

参芪扶正液使化疗增效的代谢通路初探——维生素 K₂ 代谢

林晓洁, 关若丹, 司徒红林, 戴燕, 许锐, 宋雪, 丘嫦, 郭倩倩, 林毅, 陈前军

广东省中医院大学城医院乳腺科, 广东 广州 510006

[摘要] 目的: 通过液相色谱质谱法对乳腺癌新辅助化疗患者接受参芪扶正液治疗前后的血浆代谢产物的对比分析, 寻找参芪扶正液对乳腺癌新辅助化疗增效的重要代谢通路, 并以此建立其与扶正法抗癌的联系。方法: 采用前瞻性随机对照研究, 纳入参芪扶正液治疗组患者 17 例、对照组患者 18 例, 收取每例患者化疗前后血标本, 共 70 份标本。应用超高效液相色谱质谱技术, 获得代谢轮廓图谱, 并运用偏最小二乘判别分析和共识正交偏最小二乘判别分析模式识别技术, 对得到的谱图积分进行分析, 根据质谱同位素 (质荷比) 匹配 HMDB 数据库, 对化疗前后血浆潜在的生物标志物进行鉴定。结果: 治疗组和对照组化疗后的血浆代谢状态与化疗前比较完全发生了分离; 化疗后, 对照组中维生素 K₂、伞形花内酯降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而治疗组中无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 参芪扶正液能维持乳腺癌新辅助化疗患者体内维生素 K₂ 和伞形花内酯的代谢平衡, 这可能是其达到化疗增效作用的重要环节。

[关键词] 乳腺癌; 参芪扶正液; 代谢组学; 维生素 K₂

[中图分类号] R737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2016) 12-0136-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.12.058

研究证明^[1], 参芪扶正注射液联合放化疗能提高放疗、化疗的近期疗效, 改善生活质量、降低毒副反应。本研究中 35 例患者在前期临床上新辅助化疗的临床疗效评估亦提示参芪扶正液干预的治疗组略优于对照组(临床缓解率: 58.8% (10/17) VS 50.0% (9/18)), 但参芪扶正液在人体中经过复杂代谢后, 是怎样达到对化疗减毒增效的作用, 其可能的作用靶点是什么, 仍然不清楚。本研究试图通过代谢组学方法寻找出参芪扶正液对乳腺癌新辅助化疗增效的重要代谢通路, 并阐述其与扶正法抗癌的联系。

1 临床资料

观察病例为 2014 年 2 月—2015 年 1 月于广东省中医院乳腺科住院接受新辅助治疗的乳腺癌患者共 35 例, 病理类型均为浸润性导管癌。治疗组 17 例, 平均年龄(50.4±9.9)岁; 对照组 18 例, 平均年龄(56.3±12.3)岁。2 组患者临床分期、组织学分级、HER-2 状态、化疗方案情况经检验, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。所有患者均无严重心、肺、肝、肾功能不全。

2 治疗方法

2.1 对照组 患者均根据病情接受相应的新辅助化疗, HER-2 阳性者同时联合赫赛汀治疗至 1 年。本研究中采用的化疗方案有 TEC、EC、TCH、FEC。

2.2 治疗组 在对照组治疗方案的基础上, 于化疗当天至化

表 1 一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	治疗组(n=17)	对照组(n=18)	P 值
临床分期			
A 期	10	9	
B 期	1	0	0.50 ^①
C 期	6	9	
组织学分级			
1 级	0	2	
2 级	13	14	0.26 ^①
3 级	4	2	
HER-2 状态			
阴性	6	10	0.23
阳性	11	8	
化疗方案			
TEC	7	4	
EC	7	8	0.45 ^①
TCH	2	2	
FEC	1	4	

注: 上表 P 值取自 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法; ①数据由确切概率法计算得出。

疗后第 6 天连续予参芪扶正注射液(由丽珠集团利民制药厂提供, 规格: 每瓶 250 mL, 注射剂; 批号: 219990065), 静脉

[收稿日期] 2016-08-20

[基金项目] 广东省中医药管理局资助重点项目 (2012 年); 广东省中医药管理局资助项目 (2013 年)

[作者简介] 林晓洁 (1989-), 女, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 中医药防治乳腺病。

[通讯作者] 司徒红林, E-mail: sthl666@163.com。

滴注：每次 250 mL，每天 1 次，周期为 21 天，共 3 周期。

2 组分别于化疗开始前 1 天，第 3 周期化疗后第 10 天留取血浆，共 70 份标本。化疗 3 周期结束后评估化疗疗效。

3 观察指标与统计学方法

3.1 仪器和试剂仪器 Waters UPLC 超高效液相色谱系统，配备自动进样器。质谱检测采用 AB SCIEX Triple TOF 5600 高分辨质谱仪，配有 ESI 电离源。VORTEX- 5 涡旋混合器(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司)；AllegraTM X- 22 台式高速冷冻离心机(Beckman Coulter, 美国)。

3.2 试剂 HPLC 级乙腈、甲醇购自 Merck 公司(Darmstadt, Germany)，甲酸购自 Fluka 公司(Buchs, Switzerland)。其它试剂均为市售分析超纯水(18.2MΩ)由本实验室 Milli- Q 超纯水系统(Millipore, France)制备。

3.3 样本的采集与处理 ①样本采集：人血浆(EDTA 抗凝)样品；采集时间：首次化疗前空腹抽血，第 3 周期化疗结束后第 10 天空腹抽血(非抗凝血管支，约 3 mL)，采集后立即 - 80℃ 冷冻保存。②样品前处理：将保存的血浆 4℃ 冻融后，振荡混合均匀，取 200 μL，置 1.5 mL EP 管中，加入乙腈 800 μL，2 000 r/min 涡旋混合 2 min，置高速离心机中，13 000 r/min，离心 20 min，取上清液置 2 mL 进样小瓶中。

3.4 数据采集与统计学方法 ①数据采集及预处理：采用 AB SCIEX 公司的 Analyst 软件对 LC- MS 的结果进行数据采集，得到血浆代谢的指纹图谱。采用 MarkerView4.1 软件对代谢指纹图谱进行数据分析处理，进行色谱合并，峰判别、峰对齐和归一化等预处理。②多元统计分析方法：经预处理后的各样本量化信息数据导入 SIMCA- P14.0 软件用于多维统计，运用偏最小二乘判别分析(PLS- DA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS- DA)模式识别技术，对得到的谱图积分进行分析，比较对照组的受试者与治疗组的受试者血浆代谢成分的差异，得到对分组贡献最大的一组谱峰，结合 *t* 检验等统计学方法，得到不同分组情况下，样本间的聚类情况，找出与分组相关的体内小分子化合物，根据化合物在样本聚类中的贡献度大小，对采用模式识别分析得出的化合物在各组间的差异进行了两两间检验分析，从不同临床意义角度出发，找出组间差异性较大的化合物。

4 研究结果

4.1 典型代谢指纹图谱 见图 1。图 1 分别为对照组化疗前、化疗后，治疗组化疗前、化疗后的代谢轮廓。每一个波峰代表一个代谢物，本研究共检测到 3074 种代谢物，但现代技术目前能鉴别出来的代谢物仅有数百种，我们只需找出各组中含量差异较大的代谢物，并作鉴定。

4.2 化疗前后差异代谢物分析及鉴定

4.2.1 2 组化疗前后血浆差异代谢物鉴定 见表 2。根据 OPLS- DA 模型中的 VIP 值(VIP > 1)和 *t* 检验结果，筛查出 2 组间差异有统计学意义($P < 0.05$)的化合物。即对分类贡献较大

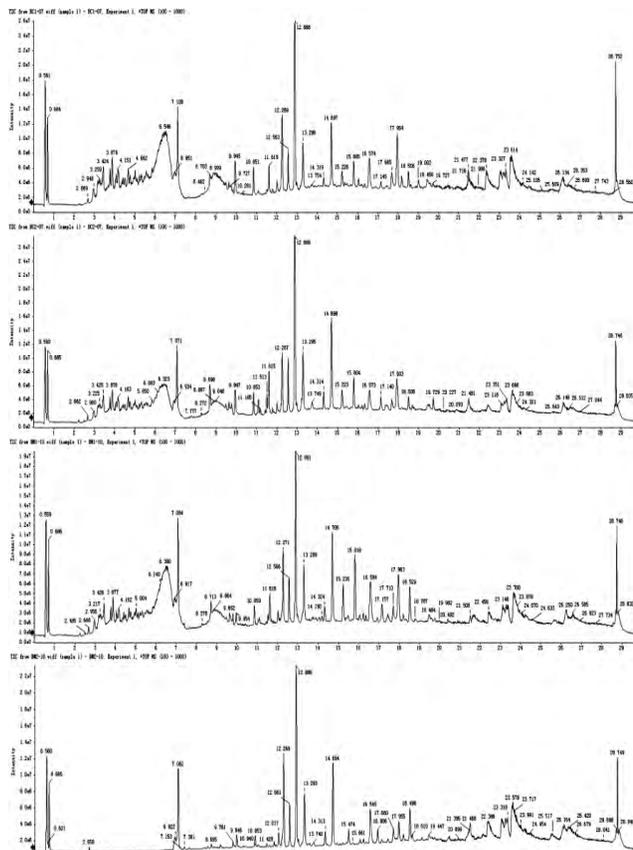


图 1 血浆代谢 UPLC-TOF 指纹图谱

的特异性代谢物，经鉴定共有 13 个(以不同的质荷比 - 保留时间表示不同的代谢物)。

表 2 2 组化疗前后血浆差异代谢物鉴定 (13 个)
(根据归一化积分值比较 P 值)

差异代谢物质荷比_保留时间	P1(对照组化疗前后)	P2(治疗组化疗前后)
184.983 0_23.66	3.48E- 11	1.28E- 07
284.296 3_20.73	9.36E- 11	1.98E- 09
417.354 5_16.98	1.66E- 09	1.31E- 11
256.266 9_18.70	1.25E- 09	4.46E- 06
417.346 6_14.32	1.77E- 09	1.13E- 10
355.366 7_13.47	3.78E- 20	5.53E- 23
484.473 2_16.92	2.29E- 15	3.60E- 10
581.419 8_20.46	2.43E- 07	7.71E- 02
301.143 1_22.95	4.87E- 06	1.30E- 04
615.138 9_26.08	3.17E- 06	2.21E- 07
413.268 4_19.75	1.73E- 06	2.90E- 04
279.160 5_13.34	2.99E- 07	6.90E- 04
163.038 4_07.60	1.74E- 08	2.77E- 01

4.2.2 (正交) 偏最小二乘法模型 见图 2。将血浆对照组化疗前后与治疗组化疗前后的数据进行 PLS- DA 和 OPLS- DA

分析,得到 score 图(图 2- A、C、D)和 loading 图(图 2- B),分别提示不同组别的代谢状态、聚类关系和化合物差异分布。

4.2.3 化疗前后血浆差异代谢物鉴定 见表 3。根据质谱同位素(质荷比)匹配 HMDB 数据库的检索结果(<http://www.hmdb.ca>)及查阅文献后,结合化合物的生物学、临床意义,对化疗前后血浆潜在的生物标志物(差异代谢物)进行鉴定和筛选。对照组中维生素 K₂、伞形花内酯降低($P<0.05$),而治疗组中无明显变化($P>0.05$)。

5 讨论

本研究通过液相色谱质谱法探索分析了新辅助化疗的乳腺癌患者接受参芪扶正液治疗的治疗组与未接受参芪扶正液治疗的对照组血浆代谢组学的变化,结果发现,相比化疗前,经参芪扶正液干预的治疗组和对对照组其代谢轮廓化疗后均发生了明显差异。共有 13 个代谢物出现了明显的变化,但 2 组化疗前后发生变化的程度不一致,其中,经参芪扶正液干预的患者,化疗后维生素 K₂ 与伞形花内酯的含量相比对照组可维持稳定,结合研究中 35 例患者新辅助化疗的临床疗效评估为参芪扶正液干预的治疗组略优于对照组[58.8% (10/17)VS 50.0% (9/18)],笔者推论,维生素 K₂ 和伞形花内酯可能是参芪扶正液对化疗增效的重要代谢通路。伞形花内酯为家庭种当归类植物抗毒

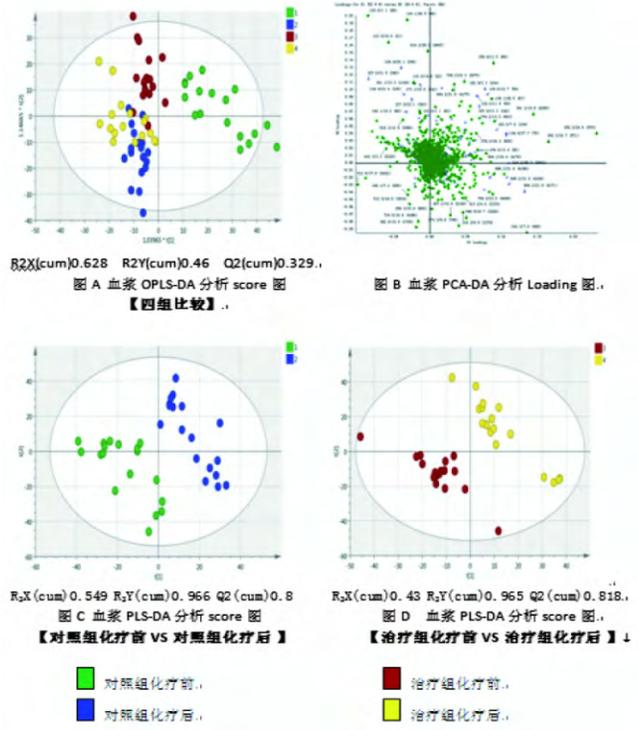


图 2 血浆代谢组学数据分析

表 3 化疗前后血浆差异代谢物鉴定

鉴定物	化学结构	代谢途径	化疗前后水平	
			对照组	化疗组
磷酸羟基丙酮酸	C ₃ H ₅ OP	Glycine and Serine Metabolism	↓	↓
硬脂酸	C ₁₈ H ₃₇ NO	Fatty acid metabolism	↓	↓
β-生育酚	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	Vitamin metabolism	↓	↓
棕榈酰胺	C ₁₆ H ₃₃ NO	Lipid metabolism	↓	↓
骨化醇	C ₂₇ H ₄₄ O ₃	—	↓	↓
二十三烷酸	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	Fatty acid metabolism	↑	↑
神经酰胺(d18:0/12:0)	C ₃₀ H ₆₁ NO ₃	Lipid metabolism	↑	↑
维生素 K ₂	C ₄₁ H ₅₆ O ₂	Vitamin metabolism	↓	无变化
Myriganone E	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	Glucose metabolism	↓	↓
6-肉桂-1,2-digalloyl 葡萄糖	C ₂₉ H ₂₆ O ₅	Glucose metabolism	↑	↑
泛醌 4	C ₂₆ H ₃₆ O ₄	—	↓	↓
阿尔法 CEHC	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Vitamin metabolism	↓	↓
伞形花内酯	C ₉ H ₈ O ₃	—	↓	无变化

素,主要功能是营养补充,目前尚缺乏相关研究,以下就维生素 K₂ 与参芪扶正液对化疗增效的相关机制展开论述。

Vit K₂ 主要作用是维持机体的正常凝血功能,临床上主要用于出血性疾病的治疗。但早在上世纪 40 年代末,有学者已发现接受维生素 K 治疗的肿瘤病人,其肿瘤出现坏死现象,由此推断维生素 K 可能具有抗肿瘤作用。近几年越来越多的研究发现, Vit K₂ 对多种恶性肿瘤细胞有生长抑制作用,包括

结肠癌、肺癌、乳腺癌细胞^[2],并可诱导肝细胞癌、卵巢癌等多种实体瘤和白血病、骨髓增生异常综合征的细胞凋亡,具有明显的抗肿瘤作用,且与多种抗肿瘤药有协同作用。Vit K₂ 抗肿瘤疗效已在许多临床研究中得到验证, Vit K₂ 及其衍生物对肝癌细胞有抑制作用,对肝癌术后复发和生存率也有一定的影响。如 Xia J 等^[3]以 PKC 亚型特异性抑制剂或 siRNA 处理人肝癌 Huh7 细胞,加入四烯甲萘醌(Vit K₂ 类似物),观察到 Vit

K₂可通过抑制TPA诱导的N-kappaB的活化来抑制癌细胞的生长。Ishizuka等^[4]将101例HCC经根治术后患者随机分为Vit K₂组和对照组,患者术前γ-脱羧基凝血酶原均正常,结果显示,对照组在12、24、36个月累积存活率分别为81.3%、0、0,而Vit K₂组为78.3%、58.1%、31.0%,提示Vit K₂对患者的生存有益。Vit K₂还可诱导急性髓系白血病细胞系的凋亡和分化。Kitagawa等^[5]将ACR(视黄醇)和Vit K₂联合发现其呈剂量依赖性抑制HL-60细胞(人早幼粒细胞白血病细胞)的增殖。Wei-xing等^[6]将人胃癌裸鼠随机分为对照组、Vit K₂治疗组、贝那普利治疗组和联合治疗组(Vit K₂+贝那普利),发现联合治疗组的凋亡指数升高,抗肿瘤效果显著优于维生素K₂组或贝那普利组。这都提示Vit K₂具有明显的抗肿瘤作用。而关于Vit K₂的抗肿瘤机制则说法较多,包括Vit K₂参与线粒体电子信号的传递、影响Bcl-2蛋白、影响caspase家族诱导细胞凋亡、调节G1期相关的细胞周期分子的表达等^[7],但均存有争议,这些均很大程度上影响Vit K₂的应用和研究。

Vit K₂直接抗肿瘤的作用还需进一步研究验证,但近年来VK被证实可用于降低骨折风险,如在一项纳入55例患者的双盲研究中发现,平均每天摄入45 mg Vit K₂的患者其血中羧化骨钙素含量明显高于对照组(安慰剂组)^[8]。Cockayne S等^[9]作了Meta分析,共包括775名患者,结果显示, MK4(VK₂)可以明显降低骨折风险。这可能可以减少肿瘤骨转移病中的骨相关事件,甚至改善生存期。

维生素K₂(Vit K₂/MK, 甲萘醌)来源于食物或由人体肠道菌群产生,严格来说, Vit K₂不是一种必需的维生素,它可由人体肠道内正常定植的菌群利用维生素K₁转化合成,主要来源于革兰阴性菌属,包括拟杆菌、丙酸杆菌以及乳酸菌等。一般来说,只有在特定人群才需要额外补充Vit K₂,比如有特殊基因型、绝经后女性^[10]、或患特殊代谢性疾病的人群等等。因此,如果因为疾病影响或药物干预导致肠道功能紊乱,将会一定程度上减少Vit K₂的生成。化疗作为乳腺癌的重要治疗手段之一,它的治疗作用不仅表现在对肿瘤细胞的直接杀灭作用,同时也影响了肿瘤细胞赖以生存的机体内环境,其中,肠道生态环境即为内环境研究的重要方面,临床上常见消化道不良反应。肠道上皮组织是一种更新快的组织,平均3~5天就要更新一次,对化疗十分敏感。研究发现,化疗可通过直接损伤肠粘膜细胞、破坏肠粘膜免疫功能以及造成肠道菌群紊乱等多种机制损伤胃肠道,引起化疗不良反应,严重者会影响化疗的顺利进行,降低疗效^[11]。

中医对肿瘤有“因虚致瘤”“扶正积自消”等见解,因此有“扶正抗癌”一说。历代医家扶正尤重调补脾胃,扶正法的代表药物大多为健脾益肾之物,如黄芪、人参、淮山药等,此类健脾中药的抗肿瘤研究机制主要为调节消化道功能,增加胃肠酶的分泌(液淀粉酶、胰淀粉酶),提高小肠吸收功能,促进

RNA蛋白质的合成、促进肿瘤细胞坏死、凋亡等等。但这仅为单药分析阶段,尚不能解释扶正法复方如参芪扶正液的抗癌机制。参芪扶正液主要成分是黄芪、党参,具有益气健脾之用。作为扶正法的代表,研究已表明参芪扶正液在降低毒副作用、改善生活质量的同时,亦可改善短期疗效。目前其“增效机制”尚不明确,本研究中治疗组化疗前后维生素K₂含量无明显变化,提示参芪扶正液对肠道功能的保护,可能解释了扶正药物对化疗增效的机制,与中医所倡导的健脾“扶正抗癌”理论相一致。

本研究尚存在许多不足之处,一是样本量不足,虽然治疗组和对照组的代谢物谱在化疗后发生的差异各不相同,2组临床疗效亦显示有参芪扶正液干预的治疗组略优于对照组,但差异不具有统计学意义,因此无法作代谢组学变化与疗效的相关性分析,目前仅限于探讨阶段;二是未设立健康组,文献报道提示乳腺癌患者本身与健康人的血清代谢组学存在差异,本研究所纳入均为乳腺癌患者,分为对照组和治疗组,结果两组化疗后的代谢组学差异仅表示参芪扶正液组与单纯化疗组之间存在差异,但却不能提示治疗组的代谢物谱是否更接近健康人;三是未详细评价治疗的不良反应,仅作疗效与代谢物改变的关系探讨,以上问题亟待进一步改进。

综上所述,根据本研究的代谢组学分析结果,重点围绕代谢物维生素K₂与参芪扶正液对化疗“增效”对扶正法抗肿瘤的机制展开论述,提示扶正法可能是通过维持肠道环境稳态,进而保护机体抗肿瘤的有利因子Vit K₂而实现抗癌目的的,有待进一步的研究验证。代谢组学作为一门新兴学科,仍有很多问题亟待解决,但随着其技术的不断成熟和研究的深入,代谢组学可越来越多地发现肿瘤发生及转移过程中关键的代谢产物,为肿瘤的靶向治疗开辟了新思路,真正实现肿瘤个体化治疗。

[参考文献]

- [1] 张硕,张莉,商洪才. 参芪扶正注射液对恶性肿瘤增效减毒作用的系统评价[J]. 中国执业药师, 2012, 9(12), 17-24.
- [2] Amalia H, Sasaki R, Suzuki Y, et al. Vitamin K₂-derived compounds induce growth inhibition in radioresistant cancer cells [J]. Kobe J Med Sci, 2010, 56(2): E38-49.
- [3] Xia J, Matsushashi S, Hamajima H, et al. The role of PKC isoforms in the inhibition of NF-κappaB activation by vitamin K₂ in human hepa-tocellular carcinoma cells[J]. J Nutr Biochem, 2012, 23(12): 1668-1675.
- [4] Ishizuka M, Kubota K, Shimoda M, et al. Effect of menatetrenone, a vitamin K₂ analog, on recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical resection: a

- prospective randomized controlled trial[J]. *Anti-cancer Res*, 2012, 2(12): 5415-5420.
- [5] Kitagawa J, Hara T, Tsurumi H, et al. Synergistic growth inhibition in HL-60 cells by the combination of acyclic retinoid and vitamin K₂[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(5): 779-787.
- [6] Wei-xinga Y, Huab C, Rong-zhoua LI. Effect of Vitamin K₂ and Benazepril Combination Therapy on Gastric Cancer in Nude Mice [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2012, 47(3): 186-189.
- [7] 蒋雨, 饶智国. 维生素 K₂ 抗肿瘤作用的研究进展[J]. *实用癌症杂志*, 2015, 30(1): 156-158.
- [8] van Summeren MJ, Braam LA, Lilien MR, et al. The effect of menaquinone-7(vitamin K₂) supplementation on osteocalcin carboxylation in healthy prepubertal children [J]. *Br J Nutr*, 2009, 102(8): 1171-1178.
- [9] Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, et al. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Arch Intern Med*, 2006, 166: 1256-1261.
- [10] Arancha Hevia, Susana Delgado, Borja Sánchez. Molecular Players Involved in the Interaction Between Beneficial Bacteria and the Immune System [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015(6): 1-8.
- (责任编辑: 刘淑婷)

二至丸合桂枝汤对绝经前 Luminal 型乳腺癌内分泌治疗患者 5-羟色胺及抑制素 B 水平的影响

杨慧芬, 罗华, 杨欧欧, 胡祖健, 何俊玲, 徐海滨

杭州市中医院乳腺科, 浙江 杭州 310006

[摘要] 目的: 观察二至丸合桂枝汤对绝经前 Luminal 型乳腺癌内分泌治疗患者 5-羟色胺 (5-HT) 及抑制素 B 水平的影响。方法: 将 96 例患者随机分为对照组 32 例及观察组 64 例。均采用他莫昔芬片, 每次 10 mg, 每天 2 次。对照组加用谷维素片, 每次 40 mg, 每天 3 次。观察组采用二至丸合桂枝汤加减内服, 每天 1 剂, 经期不停服。2 组疗程均为 3 个月经周期。绝经期症状采用改良 Kupperman 量表进行类更年期症状体征的分级量化评分, 于治疗前、治疗 4 周、8 周、12 周后各评价 1 次。检测治疗前后 5-HT 和抑制素 B 水平。结果: 经重复测量方差分析, 2 组 Kupperman 评分均呈下降趋势 ($P < 0.05$); 2 组间比较, 观察组在治疗后 8 周、12 周后 Kupperman 评分均低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 观察组治疗后 Kupperman 评分下降幅度大于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 治疗后 2 组患者血清 5-HT 和抑制素 B 水平均较治疗前升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 治疗后, 观察组血清 5-HT 和抑制素 B 水平均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 二至丸合桂枝汤加减治疗可有效缓解绝经前 Luminal 型乳腺癌患者内分泌治疗患者围绝经期症状, 其作用机制可能与调节 5-HT 和抑制素 B 水平有关。

[关键词] 乳腺癌; 内分泌治疗; 二至丸; 桂枝汤; Kupperman 评分; 5-羟色胺; 抑制素 B

[中图分类号] R737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2016) 12-0140-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.12.059

乳腺癌的发病率逐年升高, 是一种激素依赖性肿瘤, Luminal 型占 75%~80%, 绝经前患者约占半数以上, 内分泌治疗能通过改变乳腺癌生长所依赖的内分泌环境有效地抑制肿瘤生长, 但大部分患者会发生潮热等类更年期症状, 严重影

响患者的生活质量和治疗的依从性。前期笔者的研究结果显示采用二至丸合桂枝汤能有效改善 Luminal 型乳腺癌内分泌治疗后出现的潮热症状, 并能调节血清生殖分泌激素水平, 安全性好^[1-2]。研究认为, 5-羟色胺(5-HT)与乳腺癌患者睡眠、

[收稿日期] 2016-08-01

[基金项目] 浙江省中医药科技计划项目 (2014ZB098)

[作者简介] 杨慧芬 (1973-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合乳腺病。