

## 乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型的影响

刘绍夔, 佐艇, 白明, 苗明三\*  
(河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** 目的:探讨乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型的影响。方法:采用昆明种小鼠去势,连续 3 周 sc 丙酸睾酮  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,造前列腺增生模型。将模型小鼠分为 5 组,分别 ig  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的乌鸡白凤丸混悬液,  $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  癸闭舒胶囊混悬液和同体积的生理盐水,另设一组空白组给同体积生理盐水;每天给药 1 次,连续给药 30 d。末次给药 2 h 后处死小鼠,观察乌鸡白凤丸对前列腺增生模型小鼠血清睾酮、雌二醇水平,前列腺指数及前列腺、胸腺组织形态的影响。结果:与前列腺增生模型组比,乌鸡白凤丸  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量可显著降低前列腺增生模型小鼠血清睾酮水平、显著升高血清雌二醇水平,血清睾酮水平及雌二醇水平分别为  $(2\ 713.2 \pm 1\ 282.8)$ ,  $(3\ 767.2 \pm 1\ 044.9)$ ,  $(4\ 350.2 \pm 1\ 632.9) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  及  $(131.9 \pm 36.0)$ ,  $(78.4 \pm 34.9)$ ,  $(80.2 \pm 26.2) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。乌鸡白凤丸  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量可显著降低模型小鼠前列腺指数,使前列腺增生显著减轻,前列腺腺体密度分别为  $(5.1 \pm 0.4)$ ,  $(4.2 \pm 0.3)$ ,  $(6.8 \pm 0.4)$ ;乌鸡白凤丸  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量可使胸腺显著增厚,淋巴细胞数显著增多。结论:乌鸡白凤丸对丙酸睾酮所致去势小鼠前列腺增生有好的治疗作用。

**[关键词]** 乌鸡白凤丸;丙酸睾酮;前列腺增生

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0180-04

## Effect of Wuji Baifeng Wan on Mice Model of Benign Prostate Hyperplasia

LIU Shao-yan, ZUO Ting, BAI Ming, MIAO Ming-san\*  
(Henan Univeisity of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effect of Wuji Baifeng Wan on benign prostate hyperplasia (BPH) in mice. **Method:** Experimental prostatic hyperplasia mouse model was produced in the gonadectomy mouse by hypodermic injecting testosterone propionate  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  for 30 d. The model mice were divided into 5 groups, respectively were fed with  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  Wuji Baifeng Wan suspension,  $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  longbishu capsule suspension and the same volume of normal saline solution. The blank control group was fed with the same volume of normal saline solution. Every group was given daily for 30 days. At two hours after the last administration, mice were sacrificed. The serum testosterone and estradiol levels, the prostate index and histomorphology changes of prostate gland, thymus gland that were observed. **Result:** Compared with model group, the Wuji Baifeng Wan at the dosage of  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  could reduce the testosterone and increase the estradiol levels observably. Levels of testosterone and estradiol in different groups were  $(2\ 713.2 \pm 1\ 282.8)$ ,  $(3\ 767.2 \pm 1\ 044.9)$ ,  $(4\ 350.2 \pm 1\ 632.9) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $(131.9 \pm 36.0)$ ,  $(78.4 \pm 34.9)$ ,  $(80.2 \pm 26.2) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Wuji Baifeng Wan at the dosage of  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  could reduce the prostate indexes and alleviate the BPH observably. The volume density of prostate glands in different groups were  $(5.1 \pm 0.4)$ ,  $(4.2 \pm 0.3)$ ,  $(6.8 \pm 0.4)$ . Wuji Baifeng Wan at the dosage of  $9, 4.5, 2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  could incressate thymus gland and increase the number of lymphocyte observably. **Conclusion:** Wuji Baifeng Wan have good therapeutic actions on gonadectomy BPH model caused by testosterone propionate in mice

**[Key words]** Wuji Baifeng Wan; testosterone propionate; benign prostate hyperplasia

**[收稿日期]** 20110823(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173474);郑州市科技领军人才(0910SGYS3527)

**[通讯作者]** \*苗明三,博士,教授,主要从事中药药理教学与研究, E-mail: miaomingsan@163.com

乌鸡白凤丸是中医经典妇科良药,具有补气养血、调经止带的功能。全方由乌鸡、熟地黄、鹿角胶、鳖甲、牡蛎、人参、黄芪、当归、香附、川芎等 20 味中药组成,集温补、滋阴、涩敛、调和为一方,具有补而不滞,温而不燥的特点,为著名理血通经药,为扶正祛邪之剂<sup>[1]</sup>。临床常用于气血两虚、身体瘦弱、腰膝酸软、月经不调、崩漏带下等症的治疗,疗效确切。现代药理研究证明,乌鸡白凤丸具有补血、凝血、抗炎、镇痛、保肝、增强免疫、性激素样作用以及促皮质激素样作用等<sup>[2-3]</sup>。前列腺增生是中老年男性常见病,在 60 岁以上男性中前列腺总体积增大的比例超过 50%,而在 85 岁以上男性中,前列腺总体积增大高达 90%<sup>[4]</sup>,并逐渐趋于低龄化。目前前列腺增生治疗方法颇为庞杂,不外药物和手术两种,手术疗效较为可靠,但术后会产生许多并发症和后遗症,患者依从性不理想;药物治疗前列腺增生时间较长,需长期用药,西药的不良反应较多、疗效不稳、费用高等,常受到很多限制。中医药防治前列腺增生症具有疗效确切、毒副作用小、从整体调节及改善病情等优势。笔者的前期研究表明,常用妇科用药对前列腺增生有明确的疗效,本文观察乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型的影响。

## 1 材料

**1.1 药品试剂** 乌鸡白凤丸,江西半边天药业有限公司,批号 081202;戊巴比妥钠,中国医药集团上海化学试剂公司,批号 F20030816;注射用青霉素钠,华北制药股份有限公司,批号 C0812302;丙酸睾酮注射液,上海通用药业股份有限公司,批号 071001;癸闭舒胶囊,石家庄科迪药业有限公司,批号 080413;小鼠睾酮(T)ELISA 检测试剂盒,北京科美东雅生物技术有限公司,批号 20090424;小鼠雌二醇(E<sub>2</sub>)ELISA 检测试剂盒,北京科美东雅生物技术有限公司,批号 20090424。

**1.2 动物** 小鼠,昆明种,雄性,20~23 g,80 只,由河北省实验动物中心提供,合格证编号 902077。

**1.3 仪器** FA(N)/JA(N)系列电子天平,上海民桥精密仪器有限公司;TGL-16G 高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;电动匀浆机,宁波新芝生物科技股份有限公司;Sn-895B 型智能放免  $\gamma$  测量仪:上海原子核研究所四环仪器一厂。

## 2 方法

**2.1 分组与给药** 取体重 20~23 g 雄性小鼠 80 只,随机取 10 只作为空白对照组,做假手术处理;其余小鼠造前列腺增生模型,小鼠称重后腹腔注射

2% 戊巴比妥钠(30 mg·kg<sup>-1</sup>)麻醉,常规消毒皮肤,于无菌条件下经阴囊摘除双侧睾丸,残端处结扎,缝合皮肤,肌内注射青霉素 20 万 u·kg<sup>-1</sup>;手术后第 3 天,取去势成功、状态良好的小鼠 50 只,随机分为 5 组用于造前列腺增生模型;造模型 5 组均每日 sc 丙酸睾酮 5 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[5]</sup>(溶于大豆油),连续 3 周,空白组注射等量溶媒;于造模型第 1 天,造模型 5 组分别 ig 乌鸡白凤丸高、中、低剂量混悬液(9,4.5,2.25 g·kg<sup>-1</sup>),癸闭舒胶囊混悬液(0.45 g·kg<sup>-1</sup>)及同体积的生理盐水,给药体积均为 20 mL·kg<sup>-1</sup>;空白对照组灌服同体积的生理盐水;每日给药 1 次,连续给药 3 周。于末次给药后 2 h(禁食不禁水 12 h),小鼠称重后眼眶取血,离心,分离血清,测血清中 T、E<sub>2</sub> 水平;然后脱颈椎处死小鼠,迅速取前列腺和胸腺组织,称前列腺湿质量,计算前列腺指数(前列腺指数=前列腺湿质量 mg/小鼠体重 g);将前列腺和胸腺于 10% 甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察各组前列腺和胸腺组织的形态,胸腺皮质厚度及淋巴细胞数的变化,对各组小鼠前列腺腺体进行立体计量学测定,测定腺体的体密度(V<sub>v</sub>)。

## 2.2 指标测定方法

**2.2.1 血清中 T 的测定** 用小鼠 T ELISA 检测试剂盒测定血清中 T 的含量:试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA),往预先包被 T 抗体的包被微孔中,依次加入标本、对照品、HRP 标记的检测抗体,经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色,TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 T 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(A),计算样品浓度,即得到小鼠血清中 T 的含量。

**2.2.2 血清中 E<sub>2</sub> 的测定** 用小鼠 E<sub>2</sub> ELISA 检测试剂盒测定血清中雌二醇的含量:试剂盒采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA),往预先包被 E<sub>2</sub> 抗体的包被微孔中,依次加入标本、对照品、HRP 标记的检测抗体,经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色,TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的 E<sub>2</sub> 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定 A,计算样品浓度,即得到小鼠血清中 E<sub>2</sub> 的含量。

**2.2.3 前列腺腺体的体密度测定** 采用通用立体计量学测定方法,应用测试格点分析法,计算腺体上

的交叉点数与参照系中的交叉点数的百分比,为该组织中腺体的体密度。

**2.2.4 胸腺皮质厚度的测量** 采用测微尺测量,测微尺测得胸腺皮质最宽处和最窄处厚度,二者相加求算术均数,即为所测胸腺皮质厚度;胸腺淋巴细胞的计数:采用测微尺的基线,计算压在基线上的淋巴细胞的个数求均数。

**2.3 统计学分析** 实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 对小鼠前列腺增生模型血清 T、E<sub>2</sub> 水平的影响

与空白对照组比,模型组小鼠血清中 T 水平显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比,乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量可显著降低模型小鼠血清中 T 水平( $P < 0.01$ )、显著升高血清中 E<sub>2</sub> 水平( $P < 0.01$ );癉闭舒组可明显降低模型小鼠血清中 T 水平( $P < 0.05$ ),以乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量作用为优。见表 1。

表 1 乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型血清睾酮、雌二醇水平的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) nmol·L<sup>-1</sup>

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	睾酮	雌二醇
空白对照	-	567.2 ± 457.3 <sup>2)</sup>	69.0 ± 21.8
模型	-	4 493.2 ± 1 050.6	64.2 ± 11.1
癉闭舒	0.45	3 233.2 ± 839.4 <sup>1)</sup>	67.5 ± 25.9
乌鸡白凤丸	9	2 713.2 ± 1 282.8 <sup>2)</sup>	131.9 ± 36.0 <sup>2)</sup>
	4.5	3 767.2 ± 1 044.9	78.4 ± 34.9
	2.25	4 350.2 ± 1 632.9	80.2 ± 26.2

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

**3.2 对小鼠前列腺增生模型前列腺重及前列腺指数的影响** 与空白对照组比,模型组小鼠前列腺湿质量及前列腺指数均明显增加( $P < 0.01$ ),说明造前列腺增生模型成功。与模型组比,乌鸡白凤丸 9, 4.5, 2.25 g·kg<sup>-1</sup> 剂量和癉闭舒均可显著降低前列腺增生模型小鼠前列腺湿重及前列腺指数( $P < 0.01$ )。有剂量效应关系,以乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量作用为优。见表 2。

表 2 乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型前列腺质量及前列腺指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	前列腺质量 /mg	前列腺指数 /mg·g <sup>-1</sup>
空白对照	-	66.2 ± 17.4 <sup>2)</sup>	17.0 ± 3.8 <sup>2)</sup>
模型	-	122.6 ± 24.5	36.7 ± 9.7
癉闭舒	0.45	72.7 ± 23.9 <sup>2)</sup>	18.9 ± 5.9 <sup>2)</sup>
乌鸡白凤丸	9	36.9 ± 15.0 <sup>2)</sup>	12.9 ± 5.9 <sup>2)</sup>
	4.5	58.2 ± 15.6 <sup>2)</sup>	16.9 ± 5.2 <sup>2)</sup>
	2.25	77.9 ± 11.2 <sup>2)</sup>	16.4 ± 4.8 <sup>2)</sup>

**3.3 对小鼠前列腺增生模型前列腺、胸腺组织形态的影响**

**3.3.1 对前列腺组织形态的影响** 空白对照组小鼠前列腺的腺上皮、腺腔及间质均正常;模型组小鼠前列腺的腺上皮、间质有大量纤维组织增生,间质有炎细胞浸润;癉闭舒组小鼠前列腺的腺上皮、间质纤维组织消失;乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠前列腺的腺上皮、腺腔、间质基本恢复正常;乌鸡白凤丸 4.5 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠前列腺的腺上皮、腺腔基本恢复正常,间质有较少炎细胞浸润;乌鸡白凤丸 2.25 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠前列腺的腺上皮、腺腔、间质基本恢复正常,间质有炎细胞浸润。对各组小鼠前列腺腺体进行立体计量学测定,测定腺体的体密度(V<sub>v</sub>),与空白对照组比,模型组前列腺腺体体密度显著升高( $P < 0.01$ ),说明造前列腺增生模型成功。与模型组比,乌鸡白凤丸 9, 4.5, 2.25 g·kg<sup>-1</sup> 剂量和癉闭舒均可显著降低前列腺增生模型小鼠前列腺腺体的体密度( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 乌鸡白凤丸对前列腺增生模型小鼠前列腺腺体体密度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	V <sub>v</sub>
空白对照	-	2.7 ± 0.2 <sup>2)</sup>
模型	-	18.6 ± 0.8
癉闭舒	0.45	5.3 ± 0.2 <sup>2)</sup>
乌鸡白凤丸	9	5.1 ± 0.4 <sup>2)</sup>
	4.5	4.2 ± 0.3 <sup>2)</sup>
	2.25	6.8 ± 0.4 <sup>2)</sup>

**3.3.2 对胸腺组织形态的影响** 空白对照组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质和髓质均正常;模型组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质明显萎缩,淋巴细胞稀疏;癉闭舒组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质萎缩,淋巴细胞密集;乌鸡白凤丸 2.25 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质萎缩,淋巴细胞较致密;乌鸡白凤丸 4.5 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质增厚,淋巴细胞密集;乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠胸腺小叶分界清楚,皮质增厚,淋巴细胞密集。与空白对照组比,模型组胸腺皮质厚度显著变薄( $P < 0.01$ )、淋巴细胞数显著减少( $P < 0.01$ );与模型组比,乌鸡白凤丸 2.25, 4.5, 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量和癉闭舒均可显著增加前列腺增生模型小鼠胸腺的厚度( $P < 0.01$ )、增加淋巴细胞数( $P < 0.01$ )。以乌鸡白凤丸 9 g·kg<sup>-1</sup> 剂量作用为优。见表 4。

### 4 讨论

本实验采用小鼠去势后皮下注射丙酸睾酮成功建立前列腺增生模型,小鼠去势后,前列腺迅速萎

表4 乌鸡白凤丸对前列腺增生模型小鼠胸腺皮质厚度和淋巴细胞数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	皮质厚度 /μm	淋巴细胞数/个
空白对照	-	18.26 ± 4.23 <sup>2)</sup>	27.14 ± 3.25 <sup>2)</sup>
模型	-	9.23 ± 3.15	16.12 ± 2.18
癉闭舒	0.45	26.16 ± 3.27 <sup>2)</sup>	30.25 ± 7.10 <sup>2)</sup>
乌鸡白凤丸	9	28.25 ± 4.20 <sup>2)</sup>	48.28 ± 6.24 <sup>2)</sup>
	4.5	24.35 ± 3.23 <sup>2)</sup>	33.23 ± 4.12 <sup>2)</sup>
	2.25	21.14 ± 4.25 <sup>2)</sup>	28.22 ± 5.15 <sup>2)</sup>

缩,再给予外源性雄激素,可造成动物体内性激素水平紊乱,使前列腺发生增生<sup>[6]</sup>。睾酮(T)是人体内主要的雄激素,在5α-还原酶作用下变为双氢睾酮(DHT),前列腺内的DHT浓度增加可导致腺体增生。碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)通过DHT的作用增加释放<sup>[7]</sup>,促前列腺间质增生,刺激前列腺上皮细胞生长的表皮细胞生长因子(EGF)与血浆中雄激素的含量呈正相关<sup>[8]</sup>,导致前列腺的增生,造成前列腺增生模型。雌雄激素比例的变化是前列腺增生的关键诱因,血清中睾酮、雌二醇水平对反应前列腺增生状况有重要意义。前列腺湿重及前列腺指数是反映前列腺增生程度最客观的指标之一,前列腺组织形态是确定是否增生的关键;前列腺增生是慢性病,长期的病理变化可能会累及相关脏器。前列腺增生可能会累及机体免疫功能,胸腺的组织形态学变化及其淋巴细胞的个数可有效反应前列腺增生的状况。

本实验表明,乌鸡白凤丸可显著降低前列腺增生模型小鼠血清睾酮水平、显著升高血清雌二醇水平,显著降低模型小鼠前列腺指数,显著减轻造模所致的前列腺病理变化,使前列腺增生时伴发的胸腺萎缩显著减轻,显著增加胸腺皮质厚度和淋巴细胞数。前列腺腺体密度是前列腺病理变化的定量描述,可反映前列腺的病理改变。乌鸡白凤丸对丙酸睾酮所致的去势小鼠前列腺增生模型有好的治疗作用。

有报道乌鸡白凤丸有一定的雌激素样作用,与己烯雌酚具有相似的作用效果,均可显著升高去势大鼠血清中雌二醇含量<sup>[9]</sup>;并具有一定的雄激素样作用<sup>[10]</sup>;另有报道乌鸡白凤丸,具有促进子宫发育和增重的雌性激素样作用,且具有雄性激素样作用

和蛋白同化作用<sup>[2]</sup>;临床治疗前列腺炎有一定疗效<sup>[11]</sup>。这些作用可能与乌鸡白凤丸治疗前列腺增生有一定联系。乌鸡白凤丸具有补气血、养肝肾之功。依据中医“异病同治”、“证同治同”之理,只要病因病机一致,不同的疾病可以应用同一疗法,对肾虚气虚引起的前列腺增生也可应用乌鸡白凤丸治疗。

本实验通过乌鸡白凤丸治疗前列腺增生的研究,提示乌鸡白凤丸对小鼠前列腺增生模型疗效确切,为乌鸡白凤丸临床治疗前列腺增生提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 吴跃进. 乌鸡白凤丸的药理研究概况[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(8): 100.

[2] 杨立平, 胡爱平. 乌鸡白凤丸的研究与应用概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 62.

[3] 吴春芝, 谷福根, 刘红在. 乌鸡白凤丸的临床应用进展[J]. 中国药业, 2010, 19(22): 88.

[4] 刘智勇, 许传亮, 高旭, 等. 良性前列腺增生患者前列腺体积和移行区体积随年龄变化的调查[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14(12): 1103.

[5] 钱华, 高智慧, 王衍彬, 等. 大萆麻根提取物对前列腺增生小鼠的治疗作用[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(2): 108.

[6] 苗明三, 张玉林, 纪晓宁, 等. 水蔓菁总黄酮对前列腺增生小鼠模型的影响[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 63.

[7] 孙自学, 陈建设, 王德军, 等. 前列安对良性前列腺增生症大鼠模型前列腺组织碱性成纤维生长因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 101.

[8] Rosebud O, Roberts, Debra J, et al. Insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein 3, and urologic measures of benign prostatic hyperplasia[J]. Am J Epidemiol, 2003, 157: 784.

[9] 王鑫国, 郭秋红, 白霞, 等. 乌鸡白凤丸对去卵巢大鼠雌激素分泌的影响[J]. 中成药, 2003, 25(1): 67.

[10] 殷玉婷, 张季林, 徐彭. 乌鸡白凤丸养血机理初探[J]. 中成药, 2007, 29(4): 574.

[11] 张风梧. 乌鸡白凤丸治疗慢性前列腺炎 100 例[J]. 安徽中医学院学报, 2002, 21(3): 23.

[责任编辑 聂淑琴]