

# 滋水清肝饮对乳腺癌内分泌治疗不良反应的影响

孙少梅<sup>1</sup>, 曹鹏<sup>2</sup>, 霍介格<sup>2\*</sup>, 胡春萍<sup>2</sup>, 王小宁<sup>2</sup>, 胡灿红<sup>2</sup>, 聂冬辉<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 江苏省中医药研究院肿瘤科, 南京 210028)

**[摘要]** **目的:**探讨滋水清肝饮对内分泌治疗后的去卵巢大鼠血清雌激素、血脂及子宫内膜厚度的影响。**方法:**去卵巢大鼠用来曲唑( $0.23 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )建立乳腺癌患者内分泌治疗的类更年期症状模型;大鼠随机分为5组:假手术组、模型对照组、阳性药组(莉芙敏 $0.026 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、滋水清肝饮( $11.28, 45.10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )组,去卵巢术后2周开始ig给药,1次/d,连续6周。每7天测量大鼠体重。给药6周后腹主动脉取血,检测雌二醇( $E_2$ )、孕酮(内膜厚度PRO)、总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,镜下观察子宫内膜厚度。**结果:**滋水清肝饮高、低剂量组体重均低于模型组( $P < 0.05$ );滋水清肝饮高剂量组 $E_2$ , PRO较模型组降低( $P < 0.05$ );滋水清肝饮高剂量组CHO, TG显著降低( $P < 0.05$ ),高剂量组明显升高LDL-C;滋水清肝饮和莉芙敏组的子宫内膜厚度与模型组无明显差别。**结论:**滋水清肝饮可以改善内分泌治疗的去卵巢大鼠的血脂,并不会引起雌激素水平的升高和子宫内膜增厚。

**[关键词]** 滋水清肝饮;去卵巢大鼠;内分泌治疗;更年期症状

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0256-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013180256

## Experimental Study of Zishui Qinggan Yin Treat Adverse Effect Caused by Breast Cancer Endocrine Therapy

SUN Shao-mei<sup>1</sup>, CAO Peng<sup>2</sup>, HUO Jie-ge<sup>2\*</sup>, HU Chun-ping<sup>2</sup>, WANG Xiao-ning<sup>2</sup>,  
HU Can-hong<sup>2</sup>, NIE Dong-hui<sup>1</sup>

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Oncology Department, Jiangsu province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Zishui Qinggan Yin (ZSQGY) on estrogen level, cholesterol level and the endometrial thickness of ovariectomized rats after endocrine therapy. **Method:** Ovariectomized rats were treated with Letrozole ( $0.23 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) to mimic climacteric syndrome of breast cancer patient after endocrine therapy. Rats were randomly divided into five groups ( $n = 7$ ) and were orally administered corresponding drugs once per day for 6 weeks: sham group, model control group, positive control group (Remifemin  $0.026 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), ZSQGY high and low dose group ( $45.10, 11.28 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). The body weight of rats was recorded each week. After the treatment, blood plasma was collected by abdominal aortic method, plasma estradiol ( $E_2$ ), progesterone (PRO), total cholesterol (CHO), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were detected, pathological detection was processed by endometrium thickness. **Result:** After treatment, the average weight of ZSQGY high and low group were lower than that of model group ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, the serum level of  $E_2$ , PRO, CHO, TG, LDL-C of ESQGY were significantly decreased ( $P < 0.05$ ) which were still higher than sham group; the serum level of HDL-C of ESQGY high dose group was increased ( $P < 0.05$ ). The ZSQGY groups and

**[收稿日期]** 20121020(009)

**[基金项目]** 全国第五批名老中医学术思想继承项目,江苏省名老中医(徐荷芬)工作室建设项目

**[第一作者]** 孙少梅, 硕士, 住院医师, 从事肿瘤中西医结合的临床与科研, Tel:025-85637121, E-mail:promisessun@163.com

**[通讯作者]** \* 霍介格, 博士, 主任中医师, 副教授, 从事肿瘤中西医结合临床与科研, Tel:025-85637121, E-mail:hjg16688@yahoo.com.cn

remifemin group have no obvious difference in endometrium thickness compared with the model group.

**Conclusion:** ZSQGY can reduce the blood lipid without increasing the  $E_2$ , PRO level and endometrium thickness.

[ **Key words** ] Zishui Qingan Yin; ovariectomized rats; endocrine therapy; climacteric-like syndrome

芳香化酶抑制剂是临床上用于绝经后乳腺癌疗效显著的内分泌治疗药物,第3代芳香化酶抑制剂选择作用强,临床疗效的优势已得到证实<sup>[1]</sup>,但存在潮热、血脂升高、骨质疏松等类似更年期的症状。滋水清肝饮出自《医宗己任编》卷六,临床上对使用芳香化酶的乳腺癌患者出现的类似更年期症状有较好效果,笔者在临床上采用滋肾清肝的方法治疗内分泌的治疗所致的不良反应,特别是在缓解潮热、降低血脂方面有较好效果。本实验应用大鼠去势造成绝经后动物模型,观察中药与来曲唑联合使用对血清雌二醇和脂代谢指标的影响,进一步探讨其作用机制,为临床用药提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 成年未孕雌性 SD 大鼠 56 只,体重 160 g,购于上海斯莱克实验动物中心,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。于动物房适应 1 周,普通饲料喂养。

**1.2 药物** 滋水清肝饮(生地黄 24 g, 山茱萸 12 g, 山药 12 g, 泽泻 9 g, 牡丹皮 9 g, 茯苓 9 g, 柴胡 6 g, 白芍 12 g, 山栀 9 g, 酸枣仁 12 g, 当归 9 g)饮片购自江苏省中西医结合医院药房,来曲唑(江苏恒瑞医药股份有限公司),莉芙敏片(德国夏菩天然药物制药公司)。

**1.3 仪器** YP120 型电子天平(上海良华仪器仪表有限公司),LD85-2 型离心机(北京雷勃尔离心机有限公司),5427 R 型台式低温冷冻离心机(Eppendorf 公司),1010 型恒温水浴锅(PolyScience 公司),Revco ULT-1386-3-V 型超低温冰箱(Thermo 公司),PB303-N 型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),Milli-RO Plus 型超纯水仪(Millipore 公司),BX45-72P05 型显微镜(Olympus 公司),Modular DP 型全自动生化仪(Roche 公司)。

## 2 方法

**2.1 药物制备** 将上述 11 味中药加适量蒸馏水浸泡 2 h,大火加热煮沸,之后小火煎煮 30 min,过滤,再用双蒸水按前法重复煎煮 1 次,过滤,将 2 次滤液混合浓缩(含生药  $1.88 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),置  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存备用。莉芙敏片用蒸馏水溶解为  $0.075 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,来曲唑用蒸馏水溶解为  $0.0275 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,临用时配制,灌

胃前摇匀。

**2.2 模型建立** 随机选取 45 只大鼠行双侧卵巢摘除术。需去势大鼠 10% 水合氯醛按  $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip 麻醉,大鼠仰卧于手术台上,于下腹部正中线开腹。拨开肠组织,可见子宫、卵巢,轻轻将卵巢提出腹腔,分离后钳夹、结扎、剪去卵巢,同法处理对侧卵巢。确定无渗血后,将脂肪组织和子宫角送回腹腔内,将肠组织复位,关闭腹腔和缝合皮肤。另取 7 只大鼠只打开腹腔,切除少量脂肪,然后关闭腹腔为假手术组。碘伏消毒创面,术后青霉素 40 万 U 抗感染,连续 3 d。术后 1 周各组大鼠进行阴道涂片,连续 5 d,涂片进行巴氏染色,观察去势组不再出现动情周期,表明已造成绝经后动物模型,开始给药。

**2.3 分组与给药** 手术 14 d 后大鼠随机分为 4 组:模型组、滋水清肝饮高、低剂量组( $45.10, 11.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组),莉芙敏组( $0.026 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。造模各组给来曲唑  $0.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig,2 周后开始给药:滋水清肝饮按生药  $11.28, 45.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、莉芙敏组按  $0.026 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,ig,1 次/d,连续 6 周。

## 2.4 观察指标及检测方法

**2.4.1 体重** 每周测 1 次。

**2.4.2 腹主动脉取血及处理** 大鼠麻醉后仰位固定,开腹,从腹主动脉取血,立即放入含肝素抗凝离心管内,离心分离血浆,置于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冷冻。

**2.4.3 血脂 4 项** 将  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冷冻血浆常温解冻,在全自动生化仪完成测定(江苏省中西医结合医院检验科完成)。

**2.4.4 血浆雌激素( $E_2$ )和孕激素(PRO)** 采用放射免疫分析法,试剂盒由天津九鼎生物科技有限公司提供,按照试剂盒使用说明测定。

**2.4.5 子宫形态学观察** 大鼠麻醉后开腹,将两侧子宫取下,置 10% 中性甲醛固定,常规制片,置显微镜下观察、摄片。

**2.5 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,方差分析前进行齐性检验。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对模型大鼠体重的影响** 模型组大鼠经内分泌治疗后,体重逐渐增加,实验 35,42 d,模型组大鼠

体重比滋水清肝饮高、低剂量组以及莉芙敏组明显 偏重 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 滋水清肝饮对模型大鼠体重的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 7$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d
假手术	-	242.8 ± 4.14	261.0 ± 8.60	285.5 ± 7.18	287.0 ± 9.42	292.0 ± 10.13	309.0 ± 9.88
模型	-	229.7 ± 18.26	258.7 ± 21.66	277.7 ± 15.75	300.0 ± 17.26	317.0 ± 15.48 <sup>2)</sup>	332.0 ± 18.72 <sup>1)</sup>
滋水清肝饮	11.28	243.2 ± 22.34	250.0 ± 25.20	279.3 ± 18.84	288.8 ± 19.26	304.8 ± 20.14	315.0 ± 22.19 <sup>3)</sup>
	45.10	232.1 ± 25.76	248.1 ± 28.10	277.9 ± 28.14	289.5 ± 29.32	293.0 ± 29.78	310.0 ± 28.43 <sup>3)</sup>
莉芙敏	0.026	241.0 ± 13.90	257.9 ± 13.61	286.6 ± 14.96	297.2 ± 14.79	305.2 ± 15.04	318.8 ± 15.88 <sup>3)</sup>

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~3 同)。

**3.2 对模型大鼠血脂的影响** 模型组大鼠血浆总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)均升高,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)

明显降低 ( $P < 0.01$ );与模型组比,滋水清肝饮和莉芙敏均能提高 HDL-C 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 均能降低 CHO, TG ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 滋水清肝饮对模型大鼠血脂的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 7$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	CHO	TG	HDL-C	LDL-C
假手术	-	2.14 ± 0.08	0.22 ± 0.08	1.95 ± 0.17	0.25 ± 0.02
模型	-	2.33 ± 0.31 <sup>1)</sup>	0.29 ± 0.08 <sup>1)</sup>	1.14 ± 0.22 <sup>2)</sup>	0.40 ± 0.06 <sup>1)</sup>
滋水清肝饮	11.28	1.32 ± 0.59 <sup>1,3)</sup>	0.12 ± 0.06 <sup>2,4)</sup>	1.41 ± 0.70 <sup>1)</sup>	0.35 ± 0.04 <sup>1)</sup>
	45.10	1.79 ± 0.41 <sup>3)</sup>	0.12 ± 0.08 <sup>2,4)</sup>	2.00 ± 0.47 <sup>4)</sup>	0.34 ± 0.05 <sup>1)</sup>
莉芙敏	0.026	1.45 ± 0.49 <sup>1,3)</sup>	0.06 ± 0.04 <sup>2,4)</sup>	1.66 ± 0.42 <sup>3)</sup>	0.32 ± 0.07 <sup>1)</sup>

**3.3 对模型大鼠雌激素的影响** 模型组血浆  $E_2$ , PRO 水平远低于假手术组 ( $P < 0.01$ )。滋水清肝饮组  $E_2$ , PRO 呈下降的趋势,高剂量组明显低于模型组 ( $P < 0.05$ ),莉芙敏组结果与高剂量组相似。见表 3。

表 3 滋水清肝饮对模型大鼠雌激素的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 7$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	$E_2$ $/pmol \cdot L^{-1}$	PRO $/nmol \cdot L^{-1}$
假手术	-	149.82 ± 55.44	0.42 ± 0.06
模型	-	37.10 ± 12.22 <sup>2)</sup>	0.20 ± 0.09 <sup>2)</sup>
滋水清肝饮	11.28	34.51 ± 14.63 <sup>2)</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>2)</sup>
	45.10	21.23 ± 6.35 <sup>2,3)</sup>	0.11 ± 0.04 <sup>2,3)</sup>
莉芙敏	0.026	11.23 ± 4.62 <sup>2,4)</sup>	0.14 ± 0.02 <sup>2,3)</sup>

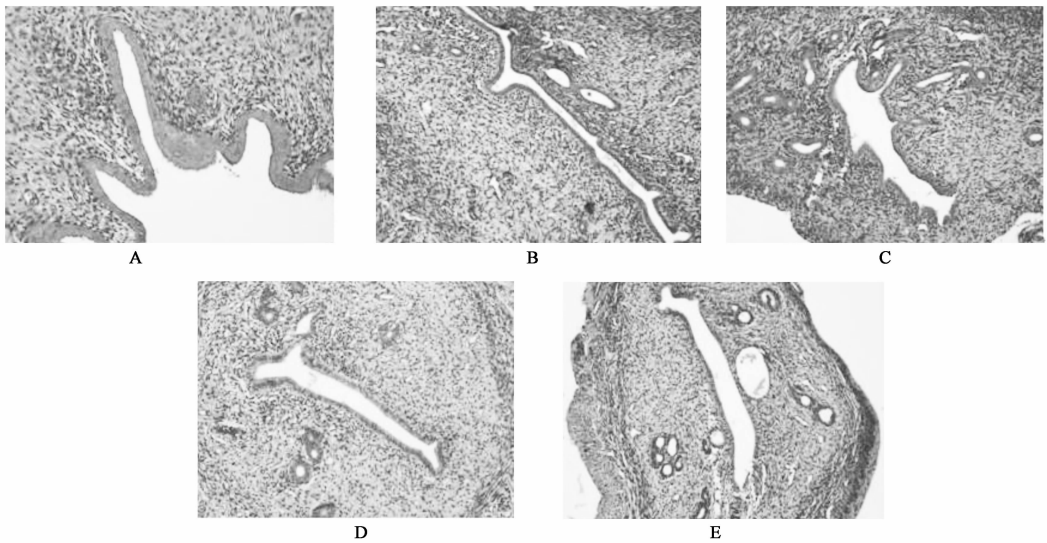
**3.4 对模型大鼠子宫内膜厚度的影响** 假手术组可见明显的子宫内膜,模型组的子宫内膜萎缩成单层柱状上皮,子宫间质萎缩。其余各用药组与模型组的变化相似。见图 1。

#### 4 讨论

雌激素在乳腺癌的自然进程中起着重要作用,70% 乳腺癌细胞膜表面有雌激素受体(ER)或孕激素受体(PR)的表达。ER 或 PR 阳性的浸润性乳腺癌患者,无论其年龄、淋巴结状况或是否辅助化疗,都应考虑辅助内分泌治疗<sup>[2-3]</sup>。因此,作为激素敏感性肿瘤,内分泌治疗是激素受体阳性乳腺癌的主要处理方法之一<sup>[4]</sup>

系统等功严重紊乱,从而出现一系列毒副作用,临床上最常见的是类似于更年期综合征的症状,表现为潮热出汗、面部潮红、乏力、头痛、阴道分泌物及月经的异常、骨质疏松等,严重者出现心血管事件增加。

中医认为乳腺癌患者内分泌治疗引起的不良反应主要是由于肾气渐衰,冲任亏虚,阴阳失去平衡所致<sup>[6]</sup>。研究报道采用舒肝凉血的药物组方可显著抑制乳腺癌细胞株 MCF-7 和 T47D 细胞的增殖,并呈剂量依赖关系<sup>[7]</sup>,也有研究者观察了滋水清肝饮对三苯氧胺的不良反应有较好的改善作用<sup>[8]</sup>。去势法是建立绝经后动物模型的经典方法<sup>[9]</sup>,本实验采用这一模型,模拟乳腺癌内分泌的治疗过程,观察滋水清肝饮对去卵巢大鼠,经来曲唑干预后血脂、激素水平、血糖及子宫内膜的影响。



A. 假手术组;B. 模型组;C. 滋水清肝饮  $11.28 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;D. 滋水清肝饮  $45.10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;E. 莉芙敏  $0.026 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组

图1 滋水清肝饮对模型大鼠子宫组织形态学的影响(HE染色,  $\times 400$ )

本实验结果表明,实验大鼠经卵巢去势术并予内分泌治疗后(模型组),血清  $E_2$  水平迅速下降,与假手术组大鼠相比有显著差异。在与滋水清肝饮联合应用后有下降趋势,说明滋水清肝饮与来曲唑联合使用能够更好地降低  $E_2$  的水平,进而降低高雌激素引起乳腺癌复发转移的风险,证明了滋水清肝饮对乳腺癌患者的安全性及有效性。

芳香化酶抑制剂可以引起绝经后乳腺癌患者的血脂升高,特别是  $LDL-C^{[9]}$ ,  $LDL-C$  水平过高能致动脉粥样硬化,增加个体罹患冠心病的危险。本研究发现,与模型组相比,滋水清肝饮能降低  $CHO$ ,  $TG$ , 升高  $HDL-C$  水平,有效地改善血脂,其中高剂量组作用最优。

乳腺癌具有独特的生物学特点,本实验提示了滋水清肝饮在降低  $E_2$  的同时可改善脂代谢的异常,为临床用药提供了依据,滋水清肝饮在应对乳腺癌的内分泌治疗副作用方面具有广阔的应用前景。

#### [参考文献]

[1] 王昕怡,张珍,邵加庆. 乳腺癌的内分泌治疗新进展[J]. 中国全科医学,2012,15(9):959.  
 [2] Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomized trials[J]. Lancet, 1998, 351(9114):1451.

[3] 赵良才,汤立建,李庆林,等. 植物雌激素干预乳腺癌的研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(12):957.  
 [4] 王岱,李玫. 乳腺癌内分泌治疗药物研究进展[J]. 中国妇幼保健,2012,27(35):5832.  
 [5] Perez E A, Josse R G, Pritchard K I, et al. Effect of letrozole versus placebo on bone mineral density in women with primary breast cancer completing 5 or more years of adjuvant tamoxifen: a companion study to NCIC CTG MA. 17[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(22):3629.  
 [6] 卢雯平,张培彤,陈丽珠,等. 疏肝益肾方对38例激素依赖性晚期乳腺癌的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(3):73.  
 [7] 付雪松,李萍萍. 舒肝凉血方对MCF-7和T47D细胞增殖及硫酸酯酶活性和表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):144.  
 [8] 陈艳,毋光明. 滋水清肝饮改善乳腺癌三苯氧胺治疗副反应84例分析[J]. 中国中西医结合杂志,2007,27(5):469.  
 [9] Thompson D D, Simmons H A, Pirie C M, et al. FDA guidelines and animal models for osteoporosis [J]. Bone, 1995, 17(4S):1232133.  
 [10] Bell L N, Nguyen A T, Li L, et al. Comparison of changes in the lipid profile of postmenopausal women with early stage breast cancer treated with exemestane or letrozole[J]. J Clin Pharmacol, 2012, 52(12):1852.

[责任编辑 李玉洁]