



雌激素诱导SD大鼠前列腺炎与内环境改变的关系

周莉¹, 骆永伟^{1,2}, 王永¹, 王蓉¹, 刘向云¹, 桂博¹, 贾玉玲^{1,2}, 孙祖越¹

(1. 上海市计划生育科学研究所药理毒理学研究室, 中国生育调节药物毒理检测中心, 上海 200032;
2. 复旦大学药学院, 上海 201203)

【摘要】目的 通过雌二醇诱导SD雄鼠慢性前列腺炎, 探讨SD雄鼠的内环境改变的关联性作用, 为前列腺炎发生机制和治疗提供一条实验性途径。**方法** 3%戊巴比妥麻醉, 无菌条件下去势手术; 术后动物恢复5 d, 30只雄鼠按照体重随机分组, 每组10只。第6天低剂量组皮下注射0.25 mg/kg的雌二醇, 高剂量组皮下注射1.25 mg/kg的雌二醇, 溶媒对照组注射橄榄油, 每天1次, 连续30 d。**结果** 与溶媒对照组比较, 低、高剂量组白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)和红细胞压积(HCT)均降低($P < 0.01$); 前列腺酸性磷酸酶(PAP)明显降低($P < 0.01$); 高剂量组睾酮含量明显增加($P < 0.01$), C-反应蛋白(CRP)在低、高剂量组也呈现增加的趋势, 但差异没有统计学意义; 溶媒对照组和给药组前列腺组织大体解剖表面未见明显差异, 光学显微镜下, 溶媒对照组前列腺组织结构完整, 腺腔和间质无炎性细胞浸润, 高剂量组和低剂量组的前列腺间质均可见炎细胞浸润; 低、高剂量组大鼠脾脏均可见棕黄色颗粒沉淀, 其余脏器无明显改变, 胸腺、脾脏及其脏器系数均明显降低。**结论** 根据本实验结果, 雌激素引起的慢性非细菌性前列腺炎可导致内环境血液学、血清生化、激素水平、脏器和脏器系数的一系列改变。

【关键词】 雌激素; 前列腺炎; 大鼠

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 02-0033-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.002.008

Correlation of estrogen-induced SD rat models of prostatitis with changes of internal environment

ZHOU Li¹, LUO Yong-wei^{1,2}, WANG Yong¹, WANG Rong¹, LIU Xiang-yun¹, GUI Bo¹, JIA Yu-ling^{1,2}, SUN Zu-yue¹

(1. Shanghai Institute of Planned Parenthood Research & National Evaluation Center for Toxicology of Fertility Regulating Drugs, Shanghai 200032, China; 2. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203)

【Abstract】 Objective To explore the correlation of internal environment with estradiol-induced male SD rat models of chronic prostatitis, and provide an experimental approach for its pathogenesis and treatment researches. **Methods** Anesthesia with 3% pentobarbital, castration surgery under the sterile condition, and recovery for five days were performed in the experiment. Thirty male SD rats were randomly divided into 3 groups, 10 rats in each group. 0.25mg/kg estradiol (low dose) and 1.25 /kg estradiol (high dose), respectively, were subcutaneously injected from day 6 for 30 consecutive days. The solvent control group

【基金项目】 十二五“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09301-005), 上海市人才发展基金(2010031)和上海市实验动物创新行动计划项目(11140901300/11140901303)。

【作者简介】 周莉, 副研究员; 主要从事药物生殖药理毒理学研究、前列腺疾病药理毒理学研究和新药临床前安全性评价, E-mail: zhoulijss@163.com。

【通讯作者】 孙祖越, 1964年生, 男, 博士, 研究员; 主要从事药物生殖药理毒理学研究、前列腺疾病药理毒理学研究和新药临床前安全性评价。E-mail: sunzy64@163.com。

received injection of olive oil in the same period. **Results** WBC, RBC, HGB and HCT were significantly lower in the estrogen groups than that in the control group ($P < 0.01$). PAP was significantly decreased ($P < 0.01$). Testosterone was significantly increased in the high-dose group ($P < 0.01$), and C-reactive protein (CRP) also showed an increasing trend in the estrogen groups, but statistically not significant. There was no significant difference in the gross appearance of the prostate among the groups. Histopathological analysis revealed that there were inflammatory infiltration and accumulation of brown particles in the spleen tissue in both the low dose and high dose estrogen groups. There were no significant changes in other organs. Organ and organ coefficient of the thymus and spleen were significantly reduced. **Conclusions** Our findings indicate that chronic non-bacterial prostatitis induced by estrogen can lead to a series of changes of the internal environment including the hematology, serum biochemistry, hormone levels, organs and organ coefficient.

【Key words】 Estrogen; Prostatitis; Rat; Hematology; Biochemistry; Hormone

前列腺炎是男性泌尿系统多发病、常见病。临床上以发病缓慢,病因病理复杂,症状表现多样化,病程迁延,反复发作为特点。目前临床上仍然缺乏疗效确切、持续和适应范围广泛的治疗方法。研究制备良好的动物模型是阐明该病发病机理和开发新药的有效方法。目前的动物模型主要通过免疫诱导、性激素诱导、化学制剂诱导、生物制剂诱导、尿液逆流诱导以及自发性炎症等。而性激素诱导的大鼠前列腺炎是应用最广的动物模型,并认为它与人慢性无菌性前列腺炎症状相一致^[1]。因此,本研究采用雌二醇诱导 SD 大鼠慢性非细菌性前列腺炎^[2,3],并在此基础上进行一系列相关指标的检测,试图探索雌二醇诱导的慢性非细菌性前列腺炎与内环境改变的关联性作用,旨在为前列腺炎的发生机制和治疗研究提供一条实验性途径。

1 实验材料和方法

1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠 380 ~ 480 g, 30 只,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供(SCXK[沪]2008-0016)。SD 大鼠在上海市计划生育科学研究所(中国生育调节药物毒理检测中心)清洁级动物房内饲养(SYXK[沪]2008-0027)。室温(20 ~ 26)℃,相对湿度(40 ~ 70)%,光照 12 h,黑暗 12 h;塑料笼大小为(400 × 350 × 200) mm, 5 只/笼,自由饮水和摄食。

1.2 主要仪器

法国生产的 VET ABC (169) 血球计数仪; Magimzyme III 磁酶免定量测定仪; 尿液分析仪; Anthos Zenith 200st 酶标仪; 莱卡(Leica) RM2126 切片机。

1.3 主要试剂

苯甲酸雌二醇(批号 07/11/02), 上海通用药业

股份有限公司;

1.4 动物分组和造模

30 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周, 3% 戊巴比妥麻醉, 无菌条件下取腹正中切口, 直达腹腔, 轻轻拉动睾丸脂肪, 暴露睾丸和附睾, 自输精管处结扎, 完整地切除双侧睾丸和附睾, 依次缝合肌肉和皮肤, 放回鼠笼, 自由饮食。恢复观察 5 d, 按体重随机分为 3 组, 溶媒对照组、低剂量组和高剂量组, 每组 10 只, 第 6 天开始低剂量组皮下注射 0.25 mg/kg 的雌二醇, 高剂量组皮下注射 1.25 mg/kg 的雌二醇, 溶媒对照组注射橄榄油, 每天 1 次。

1.5 样本取材与检测

在造模最后一天(第 30 天时), 即解剖取材的前一天, 收集每只大鼠的尿液检测尿常规, 主要观察白细胞计数; 采集每只大鼠的血液足量检测血常规, EDTA 抗凝血供全血细胞计数, 主要观察白细胞计数;

根据上述血、尿常规指标判断造模成功后处死动物, 麻醉后打开腹腔, 采集自凝血制备血清后供免疫学指标检测, 并进行病理取材, 对前列腺、精囊腺、包皮腺、肛门括约肌和提肛肌称重并取材, 甲醛溶液固定后进一步检查。

1.6 统计学方法

实验数据中, 若资料呈正态分布, 则采用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 若资料呈偏态分布, 则采用中位数表示, 而针对正态分布的资料进行方差齐性检验, 方差齐则组间比较用方差分布, 方差不齐以及偏态分布的资料应采用秩和检验; 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 用 SPSS11.0 作方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 尿常规

尿常规检查包括尿比重(SG)、酸碱度(PH)、白

细胞(LEU)、亚硝酸盐(NIT)、尿蛋白(PRO)、葡萄糖(GLU)、酮体(KET)、胆红素(BIL)、尿胆原(UBG)和尿潜血(ERY)共十项,结果均属正常范围内的变化,未见能说明与造模有关的异常改变。

2.2 血液学指标

与溶媒对照组比较,低、高剂量组白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)和红细胞压积(HCT)均降低($P < 0.01$),考虑与雌激素作用有关(表1)。

2.3 血清生化指标

与溶媒对照组比较,低、高剂量组 PAP 明显降低,其余各项指标与同期溶媒对照相比,均未见能说明与造模有关的异常改变(表2)。C-反应蛋白(CRP)在低、高剂量组也呈现增加的趋势,但没有统计学差异;CRP 是在感染和组织损伤时血浆浓度快速急剧升高的主要的急性期蛋白,体现了雌激素的作用对大鼠组织造成了一定的损伤。

血清总酸性磷酸酶(TACP)测定主要用于前列

腺癌的诊断和监测,增高主要见于前列腺癌,特别是有转移时,血清酸性磷酸酶可明显增高,前列腺癌经手术及抗雄激素治疗后,血清 TACP 水平缓慢降至正常。

2.4 激素指标

造模后,高剂量组睾酮含量明显增加,与溶媒对照组比较有统计学差异,前列腺特异性抗原(PSA)含量也呈现增加的趋势,但未见统计学差异(表3)。说明雌激素的作用导致大鼠体内激素的不平衡,高剂量组睾酮增加考虑为代偿性增加。其余各项指标与同期溶媒对照相比,均未见能说明与造模有关的异常改变。

PSA 是一种糖蛋白酶,由前列腺腺管上皮细胞分泌,正常人血清含量极微,前列腺癌患者的正常腺管结构遭到破坏是,血清中的 PSA 含量增高,对前列腺癌的诊断、疗效观察和预后判断有主要意义。前列腺炎也可导致 PSA 轻度增高,可做鉴别诊断。

表 1 雌激素诱导的前列腺炎模型大鼠血液学指标的变化
Tab.1 Changes of hematology indices in the estrogen-induced rat models of prostatitis

组别 Groups	数目 Number	白细胞 WBC ($10^9/L$)	红细胞 RBC ($10^{12}/L$)	血红蛋白 HGB (g/dL)	红细胞压积 HCT (%)	血小板 PLT ($10^9/L$)	平均红 细胞体积 MCV(μL)	平均血红蛋 白含量 MCH(pg)
溶媒对照组 Solvent control group	10	5.01 ± 1.88	6.54 ± 0.30	12.34 ± 0.66	33.97 ± 1.80	719.60 ± 69.92	51.80 ± 0.63	18.86 ± 0.38
低剂量组 Low dose group	10	2.91 ± 0.98 **	6.10 ± 0.37 **	11.09 ± 0.48 **	31.36 ± 1.37 **	693.40 ± 49.20	51.40 ± 1.58	18.23 ± 0.73 *
高剂量组 High dose group	10	2.38 ± 0.63 **	5.56 ± 0.50 **	10.22 ± 0.77 **	29.07 ± 2.26 **	733.50 ± 46.27	52.40 ± 1.58	18.47 ± 0.78

注:与溶媒对照相比; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 雌激素诱导的前列腺炎模型大鼠血清生化指标的变化
Tab.2 Changes of serum biochemical indices in the estrogen-induced rat models of prostatitis

组别 Groups	数目 Number	钙 Ca (mmol/L)	免疫球 蛋白 G IgG (g/L)	免疫球 蛋白 M IgM (g/L)	C-反应 蛋白 CRP (mg/L)	镁 Mg (mmol/L)	总酸性 磷酸酶 TACP(U/L)	前列腺酸性 磷酸酶 PAP(U/L)
溶媒对照组 Solvent control group	10	2.00 ± 0.27	2.04 ± 0.17	0.20 ± 0.06	0.82 ± 0.97	0.97 ± 0.08	10.08 ± 2.32	6.00 ± 1.18
低剂量组 Low dose group	10	2.14 ± 0.25	2.23 ± 0.30	0.22 ± 0.05	1.17 ± 1.05	1.00 ± 0.12	3.03 ± 0.66 **	1.58 ± 0.71 **
高剂量组 High dose group	10	2.11 ± 0.13	2.15 ± 0.21	0.21 ± 0.09	1.58 ± 1.27	1.02 ± 0.04	3.63 ± 3.03 **	2.30 ± 1.26 **

注:与溶媒对照相比; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 3 雌激素诱导的前列腺炎模型大鼠激素指标的变化**Tab. 3** Changes of hormonal indices in the estrogen-induced rat models of prostatitis

组别 Groups	数目 Number	Testosterone (ng/mL)	PSA (ng/mL)
溶媒对照组 Solvent control group	10	1.34 ± 0.53	16.29 ± 4.27
低剂量组 Low dose group	10	1.85 ± 1.11	21.60 ± 7.81
高剂量组 High dose group	10	2.84 ± 1.65**	30.67 ± 14.93

注:与溶媒对照组相比: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.5 病理学指标

与溶媒对照组比较,低、高剂量组胸腺、脾脏以及胸腺和脾脏的脏器系数均明显降低外,考虑为雌激素作用的结果;各脏器重量和系数均未见明显变化(表 4、表 5)。

2.6 SD 大鼠雌激素诱导的前列腺炎模型组织病理学变化

前列腺组织:溶媒对照组和模型组表面未见明显差异。光学显微镜下观察:溶媒对照组前列腺组织结构完整、腺腔和间质无炎性细胞浸润。而高剂量组和低剂量组模型组的前列腺间质可见炎细胞

浸润(图 1 见彩插 2)。

其他脏器:与溶媒对照组相比,低、高剂量组大鼠脾脏均可见棕黄色颗粒沉淀,其余脏器无明显改变(图 2 见彩插 2)。

3 讨论

目前前列腺炎的发病机制主要集中在病原体感染、免疫机制、神经内分泌机制、氧化应激、尿液返流等,每一种因素都有其依据,且有一定的关联性。研究表明,雌激素可以诱导前列腺炎发生慢性炎症。Sugimoto 等^[2]将雄性 Wistar 大鼠,去势、每天皮下注射 17 β -雌二醇。第 31 天,模型组前列腺的 IL-1 β 、TNF- α 升高,前列腺和尿中的一系列炎症趋化因子如单核细胞趋化蛋白-1 (CCL2/MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白 1 α (CCL3/MIP-1 α)、细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子-1 (CXCL1/CINC-1)、细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子-2 (CXCL3/CINC-2) 和类趋化因子配体 (CXCL5/LI) 都升高。Kim 采用同样的方法也诱导了炎症^[3]。本实验通过雌二醇诱导 SD 雄鼠慢性前列腺炎模型,探讨雌二醇诱导慢性前列腺炎内环境改变的关联性作用。

表 4 雌激素诱导的前列腺炎模型大鼠脏器指标的变化**Tab. 4** Changes of organ weights in the estrogen-induced rat models of prostatitis

组别 Groups	数目 Number	胸腺 Thymus (g)	脾脏 Spleen (g)	前列腺 Prostate (g)	精囊腺 Seminal vesicle (g)	包皮腺 Preputial glands (g)	肛门括约肌 Anal sphincter (g)	提肛肌 Levator ani (g)
溶媒对照组 Solvent control group	10	0.62 ± 0.11	0.84 ± 0.09	0.23 ± 0.14	0.23 ± 0.13	0.10 ± 0.05	0.42 ± 0.09	0.12 ± 0.04
低剂量组 Low dose group	10	0.36 ± 0.09**	0.57 ± 0.05**	0.21 ± 0.09	0.18 ± 0.04	0.10 ± 0.05	0.42 ± 0.08	0.10 ± 0.03
高剂量组 High dose group	10	0.31 ± 0.08**	0.68 ± 0.16**	0.31 ± 0.29	0.17 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.46 ± 0.05	0.12 ± 0.03

注:与溶媒对照组相比: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 5 雌激素诱导的前列腺炎模型大鼠脏器系数的变化**Tab. 5** Changes of organ weight coefficients in the estrogen-induced rat models of prostatitis

组别 Groups	数目 Number	胸腺 Thymus	脾脏 Spleen	前列腺 Prostate	精囊腺 Seminal vesicle	包皮腺 Preputial glands	肛门括约肌 Anal sphincter	提肛肌 Levator ani
溶媒对照组 Solvent control group	10	0.15 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.03	0.02 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.03 ± 0.01
低剂量组 Low dose group	10	0.10 ± 0.02**	0.16 ± 0.02**	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.03 ± 0.01
高剂量组 High dose group	10	0.09 ± 0.02**	0.19 ± 0.05	0.09 ± 0.08	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.13 ± 0.01**	0.03 ± 0.01

注:与溶媒对照组相比: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

CRP 是一种急性时相反应蛋白由肝细胞合成^[4],当机体有局部炎性反应或组织损伤刺激时可刺激肝脏 CRP 合成、分泌,肝脏合成的 CRP 可以从血清迁移到其他组织器官中去并结合到炎性反应受损部位。检测 CRP 对于疾病诊断虽无特异性,但其浓度上升是各种细菌性炎性反应或组织损伤的灵敏指标。同时也是鉴别细菌感染和病毒感染的良好指标^[5]。细菌感染时 CRP 可明显增高,且增高的程度和感染的严重程度呈正比^[6]。同样在患前列腺炎、睾丸炎、精囊炎等情况下精液 CRP 的含量升高^[7],同时由于炎性反应刺激也大大增多。本研究显示低、高剂量组 CRP 水平增加,体现了造模对大鼠前列腺组织造成的损伤,这与庄顺红等^[8]研究结果相符合。

前列腺特异性抗原(PSA)是前列腺腺管上皮细胞分泌的一种糖蛋白,它虽是前列腺的一种特殊物质,但却不是前列腺癌的专一特异性物质。正常人血清中含量极微,前列腺癌患者的正常腺管结构遭到破坏是,血清中的 PSA 含量增高。前列腺炎也可导致 PSA 轻度增高,可做鉴别诊断。本研究中血清 PSA 含量也有一定的升高,但没有统计学意义,认为在慢性前列腺炎中可以引起 PSA 轻度升高。Nadler 等^[9]研究发现在慢性前列腺炎中血清 PSA 升高,但和对照组相比没有显著差异。而 Korrovits 等^[10]研究认为在无临床症状前列腺炎中血清中 PSA 水平升高可作为无临床症状前列腺炎的生物标志物。

前列腺是雄激素作用的靶器官,血清睾酮对前列腺的生长和生理功能的维持有重要作用,也是前列腺组织中 DHT 的重要来源。在大鼠模型建立过程中发现阉割或雄激素水平下降能够引起前列腺炎;给予略高于生理剂量的睾酮能降低雌二醇诱导的炎症发生率并且能减轻炎症程度。Emrah 等^[11]在探索雌、雄激素比例对大鼠前列腺中炎症和上皮细胞的影响时发现,雄激素缺乏会剂量依赖性的升高外周血和基质炎症浸润的数量。本研究中睾酮与对照组相比水平升高,可能是代偿性升高,相关原因有待进一步研究。

本研究结果显示大鼠去势后前列腺重量降低,说明大鼠体内雄激素水平较低时,不能维持前列腺自身的发育。这和刘向云等^[12]研究结果一致。胸腺是 T 淋巴细胞分化成熟的中枢免疫器官,胸腺系数是衡量胸腺功能正常与否的一项重要指标。脾

脏是动物体内最大的淋巴器官。给予雌激素后,前列腺重量没有变化,但胸腺和脾脏的脏器重量和脏器系数与对照组相比发生明显变化,说明雌激素诱导的前列腺炎属于免疫性疾病,影响大鼠的免疫器官的生长发育。

综上所述,雌二醇诱导的慢性前列腺炎可以导致体内内环境发生一系列的改变,有望为其治疗和研究提供一条实验性途径。

参考文献:

- [1] Vykhoanets EV, Resnick MI, MacLennan GT, et al. Experimental rodent models of prostatitis: limitations and potential [J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2007, 10(1): 15 - 29.
- [2] Sugimoto M, Oka M, Tsunemori H, et al. Effect of a phytotherapeutic agent, Eviprostat, on prostatic and urinary cytokines/chemokines in a rat model of nonbacterial prostatitis [J]. Prostate, 2011, 71(4):438 - 444.
- [3] Kim DS, Lee EJ, Cho KS, et al. Preventive effects of oligomerized polyphenol on estradiol-induced prostatitis in rats [J]. Yonsei Med J, 2009, 50(3): 391 - 398.
- [4] Hurlimann J, Thorbecke GJ, Hochwald GM, et al. The liver as the site of C-reactive protein formation [J]. J Exp Med, 1996, 123(2): 365.
- [5] 杨卫东. 外科手术中 CRP 检测应用的探讨 [J]. 赣南医学院学报, 2001, 21(21):52 - 53.
- [6] 梁景云, 谢智光. C - 反应蛋白在临床中的应用价值 [J]. 检验医学与临床, 2009, 6(1):13.
- [7] 储怡星. C-反应蛋白水平对判断炎症和创伤转归的价值 [J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(3):155.
- [8] 庄顺红, 马拥军, 马闪珊, 等. 前列腺液锌含量与高敏 C 反应蛋白检测在前列腺炎中的应用价值 [J]. 检验医学, 2009, 24(2):137 - 138.
- [9] Nadler RB, Collins MM, Propert KJ, et al. Prostate-specific antigen test in diagnostic evaluation of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome [J]. Urology, 2006, 67:337 - 342.
- [10] Korrovits P, Ausmees K, Mndar R, et al. Seminal interleukin-6 and serum prostate-specific antigen as possible predictive biomarkers in asymptomatic inflammatory prostatitis [J]. Urology, 2011, 78(2):442 - 446.
- [11] Yatkin E, Bernoulli J, Talvitie EM, et al. Inflammation and epithelial alterations in rat prostate: impact of the androgen to oestrogen ratio [J]. Andrology, 2008, 32:399 - 410.
- [12] 刘向云, 邱晓燕, 吴建辉, 等. 雌/雄激素比例对去势大鼠前列腺体积及其脏器系数的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(2):129 - 132.