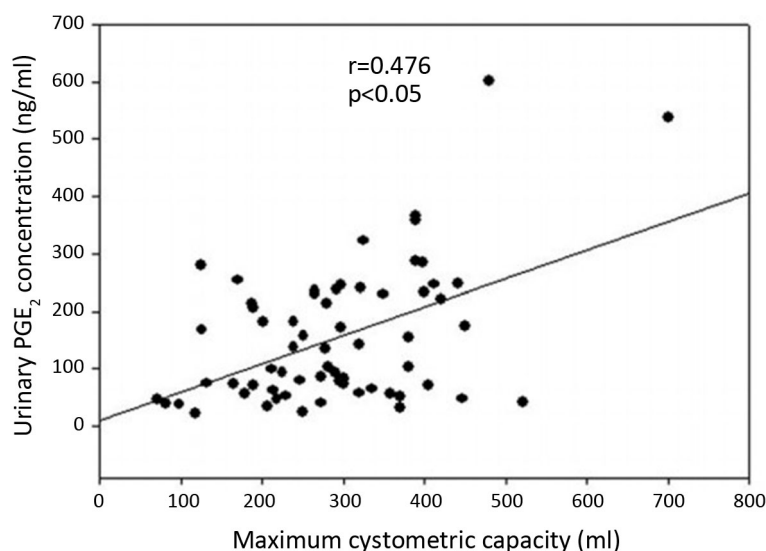
	对照组( $\bar{x} \pm s$ )	病例组( $\bar{x} \pm s$ )
NGF (ng/ml)	$2.45 \pm 0.58$	$30.92 \pm 5.23^*$
PGE <sub>2</sub> (ng/ml)	$0.45 \pm 0.15$	$1.54 \pm 0.15^*$

注: \* $p < 0.05$ 。



**Figure 1.** Urinary PGE<sub>2</sub> positively correlated with volume at first desire to void in women with OAB

**图 1.** 初始尿意膀胱容量与尿液中 PGE<sub>2</sub> 的相关性



**Figure 2.** Urinary PGE<sub>2</sub> positively correlated with maximum cysto-metric capacity in women with OAB

**图 2.** 膀胱最大容积与尿液中 PGE<sub>2</sub> 的相关性

## 5. 讨论

实验结果显示尿中的 NGF 和 PGE<sub>2</sub> 的水平与 OAB 症状相关。虽然, OAB 的发病机制还不是很清楚, 但是可以肯定的是 OAB 症状与神经传导机制的改变、NGF 和 PGE<sub>2</sub> 的表达有密切关系。

本实验提示女性 OAB 患者尿液中 NGF 的表达显著提高。NGF 调节神经细胞的生长和增殖并且能使痛觉神经元敏感性增强[5]。先前的研究结果提示 NGF 能够使膀胱收缩功能亢进, 膀胱组织中 NGF 的表达升高能够使传入和传出神经元发生生理及形态学上的改变[2] [6] [7] [8]。另外, 伴有尿急症状的腺性膀胱炎患者膀胱组织中 NGF 蛋白的表达升高, 特别是那些伴有尿急症状患者的尿道上皮中 NGF 的表达升高。上述研究表明 NGF 在伴有 OAB 症状患者的膀胱中有表达。有关动物实验研究表明在膀胱出口部分梗阻的大鼠尿液中 NGF 发生改变[9]。另外, 在间质性膀胱炎和膀胱癌患者尿中 NGF、纤维蛋白溶解酶、神经营养因子-3 水平升高[10]。因此, NGF 可能诱发传入神经的兴奋导致储尿期膀胱症状。另外, 尿液中 NGF 升高提示膀胱的功能异常, 说明通过尿液中检测 NGF 可以用来诊断膀胱功能异常。

有研究提示 OAB 患者尿液中 PGE<sub>2</sub> 显著升高。PGE<sub>2</sub> 可能引发膀胱活动通过逼尿肌收缩和/或神经传导[11]。后者很可能是通过辣椒辣素敏感的传入神经元, 因为可以通过应用辣椒辣素受体拮抗剂阻止这一过程的发生[12]。因此, OAB 患者尿液中 PGE<sub>2</sub> 的水平明显升高。另外, DO 患者尿液中 PGE<sub>2</sub> 水平升高很可能是因为 PGE<sub>2</sub> 通过膀胱自身的分泌进入尿液中去的。有报道称在家兔的膀胱粘膜中 PGE<sub>2</sub> 的表达较 PGI<sub>2</sub> 明显增高, 提示 PGE<sub>2</sub> 存在于粘膜层很容易进入尿液, 而且尿液中的 PGE<sub>2</sub> 的水平较肌层明显增高。这与本实验中病例组患者尿液中 PGE<sub>2</sub> 的水平明显升高相符[13]。另外, 有研究显示 PGE<sub>2</sub> 能够诱发逼尿肌收缩超过其他前列腺素类物质[14]。因此提示尿液中 PGE<sub>2</sub> 与 OAB 症状密切相关。

本研究提示尿液中 PGE<sub>2</sub> 水平与初始尿意膀胱容量和膀胱最大容积呈正相关, 提示膀胱容积与 PGE<sub>2</sub> 改变有密切关系。提示 PGE<sub>2</sub> 的升高很可能是因为膀胱逼尿肌的拉伸所致, 并且其在粘膜层的表达较肌层明显升高。所以尿液中 PGE<sub>2</sub> 的升高提示膀胱容积的改变。并且 PGE<sub>2</sub> 在下尿路功能中发挥重要作用。

本研究表明在女性 OAB 患者尿液中 NGF、PGE<sub>2</sub> 的水平明显升高, 并且尿液中 PGE<sub>2</sub> 的水平与尿流动力学参数有相关性, 提示 NGF、PGE<sub>2</sub> 在 OAB 的发生发展过程中发挥重要作用。通过检测尿液中 NGF 和 PGE<sub>2</sub> 水平对评估女性 OAB 有重要意义。

## 参考文献

- [1] Stewart, W.F., Van Rooyen, J.B., Cundiff, G.W., *et al.* (2003) Prevalence and Burden of Overactive Bladder in the United States. *World Journal of Urology*, **20**, 327.
- [2] Lowe, E.M., Anand, P., Terenghi, G., *et al.* (1997) Increased Nerve Growth Factor Levels in the Urinary Bladder of Women with Idiopathic Sensory Urgency and Interstitial Cystitis. *British Journal of Urology*, **79**, 572. <https://doi.org/10.1046/j.1464-410X.1997.00097.x>
- [3] Steers, W.D., Kolbeck, S., Creedon, D., *et al.* (1991) Nerve Growth Factor in the Urinary Bladder of the Adult Regulates Neuronal Form and Function. *Journal of Clinical Investigation*, **88**, 1709.
- [4] Mikhailidis, D.P., Jeremy, J.Y. and Dandona, P. (1987) Urinary Bladder Prostanoids—Their Synthesis, Function and Possible Role in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Journal of Urology*, **137**, 577. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)44109-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)44109-7)
- [5] Dmitrieva, N., Shelton, D., Rice, A.S., *et al.* (1997) The Role of Nerve Growth Factor in a Model of Visceral Inflammation. *Neuroscience*, **78**, 449. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(96\)00575-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(96)00575-1)
- [6] Clemow, D.B., Steers, W.D., McCarty, R., *et al.* (1998) Altered Regulation of Bladder Nerve Growth Factor and Neurally Mediated Hyperactive Voiding. *American Journal of Physiology*, **275**, R1279.
- [7] Steers, W.D., Ciambotti, J., Erdman, S., *et al.* (1990) Morphological Plasticity in Efferent Pathways to the Urinary Bladder of the Rat Following Urethral Obstruction. *Journal of Neuroscience*, **10**, 1943. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-06-01943.1990>
- [8] Steers, W.D., Ciambotti, J., Etzel, B., *et al.* (1991) Alterations in Afferent Pathways from the Urinary Bladder of the Rat in Response to Partial Urethral Obstruction. *Journal of Comparative Neurology*, **310**, 401. <https://doi.org/10.1002/cne.903100309>
- [9] Chul Kim, J., Il Seo, S., Hyun Park, Y., *et al.* (2001) Changes in Detrusor and Urinary Growth Factors According to Detrusor Function after Partial Bladder Outlet Obstruction in the Rat. *Urology*, **57**, 371. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(00\)00886-4](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(00)00886-4)
- [10] Okragly, A.J., Niles, A.L., Saban, R., *et al.* (1999) Elevated Tryptase, Nerve Growth Factor, Neurotrophin-3 and Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Levels in the Urine of Interstitial Cystitis and Bladder Cancer Patients. *Journal of Urology*, **161**, 438. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)61915-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)61915-3)
- [11] Andersson, K.E. (2002) Bladder Activation Afferent Mechanisms. *Urology*, **59**, 43. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(01\)01637-5](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(01)01637-5)
- [12] Andersson, K.E. (1993) Pharmacology of Lower Urinary Tract Smooth Muscles and Penile Erectile Tissues. *Pharmacological Reviews*, **45**, 253.
- [13] Masick, J.M., Levin, R.M. and Hass, M.A. (2001) The Effect of Partial Outlet Obstruction on Prostaglandin Generation in the Rabbit Urinary Bladder. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, **66**, 211. [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(01\)00151-4](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(01)00151-4)
- [14] Ueda, S., Yoshida, M., Yano, S., *et al.* (1985) Comparison of the Effects of Primary Prosta-Glandins on Isolated Human Urinary Bladder. *Journal of Urology*, **133**, 114. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)48816-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)48816-1)

### 知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2330-1589, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [jps@hanspub.org](mailto:jps@hanspub.org)