

前列爽颗粒对慢性前列腺炎模型大鼠血清中 IL-10, TNF- α 含量的影响

范玉东¹, 胡梦颖², 张兰兰², 哈木拉提², 刘晓燕², 徐磊², 庞市宾², 靳洪涛², 孙玉华^{2*}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] **目的:** 观察前列爽颗粒对慢性前列腺炎(CAP)模型大鼠血清, 白细胞介素-10(IL-10)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达的影响, 并初步探讨其作用机制。**方法:** 将60只SD大鼠随机分为正常对照组、CAP模型组、前列回春胶囊组(0.18 g·kg⁻¹)、前列爽低剂量组(0.79 g·kg⁻¹)、前列爽中剂量组(1.58 g·kg⁻¹)、前列爽高剂量组(3.15 g·kg⁻¹), 每组10只。观察大鼠前列腺病理形态学改变, ELISA法检测IL-10, TNF- α 。**结果:** CAP模型大鼠的组织病理学改变符合CAP的特点, 治疗组炎症明显消退。模型组血清中IL-10, TNF- α 水平明显高于正常组($P < 0.05$), 前列回春胶囊组、前列爽颗粒中、高剂量组血清TNF- α 水平明显低于模型组($P < 0.05$), 前列回春胶囊组、前列爽颗粒中、高剂量组, 血清中IL-10水平明显升高。**结论:** 前列爽颗粒可通过调节抗炎/促炎因子分泌而发挥治疗CAP的作用。

[关键词] 前列腺炎; 前列爽颗粒; 免疫组化; IL-10; TNF- α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0267-04

Effects of Qian Lie Shuang Granule on the Expression of IL-10, TNF- α in the Rat Model for Chronic Abacterial Prostatitis

FAN Yu-dong¹, HU Meng-ying², ZHANG Lan-lan², HA Mu-la-ti²,
LIU Xiao-yan², XU Lei², PANG Shi-bing², JIN Hong-tao², SUN Yu-hua^{2*}

(1. School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumchi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** Investigate the influence of Qianlie Shuang granule on interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum of chronic abacterial prostatitis (CAP) rats. **Method:** Sixty aged sprague dawley (SD) rats were randomly divided into six groups: control group, model group, Qianlie Huichun granule group, Qianlie Shuang low dose group, Qianlie Shuang medium dose group and Qianlie Shuang high dose group. The changes of prostate gland inflammation was investigated. The expression of IL-10 and TNF- α in rat prostatic tissue was detected by immunohistochemistry. **Result:** The inflammation of model group were similar to those in clinical CAP, the inflammation of treatment groups were obviously degraded. The IL-10 and TNF- α in model group were obviously higher than in control group ($P < 0.05$). The TNF- α in Qianlie Huichun granule group, Qianlie Shuang medium dose group and high dose group were obviously lower than in model group. The IL-10 in those groups were obviously higher than in model group. **Conclusions:** Qianlie Shuang granule can regulate the secretion of inflammatory cytokines, which can be one of the mechanisms in the therapy of CAP.

[Key words] prostatitis; Qianlie Shuang granule; immunohistochemistry; interleukin-10; tumor necrosis factor- α

[收稿日期] 20120306(019)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技攻关项目(200933129)

[第一作者] 范玉东, 石河子大学药学院, 硕士, Tel:0991-2320296, E-mail:287300817@qq.com

[通讯作者] * 孙玉华, 硕士, 新疆药物研究所研究员, 硕士生导师, Tel:0991-2812070, E-mail:sunyuh1117@yahoo.com.cn

慢性非细菌性前列腺炎(CAP)是泌尿外科最常见的疾病之一^[1],对患者健康和生活质量有明显的影响。目前对其病因、发病机制的研究显示免疫异常可能是重要因素之一。前列爽颗粒是由黄柏、王不留行、熟地黄、茯苓、苘麻子、甘草等药组成,具有清热利湿、活血祛瘀、补肾益精的功能,可调节和增强免疫功能,并具有抗炎和止痛的作用^[2-5],主要用于治疗慢性前列腺炎。本研究旨在观察前列爽颗粒对 CAP 模型大鼠 IL-10 和 TNF- α 表达的影响,进一步探讨前列爽颗粒对 CAP 的治疗作用及其机制。

1 材料

1.1 动物 取 SD 雄性大鼠 60 只,SD 大鼠,250 ~ 300 g,由新疆实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(新)X2003-0002。大鼠进购后常规饲养观察 1 周,无异常后进行实验。

1.2 试剂 前列爽颗粒由新疆药物研究所药剂室提供,批号 20110617;关黄柏,批号 11030301;茯苓,批号 11030402;熟地黄,批号 11030602;甘草,批号 11030201;王不留行,批号 11022701,新疆本草堂中药饮片有限公司;前列回春胶囊,吉林省东丰药业股份有限公司,批号 20090246;消痔灵注射液,吉林省集安益盛药业股份有限公司,批号 11030301;IL-10 ELISA 试剂盒,武汉博士德生物工程有限公司,批号 1387113;TNF- α 深圳市达科为生物技术有限公司,批号 E3720-1111-1,大鼠脏器组织白细胞分离液,天津市灏洋生物制品科技有限公司,批号 WBC1083P。

1.3 仪器 3k30 高速低温离心机(美国 Sigma 公司);BS200S 电子天平(Sartorius 公司);BM-15A 显微镜(上海光学仪器厂)。

2 方法

2.1 造模与分组 参照文献[2-3]报道,大鼠适应性喂养 1 周后,按体重随机选取 10 只用作正常对照组,其余 50 只用于造模。每只大鼠经 1% 戊巴比妥钠 30 mg·kg⁻¹ 腹腔注射麻醉后,无菌条件下打开腹腔,于前列腺叶内注入 25 % 消痔灵生理盐水 0.2 mL,术后恢复 1 周后,将造模大鼠按上述方法随机分为 5 组,每组 10 只,即模型组、前列回春胶囊 0.18 g·kg⁻¹ 组、前列爽颗粒 0.79,1.58,3.15 g·kg⁻¹ 组,分别灌胃给药给药体积为 0.002 mL·g⁻¹ 或等体积蒸馏水(正常组和模型组),1 次/d,共 30 d。

2.2 检测指标及方法 给药 30 d 后,颈动脉采血(储存于 -80 ℃)。处死动物,剥离前列腺组织,固定、脱水包埋,HE 染色,光镜下观察各组动物前列腺组织形态学变化。前列腺内白细胞数及卵磷脂小

体密度测定,按每 1 mg 前列腺组织加生理盐水 4 μ L,剪碎,充分混匀。取试管 1 支,加大鼠脏器组织白细胞分离液 0.38 mL,用移液器准确吸取上述制备好的标本 20 μ L,于试管稀释液底部轻轻放出,吹打 3 次混匀,充池,用低倍镜计数四角 4 个大方格内的白细胞总数。白细胞数/L = 4 个大方格内的白细胞数/4 \times 20 \times 10⁷;卵磷脂小体密度按临床检验标准分为 4 级^[12-13],即满视野为卅,3/4 视野为卅,1/2 视野为卅,1/4 视野为 +。血清中 IL-10, TNF- α 含量的测定,按照 ELISA 试剂盒说明书的方法分别检测 IL-10, TNF- α 含量。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件进行数据统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 组织形态学变化 光镜检查可见,正常组前列腺组织结构正常,腺体排列及分布正常,间质内未见明显炎细胞浸润;模型组前列腺体遭到破坏,部分腺腔内有分泌物。管腔内上皮组织坏死、剥落和消失,间质及腺体充满大量弥散的淋巴细胞、单核细胞,间质组织明显变宽;前列爽颗粒各剂量组,前列腺腺体组织正常,淋巴细胞减少。见图 1。

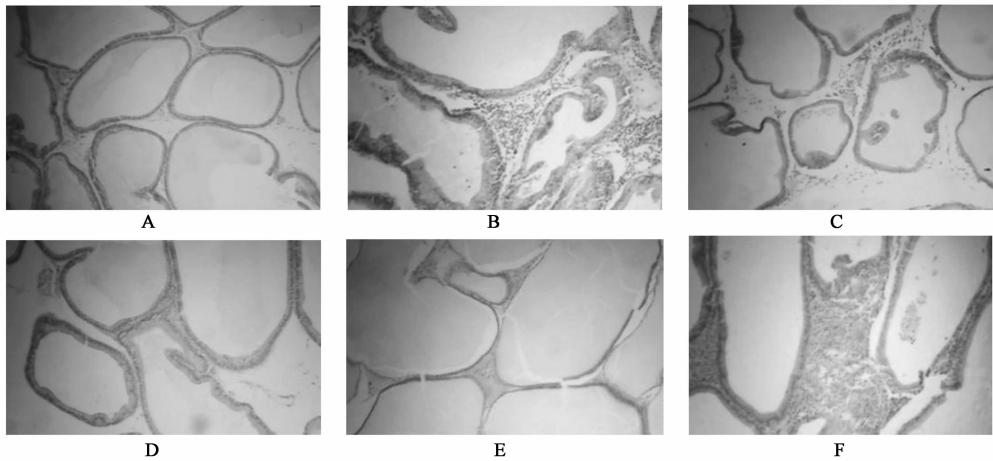
3.2 对大鼠前列腺内白细胞数及卵磷脂小体密度的影响 与正常组相比,模型组前列腺内白细胞数明显增多($P < 0.01$)、卵磷脂小体密度降低($P < 0.05$);前列爽颗粒 1.58,3.15 g·kg⁻¹ 剂量组可明显降低模型大鼠内白细胞数($P < 0.01$),提高卵磷脂小体密度($P < 0.05$),见表 1,2。

表 1 前列爽颗粒对大鼠前列腺内白细胞数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	白细胞数 $\times 10^9$ /L
对照	-	2.40 \pm 0.30
模型	-	6.39 \pm 0.15 ¹⁾
前列爽颗粒	0.79	4.30 \pm 0.48 ²⁾
	1.58	3.35 \pm 0.24 ²⁾
	3.15	2.58 \pm 0.32 ²⁾
前列回春	0.18	2.66 \pm 0.15 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与对照组比较³⁾ $P < 0.01$,表 2-3 同。

3.3 对大鼠血清中 IL-10, TNF- α 含量的影响 模型组大鼠血清中 IL-10, TNF- α 含量显著高于正常对照组($P < 0.01$),用药后,前列回春胶囊组、前列爽颗粒中、高剂量组可显著升高 IL-10 含量,而前列爽



A. 对照组; B. 模型组; C. 前列爽颗粒 3.15 g·kg⁻¹组; D. 前列爽颗粒 1.58 g·kg⁻¹组;
E. 前列爽颗粒 0.79 g·kg⁻¹组; F. 前列回春胶囊 0.18 g·kg⁻¹组

图1 前列爽颗粒对大鼠前列腺组织形态的影响(HE染色,×100)

表2 前列爽颗粒对卵磷脂小体的密度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	卵磷脂小体密度			
		+	++	+++	++++
对照	-	0	0	5	5
模型	-	6	4	0	0 ³⁾
前列爽颗粒	0.79	3	6	1	0
	1.58	2	4	4	0 ¹⁾
	3.15	0	3	5	2 ²⁾
前列回春	0.18	0	3	6	1 ²⁾

颗粒低剂量组与模型组无统计学差异。前列回春组,和前列爽颗粒各剂量组可降低 TNF- α 含量。结果见表3。

表3 前列爽颗粒对大鼠血清中 IL-10, TNF- α 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	pg·mL ⁻¹	
		IL-10	TNF- α
对照	-	56.10 ± 15.36	80.54 ± 21.34
模型	-	85.13 ± 21.58 ³⁾	198.75 ± 78.56 ³⁾
前列爽颗粒	0.79	75.64 ± 18.66	178.42 ± 50.58
	1.58	93.83 ± 24.38 ¹⁾	139.88 ± 48.39 ¹⁾
	3.15	105.43 ± 27.44 ²⁾	110.39 ± 43.56 ²⁾
前列回春	0.18	110.35 ± 27.64	128.49 ± 31.38 ²⁾

4 讨论

随着生物学、免疫学的发展,免疫因素在 CAP 发病中的作用越来越受到重视。据报道前列腺液或精浆中存在 IL-10 和 TNF- α ^[5-7] 的变化。本实验表明,CAP 模型大鼠血清中 IL-10,TNF- α 含量明显变化,而前列回春胶囊和前列爽颗粒可降低促炎性细

胞因子 TNF- α 的含量,升高抑制炎症因子,从而减轻炎细胞浸润,抑制成纤维细胞的增殖性炎症修复。

前列爽颗粒方中黄柏主要含小檗碱、黄柏碱等多种生物碱。小檗碱体外对金黄色葡萄球菌,痢疾杆菌等均有抑制作用;具有 α -肾上腺素受体阻滞剂作用,可缓解平滑肌痉挛,减轻尿道阻力,从而缓解前列腺炎症状^[8];同时黄柏煎剂还可抑制 TNF- α 的产生和分泌,从而抑制免疫反应,减轻炎症损伤^[9]。王不留行活血通络,行水消肿之功,熟地黄补肾益精,滋肾水,助下元,共为臣药;茯苓健脾利水渗湿,苎麻子利尿,助黄柏利水,茯苓又可健脾护中,固护脾胃,苎麻子消肿、通经,助王不留行活血通络,共为佐药。共成清热利湿、活血祛瘀、补益肾精之剂。综上所述,现代药理研究表明前列爽颗粒的组成药物具有抗炎、改善微循环和调节机体免疫功能等作用。

慢性前列腺炎病因和发病机制非常复杂,细胞因子的异常表达参与了本病的发生、发展,增加抑制炎症因子 IL-10,减少促炎症细胞因子 TNF- α 产生可能是其治疗慢性前列腺炎的作用机制之一。

[参考文献]

[1] Robertson C, Bolye P, Nonis A, et al. International population-based study of urological condition: the Urepic study. II. Comparative prostatitis data [J]. J Urol, 1999, 161(4):32A.

[2] 侯小涛,戴航,周江煜. 黄柏的药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2):498.

[3] 张秀军,徐俭,林志彬. 羧甲基茯苓多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(12):913.

微调三号(WD-3)方对 BALB/c 小鼠大肠癌肝转移的影响

王旺胜*, 尤建良, 蒲琼华
(无锡市中医院, 江苏 无锡 214001)

[摘要] 目的:观察中药微调三号(WD-3)抗大肠癌肝转移的作用,并探讨其可能的作用机制。方法:将 96 只 BALB/c 小鼠分为两大组,两组均建立大肠癌肝转移模型并随机分为 6 组:模型组,西药组,中药低、中、高剂量组,中西药组。分组治疗 4 周,分别从小鼠生存时间、移植瘤和转移瘤的大体形态学、组织病理学及血清癌胚抗原(CEA)水平来观察 WD-3 的疗效。结果:西药组及中西药组与其他各组比较,小鼠生存时间延长,肝脏转移癌结节减少、癌重减轻($P < 0.05$),其中中西药组低于西药组($P < 0.05$)。西药组及中西药组与其他各组比较,CEA 含量明显降低($P < 0.05$)。结论:WD-3 联合化疗可以抑制模型动物肝脏转移瘤的生长。

[关键词] 微调三号方; 大肠癌; 肝转移

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0270-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1109.009.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 11:09

大肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,而肝转移是影响大肠癌患者预后的最大问题之一^[1]。由于肿瘤生物学特性和大肠门静脉血回流的解剖学特点,大肠癌患者易发生肝转移,在确诊时已有

20%~40% 发生肝转移,在原发病灶治疗后,异时性肝转移发生率达 50%,在尸检中大肠癌患者肝转移发生率高达 60%~70%^[2]。微调三号(WD-3)方为“微调平衡”理论之代表方,本研究观察了微调三号方对大肠癌肝转移的作用,实验重复 3 次。

1 材料

阳性对照药使用奥沙利铂(L-OHP,江苏恒瑞制药有限公司提供,50 mg/瓶),5-氟尿嘧啶(5-Fu,上海旭东海普医药公司提供,250 mg/瓶),亚叶酸钙(LV,青岛国大生物制药股份有限公司提供,100

[收稿日期] 20120413(013)

[基金项目] 无锡市科技局及卫生局指令性课题(CSZ00854)

[通讯作者] *王旺胜,硕士,主治医师,从事大肠癌的中西医结合治疗研究, Tel: 13914262333, E-mail: huanghe7525@163.com

[4] 于辉,李春香,宫凌涛,等.甘草的药理作用概述[J].现代生物医学进展,2006,6(4):77.

[5] 黄霞,刘慧霞,邵静.熟地多糖对小鼠免疫功能的影响[J].辽宁中医杂志,2004,31(9):792.

[6] 张亚强,刘猷枋.中药前列腺汤对实验性前列腺炎病理模型的影响[J].中国中西医结合杂志,1991,11(8):480.

[7] 徐淑云.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:1557.

[8] Stancik I, Plas E, Juza J, et al. Effect of antibiotic therapy on interleukin-6 in fresh semen and postmasturbation urine samples of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. Urology, 2008,72(2):336.

[8] Penna G, Mondaini N, Amuchastegui S, et al. Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation; interleukin 8 as a predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and

benign prostatic hyperplasia[J]. Eur Urol, 2007, 51(2):524.

[9] 侯四川,冯元法,王春玲.慢性前列腺炎病人前列腺中 IL-2、IL-1 β 、IL-8、TNF- α 和 PEG₂ 的变化及意义[J].青岛大学医学院学报,2007,43(6):497.

[10] 贾金铭.前列腺炎综合症中西医结合治疗现状、对策及展望[J].中国中西医结合杂志,2002,22(3):217.

[11] 吕燕宁,邱全璞.黄柏对小鼠 DTH 及其机体内几种细胞因子的影响[J].北京中医药大学学报,1999,22(6):48.

[12] 李兰群,周强,陈国宏,等.慢性前列腺炎症状严重度与前列腺液卵磷脂小体数量相关分析[J].中华中医药杂志,2007,22(12):901

[13] 赵连华,王相泽,赵广明,等.卵磷脂小体在前列腺炎诊断中的意义[J].中华男科学杂志,2005,11(8):617.

[责任编辑 李玉洁]