

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20131122

肋间神经切断对大鼠乳腺增生的影响

李 祥¹, 冯 程², 郭 涛², 禹正杨²

(南华大学附属第一医院 1. 麻醉科; 2. 肿瘤外科, 衡阳 430122)

【摘要】目的:观察切断右侧第 7、8 肋间神经对大鼠乳腺增生(hyperplasia of mammary gland, HMG)的影响。**方法:**将 60 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、肋间神经切断组和卵巢切除组共 4 组。使用苯甲酸雌二醇联合黄体酮注射液肌注的方法建立大鼠 HMG 模型。术后 2、4、6 周测量各组大鼠乳头直径、高度及乳腺组织形态变化及 Ki-67 的表达, 乳腺组织雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progestogen receptor, PR)的 mRNA 表达水平和蛋白表达及增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的蛋白表达。**结果:**手术后 2、4、6 周, 各时间点肋间神经切断组大鼠右侧第 3 个乳头直径、高度均低于模型组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。手术后各时间点乳腺组织病理改变比较, 肋间神经切断组乳腺导管上皮细胞层数、小叶腺泡数减少程度, 腺泡腔、导管扩张减轻程度均低于模型组, 差异有统计学差异($P<0.05$)。免疫组化检测发现 Ki-67 各组表达均为阴性。PCR 显示肋间神经切断组乳腺组织的 ER、PR 的 mRNA 表达均低于模型组($P<0.05$)。Western blot 结果显示肋间神经切断组乳腺组织的 ER、PR 和 PCNA 蛋白表达均低于模型组($P<0.05$)。**结论:**切断肋间神经减轻大鼠 HMG 的乳腺组织病理改变, 减少乳腺组织中 ER 和 PR 的 mRNA 和蛋白表达水平, 降低 PCNA 的蛋白表达水平。

【关键词】乳腺增生; 肋间神经; 雌激素受体; 孕激素受体; 良性乳腺疾病; Ki-67 抗原; 增殖细胞核抗原

【中国图书分类法分类号】R-332

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-07-08

Effects of intercostal nerve transection on hyperplasia of mammary glands in rats

LI Xiang¹, FENG Cheng², GUO Tao², YU Zhengyang²

(1. Department of Anesthesiology; 2. Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital, University of South China)

【Abstract】Objective: To study the effects of cutting off the seventh and the eighth intercostal nerve in the right side on hyperplasia of mammary gland(HMG) in SD rats. **Methods:** Totally 60 SD rats were randomly divided into 4 groups: normal group, model group, intercostal nerve transection group and ovariectomized group. Intramuscular injection of estradiol benzoate combinng with progesterone was provided to establish a rat model HMG. Diameter and height of the third nipple by right side in each group were measured at 2, 4, 6 weeks, respectively. Moreover, morphological changes and Ki-67 expression of the breast tissues were observed. mRNA levels and protein levels of estradiol receptor(ER) and progestogen receptor(PR) in breast tissues were measured by real time PCR and Western blot; protein levels of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) were measured by Western blot respectively. **Results:** Diameter and height of the third nipple at the right side were measured. Diameter and height were lower in intercostal nerve transection group than in model group($P<0.05$). Layers of epithelial cell, numbers of acinus, diameter of acinus and diameter of duct of mammary gland were markedly reduced in intercostal nerve transection group than in model group($P<0.05$). In addition, mRNA and protein levels of ER and PR and the protein levels of PCNA in breast tissues were lower in intercostal nerve transection group than in model group($P<0.05$). **Conclusions:** Intercostal nerve transection could reduce pathological changes of HMG and reduce mRNA and protein expressions of ER and PR as well as protein expressions of PCNA in rat mammary gland.

【Key words】hyperplasia of mammary gland; intercostal nerve; estrogen receptor; progesterone receptor; benign proliferative breast disease; Ki-67 antigen; proliferating cell nuclear antigen

作者介绍: 李 祥, Email: lixiang811106@163.com,

研究方向: 疼痛治疗。

通信作者: 禹正杨, Email: yulinlin@sohu.com。

乳腺增生(hyperplasia of mammary gland, HMG)是一种既非炎症又非肿瘤的乳腺疾病,其发病机制主要是由卵巢内分泌紊乱导致孕酮水平降低而雌激素水平过高,过高的雌激素作用于乳腺的靶点,引起乳腺腺叶组织不断增生而又复旧不全^[1-3],最终出现乳房疼痛及乳房内肿块的产生及其他相应症状^[4]。在研究 HMG 症疼痛的基础上,笔者发现神经纤维不仅传导疼痛信息,还能通过末梢释放某些物质,持续地调整被支配组织的内在代谢活动,影响其持久的结构、生化和生理的变化。大量的研究资料表明神经生长因子通过调控方式,增加雌激素受体(estrogen receptor, ER)表达,导致疼痛和增生。另外,乳腺组织受到肋间神经支配,并且 HMG 组织中有丰富的神经纤维,在治疗 HMG 的方法中复合星状神经节阻滞及乳腺的三明治手术方法起到了一定的治疗作用^[5]。因此,本文假设通过切断某一肋间神经,可以改变乳腺局部的激素受体的表达,进而减轻 HMG 程度,从而达到治疗 HMG 的目的。

1 对象与方法

1.1 实验动物

选取雌性未孕 SD 大鼠(清洁级,由南华大学医学院实验动物中心提供)60 只,鼠龄 3 个月,体质量(200±20)g,造模前常规适应性饲养 5 d。

1.2 动物分组及 HMG 模型的建立

1.2.1 动物分组 将 40 只雌性未孕 SD 大鼠按体质量随机选取 10 只作为 N 组;正常对照组;其他 30 只造模成功后随机分为 3 组:M 组;模型对照组;D 组:肋间神经切断组;O 组:卵巢切除组。

1.2.2 根据参考文献[6]建立大鼠 HMG 模型 N 组:大鼠大腿内侧每天肌注 0.1 ml 生理盐水,连续 30 d;其余 3 组,大鼠大腿内侧每天肌注苯甲酸雌二醇注射液剂量为 0.5 mg/(kg·d),连续 25 d,继而改用肌注黄体酮 4 mg/(kg·d),连续 5 d。

1.3 乳腺外观观察及乳头高度和直径的测定比较

4 组动物分别在手术后 2、4、6 周观察其乳腺外观并用游标卡尺测量乳头的高度和直径。

1.4 实验动物手术处理及标本的采集

1.4.1 实验动物手术处理 按照实验分组,D 组氯胺酮 120 mg/kg 腹腔麻醉后,依次除去第 7、8 胸椎附近毛发(预实验已经定位肋间神经位置),无菌条件下消毒皮肤,切开皮肤,手术显微镜下在肋骨下方,找到肋间血管,肋间神经,切断右侧肋间神经,缝合伤口。术后抗生素治疗 3 d。同一条件下 O 组除去腹部毛发,消毒皮肤,切开皮肤,在盆腔找到双侧卵

巢,结扎卵巢血管后,切除卵巢,彻底止血后,缝合伤口。术后抗生素治疗 3 d。

1.4.2 标本的采集 手术后 2、4、6 周每组中随机抽取 4 只大鼠,脱颈处死动物,经乳头基底部最大切面立即取下大鼠右侧第 3 个完整乳腺组织,保存检测。

1.5 乳腺组织的病理变化及 Ki-67 的测定

每组每只鼠每次切取 1 个乳腺(右侧第 3 个乳腺)。标本用 10%甲醛固定,浸泡于中性缓冲甲醛溶液中,乳腺标本常规石蜡包埋,5 μm 厚度连续切片,分别用于 HE 及 SP 法进行免疫组化染色,设阳性对照,PBS 液作阴性对照。Ki-67 阳性物质位于胞核,为棕黄色颗粒状。每例标本至少观察 10 个高倍视野,Ki-67 阳性细胞数 >5%为阳性表达^[7]。

1.6 PCR 反应检测乳腺组织乳腺组织 ER 和孕激素受体(progestogen receptor, PR)的 mRNA 表达水平

按试剂盒说明书提取组织总 RNA,将总 RNA 逆转录反转录成 cDNA。实时定量 PCR 在应用生物系统 7500 FAST 上进行,依照说明书操作 ABI 7500 fast real-time PCR system,反应条件:95 ℃ 预变性 30 s;95 ℃ 5 s,60 ℃ 34 s,40 个循环后进行溶解曲线程序。采用 ER 引物序列:上游引物 5'-GGAGACATGAGAGCTGCCAA-3',下游引物 5'-CCAGCAACATGTCAAAGATC-3';PR 引物序列:上游引物 5'-CAAGACTGCCCCCTCCCGACCA-3',下游 5'-GGCTGCTGAGATGGC-TTCAC-3'。

1.7 Western blot 检测乳腺组织 ER、PR 和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的蛋白表达水平

提取各组鼠组织蛋白,BCA 蛋白定量试剂盒定量后采用 SDS-PAGE 电泳,转膜,5%脱脂奶粉封闭,洗膜。分别加一抗、二抗孵育,洗膜,化学发光后经显影、定影。凝胶成像系统扫描条带吸光度值,以 β-actin 为内参照。

1.8 统计方法

实验数据录入采用 SPSS 15.0 软件,建立数据库并对其进行分析。计量资料比较用方差分析,其两两比较采用 SNK-q 检验;等级资料采用秩和检验统计分析。检验水准 α=0.05 (双侧)。

2 结果

2.1 4 组动物的乳腺外观观察及乳头高度和直径的测定比较

造模前,各组动物乳头外观、高度、直径没有差异。造模后,大鼠乳头出现充血肿大,乳头高度增高,直径增大,并有部分乳晕出现。造模前各组乳头高度和直径比较,差异没有统计学意义。D 组、O 组、M 组分别与 N 组在干预 2、4、6 周后采用 SNK-q 检验方法进行两两比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。术后 2、4、6 周分别测量大鼠右侧第 3 对乳头直径、高度采用 SNK-q 检验方法进行两两比较,D 组和 O 组均低于 M 组,差异没有统计学意义($P<0.05$)(表 1)。

2.2 乳腺组织的病理变化及 Ki-67 的表达

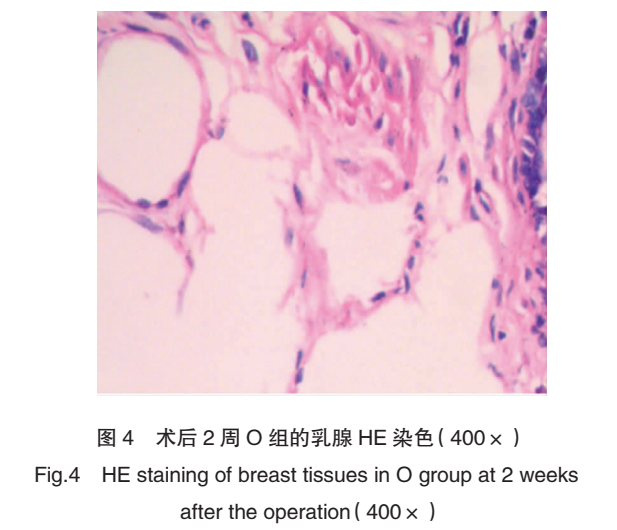
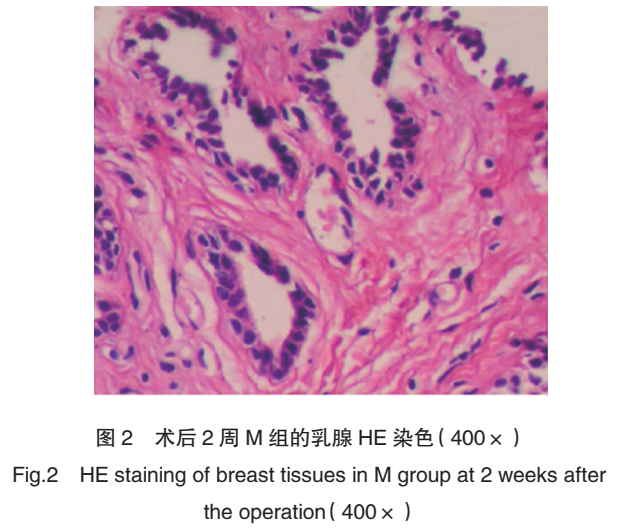
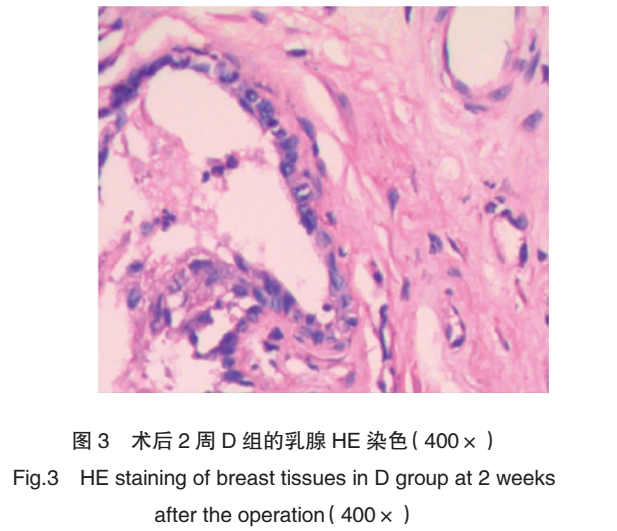
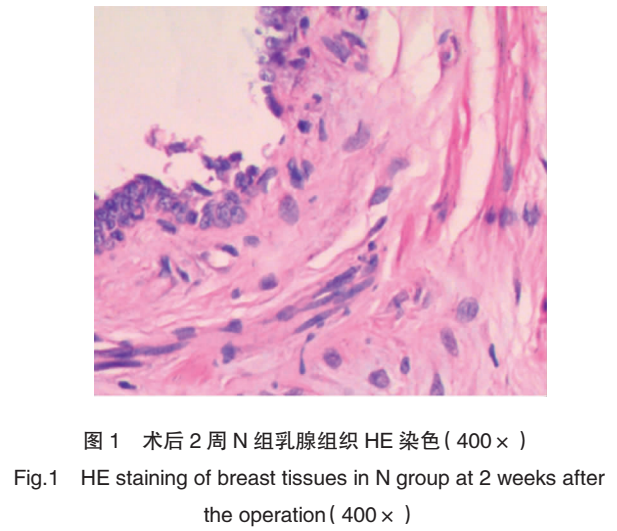
手术后 2 周 N 组乳腺导管上皮细胞排列整齐,腺泡腔、乳腺导管均无扩张,乳腺小叶腺泡数极少(图 1);M 组乳腺导管上皮细胞排列紊乱,可见明显的上皮增生,小叶内腺泡数增加明显,腺泡腔和导管明显扩张,内有脱落的上皮细胞及分泌物(图 2),与 N 组比较差异有统计学意义($P<0.01$);D 组(图 3)和 O 组(图 4)与 M 组比较上述变化有明显改善($P<$

0.05);乳腺导管上皮排列基本趋于规则,小叶腺泡数明显减少,腺泡腔,导管扩张均明显减轻。手术后 4、6 周 D 组的乳腺组织病理无明显变化;术后 4 周,6 周 O 组的乳腺组织病理变化同组内 2 周比较表现为上皮细胞层数,小叶腺泡数,腺泡腔和导管直径均减少($P<0.05$)(表 2)。另外,采用免疫组化分别检测 N 组、D 组、O 组和 M 组分别在相应干预后 2、4、6 周时各乳腺组织中 Ki-67 表达,结果均为阴性。

表 1 手术后 2、4、6 周各组大鼠第 3 对乳头高度和直径比较
Tab.1 Comparison of diameter and height of the third right side nipple at 2,4,6 weeks after the operation

组别	例数 (<i>n</i>)	直径 (mm)			高度 (mm)		
		2周	4周	6周	2周	4周	6周
N 组	3	1.29 ± 0.24	1.29 ± 0.17	1.28 ± 0.18	1.75 ± 0.19	1.75 ± 0.12	1.74 ± 0.18
M 组	3	1.76 ± 0.21	1.74 ± 0.22	1.73 ± 0.19	2.35 ± 0.13	2.33 ± 0.19	2.32 ± 0.11
D 组	3	1.76 ± 0.21	1.74 ± 0.22	1.73 ± 0.19	1.93 ± 0.17 ^a	1.92 ± 0.18 ^a	1.89 ± 0.12 ^a
O 组	3	1.39 ± 0.21 ^a	1.31 ± 0.11 ^{ab}	1.30 ± 0.13 ^{ab}	1.83 ± 0.16 ^a	1.73 ± 0.13 ^{ab}	1.82 ± 0.17 ^{ab}
<i>F</i> 值		3.95	5.25	6.95	10.32	11.51	12.09
<i>P</i> 值		0.039	0.017	0.007	0.002	0.001	<0.001

注:a,与 M 组比较, $P<0.05$;b,与 O 组比较, $P<0.05$



2.3 大鼠乳腺组织 ER 和 PR 的 mRNA 水平表达

手术后 2、4、6 周,各组大鼠乳腺组织 ER、PR 的 mRNA 水平表达比较建立直方图(图 5、6)。采用卡方检验的方法对术后各时间与 N 组比较分析,M 组 ER、PR 均显著增加,M 组与 N 组相比, $P<0.01$;术后各时间 D 组和 O 组与 M 组比较,ER、PR 的 mRNA 表达水平均降低,D 组、O 组与 M 组相比 $P<0.05$ (表 3)。

2.4 大鼠乳腺组织 ER、PR 和 PCNA 的蛋白水平表达

手术后 6 周,各组大鼠乳腺组织 ER 和 PR 的蛋白质水平表达(图 7~9)。采用卡方检验的方法进行比较分析,提示术后 6 周 M 组与 N 组比较,ER、PR 和 PCNA 蛋白质表达水平比较均明显增加($P<0.01$);术后 6 周 D 组和 O 组与 M 组比较 ER、PR 和 PCNA 的蛋白质表达水平降低($P<0.05$) (表 4)。

表 2 手术后 2、4、6 周各组乳腺上皮细胞层数、腺泡数、腺泡直径和导管直径比较

Tab.2 Comparison on layers of epithelial cell, numbers of acinus, diameter of acinus and diameter of duct of mammary gland at 2, 4, 6 weeks after the operation

组别	例数 (n)	上皮细胞层数			腺泡数			腺泡直径			导管直径		
		2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周
N 组	3	4.071±1.27	3.91±1.54	3.97±1.21	3.21±1.25	3.27±1.12	3.35±1.24	3.87±0.27	3.78±0.15	3.56±0.24	6.82±0.45	6.77±0.71	6.71±0.73
M 组	3	9.91±1.16 ^a	9.87±1.23 ^a	9.85±1.27 ^a	21.35±1.55 ^a	20.37±1.24 ^a	208.29±1.15 ^a	19.01±0.38 ^a	19.03±0.27 ^a	18.90±0.31 ^a	18.35±0.25 ^a	18.70±0.21 ^a	18.24±0.35 ^a
D 组	3	4.71±1.31 ^b	4.76±1.35 ^b	4.81±1.27 ^b	6.32±1.21 ^b	6.41±1.37 ^b	6.38±1.45 ^b	7.56±0.21 ^b	7.67±0.17 ^b	7.61±0.21 ^b	7.57±0.13 ^b	7.63±0.24 ^b	7.65±0.34 ^b
O 组	3	4.90±1.24 ^b	4.31±1.17 ^{bc}	4.21±1.34 ^{bc}	6.56±1.15 ^b	6.31±1.45 ^{bc}	6.25±1.32 ^{bc}	7.71±0.32 ^b	7.42±0.24 ^{bc}	7.38±0.17 ^{bc}	7.81±0.23 ^b	7.45±0.17 ^{bc}	7.41±0.25 ^{bc}
F 值		18.05	17.53	18.28	148.00	128.50	23 811.00	1 736.00	3 436.00	2 890.00	1 601.00	9 967.00	656.40
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

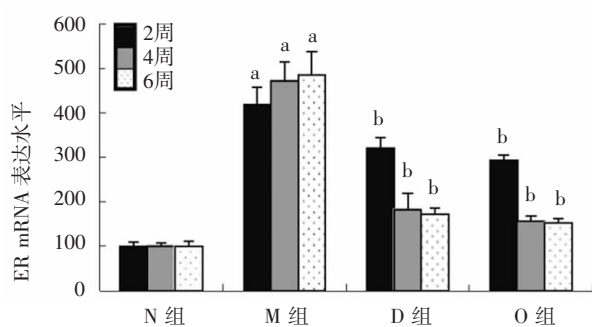
注:a, M 组与 O 组比较, $P<0.01$;b, D 组和 O 组与 M 组比较, $P<0.05$;c, 同组内术后 2 周比较, $P<0.05$

表 3 手术后 2、4、6 周各组乳腺组织 ER 和 PR 的 mRNA 水平表达

Tab.3 mRNA levels of ER and PR in breast tissues in each group at 2, 4, 6 weeks after the operation

组别	例数(n)	ER 的 mRNA 水平表达			PR 的 mRNA 水平表达		
		2 周	4 周	6 周	2 周	4 周	6 周
N 组	3	100.0±9.3	100.0±7.0	100.0±12.1	100.0±12.2	100.0±6.9	100.0±16.1
M 组	3	420.0±38.6 ^a	472.0±42.2 ^a	485.0±52.3 ^a	385.0±28.6 ^a	462.1±51.2 ^a	415.9±56.2 ^a
D 组	3	320.0±25.3 ^b	183.0±35.2 ^b	172.0±15.1 ^b	264.9±29.2 ^b	162.9±22.2 ^b	179.0±24.6 ^b
O 组	3	293.0±12.1 ^b	156.0±11.3 ^{bc}	153.0±10.2 ^{bc}	250.8±9.8 ^b	153.0±23.4 ^{bc}	149.0±15.2 ^b
F 值		96.95	103.92	113.56	85.92	87.16	55.62
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

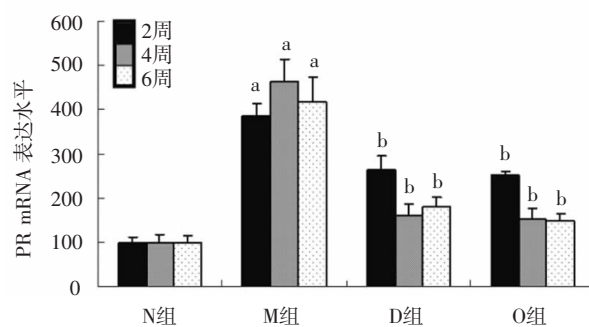
注:a, M 组与 N 组比较, $P<0.01$;b, D 组和 O 组与 M 组比较, $P<0.05$;c, 同组内术后 2 周比较, $P<0.05$;各组间比较统计分析得到的 F 值较大, P 值较小,提示各组间差异较大,有统计学意义



a, 与 N 组比较, $P<0.01$;b, 与 M 组比较, $P<0.05$

图 5 手术后 2、4、6 周各组大鼠乳腺组织的 ER 的 mRNA 水平直方图

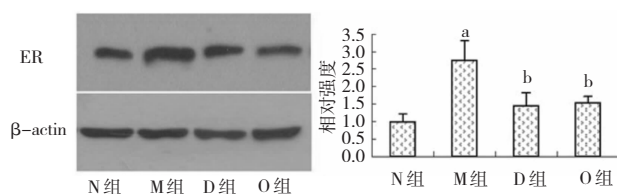
Fig.5 mRNA levels of ER in breast tissues in each group at 2, 4, 6 weeks after the operation



a, 与 N 组比较, $P<0.01$;b, 与 M 组比较, $P<0.05$

图 6 手术后 2、4、6 周各组大鼠乳腺组织的 PR 的 mRNA 水平直方图

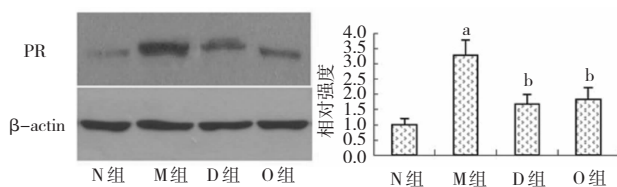
Fig.6 mRNA levels of PR in breast tissue in each group at 2, 4, 6 weeks after the operation



a, 与 N 组比较, $P < 0.01$; b, 与 M 组比较, $P < 0.05$

图 7 手术后 6 周各组大鼠乳腺组织的 ER 的蛋白质表达水平

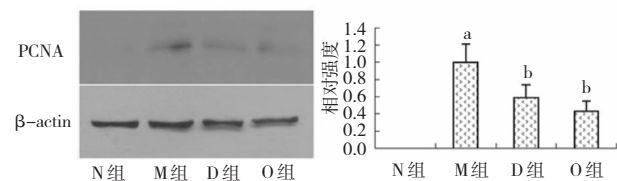
Fig.7 Protein levels of ER in breast tissue in each group at 6 weeks after the operation



a, 与 N 组比较, $P < 0.01$; b, 与 M 组比较, $P < 0.05$

图 8 手术后 6 周各组大鼠乳腺组织的 PR 的蛋白质表达水平

Fig.8 Protein levels of PR in breast tissue in each group at 6 weeks after the operation



a, 与 N 组比较, $P < 0.01$; b, 与 M 组比较, $P < 0.05$

图 9 手术后 6 周各组大鼠乳腺组织的 PCNA 的蛋白质表达水平

Fig.9 Protein levels of PCNA in breast tissue in each group at 6 weeks after the operation

表 4 手术后 6 周各组乳腺组织 ER、PR 和 PCNA 的蛋白水平表达

Tab.4 Protein levels of ER, PR and PCNA in breast tissues in each group at 6 weeks after the operation

组别	例数 (n)	ER	PR	PCNA
N 组	3	108.36 ± 7.46	113.65 ± 8.47	0.00 ± 0.00
M 组	3	297.24 ± 12.92	372.90 ± 12.97	115.37 ± 7.98
D 组	3	153.36 ± 8.19	178.54 ± 9.23	66.91 ± 6.63
O 组	3	164.16 ± 9.03	204.53 ± 10.83	49.61 ± 5.45
F 值		225.60	331.80	198.20
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: M 组与 N 组比较, $P < 0.01$; D 组和 O 组与 M 组比较, $P < 0.05$; 各組间比较统计分析得到的 F 值较大, P 值很小, 提示各組间差异较大, 有统计学意义

3 讨论

HMG 尤其是非典型增生可导致乳腺癌的发生率显著增高。现代普遍认同的主要原因是激素内分泌失调: 雌激素刺激导致乳腺导管广泛增生, 孕激

素刺激使乳腺导管进一步增生和延长, 并促进腺泡和腺小叶的形成^[8-9]。HMG 作为女性的常见病、多发病, 而且是乳腺癌的癌前病变之一, 因此临床上及时有效的治疗 HMG 有重要的意义。

本实验采用对性激素敏感的 SD 大鼠利用外源性激素 (苯甲酸雌二醇联合黄体酮) 刺激建立大鼠 HMG 模型。外源性的雌激素不断刺激, 内源性孕激素相对不足引起乳腺上皮组织及导管增生, 乳腺小叶及腺泡组织发育。按照乳腺外观观察和 HE 染色病理切片证实: 大鼠 HMG 模型建立成功并与人类 HMG 类型相似。预实验采用辣根过氧化物酶法定位大鼠乳腺神经纤维来源的节段分布, 明确支配大鼠第 3 对乳腺的第 7、8 肋间神经的定位, 并在显微镜下成功找到相应肋间神经, 手术定位准确, 实验过程顺利, 实验结果确切。

实验结果表明切除肋间神经后 2 周肋间神经切断组与模型组比较 HMG 有明显改善: 乳腺导管上皮排列基本趋于规则, 腺泡腔乳腺导管扩张均明显减轻, 小叶腺泡数明显减少。从组织病理上证实可以减轻 HMG。对乳腺肿瘤组织的研究发现雌激素的促有丝分裂和促增生作用是与 ER 和 PR 密切相关的^[10]。雌激素在乳腺组织通过与 ER 相互作用而发挥促有丝分裂的作用。某些研究还表明雌激素对于上皮细胞的促增生作用可能涉及到旁分泌的调节^[11]。Russo 和 Russo^[12]的研究还表明在 ER 表达阳性的上皮细胞中那些被雌激素激活的 ER 能够诱导某些生长因子的表达, 进而可以刺激那些 ER 阴性的上皮细胞增生。可见 ER、PR 影响 HMG 的进程进而与乳腺癌密切相关。ER、PR 是一种蛋白质, 对雌激素、孕激素有高选择性^[13]。雌激素异常升高时经 ER 介导靶向定位于乳腺组织, 通过 ER 生物体系发挥一系列生理生化作用, 促使 ER 合成增多, 进而代表 ER 活性的 PR 亦增多, 在雌激素的持续刺激下引起正常的乳腺上皮细胞发生增生改变。ER、PR 在乳腺中的表达情况与 HMG 程度密切相关。PCNA 又称细胞周期蛋白, 其功能是作为 DNA 多聚酶 8 的辅助因子, 它的出现与细胞增殖有关, 在静止期其量很少, G1 晚期开始增加, S 期达到高峰, G2 期和 M 期明显下降, 是反映细胞增殖活性状态的重要指标^[14-15]。本研究的实验结果表明模型组组织病理形态表现增生明显, 相应的乳腺 ER、PR mRNA 表达明显增高, ER、PR 蛋白表达也显著升高。而术后肋间神经切断组大鼠乳腺组织 ER、PR mRNA 水平与模型组比较显著降低, ER、PR 和 PCNA 蛋白表达也显著降低。

乳腺组织主要受肋间神经支配, 神经细胞对它

的效应器肌肉细胞通过产生肌肉营养物质(营养因子)而发生作用,各因子之间互相依赖、互相影响^[6]。HMG 组织中有丰富的胆碱能神经纤维,那么是否神经纤维对乳腺组织增生也有起到促进作用:本文假设切断肋间神经的方法减弱神经的支配作用,能否减轻 HMG 的程度?实验结果验证切断相应的肋间神经后,乳腺组织中 ER 和 PR mRNA 表达水平明显降低与模型组在 ER 和 PR 的 mRNA 表达方面有显著性差异。Western blot 结果显示,切断肋间神经可抑制 HMG 组织 ER、PR 和 PCNA 的蛋白表达,从蛋白水平证实减少 ER、PR 和 PCNA 的表达。以上结果表明,对雌激素造模成功的大鼠采用相应的肋间神经切断方法,从 mRNA 水平到蛋白水平均减弱了 HMG 组织的 ER 和 PR 表达,降低了乳腺组织对雌激素的敏感性,减弱了雌激素在靶细胞上的生物学效应,并且显著降低了 PCNA 蛋白水平,抑制乳腺上皮细胞的增生,改善增生的乳腺结构,PCNA 的表达水平减低可能会降低与其功能相关的肿瘤细胞的增生并且减少 DNA 的合成速度,产生抑制良性向非典型增生的过程。另外,由于 Ki-67 是一种常见细胞增殖标记物,它们的指数高低与许多肿瘤的分化程度、浸润、转移及预后密切相关,在细胞凋亡中 S 期、G2 期、M 期均有表达,G0 期缺如。在本研究中,采用了 SP 法检测了乳腺组织的 Ki-67 的表达情况,但是各组 ki-67 表达均为阴性,可能与 ki-67 在 HMG 组织早期无表达及标本的例数有关。

综上所述,采用肋间神经切断的方法可以通过调节乳腺组织中 ER 和 PR 的表达水平来达到治疗 HMG 的作用。其作用机制可能是通过外周神经对组织的营养作用或者是旁分泌的途径来实现的。本研究从神经支配及营养作用出发,研究去神经支配后 HMG 组织的变化,为 HMG 的治疗提供了新思路。

切断肋间神经减轻大鼠 HMG,其明确的机制尚有待进一步的研究予以阐明和证实。在后续的研究中我们可能会采用肉毒毒素注射来观察外周神经营养作用被阻断后对大鼠 HMG 的影响,进一步明确阻断神经作用对 HMG 组织的影响,为 HMG 的治疗寻找一个新的思路。

参 考 文 献

- [1] Yager J D, Davidson N E. Estrogen carcinogenesis in breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(3): 270-282.
- [2] Russo J, Russo I H. The role of estrogen in the initiation of breast cancer [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 102(1-5): 89-96.
- [3] Conner P. Breast response to menopausal hormone therapy—aspect of proliferation, apoptosis and mammographic density [J]. *Ann Med*, 2007, 39(1): 28-41.
- [4] 黄晶莹, 黄云松. 浅谈乳腺增生症的中药及针灸治疗 [J]. *中国初级卫生保健*, 2006, 7(20): 63.
- [5] Huang J Y, Huang Y S. A brief talk of traditional Chinese medicine and acupuncture treatment on mastoplasia [J]. *Chinese Primary Health Care*, 2006, 7(20): 63.
- [6] 孙志国, 张爱娟, 刘远廷, 等. 星状神经节阻滞在乳腺增生中的应用 [J]. *中国综合临床*, 2009, 25(7): 760-762.
- [7] Sun Z G, Zhang A J, Liu Y T, et al. The use of stellate ganglion block in hyperplasia of mammary glands [J]. *Clinical Medicine of China*, 2009, 25(7): 760-762.
- [8] 黄月玲, 文端成, 韦永芳, 等. 大鼠乳腺增生模型的建立 [J]. *广东医学*, 2002, 23(4): 362.
- [9] Huang Y L, Wen D C, Wei Y F, et al. Establishment of rat breast hyperplasia model [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2002, 23(4): 362.
- [10] 李宝江, 朱志华, 王军业, 等. Ki67、P53、VEGF 和 c-erbB-2 在乳腺癌组织中表达的相关性研究及其临床意义 [J]. *癌症*, 2004, 23(10): 1176-1179.
- [11] Li B J, Zhu Z H, Wang J Y, et al. Expression correlation of Ki67 to P53, VEGF, and C-erbB-2 genes in breast cancer and their clinical significances [J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2004, 23(10): 1176-1179.
- [12] Godschalk M F, Unice K A, Bergner D, et al. A trial study: the effect of low dose human chorionic gonadotropin on the symptoms of benign prostatic hyperplasia [J]. *J Urol*, 2003, 170(4 Pt 1): 1264-1269.
- [13] Foster W G, Younglai E V, Boutros-Tadross O, et al. Mammary gland morphology in Sprague-Dawley rats following treatment with anorganochlorine mixture in utero and neonatal genistein [J]. *Toxicol Sci*, 2004, 77(1): 91-100.
- [14] Kirma N, Gill K, Mandava U, et al. Overexpression of aromatase leads to hyperplasia and changes in the expression of genes involved in apoptosis, cell cycle, growth, and tumor suppressor functions in the mammary glands of transgenic mice [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 1910-1918.
- [15] Anderson E, Clarke R B, Howell A. Estrogen responsiveness and control in normal human breast proliferation [J]. *Mammary Gland Biol Neoplasia*, 1998, 3(1): 23-35.
- [16] Russo I H, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 1998, 3(1): 49-61.
- [17] 李西融. 乳腺疾病雌孕激素受体检测与临床应用研究进展 [J]. *华夏医学*, 2001, 2001, 14(2): 241-243.
- [18] Li X R. The progress and clinical application of estrogen and progesterone receptor in breast disease [J]. *Acta Medicine Sinica*, 2001, 14(2): 241-243.
- [19] Hall P A, Levison D A. Review: assessment of cell proliferation in histological material [J]. *J Clin Pathol*, 1990, 43(3): 184-192.
- [20] Bravo R, Frank R, Blundell P A, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- δ [J]. *Nature*, 1987, 326(6112): 515-517.
- [21] Stein T P, Wade C E. Protein turn over in atrophying muscle: from nutritional intervention to microarray expression analysis [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2003, 6(1): 95-102.

(责任编辑:唐秋姗)