

角叉菜胶诱导慢性非细菌性前列腺炎动物模型的制备与评价

戴应和^{1,2#}, 龙小琴^{2#}, 刘晨琪⁴, 杨淑贤¹, 李立勇¹, 袁经权³, 易蔚², 曹丽^{1*}

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001;
3. 广西药用植物园, 南宁 530023; 4. 哈尔滨商业大学, 哈尔滨 150076)

【摘要】 目的 建立化学性慢性非细菌性前列腺炎(chronic non-bacterial prostatitis, CNP)动物模型,为 CNP 的发病机制及药物研究提供可靠的模型动物及评价方法。**方法** 将 SD 雄性大鼠随机分为对照组和模型 A、B、C 组,模型 A、B、C 组分别用 1% 的无菌角叉菜胶注射至前列腺左右腹侧叶中各 20、50、100 μL ;对照组每只注入 50 μL 灭菌的生理盐水溶液。7 d 后处理,分别从解剖学角度、前列腺指数、白细胞检测、病理切片以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、核因子- κB (NF- κB)、IKK 激酶 (IKK α)、磷酸化 IKK- α (p-IKK- α) 和环氧合酶-2 (COX-2) 蛋白表达的影响 5 个方面进行分析。**结果** 与假手术组比较,模型 A、B、C 组的前列腺组织柔软程度下降,弹性减弱,与周围组织发生粘连;前列腺指数、白细胞总数均显著增加 ($P < 0.01$),A、B、C 组前列腺指数的增加率分别为 21.1%、61.7% 和 72.7%;白细胞总数增加率分别为 75.0%、103.6% 和 114.8%;病理结果显示 A 组前列腺间质肿胀较少, B、C 组间质明显肿胀, C 组前列腺萎缩明显,部分腺体变性坏死;A、B、C 组前列腺组织内 NF- κB 、IKK α 、p-IKK- α 、TNF- α 和 COX-2 表达水平出现不同程度的增加, NF- κB 炎症通道被激活。**结论** 大鼠前列腺左右腹侧叶注射 1% 的角叉菜胶各 20、50、100 μL ,均能够诱导不同程度前列腺炎反应,但 20 μL 剂量太小,炎症反应较弱,操作误差大;100 μL 炎症反应过强,有一定动物死亡;50 μL 剂量所造成的前列腺炎动物模型最为成功,并可明显激活 NF- κB 炎症信号通路。

【关键词】 慢性非细菌性前列腺炎;动物模型;角叉菜胶

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 05-0544-07

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2017.05.014

Preparation and evaluation of the rat model of chronic nonbacterial prostatitis induced by carrageenan

DAI Ying-he^{1,2#}, LONG Xiao-qin², LIU Chen-qi⁴, YANG Shu-xian¹, LI Li-yong¹,
YUAN Jing-quan³, YI Wei², CAO Li^{1*}

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193; 2. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001;
3. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning 530023; 4. Research Center of Life and Environment Science, Harbin University of Commerce, Harbin 150076)

【Abstract】 Objective To establish an animal model of chronic nonbacterial prostatitis induced by chemical substances, and provide a reliable animal model and evaluation method for pathological mechanism and pharmaceutical research of chronic nonbacterial prostatitis. **Methods** SD male rats were randomly divided into control group and model groups A, B and C. The three model groups were respectively treated with 20, 50 and 100 μL of 1% sterile carrageenan,

【作者简介】 戴应和(1989-),苗族,在读硕士,中药学(中药药理方向)。E-mail: daiyinghegz@126.com;

龙小琴(1991-),女,硕士研究生,专业:在读硕士,中药学(中药药理方向)。E-mail: longxiaojin128@126.com

#共同第一作者

【通讯作者】 曹丽,女,博士,研究员,硕士生导师,研究方向:肿瘤药理学。E-mail: lcao@implad.ac.cn

injected into the left and right ventral lobes of rat prostate. The control group was injected 50 μL sterile normal saline. The rats were sacrificed at 7 days after carrageenan injection, and the anatomical changes were analyzed, and the prostate index, leukocyte count, the histology of prostate, and the protein expressions of $\text{TNF} - \alpha$, $\text{NF} - \kappa\text{B}$, $\text{IKK}\alpha$, $\text{p-IKB} - \alpha$ and $\text{COX} - 2$ were analyzed. **Results** Compared with the sham operation group, the softness of prostate tissue of groups A, B and C was decreased, the elasticity of the prostatic tissue was weakened, and the prostate tissues of model groups were adhered to surrounding tissues. The total number of leukocytes and the prostate index of model groups A, B and C were significantly increased ($P < 0.01$), by 21.1%, 61.7% and 72.7%, respectively. The total increase rate of white blood cell in the model groups A, B and C was 75%, 103.6% and 114.8%, respectively. Pathological examination showed that the interstitial edema of the prostate of model group A was minimal, but obvious in the groups B and C. Moreover, in the group C, the prostate atrophy was obvious, and some of the glands were degenerated and necrotic. The protein expression levels of $\text{NF} - \kappa\text{B}$, $\text{IKK}\alpha$, $\text{p-IKB} - \alpha$, $\text{TNF} - \alpha$, and $\text{COX} - 2$ in the prostate tissue were increased to a different extent in all model groups. **Conclusions** Inflammatory reactions can be induced by injecting 20, 50 or 100 μL of 1% sterile carrageenan into the right and left ventral lobes of the rat prostate. However, the 20 μL dose is too small, inducing only weak inflammatory response, with considerable operation error, while the dose of 100 μL induced excessive inflammatory response, even rat death. The dose of 50 μL injection is most suitable to establish rat models of nonbacterial prostatitis, showing apparent activation of $\text{NF} - \kappa\text{B}$ inflammatory signaling pathway.

[Key words] Chronic nonbacterial prostatitis; Animal models; Carrageenan

Corresponding author: CAO li. E-mail: lcao@implad.ac.cn

前列腺是男性的主要附属性腺之一,而前列腺炎是骨盆区域的疼痛或伴排尿不适症状的一组疾病,主要发生在 20 ~ 40 岁的男性青年人中,发病率在泌尿外科中约占 25% ~ 30%,是一种多发性疾病^[1]。慢性非细菌性前列腺炎 (chronic non-bacterial prostatitis, CNP) 占临床前列腺炎发病率的 90% 以上,其病因和病机在很大程度上还不清楚,但给患者带来极大的痛苦,成为世界性关注的难治疾病之一^[2]。为研究 CNP 的病因和病机,国内外学者研制了各种动物模型,因前列腺炎病因不明,假说众多,各种模型各有其特点。经文献查实,目前采用角叉菜胶诱导的化学性 CNP 模型居多,多以解剖学、前列腺指数、白细胞计数 (WBC)、病理切片等进行评价^[3,4]。但因注射角叉菜胶的剂量不同以及评价指标不完善,很难复制出病理过程与人体相似的动物模型。因此,本实验通过摸索角叉菜胶的注射剂量与评价指标,建立具有病理过程及表现与人体相似、稳定、重复性好的 CNP 动物模型,为研究 CNP 的发病机制及药物创制提供可靠的动物模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用 SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只,体重 200 ~ 250 g, 2 月龄。购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2012-0001】。饲养期间给予啮齿类

动物标准颗粒饲料(由实验动物中心提供)及自由饮水,12 h 循环灯光,恒定湿度,室温(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。实验大鼠饲养及组织取材均于中国医药科学院药用植物研究所实验动物中心实验设备内进行【SYXK(京)2013-0023】。本实验所有操作均符合北京市实验动物管理条例。

1.1.2 主要仪器与试剂

角叉菜胶 (Sigma, 美国), $\text{TNF} - \alpha$ (产品编号: sc-4564)、 $\text{NF} - \kappa\text{B}$ (产品编号: sc-8008)、 $\text{IKK}\alpha$ (产品编号: sc-166231)、 $\text{p-IKB} - \alpha$ (产品编号: sc-8404) 和 $\text{COX} - 2$ (产品编号: sc-376861) 抗体 (Santa Cruz 公司, 美国), PVDF 膜 (Millipore 公司, 美国), BCA 蛋白定量试剂盒 (产品编号: CW0014S)、辣根过氧化物酶偶联山羊抗兔抗体 (产品编号: CW0157S) 和辣根过氧化物酶偶联山羊抗小鼠抗体 (产品编号: CW0152S) (北京康为世纪生物科技有限公司, 中国) 其他常规试剂 (北京双环化学试剂厂, 中国)。MQX200 型酶标仪 (Bio-Tek, 美国), Labofuge 400R 型离心机 (Heraeus 公司, 德国), CKX41 型荧光倒置显微镜 (Olympus 公司, 日本), 梅特勒-托利多电子天平 (梅特勒-托利多公司, 中国) 等。

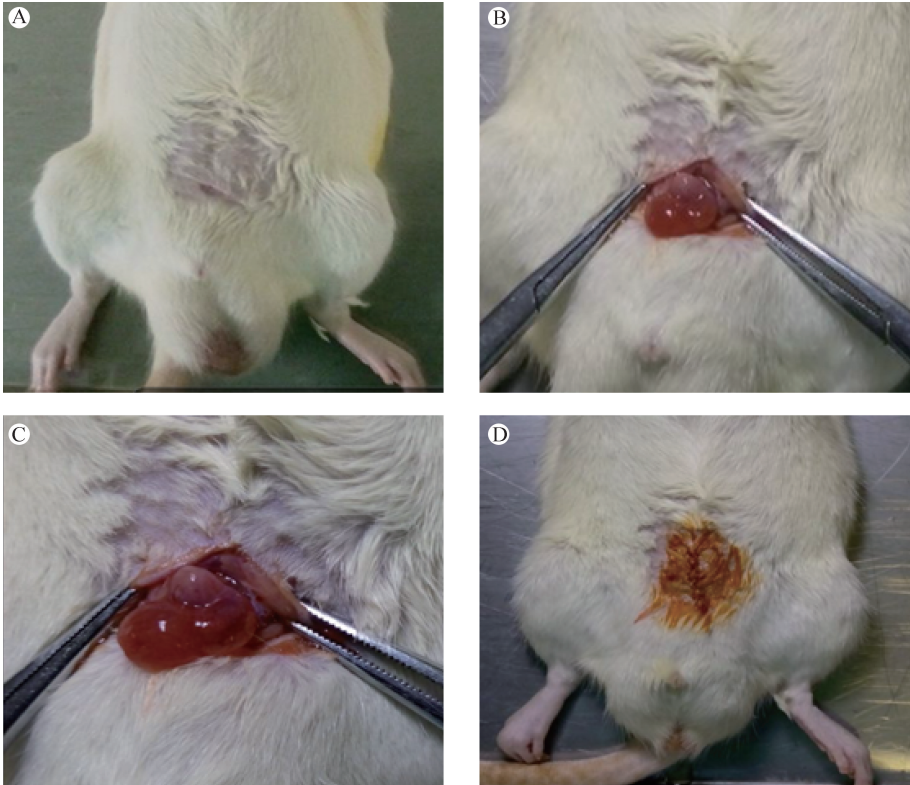
1.2 方法

1.2.1 模型制备方法

参考 Xian Yang 等^[5]的方法, 用 1% 的无菌角叉菜胶注射前列腺腹叶中, 经过刺激诱导建立 SD 大

鼠化学性 CNP 模型:动物先适应性饲养 7 d 按照随机分组原则分为阴性对照组和模型 A、B、C 组,一共 4 组,每组 10 只。将 0.1 g 的角叉菜胶溶入 10 mL 生理盐水中,混匀,配制成 1% 的角叉菜胶生理盐水溶液,用 10% 水合氯醛溶液腹腔注射 (剂量:0.3 mL/100 g)使大鼠麻醉,并用剪刀剪掉其中下腹部的毛。在无菌条件下,再用酒精棉对大鼠腹部皮肤消毒,在下腹正中剪开 2 cm 左右的切口,逐层打开

腹壁,找到膀胱,用器械轻轻挑起膀胱,并在其后方找到前列腺,用无菌微量调节注射器将 20、50、100 μ L 的 1% 无菌角叉菜胶溶液分别注射到模型 A、B、C 组的大鼠前列腺左右腹叶上;对照组每只注入 50 μ L 灭菌的生理盐水溶液。将前列腺放回体内,缝合肌肉、皮肤,消毒伤口,将大鼠回笼中饲养。在伤口处涂抹适量抗生素以防止伤口感染化脓,并每天观察大鼠活动状态、进食量。



注:A:麻醉后常规手术备皮;B:切开腹壁,暴露前列腺;C:向两侧注射角叉菜胶或生理盐水;D:缝合腹壁,用适量抗生素涂抹伤口。

图 1 1% 角叉菜胶溶液注射到前列腺内的手术操作过程

Note. A. Routine skin preparation. B. Cut through the abdominal wall, and exposure of the anterior surface of the prostate. C. Bilateral injection of carrageenan solution or saline into the prostate lobes. D. Suture of the surgical incision and local use of antibiotics.

Fig. 1 The process of surgical operation to inject 1% carrageenan solution into the rat prostate lobes

1. 2. 2 样本采集

术后 7 d,麻醉大鼠,剖开腹腔,充分暴露两侧前列腺腺体。肉眼观察其外观形态;取出称其湿重,取部分前列腺组织,用 4% 甲醛溶液固定,苏木素 - 伊红 (HE) 染色,做病理切片。另部分前列腺组织制备匀浆,Western blot 法测定前列腺组织内 TNF - α 、NF - κ B、p-IKB - α 和 COX - 2 表达的变化。

1. 2. 3 前列腺指数测定

前列腺指数常作为 CNP 的炎症检测指标,通过记录每只大鼠的前列腺组织的总湿重以及自身体重,即可得到。公式为:前列腺指数 = 前列腺组织总

湿重/大鼠体重 (单位:mg/g)。

1. 2. 4 白细胞检测

用电子天平称取每只大鼠前列腺左侧背叶相同重量的小块前列腺,放入试管内,按 4 μ L/mg 加无菌生理盐水,并充分剪碎,成为混悬液体,用微量移液枪准确吸取 20 μ L,加入 0.38 mL 白细胞稀释液的试管中,充分混匀,再滴入细胞计数板上,静置 2 ~ 3 min,待白细胞下沉;用低倍显微镜计数细胞计数板四角 4 个大方格内的白细胞总数。公式为:白细胞数/L = 4 个大方格内的白细胞数/4 $\times$ 20 $\times$ 10⁷

1. 2. 5 组织病理学检查

取各组用 4% 甲醛溶液固定的前列腺组织,24 h 后梯度脱水、石蜡包埋。制成切片(5 μm)。常规脱蜡脱水后,苏木精 - 伊红染色,光学显微镜下观察。

1.2.6 Western Blot 检测前列腺组织中 TNF - α、NF - κB、IKKα、p-IKB - α 和 COX - 2 的表达水平

将前列腺组织制备成匀浆,4℃ 低温 12 000 r / min 离心 10 min。对裂解的组织总蛋白上清液,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,将各组的蛋白浓度调到同一水平。制备 10% SDS - 聚丙烯酰胺凝胶分离胶,每孔加蛋白样品,经电泳后通过半干式电转仪将分离的蛋白转到硝酸纤维素滤膜上。将膜用 5% 脱脂牛奶含有 0.1% 吐温 20 的 (TBST) 在摇床上封闭 2 h,加入一抗后 4℃ 下孵育过夜,将膜用 TBST 洗 3 次,每次 15 min;加入二抗放在摇床孵育 2 h,再次用 TBST 洗 3 次,每次 15 min,后加入发光显色剂 ECL 显色,应用凝胶成像系统扫描分析白条带灰度,对蛋白条带用 Photoshop 软件进行扫描灰度量化分析,计算各蛋白条带与内参照 β - actin 的比值。

1.3 统计分析

应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,各组数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较用单因素方差分析,计量资料组间比较用 *t* 检验,以 *P* < 0.05

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 解剖学观察

假手术组大鼠前列腺组织柔软,有光泽,富有弹性,与周围其他组织之间几乎没有粘连,在解剖过程中比较容易与其他组织分开。模型 A 组前列腺组织增大不太明显,柔软程度稍有下降,弹性减弱,与周围组织粘连程度较轻,部分前列腺组织有少量灰白色片状结节。模型 B 组前列腺组织明显增大,柔软程度下降,失去弹性,与周围组织粘连程度较重,部分前列腺组织表面可见暗红色或灰白色片状结节。模型 C 组前列腺组织显著增大,部分坏死,柔软程度较低,无弹性,与周围组织粘连十分严重,前列腺组织表面可见暗红色或灰白色片状结节。由解剖学观察结果可见,模型 B 组炎症程度比较合理。

2.2 前列腺指数的测定

与假手术组比较,模型 A、B、C 组中大鼠的前列腺指数均显著增加,具有明显差异 (*P* < 0.01);模型 A 组前列腺指数的增加率为 21.1%,增幅较小;模型 B、C 组前列腺指数的增加率分别为 61.7% 和 72.7%,增幅比较明显,但模型 C 组出现动物死亡,说明模型 B 组是比较合理可行的(见表 1)。

表 1 前列腺指数(*n* = 10)

Tab.1 Prostate indexes of the different groups											
组别 Groups	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均数 ± 标准差
假手术组 Sham group	1.26	1.24	1.37	1.25	1.41	1.21	1.31	1.27	1.18	1.34	1.28 ± 0.07
模型 A 组 Model group A	1.45	1.39	1.67	1.58	1.51	1.43	1.53	1.71	1.64	1.54	1.55 ± 0.10 **
模型 B 组 Model group B	2.20	2.10	1.95	1.97	2.14	2.19	1.89	1.98	2.17	2.08	2.07 ± 0.11 **
模型 C 组 Model group C	2.31	2.17	—	2.25	2.18	—	2.16	2.27	2.14	2.18	2.21 ± 0.06 **

注:“—”表示死亡,与假手术组比较: ** *P* < 0.01
Note. “—” means rat death. ** *P* < 0.01, versus the sham operated control group.

2.3 白细胞检测

假手术组和模型 A、B、C 组大鼠前列腺组织白细胞总数($\bar{x} \pm s$)分别为(6.15 ± 0.30、10.76 ± 0.35、12.52 ± 0.58、13.21 ± 0.60) × 10⁹/L。与假手术组比较,经角叉菜胶诱导炎症,模型 A、B、C 组中大鼠的白细胞总数增加,差异有显著性(*P* < 0.01),但白细胞总数增加的程度不同,模型 A、B、C 组白细胞总数增加率分别为 75.0%、103.6% 和 114.8%,模型 A 组增幅低于模型 B、C 组,因模型 C 组有动物死

亡,因此模型 B 组炎症反应程度比较合适。

2.4 组织病理学

从病理切片可以看出:假手术组的前列腺被膜正常,可见大小不一的前列腺腺腔,形态不规则,腔内皱壁丰富,充满嗜酸性分泌物;前列腺间质无明显肿胀,较清晰,少量炎症细胞浸润,偶见腔内有粉红色蛋白液,腺体周围有平滑肌纤维、纤维细胞束和毛细血管。模型 A 组的大部分前列腺组织腺体由柱状上皮细胞变为矮柱状,有的为扁平状,腺体结构改

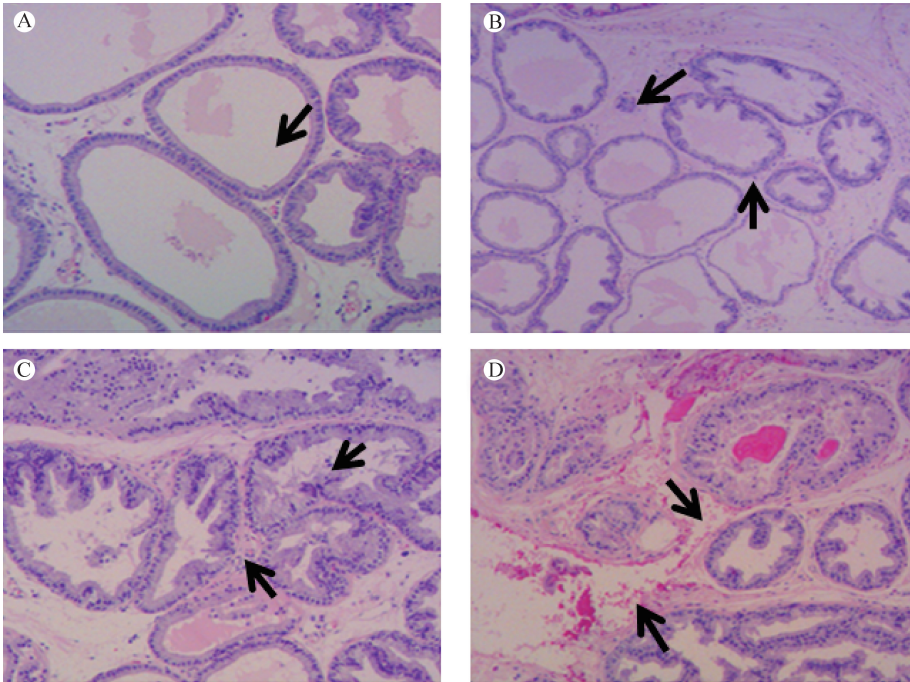
变,充满嗜酸性分泌物;前列腺间质肿胀较少。模型 B 组的部分腺体由柱状上皮细胞变为矮柱状,腺管间偶见炎细胞浸润,病理改变明显;前列腺被膜增厚,腔内皱壁消失,腺泡破坏。模型 C 组的腺体由柱状上皮细胞变为矮柱状,腺管间可见炎细胞浸润,前列腺萎缩病理改变严重,说明模型 B 组的造模程度比较合理(见图 2)。

2.5 Western Blot 检测前列腺组织中 NF-κB、IKKα、p-IKB-α、TNF-α 和 COX-2 表达的影响

在角叉菜胶的诱导下,可产生大量炎症因子,而 NF-κB 作为经典的炎症相关信号通路在前列腺炎症模型中扮演怎样的角色值得关注。因此,本研究应

用 Western Blot 技术分析了 NF-κB 通路关键蛋白 NF-κB、IKKα、p-IKB-α、TNF-α 以及 COX-2 的表达水平,结果见图 3 和图 4。

从图 3 和图 4 的结果看出:与假手术组比较,除模型 A 组前列腺组织内 p-IKB-α、TNF-α 和 COX-2 表达水平不明显($P>0.05$),差异无显著性;模型 B 组与 C 组中前列腺组织内 NF-κB、IKKα、p-IKB-α、TNF-α 和 COX-2 表达水平显著增加($P<0.01$),差异有显著性;模型 A 组前列腺组织内 NF-κB 和 IKKα 也有不同程度的增加($P<0.05$)。说明角叉菜胶诱导的大鼠前列腺炎症激活了 NF-κB 信号通路。



注:A. 假手术组,箭头示前列腺腺体正常,间质无明显肿胀。B. 模型 A 组,箭头示前列腺间质轻度肿胀。C. 模型 B 组,箭头示前列腺萎缩,纤维组织增生,间质明显肿胀;有大量淋巴细胞、单核细胞浸润及浆细胞分布。D. 模型 C 组,箭头示腺管间炎细胞浸润,前列腺萎缩,部分腺体变性坏死。(HE 染色,×200)。

图 2 大鼠前列腺组织病理观察

Note. A. A rat of the sham operated group. The arrow indicates normal glandular structure, with no interstitial edema. B. A rat of the model group A. The arrows indicate mild interstitial edema. C. A rat of the model group B. Arrows indicate glandular atrophy, fibrous hyperplasia and interstitial lymphocyte infiltration. D. A rat of the model group C. Arrows indicate glandular atrophy and partial glandular necrosis, and interstitial lymphocyte infiltration. HE staining. ×200

Fig.2 Histology of prostate tissues of the rats

3 讨论

CNP 动物模型是探索其发病机制及治疗方法的基础,而 CNP 动物模型有着不同的造模方法。目前,最常用的 CNP 动物造模方法分为免疫性 CNP 动物造模法和化学制剂直接注射法两大类^[6]。免疫性 CNP 动物造模是根据 CNP 的发病可能与机体

免疫反应失调有关,但还处于探索阶段,尚不成熟^[7]。化学制剂直接注射法理论基础成熟,易于操作,且病理过程与人体相似,是 CNP 模型的主要造模方法。角叉菜胶是一种诱导非特异性炎症模型的经典试剂,也是诱导 CNP 动物模型最常用的化学试剂^[8]。目前注射角叉菜胶的剂量多为 20 μL 和 100 μL,均存在不同程度的问题,不能完全满足评价

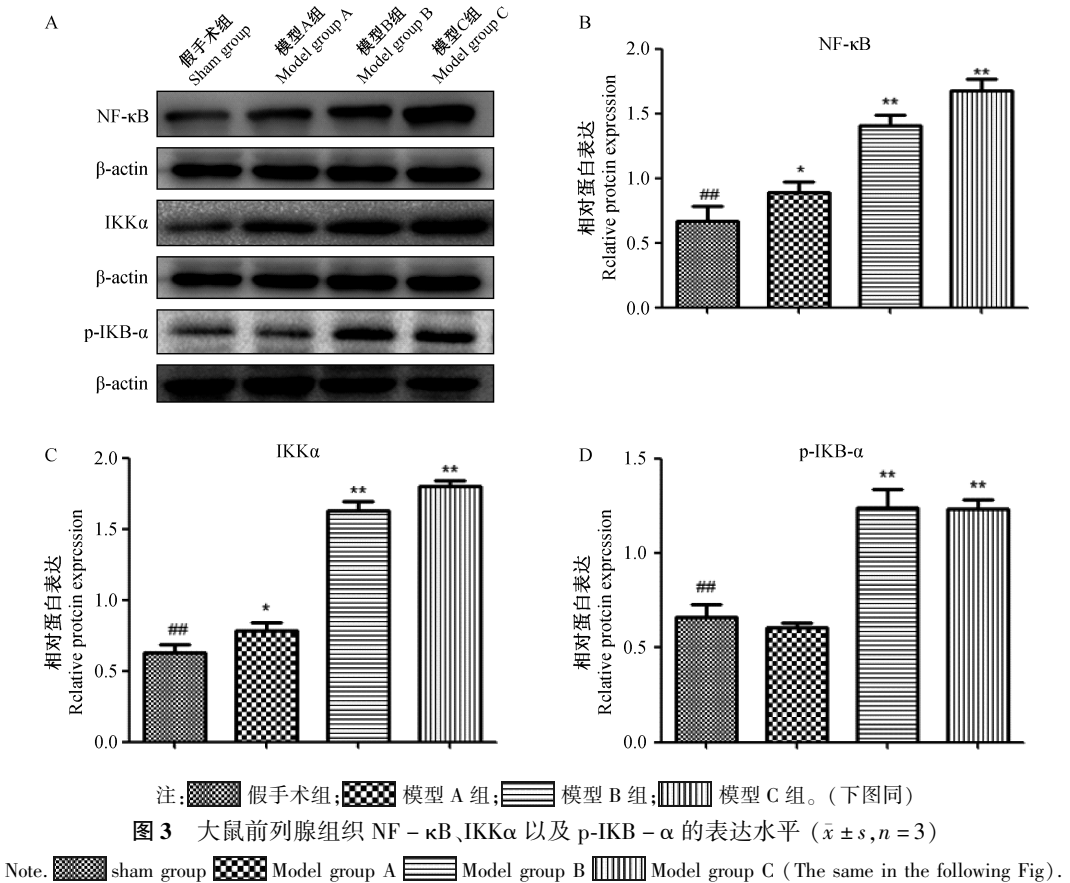


Fig. 3 Expression of NF-κB, IKKα and p-IKB-α in the prostate tissues of the rats

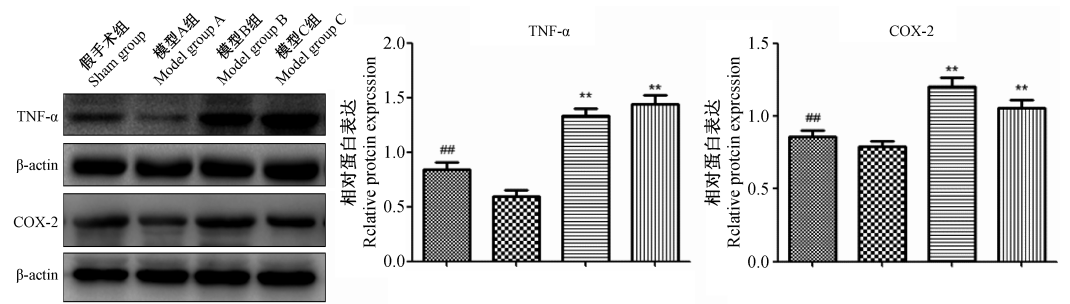


Figure 4 大鼠前列腺组织 TNF-α 和 COX-2 的表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Expression of TNF-α and COX-2 in the prostate tissues of the rats

CNP 动物模型药物的要求, 譬如 Chen^[9] 和 Chen^[10] 在 SD 大鼠中注入 20 μL 1% 角叉菜胶诱导 CNP 动物模型, 由于注的量比较少, 模型不太稳定; 兰量园等^[11] 在雄性 Wistar 大鼠前列腺左右两侧腹叶分别注入 1% 角叉菜胶生理盐水溶液 100 μL 诱导 CNP 动物模型, 由于注的量较多, 容易造成部分液体漏出, 不同动物的炎症程度会受到影响。目前注射 50 μL 1% 的无菌角叉菜胶诱导 CNP 动物模型报道较少。因此, 笔者首次对注射 20、50 和 100 μL 三个剂量进行对比研究, 并通过解剖学、前列腺指数、白细胞计数、病理切片以及 TNF-α、NF-κB、IKKα、

p-IKB-α 和 COX-2 的表达水平进行指标评价, 寻求制备可重复、稳定、炎症反应程度尽量一致的大鼠化学性 CNP 动物模型。

角叉菜胶诱导前列腺炎时, 前列腺会出现增大, 前列腺组织和周围组织发生粘连, 出现暗红色或灰白色片状结节^[9]; 可以从前列腺脏器指数和解剖学角度直观地分析模型的成功性。WBC 是反应炎症程度的标志性指标, 在临床诊疗中, 前列腺是否存在炎症、炎症的严重程度以及治疗的效果均可以依据前列腺液中 WBC 计数进行判断^[12]; 故白细胞计数可以评价动物模型是否成功。NF-κB 是一种多功

能核转录因子,在炎症反应过程中起到重要的调节作用,激活后可以促进细胞因子、黏附因子、趋化因子、COX-2 及一氧化氮合酶等表达及基因转录^[13]。NF- κ B 未被激活时和 I κ B- α 形成一个复合物 I κ B 激酶 (IKK),在 TNF- α 等因子的刺激下,IKK 被激活,使 I κ B 被磷酸化,I κ B 从 NF- κ B 上脱落并被泛素化,NF- κ B 由抑制状态被激活,使 I κ B- α 磷酸化形成 p-I κ B- α ,在 COX-2 的参与下产生前列腺素,引起疼痛^[14]。在有慢性非细菌性前列腺炎 (CNBP) 时,TNF- α 显著升高,TNF- α 等免疫反应产物或免疫复合物通过刺激神经末梢可引发前列腺炎,产生更加复杂症状^[15]。

本研究结果显示,经角叉菜胶诱导后,与假手术组比较,模型 A、B、C 组的前列腺组织和周围组织均发生不同程度的粘连,模型 A 组织粘连程度较轻,模型 B、C 组与周围组织粘连程度较重,可见暗红色或灰白色片状结节,模型 C 组前列腺组织出现不可逆坏死,而且有动物死亡。模型 A、B、C 组的前列腺出现了不同程度的增大,无论是前列腺指数还是白细胞总数,模型 A 组增加较小,模型 B、C 组增加显著。模型 A 组 NF- κ B 抗炎通路关键蛋白表达水平有小幅增加,模型 B、C 组增加显著。由此可知,模型 A 组炎症程度较轻,不太稳定;模型 C 组炎症程度较重,甚至造成一些不可逆的损失。其主要原因可能是模型 A 组注的量较少,不好把控,导致模型不稳定;模型 C 组注的量较多,加上前列腺本身较小,瞬间膨胀,超出了前列腺的承受范围,造成一些不可逆的损伤,甚至动物死亡,故很难得到可行的 CNP 动物模型,难以准确的评价药效。模型 B 组注的量适中,模型稳定,能够得到可行的 CNP 动物模型。

综上所述,SPF 级的雄性 SD 大鼠 (体重 220 - 250 g),2 月龄,用 1% 的无菌角叉菜胶注射至前列腺左右腹侧叶中各 50 μ L,可制备稳定、个体反应较为一致的大鼠化学性 CNP 动物模型,其病理过程与表现与人体相似。本研究对角叉菜胶诱导 CNP 模型方法的合理改进以及评价方法的建立,为 CNP 的病因病机研究以及对抗 CNP 的药物研发提供了良好的工作基础。

参 考 文 献

[1] Gao M, Li GX. Chinese medicine and western medicine diagnosis

and treatment of chronic prostatitis [J]. J Pract Tradit Chin Int Med, 2013, 27: 65 - 66.

- [2] 李科茂,王学本,赵如青. 慢性前列腺炎对男性生育的影响 [J]. 中国性科学, 2006, 15(10): 168 - 170.
- [3] 王琳琳,李寒冰,苗明三. 马鞭草总苷对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的干预作用 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(16): 4 - 7.
- [4] 赵丽波. 普适泰对 SD 大鼠慢性非细菌性前列腺炎作用的实验观察 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(13): 14 - 16.
- [5] Yang X, Yuan L, Chen J, et al. Multitargeted protective effect of *Abacopteris penangiana* against carrageenan-induced chronic prostatitis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 151(1): 343 - 351.
- [6] 杨小荣,刘芳,谢文杰,等. 大鼠非细菌性前列腺炎模型的复制 [J]. 实验与检验医学, 2010, 28(4): 347 - 348.
- [7] 林浩成. 前列灵胶囊治疗慢性非细菌性前列腺炎的实验研究 [D]. 成都中医药大学, 2008.
- [8] Sugimoto M, Oka M, Tsunemori H, et al. Effect of a phytotherapeutic agent, Eviprost, on prostatic and urinary cytokines /chemokines in a rat model of nonbacterial prostatitis [J]. Prostate, 2011, 71(4): 438 - 444.
- [9] Chen JL, Song HP, Ruan JL, et al. Prostatic protective nature of the flavonoid-rich fraction from *Cyclosorus acuminatus* on carrageenan-induced non-bacterial prostatitis in rat [J]. Pharmaceut Biol, 2014, 52(4): 491 - 497.
- [10] Chen RZ, Cui L, Guo YJ, et al. In vivo study of four preparative extracts of *Clematis terniflora* DC. for antinociceptive activity and anti-inflammatory activity in rat model of carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 1018 - 1023.
- [11] 兰量园. 三金片对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的治疗作用及其机制的研究 [D]. 广西医科大学, 2011.
- [12] Miao M, Guo L, Yan X, et al. Effects of verbenalin on prostatitis mouse model [J]. Saudi J Biol Sci, 2015, 23(1): S148 - S157.
- [13] Bose JS, Gangan V, Jain SK, et al. Downregulation of inflammatory responses by novel caffeic acid ester derivative by inhibiting NF-kappa B [J]. J Clin Immunol, 2009, 29: 90 - 98.
- [14] Alharbi NO, Imam F, Alharbi MM, et al. Dexamethasone attenuates LPS-induced acute lung injury through inhibition of NF- κ B, COX-2 and pro-inflammatory mediators [J]. Immunol Invest, 2016, 45(4): 1 - 21.
- [15] 何丽清,傅延龄. 当归贝母苦参煎剂治疗实验性慢性细菌性前列腺炎的研究 [D]. 北京中医药大学, 2009, 6.

[收稿日期] 2016 - 10 - 15