

# 克癭胶囊对前列腺增生大鼠模型及 Nrf2/ARE 信号通路的影响

张玲<sup>1</sup>, 谢辉<sup>1</sup>, 颜苗<sup>2</sup>, 何清湖<sup>1</sup>, 樊新荣<sup>3\*</sup>

(1. 湖南中医药大学 中西医结合学院, 长沙 410208; 2. 中南大学 湘雅二医院, 长沙 410011;  
3. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**探讨克癭胶囊对丙酸睾酮诱导的大鼠前列腺增生模型的影响及抗氧化作用机制。**方法:**将40只雄性SD大鼠随机分为正常组,模型组,克癭胶囊低、高剂量组(3.6,7.2 g·kg<sup>-1</sup>),核因子E<sub>2</sub>相关因子2(Nrf2)干预剂组,每组8只。除正常组外,其余各组均皮下注射丙酸睾酮建立前列腺增生的大鼠模型,同时给予药物灌服,连续4周。观察不同药物对前列腺湿重、前列腺指数的影响,苏木素-伊红(HE)观察病理组织形态变化,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清样品中丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)的含量,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测前列腺组织中Nrf2/ARE信号通路抗氧化因子Nrf2,血红素单加氧酶-1(HO-1),醌氧化还原酶1(NQO1)mRNA的表达水平。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠的前列腺湿重及前列腺指数升高,前列腺上皮皱褶增生,大鼠血清GSH含量明显降低,Nrf2,HO-1和NQO1 mRNA表达明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较,克癭胶囊明显降低前列腺指数,改善前列腺上皮组织的增生,促进大鼠血清GSH的含量增加( $P < 0.01$ );克癭胶囊能上调Nrf2,HO-1和NQO1的mRNA表达水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**克癭胶囊能明显抑制大鼠的前列腺增生,低剂量的克癭胶囊可激活Nrf2/ARE信号通路,提高机体抗氧化能力。

**[关键词]** 克癭胶囊; 前列腺增生; 核因子E<sub>2</sub>相关因子2; 氧化损伤

**[中图分类号]** R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0087-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181127

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.1011.035.html>

**[网络出版时间]** 2018-03-15 11:04

## Effects of Kelong Capsule on Benign Prostatic Hyperplasia Rat Model and Nrf2/ARE Signaling Pathway

ZHANG Ling<sup>1</sup>, XIE Hui<sup>1</sup>, YAN Miao<sup>2</sup>, HE Qing-hu<sup>1</sup>, FAN Xin-rong<sup>3\*</sup>

(1. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China; 3. Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Kelong capsule on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia (BPH) and its antioxidant mechanism in rats. **Method:** Forty male SD rats were randomly divided into normal group, model group, low-dose Kelong capsule group (3.6 g·kg<sup>-1</sup>), high-dose Kelong capsule group (7.2 g·kg<sup>-1</sup>) and nuclear factor E<sub>2</sub>-related factor 2 (Nrf2) intervention group,  $n = 8$  in each group. Except the rats in normal group, all the other rats received subcutaneous injections of testosterone propionate (TP) to establish BPH models. Drugs were concomitantly administered by oral gavage for 4 weeks. Then the effects of different drugs on wet weight of the prostate and prostate index (PI) were observed, and haematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphological changes. The malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH)

**[收稿日期]** 20180102(020)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81373708);湖南中医药大学中医诊断学国家重点学科开放基金项目(2014-4)

**[第一作者]** 张玲,在读硕士,从事中医治未病与亚健康调治研究,E-mail:409749593@qq.com

**[通信作者]** \*樊新荣,博士,主任医师,从事中医治未病与亚健康调治研究,E-mail:fxr1973@126.com

contents in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. The mRNA levels of Nrf2, oxygenase-1 (HO-1) and quinone oxidoreductase (NQO1) were determined with real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Result:** As compared with the normal group, the wet weight of prostate and PI were increased and the prostatic epithelial was proliferated in the model group; GSH content in serum was significantly reduced; and mRNA expression levels of Nrf2, HO-1 and NQO1 were also significantly reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). As compared with the model group, Kelong capsule significantly decreased prostate index, ameliorated the histological changes, increased the content of GSH in serum ( $P < 0.01$ ), and significantly up-regulated Nrf2, HO-1 and NQO1 mRNA levels ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Kelong capsule could effectively inhibit the development of BPH, and low dose Kelong capsule could activate Nrf2/ARE signal pathway to increase the antioxidant capacity of the body.

[**Key words**] Kelong capsule; benign prostatic hyperplasia; nuclear factor- $E_2$ -related factor 2 (Nrf2); oxidative damage

前列腺增生症 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是指前列腺的良性增生压迫尿道或影响膀胱出口梗阻, 继而出现夜尿增多、尿频、尿失禁等的病症<sup>[1]</sup>。随着我国人口老龄化和生活节奏的加快, 发病率呈逐年上升的趋势, 60 岁以上患病率超过 50%, 85 岁以上患病率高达 90%<sup>[2-3]</sup>。关于 BPH 的病因及发病机制仍未完全阐明, 雌、雄激素平衡失调的是 BPH 发生的重要诱因<sup>[4]</sup>。越来越多的研究者证实多肽生长因子, 炎症与氧化应激因子对 BPH 的发生发展有一定的影响<sup>[5-6]</sup>。目前, 针对 BPH 的治疗方式有手术和药物治疗。手术治疗虽见效快, 但常伴有并发症<sup>[4]</sup>。西药主要有  $\alpha$ -受体阻滞剂松弛平滑肌, 非那雄胺等抗激素治疗 BPH, 效果不甚满意, 且因副作用明显不宜长期服用<sup>[7]</sup>。因中药成分多为天然植物, 具有不良反应较小等优势, 已成为治疗 BPH 用药的新方向。

中医认为, 肾虚是 BPH 发生的基本条件, 血瘀是 BPH 病理改变的关键环节, 肾虚和血瘀相互影响构成了 BPH 的病理机制。中医经典方“金匱肾气丸”源自张仲景《金匱要略》, 由地黄、山药、山茱萸、泽泻、茯苓、牡丹皮、桂枝和炮附片 8 味药组成, 具有补肾助阳之功效, 常用于老年人的养生与康复。克癭胶囊是根据 BPH 的中医“肾虚血瘀”病机, 在“金匱肾气丸”方药的基础上增加了黄芪、桂枝、大豆异黄酮、南瓜子油的化裁组方。前期研究表明, 克癭胶囊治疗前列腺增生症的作用优于前列癭闭通片和前列舒胶囊, 且能降低 BPH 肾虚血瘀型大鼠的血清前列腺酸性磷酸酶 (PAP), 调节性激素睾酮 (T) 和雌二醇 ( $E_2$ ) 的含量<sup>[8-9]</sup>。

氧化应激产生的活性氧 (ROS) 能直接或间接地损伤细胞内蛋白、脂质、核酸等大分子物质的生理功

能, 是众多疾病发生的病理生理基础<sup>[10]</sup>。氧化应激对前列腺相关疾病的发生与发展过程有定的影响, 已有研究发现 BPH 患者的前列腺组织中也存在氧自由基增多<sup>[11]</sup>。核因子  $E_2$  相关因子 2 (Nrf2) 作为重要的氧化应激转录因子, 能特异性结合 ARE 序列, 调控 ARE 依赖的下游基因<sup>[12-13]</sup>。Nrf2/ARE 信号通路在体内诱导多类药物代谢酶及抗氧化酶的表达, 能增加机体抗氧化能力<sup>[14]</sup>。研究证实氧化应激环境下的克癭胶囊能促进前列腺癌细胞 (PC-3) 内抗氧化因子谷胱甘肽 (GSH) 含量的增加, 减少 ROS 的含量<sup>[15]</sup>。本研究通过皮下注射丙酸睾酮 (TP) 制作大鼠的 BPH 模型, 观察前列腺组织的形态变化, 前列腺指数 (PI), 氧化损伤相关指标丙二醛 (MDA) 和 Nrf2/ARE 信号通路下抗氧化因子 mRNA 的表达水平。探讨克癭胶囊对 Nrf2/ARE 信号通路及大鼠 BPH 的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 雄性大鼠, 40 只, 体质量 290 ~ 320 g, 购于湖南省斯莱克景达有限公司, 合格证号 SCXK(湘)2014-0012, 室温 18 ~ 22  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 40% ~ 60%。本实验方案经湖南省斯莱克景达有限公司动物伦理委员会批准, 实验动物伦理审查编号 20161130。

**1.2 药物及试剂** 克癭胶囊 (由湖南中医药大学药学院天然药物化学研究中心提供), 由熟地黄、山茱萸、茯苓、牡丹皮、炮附片、黄芪、桂枝、磁石、南瓜籽油及 40% 大豆异黄酮组成, 生药材由湖南中医药大学第一附属医院中药房采购并由湖南中医药大学药学院刘湘丹教授鉴定为正品。采用水提法, 工艺如下将药物加水加热回流 3 次, 每次 2 h, 合并提取液 60  $^{\circ}\text{C}$  减压浓缩至小体积, 至真空干燥箱 70  $^{\circ}\text{C}$  减压

干燥成干浸膏生药量 203.12 g·kg<sup>-1</sup>,用打粉机将干浸膏打碎成粉。最后加入磁石,40%大豆异黄酮,南瓜籽油,即得。TP 注射液(上海通用药业股份有限公司,批号 1501141);叔丁基对苯二酚(tert-butyl hydroquinone, tBHQ)(美国 Acros 公司,批号 150822500);MDA, GSH 酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 A0003-2, A006-2);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 K1622);引物序列由湖南艾佳生物科技有限公司合成。

**1.3 仪器** 16K-R 型低温台式离心机(长沙鑫奥仪器有限公司), CUT4062 型石蜡切片机(德国 SLee 公司), Scope A1 型显微镜(德国 Zeiss 公司), GENIUS 5K 型电动组织匀浆器(美国 Fluka 公司), MK3 型酶标仪及 NanoDrop Lite 型 PCR 仪(美国 Thermo 公司)。

## 2 方法

**2.1 模型制备与给药** 将 40 只雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常组、模型组、克癯胶囊低、高剂量组及 Nrf2 干预剂组(tBHQ),每组 8 只。除正常组外,其余 4 组大鼠均皮下注射丙酸睾酮(3 g·kg<sup>-1</sup>)<sup>[16]</sup>,每日 1 次,连续 4 周,建立 BPH 大鼠模型。造模同时,正常组和模型组以 0.5% CMC-Na 溶液灌胃;根据种属间等效计量的折算表,克癯胶囊低、高剂量组分别给予 3.6 g·kg<sup>-1</sup>(相当于临床人用药剂量的 5 倍),7.2 g·kg<sup>-1</sup>(相当于临床人用药剂量 10 倍)的克癯胶囊溶液灌胃;tBHQ 组采用含 1% tBHQ 的饲料喂养。

**2.2 前列腺湿重及指数** 用电子天平称取各组大鼠的体质量,给药结束后将大鼠麻醉处死,取前列腺组织,称质量,计算 PI。

$$PI = \text{前列腺质量}(\text{mg}) / \text{大鼠体质量}(\text{g})$$

**2.3 前列腺组织病理学检查** 取前列腺组织固定于 10% 甲醛溶液中,对固定好的组织进行石蜡包埋,切片(厚度约为 4 μm)。常规苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察各组前列腺组织的形态变化并拍照保存。

**2.4 ELISA 检测 MDA 和 GSH 的含量** 采用腹主动脉取血液样本,15 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取血清,于 -80 °C 冰箱保存。按照 ELISA 试剂盒说明书,测定血清中 MDA 和 GSH 含量。

**2.5 Real-time PCR 检测 Nrf2, HO-1 和 NQO1 mRNA 的表达** 取出冻存的前列腺组织,按 trizol 试

剂盒说明的步骤提取总 RNA,42 °C 水浴 1 h 合成 cDNA,进行 PCR 扩增。Nrf2 引物序列为上游 5'-ATGATGTCCAAGGAGCAA-3',下游 5'-TGAGCGGCAACTTTATTC-3',产物长度 86 bp;HO-1 引物序列为上游 5'-ACAAGCAGAACCCAGTCTATG-3',下游 5'-AGAGGTCACCCAGGTAGCG-3',产物长度 222 bp;NQO1 引物序列为上游 5'-TCCATTCCAGCCGACAAC-3',下游 5'-CAGCCGTGGCAGAACTATC-3',产物长度 181 bp; $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)引物序列为上游 5'-AGGCCCTCTGAACCCTAAG-3',下游 5'-CCAGAGGCATACAGGGACAAC-3',产物长度 100 bp。扩增条件为 95 °C 预变性 3 min,之后每一步 95 °C 变性 10 s, Nrf-2, HO-1, NQO1,  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)引物 60 °C 退火延伸 30 s,共进行 40 个循环,每次在延伸阶段读取荧光值,采用 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 方法计算。

**2.6 统计学分析** 采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较不同组间差异用 One-Way ANOVA 分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 BPH 大鼠体质量、前列腺湿重及 PI 的影响** 模型组大鼠的体质量低于正常组( $P < 0.05$ ),而前列腺湿重及 PI 均显著高于正常组( $P < 0.01$ );克癯胶囊高剂量组和 tBHQ 组的大鼠体质量低于正常组,但无统计学差异。与模型组比较,克癯胶囊高剂量组的 PI 和前列腺湿重明显下降( $P < 0.05, P < 0.01$ );作为 Nrf2 干预剂的 tBHQ 组和克癯方低剂量组并未降低 PI 和前列腺湿重。见表 1。

表 1 克癯胶囊对 BPH 大鼠体质量、前列腺湿重及 PI 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

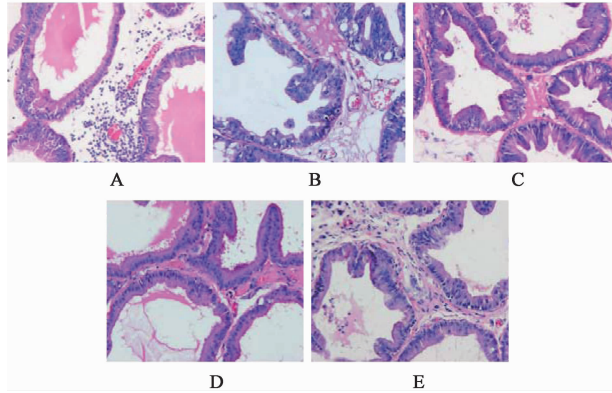
Table 1 Effect of Kelong capsule on body weight, prostate weight and PI in BPH rats( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	体质量 /g	前列腺湿重 /mg	PI /mg·g <sup>-1</sup>
正常	-	427.00 ± 21.11	0.48 ± 0.10	0.11 ± 0.02
模型	-	386.95 ± 28.29 <sup>1)</sup>	1.19 ± 0.18 <sup>2)</sup>	0.31 ± 0.06 <sup>2)</sup>
克癯胶囊	3.6	389.35 ± 17.99	1.18 ± 0.19	0.30 ± 0.05
	7.2	374.51 ± 35.63	0.98 ± 0.12 <sup>3)</sup>	0.26 ± 0.05 <sup>4)</sup>
tBHQ	-	359.41 ± 27.94	1.13 ± 0.17	0.32 ± 0.06

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

**3.2 对 BPH 大鼠前列腺组织形态学的影响** 正常组前列腺上皮及腺腔基本正常,但间质有少量炎症

细胞的浸润;BPH 模型组有不同程度的上皮皱褶,腺腔明显缩小、变形。经高剂量的克癃胶囊处理后,能明显减少上皮细胞的增生,上皮皱褶基本消失。克癃胶囊低剂量组和 tBHQ 组的腺腔内仍有上皮细胞增生所致的乳头状皱褶突入腺腔。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 克癃胶囊 3.6 g·kg<sup>-1</sup> 组; D. 克癃胶囊 7.2 g·kg<sup>-1</sup> 组; E. tBHQ 组

图 1 克癃胶囊对 BPH 大鼠前列腺组织形态学的影响 (HE, ×400)  
Fig. 1 Effect of Kelong capsule on prostate histopathology in BPH rats (HE, ×400)

**3.3 对 BPH 大鼠血清中 MDA 和 GSH 含量的影响**  
各组之间的 MDA 含量并无统计学差异;与正常组比较,模型组的 GSH 的含量显著降低 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,克癃胶囊高剂量组的 GSH 含量显著上升 ( $P < 0.01$ ),而克癃胶囊低剂量组和 tBHQ 组的 GSH 含量与模型组比较差异无统计学意义。见表 2。

表 2 克癃胶囊对血清中 MDA 和 GSH 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )  
Table 2 Effect of Kelong capsule on MDA and GSH contents in BPH rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	MDA	GSH
正常	-	3.74 ± 1.11	9.67 ± 1.70
模型	-	3.42 ± 0.51	5.46 ± 1.88 <sup>2)</sup>
克癃胶囊	3.6	3.71 ± 0.92	5.65 ± 1.76
	7.2	3.45 ± 0.88	9.39 ± 2.66 <sup>4)</sup>
tBHQ	-	2.79 ± 0.98	4.12 ± 2.40

**3.4 对 BPH 大鼠前列腺组织中 Nrf2, HO-1 和 NQO1 的 mRNA 表达的影响**  
与正常组比较,模型组的 Nrf2 和 NQO1 的 mRNA 表达下调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较,克癃胶囊低剂量组能激活 Nrf2/ARE 信号通路上调 Nrf2, HO-1 和 NQO1 的 mRNA 表达水平 ( $P < 0.01$ );但克癃胶囊高剂量组下调了 NQO1 的 mRNA 表达 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 克癃胶囊对前列腺组织中 Nrf2, NQO1 和 HO-1 的 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effect of Kelong capsule on mRNA expression of Nrf2, NQO1 and HO-1 in BPH rats ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Nrf2	HO-1	NQO1
正常	-	0.50 ± 0.06	1.72 ± 0.52	1.38 ± 0.12
模型	-	0.22 ± 0.03 <sup>1)</sup>	1.45 ± 0.16	0.86 ± 0.07 <sup>2)</sup>
克癃胶囊	3.6	0.69 ± 0.11 <sup>4)</sup>	2.98 ± 0.28 <sup>4)</sup>	1.26 ± 0.12 <sup>4)</sup>
	7.2	0.45 ± 0.15	0.58 ± 0.28	0.50 ± 0.16 <sup>3)</sup>
tBHQ	-	0.32 ± 0.08	1.61 ± 0.62	0.97 ± 0.09

#### 4 讨论

BPH 属于中医学“癃闭”、“淋证”、“精癃”等病症范畴,其根于肾,是以肾气亏虚为本,蓄血瘀结为标的膀胱气失司的病证。克癃胶囊是在经方“金匱肾气丸”的基础上的化裁组方,该方是基于“阳化气,阴成形”及“截断扭转”的理论化裁,方中熟地黄滋肾填精;炮附片、桂枝以阴中求阳之法,温补肾阳;山茱萸配合丹皮补中有泻;茯苓淡渗脾湿,助脾胃之健运;并佐以益气行水之黄芪、温经通阳之桂枝、替代抗雄激素成分大豆异黄酮及改善前列腺尿动力的南瓜子油<sup>[17-18]</sup>。现代药理学研究表明黄芪、桂枝、大豆异黄酮及南瓜子油均具有抗炎抗氧化活性<sup>[19]</sup>。

前列腺湿重及 PI 能直观反映前列腺的增生情况,本次实验中,模型组的前列腺湿重及 PI 明显高于正常组。结合观察前列腺组织形态发现,模型组有不同程度的上皮增生皱褶形成,腺腔明显缩小、变形,说明 BPH 模型已成功建立。药物干预后,低剂量的克癃胶囊和 tBHQ 组并没有明显改变 PI,而高剂量的克癃胶囊能降低 PI。此外,病理切片显示高剂量的克癃胶囊能改善前列腺上皮组织的增生,上皮皱褶基本消失,证实了克癃胶囊组能明显抑制 BPH,且可能存在剂量依赖性。

抗氧化系统中,多种抗氧化酶和非酶系统能促进氧化自由基的清除,主要包括 SOD, GSH, HO-1 和 NQO1 等<sup>[20]</sup>, Nrf2/ARE 信号通路则是抗氧化系统中最重要的信号通路,通过激活 ARE 上相关的基因上调抗氧化蛋白,能减少氧化损伤<sup>[21]</sup>。临床研究证明在老年 BPH 病人群体中血清 GSH 活性明显低于健康同龄人<sup>[22-23]</sup>。本次研究发现, BPH 模型大鼠的 GSH 含量较正常组降低,说明 BPH 的确会损伤机体的抗氧化能力,降低氧化防御系统。经克癃胶囊干预后,发现高剂量的克癃胶囊能明显促进大鼠血清 GSH 的含量增加,是抗氧化能力增强的表现。MDA

是自由基攻击体内的脂肪产生的氧化产物,实验中的正常与模型之间的MDA水平并明显差别,说明完成BPH造模的大鼠体内并未产生过多的脂质氧化产物<sup>[24]</sup>。Nrf2作为调控氧化还原平衡的重要因子,当机体内受到氧化应激因子刺激时,能引起内源性抗氧化保护蛋白上调<sup>[25]</sup>。与正常组比较,模型组的Nrf2和NQO1的mRNA表达明显下调,说明BPH的发展进程中,发生了氧化应激反应,导致了氧化损伤。低剂量的克隆胶囊能激活前列腺组织中的Nrf2/ARE信号通路诱导上调Nrf2,HO-1和NQO1的mRNA表达,进一步说明低剂量的克隆胶囊能增加前列腺组织中相关抗氧化酶的活性。

综上所述,克癭胶囊能有效抑制前列腺的增长,能激活Nrf2/ARE信号通路诱导抗氧化因子的表达,且可能存在剂量依赖性。而克癭胶囊是否通过激活Nrf2/ARE信号通路发挥的抗氧化作用,达到防治BPH的作用,还待进一步深入探究。

[参考文献]

[1] 董春来,魏永进,徐波. 良性前列腺增生症的中医药治疗研究进展[J]. 中国当代医药,2013,20(35): 13-14.

[2] 陈康. 经尿道前列腺电切术治疗前列腺增生致尿路梗阻疗效观察[J]. 现代医药卫生,2015,31(3): 392-393.

[3] 车璐,吴晓琴,郑茜茜,等. 香水莲花抑制大鼠前列腺增生的试验研究[J]. 中国食品学报,2015,15(2): 28-33.

[4] 左艇,郭琳,苗明三. 乌鸡白凤丸对前列腺增生大鼠模型的生化指标及组织形态的影响[J]. 中华中医药杂志,2015,30(9):3253-3256.

[5] 刘绍龔,曹珊,苗明三. 中医药治疗前列腺增生的药理作用分析[J]. 中医学报,2011,26(162): 1326-1329.

[6] Minciullo P L, Inferrera A, Navarra M, et al. Oxidative stress in benign prostatic hyperplasia: a systematic review [J]. Urol Int,2015,94(3): 249-254.

[7] 宋春生. 中西医结合治疗良性前列腺增生症的思路与方法[J]. 中国中西医结合杂志,2008,28(8): 747-749.

[8] 樊新荣,孙涛,何清湖. 克癭胶囊治疗良性前列腺增生的临床研究[J]. 医学综述,2010,16(16): 2545-2547.

[9] 樊新荣,何清湖,颜苗. 克癭胶囊对BPH肾虚血瘀证大鼠前列腺增生和性激素水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2013,33(1): 94-98.

[10] LI Y, WANG Y, XUE H, et al. Changes in the mitochondrial protein profile due to ROS eruption during ageing of elm *Ulmus pumila* L seeds [J]. Plant Physiol Biochem,2017,114(57): 72-87.

[11] XU J M, WANG Y, GE F J, et al. Severe irinotecan-induced toxicity in a patient with UGT1A1 28 and UGT1A1 6 polymorphisms [J]. World J Gastroenterol, 2013,19(24): 3899-3903.

[12] Minciullo P L, Inferrera A, Navarra M, et al. Oxidative stress in benign prostatic hyperplasia: a systematic review [J]. Urol Int,2015,94(3): 249-254.

[13] Nariaki F, Tomoharu S, Hiroaki H, et al. Estrogen enhancement of androgen-responsive gene expression in hormone-induced hyperplasia in the ventral prostate of F344 rats [J]. Cancer Sci,2004,95(9): 711-715.

[14] Nariaki F, Jun K. Increase in prostate stem cell antigen expression in prostatic hyperplasia induced by testosterone and 17 $\beta$ -estradiol in C57BL mice [J]. J Steroid Biochem Mol Biol,2016,158(11): 1016-1216.

[15] 全丹妮,张玲,颜苗,等. 氧化应激条件下克癭胶囊对PC-3细胞内GSH,ROS水平的影响[J]. 湖南中医杂志,2017,33(4): 138-140.

[16] Sarbishegi M, Khani M, Salimi S, et al. Antiproliferative and antioxidant effects of *Withania coagulans* extract on benign prostatic hyperplasia in rats [J]. Nephro Urol Mon,2016,9:e33180.

[17] 张婷,王凡,糜漫天. 大豆异黄酮通过激活Nrf2抑制内皮细胞氧化应激损伤的机制研究[C]//中国西部第六届营养与健康学术会议. 乌鲁木齐,2011:1-7.

[18] Mccarty M F. Serum bilirubin may serve as a marker for increased heme oxygenase activity and inducibility in tissues—a rationale for the versatile health protection associated with elevated plasma bilirubin [J]. Med Hypotheses,2013,81(4): 607-617.

[19] 施旭光,朱伟,黄兆胜. 黄芪桂枝五物汤及其配伍对佐剂性关节炎大鼠的抗炎、抗氧化作用研究[J]. 中药药理与临床,2006,22(3): 3-5.

[20] LI L, DONG H, SONG E, et al. Nrf2/ARE pathway activation,HO-1 and NQO1 induction by polychlorinated biphenyl quinone is associated with reactive oxygen species and PI3K/Akt signaling [J]. Chem Biol Interact,2014,209(17): 56-67.

[21] 刘薇,王红霞,王立魁,等. COX-2/Nrf2/ARE信号通路与体内外的抗炎、抗氧化作用机理[J]. 生命科学,2011,23(10): 1027-1033.

[22] SHEN G, KONG A N. Nrf2 plays an important role in coordinated regulation of Phase II drug metabolism enzymes and Phase III drug transporters [J]. Biopharm Drug Dispos,2009,30(7): 345-355.

[23] Calo L A, Pagnin E, Davis P A, et al. Effect of doxazosin on oxidative stress-related proteins in benign prostatic hyperplasia [J]. Urol Int,2006,76(1): 36-41.

[24] ZHANG R Q, LI D Y, XU T D, et al. Antioxidative effect of luteolin pretreatment on simulated ischemia/reperfusion injury in cardiomyocyte and perfused rat heart [J]. Chin J Integr Med,2017,23(7): 518-527.

[25] Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants [J]. Exp Physiol,1997,82(2): 291-295.