

乳腺增生病中医证型与血管生成关系的临床观察

宋爱莉¹ 孙贻安¹ 杨毅¹ 叶林¹ 李静蔚² 刘晓菲²

摘要 目的 研究乳腺增生病不同中医证型与血管生成的关系,探讨乳腺增生病证型诊断的客观标准。
方法 140 例乳腺增生病患者,按中医辨证类型分为 3 组,活检后观察病理分型、分级及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、微血管密度(microvascular density, MVD)的表达情况。结果 140 例乳腺增生病患者中,不同中医证型的病理分级及 VEGF、bFGF、MVD 表达差异有显著性($P < 0.05$);痰瘀互结型与肝郁气滞型、冲任失调型比较,非典型增生所占比例高, MVD 计数多, VEGF 与 bFGF 表达程度高($P < 0.05$)。结论 乳腺增生病中医证型与血管活性及增生程度有相关性,病理特征及 VEGF、bFGF、MVD 表达可作为乳腺增生病中医证型研究、疗效判定的客观化指标。

关键词 乳腺增生病;中医证型;碱性成纤维细胞生长因子;血管内皮生长因子;微血管密度

Clinical Research on Relationship between Angiogenesis and TCM Syndrome Type of Cyclomastopathy SONG Ai-li, SUN Yi-an, YANG Yi, et al *Department of Mastopathic Surgery, Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250011)*

Abstract Objective To study the relationship between angiogenesis and TCM Syndrome type of cyclomastopathy (CMP) to investigate the objective standardization of TCM Syndrome diagnosis of the disease.

Methods One hundred and forty patients with CMP were divided into three groups according to TCM syndrome typing. The pathological type, grade and expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) and microvascular density (MVD) in mammary biopsy were observed.

Results The expressions of VEGF, bFGF and MVD was different in CMP patients of different TCM types and pathological grades ($P < 0.05$). The proportion of atypical proliferation, the count of MVD and the expression of VEGF and bFGF were higher in patients of phlegm and stasis type than those in Gan stagnation caused Qi-stagnation type and Chong and Ren meridians disorder type. **Conclusion** TCM Syndrome type of CMP patients is related with vascular activity and grade of angiogenesis. The pathological characteristics of mammary tissue and expression of VEGF, bFGF and MVD can be regarded as the objective indexes of TCM typing and clinical efficacy evaluation for CMP.

Key words cyclomastopathy; TCM Syndrome typing; vascular endothelial growth factor; basic fibroblast growth factor; microvascular density

乳腺增生病属中医学“乳癖”范畴,在中医药治疗中,加强证型研究客观标准化,对促进治疗规范化,具有重要的意义。本研究采用 HE 染色、免疫组化方法检测乳腺增生病病变组织的病理分型、分级及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、微血管密度(microvascular density,

MVD)的表达情况,探讨中医证型与血管生成的关系,为中医辨证提供客观化指标,并为中医药辨证治疗乳腺增生病、阻断并逆转其癌变提供理论依据。

资料与方法

1 临床资料 病例来源于 2001 年 3 月—2003 年 3 月山东中医药大学附属医院乳腺科门诊患者,乳腺均可触及明显肿块,随机抽取 140 例,进行中医辨证分型。乳腺增生病诊断标准和中医证型标准参照中华中医外科学会乳腺病专业委员会第八次会议标准^[1]。140 例患者中,肝郁气滞型 21 例(15.0%);痰瘀互结型 85 例(60.7%);冲任失调型 34 例(24.3%)。

基金项目:山东省自然科学基金资助(No. y98C02031)

作者单位:1. 山东中医药大学附属医院乳腺外科(济南 250011);

2. 山东中医药大学

通讯作者:宋爱莉, Tel: 0531-2950414 转 6453, Fax: 0531-

2602948, E-mail: songai218@sohu.com

2 方法 距离肿块边缘约 1 cm 处,局麻后做长约 0.3 cm 切口,在 X 线立体定位下空芯针穿刺肿块部位,取病变组织活检;或腋前线位置局麻后取长约 0.5 cm 切口,在 B 超引导下 mammotome 微创旋切活检,沿不同方向取病变组织≥3 条,福尔马林固定。石蜡包埋,常规做 HE 染色。免疫组化切片厚 4 μm,常规脱蜡、消化、封闭。严格按 SABC 试剂盒说明操作,分别用兔抗人 VEGF、bFGF、Ⅷ-RAg 多克隆抗体(工作浓度 1:100)进行染色。用 PBS 液代替一抗作阴性对照。兔抗人 VEGF、bFGF、多克隆抗体、即用型 SABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供,兔抗Ⅷ-RAg 多克隆抗体由北京中山生物技术公司提供。

2.1 测定指标及方法

2.1.1 MVD 测定 凡染成棕色与周围组织明显分开的内皮细胞或内皮细胞簇均可视为单个微血管。先在低倍镜下观察整张切片的微血管分布情况,选择最密集的 4 个区域,在 200 倍显微镜下计数微血管数,取平均值作为 MVD 结果。

2.1.2 VEGF、bFGF 测定 采用免疫组织化学法。阳性产物为棕黄色颗粒,分布于胞浆、胞膜或胞核。(-)细胞无着色(+):细胞轻度着色染成淡黄色,阳性细胞数<20%(+ +)细胞着色成黄色,阳性细胞数 20%~50%(+ + +)细胞明显着色,呈棕黄色,阳性细胞数>50%。

3 统计学方法 采用 SAS 8.0 版统计软件进行统计。计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用方差分析及 *q* 检验。

结 果

1 乳腺增生病中医证型及病理类型分布 见表 1。乳腺增生病理诊断标准参照《乳腺癌临床病理学》^[2]中的标准。乳腺增生病患者组织病理一般增生为主,共计 92 例(65.7%);非典型增生共 48 例(34.3%),其中Ⅱ、Ⅲ级非典型增生 24 例(17.1%)。乳腺增生病 3 种中医证型均以一般增生为主,其中以肝郁气滞型所占比例最高(100%)。非典型增生在各证型中所占比例,以痰瘀互结型最高(48.2%)、冲任

失调型居中(20.6%),肝郁气滞型为 0;而 24 例Ⅱ、Ⅲ级非典型增生也主要分布于痰瘀互结型(21 例, 87.5%)。

2 乳腺增生病 MVD、VEGF、bFGF 与中医证型的关系 见表 2。肝郁气滞型、冲任失调型 MVD 与痰瘀互结型比较差异均有显著性(*P*<0.05),肝郁气滞型与冲任失调型间比较差异无显著性(*P*>0.05),提示痰瘀互结型较其他证型乳腺增生病血管生成明显。VEGF、bFGF 表达痰瘀互结型与肝郁气滞型、冲任失调型比较差异均有显著性(*P*<0.05),肝郁气滞型与冲任失调型比较差异无显著性(*P*>0.05)。

表 2 乳腺增生病中医证型与 MVD、VEGF、bFGF 表达间的关系

证型	MVI(支 $\bar{x} \pm s$)	VEGF(例)				bFGF(例)			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
肝郁气滞	11.4397±5.6258*	20*	1*	0*	0*	20*	1*	0*	0*
痰瘀互结	19.2964±10.5475	49	11	19	6	47	13	18	7
冲任失调	14.4630±7.1289*	25*	9*	0*	0*	24*	10*	0*	0*

注:与痰瘀互结型比较,**P*<0.05

讨 论

中医学认为乳腺增生病的发生与肝、肾和冲任等脏腑经络功能密切相关。肝主疏泄,肝气宜舒畅而条达,宜升发而疏散。情志不畅,郁久伤肝,致气机郁滞,蕴结于胃络乳房,经脉阻塞不通,故乳房疼痛;肝气郁久化热,灼津为痰;肝郁气血周流失度,气滞痰凝血瘀结聚成块,结滞乳中而成乳癖。故临床辨证论治一般分为肝郁气滞型、痰瘀互结型、冲任失调型 3 种类型。

本研究发现,乳腺增生病中医证型的病理分型的构成比存在差异,病理分级的构成比也存在差异,3 种证型均以一般增生为主,但痰瘀互结型的非典型增生所占比重高于其他两型,且Ⅱ、Ⅲ级非典型增生也主要分布于痰瘀互结型;肝郁气滞型与冲任失调型的病理分级构成比不存在显著性差异。说明其病理分型、分级与中医证型有一定的关系。

血管生成(angiogenesis)是指毛细血管从已存在的血管周围生成的过程,是生长因子和抑制因子相互作用的结果。正常机体内,血管生长与抑制相对平衡,而在肿瘤的发生发展中,血管生成发挥着重要的作用^[3]。目前已有多种血管生成调节因子被分离纯化,其中血管内皮生长因子 VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子 bFGF 促血管生成作用最强、特异性最高。VEGF 与 bFGF 在促血管新生过程中有着良好的协同作用,共同发挥多种生物效应,促进血管内皮细胞增殖,促进肿瘤血管新生,增加血液供应,加速肿瘤生长和转移。

表 1 乳腺增生病中医证型与病理类型分布关系 (例)

证型	例数	一般增生				非典型增生		
		小叶增生	囊性增生	腺病	纤维硬化病	I	II	III
肝郁气滞	21	16	1	2	2	0*	0*	0*
痰瘀互结	85	3	16	18	7	20	13	8
冲任失调	34	9	5	9	4	4*	2*	1*
合计	140	28	22	29	13	24	15	9

注:与痰瘀互结型比较,**P*<0.05

本研究发现,乳腺增生病中医不同证型的 MVD 构成比差异有显著性($P < 0.05$)。其中,痰瘀互结型的 MVD 计数最多,与肝郁气滞型、冲任失调型比较均存在显著性差异,提示本证型病变组织具有较强的血管活性;虽然冲任失调型 MVD 量较肝郁气滞型为多,但差异无显著性。说明乳腺增生病病变组织的微血管密度与中医证型有关系,其数量随病机演进而呈增多趋势。

研究发现,VEGF、bFGF 阳性表达主要分布于痰瘀互结型,其次为冲任失调型,肝郁气滞型表达最少。乳腺增生病中医证型的 VEGF、bFGF 表达的构成比存在差异($P < 0.05$),其中痰瘀互结型与肝郁气滞型、冲任失调型比较差异有显著性,肝郁气滞型与冲任失调型比较差异无显著性。提示增生组织 VEGF、bFGF 蛋白表达与中医证型存在一定关系。

综上所述,乳腺增生病组织病理中,非典型增生多为痰瘀互结型,而 MVD 计数高、VEGF、bFGF 表达明显者多集中于痰瘀互结型,因此病理分级结合血管生

成情况可作为乳腺增生病中医证型研究的客观化指标之一,并可作为中医药治疗疗效评价指标,为从血管生成角度探讨中医药阻断、逆转乳腺增生病癌变过程提供理论依据。同时,乳腺增生病中痰瘀互结型非典型增生所占比例高,提示该证型患者发生恶变机率高,应提高重视加强随访治疗,预防其癌变。

参 考 文 献

- 1 林毅,唐汉钧.现代中医乳房病学.北京:人民卫生出版社,2003:101—108.
Lin Y, Tang HJ. Breast disease of modern TCM. Beijing: People's Medical Publishing House 2003:101—108.
- 2 阚秀.乳腺癌临床病理学.北京:北京医科大学北京协和医科大学联合出版社,1993:166—175.
Kan X. Clinical pathology of breast cancer. Beijing: Peking Union Medical College and Beijing Medical University Press, 1993:166—175.
- 3 Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst 1990 82(1):4—6.

(收稿 2004-09-10 修回 2005-02-25)

绝经后骨质疏松症与血瘀

眭承志¹ 刘志坤² 陈少玫¹ 王彦伟² 程火生¹

摘要 目的 探讨血瘀是否为绝经后骨质疏松症的主要病机之一。方法 对 60 例绝经后骨质疏松症患者进行血瘀临床表现综合评分和血管内皮功能、血小板活化功能等检测,并与 30 名健康妇女进行对照研究。结果 绝经后骨质疏松症患者的血瘀临床表现综合评分,血管内皮功能、血小板活化功能等分子生物学指标与健康妇女比较,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 绝经后骨质疏松症存在着血瘀分子生物学等客观性病理变化,血瘀为绝经后骨质疏松症的主要病机之一。

关键词 绝经后骨质疏松症 血瘀 血管内皮功能 血小板活化功能

Postmenopausal Osteoporosis and Blood Stasis SUI Cheng-zhi, LIU Zhi-kun, CHEN Shao-mei, et al Xiamen Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fujian (361001)

Abstract Objective To investigate whether blood stasis is one of the main causes in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. **Methods** The clinical manifestation of blood stasis syndrome were comprehensively scored in sixty postmenopausal osteoporosis patients, their vascular endothelial function and platelet activating capacity were also detected, and compared with those in 30 healthy women as control. **Results** The molecular indexes as vascular endothelial function and platelet activating capacity, as well as comprehensive scores of clinical manifestation of blood stasis syndrome in postmenopausal osteoporosis patients were significantly different to those of healthy women ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** There is objective molecular pathologic change of blood stasis syndrome in postmenopausal osteoporosis. Blood stasis plays an important role in pathogenesis of postmenopausal osteoporosis.

作者单位:1. 福建省厦门市中医院(福建 361001) 2. 福建中医学院

通信作者 眭承志 Tel 0592-8916689 E-mail suichengzhi@163.net

万方数据