

黄芪提取物对慢性非细菌性前列腺炎大鼠的作用及机制探讨

胡瑞义*, 魏蓓蕾

(南阳医专第一附属医院, 河南 南阳 473058)

[摘要] **目的:**研究黄芪提取物对慢性非细菌性前列腺炎大鼠的治疗作用及机制。**方法:**60只SD大鼠随机分为6组,正常组、模型组、阳性药舍尼通组(100 mg·kg⁻¹)和黄芪提取物低、中、高剂量组(100, 200, 400 mg·kg⁻¹),每组10只,除正常组外,其余各组用角叉菜胶制备实验性的慢性非细菌性前列腺炎大鼠模型,每天ig给药1次,正常组和模型组给予蒸馏水,连续给药3周。观察黄芪提取物对大鼠前列腺指数(PI),前列腺特异性抗原(PSA)和前列腺组织中炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白介素-1 β (IL-1 β),环氧酶-2(COX-2),前列腺素E₂(PEG₂),转化生长因子- β ₁(TGF- β ₁)和结缔组织生长因子(CTGF)含量的影响,以及前列腺组织病理形态的变化。**结果:**与正常组比较,模型组明显升高大鼠PI和PSA,明显升高大鼠前列腺组织中TNF- α , IL-1 β , COX-2, PEG₂, TGF- β ₁和CTGF的水平,均具有显著的差异($P < 0.01$),炎症细胞浸润和间质纤维化明显;与模型组比较,黄芪提取物高、中、低剂量组均能明显降低慢性非细菌性前列腺炎模型大鼠PI和PSA($P < 0.01$),明显降低模型大鼠前列腺组织中TNF- α , IL-1 β , COX-2, PEG₂, TGF- β ₁和CTGF的水平($P < 0.01$),同时显著减轻了炎症细胞浸润和间质纤维化的程度。**结论:**本研究证实黄芪提取物对慢性非细菌性前列腺炎大鼠有明显的治疗作用。

[关键词] 黄芪; 慢性非细菌性前列腺炎; 炎症因子; 病理形态

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0152-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130152

Effect and Mechanism of Astragali Radix Extract on Chronic Nonbacterial Prostatitis in Rats

HU Rui-yi*, WEI Bei-lei (The First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang 473058, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect and mechanism of Astragallic Radix extract on chronic nonbacterial prostatitis in rats. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided into 6 groups: the normal group (distilled water), the model group (distilled water), the cernilton group (100 mg·kg⁻¹), the low-, medium- and high-dose Astragallic Radix extract groups (100, 200 and 400 mg·kg⁻¹) of 10 rats each. The chronic nonbacterial prostatitis model was prepared in rats except those in the normal group by injecting carrageenan. The corresponding medicines were intragastrically administered to rats once daily for 3 weeks. The effects on levels of prostatic index (PI), prostate-specific antigen (PSA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), cyclooxygenase-2 (COX-2), prostaglandin E₂ (PEG₂), transforming growth factor- β ₁ (TGF- β ₁) and connective tissue growth factor (CTGF) were determined. The pathological changes of prostate tissue in rats were observed. **Result:** Compared with the normal group, the levels of PI, PSA, TNF- α , IL-1 β , COX-2, PEG₂, TGF- β ₁ and CTGF increased in the model group ($P < 0.01$). Moreover, the pathological results showed obvious inflammatory cell infiltration and fibrosis in the model group. Compared with model group, the levels of PI, PSA, TNF- α , IL-1 β , COX-2, PEG₂, TGF- β ₁ and CTGF decreased in the Astragallic Radix extract groups ($P < 0.01$). Meanwhile, the pathological morphology had good improvement. **Conclusion:** This study confirmed Astragallic Radix extract had therapeutically effective effect on chronic nonbacterial prostatitis in rats.

[Key words] Astragallic Radix; chronic nonbacterial prostatitis; inflammatory factor; pathological morphology

慢性前列腺炎系男性生殖器感染性疾病,属临床常见病、多发病。有资料表明,35 岁以上男子有 35% ~ 45% 患有此病,其发病率有逐年升高的趋势^[1]。慢性前列腺炎包括慢性细菌性前列腺炎与慢性非细菌性前列腺炎两大类,目前,慢性非细菌性前列腺炎发病原因及机制尚未完全清楚。近年来,应用中医药治疗慢性非细菌性前列腺炎的报道逐渐增多。黄芪有增强机体免疫功能、保肝、利尿、抗衰老、抗应激、降压和较广泛的抗菌作用,在治疗慢性非细菌性前列腺炎方面应用广泛,且疗效显著^[2]。本研究考察了黄芪提取物对慢性非细菌性前列腺炎大鼠的药效作用及机制,为其进一步的研究开发奠定基础。

1 材料

1.1 动物 健康成年 8 周龄 SD 大鼠共 60 只,雄性,体重(190 ± 20) g,由河南省实验动物中心提供,动物许可证号 SYXK(豫)2009-0094。实验动物观察为开放式,温度、照明、噪音、换气等条件控制在规定的范围内,每天定时饲养和观察动物。

1.2 药物及试剂 黄芪药材购自亳州药材中心(批号 2005080012,康美药业股份有限公司),经河南中医学院药学院陈实教授鉴定为豆科植物黄芪 *Astragalus membranaceus* 的根,符合 2010 年版《中国药典》规定。200 g 黄芪药材经 1 000 mL 95% 乙醇溶液回流提取 3 次,每次 1 h,将所得提取液混合,经浓缩和冷冻干燥得到干浸膏,备用。前列腺指数(PI),前列腺特异性抗原(PSA),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白介素-1 β (IL-1 β),环氧酶-2(COX-2),前列腺素 E₂(PGE₂),转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)和结缔组织生长因子(CTGF) ELISA 试剂盒(批号 2014053689)均购自深圳欣博盛生物科技有限公司。

1.3 仪器 TU1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析仪器有限公司),FA135S 型电子天平(上海精密仪器仪表公司)。

2 方法

2.1 动物分组及慢性非细菌性前列腺炎模型的制备 60 只大鼠随机分为 6 组,正常组、模型组、阳性药舍尼通组和黄芪提取物高、中和低剂量组,每组 10 只,阳性药组给予舍尼通 ig,剂量为 100 mg·kg⁻¹,黄芪提取物组剂量分别为 100,200,400 mg·kg⁻¹ 黄芪提取物,正常组和模型组给予蒸馏水。每天给药 1 次,连续 3 周。参考文献[3]方法,将大鼠腹腔打开,分离出前列腺,用注射器注射 0.1 mL 的 1% 角叉菜胶溶液至前列腺内部,再缝合大鼠腹腔。15 d 后,慢性非细菌性前列腺炎模型制备完毕。通过病理形态

观察,前列腺组织出现水肿,腺腔扩张,且可见大量炎症细胞和分泌物,证实模型制备成功。

2.2 大鼠 PI 和 PSA 的测定 末次给药后,剥离出大鼠前列腺,进行称重,计算 PI 值。前列腺指数 = 前列腺质量/体重。同时,大鼠摘除眼球取血,3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取血清。用 ELISA 试剂盒按酶联免疫吸附法测定血清中 PSA 的含量。

2.3 前列腺组织 TNF- α , IL-1 β , PGE₂, COX-2, TGF- β_1 和 CTGF 水平的测定 末次给药后,剥离出大鼠前列腺,将前列腺组织制备成匀浆,用 ELISA 试剂盒按酶联免疫吸附法测定前列腺组织中 TNF- α , IL-1 β , PGE₂, COX-2, TGF- β_1 和 CTGF 的水平。

2.4 前列腺组织病理形态的观察 各组大鼠切取前列腺组织,常规制片,经固定、包埋和 HE 染色后,在显微镜下观察各组大鼠前列腺组织形态学的变化,包括慢性炎症细胞浸润、腺泡改变和间质纤维化程度等。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对慢性非细菌性前列腺炎大鼠 PI 和 PSA 的影响 与正常组比较,模型组大鼠 PI 和 PSA 水平均显著升高($P < 0.01$)。给药 3 周后,黄芪提取物中剂量组大鼠前列腺 PI 和 PSA 的水平均显著降低($P < 0.05$),高剂量的黄芪提取物也显著降低了模型大鼠前列腺 PI 和 PSA 的水平($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 黄芪提取物对大鼠前列腺组织 PI 和 PSA 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of Astragalus Radix extract on PI, PSA of prostate tissue in rat ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	PI/mg·g ⁻¹	PSA/ng·L ⁻¹
正常	-	0.7 ± 0.3	119.7 ± 11.3
模型	-	2.3 ± 0.2 ²⁾	321.2 ± 21.2 ²⁾
舍尼通	100	1.4 ± 0.4	187.9 ± 15.8 ⁴⁾
黄芪提取物	100	1.7 ± 0.4	269.5 ± 31.4
	200	1.4 ± 0.2 ³⁾	176.6 ± 22.9 ³⁾
	400	0.9 ± 0.2 ⁴⁾	149.4 ± 13.8 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对大鼠前列腺组织 TNF- α 和 IL-1 β 的影响 与正常组比较,模型组大鼠前列腺组织中 TNF- α 和 IL-1 β 水平均显著升高($P < 0.01$)。高、中剂量组黄芪提取物均能显著降低前列腺组织 TNF- α 和 IL-1 β

的水平 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 黄芪提取物对大鼠前列腺组织 TNF- α 和 IL-1 β 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of Astragalic Radix extract on TNF- α , IL-1 β of prostate tissue in rat ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹
正常	-	104.3 ± 8.8	74.2 ± 6.6
模型	-	157.2 ± 13.7 ²⁾	172.5 ± 11.7 ²⁾
舍尼通	100	119.8 ± 7.9 ⁴⁾	115.6 ± 12.1 ⁴⁾
黄芪提取物	100	146.8 ± 15.7	153.4 ± 14.6
	200	135.6 ± 10.4 ³⁾	115.4 ± 11.1 ⁴⁾
	400	117.1 ± 9.5 ⁴⁾	98.4 ± 10.7 ⁴⁾

3.3 对大鼠前列腺组织 PGE₂, COX-2, TGF- β ₁ 和 CTGF 的影响 与正常组比较,模型组大鼠前列腺组织中 PGE₂, COX-2, TGF- β ₁ 和 CTGF 水平均显著升高 ($P < 0.01$)。高、中剂量组黄芪提取物均能显著降低前列腺组织 PGE₂, COX-2, TGF- β ₁ 和 CTGF 水

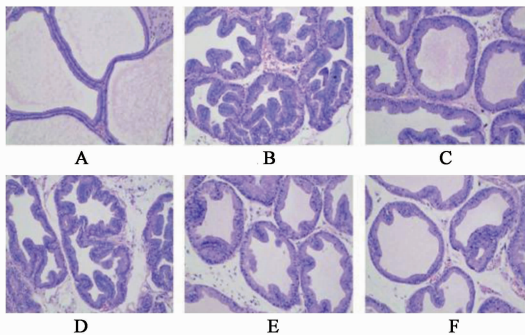
表 3 黄芪提取物对大鼠前列腺组织 PGE₂, COX-2, TGF- β ₁ 和 CTGF 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effects of Astragalic Radix extract on PGE₂, COX-2, TGF- β ₁, CTGF of prostate tissue in rat ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹	COX-2/ng·L ⁻¹	TGF- β ₁ /ng·L ⁻¹	CTGF/ng·L ⁻¹
正常	-	66.9 ± 3.4	11.9 ± 1.3	71.8 ± 3.9	57.1 ± 3.2
模型	-	129.1 ± 7.1 ²⁾	32.4 ± 4.6 ²⁾	152.4 ± 11.9 ²⁾	118.4 ± 5.5 ²⁾
舍尼通	100	88.1 ± 5.7 ⁴⁾	15.8 ± 2.6 ³⁾	107.6 ± 8.3 ³⁾	88.3 ± 5.8 ⁴⁾
黄芪提取物	100	106.4 ± 4.6 ³⁾	25.3 ± 4.2	126.7 ± 9.3 ³⁾	117.1 ± 6.8
	200	93.1 ± 6.3 ⁴⁾	15.7 ± 3.1 ⁴⁾	111.3 ± 7.2 ⁴⁾	93.2 ± 8.2 ⁴⁾
	400	78.8 ± 4.7 ⁴⁾	13.6 ± 2.4 ⁴⁾	87.4 ± 7.8 ⁴⁾	72.5 ± 5.1 ⁴⁾

平 ($P < 0.01$)。见表 3。

3.4 对大鼠前列腺组织病理形态的影响 正常组大鼠前列腺腺泡呈单层立方或柱状排列,无炎症细胞浸润。非细菌性前列腺炎模型组大鼠前列腺组织表现为血管扩张,腺上皮增生,可见立方、柱状、高柱状、假复层等表现,间质不同程度的水肿,腺腔扩张,腔内有分泌物,间质疏松,有慢性炎症细胞浸润,以及发现大量成纤维细胞和过量的胶原蛋白沉积。阳性药舍尼通组大鼠前列腺上皮细胞增生改善,细胞内分泌物减少,排列整齐,仍可见大量成纤维细胞。而给予黄芪提取物治疗后,黄芪提取物中剂量和高剂量组大鼠前列腺腺上皮细胞排列整齐,间质水肿明显减轻,胞腔减小,慢性炎症细胞和分泌物大大减少,成纤维细胞和胶原蛋白沉积大大减少。黄芪提取物低剂量组大鼠仍可见间质不同程度的水肿,腺腔扩张,腔内有分泌物和慢性炎症细胞的浸润,以及成纤维细胞和胶原蛋白沉积。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 舍尼通 100 mg·kg⁻¹ 组; D. 黄芪提取物 100 mg·kg⁻¹ 组; E. 黄芪提取物 200 mg·kg⁻¹ 组; F. 黄芪提取物 400 mg·kg⁻¹ 组

图 1 黄芪提取物对大鼠前列腺组织病理形态的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effects of Astragalic Radix extract on pathomorphism of prostate tissue in rat (HE, ×200)

4 讨论

关于慢性非细菌性前列腺炎的诱因现在有多种

学说,国内外也有多种建立前列腺炎模型的方法,目前国内建模的方法有大鼠前列腺内注射角又菜胶致炎^[4],大鼠前列腺内注射消痔灵注射液致炎^[5],用纯化的大鼠前列腺组织蛋白加福氏佐剂诱导大鼠的非细菌性前列腺炎模型^[6],还有用 17- β -雌二醇诱导大鼠慢性非细菌性前列腺炎^[7]等。本实验也采用大鼠前列腺直接注射角又菜胶溶液制备慢性非细菌性前列腺炎的方法,15 d 后,前列腺指数和前列腺特异抗原含量均显著升高,说明前列腺已经肿胀发炎;病理形态学显示,前列腺组织出现水肿,腺腔扩张,且可见大量炎症细胞和分泌物,证实慢性非细菌性前列腺炎动物模型制备成功。

目前认为,慢性非细菌性前列腺炎的发生发展与细胞因子的复杂网络有关,如 IL-1 β 和 TNF- α ^[8,9]。这些细胞因子也上调 COX-2 和 iNOS 的表达,进而导致 PGE₂ 的合成^[10]。IL-1 β 是一种能导致其他炎

症介质产生的促炎症因子, TNF- α 是机体收到损伤时,巨噬细胞产生的一种促炎症因子^[11]。控制炎症因子的水平已经被证实慢性前列腺炎的发生中起到非常重要的作用^[12]。在本实验中,模型组大鼠前列腺组织中 TNF- α 和 IL-1 β 显著升高,而给予黄芪提取物治疗后均显著降低,说明黄芪提取物治疗慢性前列腺炎的作用与其抗炎作用有关。据报道, TGF- β_1 能导致人体前列腺成纤维细胞的分化^[13],而且 TGF- β_1 的促纤维化可能是由 CTGF 介导的^[14]。作为另一种可能的促纤维因子, CTGF 在成纤维细胞增殖、细胞接合、血管再生术和细胞外基质的合成方面起到重要作用。研究显示, CTGF 促进了炎症反应的发生,慢性炎症反应能导致受伤部位病理损伤和永久性的纤维化瘢痕组织堆积,而且纤维化可导致器官功能的退化、衰竭甚至死亡^[15]。TGF- β_1 /CTGF 信号通路可能参与了慢性非细菌性前列腺炎的发生过程。实验结果显示,与模型组比较,黄芪提取物能显著抑制前列腺组织 TGF- β_1 和 CTGF 的表达,说明黄芪提取物治疗慢性前列腺炎与其抗纤维化活性有关。

黄芪作为常用的“扶正固本,补益中气”的药物,主要的药理成分是多糖、皂苷、黄酮、氨基酸及微量元素,可作用于多种免疫活性细胞,有促进细胞因子的分泌,促进机体非特异性免疫、细胞免疫及体液免疫的功能,黄芪能促进抗体形成,促进诱生或自身诱生干扰素或具有干扰素样作用,增强 NK 细胞活性,对免疫抑制剂造成的免疫低下有明显的保护作用,是具有双向作用的免疫调节剂^[16]。本实验研究发现,黄芪提取物显著降低了慢性非细菌性前列腺模型大鼠 PI 和 PSA,以及前列腺组织中炎症因子 TNF- α , IL-1 β , COX-2, PEG₂, TGF- β_1 和 CTGF 的水平,同时显著减轻了慢性炎症细胞浸润和间质纤维化的程度。说明黄芪提取物具有显著抑制炎症反应的作用,其可能是通过调节机体免疫力来抑制前列腺炎症反应发生的。下一步将针对黄芪治疗慢性前列腺炎的活性成分,以及发挥作用的分子机制展开深入研究。

[参考文献]

[1] Motrich R D, Maccioni M, Molina R, et al. Presence of INFgamma-secreting lymphocytes specific to prostate antigens in a group of chronic prostatitis patients[J]. Clin Immunol, 2005, 116(2): 149-157.

[2] 陈国辉, 黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(17): 1482-1485.

[3] Chen R Z, Cui L, Guo Y J, et al. *In vivo* study of four preparative extracts of Clematis terniflora D C. for antinociceptive activity and anti-inflammatory activity in rat model of carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 134(3): 1018-1023.

[4] 孙继红, 胡梅, 巫凤娟. 花川保列颗粒对大鼠非细菌性前列腺炎模型的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 135-138.

[5] 叶勇, 郭亚, 徐杏昌. 复方中药组方抗前列腺炎的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2195-2196.

[6] 王先进, 钟山, 张存明. 大鼠慢性非细菌性前列腺炎模型的建立及病理组织学特征[J]. 中华泌尿外科杂志, 2012, 33(4): 282-287.

[7] 任钧国, 王建业, 李军梅. 前列舒通胶囊对雌二醇诱导的慢性非细菌性前列腺炎大鼠 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 现代泌尿外科杂志, 2013, 18(3): 233-236.

[8] Lu B Y, Cai H F, Huang W S, et al. Protective effect of bamboo shoot oil on experimental nonbacterial prostatitis in rats [J]. Food Chem, 2011, 124(3): 1017-1023.

[9] Tsunemori H, Sugimoto M, Xia Z, et al. Effect of the phytotherapeutic agent Eviprostat on inflammatory changes and cytokine production in a rat model of nonbacterial prostatitis [J]. Urology, 2011, 77(7): e15-e20.

[10] Au R Y, Al-Talib, T K Au, et al. Avocado soybean unsaponifiables (ASU) suppress TNF-alpha, IL-1beta, COX-2, iNOS gene expression, and prostaglandin E2 and nitric oxide production in articular chondrocytes and monocyte/macrophages [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(11): 1249-1255.

[11] Tahir M, Rehman M U, Lateef A, et al. Diosmin protects against ethanol-induced hepatic injury via alleviation of inflammation and regulation of TNF-alpha and NF-kappaB activation [J]. Alcohol, 2013, 47(2): 131-139.

[12] Lu B Y, Cai H F, Huang W S, et al. Protective effect of bamboo shoot oil on experimental nonbacterial prostatitis in rats [J]. Food Chem, 2011, 124(3): 1017-1023.

[13] Liu R M, Gaston Pravia, KAG. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-Mediated brogenesis [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 48(1): 1-15.

[14] Leask A, Abraham D J. TGF-beta signaling and the fibrotic response [J]. FASEB J, 2004, 18(7): 816-827.

[15] Borthwick L A, Wynn T A, Fisher A J. Cytokine mediated tissue fibrosis [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(7): 1049-1060.

[16] 魏伟, 李晓辉, 张洪泉, 等. 抗炎免疫药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 150.