

补肾活血方对良性前列腺增生大鼠前列腺导管系统
上皮细胞凋亡的影响孙 洁¹, 李秋芬², 田代志³, 江少波¹, 邬贤德¹, 裘顺安¹, 任小刚¹, 李玉兵¹

(1. 浙江中医药大学附属第一医院泌尿外科, 浙江 杭州 310006; 2. 杭州市中医院肾内科, 浙江 杭州 310000; 3. 湖北中医药大学中心实验室, 湖北 武汉 430061)

【摘要】 目的: 探讨补肾活血方对 BPH 大鼠前列腺导管系统上皮细胞凋亡的影响及其可能机制。 方法: 3 月龄雄性 Wistar 大鼠 100 只, 随机分为对照组、去势组、模型组、模型加补肾活血组 4 组, 每组 25 只。其中模型组、模型加补肾活血组以去势加丙酸睾酮法复制 BPH 模型。自造模起, 模型加补肾活血组给予 2.34 g/ml 补肾活血方流浸膏灌胃, 其余各组予以等体积生理盐水灌胃, 共 37 d。去势后第 38 天处死各组大鼠, 并留取标本。免疫组化法检测前列腺导管系统转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、 α -肌动蛋白分布及阳性细胞数; TUNEL 法检测前列腺导管系统上皮细胞凋亡率。 结果: 与模型组相比, 模型加补肾活血组无论前列腺导管近段 [(36.42 $\pm$ 8.10)% vs (15.28 $\pm$ 4.30)% $P < 0.01$] 还是远段 [(8.71 $\pm$ 2.28)% vs (4.42 $\pm$ 2.07)% $P < 0.05$], TGF- $\beta 1$ 阳性细胞百分数均明显升高, 但只有近段 α -肌动蛋白阳性细胞率高于模型组 [(28.14 $\pm$ 7.43)% vs (18.28 $\pm$ 4.07)% $P < 0.01$], 但仍然低于对照组 [(33.57 $\pm$ 6.85)% $P < 0.05$]。与对照组比较, 模型组和模型加补肾活血组前列腺导管远、近段上皮细胞凋亡率均明显下降 [远段: 17.60 $\pm$ 4.86 vs 3.07 $\pm$ 1.14 ($P < 0.01$)、12.37 $\pm$ 2.25 ($P < 0.05$); 近段: 39.42 $\pm$ 9.20 vs 3.86 $\pm$ 1.34 ($P < 0.01$)、31.14 $\pm$ 5.64 ($P < 0.01$)]。与模型组比较, 模型加补肾活血组前列腺导管远、近段上皮细胞凋亡率均明显增高 ($P < 0.01$)。 结论: 补肾活血方可通过上调 TGF- $\beta 1$ 表达, 抑制前列腺导管系统近端的平滑肌数量减少, 促进前列腺导管上皮细胞凋亡, 从而有效地抑制了良性前列腺增生。

【关键词】 良性前列腺增生; 前列腺导管系统; 转化生长因子 $\beta 1$; 凋亡; 中医药; 补肾活血方; 大鼠

中图分类号: R697.33 文献标志码: A doi: 10.13263/j.cnki.nja.2014.09.011 ①

*Bushen Huoxue Fang promotes the apoptosis of epithelial cells in the prostatic ductal system of rats with benign prostatic hyperplasia*SUN Jie¹, LI Qiu-fen², TIAN Dai-zhi³, JIANG Shao-bo¹, WU Xian-de¹,
QIU Shun-an¹, REN Xiao-gang¹, LI Yu-bing¹

1. Department of Urology, The First Hospital Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310006, China; 2. Department of Nephrology, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310000, China; 3. Central Laboratory, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430061, China

【Abstract】 Objective: To investigate the effects of *Bushen Huoxue Fang* (BSHX) on the apoptosis of epithelial cells in the prostatic ductal system of rats with benign prostatic hyperplasia (BPH) and its possible action mechanism. **Methods:** One hundred 3-

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划(2007B159)

作者简介: 孙 洁(1975-) 男, 湖北孝感市人, 副主任中医师, 博士, 从事专业中医男科临床工作。

通讯作者: 孙 洁, Email: sunjiede@gmail.com

month-old male Wistar rats were randomly divided into four groups of equal number (control, castrated, BPH model, and BSHX). BPH models were made by subcutaneous injection of testosterone following castration; the rats in the BSHX group were treated intragastically with BSHX at 2.34 g/ml after modeling, while those in the other two groups with equal volume of saline, all for 37 days. On the 38th day, all the rats were sacrificed and their prostates harvested for detection of the distribution of TGF- β 1 and α -actin and the count of positive cells in the prostatic ductal system by immunohistochemical staining. The apoptosis rate of epithelial cells in the prostatic ductal system was determined by TUNEL assay. **Results:** The expression of TGF- β 1 was significantly increased in the rats of the BSHX group as compared with the BPH models in both the proximal prostatic duct ($[15.28 \pm 4.30]\%$ vs $[36.42 \pm 8.10]\%$, $P < 0.01$) and the distal prostatic duct ($[4.42 \pm 2.07]\%$ vs $[8.71 \pm 2.28]\%$, $P < 0.05$), while the expression of α -actin in the proximal duct was remarkably higher in the BSHX-treated rats than in the models ($[28.14 \pm 7.43]\%$ vs $[18.28 \pm 4.07]\%$, $P < 0.01$), but lower than in the control animals ($[33.57 \pm 6.85]\%$, $P < 0.05$). Compared with the control group, the BPH models and BSHX-treated rats both exhibited markedly decreased apoptosis of epithelial cells in the proximal prostatic duct ($[39.42 \pm 9.20]\%$ vs $[3.86 \pm 1.34]\%$, $P < 0.01$, and $[31.14 \pm 5.64]\%$, $P < 0.01$) and distal prostatic duct ($[17.60 \pm 4.86]\%$ vs $[3.07 \pm 1.14]\%$, $P < 0.01$, and $[12.37 \pm 2.25]\%$, $P < 0.05$). The apoptosis rate of epithelial cells in the prostatic ductal system was significantly higher in the BSHX-treated rats than in the BPH models ($P < 0.01$). **Conclusion:** By upregulating the expression of TGF- β , BSHX can suppress the reduction of smooth muscle cells in the proximal prostatic duct, promote the apoptosis of prostatic epithelial cells, and thus effectively inhibit benign prostatic hyperplasia. *Natl J Androl, 2014, 20 (9): 824-829*

【Key words】 benign prostatic hyperplasia; prostatic ductal system; transforming growth factor- β 1; apoptosis; traditional Chinese medicine; Bushen Huoxue Fang; rat

Correspondence to: SUN Jie, email: sunjiede@gmail.com

Received: November 30, 2013; accepted: June 27, 2014

良性前列腺增生(BPH)是中老年男性最常见泌尿系统疾病之一,在美国,70岁以上男性BPH发病率高达80%^[1],2006~2009年因为下尿路症状就诊的男性每年高达197.6/100 000,其中多数与BPH有关^[2]。2002~2004年上海浦东地区50岁以上男性BPH总发病率高达62.9%^[3]。

虽然BPH的发病机制还不完全清楚,现代研究已证实睾酮与BPH发病的关系。随着年龄增长,血清睾酮水平下降,但前列腺内的双氢睾酮(DHT)及雄激素受体(AR)水平却仍保持较高水平,由于前列腺终生保持对雄激素反应,而使前列腺增生^[4]。但是,为什么青年人前列腺组织中有与老年人同样的DHT及AR水平,却不发生前列腺增生,在老年人血清雄激素水平下降的情况下,前列腺反而增生,至今仍然没有圆满的解释。

中医药治疗BPH多从补肾活血立法,肾虚血瘀是BPH的主要病机^[5]。大量研究均表明肾虚^[6],尤其是肾阳虚者^[7]通常表现为睾酮水平降低。补肾药物可以明显提高血清睾酮水平^[7]。在补肾活血法可以有效治疗BPH和补肾药物提高血清睾酮水平之间存在明显的矛盾。前列腺导管系统是指一个单独的前列腺功能单位,近段导管外平滑肌细胞产生上皮细胞抑制因子而远段导管外的成纤维细胞则产生上皮细胞刺激因子,使得前列腺细胞的生长与死亡保持平衡,如果这种平衡

失调就会发生BPH^[8]。因此,我们假设补肾活血中药正是通过调节前列腺导管系统不同节段的雄激素活性而产生疗效。基于这个假设,我们以大鼠为研究对象,观察去势后大鼠前列腺导管系统转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、 α -肌动蛋白分布及丰度,上皮细胞凋亡变化,以及补肾活血方补肾活血方对这些变化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 3月龄雄性Wistar大鼠100只,SPF级,重量230~250 g,由浙江中医药大学动物实验中心提供。

1.1.2 主要试剂及设备 TGF- β 、 α -肌动蛋白免疫组化试剂盒及TUNEL检测试剂盒(武汉博士德生物科技公司);石蜡切片机(天津正天医疗器械有限公司);BX60光学复合显微镜(Olympu公司);1000型医学真彩色计算机图像全自动分析处理系统(HPIAS公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 所有动物编流水号后,按计算机取随机数法分为对照组、去势组、模型组、模型加补肾活血组4组。造模^[9]:除对照组外,其它实验大鼠在戊巴比妥钠麻醉后,常规消毒皮肤,经阴囊摘除双侧睾丸,残端处结扎,以确保止血,缝合皮肤。去

势后,将去势大鼠随机分为去势组、模型组、模型加补肾活血组。其中模型组和模型加补肾活血组于去势后第 8 天起,每只大鼠每天皮下注射丙酸睾酮 1 mg/300 g,连续 30 d,造模结束。

实验期间所有动物自由饮食。于去势第 1 天起,各组大鼠分别给予相应药物灌胃。模型加补肾活血方按 1 ml/100 g 体重予 2.34 g/ml 补肾活血方流浸膏(由淫羊藿、枸杞子、穿山甲、丹参、菟丝子等组成,浙江省中医院制剂室制作)灌胃,其余各组予等体积生理盐水灌胃。均每日 1 次,连续 37 d。去势后第 38 天处死各组大鼠,并留取标本。快速取出前列腺组织,沿纵轴方向切开为两叶,以 4% 多聚甲醛溶液固定,供各项指标检测之用。

1.2.2 观察项目 免疫组化染色检测前列腺导管系统 TGF- β 1、 α -肌动蛋白的表达,用医学真彩色计算机图像全自动分析处理系统观察并计算阳性细胞,以胞质或胞膜中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,每张切片计数 200 个细胞。TUNEL 法检测前列腺导管系统上皮细胞凋亡率。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较用单因素方差分析,两两比较方差齐性用 LSD 检验,方差不齐性用 Dunnett 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 前列腺组织导管组织上皮细胞凋亡率 与对照组比较,去势组前列腺上皮细胞凋亡率不但未见升高,反而表现为明显下降,而尤其以近段凋亡率下降更为明显($P < 0.01$)。而模型组和模型加补肾活血组前列腺腺管近段上皮细胞凋亡率明显下降(P 均 < 0.01)。与模型组比较,模型加补肾活血组前列腺腺管近段上皮细胞凋亡率明显升高。与对照组相比,各组前列腺腺管远段凋亡率均明显下降,而以

去势组、模型组下降更为明显($P < 0.01$)。模型加补肾活血组凋亡率下降相对较少($P < 0.05$)。与模型组相比,模型加补肾活血组前列腺腺管远段凋亡率明显升高($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 各组前列腺组织 TGF- β 1 和 α -肌动蛋白的表达 与对照组相比,各组近段 TGF- β 1 表达均明显下降(P 均 < 0.01),而以模型组为甚;远段 TGF- β 1 表达只有去势组明显上升($P < 0.01$),模型组及模型加补肾活血组无明显差异。与模型组相比,模型加补肾活血组无论近段($P < 0.01$)还是远段($P < 0.05$),TGF- β 1 表达均明显升高。

与对照组相比,去势组($P < 0.01$)、模型组($P < 0.01$)及模型加补肾活血组($P < 0.05$)近段 α -肌动蛋白阳性细胞数均明显减少。去势组远段 α -肌动蛋白表达则明显高于包括对照组在内的其它各组($P < 0.01$),而其它各组之间相比则无明显差异($P > 0.05$)。见表 2,图 1、2。

表 1 各组大鼠前列腺导管组织上皮细胞凋亡率比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Apoptosis of epithelial cells in the proximal and distal segments of the prostatic duct (PD) in different groups of rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	Epithelial cell apoptosis (%)	
	In proximal PD	In distal PD
Control	39.42 $\pm$ 9.20	17.60 $\pm$ 4.86
Castrated	17.01 $\pm$ 4.76 **	8.03 $\pm$ 6.12 **
BPH model	3.86 $\pm$ 1.34 **	3.07 $\pm$ 1.14 **
BSHX	31.14 $\pm$ 5.64 *▲▲	12.37 $\pm$ 2.25 *▲▲

与对照组比较,* : $P < 0.05$,** : $P < 0.01$;与模型组比较,▲ : $P < 0.05$,▲▲ : $P < 0.01$

BSHX: treated with *Bushen Huoxue Fang*. * : $P < 0.05$,** : $P < 0.01$ versus the control group; ▲ : $P < 0.05$,▲▲ : $P < 0.01$ versus the BPH model group.

表 2 各组大鼠前列腺导管组织 TGF- β 1 和 α -肌动蛋白阳性表达细胞率比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Expressions of TGF- β 1 and α -actin in the proximal and distal segments of the prostatic duct (PD) in different groups of rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	Expression of TGF- β 1 (%)		Expression of α -actin (%)	
	In proximal PD	In distal PD	In proximal PD	In distal PD
Control	46.71 $\pm$ 5.67	7.42 $\pm$ 3.25	33.57 $\pm$ 6.85	5.71 $\pm$ 1.89
Castrated	21.42 $\pm$ 4.61 **	16.28 $\pm$ 3.49 *▲▲	13.00 $\pm$ 3.55 **	24.85 $\pm$ 6.99 *▲▲
BPH model	15.28 $\pm$ 4.30 **	4.42 $\pm$ 2.07	18.28 $\pm$ 4.07 **	3.71 $\pm$ 2.06
BSHX	36.42 $\pm$ 8.10 *▲▲	8.71 $\pm$ 2.28 ▲	28.14 $\pm$ 7.43 *▲▲	4.57 $\pm$ 1.99

与对照组比较,* : $P < 0.05$,** : $P < 0.01$;与模型组比较,▲ : $P < 0.05$,▲▲ : $P < 0.01$

BSHX: treated with *Bushen Huoxue Fang*. * : $P < 0.05$,** : $P < 0.01$ versus the control group, ▲ : $P < 0.05$,▲▲ : $P < 0.01$ versus the BPH model group.

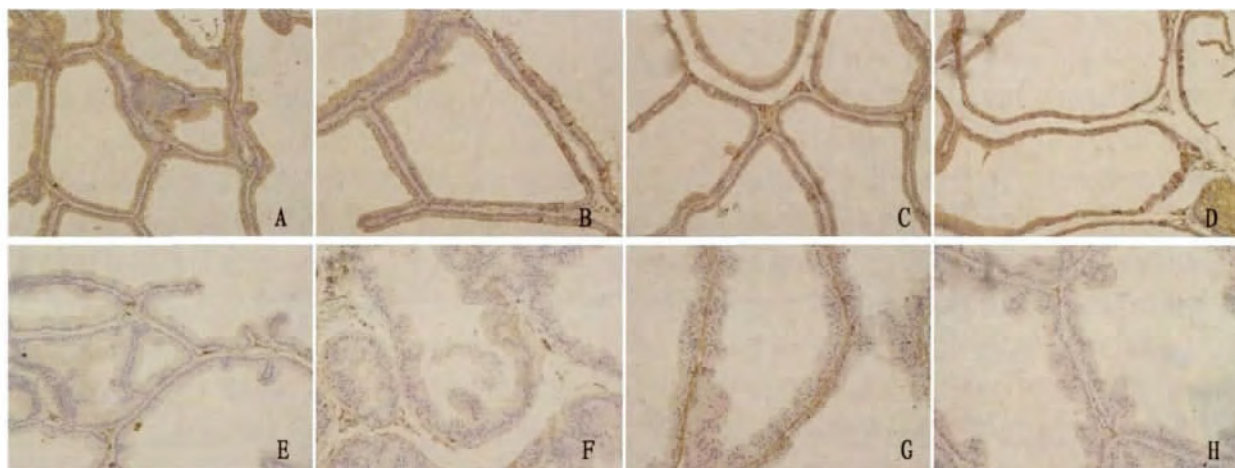


图 1 各组大鼠前列腺导管近、远段 TGF- β 1 的表达(免疫组化 $\times 200$)

A ~ D 依次为对照组、去势组、模型组和模型加补肾活血组大鼠的前列腺导管近段。与对照组相比,各组近段 TGF- β 表达均明显下降,而以模型组为基。E ~ H 依次为对照组、去势组、模型组和模型加补肾活血组大鼠的前列腺导管远段。去势组前列腺导管远段 TGF- β 表达明显上升。与模型组相比,模型加补肾活血组前列腺导管 TGF- β 表达无论近段,还是远段,均明显升高。

Figure 1. Expression of TGF- β 1 in the proximal and distal segments of the prostatic duct in different groups of rats (Immunohistochemistry $\times 200$)

A, B, C, and D: proximal segment of the rat prostatic duct in the normal control, castrated, BPH model, and *Bushen Huoxue Fang* (BSHX)-treated group, respectively. Compared with A, the expression of TGF- β 1 was significantly decreased in B, C, and D, particularly in C. E, F, G, and H: distal segment of the rat prostatic duct in the normal control, castrated, BPH model, and BSHX-treated group, respectively. The expression of TGF- β 1 was significantly higher in F than in E, G, and H. Compared with the BPH models, the BSHX-treated rats showed a remarkably increased level of TGF- β 1 expression in both the proximal and distal segments of the prostatic duct.

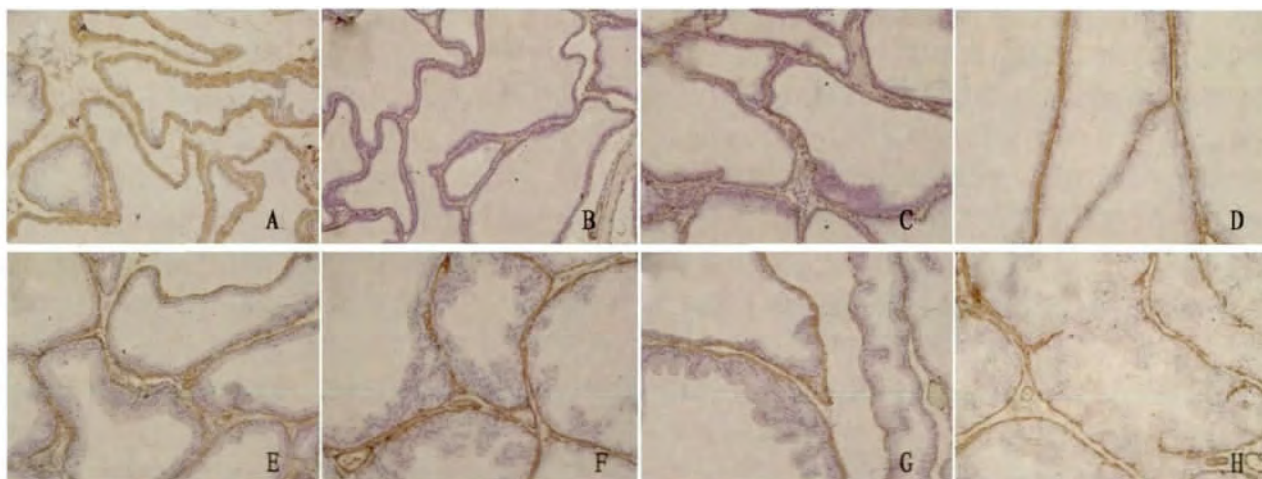


图 2 各组大鼠前列腺导管近、远段 α -肌动蛋白的表达(免疫组化 $\times 200$)

A ~ D 依次为对照组、去势组、模型组和模型加补肾活血组大鼠的前列腺导管近段。与对照组相比,去势组、模型组及模型加补肾活血组近段 α -肌动蛋白阳性细胞数均明显减少。E ~ H 依次为对照组、去势组、模型组和模型加补肾活血组的前列腺导管远段。去势组远段 α -肌动蛋白表达明显高于包括对照组在内的其它各组,而其它各组之间相比则无明显差异。

Figure 2. Expression of α -actin in the proximal and distal segments of the prostatic duct in different groups of rats (Immunohistochemistry $\times 200$)

A, B, C, and D: proximal segment of the rat prostatic duct in the normal control, castrated, BPH model, and *Bushen Huoxue Fang* (BSHX)-treated group, respectively. Compared with A, the expression of α -actin was significantly decreased in B, C, and D, particularly in C. E, F, G, and H: distal segment of the rat prostatic duct in the normal control, castrated, BPH model, and BSHX-treated group, respectively. The expression of α -actin was remarkably higher in F than in E, G, and H, with no significant differences among the latter three groups.

3 讨论

3.1 补肾活血方对 BPH 模型大鼠前列腺导管系统上皮细胞凋亡的影响 前列腺导管系统是指一个单独的前列腺功能单位,在这个单位中,所有的腺样结构共享一个排向尿道的引流管道。在尿道壁上可以找到每一个前列腺导管系统的开口。大鼠前列腺的导管系统沿纵轴方向可以被分为近段、中段、远段 3 个区段,不同部位的间质在雄激素调控下可以产生不同的生长因子。近段导管外平滑肌细胞产生上皮细胞抑制因子,而远段导管外的成纤维细胞则产生上皮细胞刺激因子,使得前列腺细胞的生长与死亡保持平衡,如果这种平衡失调就会发生 BPH^[8]。对前列腺导管系统的研究发现,上皮细胞的萎缩开始于导管系统的远段,这也正是去势前细胞增殖最显著的地方。在凋亡的高峰期过后,凋亡向中段区域播散,而近段区域的上皮细胞在这一时期并不发生凋亡。在长期去势后,近段区域的凋亡反而略有下降^[10]。

我们的数据显示,与对照组比较,去势组前列腺上皮细胞凋亡率不但未见升高,反而表现为明显下降,而尤其以近段凋亡率下降更为明显。而模型组和模型加补肾活血组前列腺腺管近段上皮细胞凋亡率明显下降,而以模型组更为明显。与模型组比较,模型加补肾活血组前列腺腺管近段上皮细胞凋亡率明显较高。这提示去势加注射睾酮方法复制 BPH 大鼠模型主要引起了大鼠前列腺导管近段细胞凋亡的明显下降,这一区域本是前列腺上皮凋亡最为活跃的区域。而远段腺管上皮细胞凋亡亦有明显下降,但由于这一区域细胞凋亡在生理情况即不活跃,因此,我们推测其在前列腺增生发病中不占主要地位,近段腺管上皮细胞凋亡减少可能是 BPH 发病的主要因素。在使用补肾活血方后,前列腺腺管近段上皮细胞凋亡率明显增加,从而缩小腺体组织,起到抑制前列腺增生的作用。

3.2 补肾活血方对 BPH 模型大鼠前列腺导管系统上皮细胞凋亡影响的可能机制 沿前列腺导管系统存在一个平滑肌细胞(表达 α -肌动蛋白)的数量梯度,近段最多,远段最少^[11]。与对照组相比,去势组、模型组及模型加补肾活血组近段 α -肌动蛋白阳性细胞数均明显减少。去势组远段 α -肌动蛋白表达则明显高于包括对照组在内的其它各组,而其它

各组之间相比则无明显差异。提示模型组前列腺腺管近段 α -肌动蛋白阳性细胞明显减少。

同时,我们发现模型组近段 TGF- β 1 表达下降。TGF- β 1 具有促进细胞凋亡的作用,TGF- β 1 水平改变可能是远段表达下降与模型组腺管近段凋亡率明显下降的原因。而模型加补肾活血组大鼠前列腺腺管无论近段还是远段的 α -肌动蛋白阳性细胞数和 TGF- β 1 表达均明显下降。这些发现提示,补肾活血方是通过维持近段 α -肌动蛋白阳性细胞,即平滑肌细胞的数量,从而在前列腺导管系统近段保持一个较高水平的 TGF- β 1 表达,起到促进细胞凋亡,抑制前列腺腺管上皮增殖的作用。

对近 10 年的中文文献中 BPH 辨证分型规律进行分析发现,肾虚、血瘀或二者兼有占有所有证型频次的 49.96%^[5],一项国家“十一五”科技支撑计划资助项目的研究结果则显示肾阳虚证、瘀阻水道证、肾阴虚证为 BPH 的最常见证型^[12]。证型的分布即反应了疾病的病机特点,这些研究说明中医药对 BPH 的病机在经过数十年争论和研究后已趋于一致,肾虚血瘀是 BPH 的基本病机^[13]。

《素问·灵兰秘典论》云“膀胱者,州都之官,津液藏焉,气化则能出矣”。肾中阳气是膀胱气化的动力,它藏于肾而行于经络。肾中阳气不足则无力推动膀胱气化,经络瘀阻不通则阳气不能敷布膀胱,膀胱气化不利,而见尿频、尿急、排尿不畅诸症。以补肾活血法治之,肾阳充则膀胱得温,经络畅而阳气能布,于是膀胱藏津液而行气化,得以行使其正常功能。因此补肾活血法能有效治疗 BPH。以补肾活血立法的经验方补肾活血方用于临床治疗前列腺增生多年^[14-15]。方中熟地黄、枸杞子、淫羊藿、巴戟天等平补肾中阴阳以益肾气,穿山甲、丹参、川芎、莪术等活血化瘀以消散散结。丹参、川芎还兼有养血补血作用,与穿山甲、莪术同用,既能活血破瘀,又能养血生新,使之祛邪而不伤正,扶正而不助邪,全方共奏补肾活血之功。

我们的研究发现,去势加注射睾酮方法复制的大鼠 BPH 模型的前列腺导管近段平滑肌细胞减少,引起局部 TGF- β 1 表达下降,腺管上皮细胞凋亡减少而出现前列腺增生。在使用补肾活血方之后,前列腺导管系统近段的平滑肌数量减少得以遏制,局部 TGF- β 1 表达上升,腺管上皮细胞凋亡明显增生,从而有效地抑制了前列腺增生。

参考文献

- [1] Alexander Bachmann JJMCHDELAR. Benign Prostatic Hyperplasia and Lower Urinary Tract Symptoms in Men: Oxford University Press, 2012. 3.
- [2] Roghmann F, Ghani KR, Kowalczyk KJ, *et al.* Incidence and treatment patterns in males presenting with lower urinary tract symptoms to the emergency department in the United States. *J Urol*, 2013, 190(5): 1798-1804.
- [3] 石 泉, 姜 宁, 王国增, 等. 浦东新区 50 岁以上男性前列腺增生症流行病学调查. *中国男科学杂志*, 2006, (7): 36-38.
- [4] 吴阶平. 泌尿外科学. 济南: 山东科学技术出版社. 2006. 1130.
- [5] 陈树山, 赵 刃. 良性前列腺增生中医证型和用药规律分析. *辽宁中医药大学学报*, 2012, 14(9): 137-139.
- [6] 陈云志, 杨长福, 秦 钟, 等. 维生素 D 缺乏肾精不足小鼠模型的建立. *中华中医药杂志*, 2012, (9): 2412-2414.
- [7] 包 宇, 杨建雄, 孙润广. 淫羊藿苷可缓解肾阳虚小鼠睾酮及性腺雄激素受体基因的表达下调(英文). *中国生物化学与分子生物学报*, 2011, (2): 174-179.
- [8] Nemeth JA, Sensibar JA, White RR, *et al.* Prostatic ductal system in rats: Tissue-specific expression and regional variation in stromal distribution of transforming growth factor-beta 1. *Prostate*, 1997, 33(1): 64-71.
- [9] 曹继刚, 周安方. 仙甲汤对大鼠实验性前列腺增生的抑制作用研究. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11(1): 43-45.
- [10] Ilio KY, Nemeth JA, Sensibar JA, *et al.* Prostatic ductal system in rats: Changes in regional distribution of extracellular matrix proteins during castration-induced regression. *Prostate*, 2000, 43(1): 3-10.
- [11] Nemeth JA, Lee C. Prostatic ductal system in rats: Regional variation in stromal organization. *Prostate*, 1996, 28(2): 124-128.
- [12] 张春和, 李焱风, 秦国政, 等. 540 例良性前列腺增生症患者中医证候分布规律研究. *中医杂志*, 2012, 53(1): 45-47.
- [13] 赵建业, 何清湖. 肾虚血瘀为前列腺增生症的基本病机. *新中医*, 2011, 43(2): 8-9.
- [14] 孙 洁, 李秋芬, 田代志, 等. 补肾活血方对前列腺增生模型大鼠膀胱胶原沉积的影响. *中华中医药学刊*, 2013, 31(2): 315-317 + 459-460.
- [15] 孙 洁, 李秋芬, 田代志, 等. 补肾活血方对 BPH 模型大鼠膀胱逼尿肌缝隙连接蛋白表达的影响. *中华中医药学刊*, 2012, 30(11): 2501-2503.

(收稿日期: 2013-11-30; 接受日期: 2014-06-27)

(本文编辑: 徐建平)