

雌二醇对丙酸睾酮诱导去势大鼠前列腺增生的影响

吴建辉¹, 裴晓丹², 曹霖¹, 孙祖越^{1*}, 何桂林¹, 刘桂明¹, 蒋秀蓉¹

(1. 中国生育调节药物毒理检测中心, 上海市计划生育科学研究所药理毒理学研究室, 上海 200032; 2. 辽宁大学环境科学系, 辽宁 沈阳 110036)

摘要: 目的 明确 $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇对丙酸睾酮诱导的前列腺增生是否具有抑制作用。方法 ① SD 雄性大鼠随机分成 5 组, 依次为: 正常对照、去势对照、丙酸睾酮对照组、雌二醇组和非那甾胺组, 每组 12 只动物; 动物去势后, 除对照组外, 其余 3 组动物 sc $0.5 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 丙酸睾酮, 雌二醇组同时 sc $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 雌二醇, 连续 31 d。② 30 只雄性 SD 大鼠于去势后随机分成 5 组, 分别 sc 0, 50, 100, 200 或 $400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇, 同时 sc $0.5 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ 丙酸睾酮, 连续 14 d。动物于最后一次给药 24 h 后, 麻醉处死, 取前列腺, 测量湿重, 计算前列腺指数, 组织切片分析前列腺上皮高度及腺腔面积大小。结果 ① 给予 $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇 31 d, 与丙酸睾酮对照组相比, 雌二醇组平均前列腺体积、湿重、前列腺指数、腺上皮高度和腺腔面积无缩小趋势, 而非那甾胺组平均前列腺体积、湿重、前列腺指数、腺上皮高度和腺腔面积均明显减小 ($P < 0.01$)。② 给予系列雌二醇 2 周, 前列腺湿重增加, 其中 $400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组较对照组增加明显 ($P < 0.01$); 前列腺指数增大, $400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组较丙酸睾酮对照组明显增大 ($P < 0.01$); 腺上皮高度随雌二醇剂量增大而增高 ($P < 0.01$); 腺腔面积亦随雌二醇剂量增加而增大, 其中, $400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组较对照组增大明显 ($P < 0.01$)。结论 $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上剂量的雌二醇不能抑制丙酸睾酮诱发的前列腺增生, 相反, 具有促进前列腺增生的作用。

关键词: 雌二醇; 前列腺; 增生; 大鼠; 模型; 动物

中图分类号: R977.1⁺²

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2005)05-0363-05

收稿日期: 2004-11-01 接受日期: 2005-06-29

作者简介: 吴建辉 (1976-), 男, 江西省新干县人, 硕士, 主要从事前列腺疾病机制研究及治疗药物的开发。

* 联系作者 E-mail: wujh@hotmail.com, Sunzy64@163.com Tel: (021)64229909

良性前列腺增生症 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是一种困扰中老年男性的常见疾病, 由于其病因复杂, 目前尚无一种假说能完全解释该病发生机制, 因而治疗方法多样但没有一种最佳的治疗手段。其中, 药物治疗的方式方便安全, 为多数人首选。目前, 常用于筛选抗前列腺增生药的动物模型有 3 种, 分别为老龄犬自发性前列腺增生模型、丙酸睾酮 (testosterone propionate, TP) 引起大鼠前列腺增生法及尿生殖窦植入法小鼠前列腺增生模型。以前两种模型最为常用。根据新药 (西药) 临床前研究指导原则汇编 (药理学、药理学、毒理学) 一书, 在丙酸睾酮引起大鼠前列腺增生这一模型中, 阳性对照组选用 sc $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇^[1]。在实际工作中, 作者多次发现此剂量非但不能抑制前列腺增生, 反而有促进增生的迹象。为了验证此一现象, 故进行了本次实验。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性 SD 大鼠, 体重 135 ~ 145 g, 上海西普尔-必凯公司提供 (合格证号: 沪动合证字 SCXK 沪 2003-0002 号)。

1.2 药物

盐酸氯胺酮 (ketamine hydrochloride), 上海中西药业股份有限公司新冈制药厂, 批号: 040311。苯甲酸雌二醇注射液 (estradiol benzoate), 上海第九制药生产, 批号: 20090401, 橄榄油稀释。TP, 购于上海华联制药有限公司, 批号: 010504, 橄榄油溶解成 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 备用。非那甾胺 (finasteride), 纯度 > 98.5%, 批号: 040602, 江苏扬州制药厂提供, 作为阳性药^[2]。

1.3 仪器

PM 600 型电子天平, Switzerland 产。DSC-S50 型数码相机, 日本索尼公司。MIVNT 显微图像分析软件, 上海微图仪器科技发展公司。

1.4 动物处理及给药

①60只雄性SD大鼠,随机分成5组,依次为去势对照组、正常对照组、丙酸睾酮对照组、雌二醇组及非那甾胺组,每组动物数为12只。除正常对照组外,各组动物经盐酸氯胺酮ip麻醉后,无菌切除双侧睾丸,经1周自然恢复后,丙酸睾酮对照组、非那甾胺组及雌二醇组sc丙酸睾酮 $0.5\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$,连续31d,同时雌二醇组sc $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇。于最后1次给药24h后麻醉处死。

②30只雄性SD大鼠,随机分成5组,依次为丙酸睾酮组及4个雌二醇组,每组动物数为6只。各组动物经氯胺酮ip麻醉后,无菌切除双侧睾丸,经1周自然恢复后,各组均sc丙酸睾酮 $0.5\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$,连续2周,同时雌二醇组sc $50, 100, 200$ 和 $400\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇。于最后1次给药24h后麻醉处死。

1.5 前列腺重量、指数及体积的测定

用电子天平称量大鼠前列腺湿重,并计算前列腺指数[(前列腺重量/大鼠体重) $\times 100\%$]。排水法测量前列腺体积。

1.6 前列腺组织结构的观察

前列腺组织10%中性甲醛固定后,石蜡包埋,4 μm 切片,HE染色。染色切片于显微镜下,观察前列腺形态学变化。

1.7 前列腺组织形态计量学检测

固定显微镜放大倍数,数码相机拍照,将图象传入计算机,经标定测微尺寸后,通过显微图像分析软件测量前列腺组织上皮细胞高度和前列腺管腔面积大小。每组动物随机测至少120个腺腔,200个上皮高度。

1.8 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差(ANOVA)

分析和最小显著差值法(LSD)法进行显著性检验。

2 结果

2.1 给予雌二醇31d对前列腺湿重、前列腺体积和前列腺指数的影响

表1结果表明,给予SD大鼠 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇31d,与丙酸睾酮对照组相比,动物体重下降明显($P < 0.01$),前列腺体积无明显差别,前列腺湿重略低,前列腺指数增大。非那甾胺组动物前列腺体积、前列腺湿重和前列腺指数均较丙酸睾酮对照组明显下降($P < 0.01$)。

2.2 给予雌二醇31d对SD大鼠前列腺上皮高度及腺腔面积影响

给予SD大鼠 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇31d,与丙酸睾酮对照组相比,上皮高度和前列腺腺腔面积无缩小趋势。而非那甾胺组上皮高度和前列腺腺腔面积均较丙酸睾酮对照组为小($P < 0.01$,表2)。

2.3 给予不同剂量雌二醇2周对前列腺湿重及前列腺指数的影响

去势SD雄性大鼠给予雌二醇2周,前列腺湿重增加,400 $\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组前列腺湿重增加尤为明显($P < 0.05$);前列腺指数随雌二醇剂量的增加而呈增大趋势,400 $\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时已明显高于对照组($P < 0.01$)。

2.4 给予不同剂量雌二醇2周对前列腺上皮高度及腺腔面积影响

去势SD雄性大鼠给予雌二醇2周,前列腺上皮高度明显增高($P < 0.01$),并呈现剂量-依赖关系;前列腺腺腔面积亦随着雌二醇剂量增加而呈增大趋势,至400 $\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,腺腔面积增大已非常显著($P < 0.01$,表4和图1)。

Tab 1. Effects of estradiol on prostate volume, weight and prostate index in Sprague-Dawley (SD) rat

Group	Body weight/g	Volume/cm ³	Weight/g	Prostate index $\times 100$
Normal control	353 \pm 21 **	0.72 \pm 0.08 **	0.52 \pm 0.10 **	0.15 \pm 0.03 **
Castration control	315 \pm 25	0.10 \pm 0.00 **	0.07 \pm 0.02 **	0.02 \pm 0.01 **
TP control	290 \pm 28	1.02 \pm 0.15	0.88 \pm 0.15	0.30 \pm 0.05
Estradiol	243 \pm 17 **	1.00 \pm 0.18	0.77 \pm 0.16	0.32 \pm 0.07
Finasteride	284 \pm 25	0.69 \pm 0.10 **	0.49 \pm 0.08 **	0.17 \pm 0.04 **

Except normal group, animals of other four groups were castrated. In testosterone propionate (TP), finasteride and estradiol groups, animals were sc TP $0.5\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$ for 31 d, meanwhile, the animal in finasteride ig $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ finasteride and the animal in estradiol were sc $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol. Prostate index = (prostate weight/body weight) $\times 100\%$. $\bar{x} \pm s$, $n = 12$. ** $P < 0.01$, compared with TP group.

Tab 2. Epithelial cell height and acinar luminal area of prostate in SD rat after being administered 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol for 31 d

Group	Epithelial cell height		Acinar luminal area of prostate	
	n	/ μm	n	/ mm^2
Normal Control	400	13.5 \pm 3.8 ^{**}	240	0.031 \pm 0.019 ^{**}
Castration Control	400	7.0 \pm 1.7 ^{**}	240	0.004 \pm 0.005 ^{**}
TP Control	400	28.1 \pm 7.3	240	0.053 \pm 0.036
Estradiol	400	29.4 \pm 6.9	240	0.053 \pm 0.039
Finasteride	400	12.2 \pm 2.5 ^{**}	240	0.025 \pm 0.017 ^{**}

See Tab 1 for treatment. $\bar{x} \pm s$. ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with TP group.

Tab 3. Effect of estradiol of different doses on prostate of SD rat

Estradiol / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Body weight /g	Prostate weight /g	Prostate index $\times 100$
0	232 \pm 26	0.52 \pm 0.12	0.23 \pm 0.06
50	229 \pm 27	0.65 \pm 0.12	0.29 \pm 0.05
100	227 \pm 6	0.57 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05
200	226 \pm 26	0.63 \pm 0.15	0.29 \pm 0.10
400	204 \pm 16	0.72 \pm 0.04 [*]	0.35 \pm 0.04 ^{**}

All animals were castrated and divided into five groups. They were treated with 0.5 $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}$ TP and administered 0, 50, 100, 200 or 400 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol for 2 weeks. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$. ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with 0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group.

Tab 4. Epithelial cell height and acinar luminal area of prostate in SD rat after administered estradiol for two weeks

Estradiol / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Epithelial cell height		Acinar luminal area of prostate	
	n	/ μm	n	/ mm^2
0	200	17.2 \pm 4.3	120	0.045 \pm 0.033
50	200	20.4 \pm 4.3 ^{**}	120	0.045 \pm 0.035
100	200	21.7 \pm 3.9 ^{**}	120	0.056 \pm 0.033
200	200	25.6 \pm 6.0 ^{**}	120	0.054 \pm 0.039
400	200	29.6 \pm 6.7 ^{**}	120	0.079 \pm 0.046 ^{**}

See Tab 3 for treatment. $\bar{x} \pm s$. ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, compared with 0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ group.

3 讨论

雌激素,这一在生理上与雄激素有着不同作用的性激素,在前列腺增生发生过程中所扮演角色颇具争议性。不少研究者认为雌激素协同雄激素促进前列腺增生的发生^[3,4]。按雌雄激素平衡失调理论,老年睾酮水平下降,雌激素水平相对升高,从而促进 BPH 的发生。这一理论已获得不少资料的支持,如 Walsh 等^[5]用 17 β -雌二醇加 3 α -雄甾烷二醇在 3 个月内诱发去势犬 BPH 模型。但在一些论著中亦提及,雌激素具有治疗 BPH 的效果,如钟惟德等^[6]利用己烯雌酚联合哌唑嗪治疗 BPH 取得一定疗效。而新药(西药)临床前研究指导原则汇编中大鼠前列腺增生模型亦提出 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的雌二醇作为阳性对照。

如此矛盾的结果促使作者对雌二醇与前列腺增生的关系进行了初步探讨。首先,依据新药(西药)临床前研究指导原则提及方法,作者利用 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的雌二醇连续给予去势 SD 大鼠 31 d,结果表明,与丙酸睾酮组相比,前列腺体积无明显差别,前列腺湿重略低,前列腺指数增大。镜下结果表明前列腺上皮高度高于丙酸睾酮组($P < 0.01$),前列腺腺腔面积增大($P < 0.01$)。而选用的阳性药非那甾胺组动物前列腺体积、前列腺湿重和前列腺指数均较单纯丙酸睾酮组明显下降。在进一步探讨雌二醇与丙酸睾酮法建立的前列腺模型增生关系的研究中,联合丙酸睾酮,去势 SD 大鼠连续给予 50, 100, 200 和 400 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雌二醇 2 周的结果是,前列腺湿重和前列腺指数均呈剂量依赖性增大,镜下结果表明,前列腺上皮高度和前列腺腺腔面积均呈剂量-依赖性增高增大。据此,可以认为大鼠前列腺增生模型雌二醇作为阳性对照组值得商榷。

根据生理研究结果,男性体内雌激素 30% 直接来自睾丸,70% 来自肾上腺和睾丸所产生雄激素在外周的芳香化作用转变而来。男性附腺的生长依赖一定水平的雌激素。由免疫组织化学的研究结果获得,前列腺上皮主要分布有雄激素受体,前列腺基质细胞分布有雌激素受体^[7],给予雌激素促使前列腺间质细胞增生,因此,理论上而言阻止雄激素与受体的结合或雌激素与受体的结合均可以达到缩小前列腺的功效。实际上,他莫昔芬,一个雌激素受体拮抗剂,能够缩小增生的前列腺^[8],与甾体 5 α -还原酶抑制剂联合使用效果更佳,这也从一个侧面证实雌

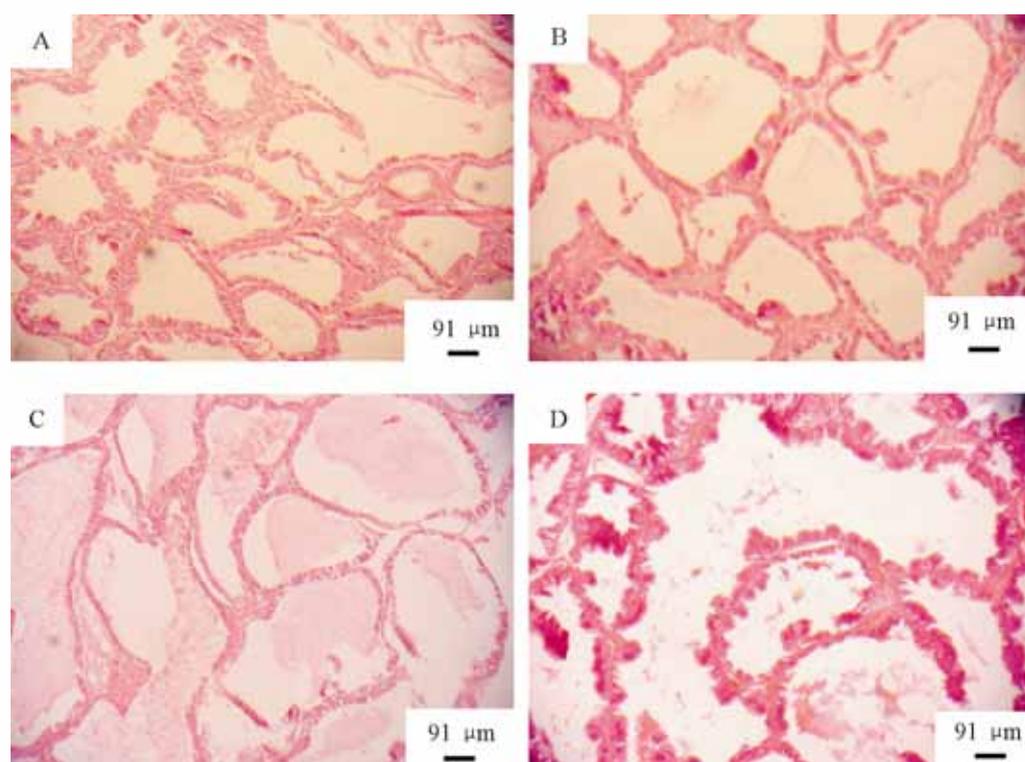


Fig 1. Morphological changes in prostate stained with hematoxylin and eosin (H&E). See Tab 3 for treatment. (A) $0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol; (B) $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol; (C) $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol; (D) $400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ estradiol. After being treated with estradiol for two weeks, the prostate duct area of estradiol groups was enlarged and their epithelial cell height was increased.

激素在前列腺增生中的作用。

犬的 BPH 研究也表明,雌激素协同雄激素诱导 BPH 发生,这种协同作用是通过雌激素诱导雄激素受体达到的^[9]。Jeyaraj 等^[10]利用恒河猴长期联合注射双氢睾酮和雌二醇后,导致前列腺基质增生。雌激素与雄激素这种协同作用认为可能是雌激素促进垂体释放泌乳素的结果^[7]。少数研究也提及雌激素对视丘下部和垂体的负反馈作用而抑制黄体生成素的分泌,从而会在一定程度上降低血清睾酮水平和使前列腺上皮萎缩,但支持这方面的研究性论文非常稀少。

尽管雌激素在前列腺发生及病变过程中的确切地位还未完全阐明,目前众多结果表明,雌激素对前列腺直接和间接作用的综合结果是在一定程度上是促进而不是抑制增生作用。因此,基于前人研究和本次实验结果,可以认为较大剂量的雌二醇不能抑制丙酸睾酮诱导的 BPH,相反,具有促进 BPH 的发生作用。

4 参考文献:

- [1] Drug Policy Administration Bureau of Ministry of Health, People's Republic of China. *The Rudder Compilation of New Drug (Western Medicine) Pre-Research (Pharmacy, Pharmacology, Toxicology)* [新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学、药理学、毒理学)] [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993. 101-103.
- [2] Gormley CJ. Finasteride: a clinical review [J]. *Biomed Pharmacother*, 1995, 49(7-8):319-324.
- [3] Su ZX. Biopsy and histology of prostate [A]. In: Gu FL, ed. *Modern Research on Prostatic Diseases* (现代前列腺病学) [M]. Beijing: People's Military Medical Publisher, 2002. 13-31.
- [4] Zhu G, Wang JY. Effect of estradiol in prostatic hypertrophy [J]. *Chin J Urol* (中华泌尿外科杂志), 1998, 19(7):444-445.
- [5] Walsh PC, Wilson JD. The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstanediol [J]. *J Clin Invest*, 1976, 57(4):1093-1097.
- [6] Zhong WD, Ling JH, Ruan YD, Feng YB, Zhou FN. An evaluation of the therapeutic effect and the cost of the combined use of diethylstilbestrol and prazosin in treating hyperplasia prostate [J]. *Chin J Urol* (中华泌尿外科杂志), 2001, 22(1):54-57.

- [7] Janulis L, Grayhack JT, Lee C. Endocrinology of the prostate[A]. In: Lepor H, ed. *Prostatic Diseases* [M]. Orlando: W.B. Saunders. 2001. 58-74.
- [8] Miyata E, Kawabe M, Sano M, Takesada Y, Takahashi S, Shirai T. Effects of tamoxifen, an antiestrogen, on rat prostate carcinogenesis by 3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenyl and testosterone do not support an estrogen role in testosterone promotion[J]. *Prostate*, 1997, 31(1):9-13.
- [9] Partin AW. Etiology of benign prostatic hyperplasia[A]. In: Lepor H, ed. *Prostatic Diseases* [M]. Orlando: W.B. Saunders. 2001. 95-105.
- [10] Jeyaraj DA, Udayakumar TS, Rajalakshmi M, Pal PC, Sharma RS. Effects of long-term administration of androgens and estrogen on rhesus monkey prostate: possible induction of benign prostatic hyperplasia[J]. *J Androl*, 2000, 21(6):833-841.

Effects of estradiol on prostate hyperplasia in castrated rats

WU Jian-Hui¹, PEI Xiao-Dan², CAO Lin¹, SUN Zu-Yue^{1*}, HE Gui-Lin¹,
LIU Gui-Ming¹, JIANG Xiu-Rong¹

(1. Department of Pharmacology and Toxicology, SIPPR, National Evaluation Centre for the Toxicology of Fertility Regulating Drugs, Shanghai 200032, China; 2. Department of Environmental Science of Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: **AIM** To investigate whether $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ estradiol can inhibit the proliferation of hyperplastic prostate induced by testosterone propionate (TP). **METHODS** ① 60 male Sprague-Dawley (SD) rats divided into five groups at random. One as normal control group, the other groups were negative control group, TP control group, estradiol group and finasteride group. Except the normal control group, the rats of other groups were castrated. One week after castration, the rats of TP control group were treated with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ TP, the estradiol group was treated with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ TP and $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ estradiol, the animal of finasteride group were treated with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ TP and $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ finasteride for 31 d. ② 30 male SD rats divided into five groups and were castrated, one week later, four groups were treated with 50, 100, 200 or $400 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ estradiol respectively for 14 d, meanwhile, all animal were treated with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ TP. Animals were anesthetized to death, the prostate was dissected and their weights were measured and their prostate index (PI) was calculated. The height of epithelial cell and acinar luminal area were measured with

micro image analysis software. **RESULTS** ① After being treated with $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ estradiol for 31 d, between TP control group and estradiol group, there were no differences in these indexes, including the mean prostate volume, mean prostate wet weight, prostate index, mean height of epithelial cell and mean gland lumen area of prostate. While in finasteride group, the values of all indexes were smaller than that of TP group ($P < 0.01$). ② In $400 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ group, the mean prostate wet weight was increased, the mean PI increased, the mean height of epithelial cell and the mean gland lumen area of prostate were significantly increased as compared with that of control group ($P < 0.01$). **CONCLUSION** $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and more estradiol can not inhibit the proliferation of hyperplasia prostate that induced by TP, on the contrary, they promote the prostate to proliferate. **Key words:** estradiol; prostate; proliferation; rats; model; animal

* Corresponding author.