

## 淋必通颗粒对慢性非细菌性前列腺炎大鼠的影响

刘瑾, 杨宗统, 袁敏, 梁瑞雪  
(山东省中医药研究院, 山东 济南 250014)

**摘要:** **目的** 研究淋必通颗粒对慢性非细菌性前列腺炎大鼠的影响。**方法** 64只大鼠随机取12只作为假手术组,其余52只采用前列腺背叶注射消痔灵方法建立慢性非细菌性前列腺炎模型,造模成功后随机分为模型组、普乐安片组及淋必通颗粒低、中、高剂量组。1个月后,检测大鼠体质量、前列腺质量,ELISA法检测前列腺组织IL-6、IL-10水平,HE染色观察前列腺组织的病理形态学变化。**结果** 与模型组比较,淋必通颗粒中、高剂量组及普乐安片组大鼠前列腺指数、IL-6水平降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),IL-10水平升高( $P<0.05$ ),大鼠前列腺组织无菌性炎症病变程度明显改善。**结论** 淋必通颗粒能有效改善慢性非细菌性前列腺炎大鼠前列腺损伤,其机制可能与降低IL-6水平、升高IL-10水平有关。

**关键词:** 淋必通颗粒;慢性非细菌性前列腺炎;IL-6;IL-10

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2022)07-2312-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.045

慢性前列腺炎是男科常见病,患者以成年男性为主<sup>[1]</sup>,约50%男性在一生中的某个阶段会受前列腺炎的困扰<sup>[2]</sup>,其中慢性非细菌性前列腺炎约占90%~95%<sup>[3]</sup>,且呈逐年上升趋势<sup>[4-5]</sup>。慢性前列腺炎临床症状复杂多变且缺乏特异性,导致病情缠绵难愈、病程迁延,从而成为男性难治疾病之一。目前西医治疗慢性前列腺炎尚缺乏特异性的治疗药物和方法,多以抗生素<sup>[6-7]</sup>、 $\alpha$ 受体阻滞剂<sup>[8-9]</sup>和非甾体抗炎药<sup>[10-11]</sup>为主,临床疗效并不理想。中医药治疗慢性前列腺炎具有明显的优势,其在改善临床症状、消退局部炎症等方面优于西医治疗。

淋必通颗粒是临床应用多年的经验方,由蒲公英、苦地丁、金钱草、石韦、绵萆薢、王不留行、益母草、皂角刺、牛膝组成,具有清热利湿、散结通淋之功效,临床用于治疗慢性非细菌性前列腺炎效果显著。本课题组前期研究表明,淋必通颗粒对角叉菜胶所致大鼠慢性前列腺炎有较好的治疗作用<sup>[12]</sup>,为了进一步探讨淋必通颗粒对慢性前列腺炎的治疗效果,本实验采用大鼠前列腺内注射消痔灵注射液的方法建立动物模型,观察不同剂量淋必通颗粒对大鼠前列腺组织病理形态学及IL-6、IL-10水平影响,初步探讨其治疗慢性非细菌性前列腺炎的作用机制,以期为其临床应用提供实验依据。

### 1 材料

1.1 试剂与药物 淋必通颗粒(本院中药制剂室自制,批

号20190529);普乐安片(阳性对照,云南白药集团股份有限公司,批号ZAC1910);消痔灵注射液(吉林省集安益盛药业股份有限公司,批号18031806,临用时以生理盐水配制)。戊巴比妥钠(国药集团化学试剂上海有限公司,批号05-01-02);0.9%氯化钠注射液(山东华鲁制药有限公司,规格250 mL,批号SA19112010);甲醛(天津市大茂化学试剂厂,批号20191205)。IL-6、IL-10 ELISA试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司,批号A306H91234、A310H91124)。

1.2 动物 健康雄性Wistar大鼠64只,SPF级,体质量(200±20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-0011。

1.3 仪器 X-30R全能高速冷冻离心机(美国Beckman公司);FA1204B电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司);xMark酶标仪(美国Bio-Rad公司);RM2235病理石蜡切片机(德国Leica公司);Excelsior AS病理全自动组织脱水机、CTM6全自动封片机、Gemini AS全自动染色机、Histostar包埋机、PrintMate 150包埋盒打号机、SlideMate玻片打号机(美国Thermo Fisher公司);生物组织摊烤片机(孝感市亚光医用电子技术有限公司);CX31生物显微镜、DP27显微镜专用数码相机、cellSens v 1.18成像分析系统(日本Olympus公司)。

收稿日期:2021-01-22

基金项目:山东省重大科技创新工程项目(2018CXGC1301);山东省重点研发计划项目(2015GSF119029,2018GSF119001,2018GSF119023);山东省中医药科技发展计划项目(2011-173,2017-134)

作者简介:刘瑾(1973—),女,硕士,研究员,研究方向为中药复方药效物质基础和作用机理。Tel:(0531)82949836,E-mail:jinanlj56@163.com

网络出版日期:2021-09-23

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20210920.0505.016.html

## 2 方法

2.1 模型制备 参考《药理实验方法学》进行操作<sup>[13]</sup>。大鼠适应性饲养7 d,禁食不禁水12 h后称定体质量,根据体质量随机选取12只作为假手术组,剩余52只用于造模。大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)进行麻醉,碘伏和酒精对腹部皮肤进行消毒,沿腹中线切口,剪开皮肤直达腹腔,提出膀胱及两侧精囊,暴露出前列腺背侧叶,注入25%消毒灵注射液0.2 mL,每侧0.1 mL,将精囊及膀胱送回原位置,缝合腹壁肌肉、皮肤;假手术组于同样部位注射0.9%氯化钠注射液0.2 mL。术后第7天,随机选取造模组、假手术组大鼠各2只进行病理切片,若造模组前列腺间质高度充血、水肿、呈疏松网状,纤维细胞增生,有多量中性粒细胞浸润等病理变化,表明造模成功。

2.2 分组与给药 造模成功后,将造模组大鼠随机分为模型组、普乐安片组及淋必通颗粒低、中、高剂量组,每组10只,淋必通颗粒各剂量组灌胃给予含药混悬液10 mL/kg(分别相当于2.7、5.4、10.8 g/kg药物),普乐安片组灌胃给予含药混悬液10 mL/kg(相当于1.08 g/kg生药),假手术组、模型组灌胃给予蒸馏水10 mL/kg,每天1次,连续30 d。

2.3 前列腺指数检测 连续给药30 d后,大鼠禁食不禁水12 h,称定体质量,解剖取前列腺组织,生理盐水冲洗,滤纸吸取多余水分,电子天平称定湿质量,计算前列腺指数<sup>[14-15]</sup>,公式为前列腺指数=(前列腺湿质量/大鼠体质量)×100%,肿胀率=[(造模组大鼠前列腺指数-假手术组大鼠前列腺指数)/假手术组大鼠前列腺指数]×100%,肿胀抑制率=[(模型组肿胀率-用药组肿胀率)/模型组肿胀率]×100%。

2.4 前列腺组织 IL-6、IL-10 水平检测 取大鼠左侧前列

腺组织,称定质量,加入2倍生理盐水进行匀浆,静置,3 000 r/min离心15 min,取上清,采用ELISA法检测前列腺组织匀浆液中IL-6、IL-10水平。

2.5 前列腺组织形态学观察 取大鼠右侧前列腺组织,置于10%甲醛中固定,常规脱水,石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察其形态学变化,按照病变程度分为3个等级进行定量评价,对各项病理变化评分,计算总和作为整体评分,评分标准<sup>[16]</sup>为(1)腺体形态,腺上皮单层细胞结构完整,排列整齐,细胞呈柱状、立方,腺体上皮向管腔内折叠形成皱襞,计为2分;腺上皮轻度增生,有损伤,腺体上皮皱襞减少,计为4分;腺上皮受损变形严重,腺上皮皱襞减少或无,计为6分;(2)炎症表现情况及炎性细胞浸润程度,腺腔偶见炎性细胞,计为2分;腺腔中度炎性细胞浸润,计为4分;腺腔充满炎性细胞,伴有充血现象,计为6分;(3)纤维组织增生程度,极少纤维组织增生,计为2分;纤维组织增生程度较轻,计为4分;腺体周围有大量纤维组织增生,包被腺体,计为6分。

2.6 统计学分析 通过SPSS 13.0软件进行处理,数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 淋必通颗粒对大鼠体质量、前列腺湿质量、前列腺指数的影响 各组大鼠体质量比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明造模和给药对大鼠体质量增长无明显影响。与假手术组比较,模型组大鼠前列腺湿质量、前列腺指数升高( $P<0.01$ ),表明造模成功;与模型组比较,淋必通颗粒中、高剂量组和普乐安片组大鼠前列腺湿质量、前列腺指数、前列腺肿胀率降低( $P<0.05$ ),呈剂量依赖性,见表1。

表1 淋必通颗粒对大鼠前列腺指数的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	体质量/g	前列腺湿质量/g	前列腺指数	肿胀率/%	肿胀抑制率/%
假手术组	—	427.8±46.4	1.400 1±0.301 9	0.003 3±0.000 7	—	—
模型组	—	414.4±26.2	1.829 7±0.294 7**	0.004 4±0.000 8**	30.68	—
普乐安片组	1.08	421.9±31.1	1.558 3±0.143 8 <sup>△</sup>	0.003 7±0.000 4 <sup>△</sup>	11.30	63.17
淋必通颗粒低剂量组	2.7	424.9±27.3	1.659 3±0.182 5*	0.004 0±0.000 6*	18.51	39.67
淋必通颗粒中剂量组	5.4	418.8±33.0	1.588 3±0.179 3 <sup>△</sup>	0.003 8±0.000 5 <sup>△</sup>	13.44	56.19
淋必通颗粒高剂量组	10.8	416.1±25.8	1.488 1±0.271 2 <sup>△</sup>	0.003 5±0.000 7 <sup>△</sup>	6.29	79.50

注:与假手术组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

3.2 淋必通颗粒对大鼠前列腺组织 IL-6、IL-10 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠前列腺组织 IL-6 水平升高( $P<0.01$ ),IL-10 水平降低( $P<0.01$ ),表明造模成功;与模型组

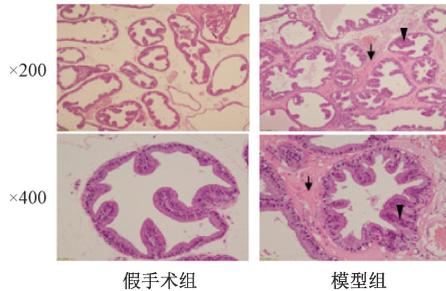
比较,淋必通颗粒中、高剂量组和普乐安片组大鼠前列腺组织 IL-6 水平降低( $P<0.05, P<0.01$ ),淋必通颗粒高剂量组和普乐安片组 IL-10 水平升高( $P<0.05$ ),见表2。

表2 淋必通颗粒对大鼠前列腺组织 IL-6、IL-10 水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-10/(pg·mL <sup>-1</sup> )
假手术组	—	8.36±3.07	78.05±7.87
模型组	—	14.77±4.73**	55.12±5.42**
普乐安片组	1.08	10.92±2.11 <sup>△</sup>	62.09±8.04 <sup>△</sup>
淋必通颗粒低剂量组	2.7	11.00±6.18	58.33±5.74
淋必通颗粒中剂量组	5.4	10.13±2.36 <sup>△</sup>	61.26±8.40
淋必通颗粒高剂量组	10.8	9.62±2.96 <sup>△△</sup>	64.19±9.53 <sup>△</sup>

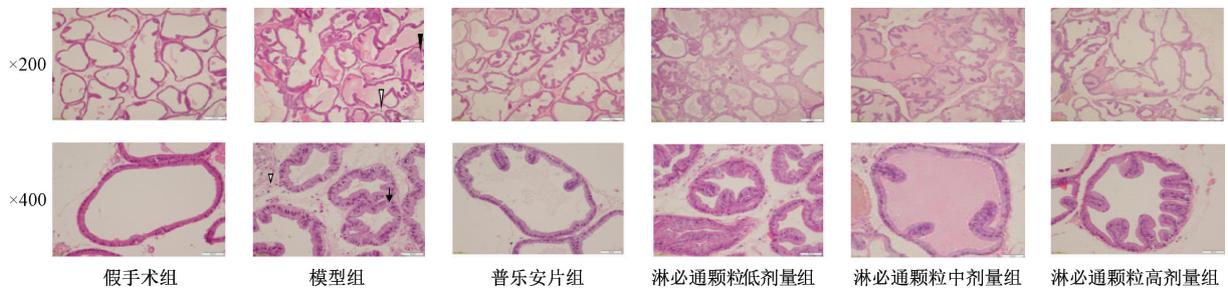
注:与假手术组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05, \Delta P<0.01$ 。

3.3 淋必通颗粒对大鼠前列腺组织形态学变化的影响 造模第7天,造模组大鼠前列腺间质高度充血、水肿、呈疏松网状,有较多中性粒细胞浸润,腺上皮细胞增生等病理变化;假手术组大鼠腺体松散分布、形态正常,腺腔大小均匀、量少、宽窄不一,间质疏松未见炎症细胞浸润和纤维组织增生,表明造模成功,见图1。



注: ▼指示间质充血、水肿、呈疏松网状,有炎症细胞浸润; ↓指示上皮细胞增生。

图1 大鼠前列腺组织病理形态学改变 (HE染色)



注: ▼指示间质充血、水肿、呈疏松网状,有炎症细胞浸润; ↓指示上皮细胞增生; ▽指示间质水肿增宽。

图2 各组大鼠前列腺组织病理形态学变化 (HE染色)

表3 淋必通颗粒对大鼠前列腺组织间质增生和腺体形态的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	腺体形态/分	炎症细胞浸润/分	纤维组织增生程度/分
假手术组	—	2.00±0	2.00±0	2.00±0
模型组	—	5.20±0.33**	5.60±0.27**	5.20±0.33**
普乐安片组	1.08	2.80±0.33 <sup>△△</sup>	3.20±0.53 <sup>△△</sup>	3.20±0.53 <sup>△△</sup>
淋必通颗粒低剂量组	2.7	4.40±0.50**	4.80±0.53**	4.00±0.42**
淋必通颗粒中剂量组	5.4	4.40±0.50**	4.40±0.50**	4.40±0.50**
淋必通颗粒高剂量组	10.8	2.80±0.33 <sup>△△</sup>	2.80±0.53 <sup>△△</sup>	3.20±0.53 <sup>△△</sup>

注:与假手术组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较, $\Delta\Delta P<0.01$ 。细胞因子介导的局部免疫炎症反应,导致前列腺局部免疫功能异常增强<sup>[17]</sup>。IL-6为促炎性细胞因子,可促进趋化因子、环氧合酶-2、细胞间粘附分子的释放,对局部组织造成损伤并引起疼痛,是慢性前列腺炎临床症状的重要发生机制之一<sup>[18]</sup>。甘进等<sup>[19]</sup>研究表明IL-6水平在慢性前列腺炎患者精液中升高,并且和慢性前列腺炎症状指数评分呈正相关性,推测可能参与患者疼痛症状的产生。IL-10是抗炎性细胞因子,可抑制Th0细胞向Th1细胞的转化,对炎症细胞迁移和致炎细胞因子产生起到抑制效应,发挥了较强的抗炎及免疫抑制活性<sup>[20]</sup>。

本实验结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠前列腺组织匀浆中IL-6水平升高,IL-10水平降低,表明慢性前列腺炎模型大鼠存在前列腺局部的免疫功能紊乱。与模型组比较,中、高剂量淋必通颗粒可以降低慢性前列腺炎模

连续给药30d后,假手术组大鼠前列腺腺体形态正常,腺腔大小均匀,间质未见炎症细胞浸润和纤维组织增生;与假手术组比较,模型组大鼠前列腺部分腺腔闭锁呈实体状,腺上皮增生、受损严重( $P<0.01$ ),腺腔内分泌物减少甚至消失,腺腔内可见严重炎症细胞浸润( $P<0.01$ ),间质水肿增宽,纤维组织增生明显( $P<0.01$ );与模型组比较,普乐安片组和淋必通颗粒高剂量组大鼠腺体变形明显改善,腺上皮受损变形较轻,腺上皮皱襞增多,腺体形态正常( $P<0.01$ ),前列腺腺腔扩大,腺腔内分泌物增多,炎症细胞浸润减少( $P<0.01$ ),纤维组织增生得到较好改善( $P<0.01$ );淋必通颗粒中、低剂量组大鼠腺腔部分恢复正常,部分腺腔内分泌物增多,炎症细胞浸润有一定减轻,纤维组织增生也有一定程度缓解,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图2、表3。

#### 4 讨论

慢性前列腺炎是男科常见病,其发病机制尚未完全明确,目前多数学者认为慢性前列腺炎是由免疫炎症细胞及

型大鼠前列腺组织IL-6水平,高剂量淋必通颗粒可以有效提高慢性前列腺炎模型大鼠前列腺组织IL-10水平,表明淋必通颗粒可以有效升高抗炎性细胞因子IL-10水平,抑制促炎性细胞IL-6的释放,缓解慢性前列腺炎模型大鼠前列腺局部的炎症反应。大鼠前列腺组织病理形态学观察也显示,淋必通颗粒中、低剂量组炎症细胞浸润有一定减轻,纤维组织增生也有一定程度缓解;淋必通颗粒高剂量组炎症细胞浸润减少,纤维组织增生得到明显改善,说明淋必通颗粒可以改善消痔灵注射液所致大鼠前列腺组织病理形态学改变,减轻前列腺组织局部的炎症反应。本结果为临床应用淋必通颗粒治疗慢性前列腺炎提供了实验依据,但淋必通颗粒多靶点、多途径治疗慢性前列腺炎的作用机制还需要进一步探讨。

参考文献:

- [1] Zilberman D E, Tsivian M, Mor Y, et al. The trues behind TRUS in the setting of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. *Urol Sci*, 2016, 27(1): 40-44.
- [2] 黄宇烽, 李宏军. 实用男科学[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 268-269.
- [3] 李海松, 王彬, 赵冰. 慢性前列腺炎中医诊治专家共识[J]. 北京中医药, 2015, 34(5): 412-415.
- [4] 张敏建, 宾彬, 商学军, 等. 慢性前列腺炎中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(8): 933-941.
- [5] Liang C Z, Li H J, Wang Z P, et al. The prevalence of prostatitis-like symptoms in China[J]. *J Urol*, 2009, 182(2): 558-563.
- [6] 牛俊豪, 张莹, 王朝阳. 美洛昔康应用于慢性前列腺炎治疗中的临床探讨[J]. 临床研究, 2019, 27(7): 42-43.
- [7] Magri V, Perletti G, Cai T, et al. Levofloxacin for NIH category II chronic bacterial prostatitis: a real-life study[J]. *Chemotherapy*, 2019, 64(1): 8-16.
- [8] 刘佳阳, 吴秋莲, 梁嘏迪, 等. 盐酸坦索罗新联合地奥司明治疗慢性前列腺炎的疗效分析[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(1): 116-119.
- [9] 唐硕, 李云祥. 观察盐酸坦索罗辛与抗感染药物结合治疗慢性前列腺炎的疗效[J]. 中国性科学, 2018, 27(8): 25-28.
- [10] Zhao W P, Zhang Z G, Li X D, et al. Celecoxib reduces symptoms in men with difficult chronic pelvic pain syndrome (Category IIIA) [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2009, 42(10): 963-967.
- [11] 刘晋宏, 方克伟. 塞来昔布治疗Ⅲb型前列腺炎的临床疗效观察[J]. 昆明医科大学学报, 2013, 34(7): 72-74.
- [12] 王平, 袁敏. 淋必通颗粒对慢性前列腺炎细胞因子的影响[J]. 中成药, 2012, 34(12): 2418-2420.
- [13] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1557-1560.
- [14] 朱向东, 王燕. 敦煌辅行诀大泻肾汤治疗大鼠非细菌性前列腺炎的作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(15): 4254-4256.
- [15] 何颖, 沈先荣, 蒋定文, 等. 前摄宁颗粒对大鼠慢性前列腺炎的治疗作用[J]. 中成药, 2011, 33(4): 583-586.
- [16] 张琳, 赵梓邯, 于冰莉, 等. 甘草地上部分对慢性前列腺炎大鼠的影响[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1407-1410.
- [17] 刘宾, 刘文礼. 抵当汤对慢性前列腺炎大鼠组织匀浆 TNF- $\alpha$ , IL-6, IgG 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 281-283.
- [18] 孙海波, 汪敏, 刘元忠, 等. 游泳运动与药物综合治疗对慢性非细菌性前列腺炎大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平的影响[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(1): 21-26.
- [19] 甘进, 王晓荣. IL-6 和 IL-8 在慢性前列腺炎患者精液中的表达及临床意义[J]. 江西医药, 2020, 55(8): 1050-1051; 1060.
- [20] 郝丽亚, 刘丽, 白现广, 等. P 物质及其神经激肽-1 受体在慢性非细菌性前列腺炎大鼠 L5~S2 脊段的表达[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(7): 602-607.

## 益母草碱通过调节 cAMP/PKA 信号通路抑制脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡

赵曼云, 郭蔚虹, 张霞

(海口市 120 急救中心急救科, 海南 海口 570208)

**摘要:**目的 探讨益母草碱对脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡的影响及其作用机制。方法 采用改良 Allen's 法建立脊髓损伤大鼠模型, 造模成功后即开始腹腔注射给药, 每天 1 次, 连续 4 周。采用 BBB 评分和斜板实验评估各组大鼠运动功能, HE 染色观察脊髓组织病理学变化, TUNEL 染色观察脊髓组织神经细胞凋亡情况, ELISA 检测脊髓组织中 caspase-3 和 cAMP 水平, RT-qPCR 检测脊髓组织中 PKAc 和 BDNF mRNA 表达, Western blot 检测脊髓组织中 cleaved-caspase-3、Bax、Bcl-2、PKAc、CREB、p-CREB (Ser133) 和 BDNF 蛋白表达。结果 脊髓损伤大鼠经高剂量益母草碱干预后, 脊髓组织损伤减轻, BBB 评分及斜板角度增加 ( $P < 0.01$ ), 脊髓神经细胞凋亡率和 caspase-3 活性降低 ( $P < 0.01$ ), 脊髓组织中 cAMP 水平、PKAc、BDNF mRNA 表达以及 PKAc、p-CREB、BDNF 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )。然而, PKA 抑制剂 H-89 干预可抑制高剂量益母草碱对脊髓损伤大鼠各项指标的改善作用 ( $P < 0.05$ )。结论 益母草碱可促进脊髓损伤大鼠后肢运动功能的恢复, 抑制脊髓神经细胞的凋亡, 改善脊髓组织病理损伤, 其机制可能与激活 cAMP/PKA 信号通路相关。

**关键词:** 益母草碱; 脊髓损伤; 神经细胞凋亡; cAMP/PKA 信号通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2022)07-2315-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.046

收稿日期: 2021-06-08

作者简介: 赵曼云 (1981—), 女, 主治医师, 研究方向为急救医学。Tel: (0898) 36633559, E-mail: zhaomanyun9556@163.com