

良性前列腺增生实验模型述评

韩亮¹, 王彬², 张新荣¹, 彭爱进², 杨勇², 李海松^{2*}, 张霄潇^{3*}

(1. 北京中医药大学 房山医院, 北京 102400;

2. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700;

3. 中华中医药学会, 北京 100029)

[摘要] 良性前列腺增生(BPH)实验模型是研究BPH发病机制和评价药物疗效的重要载体。该文对BPH症的体内外模型、造模原理、造模方法、评价指标等内容进行了综述,并对当前不同类型模型的优缺点进行了分析。目前,BPH模型更加趋近人类BPH临床特点,为评价药物疗效提供了重要载体。同时,模型已向细胞学方向发展,可以更加深入研究BPH的发病机制。相关检测指标从不同层面反映BPH的核心病理变化,为进一步探寻BPH的发病机制及开发防治药物提供保障。但并没有能完全模拟人类BPH的自然发展进程的模型,每一种模型及评价标准均有其独特的优势与局限性。在模型方面,BPH模型大多以前列腺体积增大(BPE)作为判定模型成功与否的标准,尚缺少可靠的模拟BPH进展及合并膀胱功能障碍的模型。在评价指标方面,BPH动物模型的复制缺少反映症状的行为学指标。中药对BPH模型的研究仅是对“病”的模型的复制与研究,而不是针对于“证”“候”,不能较好的模拟中医理论指导下的辨证论治。针对上述不足,应该进一步完善基于临床特点的造模方法,探索多因素复合模型,尤其是适合中医药基础研究的病证结合模型,复制更贴近疾病发展规律的模型,优化评价指标,对开发有效防治BPH的药物具有重大的理论意义和现实意义。

[关键词] 良性前列腺增生(BPH); 模型; 造模方法; 述评

[中图分类号] R242;R2-0;R256.56;R697 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)02-0227-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220293

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211119.1546.003.html>

[网络出版日期] 2021-11-22 12:04

Experimental Models of Benign Prostatic Hyperplasia: A Review

HAN Liang¹, WANG Bin², ZHANG Xin-rong¹, PENG Ai-jin², YANG Yong²,
LI Hai-song^{2*}, ZHANG Xiao-xiao^{3*}

(1. Fangshan Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102400, China;

2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

3. China Association of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] Benign prostatic hyperplasia (BPH) model, as a carrier of BPH, is vital for exploring the pathogenesis of the disease and evaluating the efficacy of corresponding drugs. This paper reviewed the *in vivo* and *in vitro* models of BPH, the modeling principles and methods, and evaluation indicators, and analyzed the advantages and disadvantages of different types of models. At present, the BPH model is getting closer to the clinical characteristics of human BPH, providing powerful support for the evaluation of drug efficacy. Furthermore, the model has been developed towards cytology to allow further research on the pathogenesis of BPH. The relevant testing indicators reflect the core pathological changes of BPH from different levels,

[收稿日期] 20210914(025)

[基金项目] 中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2018-QNRC2-C05);北京市优秀人才项目(2018000077606G483)

[第一作者] 韩亮,在读博士,主治医师,从事中医药防治男科疾病研究,E-mail:han1234liang5678@126.com

[通信作者] *李海松,博士,主任医师,从事中医药防治男科疾病研究,E-mail:lhs369@sina.com;

*张霄潇,博士,从事中医药标准化与产业发展研究,Tel:010-64205923,E-mail:qingnwyh2018@163.com

providing a guarantee for further exploring the pathogenesis of BPH and the development of prevention and control drugs. However, no model can fully simulate the natural development process of human BPH, and each model and evaluation criterion has its unique advantages and limitations. In terms of model evaluation, most BPH models are assessed based on benign prostate enlargement (BPE), and there is still a lack of reliable models to simulate BPH progression and combine with bladder dysfunction. In terms of indicator evaluation, symptom-reflected behavioral indicators are absent in the replication of BPH models in animals. The study of the BPH model in traditional Chinese medicine (TCM) only focuses on the replication and investigation of the "disease" model, rather than the "syndromes" and "signs", which cannot simulate the syndrome differentiation and treatment under the guidance of the TCM theory. In view of the above deficiencies, we should further improve the modeling method based on clinical characteristics, explore the multifactor composite models, especially those of disease-syndrome combination suitable for basic research of TCM, replicate the model closing to disease development, and optimize the evaluation indicators, which is of great theoretical and practical significance to develop drugs for effective prevention and control of BPH.

[Keywords] benign prostatic hyperplasia; model; modeling method; review

良性前列腺增生(BPH)简称前列腺增生,是一种进展性疾病,中老年男性高发,主要表现尿频、尿急、排尿困难及尿后滴沥不尽等下尿路症状(LUTS)^[1]。持续的LUTS是影响中老年男性生活质量的重要原因之一,可以加重其他原发疾病,甚至引发精神心理问题。随着腺体增生,下尿路梗阻加重,可致反复的尿潴留、泌尿系统感染、肾积水甚或肾功能不全等实质脏器的损害^[2]。BPH的发生不仅显著地降低了患者的生命质量^[3],而且对患者的身心健康造成了极大的影响,并由此而导致了一系列严重的社会影响和经济负担。BPH通常发生在45岁以后,年龄越大发病率越高,60岁以上的老年男性中会有一半的人群受到BPH困扰^[4]。BPH发病的根本原因是增龄导致的前列腺组织的过度增生,其机制尚未阐明^[5]。随着药物学研究的高速发展,越来越多有症状的前列腺增生患者接受到治疗,但仍有至少30%的患者对药物治疗及小部分手术方式并不敏感^[6]。BPH模型是研究BPH发病机制和开发治疗药物不可或缺的重要载体。BPH模型的建立应综合考虑BPH的发病特点和致病因素,尽可能找到组织形态、病理特点、并发症等与人类相符合的体内理想模型。非人灵长类及犬类自发性模型与人类BPH最为接近,但因经济伦理因素受到限制。目前用于BPH致病因素、发病机制及药效学等研究的模型主要有丙酸睾酮诱导大小鼠和犬类增生的模型。还有体外细胞培养模型、基因改造模型、异体移植模型及符合中医特点的病证结合模型等。每种模型都有自身的优势和局限性。本文重点分析比较了各种模型的优缺点及今后关于

BPH生物模型的研究方向,旨在为有效防治BPH的药物开发及应用提供合理的研究载体与平台。

1 BPH的发病机制

BPH的发生发展是多种因素共同作用的结果,其中,年龄因素和具有正常功能的睾丸是目前医学界公认的2个必要因素^[7]。目前其发病机制仍未完全阐明,已有研究证据表明BPH与以下机制相关:性激素及其受体、生长因子在BPH的发病机制中占有重要地位^[8],此外还受到炎症、细胞凋亡、氧化应激、慢性疾病、生活方式、维生素缺乏等多方面因素的影响^[9]。随年龄增长人体内激素环境发生改变,雌激素/睾酮比值的升高、前列腺组织对雄激素敏感性增高、泌乳素水平的变化等参与了BPH的发生及发展过程^[10];诸多细胞因子共同参BPH的发生及发展过程并介导了前列腺内长期的慢性炎症,而慢性炎症进一步促进前列腺增生的发生及发展。代谢综合征,如高血压、糖尿病、高脂血症,血管病变等慢性疾病与BPH的发病有明显的相关性^[11]。不良的生活方式,如吸烟、饮酒、运动、动物蛋白和脂肪的摄入量及性活动与BPH也存在一定联系^[12]。维生素D的缺乏也可能是BPH的发展因素^[13]。

中医文献中没有BPH这一名称,从症状和体征来看,BPH属中医学“精癯”范畴。中医学认为,年老肾虚是BPH的发病基础,瘀血、痰浊、湿热是基本的内因或病理基础,劳累过度、情志刺激、外感六淫、饮食不节是常见的发病诱因,本虚标实是基本病机特点^[14]。

2 模型选择

BPH模型主要分为动物模型和细胞模型两类。

动物模型主要是基于中西医临床病证特点,与临床吻合度较高。在探索开发新的治疗药物,尤其是在药物疗效评价方面应用较多。细胞模型为深入研究BPH发病机制及寻找潜在治疗靶点提供工具。

2.1 动物选择 目前应用于BPH动物模型复制的动物有大、小鼠,猩猩,犬,猕猴,棕色挪威鼠等^[15]。根据中医药动物实验相似性、经济性、标准化、特殊性、模型化和重复性原则^[16]。灵长类动物与人类的前列腺解剖结构极为相似,是最佳选择,但因其品种极稀有,同时涉及伦理、造模时间较长、价格昂贵等原因,使灵长类作为实验动物受到限制^[17]。老年犬存在自发性前列腺增生现象,自发性和激素诱导的犬BPH模型均可用于BPH药物评价。自发性前列腺增生的老年犬价格高、难大规模获得,应用受限,而睾酮诱导的犬BPH模型相对容易获得^[18]。小鼠、大鼠具有种纯、量大、价廉等优点,常被作为建立BPH模型的实验动物^[19]。鼠类的前列腺背外侧叶组织学与人类类似,幼龄小鼠前列腺对外源性雄激素最为敏感,并且死亡率低,但与BPH年龄依赖存在不一致^[20]。目前研究显示外源性雄激素干预正常或去势雄性大鼠,其中Wistar和SD是最易建立BPH模型的品系^[21]。因此,对于模型动物选择以大鼠及犬是较为理想的。

2.2 细胞选择 目前应用于BPH细胞模型主要有前列腺上皮细胞系、成纤维细胞系两类,来源于人体或动物。上皮细胞系有RWPE-1, BPH-1, PWR-1EPNTIA, PNTIB, PNT2, PNT2-LSD等。RWPE-1来源于人体,是研究以上皮增生为主的BPH发生发展常见的细胞系之一^[22]。BPH-1来源于人体,用于研究多种化合物对前列腺增生的促进或抑制作用,或用于研究上皮-间充质相互作用及研究肾上腺类固醇激素在细胞内的代谢^[23]。PWR-1E来源于人体,是通过单细胞克隆产生的一种前列腺上皮细胞系,用于研究正常的前列腺生理和分化^[24]。PNTIA, PNTIB, PNT2, PNT2-LSD这4种细胞系为研究前列腺上皮细胞的生理学和病理学,特别是了解导致前列腺转化的步骤提供了有用的工具,也可用来研究生长因子等因素的相关信号通路在前列腺癌进展过程中的作用^[25]。成纤维细胞系有WPMY-1, TZ1A等。WPMY-1与RWPE-1来自于同一个前列腺组织。这些源自同一前列腺的上皮细胞和肌成纤维细胞系,为研究旁分泌基质-上皮相互作用在BPH及癌变、肿瘤进展中的角色提供了新颖而有用的模型,提供了探索通过基于正常化基质细

胞行为间接控制癌症生长的新方法的机会^[26]; TZ1A是人前列腺基质细胞系,来自于移行带, TZ1A为成纤维细胞表型。TZ1A可以用来研究基质细胞和上皮细胞的相互作用^[27]。YPEN-1是一种永生化的大鼠前列腺内皮细胞系。YPEN-1常用来研究氧化应激、炎症过程中的信号通路等,为探索新的抗炎药物提供基础^[28]。

BPH细胞系模型因其细胞系不同,其基本特征、表达特性及体外培养生长特性均有所差异。BPH的细胞模型使得研究更为精细,适合病因学机制的深入研究,但部分细胞系获取困难,通常需要特殊的培养基,限制了其使用。原代培养SD大鼠前列腺上皮细胞,具有成本低,容易获取的优势,可以作为体外筛选模型,用于前列腺增生药物的筛选,但存在容易污染的问题^[29]。

3 造模方法

BPH包括组织学上的前列腺间质和腺体增生,解剖学上的前列腺体积增大(BPE),尿动力学上的膀胱出口梗阻(BOO),临床症状以LUTS为主。针对BPH的不同表现及发生发展机制,通过建立相应的BPH动物模型,探讨BPH发病机制及治疗药物药效机制。模型成功与否在实验研究中至关重要。目前BPH模型成功判断标准主要有以下几个方面:表观指标,如前列腺脏器指数、垫料潮湿度、活动次数及尿流动力学指标,如膀胱内压及排尿间隔是模型制作成功的核心指标。组织病理学指标,如上皮细胞及间质组织的增生是前列腺增生病理变化的直接依据,亦是判定该模型是否成功的决定因素。生化指标如雌雄激素、肽类生长因子、增殖与凋亡蛋白,可以反映前列腺增生的发生发展程度。作为与临床诊断符合程度判定的客观指标,上述评价指标从不同层面反映BPH情况。现有动物模型对比分析见表1。

3.1 睾酮诱导 该方法主要适用于大鼠、小鼠、犬等,大鼠报道较多,亦有猕猴模型^[30]。主要分为去势和非去势两种。其原理是干扰机体内源性激素平衡,导致前列腺增生。该方法所诱导的BPH表现为上皮层和基质间隙增生^[31]。非去势法与去势法导致前列腺组织病理不同,非去势法前列腺腺体表面光滑,组织界限明显,腔内乳头突起增多;去势法前列腺增生不规整,与周围组织粘连,可伴有部分腺体糜烂坏死,腔内乳头突起增多明显,上皮边缘粗糙^[32]。

目前,睾酮诱导造模方法和时间各有差异,没

表1 现有BPH模型对比分析

Table 1 Comparative analysis of existing BPH models

动物模型	造模对象	建模方法	优点	缺点	临床吻合
睾酮诱导	大鼠/ 小鼠/犬	去势后给予睾酮,打乱内源性激素平衡,诱导BPH	去势模型可以排除自身激素影响,组织病理学上可观察到腺体与间质的增生,模型容易建立	腺体增生后很难恢复到去势前的水平,疗效评估受限	较高
	大鼠/ 小鼠/犬	直接给予睾酮,打乱内源性激素平衡,诱导BPH	较去势模型易于操作,在发病机制和病理特征上更趋近临床	容易受自身激素影响。前列腺增生的程度小。模型维持时间短	较高
雌雄激素诱导	大鼠/ 小鼠/犬	去势或非去势的情况下,按一定比例同时给予雌性激素,雌雄激素协同诱导BPH	更符合临床BPH的发生条件	雌/雄比例往往难以准确的评估,导致造模时激素比例难以确定,在一定程度上会影响成模率	较高
高脂饮食诱导	大鼠/ 小鼠/犬	高脂饮食喂养导致动物肥胖,从而诱发BPH的发生	高脂饮食诱操作简单,能反应小部分BPH发病原因,可用于病因学研究	存在成模率偏低问题。受干扰因素较多,通常联合丙酸睾酮诱导前列腺增生,提高成模率	较高
尿生殖窦植入法	大鼠/ 小鼠	前列腺腹叶内植入同品系胎鼠的尿生殖窦组织,激发模型动物前列腺尿道周围胚胎组织增殖能力,诱发BPH	该模型可维持的时间最少3个月,具有短期内可产生预期的显著增生	操作难度较大,对实验技术要求高。同时存在感染的风险高,动物死亡率高的问题	中等
异种移植法	小鼠	将人体术后前列腺组织移植到免疫缺陷小鼠肾包膜或皮下,在宿主体内成活并发生增殖	可以从免疫学角度反映BPH变化,符合人体BPH组织病理变化	成本较高,失败率高	低
症状模拟	大鼠/兔	过膀胱颈梗阻模拟BPH导致BOO	为研究人类继发于BPH的膀胱逼尿肌功能障碍的发生机制及探索对膀胱功能恢复的治疗提供有效的动物模型	不适用于病因学的研究。操作困难,需要良好的手术基础	低
转基因法	小鼠	将多种前列腺特异性调节因子转移到小鼠体内,特异性基因表达并诱发BPH	条件可控,适用于病因学研究及研究细胞转化、基因突变	主要问题是模型成本高	中等
自发性模型	犬/猩猩	不予干预,通过动物自然衰老,诱发BPH	自发性模型避免外界干预,较好的反映自发状态下BPH的发展及变化	动物数量受到制约难以大规模进行试验	较高
病证结合模型	大鼠	采用去势手术、激素注射加冰浴方法构建肾虚血瘀模型	为BPH肾虚血瘀证以及相关中药治疗机制的研究提供了实验基础和理论依据	通过微观指标反应中医证型,缺少症状指标,存在一定的局限性	较高

有统一标准。以大鼠造模方法为参照^[33],将造模大鼠常规饲养5~7 d以使其适应环境。非去势法,每隔1 d对大鼠进行皮下注射丙酸睾酮(50 mg·kg⁻¹),皮下注射连续4周。去势法,无菌环境下采用腹腔注射戊巴比妥钠的方式进行麻醉,对皮肤进行消毒,经阴囊摘除双侧睾丸。手术后为防止大鼠感染,可对连续3 d肌肉注射青霉素。手术后恢复7 d,于第8天选取已去势且状态恢复较好的模型大鼠,每天按剂量4 mg·kg⁻¹皮下注射造模药,连续4周。造模动物根据需要多选用幼龄小鼠,2~4个月龄青年大鼠或24个月龄老年大鼠,1~2年犬^[15,34]。注射方法包括腹腔注射、皮下注射及肌肉注射。给药剂量从4~50 mg·kg⁻¹·d⁻¹不等,多数采用10 mg·kg⁻¹·d⁻¹及以下的剂量。有学者探讨丙酸睾酮诱导大鼠造模时使用25 mg·kg⁻¹·d⁻¹可以引起BPE,并伴有排尿症状的改变,而5 mg·kg⁻¹·d⁻¹只引起前列腺体积的变化,对排尿不产生影响^[35]。造模

时间从4~8周不等,大、小鼠造模时间主要以4周为主,犬类多采用6~8周。王飘等^[36]研究认为建立BPH大鼠模型的最佳时间为4周。李云飞等^[37]给予去势后豚鼠丙酸睾酮50 mg·kg⁻¹隔日注射1次,共计12周,建立了BPH逼尿肌收缩无力动物模型。

除直接注射丙酸睾酮之外,有报道也可使用丙酸睾酮硅胶微丸或庚酸睾酮诱导增生^[38-39]。睾酮诱导方法简单,操作方便,可用于研究相关生化指标的变化,也可反映前列腺的组织形态学变化。去势模型可以排除自身激素影响,组织病理学上可观察到腺体与间质的增生,模型容易建立,但腺体增生后很难恢复到去势前的水平,疗效评估受限。非去势模型较去势模型易于操作,组织病理学上主要以腺体的增生为主,在发病机制和病理特征上更趋近临床。本模型与临床诊断标准吻合度高,也是目前临床最为常用的造模方法。

3.2 雌雄激素诱导 该方法主要适用于老龄大鼠/

犬。主要模拟老年男性体内雌雄激素比例的改变,雌激素与双氢睾酮(DHT)协同作用导致BPH。该方法诱导的BPH表现为前列腺腺泡明显扩张,腺上皮细胞明显增厚^[40]。

造模方法类似于单纯使用雄激素诱导,注射方法同样包括皮下注射、肌肉注射、腹腔注射。雄激素通常使用丙酸睾酮,用量与单纯丙酸睾酮诱导相当。雌激素多选用苯甲酸雌二醇,17 β -雌二醇等,雌/雄激素比例多为1:100,周期4周,主要引起前列腺间质明显改变。KALU等^[41]隔日皮下注射9 mg·kg⁻¹的DHT和0.9 mg·kg⁻¹的戊酸雌醇,连续4周,引起BPE及间质明显改变。NICHOLSON等^[42]将激素颗粒植入于背部肩胛间的皮下,调整17 β -雌二醇/睾酮(T)为1:10,造模8周后,成功的诱导了膀胱容积的扩大,为研究前列腺增生合膀胱并发症提供可选模型。陈晖等^[43]将模型组2~3年家犬去势后,肌肉注射5 α -雄甾烷-3 α ,17 β -二醇和17 β 雌二醇,每周3次,每周每只的总剂量为雄激素75 mg,雌激素0.75 mg,连续注射6个月,结果模型组犬前列腺的体积、质量、病理变化和间质上皮比例与老年组犬前列腺基本相似。

雌雄激素联合诱导产生的BPH更符合临床BPH的发生条件,现实意义强。雌雄激素共同参与调控前列腺细胞的增殖与凋亡过程,雌/雄激素比例失衡,会诱发前列腺组织增生。研究表明,随着年龄的增长,前列腺体积逐渐增大,血清雌雄激素比值会有上升的趋势,中青年男性为1:150,而老年人比值为1:120~1:80^[44]。本模型与临床诊断标准吻合度较高,然而雌/雄比例往往难以准确的评估,导致造模时激素比例难以确定,在一定程度上会影响成模率。

3.3 高脂饮食诱导 该方法主要用于小鼠和大鼠。近些年来发现肥胖引发的代谢紊乱可能是引发BPH的主要因素之一^[11],为高脂饮食诱导BPH模型提供证据支持。一般来讲,高脂饮食喂养8周后会有40%~60%的小鼠可达到肥胖标准^[45],从而诱发BPH的发生。向玖琳等^[46]采用含有蛋白质20%,糖类20%,脂肪60%高脂饲料喂养小鼠8周,肥胖率达到60%,前列腺质量、体积和上皮高度发生明显变化。

高脂饮食诱操作简单,能反映小部分BPH发病原因,可用于病因学研究,但存在成模率偏低问题。前列腺增生仅是肥胖全身代谢紊乱的局部表现,受干扰因素较多,通常联合丙酸睾酮诱导前列腺增

生,提高成模率。

3.4 尿生殖窦植入法 该方法主要用于大鼠及小鼠。主要原理刺激成年动物前列腺、尿道周围区域,胚胎组织生长能力重新恢复,模拟人类发生的胚胎重唤醒,并能反映前列腺增生发病过程中间质-上皮相互作用机制,可激发模型动物前列腺尿道周围胚胎组织增殖能力^[47]。该方法所诱导的前列腺增生有雄激素依赖性,显示典型的前列腺样组织构造。尿生殖窦植入法制备小鼠前列腺增生模型^[32,47],小鼠麻醉后,分离前列腺腹叶,并在腹叶内植入同品系胎鼠的尿生殖窦组织(尿生殖窦的准备为取受孕的母鼠子宫内的胎鼠),此操作过程可在体视显微镜下进行,立即缝合。植入胎鼠尿生殖窦组织的模型小鼠3周后即可形成小鼠前列腺增生模型。

该模型可维持的时间最少3个月,具有短期内可产生预期的显著增生。其增生主要位于前列腺的移行带,与临床诊断标准符合度中等。操作难度较大,对实验技术要求高。同时存在感染的风险高,动物死亡率高的问题。

3.5 异种移植法 多用于免疫缺陷大、小鼠建模,将人体术后前列腺组织移植到鼠肾包膜或皮下,通常需要8~12周,移植物保持BPH组织学特征,在宿主体内成活并发生增殖^[16]。可以从免疫学角度反映BPH变化,但成本较高,失败率高,与临床诊断标准吻合度低。

3.6 症状模拟 常见于兔或大鼠,通过膀胱颈梗阻模拟BPH导致BOO,为研究人类继发于BPH的膀胱逼尿肌功能障碍的发生机制及探索对膀胱功能恢复的治疗提供有效的动物模型^[48]。王杭等^[49]采用成年兔,应用膀胱颈部结扎的方法,制成膀胱出口部分梗阻动物模型模拟人类继发于BPH所引起的膀胱功能改变,发现兔容量明显减少,逼尿肌收缩性明显下降。本模型适用于筛选评价改善前列腺症状的药物,与临床诊断符合度不高,也不适用于病因学的研究。操作困难,需要良好的手术基础。

3.7 转基因法 多采用小鼠。将多种前列腺特异性调节因子转移到小鼠体内,特异性基因表达并诱发BPH。如FANG等^[50]构建的基因敲除小鼠,从细胞学角度研究,适合研究细胞转化、变异中某个致癌基因。与临床诊断标准符合度较高,主要问题是模型成本高。

3.8 自发性模型 自发性BPH可发生于犬和黑人

灵长类,其BPH严重程度与人类一样呈显著的年龄依赖性。老年犬前列腺增生的组织病理与人类不同,人类通常是局灶性,而犬类通常是弥漫性的,可以累及整个腺体^[19]。自发性模型避免外界干预,较好的反映自发状态下BPH的发展及变化,与临床诊断标准符合度较高。主要是动物数量受到制约难以大规模进行试验。

3.9 中医证候模型 大量的临床研究证实了中医药治疗BPH的效果,中医药治疗具有多靶点、多层次的优点,但其机制尚不清楚。探寻符合中医药特点BPH的中医证候模型,对揭示中医药机制,阐明中医理论的科学内涵具有重要意义。病证结合动物模型是现阶段中医药基础研究的重要载体,模型质量高低关系到中医药现代化进程。目前,尚缺少病证结合BPH动物模型,中医药干预BPH的模型多是从西医病的角度研究,缺少证候要素,无法体现中医辨证论治的优势,一定程度上限制了中药疗效及药物机理的研究。樊新荣等^[51]采用去势手术、激素注射加冰浴方法制作BPH肾虚血瘀证大鼠模型,发现大鼠模型在符合BPH成模标准的同时,出现全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数和卡松黏度明显升高,前列腺组织小血管扩张、充血等情况。为BPH肾虚血瘀证以及相关中药治疗机制的研究提供了一定实验基础和理论依据。但通过微观指标反应中医证候,缺少症状指标,也存在一定的局限性。

4 评价指标

在BPH的发病过程中,表现及尿动力学指标与临床症状密切相关,应作为评价BPH模型成功与否及药物治疗效果的最主要依据;组织病理学改变是BPH发生的决定因素,也是最直接证据;生化指标从不同角度反映了BPH的发生原因,是BPH发生的始动因素。阐明BPH的发病机制,寻求BPH治疗靶点,是解决BPH问题的关键。近些年来有关模型及药物(尤其是中药)对生化指标的研究趋于多元化,也更为深入,主要集中在对性激素的影响^[52](如T, E₂, DHT),对5 α 还原酶活性及浓度影响^[53],对前列腺细胞增殖的影响^[54][如肽类生长因子主要有碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),转化生长因子- β_1 (TGF- β_1),血管内皮生长因子(VEGF),胰岛素样生长因子-1(IGF-1)],对增殖细胞核抗原(PCNA)表达的影响^[55],对 α 受体的影响^[56],对前列腺细胞凋亡的影响[如B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),Bcl-2相关X蛋白(Bax),半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-3

(Caspase-3)]^[57-58],对氧化应激(OS)机制和炎症的影响[如超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽(GSH),环氧合酶-2(COX-2)活性,丙二醛(MDA)含量的影响等]^[59-61]。

BPH的发病机制复杂,临床症状多样。现有的评价指标具有一定的局限性,并且指标之间缺乏相关性。如表观指标改善与组织病理、生化指标不一致(症状与前列腺体积缺少相关性);BPH引起LUTS,多为主观性描述,无法在动物模型上复制,仅能用组织病理、生化指标间接反应(缺少症状学指标);BPH患者中30%~60%合并膀胱过度活动症(OAB),评价指标只是针对前列腺,缺少对膀胱功能影响的评估,会影响到对药物全面评价,导致无法揭示药物的潜在靶点。因此,在研究过程中需要考虑评价指标的合理性及全面性,在此基础上才能更客观的评价药物的作用机制。

5 问题与展望

目前,BPH模型更加趋近人类BPH临床特点,为评价药物疗效提供了重要载体。同时,模型已向细胞学方向发展,可以更加深入研究BPH的发病机制。相关检测指标从不同层面反映BPH的核心病理变化,为进一步探寻BPH的发病机制及开发防治药物提供保障。但并没有能完全模拟人类BPH的自然发展进程的模型,每一种模型及评价标准均有其独特的优势与局限性。

在模型方面,BPH模型大多以BPE作为判定模型成功与否的标准,尚缺少可靠的模拟BPH进展及合并膀胱功能障碍的模型。BPH合并逼尿肌功能障碍是临床上治疗的难点,部分药物可以有效改善逼尿肌功能,从而改善BPH症状。相关模型的缺乏限制了药效学的研究。另外,BPH模型多仅针对某单一因素异常而设计的。事实上,临床上由单一因素引起的BPH很少见,多为复合因素,这类模型对作用靶点单一药物可能更为适合,但对于通过多途径、多靶点发挥作用中药研究具有较大的局限性。

在评价指标方面,BPH动物模型的复制缺少反映症状的行为学指标,如尿急、排尿无力、夜尿增多等临床症状,在人体研究中作为主要疗效评价指标,则在动物模型上鲜有反馈,因而无法量化,进行客观评价,这在一定程度上模糊了该病真正的相关机制,限制对本病进行研究探索。同时过于强调药物对前列腺体积及组织病理的影响,忽略对症状及尿动力学上的影响,可能无法客观评价药物作用靶点。

在中医药研究方面,应该以整体动物实验为基础,根据药物的功用主治、作用特点,结合临床证候与疾病特点,选择不同的病证结合模型,选用具有代表性的评价指标,多方面、多层次阐明药物的作用机制。目前,中药对BPH模型的研究,并未像临床研究一样,进行分型,忽略了中医的“辨证论治”的精髓,变成仅是对“病”的模型的复制与研究,而不是针对于“证”“候”,不能较好的模拟中医理论指导下的辨证论治,亦无法深入探讨中药对BPH的作用机制,是目前中医药对BPH研究的一大遗憾。

针对上述不足,应该继续开发基于临床特点及发病规律的BPH模型。主要从以下几个方面着手,①在考虑模型成本及伦理的前提下,探索多因素复合模型,复制更贴近BPH发病本质的模型。②筛选能反映BPH病变本质的评价指标。③研发相应仪器用来检查行为学变化,并使其能够量化。④进一步探索行为学变化与微观指标的内在联系,实现宏观表征与客观指标的联合运用及协同判定。⑤建立起完善的BPH证候模型研究体系。⑥完善中医药相关指标评价体系,对较能准确反应中医证型的微观指标实现“金指标化”。伴随老龄化社会的到来,BPH发病人群不断增加,深入开展BPH模型研究,规范造模方法、模型评价标准,建立稳定BPH模型,开发疗效可靠的BPH治疗药物是今后研究的重要方向。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] BORCHERT A, LEAVITT D A. A review of male sexual health benign and dysfunction following surgical treatment for prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms [J]. *Curr Urol Rep*, 2018, 19(8):66.

[2] 陈赆,熊晶,杜国伟,等. 良性前列腺增生患者储尿症状改善对生活质量评分的影响[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25(6):487-490.

[3] CHO A, CHUGHTAI B, TE A E. Benign prostatic hyperplasia and male lower urinary tract symptoms: epidemiology and risk factors [J]. *Curr Bladder Dysfunct Rep*, 2020, 15(2):60-65.

[4] EMBERTON M, ANDRIOLE G L, DELA ROSETTE J, et al. Benign prostatic hyperplasia: a progressive disease of aging men [J]. *Urology*, 2013, 61(2):267-268.

[5] 朱自强,康健. 良性前列腺增生最新研究进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2019, 34(5):409-412.

[6] BECHIS S K, OTSETOV A G, GE R, et al. Personalized medicine for the management of benign prostatic hyperplasia [J]. *J Urol*, 2014, 192(1):16-23.

[7] VEIN A J, KAVOUSSI L R, PARTIN A W, et al. 坎贝尔-沃尔什泌尿外科学[M]. 9版. 郭应禄,周立群,主译. 北京:北京大学医学出版社,2009:883.

[8] CHUGHTAI B, FORDE J C, THOMAS D D, et al. Benign prostatic hyperplasia [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2:16031.

[9] 那彦群,叶章群. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南(2014版)[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:252-256.

[10] 陆奇杰,白文坤,曹乃龙,等. 良性前列腺增生相关发生机制[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2018, 38(5):855-857.

[11] 刘丹,白雪,刘桂敏,等. 前列腺增生症发病机制的研究进展[J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(5):112-117.

[12] 任毅,王瑶,郑人文. 良性前列腺增生病因及发病机制的研究现状[J]. *世界中医药*, 2018, 13(9):2372-2376.

[13] HAGHSHENO M A, MELLSTROM D, BEHRE C J, et al. Low 25-OH vitamin D is associated with benign prostatic hyperplasia [J]. *J Urol*, 2013, 190(2):608-614.

[14] 刘洋,安立文. 中医药治疗良性前列腺增生机理的研究进展与现状[J]. *中国男科学杂志*, 2006, 20(6):71-72.

[15] 陈君秀,李泽安,谢俊佳,等. 常用良性前列腺增生细胞系及动物模型研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(8):1555-1559.

[16] 宋春生,赵家有. 良性前列腺增生动物模型研究进展[J]. *中国性科学*, 2013, 22(1):13-15.

[17] 杨艳玲,闵喏,夏玉叶. 良性前列腺增生药理学研究中的动物模型[J]. *世界临床药物*, 2011, 32(1):51-55.

[18] 吴建辉,徐斯翀,潘琦,等. 自发性及睾酮诱导犬前列腺增生模型的比较[J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(3):21-26.

[19] 黄冬妍,吴建辉,孙祖越. 前列腺增生药物评价模型分类及特点比较[J]. *中华男科学杂志*, 2014, 20(2):181-185.

[20] 黄霆,王安喜,朱晓雨,等. 葛根配方颗粒对小鼠前列腺增生的影响[J]. *世界中医药*, 2017, 12(9):2160-2163,2167.

[21] 郭琳,苗明三. 基于前列腺增生症临床病症特点的动物模型分析[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(1):261-264.

- [22] BELLO D, WEBBER M M, KLEINMAN H K, et al. Androgen responsive adult human prostatic epithelial cell lines immortalized by human papilloma-virus 18 [J]. *Carcinogenesis*, 1997, 18(6): 1215-1223.
- [23] SHINYA K, KENICHIRO I, TAKESHI S, et al. Castration-induced stromal re-modeling disrupts the reconstituted prostate epithelial structure [J]. *Lab Invest*, 2020, 100(5): 670-681.
- [24] WEBBER M M, BELLO D, KLEINMAN H K, et al. Prostate specific antigen and androgen receptor induction and characterization of an immortalized adult human prostatic epithelial cell line [J]. *Carcinogenesis*, 1996, 17(8): 1641-1646.
- [25] XIE C, SUN X, CHEN J, et al. Down-regulated CFTR during aging contributes to benign prostatic hyperplasia [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(8): 1906-1915.
- [26] WEBBER M M, TRAKUL N, THRAVES P S, et al. A human prostatic stromal myofibroblast cell line WPMY-1: a model for stromal-epithelial interactions in prostatic neoplasia [J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(7): 1185-1192.
- [27] TUXHOR J A, AYALA G E, SMITH M J, 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.
- [28] KYUNG J J, EUN K L, SU J K, et al. Anti-inflammatory activity of SMP30 modulates NF- κ B through protein tyrosine kinase/phosphatase balance [J]. *J Mol Med(Berl)*, 2015, 93(3): 343-356.
- [29] 吴建辉, 李军, 苏欣, 等. 原代培养大鼠前列腺细胞建立前列腺增生筛药模型[J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(5): 10-14.
- [30] 谢金东, 杨燕燕, 周建华, 等. 猕猴前列腺增生动物模型的建立[J]. *动物学杂志*, 2018, 53(6): 978-985.
- [31] 刘启蒙, 戴丽军. 良性前列腺增生动物模型的制备研究[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2020, 26(2): 122-127.
- [32] 楚元奎, 杨文, 冉林武, 等. 前列腺增生大鼠模型的建立[J]. *贵阳医学院学报*, 2014, 39(5): 657-659, 663.
- [33] 中华中医药学会, 中药实验药理专业委员会. 前列腺增生动物模型制备规范(草案)[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19): 15-19.
- [34] 吴建辉, 孙祖越, 朱焰, 等. 去势 Beagle 犬前列腺增生模型的建立[J]. *中华男科学*, 2003, 9(6): 425-428.
- [35] LI J, TIAN Y, GUO S, et al. Testosterone-induced benign prostatic hyperplasia rat and dog as facile models to assess drugs targeting lower urinary tract symptoms[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e191469.
- [36] 王飘, 常雅卉, 赵思俊, 等. 建立良性前列腺增生动物模型的时间评定[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(6): 870-873.
- [37] 李云飞, 王秀新, 甘伟, 等. 良性前列腺增生逼尿肌收缩无力动物模型建立[J]. *湖北医药学院学报*, 2014, 33(6): 541-544.
- [38] AMORIM R I, DA C C, DA S V, et al. Flaxseed reduces epithelial proliferation but does not affect basal cells in induced benign prostatic hyperplasia in rats [J]. *Eur J Nutr*, 2017, 56(3): 1201-1210.
- [39] RICK F G, SCHALLY A V, BLOCK N L, et al. Mechanisms of synergism between antagonists of growth hormone-releasing hormone and antagonists of luteinizing hormone-releasing hormone in shrinking experimental benign prostatic hyperplasia [J]. *Prostate*, 2013, 73(8): 873-883.
- [40] HUANG J J, CAI Y, YI Y Z, et al. Pharmaceutical evaluation of naftopidil enantiomers: rat functional assays *in vitro* and estrogen/androgen induced rat benign prostatic hyperplasia model *in vivo* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 791: 473-481.
- [41] KALU W O, OKAFOR P N, IJEH I I, et al. Effect of kolaviron, a biflavanoid complex from *Garcinia kola* on some biochemical parameters in experimentally induced benign prostatic hyperplastic rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 1436-1443.
- [42] NICHOLSON T M, MOSES M A, UCHEMANN K S, et al. Estrogen receptor- α is a key mediator and therapeutic target for bladder complications of benign prostatic hyperplasia [J]. *J Urol*, 2015, 193(2): 722-729.
- [43] 陈晖, 刘修恒, 金化民. 雌雄激素联用制作犬前列腺增生动物模型[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2005, 20(1): 44-46.
- [44] LEE C H, AKIN-OLUGBADA O, KIRSCHENBAUM A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2011, 40(03): 565-575.
- [45] CALMASINI F B, DE OLIVEIRA M G, ALEXANDRE E C, et al. Obesity-induced mouse benign prostatic hyperplasia (BPH) is improved by treatment with resveratrol; implication of oxidative stress, insulin sensitivity and neuronal growth factor [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 55: 53-58.
- [46] 向玖琳, 王茹, 陈廷, 等. 肥胖小鼠良性前列腺增生模型的建立[J]. *中国老年学志*, 2017, 37(19): 4700-4703

- [47] 申青,朱着,朱柳,等. 尿生殖窦植入致大鼠良性前列腺增生的组织形态学研究[J]. 中华男科学杂志, 2012,18(8):703-709.
- [48] 荆强,王东文,高宏飞,等. 雄性大鼠膀胱出口梗阻两种模型制作方法的比较研究[J]. 中国比较医学杂志,2014,24(2):52-56
- [49] 王杭,王国民,秦建琦. 雄性兔膀胱出口部分梗阻动物模型的建立[J]. 上海实验动物科学,2001,21(3):140-142.
- [50] FANG X L, GYABAAH K, NICKKHOLGH B, et al. Novel *in vivo* model for combinatorial fluorescence labeling in mouse prostate[J]. Prostate, 2015, 75(9): 988-1000.
- [51] 樊新荣,颜苗,何清湖. 前列腺增生症肾虚血瘀证大鼠动物模型的建立与评价[J]. 中国中医基础医学杂志,2013,19(3):257-260
- [52] 卢毅,林建喜,莫启旺,等. 盐酸小檗碱对丙酸睾酮诱导的前列腺增生小鼠的作用及其机制研究[J]. 实用药物与临床,2020,23(6):498-502.
- [53] BHASIN S, TRAVISON T G, STORER T W, et al. Effect of testosterone supplementation with and without a dual 5 α -reductase inhibitor on fat-free mass in men with suppressed testosterone production: a randomized controlled trial [J]. JAMA, 2012, 307(9):931-939.
- [54] KIM S K, SEOK H, PARK H J, et al. Inhibitory effect of curcumin on testosterone induced benign prostatic hyperplasia rat model [J]. BMC, 2015, 15(6): 380-384.
- [55] 蔡鸿财,宋乐彬,张国巍,等. 夏荔芪胶囊对良性前列腺增生模型大鼠PCNA、Caspase-3表达水平的影响[J]. 中华男科学杂志,2017,23(8):728-733.
- [56] 吕志珍,李寅增,韩启德,等. 消癥通闭对 α 1-肾上腺素受体的拮抗作用[J]. 北京大学学报:医学版, 2001,33(2):157-159.
- [57] 王梓楠,方浩泰,袁青. 针刺尿三针对BPH大鼠前列腺细胞凋亡的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018,24(10):1454-1457.
- [58] 赵猛,安立文,郑雪,等. 癥畅颗粒对大鼠前列腺增生组织Caspase-3基因表达的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志,2018,24(6):729-732.
- [59] 涂雅玲,陈其华. 益肾通癥胶囊对前列腺增生模型大鼠雌雄激素比及缺氧诱导因子-1 α 的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2020,40(1):14-17.
- [60] 张玲,谢辉,颜苗,等. 克癥胶囊对前列腺增生大鼠模型及Nrf2/ARE信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(11):87-91.
- [61] 周欢,羊羨,李博,等. 益肾通癥胶囊对良性前列腺增生大鼠模型COX-2及PGE₂表达的影响[J]. 山西中医药大学学报,2020,21(1):14-17,22.

[责任编辑 王鑫]