

复方“回乳抑增一号”治疗乳腺增生病的组方优化

郭皓^{1,2}, 吴金虎^{2*}, 陈永刚², 彭斯维^{1,2}

(1. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065; 2. 武汉市第三医院, 武汉 430060)

[摘要] **目的:**探讨“回乳抑增一号”对乳腺增生病的治疗作用,用药效学实验筛选出最佳处方。**方法:**将120只大鼠随机分为15组,除正常组外,每组均肌肉注射苯甲酸雌二醇($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),连续25 d,继而肌肉注射黄体酮注射液 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,连续5 d,造模后给予不同组方药物治疗,连续4周后,用ELISA法测定各组大鼠血清激素雌二醇(E_2),孕酮(P),泌乳素(PRL),促卵泡激素(FSH),促黄体生成素(LH)的含量;并在显微镜下观察各组大鼠乳腺组织病理形态学变化。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠血清 E_2 ,P,PRL,FSH,LH含量明显升高($P < 0.05$),乳腺小叶数、小叶内腺泡数和分泌物明显增多;与模型组比较,各治疗组大鼠血清激素值均有所降低($P < 0.05$),组方8明显降低大鼠血清雌二醇,泌乳素,促卵泡激素,提高孕酮,促黄体生成素($P < 0.05$),显著减轻乳腺小叶数、小叶内腺泡数和分泌物。**结论:**复方“回乳抑增一号”显著改善血清激素水平的紊乱,对乳腺增生病疗效显著,其中以生麦芽,夏枯草,玄参,浙贝母,淡昆布,牡蛎,山慈菇合用对乳腺增生病大鼠的疗效最为显著,为最优处方。

[关键词] 回乳抑增一号; 乳腺增生; 激素; 病理形态

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0133-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190133

Optimization of Huiru Yizeng I Prescription for Treating Hyperplasia of Mammary Glands

GUO Hao^{1,2}, WU Jin-hu^{2*}, CHEN Yong-gang², PENG Si-wei^{1,2} (1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. The Third Hospital of Wuhan, Wuhan 430060, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect of Huiru Yizeng I for treating hyperplasia of mammary glands, and screen out the best prescription by pharmacodynamic experiment. **Method:** Totally 120 rats were randomly divided into 15 groups ($n = 8$). Except for the normal group, the other groups were intramuscularly injected with estradiol benzoate ($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) for 25 days and then progesterone ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) for five more days to establish the mammary gland hyperplasia model. The rats were treated with different drugs for four weeks. The serum estradiol (E_2), progesterone (P), prolactin (PRL), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) were determined by ELISA. The pathomorphological changes in mammary tissues of each group were observed under microscope. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant increases in serum E_2 , P, PRL, FSH, LH content ($P < 0.05$) and the numbers of lobules, alveoli and secretions. Compared with the model group, serum hormones of rats in each treatment values were lower ($P < 0.05$). Compared with the other groups, group 8 showed significantly decreases in the serum levels of estradiol ($P < 0.05$), prolactin, follicle stimulating hormone, progesterone, luteinizing hormone ($P < 0.05$) and reduction in the numbers of lobules, alveoli and secretions. **Conclusion:** Compound Huiru Yizeng I could significantly relieve the disorder of serum hormones, has significant therapeutic effect on hyperplasia of mammary glands, in which *Hordei Fructus Germinatus*, *Prunellae Spica*, *Scrophulariae Radix*, *Fritillariae Thunbergii Bulbus*, *Laminariae Japonicae Thallus*, *Ostreae Concha*, *Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* are combined as the optimal prescription, with the most significant therapeutic effect on hyperplasia of mammary glands in rats.

[Key words] Huiru Yizeng I; hyperplasia of mammary glands; hormone; pathomorphology

[收稿日期] 20140926(007)

[基金项目] 武汉市科技计划局项目(2013061402010509)

[第一作者] 郭皓,在读硕士,主任药师,Tel:15002735680,E-mail:869499862@qq.com

[通讯作者] *吴金虎,博士,主任药师,Tel:15994260163,E-mail:wujinhu@163.com

乳腺增生症,现代医学又称为乳腺结构不良,是乳腺间质的良性增生,主要包括乳腺单纯增生与乳腺囊性增生,后者被有些学者认为是乳腺癌的癌前病变。乳腺增生症是育龄女性的常见病和多发病,约占妇女全部乳房疾病的 70%,且有逐年上升趋势^[1]。目前,西医对其治疗多采用激素治疗,虽有一定疗效,但不良反应多,易复发。而中药复方能调节机体内分泌,治疗乳腺增生疗效显著,已逐渐被临床认可^[2]。

本文研制的回乳抑增一号为武汉市第三医院制剂,经多年临床实验证实,对乳腺增生病的疗效显著^[3]。但由于组方中药味过多,剂量过大,给病人带来很大不便。本实验旨在通过建立大鼠乳腺增生疾病模型,从血清激素指标,乳腺组织病理形态等角度探讨回乳抑增一号治疗乳腺增生的作用机制,通过拆方实验寻找方中起主要作用的中药,筛选出最优处方,为将其开发为更方便实用的剂型提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 120 只雌性未孕 SPF 级 Wistar 大鼠,体重 300 ~ 350 g,鼠龄 8 ~ 10 周,由湖北省疾病预防控制中心提供。动物合格证号 SYXK(鄂)2014-0080,实验前动物置于室内适应环境 1 周,室温 18 ~ 25 ℃。

1.2 药物及试剂 回乳抑增一号,处方组成:生麦芽,夏枯草,玄参,浙贝母,郁金,丹参,白芥子,淡昆布,牡蛎,山慈菇(各药材由湖北清大药业有限公司提供,经武汉市第三医院药学部吴金虎教授鉴定,各药材品种均符合 2010 年版《中国药典》规定^[4])。苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司,批号 11004251),黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 33020828),雌二醇(E_2),孕酮(P),泌乳素(PRL),促卵泡激素(FSH),促黄体生成素(LH),ELISA 检测试剂盒(批号 05/2014),均为华美有限公司提供。

1.3 仪器 J2714 型恒温箱(武汉大江电器仪表厂),Rayto RT-6000 型酶标仪(深圳雷杜公司),Rayto RT-3100 型全自动洗板机(深圳雷杜公司)。

2 方法

2.1 模型建立方法^[5] 正常组注射生理盐水 0.1 mL/只,im,1 次/d,连续 30 d。其余各组均 im 苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg·kg⁻¹,连续 25 d,继而改用黄体酮注射液 5 mg·kg⁻¹,im,连续 5 d。

2.2 药物制备 药材加 8 倍量水浸泡 1 h。用武火

煮沸,后用文火煮 30 min。再用 8 倍量水重复煎煮 1 次。2 次煎液合并,滤过,浓缩至含生药 4 g·mL⁻¹,4 ℃ 储存备用。

2.3 分组处理 将 120 只大鼠,随机分为 15 个组别,每组 8 只。依中医“君、臣、佐、使”理论以及药味的寒凉属性和各自的功效,笔者将方中 10 味药材进行拆方分组。其中,君药为生麦芽,夏枯草。臣药玄参,浙贝母清热散结,为臣 1;郁金,丹参活血散结,调经止痛,为臣 2。佐药白芥子为寒性,为佐 1;昆布,牡蛎,山慈菇具为温性,为佐 2。拆方分组如下:① 全方组;② 君药组;③ 臣 + 佐;④ 君 + 臣;⑤ 君 + 臣 1;⑥ 君 + 臣 2;⑦ 君 + 臣 1 + 佐 1;⑧ 君 + 臣 1 + 佐 2;⑨ 君 + 臣 2 + 佐 1;⑩ 君 + 臣 2 + 佐 2;⑪ 生麦芽组;⑫ 不含生麦芽组;⑬ 正常模型(1 个月之后);⑭ 正常组;⑮ 模型组。

2.4 给药方案 各组于造模后按体重给药,于每天下午 16:00 点给药 1 次,剂量为每天 1.5 mL/只。对照组给予相应体积的生理盐水。

2.5 指标检测

2.5.1 血清 E_2 , P, PRL, FSH, LH 含量测定^[6] 末次给药后,各组大鼠禁食供水 12 h,摘除眼球取血,3 000 r·min⁻¹,离心 5 min,取血清。用 ELSIA 试剂盒按酶联免疫吸附法测定血清 E_2 , P, PRL, FSH, LH 含量。

2.5.2 乳腺组织病理形态观察^[7] 各组大鼠剖取乳腺组织,常规制片,HE 染色后在显微镜下观察各组大鼠乳腺组织形态学变化,包括腺泡、小叶增生、导管形状及厚度以及是否出现分泌物。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血清 E_2 , P, PRL, FSH, LH 含量的影响
与正常组比较,模型组大鼠血清中 E_2 , PRL, FSH 含量明显升高($P < 0.05$),血清中 P 的含量均明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,各实验组血清中 E_2 , PRL, FSH 的含量均明显降低($P < 0.05$),血清中 P 的含量均明显升高($P < 0.05$);与正常组比较,第 8 组大鼠血清中 E_2 , PRL, FSH, P 的含量两者无显著性差异,第 5 组大鼠血清中 E_2 的含量三者均无显著性差异。各模型组比较,第 8, 5 组大鼠血清中 E_2 , PRL, FSH 的含量最低,第 8, 5 组大鼠血清中 P 的含量最高,二者均无显著性差异,且第 8 组 E_2 , PRL, FSH 含量略低于第 5 组,且第 8 组

含量略高于第 5 组;5,6 组比较,第 5 组 E_2 , PRL, FSH 值较小 ($P < 0.05$),第 5 组 P 值较大 ($P < 0.05$);7,8 组比较,第 8 组 E_2 , PRL, FSH 值较小 ($P < 0.05$),第 8 组 P 值较大 ($P < 0.05$);8,10 组比较,第 8 组 E_2 , PRL, FSH 值较小 ($P < 0.05$),第

8 组 P 值较大 ($P < 0.05$);11,13 组比较,第 11 组 E_2 , PRL, FSH 值较小 ($P < 0.05$),第 11 组 P 值较大 ($P < 0.05$);1,12 组比较,二者无显著性差异。与正常组比较,各模型组大鼠血清 LH 含量无明显变化。见表 1。

表 1 回乳抑增一号对乳腺增生大鼠血清 E_2 , P, PRL, FSH, LH 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Huiru Yizeng I on E_2 , P, PRL, FSH and LH in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	E_2 /pmol·L ⁻¹	P/ μ g·L ⁻¹	PRL/ng·L ⁻¹	FSH/U·L ⁻¹	LH/U·L ⁻¹
①	6.09	101.01 ± 1.28	75.81 ± 1.90	33.99 ± 1.98	73.63 ± 0.96	1.87 ± 0.00
②	4.20	94.31 ± 0.50	92.33 ± 1.55	28.58 ± 0.74	67.89 ± 0.65	1.84 ± 0.00
③	1.89	108.44 ± 0.65	54.62 ± 1.00	47.19 ± 1.77	86.80 ± 0.51	2.04 ± 0.02
④	5.25	97.01 ± 1.69	85.29 ± 1.58	28.99 ± 0.70	71.27 ± 0.49	1.86 ± 0.01
⑤	4.65	89.54 ± 2.30 ¹⁾	100.61 ± 2.89 ¹⁾	25.77 ± 0.77 ¹⁾	64.94 ± 0.47	1.83 ± 0.00 ¹⁾
⑥	4.80	106.72 ± 0.94	64.71 ± 1.91	44.20 ± 0.97	84.55 ± 0.40	1.97 ± 0.03
⑦	4.89	114.12 ± 0.79	48.84 ± 0.67	50.77 ± 0.82	90.64 ± 0.71	2.08 ± 0.01
⑧	5.40	87.49 ± 0.83 ²⁾	104.81 ± 2.77 ²⁾	24.52 ± 0.55 ²⁾	61.92 ± 0.53	1.82 ± 0.01
⑨	5.04	105.53 ± 0.65	68.40 ± 0.69	40.93 ± 0.72	79.95 ± 0.90	1.91 ± 0.01
⑩	5.40	115.62 ± 2.85 ³⁾	44.07 ± 2.06 ³⁾	52.60 ± 0.43 ³⁾	93.40 ± 0.78	2.10 ± 0.01
⑪	3.60	101.74 ± 0.48	76.27 ± 1.59	34.44 ± 0.87	74.62 ± 0.53	1.87 ± 0.00
⑫	2.40	102.12 ± 1.29	76.43 ± 1.58	36.68 ± 0.98	75.59 ± 1.46	1.89 ± 0.01
⑬	0	119.4 ± 1.10 ⁴⁾	36.86 ± 2.07 ⁴⁾	53.49 ± 1.54 ⁴⁾	96.71 ± 0.57	2.11 ± 0.00
⑭	0	83.35 ± 1.18	109.58 ± 2.18	23.71 ± 0.87	60.46 ± 20.26	1.81 ± 0.65
⑮	0	133.45 ± 0.87	33.83 ± 3.19	54.12 ± 0.06	97.20 ± 5.37	2.13 ± 0.44

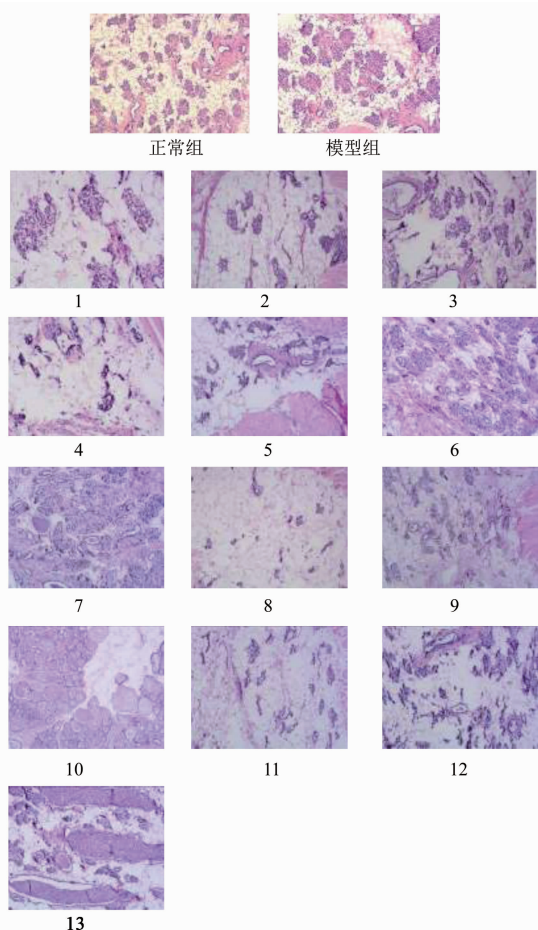
注:与第 6 组比较¹⁾ $P < 0.05$;与第 8 组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.05$;与第 11 组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 对大鼠乳腺组织病理形态学的影响 正常组大鼠乳腺腺泡小叶状均匀分布,导管细长,分枝少,腺泡、导管均有两层细胞,内为腺上皮,单层立方状,排列整齐,外为胞浆空亮的肌上皮细胞,间质为脂肪组织及疏松结缔组织,无淋巴细胞浸润。模型组中,乳腺组织一级增生的大鼠,乳腺小叶无明显增生,个别腺泡和导管轻度增生,但无扩张及分泌物;乳腺组织二级增生的大鼠,乳腺小叶部分增生,个别腺泡和导管轻度增生,轻度扩张,偶见少量分泌物;乳腺组织三级增生的大鼠,乳腺小叶明显增生,腺泡和导管扩张,腺泡及导管内有分泌物;乳腺组织四级增生的大鼠,乳腺小叶明显增生呈片状,腺泡和导管极度扩张,部分腺上皮呈扁平状,腺泡及导管内有大量分泌物。与模型组比较,各组大鼠乳腺增生情况均有显著改善,证明各组药物对与乳腺增生均有一定的疗效。其中,第 5 组,第 8 组效果最佳,大鼠乳腺组织恢复到正常水平,与正常组大鼠无显著性差异,第 10 组效果最差。第 5,6 组比较,5 组是 0 级增生,6 组是二级增生,第 5 组效果较好,说明臣 1 的效果要

优于臣 2;8,10 组比较,10 组是 4 级增生,第 8 组效果较好,进一步说明臣 1 的效果要优于臣 2;7,8 组比较,7 组是三级增生,8 组是 0 级增生,第 8 组效果较好,说明佐 2 的效果要优于佐 1;11,13 组比较,11 组是三级增生,13 组是 4 级增生,说明麦芽对乳腺增生病有治疗效果;1,12 组比较,两者为一级增生,效果相当,起增效作用。见图 1。

4 讨论

乳腺增生病属于中医“乳癖”、“乳中结核”范畴。中医认为此病与精神因素有关,因肝郁气滞、血瘀痰阻、冲任失调而成。西医认为乳腺增生多由内分泌激素失调引起:雌激素水平增高和活性增强,雌激素和孕激素比例失调是引起内分泌紊乱,造成乳腺异常增生的重要原因之一^[8]。乳腺增生后,其组织结构发生紊乱,在形态学上可见到腺泡的增多,腺上皮和肌上皮的肥大,腺腔内的分泌物增多,各级导管也时常可见有增多和扩张,甚至形成囊性结构^[5]。虽然乳腺增生是一种自发性良性病变,但仍存在癌变的可能,因此临床应积极治疗。



1. 全方组;2. 君药组;3. 臣+佐;4. 君+臣;5. 君+臣1;6. 君+臣2;
7. 君+臣1+佐1;8. 君+臣1+佐2;9. 君+臣2+佐1;10. 君+臣2+佐2;11. 生麦芽组;12. 不含生麦芽组;13. 正常模型组

图1 回乳抑增一号拆方对大鼠乳腺组织病理形态学的影响 (HE, ×400)

Fig. 1 Effects of Huiru Yizeng 1 on pathological changes of mammary gland in rats (HE, ×400)

本实验采用肌肉注射苯甲酸雌二醇联合黄体酮的方法制备乳腺增生大鼠模型。结果显示造模后大鼠体内 E_2 , PRL, P 含量明显高于正常组大鼠。同时,模型组大鼠血清中 FSH, GnRh 含量均显著升高,说明乳腺增生时,下丘脑分泌过量 GnRh,导致垂体分泌 FSH 增多,促使卵巢分泌过多的 E_2 。在形态学上具体表现为腺泡的增多,腺上皮和肌上皮的肥大,腺腔内的分泌物增多,这与其他相关文献报道相同^[9]。

回乳抑增一号为武汉市第三医院制剂,临床研究表明,对治疗乳腺增生病有很好的疗效。但由于组方中药味过多,剂量过大,给病人带来很大不便。本文根据中医“君、臣、佐、使”的理论,以及各味药的寒凉属性和各自的功效特点,对该方进行组方优化。旨在精简处方的同时,又能够提高复方的疗效。

优化后的组方 8,重用麦芽以回乳消胀,夏枯草能消肿散结同为君药;佐以玄参、浙贝母清热散结,以助夏枯草散结之功,2 味同为臣药,昆布消痰散结,牡蛎软坚散结,山慈菇解毒消痈散结,俱为佐药。全方配伍,共奏疏肝理气、软坚散结的功效。实验结果显示,优化后的组方 8,从乳腺增生大鼠激素水平的调节,及乳腺组织病理形态的改变等方面证实,对乳腺增生大鼠的治疗效果优于原方。同时,精简了处方量,为患者提供了便利。

本实验研究通过对乳腺增生大鼠激素水平的调节,及乳腺组织病理形态的改变等,证明了回乳抑增一号的确切疗效及作用机制,并最终得出结论:组方生麦芽,夏枯草,玄参,浙贝母,淡昆布,牡蛎,山慈菇合用治疗乳腺增生病的效果最佳。但目前对于方中各味药的作用机制还没有具体认识,这将成为今后笔者研究的方向。

[参考文献]

[1] 赵虹,卢德赵,沃立科,等. 肝郁气滞型乳腺增生组织蛋白质组的研究[J]. 中国中医药科技,2010,3(17): 89-91.

[2] 周丽晶,朱英. 近年中医外治法治疗乳腺增生症的概况研究[J]. 中医外治杂志,2012,21(6):50-52.

[3] 王雄,吴金虎,陈永刚,等. 回乳抑增一号对实验性乳腺增生大鼠的作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,7(19):274-279.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:285.

[5] 姜云云,叶光明,沐韦,等. 乳癖消减方抗实验性大鼠乳腺增生作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,6(19):269-272.

[6] 古兆森,王淑玲,刘源. 补肾疏肝方对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠免疫及内分泌的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):188-191.

[7] 王雄,吴金虎,陈永刚,等. 回乳抑增一号对实验性乳腺增生大鼠的作用及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,7(19):274-279

[8] 张瑞萍,翟红卫. 乳腺增生症治疗对雌激素及孕激素变化的临床观察[J]. 中国医药导报,2013,15: 119-120.

[9] Parmar H, Melovb S, Samper E, et al. Hyperplasia, reduced E-cadherin expression, and developmental arrest in mammary glands oxidatively stressed by loss of mitochondrial superoxide dismutase [J]. The Breast, 2005(14):256-269.

[责任编辑 周冰冰]