

- stage of differentiation and the estrogen receptor isoform [J]. *Cell Biochem*, 2001, 83(3): 448-462.
- [13] LIHUAN C, RONGFA B, JENNIFER I, et al. Estrogen receptor beta modulates synthesis of bone matrix proteins in human osteoblast-like MG63 cells [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 89(1): 152-164.
- [14] WANG Y, LI L Z, ZHANG Y L, et al. LC, a novel estrone-rhein hybrid compound, concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) and interleukin-6 production by human osteoblastic cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 337(1/2): 43-51.
- [15] BOUUCCHI E, BALLANTI P. Osteoporosis-bone remodeling and animal models [J]. *Toxicol Pathol*, 2014, 42(6): 957-969.
- [16] LEBLANC E S, NIELSON C M, MARSHALL L M, et al. The effects of serum testosterone, estradiol, and sex hormone binding globulin levels on fracture risk in older men [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(9): 3337-3346.
- [17] OHLSSON C, VANDENPUT L. The role of estrogens for male bone health [J]. *Eur J Endocrinol*, 2009, 160(6): 883-889.
- [18] LACEY D L, TIMMS E, TAN H L, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation [J]. *Cell*, 1998, 93(2): 165-176.
- [19] THEILL L E, BOYLE W J, PENNIGER J M. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002(20): 795-823.
- [20] CHEN Y H, REN X B, ZHU F Y, et al. Effects of Yunnan Baiyao on RANK/RANKL/OPG system in porphyromonas gingivalis induced bone destruction [J]. *Chongqing Med(重庆医学)*, 2014, 43(21): 2739-2742.

收稿日期: 2015-01-05

散结止痛凝胶膏对乳腺增生模型大鼠的影响

楼炜¹, 周洁^{2,3}, 岳素荣^{2,3}, 王晓红⁴, 李伟³, 沈腾^{2*}, 王建新² (1.浙江中医药大学附属第三医院, 杭州 310005; 2.复旦大学药学院, 上海 201203; 3.山东中医药大学药学院, 济南 250355; 4.上海复旦复华药业有限公司, 上海 201111)

摘要: 目的 研究散结止痛凝胶膏对乳腺增生模型大鼠的治疗作用, 并探讨其作用机制。方法 采用肌注苯甲酸雌二醇及黄体酮建立大鼠乳腺增生模型, 造模成功后, 给药 30 d, 观察大鼠乳头形态变化, 用放射免疫法测定大鼠血清性激素水平, 并取乳腺组织做病理切片, 观察组织病理学改变。结果 散结止痛凝胶膏能明显减小乳腺增生模型大鼠乳头高度, 显著降低血清雌二醇水平, 升高孕酮水平。病理组织学检查结果提示凝胶膏可显著减少乳腺增生小叶和腺泡的数量, 改善导管上皮增生程度, 抑制腺腔和导管腔分泌现象。结论 散结止痛凝胶膏对大鼠乳腺增生有良好的治疗作用, 能够有效调整大鼠体内性激素水平。

关键词: 散结止痛凝胶膏; 乳腺增生; 雌二醇; 孕酮

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)06-0656-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.06.003

Therapeutic Experiment of Sanjiezhitong Cataplast on Hyperplasia of Mammary Glands in Rats

LOU Wei¹, ZHOU Jie^{2,3}, YUE Surong^{2,3}, WANG Xiaohong⁴, LI Wei³, SHEN Teng^{2*}, WANG Jianxin² (1. The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China; 2. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; 3. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 4. Shanghai Fudan Forward Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201111, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the therapeutic effect of Sanjiezhitong cataplast on hyperplasia of mammary glands in rats, and to explore its mechanism. **METHODS** The model of mammary hyperplasia was established with i.m. injection of estradiol benzoate and progesterone per day, and the administration time was 30 d. The morphologic changes of nipple were recorded, the levels of serum sex hormone were determined by radio immunoassay and the morphologic change of pathological tissue of mammary gland were observed. **RESULTS** Sanjiezhitong cataplast could remarkably reduce the nipple height and efficiently decrease the level of estradiol and increase the level of progesterone. Histopathology examination showed that Sanjiezhitong cataplast could decrease the number of alveolus in lobules of mammary gland, improve the degree of vessel epithelial proliferation, inhibit the secretion of alveolus and lactiferous ducts. **CONCLUSION** Sanjiezhitong cataplast have

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项(2009ZX09310-006); 上海市科学技术委员会科研计划项目(07DZ19713)

作者简介: 楼炜, 男, 副主任药师 Tel: (0571)88393509 E-mail: louyf112@163.com 共同第一作者: 周洁, 女, 研究生 Tel: (021)51980082 E-mail: zzzjjzj@126.com *通信作者: 沈腾, 男, 博士, 副教授 Tel: (021)51980081 E-mail: shenteng@fudan.edu.cn

the good therapeutic effect on hyperplasia of mammary glands in rats and can improve the level of sex hormone efficiently.

KEY WORDS: Sanjiezhitong cataplasm; hyperplasia of mammary glands; estradiol; progesterone

散结止痛膏(收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第 14 册)是由重楼、白花蛇舌草、夏枯草、生川乌、生天南星、冰片等中药组成的复方制剂,具有软坚散结、消肿止痛的功效,临床上用于乳腺增生症和乳痛症的治疗^[1]。笔者研制的散结止痛凝胶膏克服原贴膏存在的载药量低、容易造成皮肤刺激和过敏、药效维持时间短等不足,具有载药量大、透皮效果好、对皮肤生物相容性佳、耐汗、可反复揭贴和无刺激等优点^[2-3]。本实验主要研究散结止痛凝胶膏对实验性大鼠乳腺增生模型的治疗作用,并初步探索其作用机制,为进一步产品研制提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 动物

SD 大鼠,♀,清洁级,健康未孕,体质量为(200±20)g(上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号:2007000510959)。实验期间动物饲养于复旦大学药学院实验动物中心,温度维持在(25±1)℃,相对湿度维持在 50%~70%,标准饲料喂养,自由饮水与摄食。

1.2 药品

散结止痛凝胶膏(复旦大学药学院药剂学教研室,批号:20100910);空白凝胶膏(复旦大学药学院药剂学教研室,批号:20100911);苯甲酸雌二醇注射液(上海通用药业股份有限公司,规格:1 mL:2 mg,批号:090601);黄体酮注射液(上海通用药业股份有限公司,规格:1 mL:20 mg,批号:090715);散结止痛膏(广州白云山药业制药股份有限公司白云山何济公制药厂,批号:N1005);孕酮和雌二醇放射免疫分析药盒(天津新湾生物科技有限公司,批号:20100501)。

1.3 仪器

H1650 型高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);CKX41 型生物显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司];RM2235 型石蜡切片机[徕卡显微系统(上海)有限公司];SN-682 型放射免疫 γ 计数器(中国科学院上海应用物理研究所日环仪器厂)。

2 方法

2.1 大鼠乳腺增生模型的制备

选取未孕 SD 大鼠 72 只,其中正常对照组 12

只,另外 60 只大鼠进行造模,参考文献常用方法^[4-5]。每只大鼠于后肢外侧肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 25 d,随后肌注黄体酮注射液 4 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续 5 d。正常对照组大鼠每只肌注等体积生理盐水,连续 30 d。造模完成后,成模大鼠与正常组比较,观察其乳头明显红肿、增大,并有乳晕出现。

2.2 大鼠分组及给药

除正常对照组外,将 60 只成模大鼠随机分为模型组,阳性组(散结止痛膏组),散结止痛凝胶膏低、中、高剂量组,每组 12 只。各组大鼠选取第 2 对乳房处去毛,用游标卡尺测量乳头高度,计为治疗前的乳头高度。正常对照组和模型组正常饲养,贴敷不含药的空白凝胶膏;阳性组贴敷散结止痛膏(1 cm²);散结止痛凝胶膏低、中、高剂量组分别贴敷 0.5, 1, 2 cm²凝胶膏。以上各组均贴敷于第 2 对乳房左侧乳头位置,用 3M 胶带固定,贴敷 24 h 后换药,连续 30 d。

2.3 观察指标

末次给药 24 h 后,用游标卡尺测量各组大鼠第 2 对乳头的高度,计为治疗后的乳头高度。大鼠腹主动脉取血,分离血清,用放射免疫法测定血清中雌二醇、孕酮浓度;并取第 2 对乳腺用 10%福尔马林固定,进行石蜡包埋切片,常规 HE 染色后在光镜下进行病理组织学观察。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 12.0 统计软件对实验数据进行统计处理,定量实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用方差分析,用药前后统计分析采用配对 *t* 检验。

3 结果

3.1 散结止痛凝胶膏对乳腺增生大鼠乳头高度的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠的乳头高度显著增加($P<0.01$),并且观察有红肿和乳晕扩大现象。当给予药物连续治疗 30 d 后,与模型组比较,各治疗组均有明显减轻乳头红肿现象,乳头高度显著降低($P<0.05$)。其中散结止痛凝胶膏高剂量组降低乳头高度显著优于阳性组($P<0.05$),凝胶膏低、中、高 3 个剂量组间比较差异无统计学意义。结果见表 1。

表 1 各组大鼠乳头高度的比较($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparisons of the height of nipples in the rats of groups respectively($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	mm	
	治疗前	治疗后
正常对照组	1.35±0.23	1.40±0.21
模型组	2.16±0.30 ¹⁾	2.33±0.22 ¹⁾
阳性组	2.28±0.23	1.98±0.19 ²⁾
散结止痛凝胶膏低剂量组	2.24±0.37	1.90±0.15 ²⁾
散结止痛凝胶膏中剂量组	2.35±0.36	1.91±0.21 ²⁾
散结止痛凝胶膏高剂量组	2.39±0.37	1.87±0.28 ²⁾³⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$;与阳性组比较,³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with positive group, ³⁾ $P<0.05$.

3.2 散结止痛凝胶膏对乳腺增生大鼠性激素水平的影响

与正常对照组相比,模型组大鼠血清雌二醇水平显著增加($P<0.01$),孕酮水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,各治疗组均能显著降低乳腺增生大鼠的血清雌二醇水平($P<0.01$),显著升高血清孕酮水平($P<0.01$);其中散结止痛凝胶膏高剂量组改善雌二醇和孕酮水平显著优于阳性组($P<0.05$)。结果见表 2。

3.3 散结止痛凝胶膏对乳腺增生大鼠乳腺病理组织形态学的影响

在 100 倍的显微镜视野下,各组大鼠的乳腺

病理组织形态见图 1,各观察指标的定量比较见表 3。正常对照组乳腺小叶数量较少,小叶中腺泡数 3~4 个,腺泡腔和导管腔无扩张现象,导管上皮细胞排列规则。模型组乳腺小叶数量明显增多,小叶平均腺泡数多达 30~40 个,腺腔扩大并且出现大量分泌物,乳腺导管上皮细胞增生明显,导管腔扩张并有分泌物。与模型组相比,各治疗组的小叶数及其腺泡数、腺腔内分泌物显著减小($P<0.05$ 或 0.01);凝胶膏大剂量组改善病理组织形态显著优于阳性组和凝胶膏小剂量组($P<0.05$)。

表 2 各组大鼠血清性激素水平比较($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparisons of the levels of serum sex hormone in the rats of groups respectively($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	pg·mL ⁻¹	
	雌二醇	孕酮
正常对照组	3.28±1.87	38.93±12.18
模型组	16.55±7.69 ¹⁾	4.18±2.90 ¹⁾
阳性组	5.25±2.38 ²⁾	9.12±3.16 ²⁾
散结止痛凝胶膏低剂量组	5.90±1.96 ²⁾	10.07±2.66 ²⁾
散结止痛凝胶膏中剂量组	5.17±1.58 ²⁾	12.49±3.58 ²⁾³⁾
散结止痛凝胶膏高剂量组	4.35±1.57 ²⁾³⁾	14.20±4.10 ²⁾³⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.01$;与阳性组比较,³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$; compared with positive group, ³⁾ $P<0.05$.

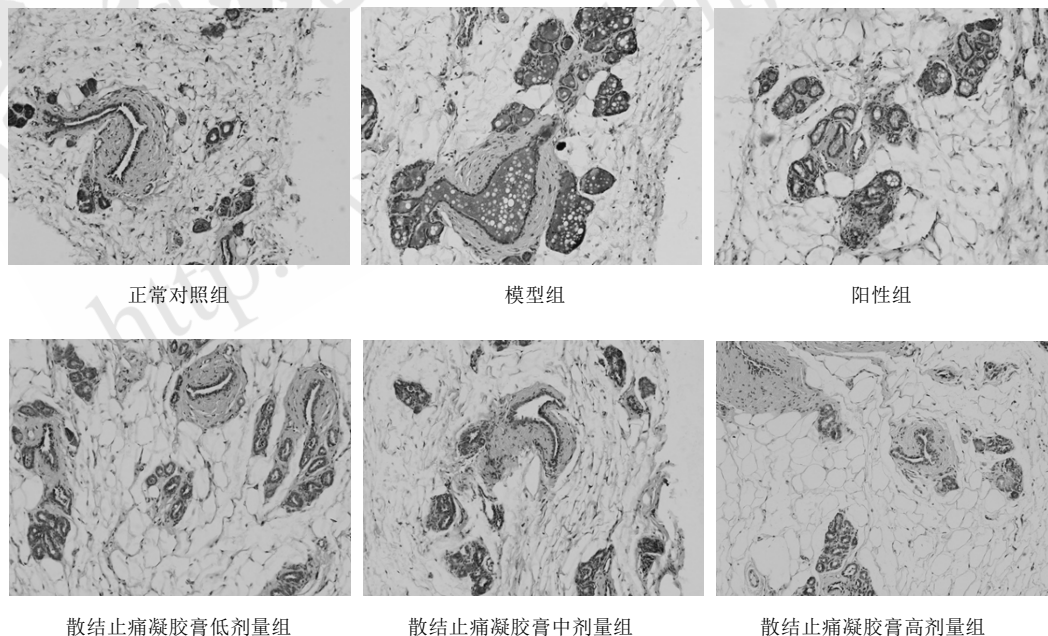


图 1 各组大鼠乳腺病理组织显微图(100×)

Fig. 1 Breast tissue pathological picture of rats(100×)

表3 各组大鼠乳腺病理组织形态学定量比较($n=12, \bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Comparisons of the morphology of pathological tissue in the rats of groups respectively($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	小叶数/ 个·视野 ⁻¹	腺泡数量/ 个·小叶 ⁻¹	腺腔分泌物 (平均积分)	导管数/ 个·视野 ⁻¹
正常对照组	4.12±1.39	4.15±0.88	0.65±0.033	2.17±0.29
模型组	8.52±2.81 ¹⁾	34.52±3.52 ¹⁾	9.00±0.46 ¹⁾	8.24±0.72 ¹⁾
阳性组	5.74±1.64 ²⁾	10.32±0.93 ³⁾	3.18±0.11 ³⁾	5.30±0.32 ²⁾
凝胶膏低剂量组	5.32±1.48 ³⁾	9.25±1.66 ³⁾	3.01±0.20 ³⁾	4.85±0.56 ²⁾
凝胶膏中剂量组	5.08±1.50 ³⁾	8.84±1.52 ³⁾	3.02±0.17 ³⁾	4.58±0.3 ²⁾⁴⁾
凝胶膏高剂量组	4.65±1.43 ³⁾⁴⁾	6.35±1.65 ³⁾⁴⁾	2.18±0.12 ³⁾⁴⁾	3.94±0.3 ²⁾⁴⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; 与阳性组比较, ⁴⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$; compared with positive group, ⁴⁾ $P<0.05$ 。

4 讨论

乳腺增生病属于中医“乳癖”范畴, 是一种与内分泌功能紊乱有关的慢性乳腺良性增生性疾病, 以乳房周期性疼痛、乳房肿块为临床特点^[6]。现代医学多采用激素及受体阻断剂治疗, 但不良反应大且易复发。中医外治法治疗该病具有独特的优势, 将药物直接施于乳房体表处而渗透至乳腺小叶周围, 发挥良好的治疗作用^[7]。散结止痛膏是由重楼、白花蛇舌草、夏枯草、川乌、冰片等中药组成的复方制剂, 方中重楼、白花蛇舌草清热解毒、消肿止痛散瘀, 且入肝胃二经, 直达乳房病所; 夏枯草可通经入里、散结止痛; 冰片辛散走窜、消肿止痛。诸药合用, 外敷于病变部位, 可使药物直达病所, 具有软坚散结、活络祛瘀、消肿止痛之功效。散结止痛凝胶膏是采用水溶性凝胶辅料将原贴膏剂改剂型而得, 具有载药量大、对皮肤生物相容性好、耐汗、重复揭贴性好、无刺激等优点^[8]。本实验进一步证明散结止痛凝胶膏对大鼠乳腺增生病的治疗效果。

乳腺增生病源于周期性的性激素分泌失调以及乳腺组织对激素刺激的敏感性增高, 当雌激素绝对或相对升高, 孕激素分泌相对或绝对不足, 使乳腺组织不断处于雌激素的刺激之中, 使其增殖过度、复旧不全, 导致乳腺增生^[9-10]。本实验采用肌注外源性苯甲酸雌二醇及黄体酮的方法复制

大鼠乳腺增生病模型。对各组大鼠血清性激素的测定结果表明, 散结止痛凝胶膏低、中、高剂量组均能不同程度地降低血清雌二醇水平, 升高孕酮水平, 改善雌孕激素比例失衡的状态。同时, 还可明显降低乳腺增生症模型大鼠乳头高度, 降低增生小叶数及其平均腺泡数量和面积, 改善导管增生情况, 整体上修复乳腺组织的增生性病理损害。其中散结止痛凝胶膏高剂量组的治疗效果优于阳性组, 部分优于凝胶膏低、中剂量组。

REFERENCES

- [1] SHEN T, WANG L M, NURLAJIANG PARHERTIN, et al. Optimization of the extraction of Sanjiezhong cataplasm by orthogonal experiment and multi-index comprehensive probabilistic analysis method [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2011, 42(4): 282-285.
- [2] DONG L, XU X M, YU J N. Summarize ontraditional Chinese medicine cataplasm research [J]. China Pharm(中国药师), 2011, 14(1): 129-131.
- [3] LIU C M, BAI J, DU S Y, et al. Study on transdermal behavior of Zhitong cataplasm [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2013, 38(16): 2609-2613.
- [4] ZHANG Q Q, LIU P, YU S M, et al. Effect of Xianghuahuru gels on mammary hyperplasia rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(6): 647-650.
- [5] DUAN H G, WEI Y H, LI B X, et al. Therapeutic effect of different extract of Shuru Xiaokuai decoction on hyperplasia of mammary glands in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(10): 1058-1062.
- [6] CHANG X J, ZHOU J, ZHANG S, et al. Effects of Guizhi Fuling capsule on sex hormone levels and breast issue morphology of mammary gland hyperplasia model rats [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39(21): 4139-4142.
- [7] GU L Y, YI J L, FAN Y H, et al. Research progress of traditional Chinese medicine therapy in treatment of hyperplasia of mammary gland [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2014, 16(1): 173-176.
- [8] ZHANG H Q, WANG J X, HAO H J, et al. Optimization of transdermal enhancers for *Panax notoginseng* saponins cataplasm [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2013, 35(6): 1180-1183.
- [9] LI H, LI X T, NING P, et al. A study of risk factors for mammary gland among women [J]. China J Prev Contr Chron Dis(中国慢性病预防与控制), 2010, 18(1): 17-19.
- [10] WANG C, MIAO S Y. Experimental study on effect of Ruluotong capsules on mammary gland hyperplasia rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2014, 30(2): 128-131.

收稿日期: 2014-12-30