

前列清浊汤对慢性非细菌性前列腺炎大鼠模型血清 IL-8、IL-10 水平的影响

尹跃兵, 陈波, 徐莹, 陈卫平, 易景红, 王连香

湖南中医药高等专科学校, 湖南 株洲 412012

[摘要] 目的: 研究前列清浊汤对慢性非细菌性前列腺炎 (CNP) 大鼠模型血清白细胞介素 - 8 (IL-8)、白细胞介素 - 10 (IL-10) 水平的影响。方法: 70 只健康雄性大鼠, 其中 10 只用于前列腺蛋白提纯液的制作, 其余 60 只随机分成 6 组, 即前列清浊汤高、中、低剂量组, 前列康组、模型组和正常对照组, 每组 10 只。大鼠造模: 大鼠乙醚麻醉, 腹腔注射百白破疫苗 0.5 mL/只; 第 0、30 天 2 次多点皮内注射蛋白提纯液与弗氏完全佐剂 (FCA) 配成混悬液 1.0 mL/只, 45 天后可进行实验使用, 之后连续给药 30 天。取血清检测 IL-8、IL-10 含量及变化。结果: 与正常对照组比较, 模型组血清 IL-8、IL-10 水平明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 高、中剂量组以及前列康组血清 IL-8 水平明显下降 ($P < 0.05$)。而低剂量组与模型组比较, 血清中 IL-8 水平有所下降, 但差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较, 高、中剂量组大鼠血清 IL-10 水平明显下降 ($P < 0.01$); 前列康组和低剂量组大鼠血清 IL-10 水平与模型组比较也有较明显降低 ($P < 0.05$)。结论: 前列清浊汤通过对 IL-8、IL-10 等细胞因子水平的调节而发挥对 CNP 的治疗作用。

[关键词] 慢性非细菌性前列腺炎 (CNP); 前列清浊汤; 细胞因子

[中图分类号] R697+.33

[文献标识码] A

[文章编号] 0256-7415 (2014) 04-0197-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.04.079

慢性非细菌性前列腺炎 (chronic non-bacterial prostatitis, CNP) 近年来已成为男科较为常见的一种疾病, 严重影响到患者的身心健康和工作生活。近些年, 许多学者发现其病因不仅是以感染为主, 很多患者甚至没有任何感染征象, 仅表现出细胞因子水平的变化, 因此, 大家对 CNP 的研究也逐渐从感染向非感染性炎症反应过度, 即转而研究炎症反应应答的调节在 CNP 发病过程中所起的作用。本课题在建立大鼠 CNP 模型的基础上, 通过中药前列清浊汤的干预后, 检测大鼠血清中白细胞介素 - 8 (IL-8)、白细胞介素 - 10 (IL-10) 含量及变化, 从免疫调节水平探讨名老中医贺菊乔教授自拟方前列清浊汤治疗 CNP 的作用机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性 Wistar 大鼠 70 只, 月龄

3 月, 体重 180~220 g, 由湖南中医药大学实验动物中心提供。大鼠购进后对其进行常规饲养 10 天, 观察无异常后进行实验。

1.2 药液 ①前列清浊汤由萆薢、土茯苓、泽泻、黄柏、赤芍、丹参、泽兰、虎杖、延胡索、薏苡仁组成 (湖南中医药大学第一附属医院提供)。先将前列清浊汤生药经蒸馏水浸泡 2 h, 按常法煎煮 2 次, 每次 60 min, 取汁, 过滤, 2 次滤液合并混匀, 70~80℃ 水浴浓缩成 100% 浓度 (每生药 1 g/mL), 冰箱保存备用; ②前列康片 (由油菜花粉组成, 浙江康恩贝制药公司生产, 批号 Z33020303, 规格 0.5 g×60 粒) 将前列康成药粉碎, 用蒸馏水浸泡配成混悬液 (每成药 0.2 g/mL)。

1.3 主要试剂及仪器 弗氏完全佐剂 (美国 Sigma 公司): 将液体石蜡与羊毛脂按 2:1 比例共热至 70℃

[收稿日期] 2013-11-25

[基金项目] 湖南省中医药管理局课题 (编号: 2010059); 湖南省教育厅精品课程项目 (编号: 2010097)

[作者简介] 尹跃兵 (1965-), 男, 教授, 主要从事中西医结合外科工作。

混匀, 高温灭菌后按 5 mg/mL 加入佐剂卡介苗, 无菌乳化。IL-8 试剂盒(美国 Eptomics 公司), IL-10 试剂盒(美国 Prosci 公司), 721 分光光度计(上海第三仪器厂), 高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司)。

1.4 大鼠前列腺蛋白提纯液的制作 取 240~300 g 雄性 Wistar 大鼠 10 只, 在无菌条件下剥取前列腺组织, 用冷生理盐水洗净, 加入含 0.5% Triton X-100 的生理盐水溶液, 用玻璃匀浆器制成匀浆, 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 用 721 分光光度计, 以牛血清白蛋白溶液为标准蛋白溶液, 采用双缩脲法进行蛋白含量测定, 再用 0.1 mol/L、pH 7.2 的 PBS 缓冲液稀释为 15 mg/mL 浓度。

1.5 分组 70 只健康雄性 Wistar 大鼠, 其中 10 只用于前列腺蛋白提纯液的制作, 其余 60 只随机分成 6 组, 即前列清浊汤高、中、低剂量组, 前列康组、模型组和正常对照组, 每组 10 只。

1.6 模型制备 将前列腺蛋白提纯液与弗氏完全佐剂(FCA)按 1:1 比例配成混悬液, 大鼠乙醚麻醉, 腹腔注射百白破疫苗 0.5 mL/只; 第 0、30 天 2 次多点皮内注射混悬液 1.0 mL/只, 45 天后可进行实验使用^[1]。

1.7 给药方法 造模成功后开始给予各组大鼠灌胃给药, 给药剂量参照实验动物与人体重等效剂量换算公式换算^[2]。高剂量组给药 1.38 mL/(kg·d), 中剂量组 0.92 mL/(kg·d), 低剂量组 0.46 mL/(kg·d)。前列康组 2.0 mL/(kg·d), 模型组和正常对照组分别给予等量生理盐水灌胃, 灌胃每天 1 次, 连续给药 30 天。

1.8 样本取材 末次给药当天经股动脉采血(存放于 -60℃ 的冷库中备用), 处死大鼠。剥离前列腺组织并称量, 肉眼观察前列腺组织的形态学变化。ELISA 法检测血清中 IL-8、IL-10 水平及变化, 以上操作严格按照试剂盒说明书要求执行。

1.9 统计学方法 采用 SPSS11.5 软件进行数据分析, 计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用方差分析, 组间比较用 q 检验。

2 结果

各组大鼠均正常生长, 未出现发病、死亡等异常情况, 所有大鼠于给药后 30 天时处死。

2.1 大体形态学表现 正常对照组: 前列腺组织表面光滑, 平整, 已与周围组织剥离, 结构完整。模型组: 前列腺组织水肿较明显, 表面欠光滑, 与周围组

织难以剥离, 结构不完整。低剂量组: 前列腺组织表面欠光滑, 组织有水肿, 与周围组织较难剥离, 结构不完整。中剂量组: 前列腺组织表面轻度水肿, 与周围组织较易剥离, 结构较完整。前列康组: 大体形态学表现同中剂量组。高剂量组: 前列腺组织水肿不明显, 表面较光滑, 平整, 与周围组织容易剥离, 结构较完整。

2.2 各组大鼠血清 IL-8 水平比较 见表 1。与正常对照组比较, 模型组血清 IL-8 水平明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 高、中剂量组以及前列康组血清 IL-8 水平明显下降($P < 0.05$)。而低剂量组与模型组比较, 血清 IL-8 水平有所下降, 但差异无显著性意义($P > 0.05$)。

组别	n	血清 IL-8
正常对照组	10	90.03± 20.35
模型组	10	167.59± 41.98 ^①
前列康组	10	118.46± 19.58 ^②
高剂量组	10	110.16± 15.73 ^②
中剂量组	10	126.69± 26.24 ^②
低剂量组	10	142.20± 33.15

与正常对照组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

2.3 各组大鼠血清 IL-10 水平比较 见表 2。与正常对照组比较, 模型组血清 IL-10 水平明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 高、中剂量组大鼠血清 IL-10 水平明显下降($P < 0.01$); 前列康组和低剂量组大鼠血清 IL-10 水平与模型组比较也有较明显降低($P < 0.05$)。

组别	n	血清 IL-10
正常对照组	10	75.68± 16.34
模型组	10	138.23± 24.36 ^①
前列康组	10	110.54± 19.36 ^②
高剂量组	10	88.47± 15.78 ^③
中剂量组	10	92.57± 18.43 ^③
低剂量组	10	113.49± 21.56 ^②

与正常对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$, ③ $P < 0.01$

3 讨论

近年来, 抗生素治疗慢性前列腺炎(Chronic

Prostatitis, CP)临床应用非常普遍,但由于 CP 病因复杂,其发病是多因素相互影响、共同参与^[3-4],因前列腺组织中血-前列腺屏障的存在,使抗生素对大部分 CP 无效或疗效差^[5]。中药制剂在国外尤其是欧洲国家越来越受到重视,被认为是治疗 CNP 的首选疗法^[6]。研究表明 CNP 的病机多为湿热、瘀滞、肾虚 3 个方面,其中湿热、瘀滞是标,肾虚是本,虚实夹杂,因而在病变不同阶段,都贯穿着湿、瘀的病理变化^[7],有学者对临床资料作过分析,认为湿热、瘀滞或两者并存者占 72.5%^[8]。根据此病机,贺菊乔教授自拟前列清浊汤治疗 CNP。方中萆薢、土茯苓、泽泻、黄柏四药合用,共奏宣通水道、清热利水通淋之效;配以赤芍“除血痹,破坚积,寒热疝瘕,止痛,利小便”。丹参引药下行;乳香调气活血,定痛追毒;泽兰“通九窍,利关脉,养血气,破宿血,消癥瘕”;虎杖破瘀通经,补肾壮骨;延胡索活血散瘀,理气止痛;更配用富含维生素和矿物质的薏苡仁,能健脾益胃,强筋健骨,除水消肿,攻补兼施,以防攻伐太过。全方组方缜密,诸药合用既可清热利湿解毒,活血破瘀通浊,又可补益肝肾,攻补相益,以解决 CNP 的病理、病证主次矛盾。该方广泛应用于临床,不仅能降低患者前列腺液中的白细胞数,还能减轻患者发病时的疼痛感,收到了令人满意的临床疗效。基于以上事实,本实验研究以大鼠 CNP 模型为基础,选取其血清中 IL-8、IL-10 这一对促炎和抗炎细胞因子作为实验参考指标,通过观察药物干预后二者的水平变化以及大鼠前列腺组织外观形态学表现,来探讨本方在治疗 CNP 时的药理作用机制。本实验研究结果显示,在模型组大鼠血清中确实出现炎性因子水平变化,说明免疫反应参与了 CNP 的发病。前列清浊汤可以对大鼠 CNP 模型的发病过程起到积极的调节作用,高、中剂量组用药可较明显降低 IL-8 的水平,以高剂量组为佳,通过降低大鼠血清中促炎性细胞因子 IL-8 的水平,减少白细胞募集和进入炎症部位^[9],达到减轻炎症反应,降低前列腺液中白细胞数;前列清浊汤各剂量组大鼠血清中抗炎细胞因子 IL-10 的水平均明显降低,以高、

中剂量组为最佳,通过降低 IL-10 的水平,从而减轻其疼痛程度^[10],说明本方具有改善患者生活质量的治疗效果。综上所述,前列清浊汤能通过调节炎性细胞因子水平达到治疗 CNP 的目的。

[参考文献]

- [1] 周晓辉,韩蕾,周智恒,等. 免疫性慢性非细菌性前列腺炎大鼠模型的形态学与分子生物学特性[J]. 中华男科学杂志, 2005, 11(4): 290-295.
- [2] 何成. 实验动物学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 283.
- [3] Schaeffer AJ, Knauss JS, Landis JR, et al. Leukocyte bacterial count do not correlate with severity of symptoms in men with chronic prostatitis: the national institute of Health Chronic prostatitis Cohort Study [J]. J Urol, 2002, 168(3): 1048-1053.
- [4] Schaeffer AJ, Landis JR, Knauss JS, et al. Demographic and clinical characteristics of men with chronic prostatitis: the national institute of Health Chronic prostatitis Cohort Study [J]. J Urol, 2002, 168(2): 593-598.
- [5] Zabokowski T, Peterek J, Srawarz B. The results of treatment of chronic prostatitis on the background of anaerobic bacterial and fungal infections[J]. Wiad Lek, 1999, 52: 456-461.
- [6] Shokes DA, Manickam K. Herbal and complementary medicine in chronic prostatitis[J]. World J Urol, 2003, 21(2): 109-113.
- [7] 徐光勇. 慢性前列腺炎病因研究与治疗进展[J]. 国外医学: 泌尿系统分册, 2001, 21(2): 77.
- [8] 李彪, 龚景林. 新编中医外科学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999: 646-647.
- [9] 何雄平, 龚国林, 王樟娟, 等. 慢性前列腺炎患者治疗前后血清 IL-6、IL-8 和 M-CSF 测定的临床价值[J]. 放射免疫学杂志, 2011, 24(6): 619-620.
- [10] 杨东明, 赖健新, 凌云, 等. 慢性前列腺炎患者前列腺按摩液中 IL-8、IL-10 的表达及意义[J]. 中国当代医药, 2012, 19(23): 48-49.

(责任编辑: 马力)