

## 乳络通胶囊对小鼠乳腺增生模型的影响

王灿, 苗明三\*

(河南中医学院, 郑州 450046)

**[摘要]** **目的:**建立小鼠乳腺增生模型,观察乳络通胶囊(乳络通)对小鼠乳腺增生模型的血清雌二醇( $E_2$ )、孕酮(P)、脏器(胸腺、脾脏和子宫)指数及乳腺组织形态学变化的影响,探讨乳络通对小鼠乳腺增生模型的作用机制。**方法:**将雌性小鼠随机分为对照组、模型组、乳络通高、中、低剂量( $0.6, 0.3, 0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、乳康片( $0.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组。采用苯甲酸雌二醇和黄体酮建立小鼠乳腺增生模型,治疗组分别用乳络通高、中、低剂量、乳康片连续灌药 30 d。放射免疫法测定血清  $E_2$ 、P 的含量、脏器(胸腺、脾脏和子宫)指数,常规 HE 染色,光镜下观察乳腺组织形态的变化及其采用立体定量分析方法观察乳腺小叶体密度、间质体密度和腺泡体表面。**结果:**乳络通高、中、低剂量可显著降低小鼠乳腺增生模型血清中  $E_2$  含量( $P < 0.01$ ),明显升高 P 含量( $P < 0.05$ );乳络通高剂量组胸腺指数显著减小( $P < 0.01$ ),子宫指数显著增大( $P < 0.01$ );病理形态学显示乳络通高、中、低剂量组的乳腺小叶体密度、腺泡比表面都显著减小( $P < 0.01$ ),小叶间质体密度显著增大( $P < 0.01$ ),乳络通组乳腺病变减轻,有抑制乳腺小叶增生的作用,使小叶体积缩小,腺泡缩小,导管变窄。**结论:**乳络通可通过调节乳腺增生小鼠的雌激素水平,改善增生乳腺的病理形态变化,有效地对抗雌激素引起的小鼠乳腺增生。

**[关键词]** 乳络通; 乳腺增生; 性激素

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0259-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013200259

## Effect of Ruluotong Capsules on Mammary Gland Hyperplasia in Mice

WANG Can, MIAO Ming-san\*

(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a mice model of mammary gland hyperplasia, to observe the effects of Ruluotong on estradiol ( $E_2$ ), progesterone (P), visceral index, and pathologic changes of breast tissue in mammary gland of the model mice, and to study the mechanism of the actions. **Method:** Female mice were divided into blank control group, model control group, Ruluotong capsules high, middle and low doses group ( $0.6, 0.3, 0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), Rukang tables group ( $0.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Model of mammary glands hyperplasia in mice was established by taking estradiol benzoate and progesterone. The treatment groups were given with different doses of Ruluotong capsules and Rukang pills for thirty days. The contents of  $E_2$ , P of serum and visceral index were determined, pathologic changes of breast tissue were observed. **Result:** Ruluotong high, middle and low doses could significantly decrease  $E_2$  level ( $P < 0.01$ ) of model serum and increase the P content of serum ( $P < 0.05$ ). Thymus index in the high dose group was markedly ( $P < 0.01$ ) and womb index was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Pathomorphological investigation showed three doses of Ruluotong could significantly reduce lobular breast density and alveolar surface area ( $P < 0.01$ ), and increase lobular interstitial density ( $P < 0.01$ ). Pathological changes were mitigated by the capsules, with inhibition of mammary lobular hyperplasia, showing shrink in lobular size, narrowed acinar and duct. **Conclusion:** Ruluotong capsules can improve the pathological

**[收稿日期]** 2010403(015)

**[基金项目]** 教育部优秀人才支持计划项目(NCET-04-0657)

**[第一作者]** 王灿, 硕士, 从事中药药理的研究, Tel: 13838091612, E-mail: wangjiucan@163.com

**[通讯作者]** \* 苗明三, 博士, 从事中药药效学与毒理的研究, Tel: 0371-65962546, E-mail: miaomingsan@163.com

changes of the mammary gland hyperplasia by regulating proliferation of breast estrogen levels in mice to inhibit mammary gland hyperplasia of mice induced by estrogen effectively.

[Key words] Ruluotong capsules; mammary gland hyperplasia; sex hormones

乳腺增生是乳房的一种非炎症性疾病,又称乳腺小叶增生或慢性囊性乳腺病,是 25~40 岁女性的多发病与常见病,以乳房肿块和乳房胀痛为主要临床表现。目前临床上对乳腺增生病并无确切有效的治疗方案。祖国医学认为其病因主要是气滞、血瘀、痰凝、肝郁、肾虚,与肝肾冲任等脉有密切关系<sup>[2]</sup>。乳络通是在临床经验方基础上研制而成,对乳腺增生病证疗效较好,由香附、丹参、柴胡、白芍、栝楼、路路通 6 味药组成,方中香附“乃气病之总司”,为气中血药,能疏肝理气,通络止痛;丹参活血祛瘀通经,二者一行一活,行气活血,使气血调畅,则痛消结散,故共为君药。肝主藏血,主疏泄,“体阴而用阳”,故以柴胡疏肝解郁调其用,白芍养血平肝柔其体,使其疏泄正常,气血和顺而为臣。栝楼清热化痰、宽胸散结,使痰瘀积聚得以消散而乳络自通为佐。路路通具有通管利窍、走而不守之功,既能活血通络,又能引诸药通行经脉,达于病所为使。全方配伍精专,共奏行气活血、化痰通络之效。本实验通过复制小鼠乳腺增生模型,观察其对该模型的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** 雌性昆明种小鼠 60 只,体重 20~22 g,清洁级,购自河北省实验动物中心,动物许可证号 DK0509096。

**1.2 药品与试剂** 乳络通(河南中医学院第一附属医院制剂室,批号 050901),乳康片(安康正大制药有限公司,批号 20050518),苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司,批号 050702),黄体酮注射液(浙江仙居制药股份有限公司,批号 050313),橄榄精华油(深圳市丽色化妆品有限公司,批号 612202),雌二醇( $E_2$ )、孕酮(P)放射免疫试剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司,批号 20051025),甲醛溶液(莱阳市双双化工有限公司,批号 20050801)。

**1.3 仪器** GC-911 型  $\gamma$  放射免疫计数器(中国科学技术大学科技实业总公司),FA(N)/JA(N) 型系列电子天平(上海民桥精密仪器有限公司),TGL-16G 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及造模** 取清洁级雌性小鼠 60 只,随机分为 6 组,其中 5 组造小鼠乳腺增生模型,用橄

榄油稀释(1:9)的苯甲酸雌二醇注射液  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,im,连续 20 d,第 21 天改为橄榄油稀释(1:19)的黄体酮注射液  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,im,连续 5 d。另设对照组,0.9% 氯化钠注射液,im,连续 25 d。

**2.2 给药** 在造模的第 5 天开始分别以高、中、低剂量的乳络通内容物混悬液  $0.60, 0.30, 0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,乳康片混悬液  $0.53 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,ig,体积均为  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。模型组和对照组以同体积生理盐水 ig,1 次/d,连续 30 d。

## 2.3 观察指标

**2.3.1** 于第 35 天末次给药 1 h 后,眼眶取血,放置 30 min, $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,取血清,按试剂盒说明书方法放射免疫法测定血清  $E_2, P$  的水平。

**2.3.2** 脱颈椎处死各组小鼠,再取下第 2 对完整乳房,用 10% 甲醛溶液固定,常规制片,HE 染色,光镜下观察分析。对实验各组小鼠的乳腺小叶和小叶中的腺泡及小叶间质(每张病理切片取 3 个不同的视野)进行立体计量学测定,观察计量指标为乳腺小叶体积和间质的体密度( $V_v$ ),乳腺腺泡的比表面( $S$ )。体密度是反应观察物体和在参照系中所占的比例(%),比表面积是反应一个球体或一个束状结构界膜与体积之比(%)。

**2.3.3** 脏器质量 剖取胸腺、脾脏、子宫,测脏器指数。

**2.4 统计学方法** 采用 SPSS 10.0 统计软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为有统计意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠血清  $E_2$  及 P 水平的影响** 与对照组比较,模型组小鼠血清  $E_2$  水平显著升高( $P < 0.01$ )、血清 P 水平显著降低( $P < 0.01$ ),说明造模成功。与模型组比较,高、中、低剂量乳络通组和乳康片组可使小鼠血清  $E_2$  水平显著降低( $P < 0.01$ )、血清 P 水平明显升高( $P < 0.05$ )。见表 1。

**3.2 对小鼠脏器指数的影响** 与对照组比,模型组脾脏、胸腺指数明显增大( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),模型组子宫指数显著减小( $P < 0.01$ )。与模型组比较,乳络通高剂量组胸腺指数显著减小( $P < 0.01$ ),乳络通高剂量组子宫指数显著增大( $P < 0.01$ ),见表 2。

表1 乳络通对小鼠血清中  $E_2$  及 P 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	ng·L <sup>-1</sup>	
		$E_2$	P
对照	-	1.97 ± 0.76 <sup>2)</sup>	6.06 ± 1.55 <sup>2)</sup>
模型	-	4.21 ± 1.46	2.73 ± 1.04
乳络通	0.60	1.52 ± 0.66 <sup>2)</sup>	4.02 ± 1.55 <sup>1)</sup>
	0.30	1.99 ± 0.70 <sup>2)</sup>	3.89 ± 1.33 <sup>1)</sup>
	0.15	2.46 ± 0.98 <sup>2)</sup>	3.25 ± 0.92
乳康片	0.53	1.49 ± 0.44 <sup>2)</sup>	3.87 ± 1.35 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表2~3同)。

表2 乳络通对小鼠脏器指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) g·kg<sup>-1</sup>

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	g·kg <sup>-1</sup>		
		脾脏	胸腺	子宫
对照	-	4.7 ± 0.88 <sup>2)</sup>	2.7 ± 0.54 <sup>1)</sup>	5.1 ± 1.30 <sup>2)</sup>
模型	-	7.4 ± 1.40	3.5 ± 1.00	3.4 ± 0.93
乳络通	0.60	6.7 ± 0.69	1.4 ± 0.67 <sup>2)</sup>	5.0 ± 1.90 <sup>2)</sup>
	0.30	6.7 ± 1.10	3.0 ± 1.20	3.6 ± 1.10
	0.15	7.0 ± 1.20	3.5 ± 0.94	3.4 ± 0.81
乳康片	0.53	7.3 ± 0.91	3.2 ± 0.87	4.7 ± 2.10

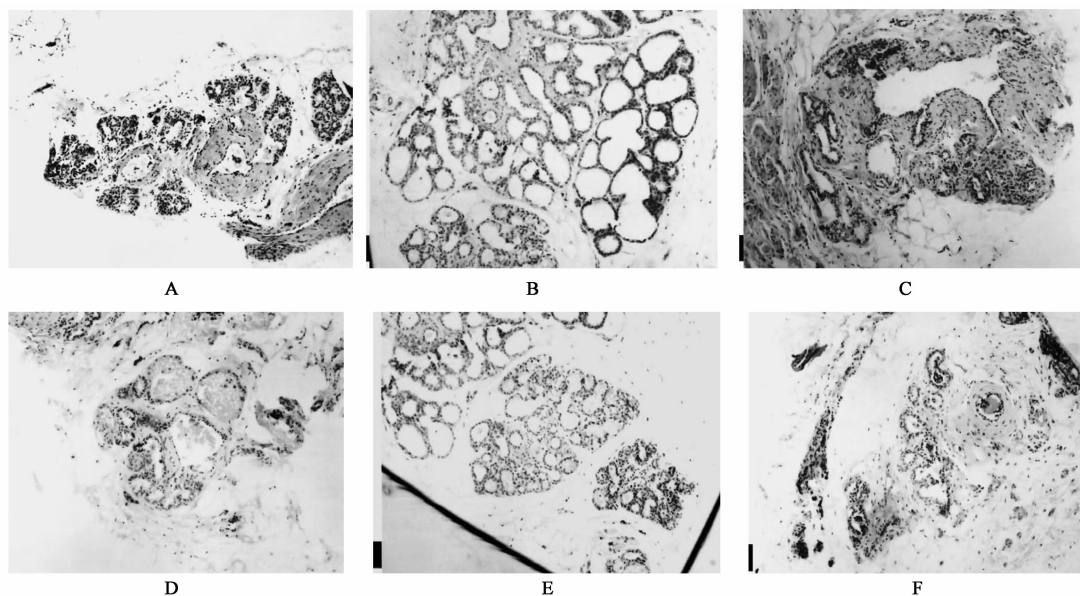
**3.3 对小鼠乳腺组织形态学变化的影响** 对照组小鼠乳腺小叶不增生,乳腺腺泡不增大,小叶间质充满大量脂肪组织和少量纤维组织;模型组小鼠乳腺

小叶明显增大,小叶乳腺腺泡明显扩张,小叶间质脂肪组织和纤维组织明显减少;乳络通高剂量组小鼠乳腺小叶缩小,部分乳腺小叶中的腺泡明显缩小,腺泡不扩张,少部分小叶腺泡仍有不同程度扩张,小叶间质和导管周围有大量纤维组织和脂肪组织;乳络通中剂量组小鼠乳腺小叶有所缩小,但小叶中的大部分腺泡明显扩张,腺腔中有脂滴存在,小叶间质有少量纤维组织和脂肪组织,乳络通低剂量组小鼠乳腺小叶明显增生,小叶中大部分腺泡扩张,少部分扩张不明显,小叶间质有少量纤维组织和脂肪组织,乳康片组小鼠乳腺小叶明显缩小,小叶乳腺腺泡稍有扩张,小叶间质和纤维组织增生,有少量脂肪组织。结果表明:乳络通各组均有抑制乳腺小叶增生的作用,使小叶体积缩小,腺泡缩小,导管变窄,且作用较明显。见图1。

**3.4 对小鼠乳腺小叶体密度、间质体密度和腺泡比表面的影响** 与对照组比较,模型组的乳腺小叶体密度、腺泡比表面都有显著增加 ( $P < 0.01$ );小叶间质体密度显著减小 ( $P < 0.01$ ),说明造模成功。与模型组比较,乳康片组、乳络通高、中、低剂量组的乳腺小叶体密度、腺泡比表面都显著减小 ( $P < 0.01$ ),小叶间质体密度显著增大 ( $P < 0.01$ )。见表3。

#### 4 讨论

乳腺增生病属中医乳癖范畴,是青壮年妇女的一种常见病、多发病,有癌变之可能,因此提高本病



A. 对照组;B. 模型组;C. 乳络通 0.6 g·kg<sup>-1</sup>组;  
D. 乳络通 0.3 g·kg<sup>-1</sup>组;E. 乳络通 0.15 g·kg<sup>-1</sup>组;F. 乳康片 0.53 g·kg<sup>-1</sup>组

图1 乳络通对小鼠乳腺组织形态学变化的影响(HE, ×400)

表 3 乳络通对小鼠乳腺小叶体密度、间质体密度和腺泡比表面的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	乳腺小叶 Vv	间质 Vv	腺泡 S
对照	-	34.28 ± 7.36 <sup>2)</sup>	65.72 ± 7.36 <sup>2)</sup>	0.82 ± 0.25 <sup>2)</sup>
模型	-	76.34 ± 3.17	23.66 ± 3.17	2.37 ± 0.38
乳络通	0.60	28.32 ± 4.32 <sup>2)</sup>	71.68 ± 4.32 <sup>2)</sup>	0.62 ± 0.36 <sup>2)</sup>
	0.30	39.78 ± 3.47 <sup>2)</sup>	60.22 ± 3.47 <sup>2)</sup>	1.38 ± 0.48 <sup>2)</sup>
	0.15	48.34 ± 3.76 <sup>2)</sup>	51.66 ± 3.76 <sup>2)</sup>	1.47 ± 0.72 <sup>2)</sup>
乳康片	0.53	23.47 ± 6.28 <sup>2)</sup>	76.53 ± 6.28 <sup>2)</sup>	1.06 ± 0.23 <sup>2)</sup>

的疗效很重要。乳腺是下丘脑-垂体-卵巢轴重要的靶器官,乳腺的增生和发育又直接受体内雌激素水平的影响,雌激素水平增高或者雌激素与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。E<sub>2</sub> 是人体内生理活性最强的一种雌激素存在形式,主要诱导乳腺导管细胞增生,促使乳腺发育,导管系统增长。P 是人体内最具生物活性的孕激素,可促进乳腺小叶及腺泡的发育<sup>[1]</sup>。

乳腺增生病乳腺组织是性腺激素的靶器官,乳腺的正常生理、病理改变与激素的调节关系十分密切。乳腺导管生长有赖于雌激素的刺激,腺泡的生长有赖于雌二醇和孕酮的共同作用,雌激素的过度刺激可使乳腺上皮细胞及间质细胞增生,使结缔组织水、钠潴留增加,进而导致小叶间水肿,使乳腺组织从正常形态发展到增生及至肿瘤<sup>[2]</sup>。中医认为该病属“乳癖”的范畴,为冲任失调、肝气郁滞血瘀所致,中药治疗乳腺增生性疾病具有调节内分泌失调,不良反应低等优点<sup>[3]</sup>。针对乳腺增生病的治疗,中医的治疗原则是舒肝解郁、理气止痛、活血化瘀、调理冲任,更加注重标本兼治<sup>[4]</sup>,而被公认的乳腺增生组织形态的观察指标是乳腺小叶数、腺泡、导管直径等,通过这些指标的观察,可以基本了解乳腺组织的生理、病理状况和用药后的疗效标准<sup>[5]</sup>。

鉴于此,笔者采用目前公认的雌、孕激素联合造模方法复制乳腺增生模型<sup>[5]</sup>,结果表明乳腺增生病

理模型制造成功。经雌激素造模后的小鼠 E<sub>2</sub> 显著高于正常小鼠,P 水平显著降低,胸腺明显萎缩,子宫明显增大,而乳络通高、中、低剂量可显著降低小鼠乳腺增生模型血清 E<sub>2</sub> 水平,使其接近正常;乳络通高、中剂量可明显升高小鼠乳腺增生模型血清中 P 水平;高剂量乳络通组使胸腺脏器指数显著减小,子宫脏器指数显著增大。病理组织观察也显示各用药组均有抑制乳腺小叶增生的作用,使小叶体积缩小,腺泡缩小,导管变窄。提示乳络通的作用机制可能与改善激素的异常分泌有关。

#### [参考文献]

- [1] 张拴成,肖红玲,王丽娜,等. 消痰通络散对乳腺增生模型大鼠血清激素水平的影响[J]. 山东中医杂志, 2012,31(7):511.
- [2] 钱丽旗,裴晓华,陈荣明. 利乳康口服液对乳腺增生大鼠血清性激素的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2004,11(8):684.
- [3] 林峰,王若红. 消结安胶囊治疗乳腺增生大鼠的实验研究[J]. 临床合理用药,2012,5(7):57.
- [4] 麦镇江. 中药复方治疗乳腺增生症的药理作用及临床研究进展[J]. 中药材, 2004,27(8):615.
- [5] 赵文静,吴勃岩,赵向上,等. 复方鹿花盘胶囊对乳腺增生小鼠乳腺组织形态学影响及作用机制的研究[J]. 四川中医,2010,28(4):14.

[责任编辑 李玉洁]