

桂枝茯苓胶囊抗良性前列腺增生作用机制研究

张亚萍¹, 王红梅², 谢雪², 肖伟², 王振中^{2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 探讨桂枝茯苓胶囊对大鼠良性前列腺增生(BPH)的作用机制。方法 72只雄性SPF级SD大鼠随机分为6组: 对照组、模型组、非那雄胺(阳性药, 2 mg·kg⁻¹)组和桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量(0.87、1.74、3.47 g·kg⁻¹)组, 每组12只; 除对照组外, 其余5组sc雌、雄激素(0.05 mg·kg⁻¹苯甲酸雌二醇和4 mg·kg⁻¹丙酸睾酮), 每天1次, 连续28 d, 建立BPH模型。同时ig给予药物, 每天给药1次, 连续给药28 d。HE染色观察前列腺组织病理变化; ELISA法检测血清中双氢睾酮(DHT)、雌二醇(E₂)和前列腺中DHT、E₂、转化生长因子β1(TGF-β1)、表皮生长因子(EGF)的水平; Western blotting检测前列腺中增殖细胞核抗原(PCNA)、雄激素受体(AR)、雌激素受体α(ERα)、胰岛素样生长因子(IGF-1)、成纤维细胞生长因子7(FGF-7)、缺氧诱导因子1α(HIF-1α)和血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达水平; 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测前列腺中PCNA、FGF-7、IGF-1和VEGF mRNA表达水平。结果 与对照组比较, 模型组前列腺指数显著增加(P<0.01), 前列腺上皮厚度显著增加(P<0.01), 前列腺显著增生, 间质充血、水肿; 血清中DHT和前列腺中DHT、E₂、EGF水平显著升高(P<0.05、0.01); 前列腺中TGF-β1水平显著降低(P<0.05), PCNA、AR、ERα、FGF-7、IGF-1、HIF-1α和VEGF蛋白表达水平及PCNA、FGF-7、IGF-1和VEGF mRNA表达水平显著升高(P<0.05、0.01)。与模型组比较, 桂枝茯苓胶囊高剂量显著降低前列腺指数(P<0.05), 各剂量均显著减小前列腺上皮厚度(P<0.01), 减轻间质充血、水肿; 桂枝茯苓胶囊低剂量显著升高前列腺中TGF-β1水平, 显著降低EGF水平(P<0.05)以及PCNA、FGF-7、VEGF mRNA的表达(P<0.01), 显著下调前列腺中AR蛋白表达水平(P<0.05); 中剂量能显著升高前列腺中TGF-β1水平, 显著降低EGF水平(P<0.05、0.01)以及PCNA、VEGF mRNA的表达水平(P<0.01), 显著下调IGF-1蛋白表达水平(P<0.05); 高剂量显著升高前列腺中TGF-β1水平, 显著降低血清中DHT水平、前列腺中DHT、E₂、EGF水平(P<0.05、0.01)以及PCNA、FGF-7、IGF-1和VEGF mRNA的表达水平(P<0.01), 显著下调PCNA、AR、ERα、FGF-7、IGF-1、HIF-1α和VEGF蛋白表达(P<0.05、0.01)。结论 桂枝茯苓胶囊对BPH有明显的治疗作用, 其作用机制可能包括降低DHT、E₂水平, 抑制E₂与ERα结合及AR信号通路; 并且升高TGF-β1水平、降低EGF水平, 抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡, 下调FGF-7、IGF-1、HIF-1α和VEGF生长因子的表达, 抑制细胞增殖与血管生成。

关键词: 良性前列腺增生; 桂枝茯苓胶囊; 生长因子; 激素; 增殖; 血管生成

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)07-1472-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.07.010

Study on mechanism of Guizhi Fuling Capsule treating benign prostatic hyperplasia

ZHANG Yaping¹, WANG Hongmei², XIE Xue², XIAO Wei², WANG Zhenzhong²

1. College of Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Guizhi Fuling capsule on benign prostatic hyperplasia (BPH) in rats. **Methods** 72 male SPF SD rats were randomly divided into six groups: control group, model group, finasteride (positive drug, 2 mg·kg⁻¹) and Guizhi Fuling Capsules low-dose, medium-dose and high-dose (0.87, 1.74, 3.47 g·kg⁻¹) groups, with 12 rats in each group. Except the control group, the other five groups were given male and female hormones (0.05 mg·kg⁻¹ estradiol benzoate and 4 mg·kg⁻¹ testosterone propionate), once a day for 28 d, and the BPH model was established. At the same time, the therapeutic drug was given

收稿日期: 2023-04-03

基金项目: 2021年国家中医药管理局岐黄学者项目(国中医药人教函[2022]6号)

第一作者: 张亚萍, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 1054078968@qq.com

*通信作者: 王振中, 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药新药研发及应用研究。E-mail: kyywzz@163.com

by ig, with a volume of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, once a day, for 28 d. The pathological changes of prostate tissue were observed by HE staining. The contents of DHT and E_2 in serum, DHT, E_2 , TGF- $\beta 1$ and EGF in prostate tissue were detected by ELISA. The protein expressions of PCNA, AR, ER α , IGF-1, FGF-7, HIF-1 α and VEGF in prostate were detected by Western blotting. The mRNA expression of *PCNA*, *FGF-7*, *IGF-1* and *VEGF* in prostate was detected by qRT-PCR. **Results** Compared with control group, the prostate index and epithelial thickness of prostate in the model group were significantly increased ($P < 0.01$), the prostatic hyperplasia, interstitial congestion and edema were significantly increased, and the contents of DHT in serum and DHT, E_2 and EGF in prostate were significantly increased ($P < 0.05$ and 0.01). The content of TGF- $\beta 1$ in prostate was significantly decreased ($P < 0.05$), and the protein expression levels of PCNA, AR, ER α , FGF-7, IGF-1, HIF-1 α and VEGF and the mRNA expression levels of *PCNA*, *FGF-7*, *IGF-1* and *VEGF* in prostate were significantly increased ($P < 0.05$ and 0.01). Compared with the model group, the high-dose group of Guizhi Fuling Capsule significantly reduced the prostate index ($P < 0.05$), while the low-dose, medium, and high-dose groups significantly reduced the thickness of the prostate epithelium ($P < 0.01$), reducing prostate hyperplasia, interstitial congestion, and edema. The low-dose group of Guizhi Fuling Capsule significantly increased TGF- $\beta 1$ content in the prostate gland, significantly reducing EGF content ($P < 0.05$) and the expression of PCNA, FGF-7, and VEGF mRNA ($P < 0.01$), significantly downregulating the expression level of AR protein in the prostate ($P < 0.05$). The medium dose group of Guizhi Fuling Capsule can significantly increase TGF- $\beta 1$ content in the prostate gland, significantly reducing EGF content ($P < 0.05$ and 0.01) and the expression levels of *PCNA* and *VEGF* mRNA ($P < 0.01$), significantly downregulating the expression level of IGF-1 protein ($P < 0.05$). The high-dose group of Guizhi Fuling Capsule significantly increased TGF- $\beta 1$ content in the prostate gland, significantly reducing the levels of DHT in serum, DHT, E_2 , EGF in prostate ($P < 0.05$ and 0.01), as well as the expression levels of *PCNA*, *FGF-7*, *IGF-1*, and *VEGF* mRNA ($P < 0.01$), significantly downregulating PCNA, AR, ER α , FGF-7, IGF-1, HIF-1 α and VEGF protein expression ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** Guizhi Fuling capsule has obvious therapeutic effect on benign prostatic hyperplasia, which may reduce DHT and E_2 content, inhibit E_2 and ER α binding and AR signaling pathway. Moreover, it increased the content of TGF- $\beta 1$ and decreased the content of EGF, inhibited cell proliferation and induced cell apoptosis, down-regulated the expression of FGF-7, IGF-1, HIF-1 α and VEGF growth factors, and inhibited cell proliferation and was related to angiogenesis.

Key words: benign prostatic hyperplasia; Guizhi Fuling Capsule; growth factor; hormones; proliferation; angiogenesis

良性前列腺增生症(BPH)是一种男性常见的慢性泌尿系统疾病,发病率随着年龄增加而逐渐增加^[1],常见临床症状包括尿频、尿急、夜尿症、尿犹豫和排尿功能减弱^[2],严重影响男性生活质量^[3]。中医认为BPH属于癃闭病的范畴^[4]。“正气存内,邪不可干,邪之所凑,其气必虚”,肾虚气弱是BPH的发病基础,肾虚气弱,肾之阴阳不足,排精泄浊的功能也随之降低,久而久之蓄血淤阻,此又为本病发病之关键^[5-6]。因此,以肾虚为本,痰浊、瘀血为标,肾虚血瘀为其基本病机特点。

桂枝茯苓胶囊由桂枝、茯苓、牡丹皮、白芍和桃仁五味组成,源于《金匱要略》中桂枝茯苓丸,具有活血、化瘀、消癥的作用,可用于治疗BPH属淤阻膀胱症,临床疗效显著^[7-9]。但是,目前缺少对桂枝茯苓胶囊治疗BPH的相关机制研究。根据前期实验与文献报道^[10],建立大鼠BPH模型,通过检测大鼠性激素水平、生长因子及蛋白表达水平,探讨桂枝茯苓胶囊治疗BPH作用机制,为临床治疗BPH提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠72只,体质量180~220 g,

由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证SCXK(京)2019-0010。动物饲养于江苏康缘药业股份有限公司动物屏障系统,自然昼夜节律光照,自由活动、饮水、进食。所有实验步骤根据江苏康缘药业股份有限公司动物伦理委员会指导方针施行(批准号2022070801)。

1.2 药品与主要试剂

桂枝茯苓胶囊,由江苏康缘药业股份有限公司提供,批号220501;非那雄胺片,杭州康恩贝制药有限公司,批号24220129;苯甲酸雌二醇注射液(批号210429)、丙酸睾酮注射液(批号210526),购自宁波第二激素厂;双氢睾酮(DHT)ELISA试剂盒(批号EK1771),购自美国SAB公司; β -肌动蛋白(β -actin)抗体(货号ab227387)、增殖细胞核抗原(PCNA)抗体(货号ab92552)、雄激素受体(AR)抗体(货号ab133273)、雌激素受体 α (ER α)抗体(货号ab32063)、成纤维细胞生长因子7(FGF-7)抗体(货号ab131162)、胰岛素样生长因子(IGF-1)抗体(货号ab182408),购自英国Abcam公司;缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)抗体(货号PA3-16521)、血管内皮生长因子(VEGF)抗体(货号MA1-16629),购自美国Invitrogen公司;玉米油(批号1209G023)、转化生长

因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)ELISA试剂盒(货号SERK-0012),购自北京索莱宝科技有限公司;表皮生长因子(EGF)ELISA试剂盒(货号D731056)、雌二醇(E_2)ELISA试剂盒(货号D741007)、大鼠GAPDH引物(货号B661204),购自生工生物工程(上海)股份有限公司;RIPA裂解液(货号P0013B)、BCA试剂盒(货号P0010)、HE染色试剂盒(货号C0105S),购自南京碧云天生物科技有限公司;MiniBEST Universal RNA Extraction Kit(批号AL40413A)、PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser(批号AL61877A)、TB Green R Premix Ex TaqTM II(批号ALE2092A),购自日本Takara公司。

1.3 主要仪器

Flex Station 3型酶标仪(美国Molecular Devices公司);Universal Hood II型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);LEICA HI1210型组织切片机、DM4000B正置荧光显微镜(德国Leica公司);KD-BM型生物组织包埋机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);Tissuelyser-24型全自动样品快速研磨仪(上海净信实业发展有限公司);NaNodrop-2000型超微量核酸蛋白测定仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);AB StepOnePlus型实时荧光定量PCR仪(美国Applied biosystems公司);ACS型电子秤(上海乾峰电子仪器有限公司);Melo4E型电子天平[梅特勒托利多科技(中国)有限公司]。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

72只雄性SPF级SD大鼠,适应性饲养7 d后随机分为6组:对照组、模型组、非那雄胺(阳性药,2 mg·kg⁻¹)组和桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量(0.87、1.74、3.47 g·kg⁻¹)组,每组12只。除对照组外,其余5组sc雌、雄激素(0.05 mg·kg⁻¹苯甲酸雌二醇和4 mg·kg⁻¹丙酸睾酮),体积为1 mL·kg⁻¹,每天1次,连续28 d,建立BPH模型。同时对照组、模型组ig给予双蒸水,非那雄胺组和桂枝茯苓胶囊组ig给予对应药物,体积为10 mL·kg⁻¹,每天给药1次,连续给药28 d。

2.2 组织样本采集及处理

动物末次给药后禁食12 h,称质量,麻醉后腹主动脉采血,室温静置30 min后,4℃、3 000 r·min⁻¹离心15 min取上清,分装后-80℃保存。取前列腺,测量湿质量,计算前列腺指数,纵切一半前列腺于10%甲醛中固定,用于HE染色进行前列腺病理情况检测;其余部分-80℃冰箱保存。

前列腺指数=前列腺质量/大鼠体质量×1 000

2.3 组织病理学

取前列腺,10%甲醛固定72 h后,在梯度乙醇中进行脱水,石蜡包埋机包埋,用组织切片机切成6 μm的薄片,进行HE染色,显微镜下观察组织病理学变化,并用Image J软件对前列腺上皮厚度进行统计分析。

2.4 ELISA法检测血清中DHT、 E_2 以及前列腺中DHT、 E_2 、TGF- $\beta 1$ 及EGF水平

按照对应试剂盒说明书检测血清中DHT、 E_2 水平。定量称取前列腺,用预冷的PBS洗2次,剪碎按1:10加入预冷PBS匀浆,4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清。按对应试剂盒说明书检测前列腺中DHT、 E_2 、TGF- $\beta 1$ 及EGF水平。

2.5 Western blotting法检测大鼠前列腺中PCNA、AR、ER α 、IGF-1、EGF、HIF-1 α 及VEGF蛋白表达

定量称取前列腺,用预冷的PBS洗2次,加入RIPA裂解液,匀浆,4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清。使用BCA试剂盒测定蛋白质浓度。将30 g蛋白样品在聚丙烯酰胺预制凝胶中电泳,然后转移到PVDF膜上。在TBST配制的5%脱脂牛奶中封闭1 h,加入TBST稀释的一抗(PCNA、AR、ER α 、FGF-7、IGF-1、VEGF、HIF-1 α 以及内参 β -actin),4℃环境下孵育过夜。洗涤后,加入二抗,在室温下孵育1 h。洗涤后,加入ECL,在化学发光成像仪上显色。使用Image J软件分析蛋白条带,以目的条带与内参条带灰度值的比值作为统计数据,并进行归一化。

2.6 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测大鼠前列腺中PCNA、IGF-1、FGF-7及VEGF mRNA表达水平

定量称取前列腺,根据Takara试剂盒说明提取总RNA并定量,反转录合成cDNA。配制20 μL PCR反应体系,以GAPDH为内参对照,用StepOnePlus实时PCR仪进行检测,按 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算各基因相对表达量。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,引物序列见表1。

2.7 统计方法

数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用GraphPad Prism 9.3软件作图和统计分析,两组间比较采用Student's *t*检验。

3 结果

3.1 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺组织病理学的影响

如图1、2所示,对照组前列腺腺体大小基本一

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列(3'→5')	长度/bp
PCNA 正向	TGGACTTAGACGTTGAGCAACTGG	133
反向	GCACAGGAGATCACCACAGCATC	
FGF-7 正向	ATCCTGCCGACTCCGCTCTAC	96
反向	CGTCTGCTCTGGACTCATGTCATTG	
IGF-1 正向	GGCACCACAGACGGGCATTG	85
反向	CTTCAGCGGAGCACAGTACATCTC	
VEGF 正向	CACCAAAGCCAGCACATAGGAGAG	144
反向	CTGCGGATCTTGGACAAACAAATGC	

致,排列清楚,上皮细胞呈单层柱状,表面光滑,分泌物极少;与对照组比较,模型组前列腺指数显著增加($P<0.01$),前列腺腺体增生明显,腺腔面积显著增大,腺上皮细胞厚度显著增加($P<0.01$),间质充血、水肿。与模型组比较,桂枝茯苓胶囊低剂量组前列腺指数减小,前列腺腺体中度增生,腺腔面积显著增大,腺上皮细胞厚度显著减小($P<0.01$),间质轻微充血、水肿;桂枝茯苓胶囊中剂量组前列腺指数减小,腺体轻度增生,腺腔面积轻度增大,腺

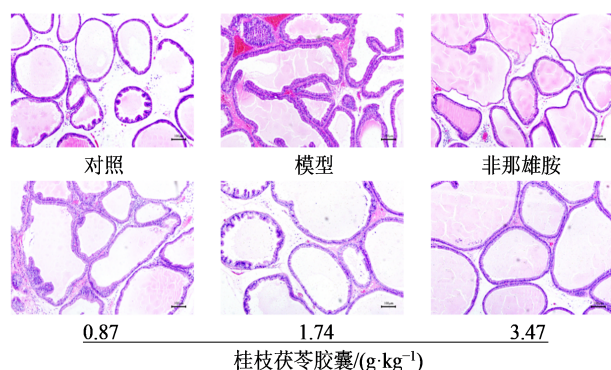


图1 桂枝茯苓胶囊对大鼠前列腺组织病理形态的影响(HE染色, $\times 100$)

Fig. 1 Effect of Guizhi Fuling Capsule on pathological morphology of prostate tissue in BPH rats (HE staining, $\times 100$)

表2 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠血清中DHT、E₂以及前列腺中DHT、E₂、TGF- β 1、EGF水平的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 2 Effect of Guizhi Fuling Capsule on contents of DHT, E₂ in serum and DHT, E₂, TGF- β 1 and EGF in prostate of BPH rats ($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	血清		前列腺			
		DHT/(ng·mL ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	DHT/(ng·mL ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	TGF- β 1/(ng·mL ⁻¹)	EGF/(ng·mL ⁻¹)
对照		33.76 $\pm$ 5.34	45.40 $\pm$ 11.80	1.02 $\pm$ 0.23	5.08 $\pm$ 1.71	0.73 $\pm$ 0.34	2.24 $\pm$ 0.85
模型		90.11 $\pm$ 10.27 ^{##}	45.42 $\pm$ 8.06	2.19 $\pm$ 0.28 ^{##}	6.92 $\pm$ 1.59 [#]	0.37 $\pm$ 0.18 [#]	3.20 $\pm$ 0.64 [#]
非那雄胺	0.002	74.82 $\pm$ 10.77 ^{**}	49.28 $\pm$ 13.40	2.11 $\pm$ 0.74	6.45 $\pm$ 2.11	0.81 $\pm$ 0.31 ^{**}	2.72 $\pm$ 0.93
桂枝茯苓	0.87	79.78 $\pm$ 18.55	49.09 $\pm$ 12.24	1.91 $\pm$ 0.49	6.47 $\pm$ 2.33	0.62 $\pm$ 0.21 [*]	2.55 $\pm$ 0.49 [*]
胶囊	1.74	78.48 $\pm$ 22.90	48.39 $\pm$ 5.70	1.90 $\pm$ 0.50	6.29 $\pm$ 1.43	0.93 $\pm$ 0.26 ^{**}	2.47 $\pm$ 0.55 [*]
	3.47	78.32 $\pm$ 6.94 [*]	47.38 $\pm$ 9.04	1.84 $\pm$ 0.16 [*]	5.22 $\pm$ 0.96 ^{**}	0.69 $\pm$ 0.20 ^{**}	2.43 $\pm$ 0.63 [*]

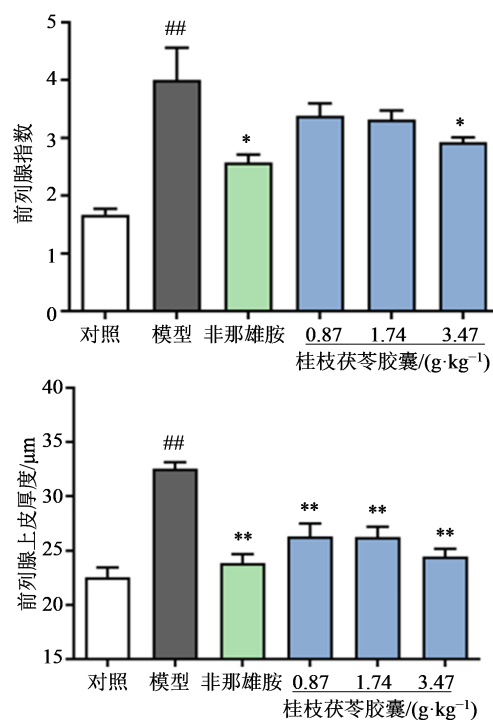
与对照组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

上皮细胞厚度显著减小($P<0.01$),间质轻微水肿;桂枝茯苓胶囊高剂量组前列腺指数显著减小($P<0.05$),腺体轻度增生,腺腔面积轻度增大,腺上皮细胞厚度显著减小($P<0.01$),结构趋于正常。

3.2 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠血清中DHT、E₂和前列腺中DHT、E₂、TGF- β 1及EGF水平的影响

如表2所示,与对照组比较,模型组血清中DHT和前列腺中DHT、E₂、EGF水平显著升高($P<0.05$ 、0.01),前列腺中TGF- β 1水平显著降低($P<0.05$);



与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

图2 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺指数、前列腺上皮厚度的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Fig. 2 Effect of Guizhi Fuling Capsule on prostate index and prostate epithelial thickness of BPH rats ($\bar{x}\pm s, n=12$)

与模型组比较,桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量组前列腺中TGF- β 1水平显著升高($P<0.05, 0.01$),EGF水平显著降低($P<0.05$);高剂量组血清中DHT、前列腺中DHT和E₂水平显著降低($P<0.05, 0.01$)。

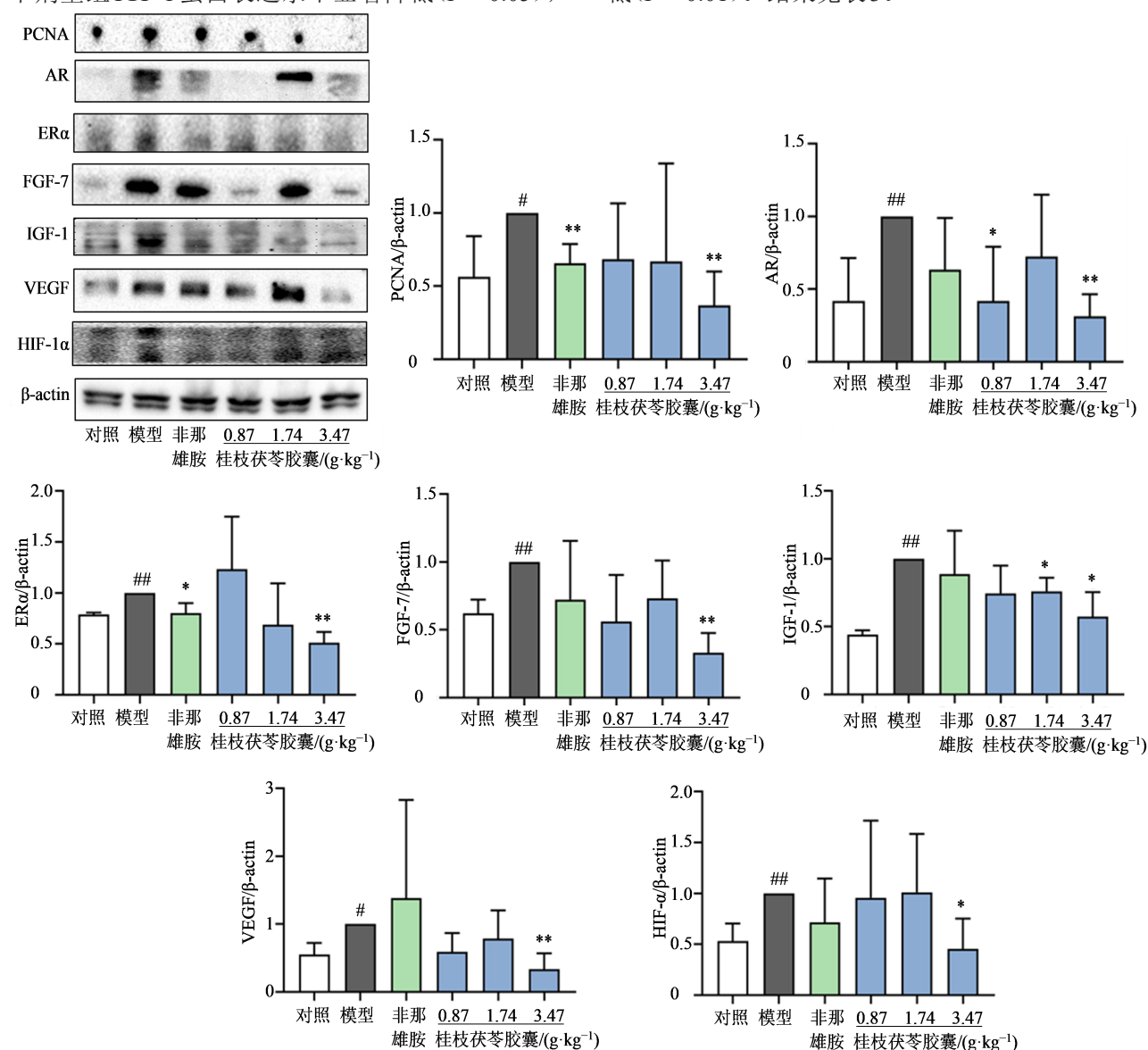
3.3 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺中PCNA、AR、ER α 、FGF-7、IGF-1、HIF-1 α 及VEGF蛋白表达的影响

如图3所示,与对照组比较,模型组PCNA、AR、ER α 、FGF-7、IGF-1、HIF-1 α 、VEGF蛋白表达水平显著升高($P<0.05, 0.01$);与模型组比较,桂枝茯苓胶囊低剂量组AR蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),中剂量组IGF-1蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),

高剂量组PCNA、AR、ER α 、FGF-7、IGF-1、HIF-1 α 、VEGF蛋白表达水平显著降低($P<0.05, 0.01$)。

3.4 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺中PCNA、IGF-1、FGF-7及VEGF mRNA表达的影响

与对照组比较,模型组PCNA、IGF-1、FGF-7及VEGF mRNA表达显著升高($P<0.01$);与模型组比较,桂枝茯苓胶囊低剂量组PCNA、FGF-7和VEGF mRNA表达显著降低($P<0.01$);中剂量组PCNA和VEGF mRNA表达显著降低($P<0.01$);高剂量组PCNA、IGF-1、FGF-7和VEGF mRNA表达显著降低($P<0.01$)。结果见表3。



与对照组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

$P<0.01$ * $P<0.05$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

图3 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺中PCNA、AR、ER α 、FGF-7、IGF-1、HIF-1 α 及VEGF蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of Guizhi Fuling Capsule on expression of PCNA, AR, ER α , FGF-7, IGF-1, HIF-1 α and VEGF protein in prostate of BPH rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

表3 桂枝茯苓胶囊对BPH大鼠前列腺中PCNA、IGF-1、FGF-7及VEGF mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)
Table 3 Effect of Guizhi Fuling Capsule on mRNA expression of PCNA, IGF-1, FGF-7 and VEGF in prostate of BPH rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量			
		PCNA	IGF-1	FGF-7	VEGF
对照	—	1.00	1.00	1.00	1.00
模型	—	1.85±0.26 ^{##}	5.07±1.04 ^{##}	1.99±0.30 ^{##}	1.78±0.09 ^{##}
非那雄胺	0.002	0.83±0.17 ^{**}	2.24±0.78 ^{**}	1.08±0.15 ^{**}	0.69±0.05 ^{**}
桂枝茯苓	0.87	0.96±0.22 ^{**}	3.54±1.24	1.07±0.05 ^{**}	1.25±0.08 ^{**}
胶囊	1.74	0.84±0.10 ^{**}	3.78±1.37	1.78±0.51	1.52±0.10 ^{**}
	3.47	1.15±0.23 ^{**}	2.29±0.46 ^{**}	1.07±0.19 ^{**}	1.82±0.40 ^{**}

与对照组比较:^{##} $P<0.01$;与模型组比较:^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{**} $P<0.01$ vs model group

4 讨论

桂枝茯苓胶囊中桂枝温通经脉、消除瘀滞;茯苓利水渗湿、消痰健脾,两药配伍具有温经消瘀破肿之功,为君药。桃仁味苦甘平,能祛瘀血,破肿块;牡丹皮既能散血行瘀,又清退瘀久所化之热,为臣药。芍药和血养血,利小便,有活血养血的功效,为佐药。诸药合用,活血化瘀,利水散结,通络,共同达到消癥的作用。赵慧等^[11]对112例BPH患者研究发现,桂枝茯苓胶囊可以通过活血化瘀作用改善BPH症状;表明桂枝茯苓胶囊对BPH具有一定的治疗作用。

前列腺是一个高度依赖于性激素的性附属器官,BPH的发生、发展与雌雄激素有着密不可分的联系^[12]。BPH会导致血清中DHT和前列腺中DHT、E₂、PCNA、AR、ER α 水平显著增加^[13-14]。雄激素与AR结合,通过抑制细胞凋亡及促进细胞增殖作用引起前列腺细胞的增殖凋亡失调,继而导致BPH^[15]。雌激素与不同类型的ER结合发挥促进或抑制BPH的作用,ER α 刺激会导致前列腺异常增生、炎症,而ER β 具有抗增殖和促凋亡的作用^[16]。PCNA可有效反映细胞增殖状态,其水平的不断升高可引起BPH^[17]。本实验结果显示,给予桂枝茯苓胶囊后,大鼠前列腺指数、前列腺上皮厚度显著降低。进一步检测血清中DHT和前列腺中DHT、E₂水平以及前列腺中PCNA、AR、ER α 蛋白表达水平和PCNA mRNA表达水平,发现桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量组能明显降低PCNA mRNA表达水平。此外,低剂量组能显著降低AR蛋白表达;高剂量组能有效降低血清中DHT和前列腺中DHT和E₂的水平以及下调PCNA、AR、ER α 蛋白的表达。表明桂枝茯苓胶囊可有效改善BPH,其机制与降低DHT和E₂

水平,抑制E₂与ER α 结合以及AR信号通路,进而抑制前列腺细胞增殖有关。

生长因子是细胞增殖、分裂和死亡的有效递质,与BPH有着直接联系,而雌、雄激素与生长因子之间联系密切。雄激素和雌激素均可以促进EGF、FGF、IGF的合成,刺激前列腺上皮的生长,导致前列腺细胞增殖^[18-20]。EGF、FGF可以促进细胞分裂导致前列腺上皮细胞增生^[21]。VEGF通过促进细胞增殖、诱导血管生成等,促进BPH的发生发展^[22],而HIF-1 α 调控VEGF的表达^[23],Lekas等^[24]发现BPH患者前列腺中HIF-1 α 和VEGF的表达均显著升高。TGF- β 1抑制上皮细胞和内皮细胞的生长,诱导细胞凋亡,加快FGF的酶解,使其从血液循环中加速排出。EGF和TGF- β 1对前列腺上皮细胞的作用是相反的,EGF具有促进作用,而TGF- β 1具有抑制作用,两种因子相互作用维持前列腺组织的正常形态^[25]。本实验中,与模型组相比,桂枝茯苓胶囊低、中、高剂量显著升高TGF- β 1水平,显著降低EGF水平和VEGF mRNA的表达。此外,低剂量组显著下调FGF-7 mRNA的表达;中剂量组显著下调IGF-1蛋白表达;高剂量组显著下调FGF-7、IGF-1、VEGF、HIF-1 α 蛋白表达和降低FGF-7、IGF-1、VEGF mRNA的表达,抑制前列腺细胞增殖与血管生成,进而治疗BPH。

本实验采用雌、雄激素联合使用建立大鼠BPH模型,桂枝茯苓胶囊给药干预,检测血清中激素和前列腺中激素与相关因子的水平、蛋白表达及mRNA表达水平,探索桂枝茯苓胶囊治疗BPH作用

机制。结果显示,与模型组比较,桂枝茯苓胶囊可以显著降低前列腺指数、前列腺上皮厚度,并且显著降低大鼠血清中DHT、前列腺中DHT、E₂、EGF水平,显著升高前列腺中TGF-β1水平,显著下调大鼠前列腺中PCNA、AR、ERα、FGF-7、IGF-1、HIF-1α和VEGF蛋白的表达以及PCNA、FGF、IGF-1和VEGF mRNA的表达。实验结果中桂枝茯苓胶囊低、中剂量对激素不敏感,对部分生长因子有调节作用,而高剂量既能调节激素又能调节生长因子,原因可能与中药方剂成分复杂,不同剂量导致作用不同有关。综上所述,表明桂枝茯苓胶囊可有效治疗BPH,作用机制与降低DHT、E₂水平,抑制E₂与ERα结合及AR信号通路;并且升高TGF-β1水平并降低EGF水平,抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡,下调FGF-7、IGF-1、HIF-1α和VEGF等生长因子的表达,抑制细胞增殖与血管生成有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Roehrborn C G. Pathology of benign prostatic hyperplasia [J]. Int J Impot Res, 2008, 20(Suppl 3): S11-S18.
- [2] Abdel-Naim A B, Neamatallah T, Eid B G, et al. 2-methoxyestradiol attenuates testosterone-induced benign prostate hyperplasia in rats through inhibition of HIF-1α/TGF-β/Smad2 axis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 4389484.
- [3] Ko I G, Hwang L, Jin J J, et al. Add-on therapy with the α-blockers tamsulosin and naftopidil improves voiding function by enhancing neuronal activity in prostatic hyperplasia rats [J]. Int Neurourol J, 2018, 22 (1): 20-29.
- [4] 郑入文, 蒋静, 宁艳哲, 等. 中医对良性前列腺增生的认识及治疗现状 [J]. 世界中医药, 2017, 12(8): 1974-1978.
Zheng R W, Jiang J, Ning Y Z, et al. Understanding and treatments of traditional Chinese medicine for benign prostatic hyperplasia [J]. World Chin Med, 2017, 12(8): 1974-1978.
- [5] 杨伟, 赵红. 良性前列腺增生症的中医治疗研究进展 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(5): 84-85.
Yang W, Zhao H. Research progress in the treatment of benign prostatic hyperplasia with traditional Chinese medicine [J]. Cardiovasc Dis J Integ Tradit Chin West Med, 2019, 7(5): 84-85.
- [6] 陈广辉, 陈兵, 孙大林, 等. 良性前列腺增生症中医研究进展[A]//第十次全国中西医结合男科学学术大会、第六届广西中医、中西医结合男科学学术大会、全国中西医结合男科疾病诊疗新进展学习班论文集 [C]. 南宁: 中国中西医结合学会男科专业委员会, 2015.
Chen G H, Chen B, Sun D L, et al. Progress in TCM Research on Benign prostatic hyperplasia [A]//The 10th National Conference on Andrology of Integrated Traditional and Western Medicine, the 6th Guangxi Conference on Chinese Medicine and Andrology of Integrated Traditional and Western Medicine, and the National Seminar on New Progress in Diagnosis and Treatment of Andrology of Integrated Traditional and Western Medicine [C] Nanning: Andrology Professional Committee of the Chinese Society of Integrated Traditional and Western Medicine, 2015.
- [7] 周一飞, 何健, 刘爽, 等. 桂枝茯苓胶囊治疗瘀阻膀胱证前列腺增生有效性与安全性的临床研究 [J]. 中国处方药, 2020, 18(5): 126-128.
Zhou Y F, He J, Liu S, et al. Clinical study on the efficacy and safety of Guizhi Fuling capsule in the treatment of benign prostatic hyperplasia with bladder stasis syndrome [J]. J China Prescr Drug, 2020, 18(5): 126-128.
- [8] 王希涛, 郝林, 周祥举, 等. 桂枝茯苓胶囊对前列腺增生模型大鼠的作用效果和机制研究 [J]. 中国男科学杂志, 2021, 35(2): 31-35.
Wang X T, Hao L, Zhou X J, et al. Therapeutic effects of Guizhi Fuling capsules on experimental prostatic hyperplasia in rats [J]. Chin J Androl, 2021, 35(2): 31-35.
- [9] 郝林, 王希涛, 潘铁军, 等. 桂枝茯苓胶囊治疗良性前列腺增生症的临床疗效 [J]. 中国男科学杂志, 2020, 34 (5): 51-54.
Hao L, Wang X T, Pan T J, et al. Clinical efficacy of Guizhi Fuling Capsule in the treatment of benign prostatic hyperplasia [J]. Chin J Androl, 2020, 34(5): 51-54.
- [10] 韩亮, 王彬, 张新荣, 等. 良性前列腺增生实验模型述评 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(2): 227-235.
Han L, Wang B, Zhang X R, et al. Experimental models of benign prostatic hyperplasia: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(2): 227-235.
- [11] 赵慧, 韩胜, 杜凌云, 等. 桂枝茯苓胶囊对前列腺增生患者临床症状、睡眠质量及生活质量的影响 [J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(7): 92-96.
Zhao H, Han S, Du L Y, et al. Effects of rumulus ginnamomi tuckahoe capsule on clinical symptoms, sleep quality and life quality in treatment of patients with prostatic hyperplasia [J]. Med Pharm J Chin People's Liberation Army, 2019, 31(7): 92-96.

- [12] Miao L, Jiao C Y, Shao R, et al. Bakuchiol suppresses oestrogen/testosterone-induced benign prostatic hyperplasia development through up-regulation of epithelial estrogen receptor β and down-regulation of stromal aromatase [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 381: 114637.
- [13] Park W Y, Song G, Park J Y, et al. Ellagic acid improves benign prostate hyperplasia by regulating androgen signaling and STAT3 [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13 (6): 554.
- [14] 陈涛, 陈镜楼, 黄文涛. 表儿茶素没食子酸酯对雄性大鼠良性前列腺增生的改善作用 [J]. *医药导报*, 2020, 39 (12): 1636-1641.
Chen T, Chen J L, Huang W T. Ameliorative effects of (-)-epicatechin gallate on benign prostatic hyperplasia in male rats [J]. *Her Med*, 2020, 39(12): 1636-1641.
- [15] Yadav N, Heemers H V. Androgen action in the prostate gland [J]. *Italian J Urol Nephrol*, 2012, 64(1): 35-49.
- [16] Nicholson T M, Ricke W A. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: Past, present and future [J]. *Differentiation*, 2011, 82(4/5): 184-199.
- [17] 李亮. 前列舒通胶囊联合特拉唑嗪对III型慢性前列腺炎患者前列腺液中细胞因子的影响 [J]. *中国民康医学*, 2020, 32(20): 103-105.
Li L. Effects of Qianlie Shutong capsules combined with Terazosin on cytokines in prostate fluid of patients with chronic prostatitis [J]. *Med J Chin People's Health*, 2020, 32(20): 103-105.
- [18] Carson C, Rittmaster R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia [J]. *Urology*, 2003, 61(4 Suppl 1): 2-7.
- [19] Lau K M, To K F. Importance of estrogenic signaling and its mediated receptors in prostate cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): E1434.
- [20] Yang B Y, Jiang C Y, Dai C Y, et al. 5-ARI induces autophagy of prostate epithelial cells through suppressing IGF-1 expression in prostate fibroblasts [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(3): e12590.
- [21] Grabowska M M, Sandhu B, Day M L. EGF promotes the shedding of soluble E-cadherin in an ADAM10-dependent manner in prostate epithelial cells [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(2): 532-538.
- [22] 张开宇, 刘孝华. 良性前列腺增生发病危险因素的研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(61): 100-104.
Zhang K Y, Liu X H. Research progress on risk factors of benign prostatic hyperplasia [J]. *World Latest Med Inf*, 2019, 19(61): 100-104.
- [23] Li S H, Ryu J H, Park S E, et al. Vitamin C supplementation prevents testosterone-induced hyperplasia of rat prostate by down-regulating HIF-1 α [J]. *J Nutr Biochem*, 2010, 21(9): 801-808.
- [24] Lekas A G, Lazaris A C, Chrisofos M, et al. Finasteride effects on hypoxia and angiogenic markers in benign prostatic hyperplasia [J]. *Urology*, 2006, 68(2): 436-441.
- [25] Deshmukh N, Scotson J, Dodson A R, et al. Differential expression of acidic and basic fibroblast growth factors in benign prostatic hyperplasia identified by immunohistochemistry [J]. *Br J Urol*, 1997, 80(6): 869-874.

[责任编辑 兰新新]