

中药单体调控自噬干预胚胎植入的研究进展

周芷聿¹, 师伟^{2*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

[摘要] 胚胎植入是生殖过程中最关键的步骤之一, 植入失败的胚胎无法继续发育, 是导致不孕的重要原因之一。胚胎植入的成功依赖于子宫内膜的高容受性和具有植入能力的胚胎。自噬是细胞质、细胞器和内含物被双膜囊泡吸收并运输到溶酶体进行降解和再循环的过程, 是一种维持内环境稳态的方式。大量证据表明, 自噬在胚胎植入的各个环节有着重要的作用。基于此探讨了自噬与子宫内膜容受性和胚胎植入能力的关系, 并根据最新的研究进展, 梳理了大黄素、梓醇、芍药苷、白藜芦醇、叶酸、玉米赤霉烯酮、姜黄素、汉黄芩素、槲皮素、白杨素、小檗碱、芹菜素、菲西汀、山柰酚在内的14种中药单体调控自噬干预胚胎植入的不同环节的5个机制, 包括促进子宫内膜基质细胞蜕膜化、促进细胞凋亡、调节激素水平、协调炎症、促进排卵, 希望对今后中药单体提高胚胎植入的成功率提供参考及思路。

[关键词] 胚胎植入; 自噬; 中药单体; 影响机制; 综述

[中图分类号] R714.12; R285; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)04-0253-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230112

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20221128.0947.002.html>

[网络出版日期] 2022-11-28 13:38:29

Autophagy Regulated by Chinese Medicine Monomers in Embryo Implantation: A Review

ZHOU Zhiyu¹, SHI Wei^{2*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250014, China;

2. Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China)

[Abstract] Embryo implantation is one of the most critical steps in the reproductive process. The failure of embryo implantation to continue development is one of the important reasons leading to infertility. The success of embryo implantation depends on the high receptivity of endometrium and the embryo with implantation ability. Autophagy is a process in which cytoplasm, organelles, and inclusions are absorbed by double-membrane vesicles and transported to lysosomes for degradation and recycling, which is a way to maintain the homeostasis. A large amount of evidence have shown that autophagy plays an important role in all aspects of embryo implantation. Based on this, this paper explored the relationship between autophagy and endometrial receptivity and embryo implantation ability. According to the latest research progress, this paper combed 5 mechanisms (promotion of decidualization of endometrial stromal cells, promotion of apoptosis, regulation of hormone levels, coordination of inflammation, and promotion of ovulation) of 14 kinds of Chinese medicine monomers, including emodin, catalpol, paeoniflorin, resveratrol, folic acid, zearalenone, curcumin, wogonin, quercetin, chrysin, berberine, apigenin, phisetine, and kaempferol, in regulating different links of autophagy intervention in embryo implantation. This paper is expected to provide references and ideas for future Chinese medicine monomers to improve the success rate of embryo implantation.

[收稿日期] 2022-09-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81873330);山东省中医药高层次人才培养项目(鲁卫函[2022]73号)

[第一作者] 周芷聿, 在读硕士, 从事中医药防治妇科痛证与血证的研究, E-mail: Yyjy39206@163.com

[通信作者] * 师伟, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治妇科痛证与血证的研究, E-mail: sw19781214@163.com

[Keywords] embryo implantation; autophagy; Chinese medicine monomers; influence mechanism; review

不孕症是全球公共卫生问题之一,据调查显示,全世界8%~12%的育龄期夫妇患有不孕症^[1],给人类社会带来了巨大的负担。目前我国的妊娠率约为30%,仍处于较低水平,妊娠早期的胚胎植入失败占总妊娠损失的75%^[2],顺利的胚胎植入过程成为了产前发育启动的关键性步骤。其机制是在特定且有限的时间内,子宫内膜发生形态、分子、生化上的适当变化,即高耐受性的子宫内膜与发育良好的囊胚进行动态结合^[3-4]。因此,子宫内膜的耐受性和胚胎的着床能力成为胚胎植入成功的先决条件。在植入的过程中子宫内膜上皮细胞的接受性会明显提高,同时子宫内膜基质细胞会发生蜕膜化,这些变化使子宫内膜具有接受胚胎的能力^[5]。不仅如此,多种物质如生长因子、激素、细胞因子等分子之间同步的相互作用^[6],以及子宫内膜的自噬失调、细胞凋亡、炎症反应、激素水平降低等因素,均会影响子宫内膜的耐受性。而成功植入的另一条件即胚胎良好的着床能力,则离不开卵巢提供的发育成熟的卵泡。其中任何一个环节的缺失均会导致胚胎植入的失败。

目前对于不孕症的治疗,尽管辅助生殖技术已经有了很大的进步,但移植胚胎的植入成功率并不高^[7-8]。虽然进行了诸多干预,包括生长因子治疗、免疫治疗、富含血小板的血浆输注等,以期提高植入率^[8-11],然而对于子宫内膜耐受性和胚胎发育的改善非常有限^[12]。现代药理研究表明,中医药在提高胚胎植入率方面可发挥多重作用,前瞻性、多中心、随机、双盲、安慰剂对照的临床试验及系统评价均证实了其有效性和较少的不良反应^[13-14]。而中药单体因其成分简单、疗效确切得到了广泛关注。随着对胚胎植入机制的深入研究和中药单体应用领域的不断拓展,许多人已经意识到中药单体调控自噬改善胚胎植入具有巨大的潜力,并且在相关实验中取得了较为显著的成果^[15]。通过检索近五年内中国知网、PubMed、Web of Science数据库中有关研究,共整理相关中药单体14种,并根据其作用机制分为以下5类,提高子宫内膜基质细胞蜕膜化、促进细胞凋亡、调节激素水平、协调炎症、促进排卵,本文就以上5种机制,对自噬作为中药单体干预、调控胚胎植入的新途径进行综述。

1 自噬与胚胎植入

自噬是一种维持正常的细胞内环境平衡和能量水平的不可或缺的机制,通过溶酶体介导的降解途径,可以清除蛋白质内含物、受损的细胞器、细胞内病原体、不必要的蛋白质^[16-18]。近几年的数据积累显示,子宫内膜自噬过程会维持子宫内膜内环境的平衡,在子宫内膜的各种生理和病理条件中都起着关键作用^[19],对于早期妊娠的胚胎植入也至关重要^[20]。自噬的过程分为自噬启动、自噬体成核、自噬体成熟、自噬体降解几个阶段。首先自噬启动中最重要的两个途径分别是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和AMP活化蛋白激酶(AMPK)通路,当ATP缺乏时,AMPK激活自噬,而mTOR抑制自噬,这两种途径通过Unc-51样激酶1(ULK1)不同丝氨酸残基的磷酸化或激活的AMPK与mTOR相互抗衡严格调控自噬的启动。当氨基酸缺乏时,自噬在细胞膜上启动,mTOR复合物1(mTORC1)与ULK复合物解离并被激活,导致ULK1和ULK2增加,ULK复合物与膜结合并磷酸化Ⅲ类磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K-Ⅲ)复合物^[21]。PI3K-Ⅲ复合物激活Beclin1复合物中的Vps34脂质激酶生成磷脂酰肌醇3,4,5-三磷酸(PI3P),并招募Atg蛋白和自噬特异性PI3P效应器,介导自噬体的形成。在膜上Atg12-Atg5-Atg16L1复合物(也称为Atg16L1复合物)形成微管相关蛋白1轻链3(LC3)。在自噬中LC3的其中一个副产物LC3b^[22]被广泛用作自噬体标记,在Atg3、Atg4的作用下裂解形成胞质LC3bI,并在Atg16L1复合物的作用下与磷脂酰乙醇胺(PE)结合形成LC3bⅡ。最终存在于细胞膜内的自噬适配器(p62)可与LC3bI结合,介导底物与自噬体的结合,并与底物一起被溶酶体降解、回收,而位于自噬体外膜的LC3bⅡ被释放到细胞质中并循环利用^[23]。这一动态循环过程被称为自噬通量。Beclin1复合物、LC3bⅡ水平升高及p62水平降低,表示自噬通量水平升高,相反则表示水平降低。见图1。

很少有证据表明胚胎植入过程中存在自噬,SU等^[20]在胚胎植入过程中检测到自噬相关标记物p显著降低。相较于增生期和分泌期的子宫内膜,蜕膜中的LC3显著升高,p62蛋白显著降低,这些差异体现了自噬在胚胎植入的蜕膜化过程中有重要作用。

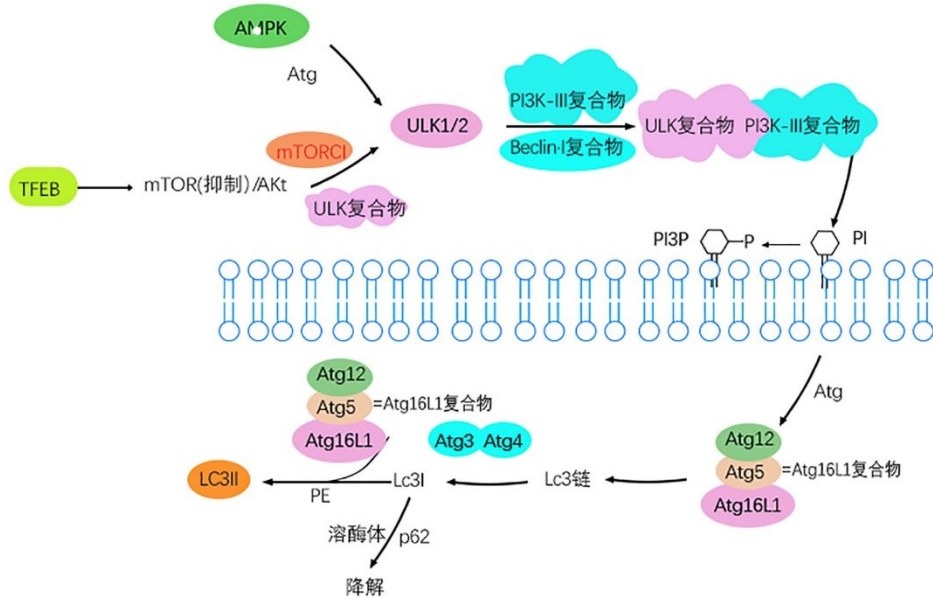


图1 自噬过程
Fig. 1 Autophagy process

最近通过废除关键的自噬蛋白FIP200和,发现缺少自噬过程的小鼠蜕膜化能力明显降低^[24]。在正常情况下,分泌期子宫内膜基质细胞s的自噬水平明显高于增殖期^[19],此时的子宫内膜呈现高容受性。然而,以不孕为特征的子宫内膜异位症患者的病灶中,子宫内膜基质细胞的自噬水平在月经周期中无明显的变化^[25]。子宫内膜的周期性变化和自噬的循环特性,可以被认为自噬在子宫内膜的容受性中起着关键作用。哺乳动物在排卵前会形成数百万个生殖细胞,但只有少数细胞最终形成具有减数分裂能力的卵母细胞。自噬在清除多余生殖细胞的过程中起到了主要作用^[26]。以下从子宫内膜容受性的提高和卵泡的顺利排出两个方面进行阐述。

2 中药单体调控自噬提高子宫内膜容受性

2.1 提高子宫基质细胞蜕膜化 女性在排卵后,子宫内膜发生分泌期的改变,子宫内膜基质细胞s随着基因和蛋白质的表达发生形态和功能上的变化^[27],这种受到严格调控的蜕膜化过程,对于胚胎的侵入和早期的妊娠发育至关重要^[28]。LC3b II的脂质化水平随着月经周期的进展而提高,并在子宫内膜分泌后期达到最大值,蜕膜化过程中,随着子宫内膜基质细胞s中的ATP水平降低,自噬通量逐渐增加。而在自噬缺陷的细胞模型中,蜕膜化过程受到了严重的损害^[29-30]。大黄素^[31]是一种葱醌活性

衍生物,是桂皮、大黄、芦荟、何首乌等中草药的主要的有效药效学成分。ZHENG等^[31-32]发现,大黄素可以通过激活MAPK,上调自噬水平,同时在通路的下游上调LC3 II表达水平,提高子宫内膜基质细胞的蜕膜化。但目前大黄素的不良反应尚未明确,CHANG等^[33]将小鼠囊胚放置于含有0~75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大黄素溶液的培养基中孵化,发现随着大黄素浓度的升高,对胚胎毒性越强,并会影响胚泡体外发育及植入后的胚胎发育。

自噬的分解代谢过程中自噬体和溶酶体会进行融合,通过溶酶体水解酶降解^[34]。TFEB是一种能调控溶酶体的转录因子,活跃的TFEB可作为调节自噬分解过程的潜在靶点。梓醇是一种天然环烯醚萜苷化合物,源自传统中草药地黄,到目前并没有发现梓醇具有胚胎毒性。REN等^[35]认为,梓醇可以通过抑制mTOR并增加转录因子TFEB的核易位,诱导子宫内膜基质细胞自噬的发生,加快自噬的速度,促进子宫内膜的蜕膜化。WEI等^[36]用1、3、5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的梓醇给14个月大的雌性大鼠口服灌胃,最终发现梓醇可以通过滋养卵巢组织来改善卵泡的质量和数量。

在“植入窗口”^[1]期间子宫内膜间质内的腺体会产生植入所需的因子,支持子宫内膜接受入侵的胚胎,其中最重要的因子之一是白血病抑制因子

(LIF),被认为是调节子宫内膜容受性的关键因素^[37],缺乏LIF因子会导致子宫内膜基质细胞无法正常的蜕膜化^[38]。芍药苷是芍药根的主要成分,PARK等^[39]用芍药苷给胚胎植入失败的雌性小鼠口服灌胃($8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)7 d,发现芍药苷可以通过蛋白激酶B(Akt)/mTOR通路激活自噬,同时上调LIF的表达,共同协助子宫内膜完成蜕膜化。芍药苷还具有很强的抗子宫内膜损伤的作用,可以改善子宫内膜容受性,是治疗植入失败的潜在候选药物。

白藜芦醇是一种天然多酚化合物,存在于葡萄、坚果和浆果中。KURODA等^[40]发现,虽然白藜

芦醇可以通过激活AMPK促进自噬的发生,但在蜕膜初期会抑制蜕膜转化,例如,OCHIAI等^[41]在102名患者的体外受精-胚胎移植周期中定期补充白藜芦醇 $200\text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$,发现存在抑制胚胎附着、胚胎移植后预后不良的情况。然而,在植入窗口后期,白藜芦醇可以抑制蜕膜细胞的衰老促进蜕膜化。所以白藜芦醇在不同时期对于子宫内膜的容受性的调控有区别。通过以上结果表明,中药单体可以通过激活自噬调节不同的信号分子的表达,以共同促进子宫内膜进行蜕膜化,但白藜芦醇的双重调节仍需要进一步探索。见图2。

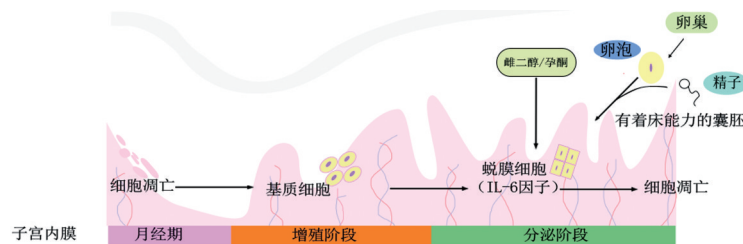


图2 子宫内膜在胚胎植入过程中的变化

Fig. 2 Changes of endometrium during embryo implantation

2.2 调节激素水平 孕酮有维持正常月经周期、减少子宫平滑肌收缩、以及减少母体对胚胎的免疫排斥反应等作用,影响胚胎的定位、黏附环节及整个妊娠过程的稳定^[42]。在孕酮的调节下子宫内膜上皮细胞停止生长有利于囊胚的黏附,子宫内膜基质细胞持续增殖分化以启动蜕膜化,子宫内膜转化为富含营养和支持作用的可接受状态^[43]。汉黄芩素属于类黄酮,是黄芩的主要提取物,SHI等^[44]研究发现,汉黄芩素可以提高LC3 II和Beclin1水平,通过活跃的自噬提高孕酮信号,放松子宫平滑肌,提高胚胎植入率。低浓度的雌激素会延长植入窗口的开放时间,而高浓度的雌激素不仅会缩短开放时间^[45],还会阻碍胚胎与腔上皮之间建立黏附反应^[46]。DENG等^[47]在受孕大鼠致畸敏感期给予不同浓度汉黄芩素,研究结果未发现对胎鼠有明显致畸作用及胚胎毒性,但给药剂量超过 $13.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可使胎鼠骨骼发育迟缓,提示妊娠期慎用。BOLOUKI等^[48]研究发现,槲皮素作为一种存在于苹果、浆果和洋葱等食物来源中的类黄酮,可以通过诱导ATG5和AMPK,调节雌激素和孕酮的比值,以延长植入窗口的开放时长,改善胚泡着床。SHAHZAD等^[49]通过每天在大鼠颈后皮下注射剂量为10、25、50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的槲皮素发现,剂量为10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的槲皮素会抗雌激素,但高剂量

($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的槲皮素能够干扰胚胎与管腔上皮的附着。雌孕激素浓度的过高或过低都会影响胚胎植入及后续的胚胎发育,在女性生殖中有着无法替代的作用,自噬发现为调整雌孕激素水平提供了新的思路。

2.3 抵抗慢性炎症 急性的局部炎症是维持子宫内膜正常周期的一种机制,有利于月经产生及胚胎的植入过程^[50]。而全身的慢性炎症会激活多种炎症转录因子^[51],降低子宫内膜容受性,干扰胚胎的定位和黏附过程。在胚胎植入过程中,炎症与自噬密切相关,例如慢性炎症是子宫内膜异位症患者的一个显著特点,通常会伴有腹腔液中炎性细胞因子和介质的升高。其通过上调mTOR,减少LC3 I转化为LC3 II,与正常子宫内膜子宫内基质细胞相比,Beclin1表达降低,p62表达升高,分泌期的子宫内膜基质细胞一直处于低水平的自噬,其诱导的细胞凋亡也随之减少,导致子宫内膜细胞异常增生、浸润^[52],影响蜕膜化的过程^[53]。

在许多组织的炎症反应中起着关键作用的多功能细胞因子白细胞介素-6(IL-6),在患有妊娠疾病的患者的蜕膜细胞中的水平升高。姜黄素是从姜黄中分离出来的一种天然多酚化合物,AZAMI等^[54]每日向实验组小鼠静脉注射姜黄素 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,对照组无注射,观察发现在注射第12

周和第33周的后的实验组小鼠的卵母细胞发育更成熟、受精能力及胚胎发育增强,且DEVI等^[55]发现,姜黄素是子宫蜕膜细胞中IL-6的有效抑制剂,通过抑制核转录因子(NF)- κ B/IL-6的表达,提高TFEB的活性和LC3的水平激活自噬过程改善蜕膜化。自噬和炎症可以相互作用影响子宫内膜的生理和病理过程,虽然急性炎症对于月经的正常来潮和胚胎植入是必不可少的,但慢性炎症却成为了降低了妊娠率和异常子宫出血的关键因素,所以通过自噬途径,抑制慢性炎症反应,是值得深入研究的方向,有很大的临床研究意义。

2.4 促进细胞凋亡 细胞凋亡是一种活跃的细胞死亡过程,在胚胎侵入过程中起着重要作用^[56],也参与整个蜕膜化过程^[57]。具有较高接受性的子宫内膜使囊胚可以进行黏附,继而在囊胚附近进行广泛的、逐层的蜕膜化,最后中子宫层区域的基质细胞转化形成蜕膜细胞^[58]。蜕膜细胞的凋亡可以扩大着床室以容纳生长中的胚胎,不仅可以让胚胎顺利侵入到子宫基质中,也能促进妊娠早期胚胎的生长、发育并保持子宫的完整性^[59]。自噬与凋亡之间交互机制复杂,在不同的子宫内膜细胞中自噬对凋亡的调节状态有所区别,目前正尝试将二者之间的调节机制应用在提高胚胎植入率的治疗中。叶酸最初提取于菠菜叶,CHEN等^[60]发现缺乏叶酸会使LC3 II水平减少,p62的表达水平提高,限制PI3K/Akt/mTOR通路的活性,抑制自噬过程会导致子宫蜕膜细胞的凋亡减少,削弱子宫内膜的蜕膜化。LI等^[61]在建造的叶酸缺乏小鼠模型中发现小鼠的蜕膜血管生成受到抑制。所以缺乏叶酸会缩小胚胎的生存空间,损害妊娠过程。

玉米赤霉烯酮(ZEA)是从患有赤霉病的玉米中分离得到的真菌毒素,WU等^[62]研究发现随着玉米赤霉烯酮的浓度增加LC3 II的表达增加,表明子宫内膜组织中存在自噬状态,但作为反应底物的p62并没有随着LC3 II的增加而减少,表明自噬通量可能不完全,细胞无法降解受损的细胞器和蛋白质,大量自噬体和溶酶体积聚,最终导致子宫内膜细胞的凋亡。所以在植入窗口期间高浓度的ZEA激活自噬,但阻断自噬的流动,子宫内膜细胞的过度凋亡,损害了子宫内膜,最终造成胚胎植入的失败和个体发育不良。PAN等^[63]用0.5~1 mg·kg⁻¹的ZEA向雌性小鼠腹腔每日注射1次,持续5 d后发现,该浓度的ZEA会损害卵母细胞植入前的发育潜能,引起氧化应激、损伤染色质的结构和基因转录,剂量

依赖性地损害小鼠卵母细胞的能力。

虽然上述的两样单体成分均通过激活自噬引起子宫内膜细胞的凋亡,但二者的调节过程也有所区别。细胞凋亡对于子宫内膜细胞是一把双刃剑,在妊娠不同时期的子宫内膜细胞的凋亡,以及凋亡的程度,均会改变子宫环境平衡,对胚胎植入及胚胎发育也可能产生截然不同的影响。

3 中药单体调控自噬促进植入前胚胎的发育

具备发育良好的胚胎是保证植入过程顺利的先决条件,卵巢缺血和再灌注损伤,都会使卵巢组织发生形态学、组织学和生化上的改变,导致巨大卵泡损失。所以修复受损卵巢组织,恢复排卵功能,确保卵泡发育成熟尤为重要。自噬能通过吞噬、降解受损的细胞器和功能失调的细胞质来维持细胞功能,通过上调自噬水平,可以改善受损卵巢组织的功能,排出成熟卵泡^[64]。

白杨素是一种天然类黄酮,存在于蜂蜜、蜂胶和许多植物提取物中,目前并没有关于白杨素对胚胎毒性的相关研究。MELEKOGLU等^[65]发现,白杨素可以通过激活自噬,提高LC3 II、Beclin1和ATG7水平保护卵巢免受缺血和再灌注损伤,促进卵泡成长,影响植入前胚胎的发育。小檗碱又名黄连素从各种植物的根中提取,如藜芦和黄连根茎。HUANG等^[66]研究表明,静脉注射2.5 μ mol·L⁻¹小檗碱可显著提高小鼠的卵母细胞成熟率和体外受精率,从而对胚胎发育产生有利影响。EHTESHAMFAR等^[67]发现,其可以抑制自噬的核心信号通路PI3K/Akt/mTOR信号通路,调节自噬的过程,改善卵巢排卵情况并调节较薄子宫内膜的厚度。类黄酮芹菜素来自于一些水果和蔬菜中,具有抗氧化、抗凋亡和抗炎的特性。TALEBI等^[68]发现,芹菜素可以通过抑制mTOR激活自噬,对卵巢缺血再灌注起到保护作用,通过芹菜素和骨髓基质干细胞联合应用可显著改善受损卵巢的结构和功能。SAFARI等^[69]首次评估了芹菜素对植入前小鼠胚胎的形态学指标的影响,在实验中观察到10 μ mol·L⁻¹芹菜素可以保护胚胎免受H₂O₂和放线菌素D的侵害,减少胚泡球的凋亡,提高胚胎的质量和发育。菲西汀是从草莓、苹果、柿子和葡萄等作物中提取的一种主要黄酮类化合物。MIHANFAR等^[70]的研究发现菲西汀也可以激活AMPK信号,通过自噬对受损的卵巢组织进行修复,改善排卵功能。并且LI等^[71]向脂多糖诱导的子痫前期的大鼠经尾静脉注射30 mg·kg⁻¹菲西汀治疗7 d,最后证实菲西汀可

以改善子痫前期大鼠的高血压、蛋白尿和胎儿生长受限。基于这些可以认为菲西汀对怀孕大鼠和胎儿通常是安全的。山柰酚是一种来自于龙涎香、芦荟和肉桂的低分子量类黄酮。最近的研究表明,山柰酚可以通过PI3K/Akt/AMPK途径激活自噬,在受损的卵巢中维持原始卵泡发育和细胞增殖的功

能^[72]。CRUZ等^[73]在雌性大鼠怀孕期间每天通过口服途径给予美洲杉叶的水提取物主要包括山柰酚等(300 mg·kg⁻¹),结果发现会导致在植入窗口前过早的胚胎固定,以及胎儿宫内生长受限。以上结果表明通过自噬提高卵巢功能成为了极具潜力的研究方向。见图3和表1。

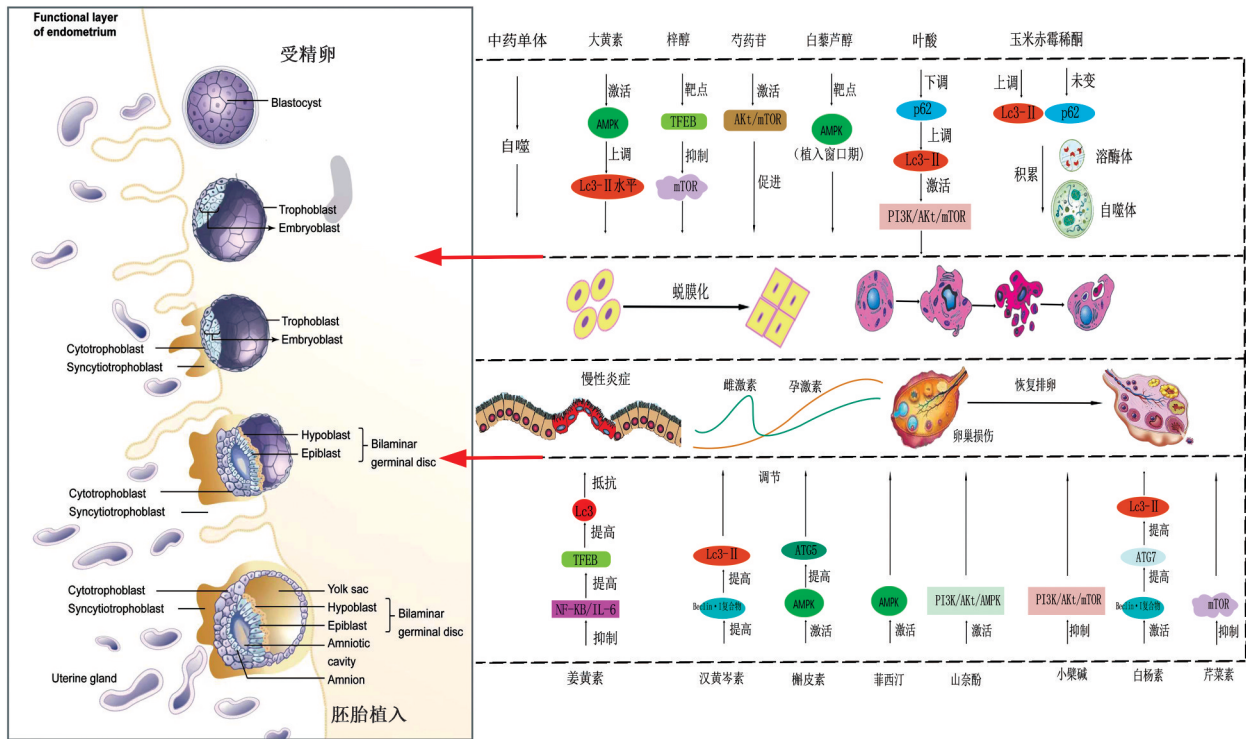


图3 中药单体通过调控自噬干预胚胎植入的机制和通路

Fig. 3 Mechanism and pathway of Chinese medicine monomer intervening embryo implantation by regulating autophagy

4 小结与展望

中草药作为传统医学的重要组成部分在各类疾病的治疗中做出了重大贡献,是祖国医药学的伟大宝库。近年来随着不孕症患者的比率大幅度增加,人们逐渐开始重视胚胎植入的过程。而通常被认为在临床上使用是安全的中草药,因其成分复杂所以对胚胎的安全性证明依旧不充分。中药单体的发掘为创制新药,促进胚胎植入的过程提供了更多的思路,同时调控自噬影响胚胎植入过程也是当前的热点。国内外有大量的学者发现中药单体通过自噬的途径提高胚胎植入率的多种机制,包括从提高子宫内膜基质细胞蜕膜化、影响细胞凋亡、调节激素水平、协调炎症、促进排卵等多个方面进行讨论,展现出了自噬途径作为中药单体提高胚胎植入成功率的广阔前景,这些成果有利于在胚胎植入乃至整个妊娠过程中扩展和延伸使用中药单体。激活自噬途径包括了IL-6、NF-κB、TFEB、PI3K/Akt/

mTOR和AMPK等在内的多种因子和多条信号通路,这些因子和信号通路相互重叠,共同构建影响胚胎植入过程的调节网络,中药单体的治疗效果受到这一调控网络的影响。

尽管自噬成为了中药单体提高胚胎植入率的突破口。然而到目前为止,仅有少数研究集中于自噬这一主题,局限于少部分靶点或通路,仍然需要对多靶点和多途径进行探索。首先,胚胎植入的机制在目前为止仍研究的不够深入,尤其是它与自噬的关系。例如,尽管知道大部分的中药单体均可以通过激活自噬来促进胚胎植入的过程,但发现在蜕膜初期使用白藜芦醇激活自噬会抑制蜕膜化,在植入窗口期可以促进蜕膜化的不同效果。其次,在妊娠早期可以使用的对孕妇安全的自噬激活药物并不多。最后,体内监测自噬通量的方法还未完全开发。研究发现,虽然可以激活自噬,但阻断了自噬通量,具体多少浓度会导致自噬流量的改变却不得

表1 中药单体通过调控自噬干预胚胎植入的机制和通路

Table 1 Mechanism and pathway of chinese medicine monomer intervening embryo implantation by regulating autophagy

作用机制	中药单体	信号通路及分子靶点	药物剂量/d	胚胎生长
中药单体调控自噬提高子宫基质细胞蜕膜化	大黄素 ^[31-33]	LC3 II, MAPK	0~75 μmol·L ⁻¹	抑制
	梓醇 ^[35-36]	mTOR, TFEB	-	促进
	芍药苷 ^[39]	PI3K/Akt/mTOR, LIF	8 mg·kg ⁻¹	抑制
中药单体调控自噬促进细胞凋亡	白藜芦醇 ^[40-41]	AMPK, LC3b II, p62	200 mg	抑制
	叶酸 ^[60]	PI3K/Akt/mTOR, LC3 II, p62	-	促进
	玉米赤霉烯酮 ^[62]	LC3 II, p62	0.5~1 mg·kg ⁻¹	抑制
中药单体调控自噬抗炎治疗	姜黄素 ^[55]	NF-κB, IL-6, TFEB, LC3	100 mg·kg ⁻¹	促进
中药单体调控自噬调节激素水平	汉黄芩素 ^[44-47]	LC3 II, Beclin1	13.3 mg·kg ⁻¹	促进
	槲皮素 ^[48-49]	ATG5, AMPK	50 mg·kg ⁻¹	抑制
中药单体调控自噬促进植入前胚胎的发育	白杨素 ^[65]	LC3 II, Beclin1, ATG7	-	-
	小檗碱 ^[66-67]	PI3K/Akt/mTOR	2.5 μmol·L ⁻¹	促进
	芹菜素 ^[68-69]	PI3K/Akt/mTOR	10 μmol·L ⁻¹	促进
	菲西汀 ^[70-71]	AMPK	30 mg·kg ⁻¹	促进
	山柰酚 ^[72-73]	PI3K/Akt/AMPK	300 mg·kg ⁻¹	抑制

注:姿势均为激活自噬

而知。因此,应在未来的研究将这些局限性逐一解决,以阐明自噬在胚胎植入中的确切作用,并从子宫内膜容受性和蜕膜化等更多的角度深入了解治疗女性不孕症的潜在候选药物。虽然研究具有一定的困难,但具有很好的前景,期待未来可以有更多的靶点、通路及机制被发现,为中药单体靶向自噬提高胚胎植入提供更为可靠的理论支撑。

[参考文献]

[1] MROZIKIEWICZ A E, OŻAROWSKI M, JĘDRZEJCZAK P. Biomolecular markers of recurrent implantation failure-a review[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18)

[2] BAUERSACHS S, WOLF E. Uterine responses to the preattachment embryo in domestic ungulates: Recognition of pregnancy and preparation for implantation [J]. Annu Rev Anim Biosci, 2015, 3: 489-511.

[3] MIRAVET-VALENCIANO J A, RINCON-BERTOLIN A, VILELLA F, et al. Understanding and improving endometrial receptivity[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2015, 27(3): 187-192.

[4] BELLVER J, SIMÓN C. Implantation failure of endometrial origin: What is new? [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2018, 30(4): 229-236.

[5] KIM S M, KIM J S. A Review of mechanisms of

implantation[J]. Dev Reprod, 2017, 21(4): 351-359.

[6] KHAN R N, HAMOUD H, WARREN A, et al. Relaxant action of sildenafil citrate (Viagra) on human myometrium of pregnancy [J]. Am J Obstet Gynecol, 2004, 191(1): 315-321.

[7] VALDES C T, SCHUTT A, SIMON C. Implantation failure of endometrial origin: It is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium [J]. Fertil Steril, 2017, 108(1): 15-18.

[8] BINDER N K, EVANS J, GARDNER D K, et al. Endometrial signals improve embryo outcome: Functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice[J]. Hum Reprod, 2014, 29(10): 2278-2286.

[9] YANG J H, CHEN C D, CHOU C H, et al. Intentional endometrial injury increases embryo implantation potentials through enhanced endometrial angiogenesis† [J]. Biol Reprod, 2019, 100(2): 381-389.

[10] SHAULOV T, SIERRA S, SYLVESTRE C. Recurrent implantation failure in IVF: A canadian fertility and andrology society clinical practice guideline [J]. Reprod Biomed Online, 2020, 41(5): 819-833.

[11] BUSNELLI A, SOMIGLIANA E, CIRILLO F, et al. Efficacy of therapies and interventions for repeated embryo implantation failure: A systematic review and meta-analysis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1747.

- [12] CECCHINO G N, GARCÍA-VELASCO J A. Endometrioma, fertility, and assisted reproductive treatments: Connecting the dots[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2018, 30(4):223-228.
- [13] MA Y, CAO X, SONG J, et al. Effect of traditional Chinese medicine formula Guilu Xian on *in vitro* fertilization and embryo transfer outcome in older women with low prognosis: Study protocol for a prospective, multicenter, randomized double-blind study[J]. *Trials*, 2021, 22(1):917.
- [14] TANG X, CHEN J, OU P, et al. Chinese herbal compound prescription for Endometriosis: A protocol for systematic review and Meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(42):e22698.
- [15] ZHANG Y, GAO R, ZHANG L, et al. AMPK/mTOR downregulated autophagy enhances aberrant endometrial decidualization in folate-deficient pregnant mice[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(11):7376-7389.
- [16] KONRAD L, KORTUM J, NABHAM R, et al. Composition of the stroma in the human endometrium and endometriosis[J]. *Reprod Sci*, 2018, 25(7):1106-1115.
- [17] AMĂLINEI C, PĂVĂLEANU I, GRIGORAȘ A, et al. The endometrial regeneration frontiers: From mechanisms to applications in regenerative medicine[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2):407-425.
- [18] VALENTIJN A J, PALIAL K, AL-LAMEE H, et al. SSEA-1 isolates human endometrial basal glandular epithelial cells: Phenotypic and functional characterization and implications in the pathogenesis of endometriosis [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(10):2695-2708.
- [19] CHOI J, JO M, LEE E, et al. The role of autophagy in human endometrium [J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(3):70.
- [20] SU Y, ZHANG J J, HE J L, et al. Endometrial autophagy is essential for embryo implantation during early pregnancy[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2020, 98(4):555-567.
- [21] LAMB C A, YOSHIMORI T, TOOZE S A. The autophagosome: Origins unknown, biogenesis complex [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(12):759-774.
- [22] ICHIMURA Y, KIRISAKO T, TAKAO T, et al. A ubiquitin-like system mediates protein lipidation [J]. *Nature*, 2000, 408(6811):488-492.
- [23] TANIDA I, MINEMATSU-IKEGUCHI N, UENO T, et al. Lysosomal turnover, but not a cellular level, of endogenous LC3 is a marker for autophagy [J]. *Autophagy*, 2005, 1(2):84-91.
- [24] OESTREICH A K, CHADCHAN S B, MEDVEDEVA A, et al. The autophagy protein, FIP200 (RB1CC1) mediates progesterone responses governing uterine receptivity and decidualization[J]. *Biol Reprod*, 2020, 102(4):843-851.
- [25] CHOI J, JO M, LEE E, et al. Differential induction of autophagy by mTOR is associated with abnormal apoptosis in ovarian endometriotic cysts[J]. *Mol Hum Reprod*, 2014, 20(4):309-317.
- [26] YADAV P K, TIWARI M, GUPTA A, et al. Germ cell depletion from mammalian ovary: Possible involvement of apoptosis and autophagy[J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25(1):36.
- [27] RAMATHAL C Y, BAGCHI I C, TAYLOR R N, et al. Endometrial decidualization: Of mice and men [J]. *Semin Reprod Med*, 2010, 28(1):17-26.
- [28] GELLERSEN B, BROSENS J J. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure[J]. *Endocr Rev*, 2014, 35(6):851-905.
- [29] MESTRE CITRINOVITZ A C, STROWITZKI T, GERMEYER A. Decreased autophagy impairs decidualization of human endometrial stromal cells: A role for ATG proteins in endometrial physiology [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12):23-28.
- [30] AVAGLIANO L, TERRANEO L, VIRGILI E, et al. Autophagy in Normal and Abnormal Early Human Pregnancies[J]. *Reprod Sci*, 2015, 22(7):838-844.
- [31] ZHENG Q, LI S, LI X, et al. Advances in the study of emodin: An update on pharmacological properties and mechanistic basis[J]. *Chin Med*, 2021, 16(1):102.
- [32] ZHENG Q, XU Y, LU J, et al. Emodin inhibits migration and invasion of human endometrial stromal cells by facilitating the mesenchymal-epithelial transition through targeting ILK[J]. *Reprod Sci*, 2016, 23(11):1526-1535.
- [33] CHANG M H, HUANG F J, CHAN W H. Emodin induces embryonic toxicity in mouse blastocysts through apoptosis [J]. *Toxicology*, 2012, 299(1):25-32.
- [34] PYO J O, NAH J, JUNG Y K. Molecules and their functions in autophagy [J]. *Exp Mol Med*, 2012, 44(2):73-80.
- [35] REN H, WANG D, ZHANG L, et al. Catalpol induces autophagy and attenuates liver steatosis in ob/ob and high-fat diet-induced obese mice [J]. *Aging (Albany*

- NY),2019,11(21):9461-9477.
- [36] WEI M, LU Y, LIU D, et al. Ovarian failure-resistant effects of catalpol in aged female rats[J]. Biol Pharm Bull,2014,37(9):1444-1449.
- [37] SALLEH N, GIRIBABU N. Leukemia inhibitory factor: Roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception [J]. Sci World J, 2014, 2014:201514.
- [38] ROSARIO G X, STEWART C L. The multifaceted actions of leukaemia inhibitory factor in mediating uterine receptivity and embryo implantation[J]. Am J Reprod Immunol,2016,75(3):246-255.
- [39] PARK H R, CHOI H J, KIM B S, et al. Paeoniflorin enhances endometrial receptivity through leukemia inhibitory factor [J]. Biomolecules, 2021, 11 (3) : 113-119.
- [40] KURODA K, OCHIAI A, BROSENS J J. The actions of resveratrol in decidualizing endometrium: acceleration or inhibition? [J]. Biol Reprod, 2020, 103 (6):1152-1156.
- [41] OCHIAI A, KURODA K, IKEMOTO Y, et al. Influence of resveratrol supplementation on IVF-embryo transfer cycle outcomes [J]. Reprod Biomed Online,2019,39(2):205-210.
- [42] MONSIVAIS D, CLEMENTI C, PENG J, et al. Uterine ALK3 is essential during the window of implantation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2016,113 (3):E387-E395.
- [43] SHINDOH H, OKADA H, TSUZUKI T, et al. Requirement of heart and neural crest derivatives-expressed transcript 2 during decidualization of human endometrial stromal cells *in vitro* [J]. Fertil Steril, 2014,101(6):1781-1790.
- [44] SHI H C, YANG L L. Relaxant effect induced by wogonin from *Scutellaria baicalensis* on rat isolated uterine smooth muscle[J]. Pharm Biol, 2012, 50(6) : 760-765.
- [45] MA W G, SONG H, DAS S K, et al. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(5):2963-2968.
- [46] ZHANG S, KONG S, WANG B, et al. Uterine Rbpj is required for embryonic-uterine orientation and decidual remodeling via Notch pathway-independent and -dependent mechanisms [J]. Cell Res, 2014, 24 (8):925-942.
- [47] DENG L, SONG D, GUO J, et al. Study on ingredients of *Scutellaria Radix* extract penetrable through placental barrier of pregnant rat[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi,2012,37(3):327-330.
- [48] BOLOUKI A, ZAL F, MOSTAFAVI-POUR Z, et al. Protective effects of quercetin on uterine receptivity markers and blastocyst implantation rate in diabetic pregnant mice[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2020, 59 (6):927-934.
- [49] SHAHZAD H, GIRIBABU N, KARIM K, et al. Quercetin interferes with the fluid volume and receptivity development of the uterus in rats during the peri-implantation period[J]. Reprod Toxicol,2017,71: 42-54.
- [50] CRITCHLEY H O, JONES R L, LEA R G, et al. Role of inflammatory mediators in human endometrium during progesterone withdrawal and early pregnancy [J]. J Clin Endocrinol Metab,1999,84(1):240-248.
- [51] VERCELLINI P, VIGANÒ P, SOMIGLIANA E, et al. Endometriosis: Pathogenesis and treatment [J]. Nat Rev Endocrinol,2014,10(5):261-275.
- [52] WINGFIELD M, MACPHERSON A, HEALY D L, et al. Cell proliferation is increased in the endometrium of women with endometriosis [J]. Fertil Steril, 1995, 64 (2):340-346.
- [53] HONDA H, BARRUETO F F, GOGUSEV J, et al. Serial analysis of gene expression reveals differential expression between endometriosis and normal endometrium. Possible roles for AXL and SHC1 in the pathogenesis of endometriosis [J]. Reprod Biol Endocrinol,2008,6:59.
- [54] AZAMI S H, NAZARIAN H, ABDOLLAHIFAR M A, et al. The antioxidant curcumin postpones ovarian aging in young and middle-aged mice [J]. Reprod Fertil Dev,2020,32(3):292-303.
- [55] DEVI Y S, DEVINE M, DEKUIPER J, et al. Inhibition of IL-6 signaling pathway by curcumin in uterine decidual cells[J]. PLoS One,2015,10(5):e0125627.
- [56] POLLARD J W, PACEY J, CHENG S V, et al. Estrogens and cell death in murine uterine luminal epithelium [J]. Cell Tissue Res, 1987, 249 (3) : 533-540.
- [57] TAN J, RAJA S, DAVIS M K, et al. Evidence for coordinated interaction of cyclin D₃ with p21 and cdk6 in directing the development of uterine stromal cell decidualization and polyploidy during implantation[J]. Mech Dev,2002,111(1/2):99-113.
- [58] AKCALI K C, KHAN S A, MOULTON B C. Effect of decidualization on the expression of bax and Bcl-2 in the rat uterine endometrium[J]. Endocrinology,1996,

- 137(7):3123-3131.
- [59] LIAO X G, LI Y L, GAO R F, et al. Folate deficiency decreases apoptosis of endometrium decidual cells in pregnant mice via the mitochondrial pathway [J]. *Nutrients*, 2015, 7(3):1916-1932.
- [60] CHEN Q, GAO R, GENG Y, et al. Decreased autophagy was implicated in the decreased apoptosis during decidualization in early pregnant mice [J]. *J Mol Histol*, 2018, 49(6):589-597.
- [61] LI Y, GAO R, LIU X, et al. Folate deficiency could restrain decidual angiogenesis in pregnant mice [J]. *Nutrients*, 2015, 7(8):6425-6445.
- [62] WU L, DUAN Q, GAO D, et al. Zearalenone blocks autophagy flow and induces cell apoptosis during embryo implantation in gilts[J]. *Toxicol Sci*, 2020, 175(1):126-139.
- [63] PAN L Z, CHENG H, ZHANG J, et al. In vivo zearalenone exposure dose-dependently compromises mouse oocyte competence by impairing chromatin configuration and gene transcription[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2021, 33(3):229-238.
- [64] YIN N, WU C, QIU J, et al. Protective properties of heme oxygenase-1 expressed in umbilical cord mesenchymal stem cells help restore the ovarian function of premature ovarian failure mice through activating the JNK/Bcl-2 signal pathway-regulated autophagy and upregulating the circulating of CD8⁺ CD28⁻ T cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):49.
- [65] MELEKOGLU R, CIFTCI O, ERASLAN S, et al. The protective effects of glycyrrhetic acid and chrysin against ischemia-reperfusion injury in rat ovaries [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:5421308.
- [66] HUANG C H, WANG F T, CHAN W H. Dose-dependent beneficial and harmful effects of berberine on mouse oocyte maturation and fertilization and fetal development [J]. *Toxicol Res (Camb)*, 2020, 9(4):431-443.
- [67] EHTESHAMFAR S M, AKHBARI M, AFSHARI J T, et al. Anti-inflammatory and immune-modulatory impacts of berberine on activation of autoreactive T cells in autoimmune inflammation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(23):13573-13588.
- [68] TALEBI A, HAYATI ROODBARI N, REZA SAMENI H, et al. Impact of coadministration of apigenin and bone marrow stromal cells on damaged ovaries due to chemotherapy in rat: An experimental study [J]. *Int J Reprod Biomed*, 2020, 18(7):551-560.
- [69] SAFARI M, PARSIAIE H, SAMENI H R, et al. Anti-oxidative and anti-apoptotic effects of apigenin on number of viable and apoptotic blastomeres, zona pellucida thickness and hatching rate of mouse embryos [J]. *Int J Fertil Steril*, 2018, 12(3):257-262.
- [70] MIHANFAR A, NOURI M, ROSHANGAR L, et al. Ameliorative effects of fisetin in letrozole-induced rat model of polycystic ovary syndrome [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2021, 213:105954.
- [71] LI Y, LIU Y, CHEN J, et al. Protective effect of fisetin on the lipopolysaccharide-induced preeclampsia-like rats [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2022, 41(1):23-30.
- [72] SANTOS J, LINS T, BARBERINO R S, et al. Kaempferol promotes primordial follicle activation through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway and reduces DNA fragmentation of sheep preantral follicles cultured *in vitro* [J]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86(3):319-329.
- [73] CRUZ L L, FERREIRA SILVA B S, ARAUJO G G, et al. Phytochemical and antidiabetic analysis of *Curatella americana* L. aqueous extract on the rat pregnancy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 293:115287.

[责任编辑 顾雪竹]