

# 基于细胞凋亡调节因子 Bax/Bcl-2 的蒙药协日嘎四味汤散治疗良性前列腺增生的机制研究

白尼格木图 刘锁 志宏 白博文

内蒙古民族大学附属医院蒙西医结合泌尿外科 内蒙古通辽 028000

**摘要：**目的：分析蒙药协日嘎四味汤散应用于良性前列腺增生治疗的作用机制，探究其对细胞凋亡调节因子 Bax/Bcl-2 的影响。方法：选取 40 只成年雄性 SD 大鼠，随机分为正常对照组、模型组、前列宁胶囊组、前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组（前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组），各 10 只。模型组、前列宁胶囊组和前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组进行前列腺增生模型制备，并予以前列宁胶囊组和前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组前列宁胶囊水溶液和蒙药协日嘎四味汤散水溶液灌胃，对照组与模型组使用生理盐水灌胃，比较其前列腺体积、病理学特征、Bax/Bcl-2 等表达情况。结果：模型组的 PI 及前列腺体积均高于对照组，前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组的 PI 及前列腺体积显著降低病理形态改变较模型组轻。前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bax、Caspase-3 的 IHS 与另外三组比较，均显著较高 ( $P < 0.05$ )，Bcl-2 以模型组最高，前列宁胶囊组和前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bcl-2 有所下降 ( $P < 0.05$ )。Bcl-2/ $\beta$ -actin 表达以模型组最高，其次为前列腺组，前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组，前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组的 Bax/ $\beta$ -actin 表达最高 ( $P < 0.05$ ) 前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bax 的蛋白与 mRNA 表达均显著增加，前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bcl-2 蛋白与 mRNA 表达均降低 ( $P < 0.05$ )。结论：前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散能够显著改善大鼠的前列腺增生状况，具有较为显著的前列腺增生治疗效果，动物实验证实 Bax/Bcl-2 表达的变化，对大鼠前列腺组织细胞具有显著促凋亡作用。

**关键词：**细胞凋亡；调节因子；Bax/Bcl-2；蒙药协日嘎四味汤散；前列腺增生

良性前列腺增生临床发病率较高，尤其多发于中老年男性，随着人们生活水平提升，人均寿命延长，饮食结构和生活习惯均发生较大改变，导致良性前列腺增生发生率显著上升<sup>[2]</sup>。对于良性前列腺增生的发病机制，已有多种学说，但不论是哪种发病学说，其最终的病理学表现均为前列腺细胞增生和间质成分增多<sup>[3-7]</sup>。为了解蒙药协日嘎四味汤散对良性前列腺增生的作用机制，本文对其研究如下：

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

**实验动物：**选取 40 只成年雄性 SD 大鼠，均正常喂养，并适应环境一周后进行试验。采用随机数字表法将其分为正常对照组、模型组、前列宁胶囊组、前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散组，每组 10 只。

### 1.2 方法

(1) 去势手术：经腹腔注射麻醉，通过阴囊对大鼠实施无菌手术，除对照组外，另外 2 组均将良性前列腺增生大鼠双侧睾丸摘除。

(2) 去势造模的同时，前列宁胶囊组和联合治疗组均需要进行前列宁胶囊水溶液灌胃联合治疗组除了用到前列腺胶囊，还需结合蒙药协日嘎四味汤散水溶液灌胃，模型组及对照组均灌胃，用到生理盐水。

(3) 标本收集与 RT-PCR 实验：最后一次灌胃后次日，对大鼠称重与麻醉，摘除前列腺组织，切取部分组织进行 TUNEL 以及免疫组化等检测，另外，1/2 组织经过处理之后保存备检。取部分样本研磨以及水溶解，结合超微量分光光度检测结果，计算 RNA 含量。

(4) 凋亡调控基因 Bax/Bcl-2 蛋白表达与细胞检测：

取各组大鼠新鲜前列腺组织块用铜制模具包埋组织块。石蜡切片机依据操作规范进行。并进行 WPMY-1 细胞培养, 二氧化碳孵育, 细胞生长至目标范围后传代。取生长较好细胞接种, 制备 BPH 体外模型并用不同浓度 QC 干预该模型。

### 1.3 观察指标

测定各组大鼠使得前列腺指数 (PI) 与前列腺体积, 于 100 倍和 200 倍视野下观察组前列腺组织染色及病理特征, 并对各组大鼠的前列腺组织凋亡、Bax/Bcl-2 表达情况进行比较, 分析前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散对 Bax/Bcl-2 mRNA 及蛋白表达的影响。

### 1.4 统计学方法

将数据录入 SPSS23.0 处理, 计量数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 并进行 t 检验, 差异显著以  $P < 0.05$  表示。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠 PI 及前列腺体积比较

模型组的 PI 及前列腺体积均显著较另外三组高, 前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组的 PI 及前列腺体积较模型组和前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组降低, 各组 PI 及前列腺体积比较,  $P < 0.05$ , 见表 1。

表 1 各组大鼠 PI 及前列腺体积比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	PI (%)	前列腺体积 (ml)
对照组	0.119 ± 0.029	0.589 ± 0.177

表 2 各组大鼠 TUNEL、Bax、Bcl-2、Caspase-3 的 IHS 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	TUNEL	Bcl-2	Bax	Caspase-3
对照组	10	4.251 ± 1.331	2.169 ± 0.862	4.389 ± 1.299	3.965 ± 1.429
模型组	10	2.190 ± 0.862	7.531 ± 1.941	2.659 ± 0.788	2.971 ± 1.085
前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	10	8.671 ± 1.946	3.929 ± 1.050	7.949 ± 2.058	8.458 ± 2.162
前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	10	9.442 ± 2.039	3.759 ± 0.985	9.258 ± 2.336	9.582 ± 2.272
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

### 2.4 各组大鼠前列腺组织中 Bax、Bcl-2 mRNA 表达情况

前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组的 Bax/ $\beta$ -actin 表达最高, 与对照组比较, 有显著的优势 ( $P < 0.05$ )。

表 3 不同组别 Bax、Bcl-2 mRNA 表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	Bcl-2/ $\beta$ -actin	Bax/ $\beta$ -actin
对照组	0.199 ± 0.887	0.619 ± 0.188
模型组	0.589 ± 0.009*	0.415 ± 0.077

模型组	0.244 ± 0.089	1.039 ± 0.248
前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	0.189 ± 0.055	0.728 ± 0.187
前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	0.149 ± 0.039	0.639 ± 0.175
P	0.022	0.001

### 2.2 各组大鼠前列腺组织形态学

对照组镜下医生可以观察到大鼠整齐排列的前列腺腺体, 腺腔内表面光滑, 无腺腔扩张, 腺上皮细胞呈现出单层短柱状, 部分大鼠也会出现上皮细胞立方形。模型组大鼠的多数前列腺区域可观察到假复层, 同时也可以了解到大鼠的腺上皮增厚, 个别大鼠的腺上皮通过观察发现其乳头状出现明显变化, 间质与基底细胞均显著增多。前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组的组织形态学的特征在于部分良性前列腺增生大鼠的部分腺腔变大, 呈现出乳头状突起, 且良性前列腺增生大鼠的腺腔细胞呈现出单层排列, 与模型组对比, 病理形态改变相对更加轻微。

### 2.3 前列腺组织凋亡状况及 Bax/Bcl-2 表达情况

前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bax、Caspase-3 的 IHS 与另外三组比较, 均显著较高 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2 以模型组最高, 前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bcl-2 有所下降 ( $P < 0.05$ )。

前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	0.298 ± 0.108	0.898 ± 0.105
前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组	0.241 ± 0.009	0.989 ± 0.441
P	< 0.05	< 0.05

### 2.5 前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散对 Bax/Bcl-2 mRNA 表达的影响

模型组、对照组比较差异明显 ( $P < 0.05$ )。前列腺联合蒙药协日嘎四味汤散组 Bcl-2 蛋白与 mRNA 表达均降低, 与模型组比较有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 各组大鼠前列腺组织中 Bax/Bcl-2 mRNA 与蛋白表达比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

分组	mRNA 表达		蛋白表达	
	Bcl-2/GADPH	Bax/GADPH	Bcl-2/ $\beta$ -actin	Bax/ $\beta$ -actin
对照组	0.472 $\pm$ 0.128	0.682 $\pm$ 0.192	0.415 $\pm$ 0.155	0.141 $\pm$ 0.055
模型组	0.688 $\pm$ 0.179	0.592 $\pm$ 0.141	0.786 $\pm$ 0.234	0.191 $\pm$ 0.087
前列宁胶囊组 (1mg/ml)	0.461 $\pm$ 0.118	0.741 $\pm$ 0.121	0.388 $\pm$ 0.144	0.412 $\pm$ 0.07
前列宁胶囊组 (3mg/ml)	0.352 $\pm$ 0.095	0.861 $\pm$ 0.190	0.599 $\pm$ 0.167	8
前列宁胶囊组 (5mg/ml)	0.241 $\pm$ 0.072	0.959 $\pm$ 0.232	0.458 $\pm$ 0.189	0.619 $\pm$ 0.088

### 3 讨论

良性前列腺增生症是一种泌尿系统常见疾病，有资料显示，在 60 岁以上群体中，有将近 70% 的大鼠患有良性前列腺增生<sup>[8]</sup>。随着人们生活习惯和饮食结构改变，良性前列腺增生发生率也具有显著上升趋势<sup>[9]</sup>。对于良性前列腺增生发病机制相关研究较多，细胞增殖和凋亡失衡是主要的研究方向。一般来说，前列腺细胞的生长与细胞增殖与死亡密切相关，以上两者必须处于平衡状态才能为细胞健康生长与发育提供必要辅助，增殖细胞与死亡前列腺细胞的数目也会决定该疾病大鼠的前列腺大小<sup>[10-11]</sup>。现阶段，多研究已证明，该疾病发生与前列腺细胞的大量死亡有显著联系，随着前列腺细胞的凋亡在该疾病发病机制更进一步深入研究，发现多种凋亡基因对该疾病发生的有极大关系，其目前已经受到医院与相关学者更多的关注与研究，希望之后能够为该疾病的发病提供更多的技术支持<sup>[12]</sup>。

现阶段，多研究显示 p53、C-myc、bcl-2、Fas、bax、C-fos 等多种基因均与前列腺细胞凋亡有密切关联，Bax/Bcl-2 是线粒体凋亡通路上的凋亡调节因子，其被调节因子刺激导致蛋白移位，提高线粒体外膜的通透性，促进其凋亡因子的进一步释放<sup>[13-14]</sup>。凋亡调节因子 Bax/Bcl-2 预测 BPH 细胞凋亡趋势，蒙药协日嘎四味汤散对良性前列腺增生的治疗在临床上已经获得广泛认可以及实践<sup>[15-18]</sup>。本研究动物实验表明，蒙药协日嘎四味汤散能对前列腺增生大鼠的前列腺指数有显著调整效果，加强性激素的调节与控制，促进相关通路实现治疗的效果，结果显示前列宁胶囊联合蒙药协日嘎四味汤散对良性前列腺增生大鼠的实施，有显著凋亡作用，调整 Bax 与 Bcl-2 表达，使得细胞可在短时间内凋亡，增强治疗效果。

综上，前列宁胶囊治疗基础上，联合蒙药协日嘎四味汤散对前列腺增生具有较好治疗效果，分析其作用主要基于

Bax/Bcl-2 调控的凋亡通路激活，从而达到促进前列腺增生细胞凋亡的目的。

### 参考文献：

- [1] 白凤, 李斌鑫, 董玉, 张天明, 等. 蒙药复方协日嘎-4 的网络药理学研究 [J]. 北京中医药大学学报, 第 41 卷第 2 期 2018 年 2 月: 140-147.
- [2] Hamada N .Noncancer Effects of Ionizing Radiation Exposure on the Eye, the Circulatory System and beyond: Developments made since the 2011 ICRP Statement on Tissue Reactions[J].Radiation Research: Official Organ of the Radiation Research Society, 2023, 200(2):188-216.
- [3] 林裕强, 潘恩山. 益肾通胶囊对良性前列腺增生大鼠 Ki-67、Bax 及 Bcl-2 的影响 [J]. 内蒙古中医药, 2021, 35(5):28-29.
- [4] Bergmeyer H U ,M Hørder, Rej R .International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase (L- [J].J Clin Chem Clin Biochem, 2021, 24(7):497-510.
- [5] 周建衡, 杨弘, 林久茂, 等. 前列宁胶囊调控 MMP-2 影响细胞外基质对良性前列腺增生治疗的影响 [J]. 世界中医药, 2018, 13(11):2829-2834.
- [6] 周建衡, 林久茂, 钟晓勇, 等. 前列宁胶囊调控 Caspase-3 通路治疗良性前列腺增生的机制 [J]. 福建中医药, 2017, 48(1):9-12.
- [7] Lu C , Fu W , Zhou R , et al. Network pharmacology-based study on the mechanism of Yiganling capsule in hepatitis B treatment[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2020, 20(1):1-17.

- [8] 石建党, 李江峰, 杨洪波, 等. 良性前列腺增生组织中基质细胞的增殖和凋亡 [J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(4): 817-819.
- [9] Angelucci C. Reverse transcriptase-PCR analysis of apoptosis-regulating gene expression in human benign prostatic hyperplasia [J].
- [10] Wilt T, Ishani A. Beta-sitosterols for benign prostatic hyperplasia. Cochrane DB. Sys Rev [J]. 2021, (2): CD001043.
- [11] Wilt T, Ishani A. Pygeum africanum for benign prostatic hyperplasia. Cochrane DB. Sys Rev [J]. 2021, (1): CD001044.
- [12] Zhou Jianheng Zhong Xiaoyong. Qianliening capsule treats benign prostatic hyperplasia through regulating the expression of sex hormones, estrogen receptor and androgen receptor. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2020, 6(3): 173-180.
- [13] 林久茂, 洪振丰, 周建衡. 血管新生相关因子 mRNA 在前列腺增生大鼠组织中的表达 [J]. 福建中医学院学报, 2021, 18(3): 63-65.
- [14] Kitahara O. Classification of Sensitivity or Resistance of Cervical Cancers to Ionizing Radiation According to Expression Profiles of 62 Genes Selected by cDNA Microarray Analysis [J]. Neoplasia, 2021, 4(4): 295-303.
- [15] 林久茂, 周建衡, 钟晓勇等. 前列宁胶囊对 BPH 大鼠 EGF、EGFR 表达的影响 [J]. 福建中医药, 2021, 41 (6): 45-47.
- [16] 刘秋弟. 基于细胞凋亡调节因子 Bax, bcl-2 的  $\alpha$ - 细辛醚对癫痫神经元保护机制的研究 [D]. 广西医科大学, 2013.
- [17] 蒋建春, 易辉, 沙建平, 等. 细胞凋亡调节基因在重症急性胰腺炎大鼠心肌组织中表达及益活清胰汤的干预作用 [J]. 成都中医药大学学报, 2021, 31(1): 3.
- [18] Blyschak K, Simick M, Jong R, et al. Classification of breast tissue density by optical transillumination spectroscopy: Optical and physiological effects governing predictive value [C]// Applications of Photonic Technology. International Society for Optics and Photonics, 2021. 31(10): 39.

#### 作者简介:

白尼格木图 (1984—), 男, 副主任医师, 医学硕士, 从事泌尿外科临床、科研和教学工作。

#### 基金资助:

内蒙古民族大学科学研究项目 (项目编号: NMDYB19083), 内蒙古民族大学教育教学研究课题 (课题批准号: QN2022018), 国家语言文字推广基地 (内蒙古民族大学) 2022 年课题 (项目编号 JDYB2207)。