柴青消癖胶囊对乳腺增生模型大鼠的治疗作用研究

刘 聪，岳永花，郝旭亮*
山西省中医药研究院，山西 太原 030012

摘 要：目的 探讨柴青消癖胶囊对乳腺增生模型大鼠的治疗作用及可能的作用机制。**方法** 清洁级 SD 大鼠 70 只，随机分成 7 组：对照组，模型组，枸橼酸他莫昔芬组，消乳散结胶囊组，柴青消癖胶囊低、中、高剂量（0.432、0.856、1.712 g/kg）组。5 周后，测定乳头直径及高度、脏器指数、血清中孕激素（P）、雌激素（E_2）、泌乳素（PRL）、睾酮（T）水平及超氧歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）量，镜下观察乳腺组织病理形态学变化。**结果** 柴青消癖胶囊中、高剂量组能显著减小大鼠乳头直径及高度；升高胸腺、脾指数，降低子宫、卵巢指数；能提高血清中 P、E_2、PRL 水平，降低 T 的量；可明显增加血清中 SOD 活性，降低 MDA 水平。**结论** 柴青消癖胶囊对乳腺增生模型大鼠有显著的治疗作用，其作用机制可能与增强免疫力、调节血清中性激素水平及抗氧化作用有关。

关键词：柴青消癖胶囊；乳腺增生；大鼠；性激素；抗氧化
中图分类号：R982 R655.8 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 6376 (2013) 01 - 0013 - 05
DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.01.004

Therapeutic effect of Chaiqing Xiaopi Capsule on hyperplasia of mammary gland in rats

LIU Cong, YUE Yong-hua, HAO Xu-liang
Shanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic action of Chaiqing Xiaopi Capsule (CXC) on the hyperplasia of mammary gland (HMG) in rats and to analyze the possible mechanism in treating HMG. **Methods** Seventy clean Sprague-Dawley rats were divided into seven groups including control, model, tamoxifen citrate, Xiaoru Sanjie Capsule, low-, mid-, and high-dose CXC (0.433, 0.855, and 1.712 g/kg) groups. After treatment for five weeks, the height and diameter of nipple were measured, the viscera indexes and the levels of progestogen (P), estrogen (E_2), prolactin (PRL), testosterone (T), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) in serum were determined, and the pathologic changes in morphology of breast tissue in rats were observed by microscopy. **Results** The mid- and high-dose CXC could remarkably reduce the diameter and height of nipple, increase the coefficient of thymus and spleen, and decrease the coefficient of uterus and ovaries. It could also increase the levels of E_2, P, and PRL, decrease T level in serum, increase the SOD activity, and decrease the content of MDA. **Conclusion** CXC has obvious therapeutic effect on HMG in rats, and the mechanism may be related to enhancing immunity, regulating sex hormone level in serum, and antioxidation.

Key words: Chaiqing Xiaopi Capsule; hyperplasia of mammary glands; rats; estrogen; anti-oxidation

乳腺增生病（hyperplasia of mammary gland，HMG）为女性常见的以周期性的乳房疼痛为主要特征的非炎症、非肿瘤慢性乳房疾病。主要病因是雌激素与孕激素的比例失调。目前对乳腺增生病的治疗主要以纠正神经－内分泌系统紊乱的方式为主，但只能暂时缓解，且毒副作用较大，易复发。柴青消癖胶囊是临床治疗肝郁气滞，血瘀痰凝型乳腺增生的经验方，疗效较好。本实验以苯甲酸雌二醇联合黄体酮肌注射建立大鼠乳腺增生模型，研究柴青消癖胶囊对乳腺增生大鼠模型的治疗作用及可能的作用机制。

1 实验材料与方法

1.1 药物与试剂

柴青消癖胶囊（CXC，3.92 g 生药/g，不含辅

收稿日期：2012-11-19
基金项目：山西省科技攻关项目资助（20100322027）
作者简介：刘 聪（1985—），女，在读硕士，研究方向为中药作用物质基础及作用机制研究。Tel: 13754826443 E-mail: 165309403@qq.com
*通信作者 郝旭亮（1975—）男，汉，博士，硕士生导师，主要从事中药作用物质基础及作用机制研究。
Tel: (0351)4668236 E-mail: hxliang-01@163.com

料），山西皇城相府药业有限公司，批号 20111003（人口服推荐剂量为每日 3 次，每次 4 粒，成人体质量按 60 kg 计算，折合剂量为 0.114 g/kg）；苯甲酸雌二醇，天津金耀氨基酸有限公司，批号 1005071；黄体酮，浙江医药股份有限公司仙琚制药厂，批号 101108；枸橼酸他莫昔芬片，扬子江药业集团有限公司，批号 11042711；消乳散结胶囊，山东神州制药有限公司，批号 101106；超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）试剂盒，南京建成生物工程研究所，批号 20120218，20120215；雌激素（E_2）、孕激素（P）、泌乳素（PRL）、睾酮（T）的 ELISA 试剂盒，上海丰翔生物与科技有限公司，批号 20120221、20120225、20120206、2120213。

1.2 仪器

AT—858 型自动酶标分析仪，上海安泰分析仪器有限公司；KDC—2046 低速冷冻离心机，科大创新股份有限公司中佳分公司；TU—1901 双光束紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 动物

健康 SD 大鼠，体质量 200～250 g，雌性未孕，共 70 只，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，许可证编号 SCXK（京）2009-0008。饲养于清洁恒温环境中，自由饮水进食。

1.4 乳腺增生模型的建立

苯甲酸雌二醇 im 给药 0.5 g/kg，连续 30 d，再 im 给予大鼠 4 g/kg 黄体酮，注射时间为 5 d，复制大鼠乳腺增生模型[1]，外观可见乳头红肿增大，竖起，较坚实，充血，乳头直。停药期间（第 36～45 天），分别随机取模型组 5 只大鼠、其余建模 5 组各 1 只大鼠的第 2 对乳腺，经病理证实模型制造成功后于第 46 天开始药物治疗。

1.5 分组与给药

实验设 7 个组，分别为对照组、模型组、阳性西药对照（枸橼酸他莫昔芬片 1.6 mg/kg）组、阳性中药对照（消乳散结胶囊 0.452 g/kg）组、CXC 低、中、高剂量（0.432、0.856、1.712 g/kg）组。样品配制时，低、中、高剂量分别取柴青消癖胶囊 10.8、21.4、42.8 g，消乳散结胶囊组取 11.3 g，枸橼酸他莫昔芬片组取 0.5 g（含药 8%），加蒸馏水至 250 mL。各治疗组按上述剂量以 10 mL/kg ig 给药，对照组和模型组 ig 等体积生理盐水，每日 1 次，连续给药 5 周。每周测量一次体质量，调整给药剂量。

1.6 指标观察

1.6.1 乳腺测量 末次给药后禁食 12 h，称体质量，大鼠 ip 注射 1%戊巴比妥钠（5 mL/kg）麻醉，游标卡尺测量各组大鼠腹部第二对乳头的直径与高度。

1.6.2 脏器指数 摘取胸腺、脾脏、子宫、卵巢，按以下公式计算脏器系数。

脏器系数＝脏器质量/体质量

1.6.3 血清中相关指标测定 心脏取血，3 000 r/min 离心 15 min，制备血清，−20 ℃保存，用于检测血清中 E_2、P、PRL、T 水平及 SOD、MDA 的量，均按试剂盒说明书进行测定。

1.6.4 乳腺组织病理学观察 取第二对左侧完整的乳腺组织，以 10%福尔马林固定，常规制片，HE 染色，光镜检查，由中国防辐射研究院 GLP 中心完成。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理。

2 实验结果

2.1 对大鼠乳头直径与高度的影响

模型组与对照组比较乳头直径和高度明显增大，乳腺小叶腺泡数明显增多，腺泡腔明显扩张腺泡及导管内红染分泌物增多（$P<0.01$）；各组给药后，与模型组比较，阳性对照组及 CXC 各剂量组均能显著减小乳腺增生模型大鼠乳头直径和高度（$P<0.01$），明显减少乳腺增生症模型大鼠的乳腺小叶腺泡数、减小腺泡腔直径（$P<0.01$），结果见表 1。

2.2 对大鼠脏器指数的影响

模型组与对照组比较，胸腺、脾脏指数均显著降低（$P<0.01$），卵巢、子宫指数明显升高（$P<0.05$）；阳性西药及阳性中药组脾脏、胸腺指数较模型组均有所提高（$P<0.05$），卵巢、子宫指数与模型组相比较均降低（$P<0.05$）；CXC 各剂量组胸腺、脾脏指数较模型组均有升高（$P<0.01$），卵巢、子宫指数下降（$P<0.05$），结果见表 2。

2.3 对大鼠血清中性激素水平的影响

模型组 E_2、P、PRL 水平均明显降低，T 明显上升，与对照组比较差异显著（$P<0.01$）；阳性西药组及阳性中药组 E_2、P、PRL 水平明显上升，T 水平下降（$P<0.01$）；CXC 各剂量组 E_2、P、PRL 水平均明显上升，T 水平与模型组比较有显著下降（$P<0.01$），结果见表 3。

表 1 柴青消癖胶囊对各组大鼠乳头直径、高度的影响（$\bar{x} \pm s$, $n = 10$）

Table 1 Effects of CXC on height and diameter of nipple of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	乳头直径/mm		乳头高度/mm		乳腺小叶泡/(个·mm^{-2})	腺泡腔直径/μm
		造模	给药后	造模	给药后	给药后	给药后
对照	—	0.598±0.137	0.588±0.155	0.463±0.133	0.543±0.136	5.20±0.93	0.28±0.11
模型	—	2.431±0.129$^{\triangle\triangle}$	1.634±0.152$^{\triangle\triangle}$	2.433±0.112$^{\triangle\triangle}$	1.489±0.210$^{\triangle\triangle}$	12.30±4.12$^{\triangle\triangle}$	0.56±0.91$^{\triangle\triangle}$
阳性西药	0.001 6	2.332±0.166*	0.940±0.232**	2.349±0.132*	0.851±0.210**	7.31±2.30**	0.19±0.23**
阳性中药	0.452	2.254±0.293*	1.334±0.304**	2.339±0.160**	1.184±0.245**	7.97±1.67**	0.31±0.12**
柴青消癖胶囊	0.432	2.335±0.162**	1.320±0.145**	2.314±0.177**	0.104±0.013**	8.01±2.54*	0.39±0.15*
	0.856	2.328±0.179**	1.295±0.353**	2.294±0.166**	1.028±0.163**	7.84±2.33**	0.34±0.22*
	1.712	2.334±0.167**	1.240±0.266**	2.346±0.148**	0.963±0.342**	7.64±3.10**	0.34±0.07**

与对照组比较：$^{\triangle}P<0.05$　$^{\triangle\triangle}P<0.01$；与模型组比较：$^{*}P<0.05$　$^{**}P<0.01$，下表同

$^{\triangle}P < 0.05$　$^{\triangle\triangle}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$　$^{**}P < 0.01$ *vs* model group, same as below

表 2 柴青消癖胶囊对各组模型大鼠脏器系数的影响（$\bar{x} \pm s$, $n = 10$）

Table 2 Effects of CXC on viscera indexes of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/ (g·kg^{-1})	脏器系数			
		子宫	卵巢	胸腺	脾脏
对照	—	0.255±0.046	0.061±0.015	0.110±0.013	0.265±0.021
模型	—	0.329±0.078$^{\triangle}$	0.039±0.008$^{\triangle\triangle}$	0.081±0.007$^{\triangle\triangle}$	0.219±0.033$^{\triangle\triangle}$
阳性西药	0.001 6	0.108±0.047**	0.033±0.006*	0.124±0.014**	0.251±0.031*
阳性中药	0.452	0.257±0.062*	0.036±0.004	0.137±0.014**	0.298±0.041**
柴青消癖胶囊	0.432	0.256±0.090*	0.031±0.006*	0.104±0.013**	0.277±0.057*
	0.856	0.233±0.075*	0.032±0.006*	0.101±0.013**	0.328±0.059**
	1.712	0.254±0.049*	0.029±0.012*	0.134±0.013**	0.344±0.043**

表 3 柴青消癖胶囊对各组模型血清中 E_2、P、PRL、T 的量的影响（$\bar{x} \pm s$, $n = 10$）

Table 3 Effects of CXC on contents of E_2, P, PRL, and T in serum of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	内分泌激素/ (nmol·L^{-1})			
		E_2	P	PRL	T
对照	—	11.570±5.197	303.8±75.89	234.70±49.75	41.81±19.01
模型	—	7.182±1.821$^{\triangle}$	207.2±56.89$^{\triangle\triangle}$	140.17±37.55$^{\triangle\triangle}$	69.07±22.68$^{\triangle\triangle}$
阳性西药	0.001 6	13.690±4.919**	311.3±95.56**	188.80±35.33**	35.53±8.172**
阳性中药	0.452	10.192±3.994*	300.7±106.6*	307.30±73.66**	48.63±15.93*
柴青消癖胶囊	0.432	13.098±6.208**	255.8±47.05	263.00±92.21**	56.07±28.13
	0.856	14.360±3.467**	333.5±144.9*	308.30±47.60**	45.79±12.96*
	1.712	15.210±2.342**	359.5±130.0**	320.80±64.94**	39.12±16.88**

2.4 对大鼠血清中 SOD、MDA 量的影响

模型组 SOD 水平较低，与对照组比较有显著差异（P＜0.01）；阳性西药组、阳性中药组、CXC 各剂量组 SOD 水平较模型组显著升高（P＜0.01），而 MDA 水平有所降低（P＜0.05）；见表 4。

2.5 对大鼠乳腺组织结构变化的影响

给药后，光镜下观察大鼠乳腺组织变化。空白组大鼠乳腺为静息期状态，无增生性病变，小叶结构不明显；导管及腺泡无扩张。模型组乳腺导管、腺泡扩张，内含可见大量红染分泌物；CXC 各剂量

表 4 柴青消癖胶囊对各组大鼠血清中 SOD、MDA 量的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 10$）

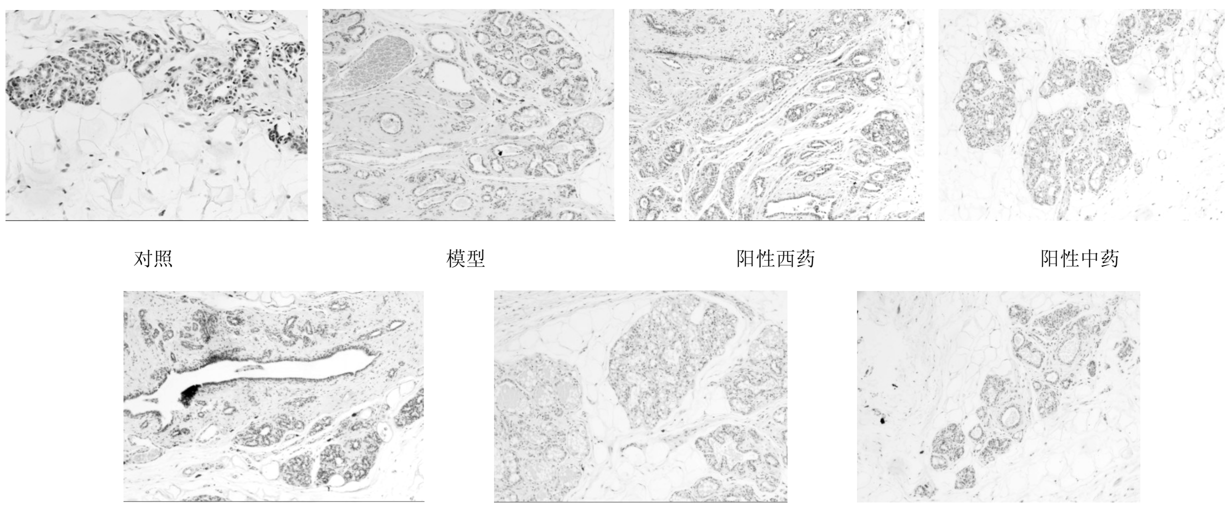
Table 4 Effects of CXC on contents of SOD and MDA in serum of rats

组 别	剂量/(g·kg^{-1})	SOD/(U·mL^{-1})	MDA/(nmol·mL^{-1})
对照	－	34.90±13.17	6.628±3.174
模型	－	16.94±12.90$^{\triangle\triangle}$	10.01±3.599$^{\triangle}$
阳性西药	0.001 6	61.72±29.25**	6.621±3.292*
阳性中药	0.452	80.92±24.49**	7.690±2.231
柴青消癖	0.432	40.83±34.43	7.874±2.120
胶囊	0.856	64.98±16.55**	6.045±3.155*
	1.712	88.34±97.54**	5.890±2.214**

对乳腺组织导管、腺泡的增生、扩张状态均有不同程度的改善，表现为乳腺小叶略微增生，部分腺泡扩张，含有少量可见红染分泌物，见图 1。

3 讨论

近年来乳腺增生病的发病率呈明显上升趋势且病程长，30 岁以上的女性发病率达 90%以上[2]，且有 3%～5%的癌变几率，严重危害女性的身心健康。西医认为该疾病与内分泌紊乱有关，但尚未有特效疗法，而中医药在治疗乳腺增生病方面有独到之处。中医学认为乳腺增生主要由于情志不畅、肝气郁结、思虑伤脾、痰湿内蕴，以致气滞血瘀、痰浊互结，气血痰结聚于乳腺局部日久而成。柴青消癖胶囊由



对照 模型 阳性西药 阳性中药

0.433 g·kg^{-1} 柴青消癖胶囊 0.856 g·kg^{-1} 柴青消癖胶囊 1.712 g·kg^{-1} 柴青消癖胶囊

图 1 乳腺组织的 HE 化学染色

Fig. 1 HE staining of mammary gland in each group

青皮、柴胡、香附疏肝解郁、利气止痛、调经；白芍养血、柔肝敛阴，增强止痛调经之功，丹参、三七养血活血止血；夏枯草、浙贝母清热解毒、消肿散结、清肺祛痰，王不留行通经下乳。全方共奏疏肝解郁、活血散结、养血益阴、调经止痛、清肺化痰之功效。柴青消癖胶囊是治疗乳腺增生的临床经验方，取得了较好的疗效。

柴青消癖胶囊 3 个剂量组治疗给药，能明显减小由苯甲酸雌二醇联合黄体酮所致乳腺增生大鼠乳头的直径与高度，且各指标与模型组比较具有显著差异（P＜0.05，0.01），其作用机制可能是：①增强模型大鼠免疫力，升高胸腺、脾脏指数，降低子宫、卵巢指数；②调节性激素水平，外源性 E_2 与内源性 E_2 竞争性结合雌激素受体（ER），阻止了内源性 E_2 分子与受体结合，而发挥雌激素样作用，有效地减弱了乳腺组织对 E_2 的应答，起到拮抗雌激素的作用，从而减弱 E_2 的促细胞增殖作用；P 在乳腺病变组织中的高表达，导致了乳腺上皮细胞孕激素反应紊乱，促进了 E_2 诱导的乳腺组织内间质胶原纤维的增加及细胞的恶变；乳腺细胞中 PRL 水平在 P 的刺激下升高，通过激活乳腺膜细胞内的腺苷酸环化酶，改变细胞膜的功能，加重乳腺增生；T 以血清双清睾酮（DHT）的形式存在，芳香化酶（P450 arom）是雄性体内唯一将雄激素转化为雌激素的酶系，而睾丸生殖细胞中均含有 P450 arom 且极易激活，因此 DHT 诱导 P450 arom 的量增高[3]，催化 T 转化成 E_2，发生雌激素效应而引起乳房肥大；③乳腺组织中 E_2 量增加的同时，伴随着脂质发生过氧化反应，

最终产物为 MDA，具有细胞毒性导致乳腺细胞损伤，甚至诱发乳腺癌等恶性疾病。乳腺增生的发生会由于机体内 SOD 减少而加剧。当乳腺细胞中自由基水平异常升高时，SOD 能够特异性催化氧自由基发生歧化反应生成 H_2O 和 O_2，并在过氧化氢酶（CAT）的作用下清除炎症过程中伴随产生的过氧化物游离基，从而产生强大的抗炎作用，并及时修复受损乳腺细胞[4-6]；④对模型大鼠乳腺小叶、导管增生程度显著改善，腔内红染分泌物大量减少，且随剂量增大，效果更明显。

综上所述，本实验通过柴青消癖胶囊疏肝解郁、活血散结、清肺化痰的治疗方法使大鼠血清中性激素水平得到恢复，提高了机体免疫功能，抑制乳腺组织的过氧化反应及改善了模型大鼠乳腺组织病理形态学改变，初步证明了柴青消癖胶囊对乳腺增生的治疗作用及机制，为临床上治疗乳腺增生提供了实验依据。

参考文献

[1] 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): 204-206.

[2] 周莉娜. 乳腺增生的中医药治疗进展 [J]. 中医药导报, 2010, 16(11): 112-114.

[3] 陈 秋, 洪新如, 宋岩峰. 芳香化酶、雌激素与雄性生殖 [J]. 中国男科学杂志, 2008, 22(7): 55-57.

[4] 李增英, 李惠林, 张志玲, 等. 代谢综合征的临床相关指标 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(39): 7988-7990.

[5] 张 欣. 长氧化物歧化酶 (SOD) 及其研究进展 [J]. 内蒙古石油化工, 2010, 16: 14-15.

[6] 时沁峰, 曹威荣. 超氧化物歧化酶 (SOD) 的研究概况 [J]. 畜禽业, 2009, 24(4): 66-68.