

乳癖消减方抗实验性大鼠乳腺增生作用

姜云云, 叶光明*, 沐韦, 刘海, 陈云红
(解放军第 101 医院, 江苏 无锡 214044)

[摘要] 目的: 观察乳癖消减方对实验性大鼠乳腺增生的治疗作用。方法: 用苯甲酸雌二醇和黄体酮致大鼠乳腺增生模型, 将大鼠随机分为空白对照组、模型对照组、乳癖消片组(生药 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、乳癖消减方高、中、低剂量组(生药 $8, 4, 2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、模型对照组 15 只, 其余每组各 10 只。大鼠连续 ig 给药 9 周, 用放射免疫法测定大鼠血清雌二醇、孕酮水平, 并对第二、三对乳房常规固定染色后进行病理学检查。结果: 乳癖消减方低剂量组治疗效果不明显, 乳癖消减方中、高剂量组不仅可以使乳腺增生大鼠雌二醇与孕酮的比值恢复正常 ($P < 0.01$), 且能显著改善模型大鼠乳腺增生引起的病理改变。结论: 乳癖消减方对大鼠乳腺增生具有显著的治疗作用。

[关键词] 乳癖消; 乳癖消减方; 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)12-0269-04

[doi] 10.11653/syfy2013120269

Experimental Study on Effect of Modified Formula Rupixiao on Mammary Hyperplasia Rats

JIANG Yun-yun, YE Guang-ming*, MU Wei, LIU Hai, CHEN Yun-hong

[收稿日期] 20121017(007)

[第一作者] 姜云云, 博士, 主管药师, 从事天然药物活性成分提取分离及制剂方面的研究, Tel: 0510-85142254, E-mail: jane_jyy9@hotmail.com

[通讯作者] * 叶光明, 硕士, 副主任药师, 从事中药现代化研究, Tel: 0510-85142026, E-mail: shygm8@hotmail.com

酶, 促进粒细胞在肺毛细血管的聚集、激活, 从而介导创伤后细胞炎性反应, 引起多器官组织损伤^[9-10]。本实验结果表明, 山豆根颗粒及其饮片可以通过降低 TNF- α 、IL-6、PGE₂ 水平来发挥抗炎作用, 提示其抗炎机制与抑制细胞因子的表达有关。

综上, 山豆根颗粒及其饮片可减轻角叉菜胶致小鼠足跖肿胀程度, 具有一定的抗炎作用。山豆根颗粒及其饮片抗炎作用机制可能与其清除氧自由基, 抑制细胞膜脂质过氧化反应, 减少炎症因子的释放, 抑制细胞因子的表达等途径有关。

[参考文献]

[1] 彭百承, 李萍, 江海燕, 等. 山豆根颗粒及其饮片的毒性及抗炎作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 167.
[2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 409.
[3] 谢瑞金, 唐启令, 申庆亮, 等. 复方山豆根口服液镇痛

消炎作用药理研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(10): 728.

[4] 胡庭俊, 稷寓胜, 陈昊然, 等. 山豆根多糖体外清除自由基作用的研究[J]. 中兽医医药杂志, 2004, 8(5): 6.
[5] 王君明, 崔璞. 山豆根化学成分、药理作用及毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 229.
[6] 李兴霞, 余东国, 包道美, 等. 山豆根提取液在豚鼠过敏性哮喘中的平喘观察[J]. 中华医学实践杂志, 2006, 5(10): 1087.
[7] 李兴志, 李贺, 于晓风, 等. 胡氏骨痛颗粒抗炎作用的药理学研究[J]. 吉林大学学报, 2005, 32(1): 72.
[8] 李峰杰, 姚广涛, 金若敏, 等. 山豆根致大鼠肝毒性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 190.
[9] 范健, 吕建峰. 山豆根的化学成分与药理研究进展[J]. 实用医技杂志, 2003, 10(11): 1254.
[10] 兰艳素, 杨瑞云, 李远, 等. 山豆根的化学成分和药理活性研究进展[J]. 滁州学院学报, 2010, 12(2): 48.

[责任编辑 李玉洁]

(NO. 101 Hospital of PLA, Wuxi 214044, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the therapeutic effect of modified formula Rupixiao on mammary hyperplasia rats. **Method:** Rat models with hyperplasia of mammary glands were established by injection of estradiol benzoate and progesterone. The rats were randomly divided into control group, vehicle group, Rupixiao tablet group ($4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and modified formula Rupixiao groups ($8, 4, 2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). There were 15 rats in vehicle group, and 10 rats in each of other group. The rats were orally administrated with drugs for 9 weeks. The contents of estradiol and progesterone in rat plasma were measured by radioimmunity, and the pathologic examination was carried out on the second and third pairs of breasts after usual fixation and staining. **Result:** Modified formula Rupixiao $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of did not have obvious therapeutic effect on mammary hyperplasia rats. Modified formula Rupixiao $4, 8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ could not only make the ratio of estradiol to progesterone back to normal ($P < 0.01$) but also improved their pathologic status. **Conclusion:** Modified formula Rupixiao has conspicuous therapeutic effect on mammary hyperplasia rats.

[Key words] Rupixiao; modified formula rupixiao; mammary hyperplasia; sexual hormone

乳腺增生是妇科的一种常见病,随着居住环境的变化,发病率呈逐年上升的趋势。乳癖消片由鹿角、蒲公英、昆布等 15 味中药组成,是临床治疗乳腺增生病的首选药物之一,疗效确切^[1-3]。由于乳癖消全方组方复杂,包含多味昂贵滋补药材,一定程度上影响了治疗作用的专一性,也增加了服药剂量。笔者在中医理论的指导下,精选乳癖消全方中主清热解毒的蒲公英、夏枯草,主活血化瘀的三七、赤芍,主软坚散结的昆布和海藻组成乳癖消减方,本文主要考察乳癖消减方对大鼠乳腺增生的治疗作用。

1 材料

1.1 仪器 RM2255 型组织切片机(德国莱卡), Olympus BX51 型光学显微镜(日本), IMAGE-PRO PLUS 型病理图像分析系统(美国 MediaCybernetics), SH-682 型放射免疫 γ 计数器(上海日环仪器一厂)。

1.2 药品与试剂 乳癖消片[辽宁好护士药业(集团)有限责任公司,批号 090310], 乳癖消减方提取物(水提取浓缩为生药 $0.5\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 经 D101 型大孔吸附树脂分离,收集有效部位,减压干燥即得), 苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司,批号 080202), 黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,批号 081006), 激素测试放免试剂盒(卫生部上海生物化学制品所)。

1.3 动物及分组 清洁级 SD 雌性未孕大鼠,体重 $180\sim 220\text{ g}$, 由上海斯莱克实验动物有限公司提供,动物许可证号 SCXK(沪)2009-0005。动物饲养 1 周后,随机分为空白对照组、模型对照组、乳癖消片组、乳癖消减方高、中、低剂量组,模型对照组 15 只,其

余每组各 10 只。

2 方法

2.1 制作模型^[4-6] 除空白对照组以外,其余各组苯甲酸雌二醇注射液 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ im}$, 1 次/d, 连续 25 d, 继而改用黄体酮注射液 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ im}$, 连续 5 d, 空白对照组相同体积的生理盐水 im , 次/d。35 d 后在模型对照组随机取 2 只大鼠,测定血清激素水平,并作病理切片观察,确认模型建立成功。

2.2 给药方法 将乳癖消片碾碎成粉备用,临用前,将乳癖消片粉和乳癖消减方提取物粉末用 0.5% 羧甲基纤维素钠研磨混悬均匀,配成所需浓度。乳癖消片组按生药 $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、乳癖消减方组按生药 $2, 4, 8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ig 给药,空白对照组和模型对照组 ig 相同体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠,1 次/d,连续 9 周。

2.3 激素水平测定^[7] 大鼠给药前及给药后 5, 9 周分别眼眶取血,用放免法测定大鼠血清雌二醇、孕酮水平,观察大鼠血清激素水平变化情况。

2.4 乳腺组织形态学观察^[8-10] 给药结束后,取大鼠第二对乳腺,10% 甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色后于光镜下观察,按表 1~3 进行评级。

表 1 乳腺导管上皮增生分级

分级	增生现象
0	无增生
1	上皮细胞层次 2 层以上
2	导管上皮呈乳头状突起
3	为实性增生,上皮细胞充满腔内

表2 乳腺腺泡和导管腔分泌物分级

分级	分泌物量
0	腔内无分泌物
1	分泌物占腔内体积 < 1/4
2	分泌物占腔内体积 1/4 ~ 1/2
3	分泌物占腔内体积 > 1/2

表3 乳腺增生分级

分级	乳腺组织变化情况
0(非增生)	小叶、导管紧缩,有少量腺泡,无腺泡扩张
1(轻度增生)	导管扩张不明显,上皮增生无明显乳头状形成;或小叶轻度增大,腺泡上皮增生未充满腺腔,无明显囊泡形成
2(中度增生)	导管扩张较明显,上皮增生略显乳头状形成;或小叶中度增大,腺泡上皮增生明显但未充满腺腔,有囊泡形成
3(重度增生)	导管扩张明显,上皮增生呈乳头状;或小叶明显扩大,腺泡上皮增生充满腺腔,或腺泡明显扩张呈囊状

酮水平显著降低,其二者的比值增大。经药物治疗,二者的水平显著改善,与模型对照组比较有显著差异,见表4~6。

表4 乳癖消减方对乳腺增生大鼠血清雌二醇含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	雌二醇		
		给药前	给药5周	给药9周
空白对照	-	9.3 ± 1.8	8.0 ± 3.2	9.0 ± 2.7
模型对照	-	25.0 ± 6.3 ¹⁾	22.6 ± 2.6	20.3 ± 5.3
乳癖消片	4	27.5 ± 8.6 ¹⁾	16.3 ± 2.9 ³⁾	14.4 ± 3.3
乳癖消减方	2	26.7 ± 8.8 ¹⁾	17.3 ± 7.0	17.2 ± 5.4
	4	25.4 ± 6.5 ¹⁾	16.8 ± 3.5 ³⁾	14.7 ± 3.6 ²⁾
	8	25.4 ± 7.3 ¹⁾	14.8 ± 3.8 ³⁾	12.2 ± 3.8 ³⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型对照组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表5~6同)。

表5 乳癖消减方对乳腺增生大鼠血清孕酮含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	孕酮		
		给药前	给药5周	给药9周
空白对照	-	90.6 ± 29.3	87.8 ± 49.7	75.3 ± 27.9
模型对照	-	57.5 ± 19.8 ²⁾	64.7 ± 38.0	67.3 ± 27.5
乳癖消片	4	54.1 ± 11.5 ²⁾	104.2 ± 66.7	69.4 ± 26.6
乳癖消减方	2	53.9 ± 16.2 ²⁾	123.8 ± 84.2	81.3 ± 38.8
	4	66.8 ± 11.9 ²⁾	130.3 ± 49.5 ³⁾	107.7 ± 54.4
	8	55.1 ± 9.4 ¹⁾	168.7 ± 84.2 ³⁾	114.8 ± 39.6 ³⁾

3.2 对乳腺增生大鼠乳腺病理组织学的影响 正常组大鼠乳腺正常,无特殊;模型组大鼠乳腺均可见腺体增加,上皮增生活跃,腺体扩张,充满分泌物,整个小叶体积明显增大,导管增加并扩张,与正常组差异十分明显;乳癖消片组大鼠乳腺乳腺增生程度、腺泡导管内分泌增加等方面,与模型组比改善不明显;乳癖消减方低剂量组腺体数量、小叶结构、分泌物、

2.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用配对样本 t 检验,等级资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对乳腺增生大鼠血清激素水平的影响 造模大鼠形成乳腺增生后,血清雌二醇水平显著增高,孕

表6 乳癖消减方对乳腺增生大鼠血清雌二醇/孕酮的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	雌二醇/孕酮		
		给药前	给药5周	给药9周
空白对照	-	0.11 ± 0.04	0.10 ± 0.04	0.13 ± 0.06
模型对照	-	0.51 ± 0.28 ¹⁾	0.44 ± 0.28 ²⁾	0.35 ± 0.17 ²⁾
乳癖消片	4	0.41 ± 0.20 ¹⁾	0.17 ± 0.04 ²⁾	0.33 ± 0.26
乳癖消减方	2	0.59 ± 0.37 ¹⁾	0.22 ± 0.18 ²⁾	0.26 ± 0.13
	4	0.39 ± 0.10 ¹⁾	0.14 ± 0.05 ³⁾	0.17 ± 0.09 ³⁾
	8	0.47 ± 0.14 ¹⁾	0.14 ± 0.14 ³⁾	0.12 ± 0.05 ³⁾

导管增生等与模型组相比差别不显著,中、高剂量组大鼠的乳腺增生程度减轻,数量减小、分泌增加(腺泡及导管内)程度均较模型组为轻,导管增生和扩张也有明显改善,病变明显减轻。见表7,图1。

4 讨论

乳腺增生是由于内分泌紊乱引起的乳腺腺体和导管乃至间质增加的统称,病理学上由于上述各部分的增加不等而有多种不同的名称,如腺病、囊性腺病、乳腺结构不良等。一般认为,乳腺腺体的增加(数量增多 $\geq 1/3$)以及腺泡分泌的增多是构成乳腺增生的必要病理学条件,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。当然,腺泡的扩大亦是最常见的,各级导管也时常可见有增多和扩张,甚至形成囊性结构。

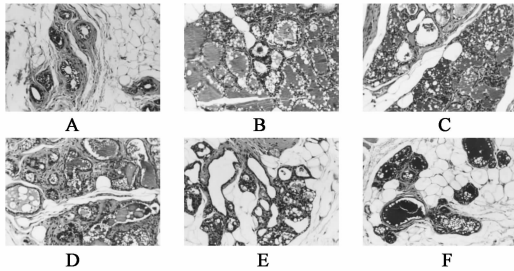
乳腺增生为妇女常见疾病,其病因并未明确阐明,现代医学研究表明,乳腺增生可能与性激素分泌失调有关,主要是雌激素和孕酮的比例失衡,雌激素分泌增加和(或)孕酮分泌减少引起的二者比值增加是诱发乳腺增生的主要原因。另外,各种生长因子、细胞因子表达异常、甚至某些特定的食物构成等均可引起乳腺增生。

在建立乳腺增生动物模型时,一般使用雌激素

表 7 乳癖消减方对乳腺增生大鼠第二对乳房增生的影响

只

组别	剂量/g·kg ⁻¹	分泌物分级				导管上皮增生分级				乳腺增生分级			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
空白对照	-	10				10				10			
模型对照	-			10		10					9	1	
乳癖消片	4		5	5		10				3	7		
乳癖消减方	2			10		10					10		
	4		8	2		9	1			7	3		
	8		9	1		6	4			9	1		



A. 空白对照组; B. 模型对照组;

C. 乳癖消片 4 g·kg⁻¹组; D. 乳癖消减方 2 g·kg⁻¹组;

E. 乳癖消减方 4 g·kg⁻¹组; F. 乳癖消减方 8 g·kg⁻¹组

图 1 乳癖消减方对乳腺增生大鼠乳腺组织

病理形态的影响(HE 染色, ×200)

作为诱导物。在本实验中,用雌激素处理大鼠 25 d 后,接着连续 5 d 注射孕酮,以扰乱动物体内的性激素分泌,诱导动物的乳腺组织增生,最终制成模型。造模后动物血清激素水平发生明显改变,雌激素水平显著升高,孕酮水平显著降低,二者比值显著上升;乳腺组织切片观察发现,乳腺增生呈多种类型,如导管增生、腺泡增生和囊性增生等,而空白对照组的乳腺均未发现乳腺增生情况,上述结果与文献报道的结果较为一致。这种多类型的乳腺增生同时出现,可能与注射孕酮有直接的联系,因为雌激素主要作用是刺激乳腺导管的生长,而孕激素的作用则是促进乳腺腺泡的发育。本模型的优点是与人乳腺增生病变基本一致,复制成功率高,可重复性强,稳定可靠,方法简便,是目前最理想的动物乳腺增生模型。

乳腺增生模型大鼠经连续灌胃给予乳癖消减方治疗后,其乳腺增生特征指标均有一定改善,激素紊乱水平得到平衡,病理改变有一定恢复。试验结果表明,乳癖消片 4 g·kg⁻¹对乳腺增生有一定的治疗作用,主要表现在对大鼠激素的调整作用,但在本试验给药周期内,对模型大鼠乳腺增生的病理学改善作用不明显。乳癖消减方 2 g·kg⁻¹对模型大鼠的激素紊乱水平有所改善,但病理学改善不明显。而乳癖消减方 4, 8 g·kg⁻¹对大鼠乳腺增生的治疗效果显

著,主要表现为可以使模型大鼠显著升高的血清雌二醇含量基本恢复到正常水平,使血清孕酮的含量显著上升,从而使二者的比值基本恢复正常;在病理学方面,也可以使试验大鼠的乳腺增生程度减轻,腺体数量减少,腺泡及导管内的分泌增加程度也均较模型组为轻,导管增生和扩张也有明显改善,病变明显减轻。总体疗效优于乳癖消片。

[参考文献]

[1] 张军丽. 乳腺增生的常用药物分析[J]. 中外医疗, 2009, 27(4): 95.
 [2] 高飞钰, 张玉莲. 乳癖消配合他莫昔芬治疗乳腺囊性增生症 96 例[J]. 陕西中医, 2009, 30(4): 444.
 [3] 周阿高, 李琰. 中医药对乳腺癌患者生存质量影响的 Meta 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 220.
 [4] 罗伦才, 季小平, 黄兰雅, 等. 均匀设计法用于乳腺增生动物模型复制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 204.
 [5] 林妮, 吕俊华, 潘尧镛, 等. 荔枝核提取物抑制乳腺增生模型大鼠乳腺组织 ER 和 PR 表达及促进乳腺细胞凋亡作用研究[J]. 中国药房, 2010, 21(11): 975.
 [6] 吴承东, 杨焕杰. 消癖合剂对大鼠乳腺增生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 223.
 [7] 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.
 [8] 周艳玲, 王丽娜, 肖洪彬, 等. 乳癖消颗粒治疗大鼠乳腺增生的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(11): 1512.
 [9] 徐国兵, 王峥涛, 潘湮, 等. 工艺优化前后乳癖消片的主要药理学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(6): 415.
 [10] 张信岳, 周国儿, 李钦, 等. 乳癖消合剂抗实验性大鼠乳腺增生作用研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2007, 24(3): 176.

[责任编辑 李玉洁]