

裘氏内异方对子宫腺肌病模型小鼠 MAPK/ERK1/2 信号通路的影响及机制研究

徐晓霞¹, 应翩², 张静³

1. 衢州市妇幼保健院妇科, 浙江 衢州 324000

2. 浙江省中医院妇科, 浙江 杭州 310006

3. 浙江萧山医院妇科, 浙江 杭州 311202

[摘要] 目的: 探讨裘氏内异方对子宫腺肌病模型小鼠丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶 1/2 (MAPK/ERK1/2) 信号通路的影响及作用机制。方法: 将 60 只 8 周龄未孕 ICR 雌性小鼠随机分为假手术组、模型组、阳性对照组 (3.60 g/kg 孕三烯酮) 和中药低、中、高剂量组 (1.80、3.60、7.20 g/kg 裘氏内异方) 各 10 只。采用子宫内膜组织形态学评分评估各组小鼠子宫内膜组织形态学病理改变; 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测各组小鼠子宫组织雌激素 (E₂)、雌激素受体 (ER)、细胞凋亡相关蛋白 [半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)、Bcl 相关蛋白 (Bax)、B 淋巴细胞瘤-2 (bcl-2)] 表达水平; Western Blot 法检测各组小鼠子宫组织丝裂原活化蛋白激酶 (MEK-2)、细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2)、核转录因子 (NF-κB)、原癌基因 (c-jun)、即早基因 (c-fos) 蛋白表达。结果: 与假手术组比较, 模型组小鼠子宫内膜组织形态评分升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药低、中、高剂量组小鼠和阳性对照组小鼠的子宫内膜组织形态学评分均降低 ($P < 0.05$), 且中药组小鼠子宫内膜组织形态评分呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$)。与假手术组比较, 模型组小鼠子宫组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$), bcl-2、E₂、ER、MEK-2、ERK1/2、NF-κB、c-fos、c-jun 蛋白表达均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药低、中、高剂量组及阳性对照组小鼠子宫组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), bcl-2、E₂、ER、MEK-2、ERK1/2、NF-κB、c-fos、c-jun 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 且中药组小鼠子宫组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达呈剂量依赖性升高 ($P < 0.05$), bcl-2、E₂、ER、MEK-2、ERK1/2、NF-κB、c-fos、c-jun 蛋白表达呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$)。结论: 裘氏内异方对小鼠子宫腺肌病有治疗作用, 其作用机制与调节小鼠子宫组织中 MAPK/ERK1/2 信号通路相关蛋白的表达及促进小鼠子宫组织细胞凋亡有关。

[关键词] 子宫腺肌病; 裘氏内异方; 丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶; 信号通路; 细胞凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2023) 13-0022-07

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2023.13.004

Effect of QIU's Neiyi Prescription on MAPK/ERK1/2 Signaling Pathway of Adenomyosis Model Mice and Its Mechanism Study

XU Xiaoxia¹, YING Pian², ZHANG Jing³

1. Department of Gynecology, Quzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Quzhou Zhejiang 324000, China; 2. Department of Gynecology, Zhejiang Provincial Hospital of Chinese Medicine, Hangzhou Zhejiang 310006, China; 3. Department of Gynecology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou Zhejiang 311202, China

Abstract: Objective: To investigate the effect of QIU's Neiyi Prescription on mitogen-activated protein

[收稿日期] 2022-02-06

[修回日期] 2023-04-06

[基金项目] 浙江省中医药科技计划项目 (2020ZB098)

[作者简介] 徐晓霞 (1985-), 女, 主治医师, E-mail: ddgzsljk@163.com。

[通信作者] 应翩 (1985-), 女, 主治医师, E-mail: pianyingp@163.com。

kinase/extracellular regulated protein kinase1/2 (MAPK/ERK1/2) signaling pathway of adenomyosis model mice and its mechanism. **Methods:** A total of 60 cases of eight-week-old non-pregnant female ICR mice were randomly divided into the sham-operation group, the model group, the positive control group (3.60 g/kg gestrinone), and the low-dose, medium-dose and high-dose Chinese medicine groups (1.80, 3.60, 7.20 g/kg QIU's Neiyi Prescription), with 10 mice in each group. The pathological changes in histomorphology of endometrium in mice were evaluated by endometrial histomorphological scores; the expression levels of estrogen (E_2), estrogen receptor (ER), and apoptosis-related proteins [cysteine-specific proteinase-3 (Caspase-3), the Bcl-related protein (Bax), B cell lymphoma-2 (bcl-2)] in uterine tissue of mice in each group were detected by ELISA; the mitogen-activated protein kinase (MEK-2), extracellular regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2), nuclear transcription factor (NF- κ B), proto-oncogene (c-jun) and immediate early gene (c-fos) in uterine tissue of mice in each group were detected by Western Blot. **Results:** The endometrial histomorphological score in the model group was increased when compared with that in the sham-operation group ($P < 0.05$); the endometrial histomorphological scores of mice in the low-dose, medium-dose and high-dose Chinese medicine groups and the positive control group were decreased when compared with those in the model group, and the endometrial histomorphological scores in the Chinese medicine groups were decreased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). When compared with those in the sham-operation group, the protein expressions of Caspase-3, Bax in uterine tissue of mice in the model group were decreased ($P < 0.05$), the protein expressions of bcl-2, E_2 , ER, MEK-2, ERK1/2, NF- κ B, c-fos and c-jun were increased ($P < 0.05$). When compared with those in the model group, the protein expressions of Caspase-3, Bax in uterine tissue of mice in the low-dose, medium-dose and high-dose Chinese medicine groups and the positive control group were increased ($P < 0.05$); the protein expressions of Bax, E_2 , ER, MEK-2, ERK1/2, NF- κ B, c-fos and c-jun were decreased ($P < 0.05$); the protein expressions of Caspase-3, Bax in uterine tissue of mice in the Chinese medicine groups were increased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$); the protein expressions of bcl-2, E_2 , ER, MEK-2, ERK1/2, NF- κ B, c-fos and c-jun were decreased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). **Conclusion:** QIU's Neiyi Prescription has a therapeutic effect on mice with adenomyosis, and its action mechanism is related to regulating the expressions of MAPK/ERK1/2 signaling pathway-related proteins in uterine tissue of mice and promoting cell apoptosis in adenomyosis lesion tissue of mice.

Keywords: Adenomyosis; QIU's Neiyi Prescription; Mitogen-activated protein kinase / extracellular regulated protein kinase 1/2; Signaling pathway; Apoptosis

子宫腺肌病(AM)是子宫内膜腺体及间质侵入子宫肌层形成局灶性或弥漫性病变, 临床治疗困难, 严重影响患者生活质量及身心健康^[1]。临床上常应用达那唑、孕三烯酮等药物治疗 AM, 但效果不理想, 会出现体质量增加、器质性乳房萎缩等不良反应^[2]。中医将 AM 归属于痛经、不孕、癥积等范畴, 裘氏妇

科认为 AM 随月经周期而发作, 该病机为素体肾虚, 经血逆流胞宫, 瘀久化热, 瘀热互结, 蕴结络脉肌肉之间, 以活血化瘀为主要治疗原则, 并在此基础上创立了裘氏内异方。裘氏内异方有活血化瘀、通经止痛作用, 被广泛应用于 AM 的治疗^[3]。本研究通过建立 AM 小鼠模型, 探讨裘氏内异方治疗 AM 的作

用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF级, 8周龄未孕ICR雌性小鼠60只, 体重(28.40±2.60)g, 购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[动物合格证号: SYXK(浙)2018-0012], 所有小鼠饲养环境: 12 h交替光照, 自由进食、进水, 室温22~25℃。

1.2 药物与试剂 孕三烯酮(秦皇岛紫竹药业有限公司, 国药准字H19980003); 半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)(生产批号: AD62399)、Bcl相关蛋白(Bax)(生产批号: AD20004)、B淋巴细胞瘤-2(bcl-2)(生产批号: AD20257)、雌激素(E₂)(生产批号: 69-21895)、雌激素受体(ER)(生产批号: 69-21895)、酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒均购自武汉艾迪抗生物科技有限公司。BCA蛋白定量分析试剂盒(Beyotime 生物科技股份有限公司, 生产批号: S20133223), ECL超敏化学发光液(上海优宁维生物科技股份有限公司, 生产批号: A10017S), 丝裂原激活化蛋白激酶(MEK-2)[博奥森(BIOSS), 生产批号: BS-6301R-200UL]、细胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)(江苏艾迪生生物科技有限公司, 生产批号: ADS-G00170B)、核转录因子(NF-κB)(上海沪峥生物科技有限公司, 生产批号: HZK-10520)、原癌基因(c-jun)(华大基因, 生产批号: D102A)、即早基因(c-fos)蛋白(广州奥瑞达生物科技有限公司, 生产批号: ARD10276)、β-actin抗体(上海优宁维生物科技股份有限公司, 生产批号: abs132001)。

1.3 主要仪器 Mini-PROTEAN Tetra 垂直电泳仪(Bio-Rad Laboratories公司); S-2700扫描电子显微镜(日立公司); 伯乐680酶标仪(Bio-Rad Laboratories公司); 5424R台式离心机(Eppendorf公司); Syngene GeneGenius全自动凝胶成像系统(Syngene公司)。

1.4 裘氏内异方制备 取藤梨根、野葡萄根、忍冬藤、白毛藤各15 g, 半枝莲、土茯苓、红藤各12 g, 皂角刺、威灵仙、鳖甲各10 g, 龙葵、夏枯草、莪术各9 g。加纯水浸泡30 min后, 煮沸, 煎煮2次, 第1次煎煮30 min, 第2次煎煮40 min, 合并2次滤

液, 采用旋转蒸发仪浓缩药物为生药量1 g/mL, 于-20℃冰箱保存备用。

1.5 动物造模 采用右侧子宫内脑垂体移植术建立AM小鼠模型^[4], 麻醉小鼠, 下腹正中纵行切口2 cm, 分离出右侧子宫, 在距两子宫连接0.5 cm处剪1小口。另外取同周龄的ICR雄鼠, 处死后取出脑垂体, 分成4份, 将其中1份垂体从小切口放入右侧子宫内。将子宫放回腹腔后, 常规关腹。造模后AM每天早晨9时取小鼠阴道分泌物, 采用己氏法染色, 于显微镜下观察小鼠的动情周期。出现大片无核角化鳞状细胞, 细胞大而扁平, 边缘不整齐, 视野中看不到或很少白细胞说明处于动情周期。手术室无菌获取标本, 手术刀切开子宫后壁, 一般病灶位于子宫后壁, 切取标本, 放入冰水缓冲液中冲洗, 术后病理检查结果不符合者及时剔除。成模标准为子宫大体观察发现颗粒状结节、HE染色观察到肌层改变或者糖类抗原125、血清催乳素水平升高。

1.6 分组与给药 将符合标准的50只AM模型小鼠按照随机数字表法分成模型组、阳性对照组和中药低、中、高剂量组, 每组10只; 另取10只8周龄未孕ICR雌性小鼠作为假手术组, 假手术组单纯进行小鼠子宫剪开操作, 不放入垂体造模。参考文献[3]中的灌胃剂量, 中药低、中、高剂量组小鼠的裘氏内异方灌胃剂量分别为1.80、3.60、7.20 g/kg; 阳性对照组小鼠的孕三烯酮灌胃剂量为3.60 g/kg; 假手术组与模型组灌胃等量0.9%氯化钠溶液, 连续灌胃4周。

1.7 观察指标

1.7.1 小鼠子宫内膜组织形态学评分 末次给药24 h后, 颈椎脱臼处死小鼠, 剖腹取出异常组织, 将其组织固定、脱水、包埋、切片、HE染色。子宫内膜组织形态学评分标准^[5]: 显微镜下观察, 正常子宫表现(0分); 显微镜下可见内膜间质细胞浸润深达肌肉内层(1分); 腺肌病灶的内膜间质、腺体组织发生浸润, 并且深达肌肉内层(2分); 腺肌病灶的内膜间质、腺体组织发生浸润, 并且深达内外层肌层组织的交界处(3分); 腺肌组织中出现内膜腺体囊性增生, 浆膜层下观察发现结节形成(4分)。

1.7.2 Western Blot 法检测 MAPK/ERK1/2 信号通路相关蛋白表达水平 取小鼠子宫组织,在冰上加入裂解液进行组织裂解,离心提取蛋白,采用 BCA 法进行蛋白浓度测定,蛋白变性。取样品 40 μg ,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,将蛋白转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。PVDF 膜加入封闭液封闭 2 h,洗膜,加入一抗(抗体浓度 1:1 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;洗膜,加入二抗(抗体浓度 1:3 000),室温孵育 1.5 h;TBST 洗膜,滴入发光液,进行凝胶成像系统显影。以 β -actin 为内参,采用 Image lab 软件分析蛋白表达量。

1.7.3 ELISA 检测子宫组织 Caspase-3、Bax、bcl-2、E₂、ER 水平 取小鼠子宫内膜组织,按照试剂盒步骤进行操作,测定子宫组织 Caspase-3、Bax、bcl-2、E₂、ER 水平。

1.8 统计学方法 用 SPSS21.0 软件进行数据处理,计量资料经正态性检验,均符合正态分布,采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较,采用 LSD- t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠子宫内膜组织形态学评分比较 见表 1、图 1。假手术组小鼠子宫内膜组织形态完全正常,评分为 0 分。与假手术组比较,模型组小鼠子宫内膜组织可见内膜间质细胞浸润深达肌肉内层,腺肌组织中出現内膜腺体囊性增生,浆膜层下观察发现结节形成,子宫内膜组织形态学评分显著升高($P<0.05$);与模型组比较,中药低、中、高剂量组小鼠和阳性对照组小鼠的子宫内膜组织病理形态得到显著改善,子宫内膜形态学评分降低($P<0.05$),且随着中药剂量增加,中药组小鼠子宫内膜组织形态学评分呈剂量依赖性降低($P<0.05$)。

2.2 各组小鼠子宫组织凋亡相关蛋白表达比较 见表 2。与假手术组比较,模型组小鼠子宫组织 Caspase-3、Bax 蛋白表达显著降低($P<0.05$),bcl-2 蛋白表达显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,中药低、中、高剂量组及阳性对照组小鼠子宫组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达升高($P<0.05$),bcl-2 蛋白表达降低($P<0.05$),且随着中药剂量的增加,各中药组小鼠子宫组织中 Caspase-3、Bax 蛋白表达呈剂

量依赖性升高($P<0.05$),bcl-2 蛋白表达呈剂量依赖性降低($P<0.05$)。

表 1 各组小鼠子宫内膜组织形态学评分比较($\bar{x}\pm s$) 分

组别	鼠数	组织形态学评分
假手术组	10	0
模型组	10	3.16 $\pm$ 0.64 ^①
阳性对照组	10	2.33 $\pm$ 0.57 ^②
中药低剂量组	10	2.70 $\pm$ 0.51 ^②
中药中剂量组	10	2.44 $\pm$ 0.54 ^{②③}
中药高剂量组	10	1.80 $\pm$ 0.40 ^{②③④}

注:①与假手术组比较, $P<0.05$;②与模型组比较, $P<0.05$;③与中药低剂量组比较, $P<0.05$;④与中药中剂量组比较, $P<0.05$

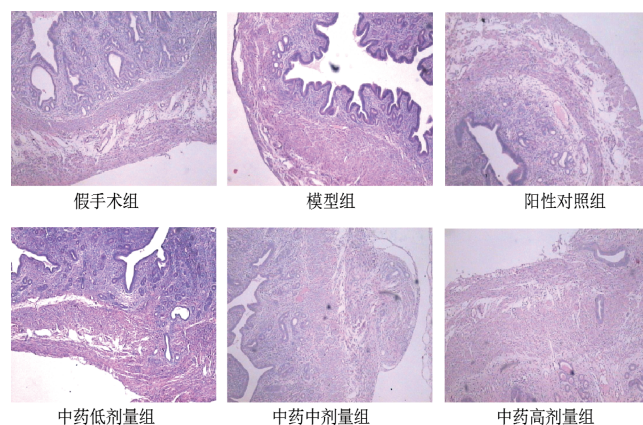


图 1 各组小鼠子宫内膜组织 HE 染色图($\times 40$)

表 2 各组小鼠子宫组织凋亡相关蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$) $\mu\text{g/L}$

组别	鼠数	Caspase-3	bcl-2	Bax
假手术组	10	116.41 $\pm$ 23.73	11.30 $\pm$ 3.01	67.40 $\pm$ 13.02
模型组	10	13.94 $\pm$ 8.56 ^①	54.90 $\pm$ 15.72 ^①	20.00 $\pm$ 6.31 ^①
阳性对照组	10	76.02 $\pm$ 9.28 ^②	14.00 $\pm$ 3.90 ^②	64.00 $\pm$ 13.85 ^②
中药低剂量	10	35.42 $\pm$ 6.23 ^②	38.80 $\pm$ 7.83 ^②	28.51 $\pm$ 4.43 ^②
中药中剂量	10	55.02 $\pm$ 9.31 ^{②③}	25.11 $\pm$ 6.04 ^{②③}	41.02 $\pm$ 9.71 ^{②③}
中药高剂量	10	74.02 $\pm$ 15.21 ^{②③④}	13.62 $\pm$ 4.40 ^{②③④}	62.53 $\pm$ 14.12 ^{②③④}

注:①与假手术组比较, $P<0.05$;②与模型组比较, $P<0.05$;③与中药低剂量组比较, $P<0.05$;④与中药中剂量组比较, $P<0.05$

2.3 各组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达比较 见表 3。与假手术组比较,模型组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达明显升高($P<0.05$);与模型组比较,中药低、中、高剂量组及阳性对照组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达显著降低($P<0.05$),且随着中药剂量的增加,各中药组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达

呈剂量依赖性降低($P < 0.05$)。

表3 各组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$) $\mu\text{g/L}$

组别	鼠数	E ₂	ER
假手术组	10	74.01 ± 18.20	31.02 ± 9.84
模型组	10	225.77 ± 37.41 ^①	82.01 ± 17.00 ^①
阳性对照组	10	115.85 ± 25.04 ^②	35.13 ± 8.51 ^②
中药低剂量组	10	201.72 ± 33.57 ^②	67.42 ± 11.67 ^②
中药中剂量组	10	156.36 ± 35.21 ^{②③}	52.02 ± 12.46 ^{②③}
中药高剂量组	10	98.02 ± 18.68 ^{②③④}	34.84 ± 9.22 ^{②③④}

注: ①与假手术组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$; ③与中药低剂量组比较, $P < 0.05$; ④与中药中剂量组比较, $P < 0.05$

2.4 各组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达比较 见表4、图2。与假手术组比较, 模型组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达均明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药低、中、高剂量组及阳性对照组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达显著降低($P < 0.05$), 且随着剂量增加, 中药组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达呈剂量依赖性降低($P < 0.05$)。

表4 各组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	MEK-2/ β -tublin	ERK1/2/ β -tublin
假手术组	10	0.37 ± 0.11	0.32 ± 0.10
模型组	10	1.87 ± 0.32 ^①	0.94 ± 0.17 ^①
阳性对照组	10	0.41 ± 0.05 ^②	0.48 ± 0.08 ^②
中药低剂量组	10	1.18 ± 0.23 ^②	0.82 ± 0.16 ^②
中药中剂量组	10	0.91 ± 0.35 ^{②③}	0.67 ± 0.15 ^{②③}
中药高剂量组	10	0.44 ± 0.15 ^{②③④}	0.50 ± 0.11 ^{②③④}

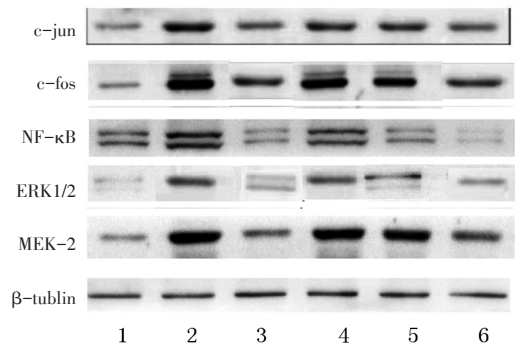
注: ①与假手术组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$; ③与中药低剂量组比较, $P < 0.05$; ④与中药中剂量组比较, $P < 0.05$

2.5 各组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达比较 见表5、图2。与假手术组比较, 模型组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 低、中、高剂量组及阳性对照组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达降低($P < 0.05$), 且随着中药剂量增加, 中药组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达呈剂量依赖性降低($P < 0.05$)。

表5 各组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	NF- κ B/ β -tublin	c-fos/ β -tublin	c-jun/ β -tublin
假手术组	10	0.58 ± 0.12	0.72 ± 0.22	0.43 ± 0.11
模型组	10	1.16 ± 0.23 ^①	2.13 ± 0.54 ^①	1.22 ± 0.25 ^①
阳性对照组	10	0.72 ± 0.16 ^②	0.80 ± 0.19 ^②	0.47 ± 0.16 ^②
中药低剂量组	10	1.11 ± 0.13 ^②	1.63 ± 0.48 ^②	0.94 ± 0.27 ^②
中药中剂量组	10	0.90 ± 0.15 ^{②③}	1.28 ± 0.33 ^{②③}	0.70 ± 0.22 ^{②③}
中药高剂量组	10	0.64 ± 0.14 ^{②③④}	0.78 ± 0.21 ^{②③④}	0.50 ± 0.14 ^{②③④}

注: ①与假手术组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$; ③与中药低剂量组比较, $P < 0.05$; ④与中药中剂量组比较, $P < 0.05$



注: 1 为假手术组; 2 为模型组; 3 为阳性对照组; 4 为中药低剂量组; 5 为中药中剂量组; 6 为中药高剂量组

图2 各组小鼠子宫组织 MAPK 信号通路相关蛋白条带图

3 讨论

AM 是以经量增多、经期延长为主要特征的妇科疾病, 严重危害女性健康。目前, 西医治疗 AM 以子宫切除或激素药物治疗为主, 但是子宫切除创伤较大, 激素治疗不良反应多且易复发^[6-7]。中医将 AM 归属于症瘕、痛经范畴, 脾阳受损, 痰湿内生, 肝气不顺逆行, 脾气消耗受损, 气虚无力使血行瘀滞, 停留在局部形成包块, 导致 AM 发生。本研究采用的裘氏内异方为浙江省名中医裘笑梅治疗 AM 的经验方, 有活血化瘀、清热止痛功效。本研究发现中药组和阳性对照组小鼠子宫内膜组织形态学评分均低于模型组小鼠, 且中药组随着裘氏内异方灌胃药物剂量增加, 小鼠子宫内膜组织形态学评分越低, 提示中医裘氏内异方能够改善 AM 模型小鼠的子宫组织形态。

研究发现细胞凋亡在 AM 的疾病进展过程中发挥

重要作用, Bcl-2 在 AM 的异位内膜上皮中存在明显升高的周期性表达^[8-9]。本研究结果显示, 给药组小鼠子宫组织 Caspase-3、Bax 蛋白表达高于模型组, bcl-2 蛋白表达显著低于模型组, 且中药组凋亡相关因子呈剂量依赖性改变, 提示裘氏内异方可以通过促进小鼠子宫组织细胞凋亡来改善小鼠子宫腺肌病变。现代研究发现大血藤、忍冬藤、鸡血藤、丹参等清热解毒、活血化瘀类药物能够对人体促凋亡因子及抗凋亡因子表达进行调控, 促进炎症细胞凋亡, 降低炎症反应对子宫内膜组织损伤^[9]。研究发现裘氏内异方含药血清能够剂量依赖性抑制内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成能力, 减少炎症因子的浸润^[10]。

本研究结果显示, 中药组和阳性对照组小鼠子宫组织 E₂、ER 蛋白表达均低于模型组, 提示裘氏内异方能够有效调节 AM 小鼠体内雌激素和受体平衡。前人研究发现裘氏内异方可以降低雌激素效应相关因子芳香化酶细胞色素 P450 表达, 阻断雌激素生成的正反馈通路, 可下调在位及异位内膜雌激素受体和雌激素代谢相关酶表达, 减轻异常雌激素效应^[11]。结合本研究结果, 表明裘氏内异方有助于平衡血管形成刺激因子和抑制因子, 但不会抑制在位内膜正常血管增生的生理过程, 发挥抑制子宫内膜细胞内 ER、孕激素受体合成的作用, 进而促进 AM 消退。

研究发现 AM 的发展过程中有多种细胞因子、转移因子参与, 其中 MAPK 信号通路中生长因子与细胞膜受体结合, 引起膜受体二聚化、氨基酸残基磷酸化激活细胞膜内侧通路, 磷酸化后启动核内转录因子表达促进 AM 进展^[12]。本研究结果显示, 中药组小鼠子宫组织 MEK-2、ERK1/2 蛋白表达均低于模型组, 提示裘氏内异方能调节 AM 小鼠 MAPK/ERK1/2 信号通路。研究发现裘氏内异方所含药物的一种提取成分 3, 4-二羟基苯乙醇糖苷可以抑制小鼠急性肺损伤模型和 MH-S 细胞中促炎细胞因子的产生, 降低 NF- κ B 信号转导与转录激活因子 3(STAT3)和 p38 MAPK 的激活, 说明裘氏内异方可以抑制 MAPK/ERK1/2 通路^[13]。NF- κ B 是所有核细胞信号传导通路中的重要核转录因子, 在炎症反应、细胞凋亡、免疫应答等的调节中发挥重要作用^[14]。c-fos、c-jun 均

属于核内原癌基因, 可在数十分钟内对外界刺激作出反应, 与细胞增殖相关, 能调控细胞的分化和发育^[15]。NF- κ B、c-fos、c-jun 的表达增多可以促进炎症细胞生长、增殖、分化等多种生物学效应^[16]。本研究发现中药组和阳性对照组小鼠子宫组织 NF- κ B、c-fos、c-jun 蛋白表达均低于模型组, 并与裘氏内异方灌胃药物剂量成反比。药理研究发现威灵仙提取物可通过抑制体外脂多糖诱导 RAW264.7 巨噬细胞分泌一氧化氮、TNF- α 等多种促炎介质的产生发挥抗炎作用^[17]; 夏枯草通过抑制 ERK1/2 信号通路来发挥抗肿瘤作用^[18]。

综上所述, 裘氏内异方治疗 AM 小鼠具有较好的实验效果, 其作用机制与调节子宫 MAPK/ERK1/2 信号通路相关蛋白水平, 促进子宫腺肌细胞凋亡有关。

[参考文献]

- [1] 张冬雅, 郭红军, 邱海峰. GnRH- α 联合曼月乐治疗子宫腺肌症患者的疗效及对血清复发相关指标的影响[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(1): 95-98.
- [2] 王宇慧, 武俊丽. 雌激素介导的上皮-间充质转化在子宫腺肌病中的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(1): 34-39.
- [3] 朱迎萍, 吴燕平. 裘氏内异方对子宫内膜异位症大鼠 MMP-2、TIMP-2 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(3): 644-646, 716-717.
- [4] 裘琳, 许泓, 张信美. 小鼠子宫腺肌病模型病灶中雌孕激素受体的表达及意义[J]. 浙江医学, 2013, 35(7): 533-536.
- [5] 朱月明. 中医辨证调质对子宫内膜容受性不良不孕症的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [6] 卢玉娟、王愚、杨志玲. 腹腔镜下子宫中心体切除术联合促性腺激素释放激素激动剂在子宫腺肌病治疗中的应用[J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(10): 108-113.
- [7] 陶娅玲, 王欢, 陈思宇, 等. 子宫腺肌病 EMI 微环境变化与 TGF β 1 的相关性研究[J]. 重庆医学, 2020, 49(4): 7-11.
- [8] 赵静, 周江妍, 万腊根. 莪术醇对子宫腺肌症异位子宫内膜间质细胞增殖、凋亡及迁移的影响[J]. 南昌大学学报(医学版), 2019, 59(4): 12-16.
- [9] 李俊妍, 马燕燕, 郑伟. Beclin 1、Bcl-2 与子宫腺肌病发病关系的研究[J]. 医学综述, 2017, 23(24): 4807-4811.
- [10] 杨华娣, 夏梦婷, 吴燕平, 等. 裘氏内异方含药血清对人脐静脉内皮细胞血管新生活性的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(10): 2545-2547.
- [11] 李慧, 朱群飞, 杨华娣, 等. 浙派裘氏妇科治疗子宫内膜异位症的共性规律及常用药对分子机制的研究[J]. 浙江中医药大学学

- 报, 2021, 45(2): 153-166, 170.
- [12] 江红, 杨冰. 子宫腺肌症相关信号通路的研究进展[J]. 华夏医学, 2016, 29(6): 151-155.
- [13] ZHUO Y, LI D, CUI L, et al. Treatment with 3, 4-dihydroxy-phenylethyl alcohol glycoside ameliorates sepsis-induced ALI in mice by reducing inflammation and regulating M1 polarization[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 116: 109012.
- [14] ZHU G, CHENG Z, LIN C, et al. MyD88 Regulates LPS-induced NF- κ B/MAPK Cytokines and Promotes Inflammation and Malignancy in Colorectal Cancer Cells[J]. Cancer Genomics Proteomics, 2019, 16(6): 409-419.
- [15] 陶娅玲, 朱亮亮, 邹嘉乐, 等. 子宫腺肌病小鼠子宫内膜基底/功能层上皮细胞、间质细胞、平滑肌细胞中 ROCK1 蛋白表达观察[J]. 山东医药, 2019, 59(18): 6-9.
- [16] 李斌. 转录因子 NF- κ B 和 AP-1 表达调控在子宫腺肌病中的作用[D]. 上海: 复旦大学, 2011.
- [17] 刘光耀, 王海燕, 白彩虹, 等. 威灵仙不同提取部位对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成及 iNOS 和 TNF- α 表达的影响[J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2014, 36(3): 102-107.
- [18] 刘新奎. 夏枯草对淋巴瘤细胞生长的抑制作用及其机制[D]. 河南: 郑州大学, 2010.

(责任编辑: 冯天保, 沈崇坤)