

肥胖对慢性非细菌性前列腺炎大鼠前列腺 IL-6 和 IL-8 表达水平的影响

张世栋¹, 苑 炜¹, 宋林超¹, 黎晨曦¹, 齐 磊², 庄桂山², 于 英², 卢洪凯^{2*}

(1. 潍坊医学院临床学院 泌尿外科, 山东 潍坊 261053; 2. 潍坊市人民医院, 山东 潍坊 261500)

[摘要] 目的: 探讨肥胖在大鼠慢性非细菌性前列腺炎(CAP)性反应中的作用。方法: 实验肥胖大鼠模型采用高脂饲料诱导, 将诱导成功大鼠随机分为高脂组、普通组和阳性对照组; 喂养6周后阳性对照组使用苯甲酸雌二醇按照0.2 mg/kg, 每日1次进行皮下注射, 连续4周, 每周对各组大鼠进行体质量测量并进行标化, 并采用前列腺液镜分别对各组前列腺液中卵磷脂小体密度和白细胞进行计数, 用ELISA和RT-PCR法对前列腺液中白介素-6(IL-6)和白介素-8(IL-8)炎症因子及其mRNA表达水平进行检测。结果: 高脂组6周后体重明显较普通组增加, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 高脂组和阳性对照组前列腺液白细胞计数高于普通组, 而卵磷脂小体密度较普通组下降, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 高脂组前列腺液IL-6和IL-8分泌水平均显著高于普通组, IL-6 mRNA和IL-8 mRNA相对表达水平显著较普通组上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 肥胖能够促进前列腺组织IL-6和IL-8的分泌及其mRNA表达对CAP发生具有一定影响。

[关键词] 肥胖症; 模型, 动物; 前列腺炎; 白介素-6; 白介素-8

[中图分类号] R697.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2017)10-1159-05

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.10.010

The Relationship between Obesity and Chronic Abacterial Prostatitis in Rats

ZHANG Shidong¹, YUAN Wei¹, SONG Linchao¹, LI Chenxi¹, QI Lei², ZHUANG Guishan²,
YU Ying², LU Hongkai²

(1. Urinary Surgery of Clinical School of Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong, China;

2. Weifang People's Hospital, Weifang 261500, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship between obesity and chronic abacterial prostatitis (CAP) in rats, and provide the basis for the research on the mechanism of obesity in the clinical research of chronic prostatitis. **Methods:** The experimental obese rats were induced by high fat diet, and the rats were randomly divided into high fat group, normal group and positive control group. After 6 weeks of feeding, the positive control group was injected with estradiol benzoate by 0.2 mg/kg, once a day for 4 weeks. The rat body weight of each group was measured and standardized, and the density of lecithin bodies and leukocytes in the prostatic fluid were respectively counted by the prostate liquid mirror. By the method of ELISA and RT-PCR interleukin-6 (IL-6) in prostatic fluid, interleukin-8 (IL-8) cytokines and expression levels of mRNA were detected. **Results:** High fat group significantly increased in weight than the normal group after 6 weeks, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). White blood cell count of prostatic fluid of high fat group and positive control group was higher than that of normal group. Lecithin body density was lower than that in normal group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The secretion levels of prostatic fluid IL-6 and IL-8 in high fat group were significantly higher than those in the normal group. Relative expression level of

* 通信作者 E-mail: xiaoyu123tg@126.com

IL-6 mRNA and IL-8 mRNA was significantly higher than that of the normal group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Obesity can promote the secretion of prostatic tissue IL-6, IL-8 and their mRNA expression. Therefore, obesity is associated with the occurrence and development of CAP.

[**Key words**] obesity; model, animal; prostatitis; interleukin 6; interleukin 8

慢性非细菌性前列腺炎 (chronic abacterial prostatitis, CAP) 是一种发病机制未明的男性疾病, 影响因素众多, 文献报道各年龄段男性均可发病, 常见于 50 岁以下, 近年研究表明青少年 CAP 发病率逐年上升^[1]。CAP 患者的临床表现主要有骨盆区疼痛、不适, 可伴不同程度的排尿刺激症状及性功能障碍, 甚至造成精液质量下降继而不育, 对患者生活质量造成严重影响^[2]。肥胖是一种由多因素引起的代谢异常性疾病, 往往由于脂肪组织消耗不足和大量存储在皮下组织, 可有原发性肥胖和继发性肥胖, 相对于健康人群, 肥胖患者体内炎症因子水平变化^[3], 如 TNF- α 、白介素-6 (IL-6) 和白介素-8 (IL-8) 等。有研究表明, 肥胖可能是 CAP 的危险因素之一^[4]。由于 CAP 的发病机制尚不明确^[5], 国内外关于肥胖与 CAP 的研究鲜有报道。本研究旨通过采用高脂饲料喂养大鼠建立肥胖动物模型, 检测模型大鼠前列腺组织病理变化和前列腺液中白细胞、卵磷脂小体密度以及相关白介素水平, 探讨肥胖在 CAP 中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年雄性 8 周龄 SD 大鼠 60 只, 体质量 200 ~ 250 g, 平均 (234 ± 5.29) g。普通饲料及高脂饲料 (美国 Invitrogen 公司), RNA 反转录试剂盒及 SYBR Green (美国 Bio-Rad 公司), IL-6 和 IL-8 ELISA 试剂盒 (上海闽巨实业有限公司), CFX 96 TM PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司), 奥林巴斯 BX 51 显微镜。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立^[6] SD 大鼠采购于南方医科大学动物实验中心, 于动物房饲养 1 周, 保持动物房温度 $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$, 湿度 $60\% \pm 10\%$, 每天照明约 12 h, 普通饲料饲养。于第 2 周随机分成普通组、高脂组和阳性对照组, 各 20 只; 普通组和阳性对照组予普通饲料, 高脂组予高脂饲料喂养。从第 6 周开始, 阳性对照组按照每日 1 次苯甲酸雌二醇

0.2 mg/kg 皮下注射, 连续注射 4 周; 普通组和高脂组注射等剂量生理盐水。分别于每周日下午 15:00 ~ 16:00 记录各组大鼠体重, 喂养 11 周时取材料检测下列指标。

1.2.2 前列腺组织学观察 前列腺组织用 10% 福尔马林固定 24 h, 石蜡包埋、切片, 常规 HE 染色后光学显微镜下 ($\times 100$) 观察各组前列腺组织结构。

1.2.3 前列腺液分析 常规处死大鼠, 分离出前列腺组织, 吸取 10 μL 前列腺液进行白细胞和卵磷脂小体计数。计数及分级标准参照文献^[7-8]: 白细胞为 0 ~ 9 个/HP (—), 10 ~ 20 个/HP (—), 21 ~ 30 个/HP (++), 31 ~ 40 个/HP (+++), > 40 个/HP (++++); 卵磷脂小体: 1 个“+”表示重度炎症, 2 个“+”表示轻度炎症, 3 个或 3 个以上“+”表示正常, 最后统计各组代表卵磷脂小体的“+”个数。

1.2.4 前列腺液 IL-6 和 IL-8 水平 各组大鼠前列腺液标本统一采用 IL-6 和 IL-8 ELISA 试剂盒, 根据试剂盒要求进行 IL-6 和 IL-8 测定: 上样、于酶标包被板上将标准品及各组前列腺稀释液按照 1:1 稀释后每孔 50 μL 加入反应孔, 迅速加入 50 μL 酶标抗体并使样品和抗体充分混匀, 37°C 下温育 1 h; 重复洗涤 3 次, 再加入 80 μL 的亲合链酶素-HRP, 混匀后 37°C 下温育 30 min; 再重复洗涤 3 次, 加入 A、B 底物各 50 μL , 混匀后暗箱中 37°C 温育 10 min; 取出酶标板, 迅速加入 50 μL 终止液终止反应, 立即使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔 OD 值。

1.2.5 IL-6 mRNA 和 IL-8 mRNA 表达水平 将前列腺组织浸泡于 RNA 保护液, 提取细胞总 mRNA, 使用反转录试剂盒将其转录为 cDNA, 并用 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'-TTGGGA 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'-GACATC GTA GCT CTT GAG TGT CAC A-3'。实验数据使用 Bio-Rad CFX manager 对所得结果进行分析。

1.3 统计学处理

计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,使用 IBM SPSS Statistics 21 软件进行统计学分析,实验结果采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 动物模型

各组大鼠喂养 6 周后,体重均有一定程度上升,其中高脂组体重上升程度明显高于普通组和阳性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);普通组和阳性对照组大鼠的体重相比变化不大,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

2.2 前列腺组织 HE 染色结果

HE 染色结果显示,阳性对照组和高脂组均成功构建 SD 雄性大鼠 CAP 模型,前列腺腺泡腔被广泛破坏,间质及腺体内炎性细胞浸润明显,腺腔周

围可见明显纤维结缔组织增生(图 2)。普通组前列腺腺泡结构完整,腺腔规则,腺腔间质未见明显炎症细胞浸润,前列腺上皮细胞排列较整齐(图 2)。

2.3 前列腺液白细胞及卵磷脂小体计数

高脂组和阳性对照组前列腺液白细胞计数高于普通组,而卵磷脂小体计数较普通组下降,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

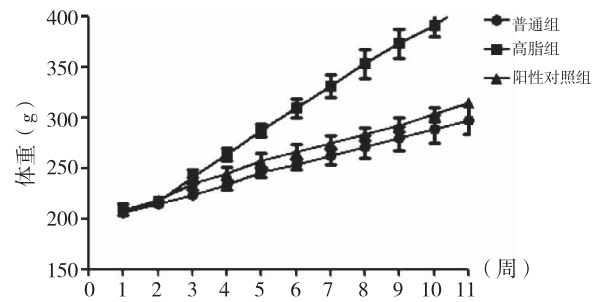
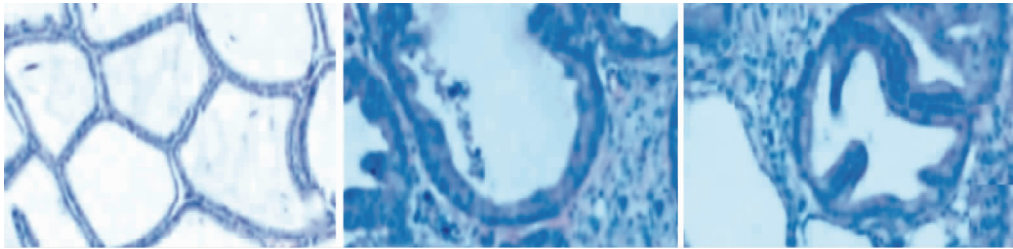


图 1 各组 SD 大鼠喂养期间体重变化
Fig. 1 Cartogram of weight changes of various SD rats during feeding



普通组 对照组 高脂组

图 2 各组大鼠前列腺组织(HE, $\times 100$)

Fig. 2 Prostate tissue of rats in different groups(HE, $\times 100$)

表 1 各组大鼠前列腺液白细胞计数和卵磷脂小体密度

Tab. 1 White blood cell count of prostatic fluid and density of lecithin body in the rat groups

组别	前列腺液	
	白细胞($10^6/L$)	卵磷脂小体“+”个数
普通组	3.62 ± 0.58	3.77 ± 0.44
高脂组	$5.81 \pm 0.75^{(1)(2)}$	$2.48 \pm 0.39^{(1)(2)}$
阳性对照组	6.37 ± 0.31	2.24 ± 0.55

⁽¹⁾与普通组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与阳性对照组比较, $P > 0.05$

2.4 前列腺液 IL-6 和 IL-8 水平

与普通组比较,阳性对照组大鼠前列腺液 IL-6 和 IL-8 升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);高脂组前列腺液 IL-6 和 IL-8 分泌水平显著高于普通组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);高脂组与阳性对照组相比,IL-6 和 IL-8 分泌水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠前列腺液分泌 IL-6 和 IL-8 含量($n = 60, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Level of prostatic fluid IL-6 and IL-8 in the rats

组别	前列腺液($\mu g/mL$)	
	IL-6	IL-8
普通组	0.21 ± 0.02	2.45 ± 0.18
高脂组	$0.39 \pm 0.08^{(1)(2)}$	$4.73 \pm 0.85^{(1)(2)}$
阳性对照组	0.42 ± 0.13	5.77 ± 1.05

⁽¹⁾与普通组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与阳性对照组相比, $P > 0.05$

2.5 IL-6 mRNA 和 IL-8 mRNA 表达水平

高脂组和阳性对照组前列腺组织中 IL-6 mRNA 和 IL-8 mRNA 表达水平显著较普通组上升,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠前列腺液中 IL-6 mRNA 和 IL-8 mRNA 相对表达量($n = 60, \bar{x} \pm s$)

Tab.3 Relative transcript level of prostatic fluid IL-6 mRNA and IL-8 mRNA in different groups

组别	前列腺液	
	IL-6 mRNA	IL-8 mRNA
普通组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
高脂组	2.67 ± 0.74 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.34 ± 0.65 ⁽¹⁾⁽²⁾
阳性对照组	3.43 ± 0.86 ⁽¹⁾	2.71 ± 0.66 ⁽¹⁾

(¹⁾与普通组比较, $P < 0.05$; (²⁾与阳性对照组比较, $P > 0.05$

3 讨论

CAP 是一种男性常见病、慢性病,多发于 50 岁以下男性,还是前列腺癌的重要始发因素^[3]。目前国内外学者就其病因、发病机制、机理等研究尚未达成一致。更多研究比较倾向于 CAP 患者体内细胞因子如嗜酸性粒细胞趋化因子(eotaxin)、MIP-1 α 、MCP-1、NGF 及 TGF- β 等细胞因子的变化^[9]。近年来研究表明,肥胖患者血液炎症指标 IL-6、TNF- α 等显著高于正常人群,因此有人认为肥胖可能是一种由炎症因子诱导产生的全身慢性低度炎症反应。流行病学研究发现,由于肥胖和一些慢性疾病如代谢综合征等密切相关,可能其与 CAP 的发生和发展也尚有一些联系。研究表明,通过控制 CAP 患者体内炎症因子的表达,可有效控制 CAP 的发展^[8,10]。丁劲等^[11]通过使用除湿通淋颗粒治疗 CAP 发现,除湿通淋颗粒能够有效提高前列腺液 IL-2 水平,降低 IL-6 和 IL-8 水平而发挥疗效。谢毓芳等^[12]研究也表明,宁泌泰胶囊联合盐酸坦洛新对于 CAP 患者也有确切的临床治疗效果。李广森等^[13]进一步研究表明,通过减轻 CAP 大鼠前列腺炎症和降低 IL-4 和 IFN- γ ,提高 IFN- γ /IL-4 对于 CAP 大鼠具有一定的治疗作用。这些研究结果均证明,前列腺的炎症反应与大鼠 CAP 的发生具有直接联系,因为可通过控制前列腺炎症来治疗或延缓 CAP 的继续发展。本研究结果发现,高脂组诱导肥胖鼠前列腺液白细胞计数显著高于普通组,而卵磷脂小体密度较低,提示肥胖对 CAP 发生具有一定影响。通过 ELISA 免疫方法对前列腺液炎症因子 IL-6 和 IL-8 的测定发现,高脂组 IL-6 和 IL-8 测定值普遍高于普通组,mRNA 表达水平测定结果也与此大致一致,提示肥胖鼠前列腺炎症基因表

达和炎症因子释放对于 CAP 的发生具有促进作用。

卵磷脂小体是由前列腺上皮细胞所分泌、对精子具有保护作用的一类物质,潘秀芳等^[7]认为,炎症细胞可降低前列腺上皮细胞分泌功能,同时巨噬细胞吞噬作用也能造成卵磷脂小体减少,因此可将其作为前列腺炎性细胞浸润的指标。研究认为,前列腺除了是内分泌器官外,还是免疫源性器官,可分泌 PSA 和部分免疫球蛋白控制前列腺内的炎症状态,从而维持前列腺内无菌状态^[14]。IL-6 是由免疫 T 细胞分泌的肽类抗炎性介质,对 T、B 淋巴细胞的激活和诱导、趋化并激活中性粒细胞、增强自然杀伤细胞功能及中性粒细胞溶酶体活性和吞噬功能方面具有重要作用^[15];IL-8 是一种有单核巨噬细胞、内皮细胞和上皮细胞等分泌的低分子量、强效炎症趋化因子,主要趋化中性粒细胞,帮助中性粒细胞和巨噬细胞进入炎症部位和调节白细胞粘附分子表达,由于炎症组织中中性粒细胞增多,可进一步加重组织的炎症和损伤^[16]。除此之外,IL-6 还可下调前炎症因子如 IL-1 好 TNF 释放,促进可溶性 TNF 受体和糖皮质激素释放,抑制 IFN-C、MIP-2 和 GM-CSF 等的产生等。

综上所述,肥胖患者体内慢性炎症反应可能对促进 CAP 的发生和发展具有一定联系,具体影响机制尚待进一步研究,提示肥胖可能是 CAP 的一个重要危险因素。因此,控制饮食、坚持锻炼、保持良好健康积极的生活方式,对于 CAP 的预防具有积极临床意义。

4 参考文献

[1] 袁智, 柳小丽. 青少年慢性非细菌性前列腺炎的临床分析研究[J]. 社区医学杂志, 2014(24):1980 - 1985.

[2] 陈文娟, 于潮将. 慢性非细菌性前列腺炎临床治疗进展[J]. 医学理论与实践, 2012(19):2357 - 2358, 2360.

[3] 孙铖, 刘成. 慢性非细菌性前列腺炎与细胞因子关系的研究进展[J]. 中华全科医学, 2012(9):1450 - 1452.

[4] Tewari R, Rajender S, Natu SM, et al. Diet, obesity, and prostate health: are we missing the link[J]. J Androl, 2012(5):763 - 776.

[5] 董亚楠, 张鑫. 慢性非细菌性前列腺炎研究进展[J]. 亚太传统医药, 2015(9):40 - 42.

- [6]王春雨,陈真.慢性非细菌性前列腺炎动物模型评析[J].药学与临床研究,2012(1):60-63.
- [7]潘秀芳,黎滨,王玉丰.前列腺液中白细胞、卵磷脂小体与慢性前列腺炎病情程度的相关性[J].贵阳医学院学报,2015(4):404-406.
- [8]琚保军.实验性慢性非细菌性前列腺炎大鼠血液流变学指标的表达及意义[J].中国现代药物应用,2014(14):249-250.
- [9]宋春生,赵家有.慢性非细菌性前列腺炎的几种相关细胞因子[J].中国男科学杂志,2013(4):350-355.
- [10]李坚勇,杨晓勤,杨华,等.木熟胶囊对大鼠慢性非细菌性前列腺炎血清 IL-8 及病理变化的影响[J].四川医学,2013(7):911-913.
- [11]丁劲,张耀圣,闫博,等.除湿通淋颗粒治疗慢性非细菌性前列腺炎临床疗效及对 IL-2、IL-6、IL-8 影响观察[J].中国性科学,2015(5):587-589.
- [12]谢毓芳,杨荣华,陈红.宁泌泰胶囊治疗慢性非细菌性前列腺炎及对患者血清炎症因子的影响[J].中国性科学,2015(11):1012-1015.
- [13]李广森,常德贵,张培海,等.前泌通片基于 Th1/Th2 细胞平衡对大鼠慢性非细菌性前列腺炎的作用机理研究[J].中国男科学杂志,2015(8):490-492.
- [14]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(4):453-455.
- [15]曹志彬,王元天,薛蔚,等.慢性前列腺炎患者前列腺液中 IL-17 的表达及与 TNF- α 、IL-8、IL-6、IL-10 相关性分析[J].中国男科学杂志,2014(2):189-194.
- [16]李响,郭和清,林凯,等.IL-6 在慢性前列腺炎患者精浆中的表达及其临床意义[J].现代泌尿外科杂志,2014(4):243-245,258.

(2017-06-18 收稿,2017-09-04 修回)
中文编辑:刘平;英文编辑:乐萍

(上接第 1138 页)

- [18]Wu TT, Lu J, Zheng PQ, et al. Yiqi Huayu Jiedu decoction inhibits the invasion and metastasis of gastric Cancer cells through TGF- β /Smad Pathway[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017(19):1-8.
- [19]颜小明,张立婷,李敏,等. TGF- β 1/Smad 信号通路在肝纤维化中的研究进展[J].现代生物医学进展,2016(9):1778-1781.
- [20]Poznansky M, Lever A, Bergeron L, et al. Gene transfer into human lymphocytes by a defective human immunodeficiency virus type 1 vector[J]. Journal of Virology, 1991(1):532-536.
- [21]赖靖,訾聃,杨英捷.短发夹 RNA 干扰 CXCR4 表达对卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡及侵袭能力的影响[J].贵州医科大学学报,2016(6):653-659.
- [22]Wang JY, Gao YB, Zhang N, et al. miR-21 overexpression enhances TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition by target smad7 and aggravates renal damage in diabetic nephropathy[J]. Molecular & Cellular Endocrinology, 2014(2):163-172.
- [23]Han M, Liu M, Wang Y, et al. Re-expression of miR-21 contributes to migration and invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition consistent with cancer stem cell characteristics in MCF-7 cells[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2012(1):427.
- [24]Han M, Wang Y, Liu M, et al. MiR-21 regulates epithelial-mesenchymal transition phenotype and hypoxia-inducible factor-1 α expression in third-sphere forming breast cancer stem cell-like cells[J]. Cancer Science, 2012(6):1058-1064.
- [25]Costa PM, Cardoso AL, Custódia C, et al. MiRNA-21 silencing mediated by tumor-targeted nanoparticles combined with sunitinib: a new multimodal gene therapy approach for glioblastoma[J]. Journal of Controlled Release, 2015(207):31-39.

(2017-05-25 收稿,2017-08-22 修回)
中文编辑:吴昌学;英文编辑:乐萍