

玉米幼芽提取物对大鼠乳腺增生的影响

唐立刚^{1,2}, 欧阳五庆¹, 杨东英², 刘韵佳¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 德州学院 生物系, 山东 德州 253023)

【摘要】 【目的】探讨玉米幼芽提取物对乳腺增生 SD 大鼠乳腺组织和血清激素的影响, 及其抗乳腺增生的作用机理。【方法】以苯甲酸雌二醇联合黄体酮皮下注射方法, 制作乳腺增生大鼠模型 56 只, 随机平均分成 7 组。将玉米幼芽提取物按剂量 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/(kg·d) 分别给药, 连续 20 d, 用药结束后测定大鼠血清激素水平; 显微镜下观察大鼠乳腺组织。【结果】玉米幼芽提取物中, 高剂量组明显改善了病变组织的形态, 并且可显著降低模型大鼠的卵泡生成素(FSH)、血清雌二醇(E₂)和睾酮(T)水平, 同时提高了模型大鼠催乳素(PRL)和血清黄体生成素(LH)水平, 对血清孕酮(P)变化的影响不大。【结论】2.5~40 mg/(kg·d) 的富含腺嘌呤类衍生物的玉米幼芽提取物, 可有效防止和治疗大鼠的乳腺增生。

【关键词】 玉米幼芽提取物; 乳腺增生; 氧化损伤; 大鼠

【中图分类号】 S857.2⁺6; R965.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)12-0080-05

Effect of extracts of maize plumule on mammary gland hyperplasia rats

TANG Li-gang^{1,2}, OUYANG Wu-qing¹, YANG Dong-ying², LIU Yun-Jia¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Biology, Dezhou University, Dezhou, Shandong 253023, China)

Abstract: 【Objective】The study was to observe the effects of extracts of maize plumule given in different doses on mammary gland hyperplasia of rats and explore the mechanism for the treatment of mammary gland hyperplasia. 【Method】8 healthy rats were set as normal contrast group I. 56 model rats were divided into 7 groups (group II—group VIII), and the model of mammary gland hyperplasia was made by hypodermic injection of oestradiol benzoate and progesterone. Model groups (II—VIII) were intragastrically administered with 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/(kg·d) gradient doses maize plumule extracts. Then the length and diameter of nipples were measured, and the sex hormone of all groups checked. And the slides of mammary glands were observed by microscopic examination. 【Result】After drugs interference, medium-dose groups and high-dose groups (V—VIII) showed the mend of the mammary glands shapes and pathological tissue in vivo ($P < 0.01$); Extracts of maize plumule remarkably depressed the level of FSH, E₂ and T, and raised the level of PRL and LH ($P < 0.01$) in V—VIII groups, but P was steady. 【Conclusion】2.5—40 mg/(kg·d) maize plumule extracts with abundant adenine derivatives could effectively prevent and treat hyperplasia of mammary gland.

Key words: extracts of maize plumule; hyperplasia of mammary gland; oxidative damage; rat

DNA 损伤变异是发生乳腺癌的直接根源^[1], 氧化损伤是导致 DNA 损伤的一种重要形式^[2]。大量

* [收稿日期] 2009-04-22

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAD04A11)

[作者简介] 唐立刚(1976—), 男, 山东烟台人, 在读博士, 主要从事细胞工程相关研究。E-mail: tangligang@126.com

[通信作者] 欧阳五庆(1960—), 男, 陕西凤翔人, 教授, 博士生导师, 主要从事乳腺细胞及泌乳生理研究。

E-mail: oywq506@sina.com

统计数据显示,乳腺增生与乳腺癌之间存在密切关联^[3-5]。研究表明,外源性嘌呤类物质可对动植物机体起到抗氧化以及保护修复作用^[6-7]。玉米幼芽提取物中富含多种腺嘌呤衍生物,其可抵抗家蚕皮肤的氧化损伤^[8],且对体外培养的小鼠皮肤成纤维细胞具有抗氧化作用^[9],但目前有关利用玉米幼芽提取物防治大鼠乳腺增生的研究尚未见报道。为此,本研究探索了玉米幼芽提取物对大鼠乳腺增生的作用,以期为抗乳腺增生病的药物筛选及应用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 玉米幼芽提取物 玉米幼芽提取物由西北农林科技大学动物医学院基础兽医学教研室提供,编号为 0501,含 93.33% 的腺嘌呤衍生物。以佐剂(由上述教研室自主研制)配制成 1 000 mg/L 的储备液,使用前稀释成不同质量浓度。

1.1.2 试验动物 体质量为(150±5) g 的 SD 大鼠 100 只,购自第四军医大学实验动物中心。

1.1.3 试剂及仪器 苯甲酸雌二醇注射液,2 mg/mL,批号 20020101,黄体酮注射液,20 mg/mL,批号 20011102,均为上海通用药业股份有限公司生产;福尔马林、苏木精、伊红、无水乙醇等,均为国产分析纯;催乳素(PRL)、黄体生成素(LH)、卵泡生成素(FSH)、雌二醇(E₂)、孕酮(P)、睾酮(T)放免试剂盒,均由天津生物制品有限公司生产;国产 FJ-6010 型全自动 γ 计数器,由国营西安二六二厂制造;美国 AO 组织切片机;CX41 显微镜,由日本 OLYMPUS 公司制造。

1.2 试验方法

1.2.1 大鼠乳腺增生模型的建立 将 SD 大鼠随机分为 A、B 2 组,A 组为乳腺增生造模组,共 80 只,每日每只皮下注射 0.5 mg/kg 苯甲酸雌二醇,连续 20 d 后,转为每日每只皮下注射 5 mg/kg 黄体酮,连续 5 d;B 组为对照组,共 20 只,同样方法注射相同剂量的生理盐水。停药后饲养 35 d^[10],取 A、B 组 SD 大鼠各 8 只,采取乳腺组织样品,用福尔马林固定,石蜡包埋、切片,于显微镜下观察发现,A 组出现乳腺导管增生、腺泡增生以及囊性增生,B 组全部阴性,说明造模成功^[11]。

1.2.2 试验动物分组 试验动物来自 1.2.1 处理后的大鼠,共分 8 组。取经 1.2.1 处理的 B 组大鼠 8 只,设为正常对照组 I,每日每只灌胃 2 mL 生理

盐水;取经 1.2.1 处理的 A 组大鼠 56 只,平均分为 7 组(Ⅱ~Ⅷ),每组 8 只。其中Ⅱ组设为模型对照组,每日每只灌胃含稀释玉米幼芽提取物佐剂的生理盐水 2 mL;Ⅲ~Ⅷ组设为模型用药组,每组分别灌胃体质量浓度为 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/(kg·d)的玉米幼芽提取物 2 mL。所有试验动物连续灌胃 20 d。

1.2.3 形态学指标测量及标本采取 用游标卡尺测量 SD 大鼠蹊部第 2、3 对乳头的直径和高度。停药 3 d 后,于下午 16:30 摘眼球取血 2 mL,37 ℃ 恒温水浴 1 h,3 000 r/min 低温离心 15 min,分离血清;取蹊部 1 对完整的乳腺组织,福尔马林固定。

1.3 组织学观察及血清激素水平的检测

将乳腺组织石蜡包埋、切片,HE 染色,光学显微镜观察并统计平均导管数、每小叶的平均腺泡数。放免法测定血清中催乳素、黄体生成素、卵泡生成素、雌二醇、孕酮、睾酮水平,并分别严格按相关试剂盒使用说明检测。

1.4 数据分析

所有数据均采用统计软件 SPSS13 进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 玉米幼芽提取物对 SD 大鼠乳头形态的影响

由表 1 可见,与正常对照组 I 相比,模型对照组Ⅱ和用药组Ⅲ、Ⅳ组 SD 大鼠的乳头直径及高度差异均极显著($P<0.01$),Ⅴ组差异显著,Ⅵ~Ⅷ组差异不显著。与模型对照组Ⅱ相比,模型用药组Ⅴ~Ⅵ组乳头直径显著变小($P<0.05$),Ⅶ、Ⅷ组极显著变小($P<0.01$);模型用药组Ⅳ乳头高度显著降低($P<0.05$),Ⅴ~Ⅷ组乳头高度极显著降低($P<0.01$)。

2.2 玉米幼芽提取物对 SD 大鼠乳腺组织的影响

由大鼠乳腺组织切片的显微观察结果(图 1)及表 2 可以看出,正常对照组大鼠乳腺导管上皮细胞排列整齐,管腔未见扩张,腔内无脱落上皮细胞,核仁不明显,小叶腺泡为 2~6 个(图 1A);模型对照组大鼠乳腺导管上皮细胞明显增生,呈假复层或乳头状,核仁明显,导管扩张明显,腔内有脱落上皮细胞及分泌物,乳腺小叶腺泡为 19~28 个,腺泡上皮细胞增生,腺泡或小叶周围有纤维组织增生(图 1B)。与模型对照组相比,随着用药剂量的增加,模型用药组导管上皮细胞分化轻中度异常情况减少,其细胞核直径接近正常对照组,核异型性变小,染色

质及核仁无异常变化, 偶见规则核分裂相; 特别是 (P<0.01), 且部分腺泡体积变小, 导管扩张不明显 VI~VIII 组, 表现为腺泡数目明显减少, 差异极显著 显, 更加接近正常对照组(图 1C~H)。

表 1 不同处理组 SD 大鼠乳头直径、高度的比较(n=8)

Table 1 Comparison of diameter and length of SD rat's nipples between 8 groups(n=8)

mm

组别 Group	乳头直径 Diameter of rat nipples		乳头高度 Length of rat nipples	
	第 2 对 Second pair	第 3 对 Third pair	第 2 对 Second pair	第 3 对 Third pair
	I	1.06±0.22 B	1.02±0.29 B	1.73±0.03 B
II	1.51±0.22 A	1.57±0.36 A	2.25±0.05 A	2.19±0.19 A
III	1.49±0.15 A	1.45±0.05 A	2.19±0.02 A	2.14±0.21 A
IV	1.41±0.16 A	1.40±0.11 A	2.06±0.08 Ab	2.03±0.07 Ab
V	1.28±0.04 ab	1.27±0.26 ab	1.82±0.04 aB	1.80±0.13 aB
VI	1.19±0.15 b	1.15±0.12 b	1.79±0.07 B	1.79±0.17 B
VII	1.07±0.25 B	1.09±0.32 B	1.77±0.01 B	1.77±0.09 B
VIII	1.07±0.12 B	1.06±0.17 B	1.76±0.03 B	1.76±0.12 B

注: 与正常对照组 I 比较: a. P<0.05, A. P<0.01; 与模型对照组 II 比较: b. P<0.05, B. P<0.01。下表同。

Note: Contrast with normal control group: a. P<0.05, A. P<0.01; Contrast with model control group: b. P<0.05, B. P<0.01. The same as followed.

表 2 不同处理组 SD 大鼠乳腺导管数及小叶腺泡数的比较

Table 2 Comparison of hyperplasia of mammary ductal and lobule of rat

组别 Group	乳腺导管数 Hyperplasia of mammary ductal	小叶腺泡数 Hyperplasia of mammary lobule
I	2.99±0.83 B	3.92±1.11 B
II	8.51±2.26 A	23.57±4.38 A
III	7.60±2.18 A	24.56±3.07 A
IV	7.52±1.79 A	21.51±4.13 A
V	6.39±1.97 Ab	14.38±3.29 AB
VI	3.19±1.13 B	5.15±1.13 B
VII	4.09±0.98 B	4.39±1.34 B
VIII	4.07±1.19 B	4.86±1.16 B

2.3 玉米幼芽提取物对 SD 大鼠血清激素水平的影响

由表 3 可以看出, 与正常对照组相比, 模型组 II~IV E₂ 水平差异极显著; 与模型对照组相比, 模型用药组 IV、VII E₂ 含量显著减少, V、VI、VIII 组含量极显著减少。模型用药组血清 FSH 水平与正常对照组相比差异均不显著, 与模型对照组相比差异均极显著。各模型用药组 P 水平随着用药剂量的增

加, 与正常对照组相比, 降低程度由差异极显著(III、IV 组)至差异显著(V 组)再到差异不显著(VI~VIII), 与模型对照组相比差异均不显著。用药模型组血清 T 水平除 III 组较模型对照组差异不显著、VI 组显著降低外, 其余各组均极显著降低。模型用药组(V、VI、VIII)血清 PRL 水平较正常对照组和模型对照组极显著升高。与模型对照组相比, 模型用药组(V~VIII) LH 水平极显著降低。

表 3 各组 SD 大鼠血清激素水平的变化

Table 3 Comparison of levels of serum hormones

组别 Group	雌二醇/ (pg · mL ⁻¹) E ₂	孕酮/ (ng · mL ⁻¹) P	睾酮/ (ng · mL ⁻¹) T	催乳素/ (ng · mL ⁻¹) PRL	黄体生成素/ (IU · L ⁻¹) LH	卵泡生成素/ (IU · L ⁻¹) FSH
I	15.71±2.23 B	7.08±0.49 B	6.27±1.24	1.98±0.86	1.25±0.05 B	12.96±1.37 B
II	76.67±14.62 A	2.19±0.19 A	12.45±2.42 a	1.92±0.95	2.33±0.13 A	28.51±6.22 A
III	43.58±24.39 A	2.14±0.21 A	8.51±0.71	2.57±0.88	2.19±0.02 A	10.49±0.15 B
IV	41.39±33.29 Ab	2.13±0.07 A	6.48±0.87 B	2.27±0.47	2.06±0.08 Ab	10.64±0.29 B
V	28.64±11.32 B	1.90±0.13 a	6.53±0.99 B	2.63±0.72 AB	1.82±0.04 aB	10.64±0.29 B
VI	27.80±7.30 B	2.29±0.17	7.13±1.12 b	2.84±0.75 AB	1.79±0.07 B	10.02±0.26 B
VII	32.75±4.18 ab	2.37±0.09	6.56±0.53 B	2.59±0.48 b	1.77±0.01 B	10.01±0.18 B
VIII	24.95±6.55 B	2.46±0.12	5.98±1.23 B	2.74±0.36 AB	1.76±0.03 B	9.65±0.36 B

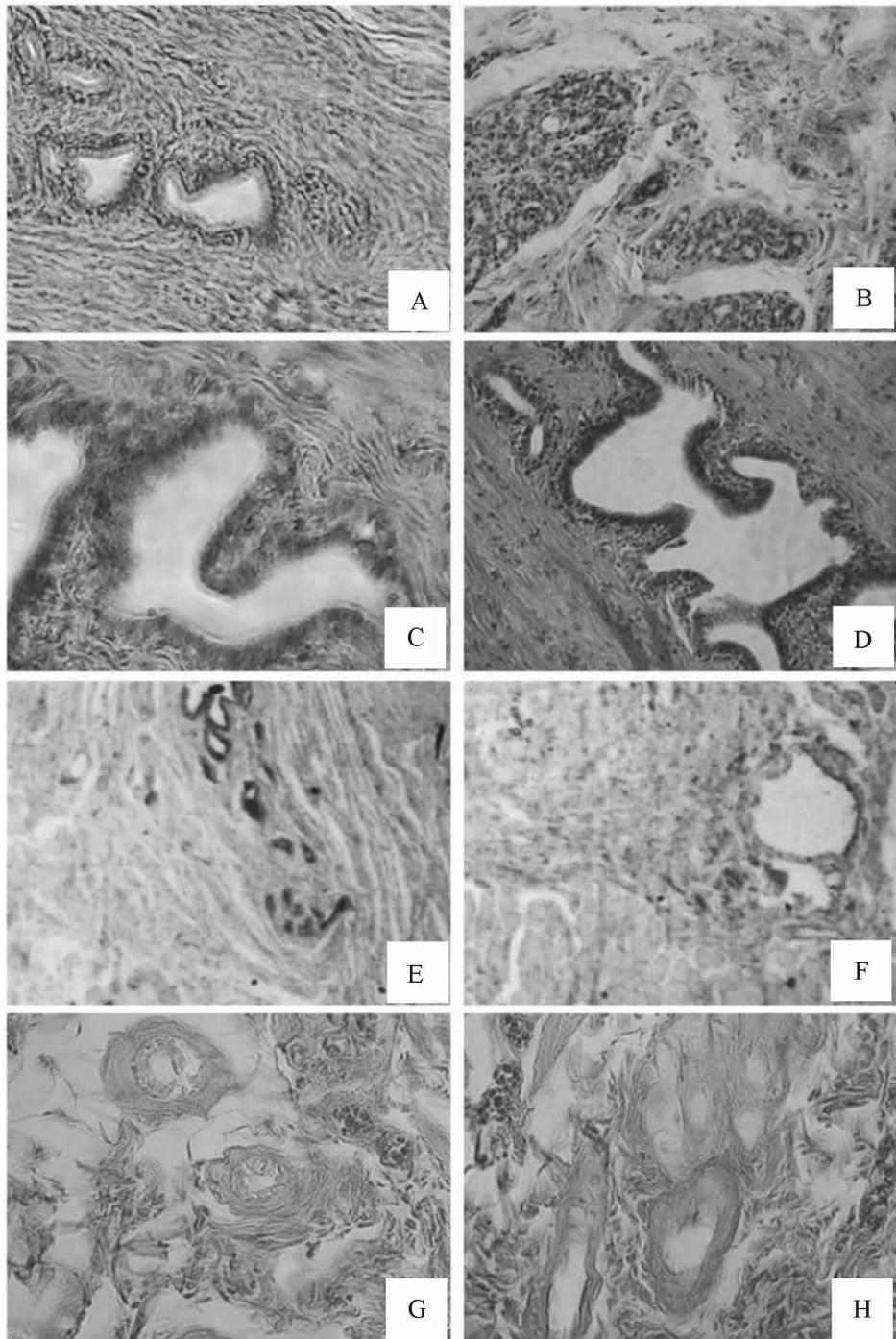


图 1 不同处理组 SD 大鼠乳腺组织切片(HE,20×)

A. 正常对照组 I ;B. 模型对照组 II ;C~H. 乳腺增生模型梯度用药 III ~ VIII 组

Fig. 1 Slicing of rat mammary gland (HE,20×)

A. Normal mammary gland group I ;B. Hyperplastic mammary gland model group II ;

C-H. Mammary gland hyperplasia in gradient dose maize plumule extracts group III - VIII

3 讨 论

研究发现,玉米幼芽提取物含有大量嘌呤类衍生物及其代谢产物,具有独特的生物学活性^[8]。其能够降低氧化物酶的活力,抑制氧自由基的产生,促

进游离氨基酸合成蛋白质,保护 DNA 免遭氧化破坏^[7],具有剂量依赖性抗衰老和细胞因子活性,在骨髓白血病细胞的分化控制及凋亡机制中具有极其重要的作用,其机理主要是在细胞分化过程中减少细胞内 ATP 的含量,干扰线粒体的膜势电位和氧自

由基的积累^[12]。在正常生理状况下,动物体内的氧化与还原反应处于动态平衡,活性氧及抗氧化系统是维持这一平衡状态的重要因素。一旦氧自由基大量产生或抗氧化系统功能减弱,就会导致氧化损伤发生^[6]。Mobley 等^[1]的研究证实,无论体内还是体外的雌激素都会介导对 DNA 的氧化损伤,直接导致乳腺增生及乳腺癌的发生。本研究发现,玉米幼芽提取物在一定剂量范围内,可以发挥外源性激素样作用^[13],对乳腺增生产生抑制,具体表现为:减小乳头直径,降低乳头高度,减少小叶增生数量,抑制导管上皮增生,并可使 FSH、E₂、T 水平显著降低,使 PRL、LH 水平升高。但有关玉米幼芽提取物调节和对抗雌二醇对乳腺管的刺激增生作用机制,及其减弱雌激素在靶细胞上的生物学效应,产生抑制和治疗乳腺增生等的作用机制,尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Mobley J A, Brueggemeier R W. Estrogen receptor-mediated regulation of oxidative stress and DNA damage in breast cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(1): 3-9.
- [2] Miral D, Pawei J, Mustafa B, et al. Free radical-induced damage to DNA: Mechanisms and measurement [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 32(11): 1102-1115.
- [3] 杜玉堂, 蔡海琳. 乳腺知识与保健 [M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1985: 75-115.
Du Y T, Cai H L. *Mammary health* [M]. Changchun: Jilin Science and Technology Press, 1985: 75-115. (in Chinese)
- [4] 王国忠, 陈 艳. 乳腺病防治 210 问 [M]. 北京: 金盾出版社, 1992: 42-90.
Wang G Z, Chen Y. 210 questions for prevention and cure of mastopathy [M]. Beijing: Jindun Publishing House, 1992: 42-90. (in Chinese)
- [5] 姚连生, 周建梁, 唐锦霞, 等. 99 例乳腺肿瘤雌激素受体的测定 [J]. *肿瘤*, 1981(1): 252.
Yao L S, Zhou J L, Tang J X, et al. Measurement of the estrogen receptor of mastadenoma in 99 cases [J]. *Cancer*, 1981(1): 252. (in Chinese)
- [6] 车勇良. 扇贝多肽对 H₂O₂ 所致胸腺细胞氧化损伤的保护作用及其机制 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
Che Y L. Protective effects and mechanism of polypeptides from chlamys farreri on thymocytes damaged by H₂O₂ [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2004. (in Chinese)
- [7] Wyszko E, Barciszewska M Z, Markiewicz M, et al. "Action-at-a distance" of a new DNA oxidative damage product 6-furfuryladenine (kinetin) on template properties of modified DNA [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2003, 1625(3): 239-245.
- [8] 张 黎, 欧阳五庆, 胡 颖, 等. 玉米幼芽提取物对家蚕抗氧化作用的影响 [J]. *蚕业科学*, 2005, 31(4): 458-462.
Zhang L, Ouyang W Q, Hu Y, et al. Pathology observation of protection effect of oxidation damage resistance on bombyx mori by feeding extracts of maize plumule [J]. *Acta Sericologica Sinica*, 2005, 31(4): 458-462. (in Chinese)
- [9] 张 黎, 欧阳五庆, 余 欣, 等. 玉米幼芽提取物对小鼠皮肤成纤维细胞体外抗氧化能力的影响 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(9): 1-5.
Zhang L, Ouyang W Q, Yu X, et al. Effect of extracts of maize plumule on mouse derma fibroblast in vitro in the oxidative damage condition [J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2006, 34(9): 1-5. (in Chinese)
- [10] 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): 362-363.
Huang Y L, Wen D C, Wei Y F, et al. Construction of mammary gland hyperplasia rat model [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2002, 23(4): 362-363. (in Chinese)
- [11] 孙国勤, 安稟仁, 王建久, 等. 乳复康片治疗乳腺增生的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2000, 6(1): 40-42.
Sun G Q, An B R, Wang J J, et al. Experimental study of rufukang tablets on hyperplasia of mammary gland [J]. *Chinese Journal of Experimental Additional Medical Formulae*, 2000, 6(1): 40-42. (in Chinese)
- [12] Yuki I, Yuko H, Shingo S, et al. Control of differentiation and apoptosis of human myeloid leukemia cells by cytokinins and cytokinin nucleosides, plant redifferentiation-inducing hormones [J]. *Cell Growth & Differentiation*, 2002, 13: 19-26.
- [13] 史 明, 游思维. 嘌呤类物质在中枢神经系统损伤中的作用 [J]. *中华创伤杂志*, 2005, 21(3): 236-239.
Shi M, You S W. Function of purine compounds on central nervous system injured [J]. *Chinese Journal of Trauma*, 2005, 21(3): 236-239. (in Chinese)