

论著·基础研究

肥胖对大鼠前列腺炎症反应的影响及其相关机制^{*}

刘世学,李 可[△],谢 斌,张厚彬
(重庆市巴南区人民医院泌尿外科 401320)

摘 要:**目的** 通过高脂饲料诱发的 SD 大鼠肥胖模型研究肥胖对慢性前列腺炎(CP)发病的影响及其相关机制。**方法** 实验分为普通饲料组、高脂饲料组、阳性对照组。通过喂养高脂饲料建立大鼠肥胖模型;前列腺液镜检测各组大鼠卵磷脂小体密度和白细胞计数;采用 ELISA 检测前列腺液中炎症因子 IL-6 和 IL-8 的分泌;实时定量-聚合酶链反应(RT-PCR)检测炎症相关基因 IL-6 和 IL-8 的表达水平。**结果** 高脂饲料喂养大鼠 5 周后出现明显肥胖;高脂饲料组大鼠前列腺炎发病率明显高于普通饲料组,其前列腺液中 IL-6 和 IL-8 的分泌明显高于普通饲料组;高脂饲料组前列腺组织 IL-6 和 IL-8 的基因表达也明显升高。**结论** 肥胖能够明显升高大鼠的前列腺组织炎症因子 IL-6 和 IL-8 的分泌和基因表达,从而导致 CP 发病率升高。

关键词: 大鼠;前列腺炎;肥胖;炎症因子

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.04.034 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)04-0469-02

The research of influence and related mechanism of obesity on prostatitis in rats^{*}
Liu Shixue, Li Ke[△], Xie Bin, Zhang Houbin
(Department of Urology, Banan People's Hospital, Chongqing 401320, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of high fat diet induced obesity on rat prostatitis and assesses the metabolic features. **Methods** The normal diet group, high-fat diet group and the positive control group were established according to the experimental requirements. Obesity model was established due to high-fat-diet feed. Microscopy was performed to analyze Lecithin density and leucocyte count. IL-6 and IL-8 Release level in the prostatic fluid were measured with ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) kits according to the manufacturer's directions. IL-6 and IL-8 mRNA levels of prostate were measured by real time PCR. **Results** Compared with normal diet group, high-fat diet group tended to be obesity obviously in 5 weeks of high-fat diet. The incidence rate of prostatitis in high fat diet group was significantly higher than that of control group, and high-fat diet group had higher IL-6 and IL-8 releasing and mRNA levels. **Conclusion** High-fat diet could increase incidence of prostatitis in rat. The effect is partially due to IL-6 and IL-8 releasing and expression.

Key words: rats; prostatitis; obesity; inflammatory factor

慢性前列腺炎(chronic prostatitis, CP)是泌尿外科男性的常见疾病,50 岁以下青壮年男性患病率较高。泌尿外科门诊中前列腺炎患者约占 8%~25%,男性一生中曾经出现过 CP 症状者约占 50%^[1-2]。CP 严重影响患者的生活质量,但发病机制、病理生理改变尚不十分清楚。肥胖是指体内脂肪组织过量储存,脂肪细胞增多和(或)增大的一种状态。国内外的研究表明,肥胖患者体内炎症因子水平高于健康人群,肥胖与慢性炎症反应和慢性疾病密切相关^[3-5]。流行病学研究发现,高热量饮食及肥胖可能是 CP 的一个危险因素之一^[6]。但目前肥胖与 CP 的关系尚不明确,因此本文采用动物实验来探讨肥胖与 CP 的关系及其相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料 选用健康成年雄性 SD 大鼠 60 只,8 周龄,体质量 200~250 g。普通饲料:能量 10%由脂肪提供;高脂饲料:能量 45%由脂肪提供(中国上海斯莱克实验动物有限责任公司)。Trizol(美国 Invitrogen 公司),RNA 反转录试剂盒(宝生物工程大连有限公司),SYBR Green(美国 Bio-Rad 公司)。白细胞介素(IL)-6 和 IL-8 酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒(美国 Cusabio 公司)。CFX 96TM PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),奥林巴斯 BX51 显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 清洁级雄性 SD 大鼠饲养于重庆医科大学动物实验中心。保持饲养条件为温度(25±1)℃,湿度 60%±5%,照明 12 h。实验分为 3 组:普通饲料组(15 只)、高脂饲料组(30 只)、阳性对照组(15 只)。阳性对照组喂养普通饲料,从第 6 周开始给予皮下注射苯甲酸雌二醇 0.2 mg/kg,每日注射 1 次,连续注射 4 周^[7]。各组大鼠每周记录其体质量,共喂养 10 周。

1.2.2 前列腺液分析 动物处死后取前列腺组织挤出前列腺液,吸取 10 μL 进行白细胞计数。另取 1 滴涂片镜检卵磷脂小体密度。并对其分级:满视野为 4 级,3/4 视野为 3 级,2/4 视野为 2 级,1/4 视野为 1 级^[8]。

1.2.3 ELISA 检测炎症因子水平 各组大鼠取前列腺液后采用 IL-6、IL-8 ELISA 试剂盒进行检测。根据试剂盒说明书步骤,在酶标包被板上将标准品及各组前列腺稀释液上样,每孔体积 50 μL。在 37℃孵育 2 h,洗涤后各孔加入酶标抗体 37℃中孵育 1 h;洗涤后各孔加入生物素抗体 37℃孵育 1 h;加显色液 37℃孵育 20 min;终止液终止反应,采用酶标仪 A450 nm 测定各孔吸光值。

1.2.4 实时定量-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 mRNA 表达

^{*} 基金项目:重庆市巴南区卫生局课题(2013-01-16)。 作者简介:刘世学(1985—),医师,硕士,主要从事前列腺炎的发病机制研究。 [△] 通讯作者, Tel:13883461169; E-mail:like_1108@163.com。

水平 3 组大鼠处死后,取前列腺组织,浸泡于 RNA 保护液。提取细胞总 mRNA,反转录试剂盒转为 cDNA。用 RT-PCR 法检测 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 表达水平。IL-6 上游序列为:5'-CCA CGG CCT TCC CTA CTT C-3';下游序列为:5'-TTG GGA GTG GTA TCC TCT GTG A-3'。IL-8 上游序列为:5'-CCT GCT GGC TGT CCT TAA CC-3';下游序列为:5'-GAC ATC GTA GCT CTT GAG TGT CAC A-3'。采用 RT-PCR 分析软件 Bio-Rad CFX manager 分析结果。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism5 统计软件进行分析作图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动物模型的建立 各组大鼠喂养饲料 5 周之后,高脂饲料组体重开始明显高于普通饲料组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。

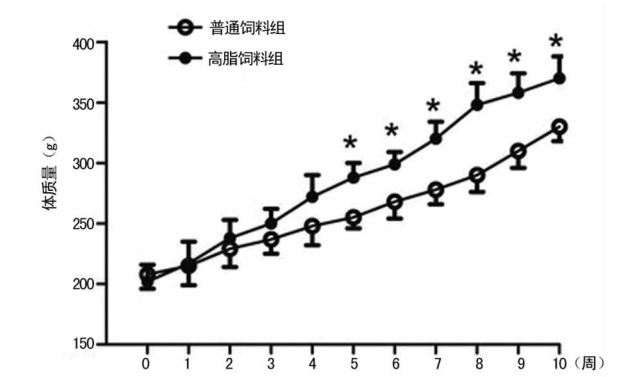


图 1 各组大鼠从喂养第 1~10 周的体重变化

2.2 前列腺液分析 与普通饲料组相比,高脂饲料组和阳性对照组前列腺液中的白细胞数显著增多,卵磷脂小体密度显著下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠前列腺液中卵磷脂小体密度和白细胞计数 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	白细胞数($10^6 L^{-1}$)	卵磷脂小体密度(分级)
普通饲料组	15	3.54 ± 0.65	3.65 ± 0.49
高脂饲料组	30	5.47 ± 0.54	2.40 ± 0.50
阳性对照组	15	6.44 ± 0.82	2.15 ± 0.67

2.3 炎症因子分泌 与普通饲料组相比,高脂饲料组和阳性对照组前列腺液中的 IL-6 和 IL-8 释放水平明显显著增多,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠前列腺液中 IL-6 和 IL-8 的释放水平 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

分组	n	IL-6 释放水平	IL-8 释放水平
普通饲料组	15	0.18 ± 0.08	2.42 ± 0.35
高脂饲料组	30	0.35 ± 0.12	4.66 ± 1.74
阳性对照组	15	0.41 ± 0.18	5.84 ± 1.98

2.4 各组大鼠前列腺 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 表达水平 与普通饲料组相比,高脂饲料组和阳性对照组前列腺组织 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 表达明显增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠前列腺 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	IL-6 相对表达水平	IL-8 相对表达水平
普通饲料组	15	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
高脂饲料组	30	2.46 ± 0.55	1.97 ± 0.48
阳性对照组	15	3.13 ± 0.98	2.36 ± 0.76

3 讨 论

CP 是一种十分常见的疾病,常表现为尿频、尿急、尿痛、排尿不尽、排尿困难等排尿异常,会阴部、下腹部等部位不适或疼痛。其发病机制、病因、发病机理尚不明确。有研究表明免疫反应参与了 CP 的发生、发展。

近年来的研究表明,前列腺被认为是一种免疫源性器官,如果其受到外源性致病因子的刺激,就会有相关细胞因子与炎症反应^[9]。其中,活化的巨噬细胞产生前炎症因子肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1 和趋化细胞因子 IL-8,IL-8 对中性粒细胞有趋化作用^[10]。T 细胞原性的细胞因子如 IL-6 作用为减弱炎症反应。IL-6 下调 IL-1 和 TNF 等前炎症因子合成,促进糖皮质激素和可溶性 TNF 受体释放,此外 IL-6 还抑制 GM-CSF、IFN- γ 和 MIP-2 等前炎症因子的产生^[10-11]。

国内外研究已经证明,肥胖是由不同炎症因子诱导产生的一种全身性的慢性低度炎症反应,肥胖患者的血液中的炎症标志物 IL-6、TNF- α 等都明显高于普通人群^[12]。肥胖与代谢综合征等慢性疾病密切相关,最近流行病学研究发现高脂饮食和肥胖可能对 CP 的发生、发展有不利影响^[6]。本研究表明,高脂饲料诱发的肥胖大鼠其前列腺液中卵磷脂小体密度和白细胞数量分别低于和高于普通饲料组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),提示肥胖与 CP 的发病具有一定的联系。在进一步的实验中,肥胖大鼠的前列腺液中炎症因子 IL-6 和 IL-8 的分泌和基因表达都明显高于普通饲料组,提示肥胖大鼠对增加前列腺组织的炎症因子释放有明显的影响。国内外文献报道,肥胖介导的炎症反应涉及 I κ B/NF- κ B 信号通路和 JNK 通路^[13],在今后的研究中有待进一步探讨。

综上所述,肥胖介导的慢性炎症反应在 CP 的发生、发展中可能起了重要作用,可能是男性发生 CP 的一个高风险因素。因此,努力改善自身代谢状况、加强健康监测、控制肥胖,对于预防 CP 具有重要意义。

参考文献:

[1] 吴在德,吴肇汉,郑树,等. 外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008;659.

[2] 丁可珂,梁朝朝. 精索静脉曲张与慢性前列腺炎相关性的研究进展[J]. 中华泌尿外科杂志,2012,33(6):468-470.

[3] Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, et al. Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity[J]. Science, 2010, 329(5990):454-457.

[4] Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314(1):1-16.

[5] 王旭方. 肥胖与免疫炎症[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2011, 20(5):455-460.

[6] Tewari R, Rajender S, Natu SM, et al. Diet, obesity, and prostate health: are we missing the link(下转第 473 页)

血管内皮细胞产生,其中 ET-1 的生物活性最强,收缩血管的作用最为强烈。心肌缺血再灌注可以导致 ET 数量增加,尤其在灌注期增加的更加迅猛,有可能是缺血再灌注导致内皮细胞稳态失衡的结果,研究发现,ET 转换酶抑制剂 PP36 可以保护急性心肌缺血大鼠的心功能^[9]。正常情况下,血管内皮释放一定量的 NO、ET-1,NO 舒张血管,ET-1 收缩血管,二者的动态平衡调节着血管的舒缩^[10-11]。心肌缺血缺氧,内皮功能障碍,对周围环境的反应性减弱,NO 的释放量减少和生物活性下降,NO 和 ET 对血管的效应相反,是相互拮抗的关系,NO 释放减少,收缩血管的 ET-1 释放水平就会急剧上升,NO/ET-1 失调,二者的平衡被破坏,这些原因导致冠状动脉收缩,血流减少,流速减慢,中性粒细胞在内皮细胞上聚集,释放各种介质和氧自由基,心肌缺血缺氧加剧^[12]。

本实验结果显示,I/R 组 CK-MB、LDH 及光镜下心肌组织的改变,均反映心肌缺血坏死较重,提示造模成功;I/R+OT 组 CK-MB、LDH 水平明显下降,光镜下心肌组织改变较 I/R 组轻,提示 OT 可能对心肌 I/R 损伤有保护作用。与 SH 组相比,I/R 组和 I/R+OT 组血清中 NO 水平均降低、ET-1 水平均升高($P<0.05$),而在 N 组的表达差异无统计学意义($P>0.05$);血清中 NO 降低的水平、ET-1 升高的水平在 I/R 组较 I/R+OT 组高($P<0.05$);NO、ET-1 的表达水平呈负相关。提示心肌 I/R 后 NO 水平降低、ET-1 水平升高,可能是导致心肌损伤的重要病理生理机制,机制可能是血管收缩,血流减少,流速减慢,中性粒细胞在内皮细胞上聚集,释放各种介质和氧自由基,进而损伤心肌。I/R+OT 组血清中 NO 水平较 I/R 组高、ET-1 水平较 I/R 组低,提示 OT 对心肌 I/R 损伤有保护作用,其机制可能是在缺血缺氧状态下,血管内皮损伤引起内皮功能障碍,影响了 NO 的分泌合成,ET-1 水平升高,OT 可以在一定程度上纠正内皮功能紊乱,使 NO 的分泌释放量有所升高,ET-1 水平有所下降,血管相对收缩减轻,缓解了心脏缺血缺氧状态。NO、ET-1 水平表达呈负相关,提示 NO 和 ET-1 在心肌 I/R 后损伤的发生中可能起协同作用。

综上所述,心肌 I/R 后 OT 可能通过改善受损内皮的功能,调节血管活性物质的分泌、释放及不同物质间的比例,使下调的 NO/ET-1 趋于正常、恒定,以调节血管紧张度和局部血流量,恢复血管的自稳态,可能为 I/R 后心肌损伤的治疗开辟了新的领域,值得进一步研究。

参考文献:

[1] Gutkowska J, Jankowski M. Oxytocin Revisited: Its Role in Cardiovascular Regulation [J]. J Neuroendocrinol, (上接第 470 页)
[J]. J Androl, 2012, 33(5): 763-776.
[7] 李卫平, 王养民, 马文强, 等. β -actin 在无菌性前列腺炎大鼠模型中免疫抑制治疗前后的表达及意义[J]. 第四军医大学学报, 2010, 16(4): 746-748.
[8] 孙继红, 胡梅, 巫凤娟, 等. 花川保列颗粒对大鼠非菌性前列腺炎模型的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 135-138.
[9] 高卫军, 王长海. 良性前列腺增生合并慢性前列腺炎的研究进展[J]. 西北国防医学杂志, 2012, 33(4): 453-455.
[10] 叶海云, 侯树坤, 白文俊, 等. 慢性前列腺炎患者前列腺液 IL-6 和 IL-8 表达变化及意义[J]. 中华泌尿外科杂志,

2012, 24(4): 599-608.
[2] Gutkowska J, Jankowski M, Mukaddam-Daher S, et al. Oxytocin is a cardiovascular Hormone [J]. Braz J Med Biol Res, 2000, 33(6): 625-633.
[3] Dusunceli F, Iseri SO, Ercan F, et al. Oxytocin alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Peptides, 2008, 29(7): 1216-1222.
[4] Tugtepe H, Sener G, Biyikli NK, et al. The protective effect of oxytocin on renal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Regul Pept, 2007, 140(3): 101-108.
[5] Alizadeh AM, Faghihi M, Sadeghipour HR, et al. Oxytocin protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via pathway involving mitochondrial ATP-dependent potassium channels [J]. Peptides, 2010, 31(7): 1341-1345.
[6] Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct sparing strategies [J]. Cardiovasc Res, 2006, 70(2): 231-239.
[7] 贾俊海, 陈素仙, 陈永昌. 缺血预处理对心肌缺血再灌注大鼠一氧化氮系统和 ICAM-1mRNA 表达的影响 [J]. 陕西医学杂志, 2006, 35(12): 1582-1585.
[8] Wink DA, Hanbauer I, Krishna MC. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(21): 9813-9817.
[9] Rufanova VA, Pozdnev VF, Kalenikova E, et al. Endothelin-converting enzyme inhibition in the rat model of acute heart failure: function and neurohormonal action [J]. Exp Biol Med, 2009, 234(10): 1201-1211.
[10] 宋晓晶, 张栋, 马慧敏, 等. 电针对小鼠肝组织内 ET-1、NO 含量的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 1978-1981.
[11] Liu X, Qiu J, Zhao S, et al. Grape seed proanthocyanidin extract alleviates ouabain-induced vascular remodeling through regulation of endothelial function [J]. Mol Med Report, 2012, 6(5): 948-954.
[12] 汤春光, 王利宏, 俞桂芬, 等. IL218、NO、ET 对评价冠脉粥样硬化狭窄程度的临床价值 [J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(4): 373-375.

(收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-10-22)

2003, 24(4): 279-281.
[11] 周青, 田雪飞, 袁轶峰, 等. 慢性非细菌性前列腺炎/慢性盆腔疼痛综合征患者前列腺液中炎症因子差异表达的临床意义 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2009, 30(6): 386-389.
[12] 孙波, 李辉, 王宁. 肥胖与慢性炎症 [J]. 生物学杂志, 2012, 29(2): 88-90.
[13] Herrero L, Shapiro H, Nayer A, et al. Inflammation and adipose tissue macrophages in lipodystrophic mice [J]. Proc Natl Acad Sci, 2010, 107(1): 240-245.

(收稿日期: 2013-09-13 修回日期: 2013-10-29)