

本文引用:李琳霏,杨晓,潘博,蒋益兰.疏肝健脾解毒方对乳腺癌前病变肝郁证模型大鼠血清性激素水平的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(11):1200-1203.

疏肝健脾解毒方对乳腺癌前病变肝郁证模型大鼠血清性激素水平的影响

李琳霏¹,杨晓²,潘博¹,蒋益兰^{1*}

(1.湖南省中医药研究院附属医院,湖南长沙410006;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 研究疏肝健脾解毒方对乳腺癌前病变肝郁证模型大鼠血清性激素水平的影响。**方法** 采用二甲基苯蒽灌胃及夹尾法制备乳腺癌前病变肝郁证大鼠模型,随机分为模型组、疏肝健脾解毒方组、三苯氧胺组、小金丸组,同时设空白对照组,分别干预4周后采用放射免疫法检测血清雌二醇、孕酮、泌乳素、黄体生成素和卵泡刺激素含量。**结果** 模型组血清雌二醇、孕酮、泌乳素、黄体生成素和卵泡刺激素水平均较空白对照组高,差异均有显著统计学意义($P<0.01$);各用药组血清性激素水平低于模型组,差异均有显著统计学意义($P<0.01$);疏肝健脾解毒方组雌二醇及黄体生成素水平低于对照药三苯氧胺组及小金丸组,差异均有统计学意义($P<0.05$);疏肝健脾解毒方组血清孕酮、卵泡刺激素、泌乳素水平高于三苯氧胺组,低于小金丸组,孕酮水平间差异有统计学意义($P<0.01$),卵泡刺激素、泌乳素水平间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 疏肝健脾解毒方可有效降低乳腺癌前病变肝郁证大鼠模型血清性激素水平。

〔关键词〕 乳腺癌;癌前病变;疏肝健脾解毒方;性激素

〔中图分类号〕R285.5;R737.9

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.11.008

Effect of Shugan Jianpi Jiedu Decoction on Serum Sex Hormone Levels of Breast Precancerous Lesion in Liver Depression Model Rats

LI Linpei¹, YANG Xiao², PAN Bo¹, JIANG Yilan^{1*}

(1. Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410006, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To study the effect of Shugan Jianpi Jiedu decoction on serum sex hormone levels of breast precancerous lesion in liver depression model rats. **Methods** The breast precancerous lesion of liver depression rat models were prepared by intragastric administration of two methyl benzene anthracene and tail clamping method. The rats were randomly divided into model group, Shugan Jianpi Jiedu decoction group, tamoxifen group, Xiaojinwan group, and blank control group. The levels of estrogen (E_2), progesterone (P), prolactin PRL, follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) were measured by radioimmunoassay after 4 weeks medication respectively. **Results** The levels of E_2 , P, PRL, FSH and LH in the model group were higher than those in the blank group, the differences were statistically significant ($P<0.01$). The serum sex hormone levels in the treatment groups were lower than those in the model group, the differences were statistically significant ($P<0.01$). The estradiol and luteinizing hormone levels in Shugan Jianpi Jiedu decoction group were lower than those in the control groups, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The P, FSH and PRL levels in Shugan Jianpi Jiedu decoction group were higher than tamoxifen group, lower than Xiaojinwan group, there was significant difference between the levels of P ($P<0.01$), there was no significant difference in the levels of FSH and PRL ($P>0.05$). **Conclusion** Shugan Jianpi Jiedu decoction could effectively reduce serum sex hormone levels of breast precancerous lesion in liver depression model rat.

〔Keywords〕 breast cancer; precancerous lesion; Shugan Jianpi Jiedu decoction; sex hormone

〔收稿日期〕2017-07-17

〔基金项目〕湖南自然科学基金资助项目(2016JJ6082),湖南省中医药管理局重点资助项目(201634)。

〔作者简介〕李琳霏,女,硕士,主治医师,从事中医肿瘤临床工作。

〔通讯作者〕* 蒋益兰,女,主任医师,教授,博士研究生导师,E-mail:tianshangren624@163.com。

乳腺癌已成为全球范围内女性最常见的恶性肿瘤^[1],且其发病率仍以 3%~4% 的速度不断增长^[2],严重威胁着女性身心健康。“疏肝健脾解毒方”为我院治疗乳腺癌的经验方,经多年临床实践,该方治疗乳腺癌及乳腺癌癌前病变患者取得良好疗效。为明确其作用机制,本文以乳腺癌癌前病变肝郁证模型大鼠为对象,研究该方对其血清雌二醇(estradiol-2, E₂)、孕酮(progesterone, P)、泌乳素(prolactin, PR)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)水平的影响。现将结果报道如下。

1 实验材料

1.1 动物

SPF 级 SD 雌性大鼠 51 只,质量(200±20) g,由长沙斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)2017-0013。于 SPF 级实验动物房适应性饲养 1 周后开始实验。

1.2 主要仪器

XFS-280 型压力蒸汽灭菌锅(浙江新丰医疗器械厂);HHQ-202 石蜡切片机(杭州艾普仪器);DW-YW226A 冰箱(中科美菱);CKX41SF 型倒置生物显微镜(日本 Olympus);EIX808U 全自动酶标仪(美国 BioTek)。

1.3 药物及试剂

疏肝健脾解毒方由柴胡 10 g,郁金 10 g,茯苓 10 g,白术 10 g,白花蛇舌草 30 g,半枝莲 30 g,蒲公英 30 g 组成,由湖南省中医药研究院附属医院中药房提供;阳性对照药三苯氧胺(枸橼酸他莫昔芬片),10 mg/片,购自江苏扬子江药业集团有限公司,生产批号:17012811;小金丸:0.6 g/袋,购自四川康特能药业有限公司,生产批号:170204。二甲基苯蒽(DMBA, Sigma 公司);雌二醇 ELISA 试剂盒、孕酮 ELISA 试剂盒、催乳素 ELISA 试剂盒、卵泡刺激素 ELISA 试剂盒及黄体生成素 ELISA 试剂盒均购买于武汉华美生物公司;水合氯醛(上海普振生物股份有限公司)。

2 方法

2.1 受试物制备

受试物疏肝健脾解毒方 6 剂,用 10 倍温水浸

泡 0.5 h,大火加热煎煮,沸腾后继续煎煮 0.5 h,趁热过滤。药渣再加 8 倍水煎煮 2 次,每次 0.5 h,趁热过滤。将 3 次水煎液混合、过滤,减压浓缩为浓度为 1.035 g/mL 的溶液备用;三苯氧胺按 10 mg:50 mL 比例溶于生理盐水备用;二甲基苯蒽 50 g,溶于 500 mL 芝麻油备用;小金丸用生理盐水溶散为 16 mg/mL 的溶液备用。

2.2 造模及分组干预

随机选取 10 只 SD 大鼠为空白对照组,实验第 1 天用芝麻油 2 mL 灌胃 1 次后自然饲养。乳腺癌癌前病变肝郁证模型制备参考文献[3]。实验第 1 天用溶解有二甲基苯蒽的芝麻油(10 mg/mL),按 10 mg/kg 比例给大鼠一次性灌胃处理。于第 4 周开始,限制大鼠活动范围,用钳头缠厚纱布的止血钳随机夹大鼠的尾巴,使其保持激怒状态,尖叫、互相追咬,每天夹尾激惹 45 min,连续 4 周。4 周后随机选取 1 只大鼠,切取乳腺组织,制备石蜡切片,HE 染色,显微镜下观察显示腺泡或导管上皮增多等增生生活跃改变,或腺泡细胞排列紊乱、核浆比增大、核异形性改变等不典型增生改变,提示乳腺癌癌前病变模型造模成功。再按随机数字表法随机分为 4 组,分别为模型组、疏肝健脾解毒方组、三苯氧胺组、小金丸组,每组 10 只。干预情况如下:疏肝健脾解毒方组、三苯氧胺组及小金丸组分别予以相应药物溶液灌胃,剂量分别为 10.35 g/kg、2 mg/kg、0.16 g/kg;空白对照组及模型组均予以等体积蒸馏水灌胃;各组均每天灌胃 1 次,连续 4 周。各用药组给药剂量均为临床等效剂量。

2.3 血清性激素水平测定

以 10% 水合氯醛按 3 μL/g 剂量腹腔注射麻醉大鼠,股动脉采血,所采血液以 2 000 r/min 转速离心 10 min,吸取上清液即血清,合并同组血清,采用放射免疫法检测 E₂、P、PR、LH 和 FSH 含量。

2.4 统计学分析

实验数据采用 SPSS 21.0 统计分析软件进行统计学分析。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,数据符合正态分布及方差齐性时,两组间比较采用独立样本 *T* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 *LSD* 法;数据不符合正态分布或方差不齐时,则采用非参数检验中多个独立样本 Kruskal-Wallis *H*

检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 动物死亡情况及模型乳腺组织病理观察

干预过程中,模型组大鼠死亡2只,三苯氧胺组死亡1只,其余各组无大鼠死亡。乳腺癌前病变肝郁证模型大鼠乳腺组织病理改变见图1。

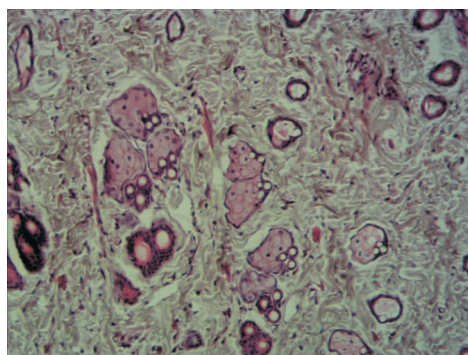


图1 乳腺癌前病变肝郁证模型大鼠乳腺组织病理改变(HE,×200)

3.2 疏肝健脾解毒方对 E_2 、P水平的影响

与空白对照组比较,模型组及各用药组 E_2 水平均较高,差异有统计学意义($P<0.01$);各用药组 E_2 水平均低于模型组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);小金丸组稍高于三苯氧胺组,差异无统计学意义($P>0.05$);疏肝健脾解毒方组低于三苯氧胺组及小金丸组,差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表1。

与空白对照组比较,三苯氧胺组P水平较低,差异有统计学意义($P<0.05$),其余各组P水平均高于空白对照组,差异有显著统计学意义($P<0.01$);用药组与模型组比较,P水平较低,差异有显著统计学意义($P<0.01$);疏肝健脾解毒方组P水平低于小金丸组,高于三苯氧胺组,差异均有显著统计学意义($P<0.01$)。见表1。

表1 疏肝健脾解毒方对 E_2 、P水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8, \text{ng/mL}$)

组别	E_2	P
空白对照组	46.62±2.799	10.48±0.946
模型组	65.76±1.982**	23.13±2.736**
三苯氧胺组	52.35±1.284***△△	8.99±0.564*△△
小金丸组	53.83±1.309***△△	16.99±1.257***△△◇◇
疏肝健脾解毒方组	49.42±1.169***△△◇◇◇◇	14.39±0.582***△△◇◇◇◇
F	139.8	143.0
P	0.000	0.000

注:与空白对照组比较,* $P<0.01$,** $P<0.01$;与模型组比较,△△ $P<0.01$;与三苯氧胺组比较,◇◇ $P<0.01$;与小金丸组比较,○○ $P<0.01$ 。

3.3 疏肝健脾解毒方对PR、FSH、LH水平的影响

与空白对照组比较,其余各组PR水平均较高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,各用药组PR水平均较低,差异有显著统计学意义($P<0.01$);三苯氧胺组低于小金丸组,差异无统计学意义($P>0.05$),疏肝健脾解毒方组PR水平高于三苯氧胺组,低于小金丸组,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

与空白对照组比较,其余各组FSH水平均较高,差异均有显著统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,各用药组FSH水平均较低,差异有显著统计学意义($P<0.01$);小金丸组FSH水平高于三苯氧胺组,差异有显著统计学意义($P<0.01$);疏肝健脾解毒方组高于三苯氧胺组,差异有显著统计学意义($P<0.01$),低于小金丸组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

与空白对照组比较,疏肝健脾解毒方组LH水平稍低,差异无统计学意义($P>0.05$),其余各组均较空白对照组高,差异均有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,各用药组LH水平均较低,差异有显著统计学意义($P<0.01$);小金丸组LH水平稍低于三苯氧胺组,差异无统计学意义($P>0.05$);疏肝健脾解毒方组低于三苯氧胺组及小金丸组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 疏肝健脾解毒方对PR、FSH、LH水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	PR/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	FSH/ $\text{mIU}\cdot\text{mL}^{-1}$	LH/ $\text{mIU}\cdot\text{mL}^{-1}$
空白对照组	26.53±1.760	2.34±0.155	5.32±0.300
模型组	39.39±3.681**	4.28±0.155**	8.64±0.521**
三苯氧胺组	28.71±3.038***△△	2.66±0.162***△△	5.61±0.094***△△
小金丸组	30.70±1.033***△△	3.43±0.129***△△◇◇	5.58±0.143***△△
疏肝健脾解毒方组	30.10±1.325***△△	3.36±0.150***△△◇◇	5.30±0.152***△△◇◇
F	38.63	223.7	226.6
P	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,△△ $P<0.01$;与三苯氧胺组比较,◇◇ $P<0.05$,◇◇ $P<0.01$;与小金丸组比较,○○ $P<0.05$ 。

4 讨论

乳腺是性激素的重要靶器官之一,高水平雌激素环境是女性乳腺癌发生的重要危险因素,乳腺癌多属激素依赖性肿瘤^[4],其比例高达70%~80%^[5]。乳腺增生等疾病有一定的癌变倾向,周期性的性激素分泌失调或乳腺组织对激素的敏感性增高是乳腺癌

前病变发生的重要机制^[6]。雌激素、孕激素可提高乳腺上皮细胞的增殖率,在乳腺癌的发生、发展中有重要作用^[7]。通常情况下,在增生越活跃的组织中,雌激素、孕激素强阳性的阳性表达率越高,其与乳腺癌及癌前病变的相关性越大。因此,推测在乳腺癌癌前病变期,或可通过调节性激素水平降低其癌变率,改善预后。

关于乳腺癌,在古代医书中有多种记载,如“乳岩”“石痈”“乳核”等^[8]。中医学认为,乳腺癌的发病多与情志有关。若情志失调则气不行津,津液停留而凝聚成痰;复因肝木克土,致脾胃不能升清降浊,则内生痰浊;而气滞痰凝血瘀日久停于乳络则结为肿块。认为其基本病机为肝郁气滞、冲任失调^[9]。故防治上尤其注重疏理肝气,化瘀解毒。而脾为后天之本,气血生化之源,故遣方多配合健脾益气之品。

“疏肝健脾解毒方”是我院防治乳腺癌的经验方,由柴胡、郁金、茯苓、白术、半枝莲、白花蛇舌草、蒲公英组成。方中柴胡、郁金疏肝解郁,理气活血,为君药;白花蛇舌草、半枝莲、蒲公英清热解毒,为臣药;茯苓、白术益气健脾,辅助正气,以防攻伐太过,为佐药。全方药物配伍精要,疏肝健脾、清热解毒、扶正抗癌,标本兼治。

本研究通过化学药物灌胃联合夹尾法制备乳腺癌癌前病变肝郁证大鼠模型,验证疏肝健脾解毒方

对乳腺癌癌前病变肝郁证大鼠模型血清雌二醇、孕酮、催乳素、黄体生成素和卵泡刺激素水平的影响,结果提示疏肝健脾解毒方可有效调节乳腺癌癌前病变肝郁证模型大鼠血清性激素水平,可为其临床防治乳腺癌作用提供实验依据。

参考文献:

- [1] 索龙格,杨顺娥.双侧原发性乳腺癌发病的临床相关性因素分析[J].实用癌症杂志,2017,32(6):916-919.
- [2] 李华艳.加减逍遥散联合姑息性化疗治疗中晚期乳腺癌患者临床疗效观察[J].当代医学,2017,23(15):122-124.
- [3] 宋爱莉,梁 栋,殷玉琨,等.大鼠乳腺癌癌前病变肝郁证造模的研究[J].中华中医药学刊,2010,28(1):5-7.
- [4] 于 付,郑荣生.乳腺癌内分泌治疗耐药的研究进展[J].中国肿瘤,2017,26(5):388-394.
- [5] 徐 蓉,陈 斌.乳腺癌内分泌药物治疗研究[J].黑龙江医学,2014,38(8):883-886.
- [6] 贾 敏,褚 静,周玲玲.肝郁气滞证乳腺增生大鼠血中激素水平的变化[J].甘肃中医,2010,23(4):22-24.
- [7] 彭舟丽,阮祥燕.雌孕激素与乳腺癌[J].国外医学肿瘤分册,2005,32(5):381-384.
- [8] 张文娟,李 澜,贾 波.从温阳论治乳腺癌[J].亚太传统医药,2017,13(8):89-90.
- [9] 李琳霏,潘 博,杜小艳,等.潘敏求教授从“瘀、毒、虚”论治乳腺癌经验[J].湖南中医药大学学报,2017,36(4):38-40.

(本文编辑 杨 瑛)