

- features and survival [J]. Clin Med Res, 2009, 7 (1): 4-13.
- [11] Savouret JF, Bailly A, Misrahi M, et al. Characterization of the hormone responsive element involved in the regulation of the progesterone receptor gene [J]. EMBO J, 1991, 10 (7): 1875-1883.
- [12] 何向明, 杨红健, 封伟亮. 乳腺癌 ER、PR、Her-2 表达水平与临床病理特征的关系 [J]. 现代实用医学, 2012, 24 (2): 203-205.

外耳道胆脂瘤 CT 表现 (附 24 例报告)

河北省邢台市眼科医院放射科 (河北 邢台 054001) 胡世民

外耳道胆脂瘤是由于各种原因长期刺激、上皮损伤引发外耳道脱屑、胆固醇结晶堆积并被角化上皮包裹而形成。这种堆积物能产生一种蛋白分解酶,使骨质溶解破坏,导致外耳道扩大,病变严重者可侵犯周围结构,CT 表现具有一定特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2004 年 1 月—2010 年 1 月本院经手术和病理证实的外耳道胆脂瘤患者 24 例,男性 11 例,女性 13 例;年龄 10~75 岁,平均年龄 32.4 岁;24 例患者均为单耳发病,其中左侧发病 22 耳,右侧发病 18 耳;病程 2 d~20 年。主要临床症状:外耳道流脓 13 耳,流血 2 耳,耳痛 9 耳;听力下降 21 耳,听力正常 3 例;外耳道皮肤肿胀和肉芽形成 8 耳,外耳道耵聍栓塞 2 耳,外耳道狭窄畸形 2 耳。

1.2 CT 检查方法 采用 Siemens Emotion 螺旋 CT 扫描仪对 24 例患者均行颞骨横断面和冠状面扫描,横断面以听眶上线为基线,上缘至弓状隆起,下缘至外耳道;冠状面扫描基线为听眶下线的垂线。扫描参数:140 kV,220 mAs,视野 (FOV) 180 mm×180 mm,矩阵 512×512;骨算法重建,层厚和层距均为 2 mm,窗宽 4 000 HU,窗位 700 HU。

2 结果

24 耳均表现为外耳道内密度不均匀软组织影或类软组织密度影;外耳道骨部单骨壁或多骨壁骨质吸收、破坏,外耳道局部或整体扩大。其中 2 耳单骨壁受累,且均表现为外耳道下壁小凹陷形成;余 22 耳多骨壁受累,其中下壁 20 耳,上壁 18 耳,后壁 16 耳,前壁 15 耳。各壁均受累共计 10 耳,骨性外耳道呈外窄内宽的“烧瓶”状扩大。15 耳残余骨壁边缘光滑规整,9 耳边缘不规则。外耳道周围结构改变:9 耳听骨链可见不同程度骨质破坏,4 耳可见颞下颌关节受累,2 耳耳廓受侵。11 耳破坏外耳道后壁及乳突;9 耳外耳道后壁、上壁骨质破坏及乳突、上鼓室;其中 2 例患者面神经管乳突段骨壁受累;16 例患者患耳乳突呈气化型,8 例呈板障型;2 例患者为先天性外耳道狭窄。

3 讨论

目前本病病因尚不明确。国外学者 Holt 将其病因分为外伤性、自发性、医源性、先天性和阻塞性,其中自发性外耳道胆脂瘤最为多见。本组有 2 耳外耳道狭窄归为阻塞性,可能与外耳道狭窄后角化上皮细胞向外移行,致上皮滞留有关。其他患者没有明确的病因,考虑为自发性胆脂瘤可能性大,与文献报道相符。

外耳道胆脂瘤 CT 表现为外耳道内面的不均匀软组织或类软组织密度影。外耳道单骨壁或多骨壁骨质结构受累,CT 早期可见骨性外耳道内小凹形成,边缘光滑规整;随着病情进展,当多骨壁受侵及时,CT 典型表现为外耳道外段明显扩大,呈“烧瓶”状改变,外耳道骨性结构受侵扩大。外耳道胆脂瘤骨质破坏主要表现为于外耳道,当病变向内累及中耳时,表现为从外耳道方向侵蚀鼓室盾板,此时 CT 冠状位可见鼓室盾板呈由外向内的扩展性骨质破坏。而中耳胆脂瘤骨质破坏则从上鼓室向外破坏鼓室盾板。2 种骨破坏方式的不同,有助于鉴别胆脂瘤型中耳炎时鼓室盾板呈由内向外的骨质改变。本组 9 例患者听骨链破坏中断,CT 见听小骨残存、结构不整。而外伤性听骨链中断时,3 个听小骨虽中断、分离,但个体可保持完整。病史较长者病变可破坏外耳道后壁、下壁侵入乳突气房,进而破坏面神经管壁;另一种途径是胆脂瘤不断发展可压迫鼓膜松弛部向上鼓室内凹陷形成上鼓室胆脂瘤。本组虽有 2 例外耳道狭窄者,但其骨壁局部亦见骨质受侵扩大。根据病变范围,Holt 将外耳道胆脂瘤分为 3 期:Ⅰ期外耳道骨部局限浅表小凹(胆脂瘤压迫所致);Ⅱ期外耳道局部囊袋形成;Ⅲ期病变侵及乳突、上鼓室。本组 20 例Ⅲ期骨性外耳道 CT 表现多骨壁受累;外耳道周围结构受侵后 CT 表现:听骨链不同程度骨质破坏 9 耳,颞下颌关节受累 4 耳,耳廓受侵 2 耳,破坏外耳道后壁和(或)上壁侵及乳突上鼓室 20 耳,面神经管乳突段骨壁受累 2 例。上述资料表明:外耳道胆脂瘤骨质侵蚀情况往往比临床检查严重,单纯耳科检查不能发现病变的全貌;临床中即使外耳道受累症状较轻,也需行耳部高分辨 CT 扫描。发生外耳道胆脂瘤时,由于外耳道壁的骨质被破坏,胆脂瘤上皮、肉芽组织阻塞,使外耳道及周围正常的解剖标志不清,因此术前 CT 检查可及早发现外耳道骨质破坏,明确病变范围,有助于制定手术计划。综上所述,CT 检查可作为外耳道胆脂瘤首选检查方法,可尽早发现外耳道胆脂瘤骨质破坏情况和病变侵及范围。

[文章编号] 1671-587X(2012)06-1052-06

蒙药乳腺-I号对乳腺增生大鼠抗氧化能力、 乳腺组织雌激素受体和孕激素受体表达的影响

王忠超¹, 李敏², 张彬^{3,4}, 任立群², 额都^{3,4}, 张秋丽^{3,4}, 秀兰^{3,4}, 刘一飞³, 刘蓝涛³

(1. 长春医学高等专科学校病理学教研室, 吉林 长春 130031; 2. 吉林大学药学院实验药理与毒理学教研室, 吉林 长春 130051; 3. 内蒙古民族大学附属医院心胸外科, 内蒙古 通辽 028007; 4. 内蒙古民族大学蒙西医结合药物研究所, 内蒙古 通辽 028007)

[摘要] 目的: 观察蒙药乳腺-I (M-I) 号对乳腺增生大鼠体内抗氧化能力及乳腺组织雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 表达的影响, 为药物的临床应用提供实验依据。方法: 48 只雌性未孕 Wistar 大鼠, 随机选出 8 只作为正常对照组, 其余动物每天肌肉注射苯甲酸雌二醇 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 1 次, 连续 25 d, 随后每天肌肉注射黄体酮 ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 1 次, 连续 5 d, 复制大鼠乳腺增生模型, 同时正常对照组大鼠肌肉注射生理盐水。模型复制成功后, 随机分为 5 组, 模型对照组大鼠给予生理盐水灌胃; 阳性药对照组大鼠给予三苯氧胺 $1.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃; M-I 号低剂量组、中剂量组和高剂量组大鼠分别给予 M-I 号 0.5、1.0 和 $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃。给药结束后, 检测各组大鼠乳头高度, 观察大鼠乳腺组织病理学特征, 检测大鼠血清及乳腺组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 水平, Western blotting 法检测各组大鼠乳腺组织 ER 和 PR 的表达水平。结果: 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠乳头高度仍显著增高 ($P < 0.01$), 光镜下观察乳腺组织病理改变明显, 血清 SOD 和 GSH-Px 水平均显著降低 ($P < 0.05$), MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$), 乳腺组织 ER、PR 的蛋白表达量显著增加 ($P < 0.01$)。与模型对照组比较, M-I 号各剂量组大鼠乳头高度明显偏小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 乳腺组织病理学改变明显减轻, M-I 号高剂量组大鼠乳腺组织结构接近正常对照组; 血清及乳腺组织中 SOD 和 GSH-Px 水平较模型对照组均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 乳腺组织中 ER 和 PR 的蛋白表达水平亦显著降低 ($P < 0.01$)。结论: M-I 号对乳腺增生大鼠有较好的治疗作用, 其治疗机制可能与增强乳腺增生大鼠体内抗氧化能力、降低乳腺组织中 ER 和 PR 表达水平有关。

[关键词] 大鼠, Wistar; 蒙药乳腺-I号; 雌激素; 乳腺增生; 雌激素受体

[中图分类号] R655.82 **[文献标志码]** A

Effects of Mongolian Remedy RuXian-I on anti-oxigenic ability and expressions of estrogen receptor and progesterone receptor in breast tissues of rats with hyperplasia of mammary glands

WANG Zhong-chao¹, LI Ming², ZHANG Bin^{3,4}, REN Li-qun², E Du^{3,4},
ZHANG Qiu-li^{3,4}, XIU lan^{3,4}, LIU Yi-fei³, LIU Lan-tao³

(1. Department of Pathology, Changchun Medical College, Changchun 130031, China; 2. Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Department of Cardio-Thoracic Surgery, Affiliated Hospital, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028007, China; 4. Institute of Mongolia and Western Medicinal Treatment,

[收稿日期] 2012-07-24

[基金项目] 国家自然科学基金资助课题 (30873454)

[作者简介] 王忠超 (1979—), 女, 吉林省长春市人, 讲师, 医学博士, 主要从事乳腺疾病的病理学与病理生理学研究。

[通信作者] 张彬 (Tel: 0475-8267820, E-mail: bzh9911@163.com);
任立群 (Tel: 0431-85619702, E-mail: renlq@jlu.edu.cn)

Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028007, China)

Abstract; Objective To observe the effects of Mongolian Remedy RuXian- I (M- I) on anti- oxygenic ability and the expressions of estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) in breast tissues of rats with hyperplasia of mammary glands, and to provide experimental basis for application of M- I . **Methods** 8 rats randomly chosen from forty-eight virgin female Wistar rats were regarded as normal control group. The others were injected intramuscularly with estradiol benzoate ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) once a day for 25 d and progesterone ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) once a day for 5 d. The rats in normal control group were injected with normal saline. Then the disease model was sucesfully copied and the model rats were randomly divided into model control group, positive control group, M- I low dosage group, M- I middle dosage group, and M- I high dosage group. The rats in different groups were respectively treated with normal saline, tamoxifen, M- I 0.5, 1.0 and $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ for 30 d. Then the changes of nipple heights, the pathological changes in breast tissues, the levels of SOD, MDA, GSH-Px in serum and breast tissues and the expressions of ER, PR were measured. **Results** Compared with normal control group, the nipple height and the levels of serum MDA, and the expressions of ER and PR in model control group were obviously increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); the serum levels of SOD, GSH-Px were obviously decreased ($P < 0.01$). Compared with model control group, the nipple heights were lower ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the histopathological changes were reduced in M- I different dosages groups; the structure of breast tissue in M- I high dosage group was close to that in normal control group; the serum levels of MDA and the expressions of ER and PR in breast tissue in M- I high dosage group were obviously decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but the levels of SOD, GSH-Px in serum and breast tissues were obviously increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** M- I can treat the rats with hyperplasia of mammary glands well, and its mechanism may be related to inhancing the antioxidant ability and inhibiting the expression levels of ER and PR in breast tissues.

Key words: rat, Wistar; Mongolian Remedy RuXian- I ; estrogen; hyperplasia of mammary glands; estrogen receptor

在雌激素周期性的过度刺激下, 乳腺组织过度增生而复旧不全, 久之便形成乳腺增生症 (hyperplasia of mammary glands, HMG), 其本质是非感染性慢性炎症及非肿瘤性肿物的病变。西医多应用手术切除增生肿块治疗乳腺增生症, 由于手术治疗易于复发且为有创治疗, 患者多不易接受^[1]。药物治疗有溴乙淀、他莫昔芬等, 虽可缓解患者部分症状, 但副作用及并发症颇多, 故应用受到一定限制^[2]。蒙医药对乳腺增生的治疗有独到之处。蒙医认为: 乳腺增生症属蒙医“妇血症”范畴, 是由于月经期或产后情志不畅, 饮食不节, 过食肥甘厚味, 起居不当或乱用药物等原因所致。蒙药乳腺-I (M-I) 号是内蒙古自治区的传统秘方, 一直作为院内制剂应用于临床。在前期研究^[3-4]中, 本室通过动物实验对 M- I 号进行了初步药效观察, M-I 号处理后的大鼠乳腺组织经荧光差异双向凝胶电泳 (DIGE) 和质谱鉴定显示: M- I 号能通过调节乳腺组织中的多种蛋白质, 对注射雌激素联合孕激素的方法复制的乳腺增生大鼠有治疗作用。本实验通过复制大鼠乳腺增生模型, 采用生物化学、Western blotting 法等实验技术, 对 M- I

号的治疗作用进行更深入的研究, 并对双向电泳结果进行进一步验证, 为阐明 M- I 号治疗机制、推进蒙药的开发与利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物及主要试剂 48 只雌性未孕 Wistar 大鼠 (体质量 180~220 g) 购自吉林大学医学实验动物中心, 动物合格证号: SCXK- (吉) 2007-0003。苯甲酸雌二醇注射液 (批号 090902) 和黄体酮注射液 (批号 090402) 购自上海通用药业股份有限公司; 枸橼酸他莫昔芬 (批号 090101) 购自苏州第一制药有限公司; 兔抗大鼠雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 多克隆抗体、兔抗大鼠孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 多克隆抗体、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔 IgG 均购自北京中杉金桥生物工程公司; SOD 测试盒 (批号 20100512)、MDA 测试盒 (批号 20100430) 和 GSH-Px 测试盒 (批号 20100324) 购自南京建成生物研究所。

M- I 号处方组成: 豆蔻 45 g, 丁香 9 g, 栀子 7.5 g, 手掌参 7.5 g, 沙棘 7.5 g, 赤廔子 7.5 g,

珍珠杆 6 g, 诃子 6 g, 山柰 5.25 g, 红花 4.5 g, 木香 4.5 g, 刺柏叶 4.5 g, 五灵脂 4.5 g, 茵陈 3 g, 川楝子 1.5 g 等 30 味药, 由内蒙古民族大学附属医院蒙药制剂室提供(哲卫药准字: 9604-79)。原料药材经过煎煮、提取、浓缩、泛丸、干燥和灭菌等步骤制成丸剂。大鼠给药剂量根据临床药物剂量换算而得。

1.2 动物分组及给药 48 只大鼠随机选出 8 只作为正常对照组, 其余动物用于复制大鼠乳腺增生模型, 模型的复制方法参照文献[5], 每天肌肉注射苯甲酸雌二醇 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 1 次, 连续 25 d, 随后每天肌肉注射黄体酮 ($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 1 次, 连续 5 d, 同时正常对照组大鼠肌肉注射生理盐水。模型复制成功后, 40 只大鼠随机分为 5 组(每组 8 只)并予以相应处理: 模型对照组, 给予生理盐水灌胃; 阳性药对照组, 给予三苯氧胺 $1.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃; M-I 号低、中和高剂量组, 分别给予 M-I 号 0.5 、 1.0 和 $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃, 期间正常对照组大鼠给予生理盐水灌胃, 每天观察大鼠状态, 每周测量大鼠第 2 对乳头高度 1 次。给药 4 周后, 动物禁食 12 h, 收集动物血清分装于 $200 \mu\text{L}$ EP 管中, -80°C 冰箱冻存; 取大鼠左侧乳腺组织用 4% 多聚甲醛固定, 右侧乳腺组织立即置于液氮中速冻, 而后转移至 -80°C 冰箱冻存。

1.3 大鼠乳腺组织病理学检查 大鼠乳腺组织于 4% 多聚甲醛中固定, 脱水, 石蜡包埋, 切片, 苏木素-伊红染色, 镜下观察分析。各组大鼠增生情况进行如下分级: 轻度增生, 小叶内纤维组织增多, 腺泡扩张, 数量增多, 但腺泡及导管上皮无增生; 重度增生, 不仅腺泡数目增多, 且腺泡扩张及分泌现象严重, 导管上皮出现多层或乳头状改变; 将正常、轻度和重度依次记为 1、2 和 3 分, 计算各组平均积分。

1.4 大鼠血清中抗氧化指标的检测 各组大鼠腹主动脉取血, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取血清分别按超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)试剂盒说明书[6]步骤操作, 比色法测定吸光度(A)值, 按公式计算出血清中各检测指标含量。

1.5 Western blotting 法检测大鼠乳腺组织 ER 和 PR 表达量 大鼠乳腺组织在冰预冷的裂解液中研磨, 待组织充分裂解后, 加入 $2 \times$ 十二烷基磺酸钠(SDS)凝胶上样缓冲液, 将样品置于沸水浴中加热 5 min。室温 $10\ 000 \text{ g}$ 离心 10 min, 将上清液移

入另一管中。Bradford 法测定总蛋白浓度。每组取 $50 \mu\text{g}$ 总蛋白样品进行 12% SDS-PAGE 电泳。电转移在冷的转移缓冲液中进行。转移结束后, 将硝酸纤维膜用丽春红染色标记相对分子质量标准的参照位置。硝酸纤维膜用 5% 脱脂奶粉 PBST 溶液封闭 2 h。再用一抗(anti-ER α polyclonal Ab, 1:300; anti-PR polyclonal) 孵育 2 h, 接着二抗孵育 40 min。孵育结束后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBST 振荡洗涤硝酸纤维膜 4 次, 每次 10 min。将膜与感光胶片安装好后于暗室内曝光, 观察 ER 和 PR 蛋白条带表达情况。用 Tanon GIS 凝胶图像处理系统分析 A 值。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析, 大鼠乳头高度、血清 SOD、MDA 和 GSH-Px 水平及乳腺组织 ER、PR 蛋白表达量以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠乳头高度 大鼠乳腺增生模型复制成功后, 模型大鼠乳头高度与正常对照组大鼠乳头高度比较, 差异无统计学意义, 此时 M-I 号各剂量组大鼠乳头高度与模型组大鼠乳头高度比较差异无统计学意义 ($P > 0.01$)。给药 4 周后模型对照组大鼠乳头高度比正常对照组的大鼠乳头高度显著增加 ($P < 0.01$), M-I 号高、中和低剂量组大鼠乳头高度与模型对照组比较有不同程度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 并且随给药剂量的增大, 大鼠乳头高度渐接近于正常对照组。见表 1。

表 1 各组大鼠乳头高度的比较

Tab.1 Comparisons of nipple heights of rats between various groups ($n=8, \bar{x} \pm s, l/\text{mm}$)

Group	Nipple height		
	0 d	4 weeks	8 weeks
Normal control	0.68 ± 0.05	0.74 ± 0.06	0.76 ± 0.08
Model control	0.66 ± 0.18	$1.60 \pm 0.21^{**}$	$1.72 \pm 0.13^{**}$
Positive control	0.64 ± 0.17	$1.58 \pm 0.13^{**}$	1.38 ± 0.17
M-I low dosage	0.66 ± 0.22	$1.56 \pm 0.28^{**}$	$1.50 \pm 0.18^{*\Delta}$
M-I middle dosage	0.68 ± 0.21	$1.62 \pm 0.31^{**}$	$1.42 \pm 0.21^{*\Delta}$
M-I high dosage	0.66 ± 0.16	$1.58 \pm 0.24^{**}$	$1.22 \pm 0.12^{*\Delta\Delta}$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal control group; Δ $P < 0.05$,

$\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs model control group.

2.2 各组大鼠血清 SOD、MDA 和 GSH-Px 水平 给药 4 周后, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠血清 SOD 及 GSH-Px 水平均显著降低 ($P <$

0.05), MDA水平显著升高 ($P < 0.01$), M-I号低剂量组和阳性药对照组大鼠血清SOD水平显著降低 ($P < 0.05$); M-I号高剂量组大鼠血清SOD、MDA水平接近于正常对照组; 与正常对照组大鼠比较, M-I号低剂量组MDA水平显著增高 ($P < 0.05$), 阳性药对照组大鼠血清GSH-Px显著增高 ($P < 0.05$)。与模型对照组大鼠比较, M-I号高剂量组大鼠血清SOD水平显著增高 ($P < 0.05$), M-I号高、中剂量组MDA水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) M-I号高、中剂量组和阳性药组大鼠血清GSH-Px均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表2。

表2 各组大鼠血清SOD、MDA和GSH-Px水平的比较
Tab.2 Comparisons of serum SOD, MDA and GSH-Px levels of rats between various groups ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	SOD [$\lambda_B / (U \cdot mg^{-1})$]	MDA [$CB / (\mu mol \cdot L^{-1})$]	GSH-Px [$\lambda_B / (10^4 U \cdot L^{-1})$]
Normal control	114.75 \pm 3.59	1.10 \pm 0.44	4.64 \pm 0.37
Model control	106.73 \pm 4.18*	2.30 \pm 0.62**	4.12 \pm 0.41*
Positive control	103.09 \pm 3.76 Δ	1.41 \pm 0.55 Δ	5.01 \pm 0.39** $\Delta\Delta$
M-I low dosage	105.01 \pm 7.09 Δ	1.77 \pm 0.54*	4.47 \pm 0.42
M-I middle dosage	112.01 \pm 3.09 Δ	1.52 \pm 0.54 Δ	4.60 \pm 0.56 Δ
M-I high dosage	114.18 \pm 4.47 Δ	1.08 \pm 0.11 $\Delta\Delta$	4.88 \pm 0.47 Δ

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal control group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs model control group.

2.3 Western blotting法检测乳腺组织中ER和PR表达水平 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠ER、PR的表达水平显著增加 ($P < 0.01$); 阳性药组、M-I号低、中和高剂量组大鼠乳腺组织中ER、PR蛋白表达水平显著降低, 与模型对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表3和图1。

表3 Western blotting法检测各组大鼠乳腺组织中ER和PR表达水平

Tab.3 Comparisons of ER, PR expression levels of rats between various groups detected by Western blotting ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	ER	PR
Normal control	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000
Model control	2.720 \pm 0.070*	1.517 \pm 0.021*
Positive control	1.543 \pm 0.040 Δ	0.503 \pm 0.153 Δ
M-I low dosage	1.503 \pm 0.031 Δ	0.390 \pm 0.100 Δ
M-I middle dosage	1.540 \pm 0.080 Δ	0.367 \pm 0.058 Δ
M-I high dosage	2.153 \pm 0.111 Δ	0.840 \pm 0.010 Δ

* $P < 0.01$ vs normal control group; Δ $P < 0.01$ vs model control group.

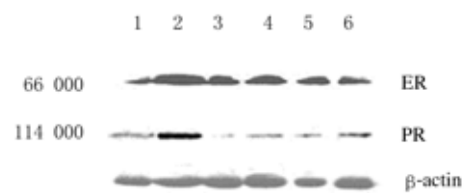


图1 Western blotting法检测各组大鼠乳腺组织中ER和PR的表达水平

Fig.1 The expression levels of ER and PR in breast tissues of rats in various groups detected by Western blotting

Lane 1: Normal control group; Lane 2: Model control group; Lane 3: M-I high dosage group; Lane 4: M-I middle dosage group; Lane 5: M-I low dosage; Lane 6: Positive control group.

2.4 各组大鼠乳腺组织病理学特征 光镜下可见正常对照组大鼠乳腺小叶数量较少, 均呈散在分布, 无腺泡增多和腺泡扩张、腺泡腔较小, 腺腔内无分泌物或仅有少许分泌物。模型对照组大鼠均出现典型的乳腺增生, 表现为乳腺小叶数量增多, 腺泡及导管大量增生, 腺泡高度扩张并且分泌旺盛, 导管上皮呈多层和(或)乳头状改变。阳性药对照组大鼠乳腺小叶数和乳腺小叶腺泡数较模型对照组明显减少, 腺泡上皮多呈立方上皮, 少数为扁平状, 腔内无分泌物或有少许分泌物。M-I号各剂量组乳腺小叶数及小叶腺泡数均少于模型对照组, 乳腺腺泡数目及腔内分泌物较少, 导管管腔变小, 体积缩小, M-I号高剂量组个别大鼠乳腺导管及腺泡结构接近正常大鼠。见表4和图2(封二)。

表4 各组大鼠乳腺组织病理学评分

Tab.4 Pathological grading scores of breast tissue of rats in various groups ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Group	Scores
Normal control	1.00 \pm 0.00
Model control	2.87 \pm 0.33*
Positive control	1.50 \pm 0.70 $\Delta\Delta$
M-I low dosage	1.76 \pm 0.51 Δ
M-I middle dosage	1.38 \pm 0.48 $\Delta\Delta$
M-I high dosage	1.28 \pm 0.69 $\Delta\Delta$

* $P < 0.01$ vs normal control group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs model control group.

3 讨论

乳腺增生症属中医“乳癖”范畴^[5]。现代医学认为: 乳腺增生症的病因主要是体内雌、孕激素失

衡,目前并无特效的治疗方法。M-I号是治疗乳腺增生症的传统秘方,一直在内蒙古自治区作为院内制剂应用,经400例临床病例^[6]证实,疗效安全可靠,有效率达98%,是治疗乳腺增生症的良方。本实验结果显示:经M-I号治疗后大鼠乳头高度明显降低,乳腺组织病理改变明显减轻,并有一定的剂量依赖性。而且M-I号高、中剂量组大鼠乳腺组织病理评分均低于阳性药对照组,尤其是高剂量组已接近正常对照组,提示M-I号有明显的治疗效果。

SOD、MDA和GSH-Px是反应体内抗氧化能力的重要指标。研究^[7]表明:雌激素能通过与过氧化损伤紧密相连的作用机制在乳腺癌和乳腺增生的发生和发展过程中扮演重要角色。本实验结果显示:与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清MDA含量升高,SOD和GSH-Px活力下降,表明乳腺增生大鼠体内自由基生成增多,脂质过氧化作用增强,机体清除自由基的能力下降;与模型对照组比较,M-I号高、中剂量组的SOD、GSH-Px活性明显增高,而MDA含量显著下降,提示M-I号可能通过抑制脂质过氧化反应以调节自由基代谢,从而起到治疗乳腺增生的作用。雌激素只有与其受体结合才能发挥作用,乳腺增生的发生与雌激素水平升高或乳腺组织局部ER含量增加均有密切关系,而雌激素受体过多表达在乳腺增生症发病中可能有更重要的意义,这可以进一步解释临床上乳房发生局部肿块的原因。多项研究^[8-10]表明:ER、PR的过量表达会加剧乳腺增生或乳腺癌的发生、发展。在前期研究^[3]中,本室曾采用M-I号处理后的大鼠乳腺组织进行荧光差异双向电泳(DIGE),收集分析荧光差异显示双向凝胶电泳图谱,通过MALDI-TOF/TOF质谱分析,得到PMF图谱,然后利用PMF和蛋白质数据库检索,对差异表达的蛋白质点进行鉴定,实验结果表明:M-I号能通过调节乳腺组织中的多种蛋白质,对注射雌激素联合孕激素方法复制的乳腺增生大鼠起到治疗作用。本实验通过Western blotting方法进一步验证M-I号对乳腺增生大鼠乳腺组织ER表达影响的结果显示:对ER表达量的2种检测方法所得结果具有相同变化趋势,即乳腺增生大鼠乳腺组织中ER的表达量较正常对照组大鼠有显著升高,M-I号各剂量组ER的表达量较模型对照组显著降低,虽略高于正常对照组,但与阳性药对照组比较差异无统计学意义。

PR受雌激素调节,在正常乳腺细胞中的合成需要雌激素与ER的共同作用^[11]。当雌激素水平升高时会上调PR的表达。研究^[12]表明:孕激素通过PR介导的作用对乳腺癌的发生、发展以及恶性表型的维持起重要作用。本实验结果显示:模型大鼠乳腺组织PR的表达较正常对照组有显著升高,M-I号低、高剂量组以及阳性药对照组较模型对照组显著降低。

综上所述,蒙药乳腺-I号不仅可以明显降低乳腺增生大鼠的乳头高度,改善乳腺增生大鼠乳腺组织结构,还可以通过增强大鼠体内抗氧化能力,调节乳腺组织中ER和PR的表达,发挥治疗乳腺增生症作用,并具有剂量依赖性。

[参考文献]

- [1] Park HL, Kwon SH, Chang SY, et al. Long-term follow-up result of benign phyllodes tumor of the breast diagnosed and excised by ultrasound-guided vacuum-assisted breast biopsy [J]. *J Breast Cancer*, 2012, 15 (2): 224-229.
- [2] Crandall CJ, Aragaki AK, Chlebowski RT, et al. New-onset breast tenderness after initiation of estrogen plus progestin therapy and breast cancer risk [J]. *Arch Intern Med*, 2009, 169 (18): 1684-1691.
- [3] Wang ZC, E D, Batu DL, et al. 2D-DIGE proteomic analysis of changes in estrogen/progesterone-induced rat breast hyperplasia upon treatment with the Mongolian remedy RuXian-I [J]. *Molecules*, 2011, 16 (4): 3048-3065.
- [4] 张彬, 额都, 任立群, 等. 蒙药乳腺-I号治疗乳腺增生研究现状与展望 [J]. *吉林医学*, 2009, 30 (6): 481-483.
- [5] 马民, 李德辉, 张桂娟, 等. 乳癖霜外用对乳腺增生模型大鼠乳腺组织病理形态学和AP-2 α 、C-erbB-2表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32 (4): 738-742.
- [6] 额都, 秀兰, 鲍路明. 用乳腺I号治疗乳腺囊性增生病400例疗效观察 [J]. *内蒙古民族大学学报*, 2005, 20 (6): 704-705.
- [7] Mense SM, Remotti F, Bhan A, et al. Estrogen-I induced breast cancer: alterations in breast morphology and oxidative stress as a function of estrogen exposure [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 232 (1): 78-85.
- [8] Jensen JD, Knoop A, Ewertz M, et al. ER, HER2, and TOP2A expression in primary tumor, synchronous axillary nodes, and asynchronous metastases in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 132 (2): 511-521.
- [9] Boucher BA, Cotterchio M, Curca IA, et al. Intake of phytoestrogen foods and supplements among women recently diagnosed with breast cancer in Ontario, Canada [J]. *Nutr Cancer*, 2012, 64 (5): 695-703.
- [10] Adedayo A, Onitilo MD. Breast cancer subtypes based on ER/PR and her2 expression: comparison of clinicopathologic