

基于整合药理学技术探讨养血安胎方改善复发性 流产血栓前状态的分子作用机制

贡磊磊¹, 唐红波¹, 姚伟洁¹, 李心蕾¹, 马小磊¹, 袁偲偲¹,
高宏杰², 赵静霞³, 冯欣^{1*}, 许海玉^{4*}

(1.首都医科大学附属北京妇产医院, 北京 100026;
2.中国中医科学院 中医药信息研究所, 北京 100700; 3.中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091;
4.中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:基于中医药整合药理学研究平台V2.0(TCMIP V2.0)探讨养血安胎方治疗复发性流产血栓前状态(RSA-PTS)的分子机制。方法:通过TCMIP V2.0收集养血安胎方中药物化学成分及药物靶标,利用TCMIP V2.0收集RSA-PTS疾病靶标信息,并借助在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库补充和完善疾病靶标信息。构建药物与疾病核心靶标网络,并对核心靶标进行生物过程分析和通路富集分析,构建“中药-成分-靶标-通路”多维网络,对网络中主要化学成分进行了吸收、分配、代谢、排泄和毒性(ADMET)水平分析。结果:共收集养血安胎方中8味中药的310个化学成分和975个靶标信息,并获得了143个疾病靶标,药物和疾病靶标互作关系分析获得243个核心靶标,对前100位核心靶标分析结果显示,这些靶标主要作用于血液凝固、血小板活化、血管形成正调控、血小板聚集的调节和血管形成等与血栓形成相关的生物过程。通路分析显示这些靶标主要富集于补体与凝血级联反应、雌激素信号通路、血小板活化和甲状腺激素信号通路等通路。多维网络分析结合ADMET水平显示,养血安胎方中的益母草碱、儿茶酚、香草醛等14个成分可能通过影响凝血因子Ⅱ(F2),纤维蛋白溶酶原(PLG)和雌激素受体1(ESR1)来参与补体与凝血级联反应、血小板活化、甲状腺激素信号通路等,进而发挥对RSA-PTS的治疗作用。结论:养血安胎方中主要化学成分可能通过调节补体与凝血级联反应、血液凝固和血小板活化等生物过程来改善RSA-PTS。

[关键词] 养血安胎方; 整合药理学; 复发性流产(RSA); 血栓前状态(PTS); 分子机制; 核心靶标; 多维网络

[中图分类号] R271.1;R289;R285;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)24-0023-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201247

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200402.1700.004.html>

[网络出版日期] 2020-4-2 17:17

Investigation of Molecular Mechanism of Yangxue Antai Fang in Improving Prethrombotic State of Recurrent Spontaneous Abortion Based on Integrated Pharmacology Techniques

GONG Lei-lei¹, TANG Hong-bo¹, YAO Wei-jie¹, LI Xin-lei¹, MA Xiao-lei¹, YUAN Si-si¹,
GAO Hong-jie², ZHAO Jing-xia³, FENG Xin^{1*}, XU Hai-yu^{4*}

(1. *Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026, China;*
2. *Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*
3. *Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;*
4. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*)

[Abstract] **Objective:** To predict the potential molecular mechanism of Yangxue Antai Fang in treating

[收稿日期] 20200221(033)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC1000101)

[第一作者] 贡磊磊, 博士, 见习药师, 从事中药药理及药代动力学研究, Tel:010-52272075, E-mail:gl890925@126.com

[通信作者] * 冯欣, 主任药师, 从事临床药学妇产科方向研究, Tel:010-52273031, E-mail:fengxin1115@126.com;

* 许海玉, 博士, 研究员, 从事中药整合药理学, Tel:010-64014411, E-mail:hy_xu627@163.com

prethrombotic state of recurrent spontaneous abortion (RSA-PTS). **Method:** The chemical constituents and drug targets of Yangxue Antai Fang were collected by Integrated Pharmacology-based Research Platform of Traditional Chinese Medicine (TCMIP V2.0). RSA-PTS disease target information was collected by TCMIP V2.0 and improved by Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database. The interaction of these targets was analyzed and key target network was constructed. Gene ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were further performed. Finally, Cytoscape 3.5.1 was used to build up a multidimensional network of TCM-ingredient-target-pathway. The levels of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADMET) of the main components in the network were analyzed. **Result:** A total of 310 chemical constituents and 975 targets were collected from 8 TCMs in Yangxue Antai Fang. A total of 143 targets of RSA-PTS were obtained. A total of 243 core targets were obtained by the interrelationship analysis of drug and disease targets. The analysis of the top 100 core targets showed that these targets might participate in treating RSA-PTS by affecting biological processes related to thrombosis, such as blood coagulation, platelet activation, positive regulation of angiogenesis and so on. Pathway analysis showed that these targets were mainly concentrated in complement and coagulation cascades, platelet activation, estrogen signaling pathway, thyroid hormone signaling pathway, etc. Multidimensional network analysis in combination with ADMET level showed that 14 components (leonurine, paeonol, vanillin, and so on) may play a therapeutic role in RSA-PTS by affecting coagulation factors II (F2), plasminogen (PLG) and estrogen receptor 1 (ESR1) proteins involved in complement and coagulation cascades, platelet activation, thyroid hormone signaling pathway and others. **Conclusion:** The main chemical constituents in Yangxue Antai Fang may improve RSA-PTS by regulating complement and coagulation cascades, blood coagulation, platelet activation and other biological processes.

[Key words] Yangxue Antai Fang; integrated pharmacology; recurrent spontaneous abortion (RAS); prethrombotic state (PTS); molecular mechanism; core targets; multidimensional network

一对夫妻多次发生自然流产称为复发性流产(RSA)。在目前诊断的RSA中,大多认为是由染色体异常、解剖异常、遗传性血栓形成或凝血因子异常、卵巢因素、内分泌因素和免疫因素等所诱发^[1]。然而,RSA病因复杂,缺乏特异性临床表现及诊断标准,诊治有一定的难度,且治疗措施尚存争议^[2]。近年来,血栓前状态(PTS)与RSA之间的关系受到越来越多的关注,并已成为国内外研究的热点。PTS是指由多种因素引起的止血、凝血、抗凝和纤溶系统功能失调或障碍的病理过程,存在血栓形成的风险^[3]。临床观察显示,大约66%的RSA患者有至少一种遗传性或获得性止血功能异常,且通常没有典型的临床表现,患者的凝血功能异常增高和纤溶功能降低形成高凝状态,这种高凝状态引起子宫内膜供血不足,血流灌注下降,蜕膜、绒毛及脐带血管内微血栓形成,直接导致胎盘组织出现血栓倾向,胎盘纤维沉着导致胎盘梗死灶,这有可能是导致流产的重要原因之一^[4]。

养血安胎方是北京妇产医院的院内制剂,由桑寄生、续断、当归、益母草、白芍、山药、木香、石莲子

和菟丝子组成。方中桑寄生配伍续断入肝、肾经,补肾通络、养血安胎,作为君药;当归、益母草配伍白芍、山药共为臣药,养血活血、滋补肾阴;佐以木香理气通络;石莲子健脾化湿、清心宁神。在诸多方剂中,菟丝子与桑寄生、续断一起入药,可帮助体弱易于流产者,起到安胎的作用^[5]。养血安胎方已在北京妇产医院临床应用二十余年,治疗后追踪观察证实活血安胎后出生的婴儿发育正常,保胎成功率98.2%,未发现畸形^[6]。本课题组前期研究发现,养血安胎方对RSA患者纤溶酶原活化物抑制因子-1(PAI-1)的治疗具有统计学意义,推测其可能通过改善微循环、清除微小血栓、防止胎盘小血栓的形成等方式来治疗RSA-PTS^[7]。此外,养血安胎方还可调节RSA患者自然杀伤细胞(NK)和抑制性T细胞(Ts)活性,从而调节机体免疫功能^[8]。本课题组曾对60名RSA患者的血清进行蛋白质微阵列分析,发现患者中胰岛素样生长因子结合蛋白相关蛋白1/胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-rp1/IGFBP-7),Dickkopf相关蛋白3(Dkk3),晚期糖基化终产物受体(RAGE)和血管生成素-2

(angiopoietin-2)表达下调,表明上述蛋白与RSA的病理机制密切相关^[9],但深入的分子生物学机制尚未阐明。本研究借助中医药整合药理学研究平台V2.0(TCMIP V2.0),建立养血安胎方与RSA-PTS之间的靶标互作网络,诠释养血安胎方治疗RSA-PTS的可能作用机制,以期为该复方的临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 养血安胎方化学成分来源 基于TCMIP V2.0的中药材数据库,收集当归、益母草、桑寄生、续断、白芍、山药、木香、菟丝子所含化学成分(该中药材数据库中未收录石莲子化学成分及相关靶标信息),构建养血安胎方的化学成分数据库。

1.2 养血安胎方药物靶标预测、通路分析及功能分析 在构建的化学成分数据库基础上,利用药材化学成分二维结构(.mol)与DrugBank中认证药物(approved drugs)进行化学指纹特征比对,以Tanimoto系数进行相似性打分,设定相似性分数 ≥ 0.8 时,可获得中药化学成分潜在的靶标,利用DAVID 6.7(<https://david.ncifcrf.gov/>)对中药潜在的靶标进行基因本体(GO)功能分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。

1.3 RSA及PTS靶标收集 在TCMIP V2.0疾病相关分子库输入关键词“recurrent spontaneous abortion”和“prethrombotic state”,并通过在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库补充相关的疾病靶标,对收集的靶标去重,采用DAVID 6.7对靶标进行标准化,建立RSA-PTS靶标数据库。

1.4 核心网络构建、通路富集及功能分析 基于STRING数据库(version 10.5)提取养血安胎方化学成分潜在靶标与RSA-PTS相关靶标相互作用信息,设置蛋白种类为“homo sapiens”,最高置信度参数评分值 >0.4 ,其他参数不变。对参数度值(degree),介数(betweenness)和邻接节点(neighborhood)进行分析,取值方式为对degree大于中位数的靶标进行分析,并计算betweenness和neighborhood,取满足3个拓扑结构特征值均大于中位数节点的靶标与其相互作用关系导入Cytoscape 3.5.1软件,构建养血安胎方成分靶标及RSA-PTS靶标核心网络,利用DAVID 6.7对核心靶标进行GO和KEGG分析。

1.5 吸收水平分析 在TCMIP V2.0的中药成分数据库,以核心化学成分英文名作为关键词进行检索,获取其吸收、分配、代谢、排泄和毒性(ADMET)水平,数值含义依次为0表示“Good”,1表示

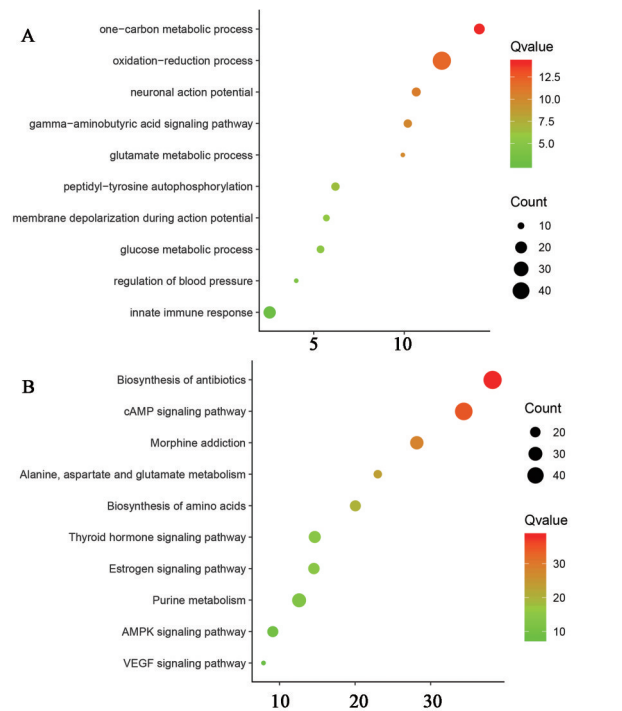
“Moderate”,2表示“Low”,3表示“Very low”。结合ADMET中的重要药动学参数口服生物利用度(OB)以及类药性(DL)对核心化学成分进行分析。

2 结果

2.1 养血安胎方化学成分及其靶标预测 共获得养血安胎方8味中药化学成分310个,预测靶标975个。桑寄生化学成分12个,预测靶标157个;续断化学成分1个,预测靶标21个;当归化学成分77个,预测靶标336个;益母草化学成分34个,预测靶标101个;白芍化学成分59个,预测靶标424个;山药化学成分58个成分,预测靶标629个;木香化学成分77个,预测靶标267个;菟丝子化学成分14个,预测靶标101个,其中22个化学成分重复;蔡少青等^[10]认为中药不同化学成分可通过相继与靶标分子结合,形成叠加效应共同发挥作用;对这些靶标合并去重后共获得975个靶标。

2.2 养血安胎方潜在靶标和生物信息学分析 进一步对药物潜在靶标(975个)进行GO和KEGG分析,GO分析取P最小的前十位进行分析,见图1(A),这些靶标主要富集于生物过程的氧化还原过程(oxidation-reduction process),谷氨酸代谢过程(glutamate metabolic process),葡萄糖代谢过程(glucose metabolic process),血压的调节(regulation of blood pressure)和先天免疫反应(innate immune response)等。KEGG通路同样取P最小的前十位进行分析,药物靶标主要富集于环磷酸腺苷信号通路(cAMP signaling pathway),甲状腺激素信号通路(thyroid hormone signaling pathway),雌激素信号通路(estrogen signaling pathway),嘌呤代谢(purine metabolism),腺苷酸活化蛋白激酶信号通路(AMPK signaling pathway)和血管内皮生长因子信号通路(VEGF signaling pathway)等,见图1(B)。

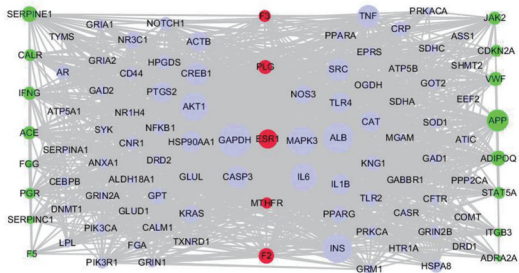
2.3 养血安胎方用于治疗RSA-PTS的核心靶标分析 通过OMIM获得的疾病靶标,经过DAVID 6.7标准化后与TCMIP V2.0获得的疾病靶标进行合并去重,最终获得143个疾病靶标。通过TCMIP V2.0网络分析模块,基于STRING数据库中的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI),构建养血安胎方潜在靶标和RSA-PTS疾病靶标之间的相互作用网络,根据1.4项下筛选条件,筛选出关键靶标243个,根据degree大小排序,选取degree前100位靶标构建核心靶标图,见图2。其中,养血安胎方药物直接作用靶标有79个,RSA-PTS疾病靶标有16个,药物和疾病共有靶标5个。共有靶标分别为组织因子(F3/TF),凝血



Q. $-\lg P$, Q 越大表明基因显著富集于该生物过程或通路, 颜色趋向红色, 反之颜色趋向绿色; A. GO 生物过程分析; B. KEGG 通路富集分析(图 3 同)

图 1 养血安胎方潜在靶标的 GO 功能及 KEGG 通路富集分析
Fig. 1 GO function and KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of Yangxue Antai Fang

因子 II (F2), 纤维蛋白溶酶原(PLG), 雌激素受体 1 (ESR1) 和亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)。



红点代表共有靶标; 绿点代表疾病靶标; 紫点代表药物靶标

图 2 养血安胎方治疗 RSA-PTS 的核心靶标网络
Fig. 2 Core target network of Yangxue Antai Fang for RSA-PTS

2.4 养血安胎方与 RSA-PTS 核心靶标的功能及通路分析 进一步对药物和疾病靶标中 degree 前 100 位的核心靶标进行 GO 和 KEGG 分析, GO 分析取 P 最小的前十位进行深入分析, 见图 3(A)。结果发现这些核心靶标主要富集于血液凝固 (blood coagulation), 血小板活化 (platelet activation), 血管形成正调控 (positive regulation of angiogenesis), 血小板聚集的调节 (regulation of platelet aggregation) 和血管形成 (angiogenesis) 等与血栓形成相关的生

物过程。对 KEGG 通路 P 最小的前十位进行深入分析, 见图 3(B)。结果发现这些核心靶标主要富集于雌激素信号通路, cAMP 信号通路, 补体与凝血级联反应 (complement and coagulation cascades), 血小板活化, VEGF 信号通路和甲状腺激素信号通路等。

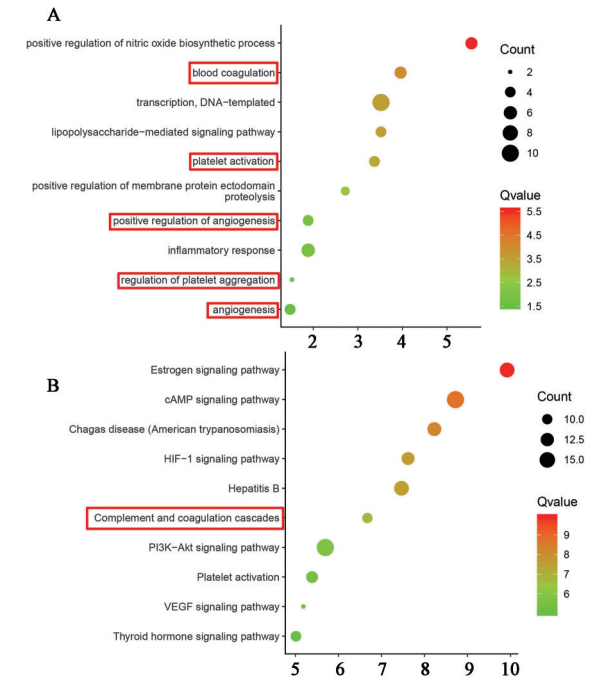


图 3 养血安胎方治疗 RSA-PTS 关键靶标 GO 功能及 KEGG 通路富集分析

Fig. 3 GO function and KEGG pathway enrichment analysis of key targets of Yangxue Antai Fang for treating RSA-PTS

2.5 养血安胎方用于治疗 RSA-PTS 的多维网络分析 以 KEGG 通路富集分析中 P 最小的前十位通路构建“中药-成分-靶标-通路”多维网络图, 见图 4。结果涉及 8 味药材中 76 个成分以及 36 个靶标。山药化学成分 19 个, 白芍化学成分 18 个, 当归化学成分 15 个, 木香化学成分 13 个, 桑寄生化学成分 6 个, 菟丝子化学成分 3 个, 续断化学成分 1 个, 益母草化学成分 7 个; 其中苯酚 (phenol) 为当归和白芍共有成分, 棕榈酸 (cetylic acid) 为当归、山药和木香共有成分, 槲皮素 (quercetin) 和 guercetol 为桑寄生和菟丝子共有成分, γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid) 为山药和木香共有成分。这些成分通过联合调控 ESR1, 胰岛素 (INS), 肿瘤坏死因子 (TNF), F2, PLG, Toll 样受体 4 (TLR4) 等 36 个靶标参与补体与凝血级联反应、血小板活化、甲状腺激素信号通路、雌激素信号通路等通路。其中, F2, PLG 和 ESR1 为养血安胎方与 RSA-PTS 共有靶标。进一步分析发现, 益母草中的益母草碱 (leonurine) 通过与 F2 和

PLG 作用参与补体与凝血级联反应;白芍中芍药酮(paeonol),儿茶酚(catechin),palbinone,当归中香草醛(vanillin),异丁香酚(isoeugenol),5-羟基香豆素(5-hydroxycoumarin),木香中的桉烷内酯(reynosin),矮艾素 A (arbusculin A), Î-amyrin palmitate, colartin, 11Î, 13-dihydroreynosin, 桑寄生

中的羽扇豆醇(lupeol),菟丝子中的山柰酚(kaempferol)通过与 ESR1 作用参与甲状腺激素信号通路和雌激素信号通路。推测养血安胎方中这些成分通过影响 F2, PLG 和 ESR1 参与补体与凝血级联反应、血小板活化、甲状腺激素信号通路和雌激素信号通路,进而达到防治 RSA-PTS 的作用。

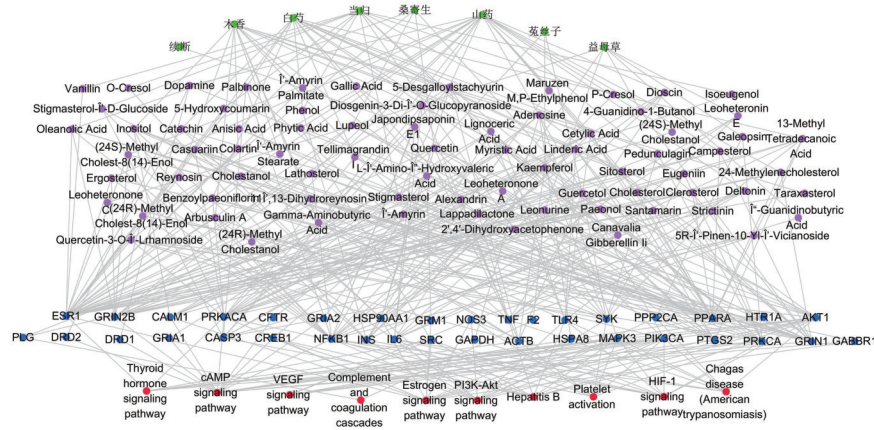


图 4 养血安胎方治疗 RSA-PTS 的“中药-成分-靶标-通路”多维网络

Fig. 4 Multidimensional network of TCM-ingredient-target-pathway of Yangxue Antai Fang for treating RSA-PTS

2.6 养血安胎方关键成分的吸收水平分析 根据 2.5 项下结果,对作用于共有靶标(F2, PLG 和 ESR1)的成分进行 ADMET 分析,见表 1,OB 越高表明药物生物活性分子的 DL 越好^[11-12]。结果发现 leonurine, paeonol, catechin, palbinone, vanillin, isoeugenol, 5-hydroxycoumarin, reynosin, colartin, kaempferol 和 11Î, 13-dihydroreynosin 吸收水平较好。

3 讨论

孕期女性 RSA 发生率 1%~5%^[13],由于其病因复杂,诊治存在一定难度,而由止血、凝血和抗凝系统平衡失调或障碍引起的高凝状态所导致的胎儿流失已成为 RSA 的重要发病机制,这种以高凝状态而导致的血栓形成风险增加称为易栓症,也称为 PTS,肾虚则胎失所系,血瘀则胎失所养,肾虚为病变之本,血瘀为发病之标, RSA-PTS 的主要病机是肾虚血瘀^[5]。中医常采用补肾活血改善血瘀为主的 PTS。养血安胎方是中医专家李恩棠的经验方,临床研究表明,该方能够改善 RSA-PTS^[7],但其作用机制尚未完全阐明。本文采用整合药理学策略,并结合国内外专业数据平台及相关分析软件,搜集养血安胎方治疗 RSA-PTS 的核心靶标,并对核心靶标进行分析,构建了多维网络图^[14]。

基于 TCMIP V2.0 共获得养血安胎方中 310 个化学成分,并预测靶标 975 个。针对这些药物靶标

表 1 养血安胎方中核心成分的 ADMET 水平

Table 1 ADMET levels of core compounds in Yangxue Antai Fang

中药	化合物	分子式	ADMET 水平	OB/%	DL
益母草	leonurine	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₅	0	19.12	0.20
白芍	paeonol	C ₉ H ₁₀ O ₃	0	28.79	0.04
白芍	catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	0	49.68	0.24
白芍	palbinone	C ₂₂ H ₃₀ O ₄	0	43.56	0.53
当归	vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	0	52.00	0.03
当归	isoeugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0	70.10	0.04
当归	5-hydroxycoumarin	C ₉ H ₆ O ₃	0	19.05	0.05
木香	reynosin	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	0	40.37	0.17
木香	arbusculin A	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	3	-	-
木香	Î-amyrin palmitate	C ₄₆ H ₈₀ O ₂	3	32.68	0.30
木香	colartin	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	0	-	-
木香	11Î, 13-dihydroreynosin	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	0	40.37	0.17
桑寄生	lupeol	C ₃₀ H ₅₀ O	3	12.12	0.78
菟丝子	kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	0	41.88	0.24

进行分析,结果发现这些药物靶标主要作用于血压的调节、先天免疫反应、氧化还原过程等生物过程,主要参与甲状腺激素信号通路、雌激素信号通路、嘌呤代谢和 VEGF 信号通路等通路。甲状腺功能亢进与减退均可使 RSA 发生率升高^[15]。通过对 RSA 患者微小核糖核酸(miRNA)分析后发现,miRNA

潜在的靶标参与了雌激素信号通路^[16]。与正常妊娠女性相比,RSA患者嘌呤代谢酶显著升高,这些变化反映了细胞介导的免疫学变化^[17]。基于流产患者蜕膜组织的研究表明,VEGF表达减少或不表达,可导致血管网形成不良或滋养细胞分化、浸润异常,最终导致流产的发生^[18]。此外,本课题组前期研究发现养血安胎方能促进子宫内膜VEGF的表达,进而改善RSA妊娠结局^[5]。不同宿主的桑寄生具有降压作用^[19],并且红花桑寄生总黄酮可下调人早幼粒急性白血病细胞(HL-60细胞)分泌VEGF^[20]。川续断作为治疗RSA的首选药物,其主要活性成分川续断皂苷VI能够激活蜕膜细胞中孕激素受体启动子,增加孕激素受体表达,激活下游Notch信号通路,而Notch信号传导是雌激素受体诱导子宫所必须的^[21]。桑寄生和续断作为君药通过影响血压调节、雌激素受体信号通路以及VEGF信号通路参与RSA-PTS治疗过程。益母草总生物碱能够增加薄型子宫内膜大鼠子宫内膜VEGF蛋白表达,促进子宫内膜血管生成,增加子宫内膜的厚度^[22]。由当归和白芍为主组成的方剂当归芍药散可以增加子宫腺体的质量,其作用可能与上调子宫腔上皮和基质中雌激素受体有关^[23]。不同的臣药直接和间接参与了女性子宫相关疾病过程。

基于STRING数据库,构建药物靶标和疾病靶标相互作用网络,根据degree筛选前100位的靶标构建核心网络,在核心网络中,药物直接作用靶标79个,疾病直接相关靶标16个,药物和疾病共有靶标5个,分别为F3,F2,PLG,ESR1和MTHFR。这些靶标可能为养血安胎方干预RSA-PTS的重要靶标。对前100位的核心靶标进一步分析发现,这些核心靶标主要作用于血液凝固、血小板活化、血管形成正调控、血小板聚集的调节和血管形成等生物过程。与正常女性相比,具有RSA病史的女性血管网络发生了潜在变化,这些变化与凝血成分增加和纤溶抑制剂水平有关^[24]。而对于妊娠晚期的RSA患者,其血小板聚集显著降低^[25]。此外,微小RNA-16(miR-16)通过靶向VEGF表达来调节胎盘血管生成和发育,参与RSA发病过程^[26]。通路富集分析显示这些核心靶标同样参与了甲状腺激素信号通路、雌激素信号通路和VEGF信号通路,并且还参与了补体与凝血级联反应。补体激活和组织因子(TF)表达是影响抗磷脂综合征(APS)的重要因素,而APS是RSA最主要的临床征象。在核心靶标网络中含5个共有靶标(F3,F2,PLG,ESR1和MTHFR),研究

表明血清中补体激活能够促进滋养层细胞和蜕膜细胞TF表达,TF负责激活内皮细胞凝血级联反应,TF表达在抗磷脂抗体(aPL)介导的APS血栓形成中发挥重要作用^[27]。另有研究表明F2和ESR1基因多态性与中国汉族女性RSA密切相关^[28-29];MTHFR基因C677T位点T等位基因和CC纯合突变可导致血清同型半胱氨酸水平升高,引起血管内皮损伤,导致凝血-抗凝系统异常,最终形成血栓,易引起胎盘栓塞,是RSA的重要危险因素之一^[30]。

多维网络图分析结果表明,养血安胎方中益母草碱、芍药酮、儿茶酚等成分通过与F2,ESR1和PLG靶标作用参与补体与凝血级联反应、血小板活化、甲状腺激素信号通路和雌激素信号通路;益母草碱、芍药酮、儿茶酚等14个成分吸收水平较好。通过网络图进一步分析,益母草中吸收较佳的益母草碱通过作用于F2和PLG参与补体与凝血级联反应。益母草碱能显著抑制流产大鼠子宫出血,其作用可能与血清雌二醇水平显著提高及子宫收缩活动增强有关^[31]。此外,益母草碱可通过调节内皮素-1介导的磷脂酶C(PLC)/蛋白激酶C(PKC),增加不完全流产大鼠的子宫收缩^[32]。药代动力学研究表明,口服益母草提取物后,益母草碱迅速被吸收,表明益母草口服生物利用度较佳^[33]。推测益母草碱在养血安胎方治疗RSA-PTS中发挥重要作用。

[参考文献]

- [1] ROYAL COLLEGE of OBSTETRICIANS and GYNAECOLOGISTS. The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second-trimester miscarriage (Green-top Guideline No. 17) [EB/OL]. https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_17, 2015-06-08/2020-02-20.
- [2] 李洁. 2016年中国“复发性流产诊治的专家共识”与2017年欧洲“复发性流产诊治指南”的解读[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(11): 822-825.
- [3] KUTTEH W H, TRIPLETT D A. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss[J]. Semin Reprod Med, 2006, 24(1): 54-66.
- [4] DE JONG P J, GODDIJN M, MIDDELDROP S. Antithrombotic therapy for pregnancy loss [J]. Hum Reprod Update, 2013, 19(6): 656-673.
- [5] 武颖, 张莹, 辛明蔚, 等. 养血安胎方对肾虚血瘀型复发性流产小鼠胚胎植入及蛋白表达的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(10): 4552-4556.
- [6] 李恩棠, 李玛建, 高爱平, 等. 养血安胎冲剂防治习惯性流产及对短寿命抑制性T细胞的影响[J]. 中国中

- 西医结合杂志,2000,20(4):248-250.
- [7] 何军琴,李玛建,王玉雯,等.养血安胎颗粒对复发性流产血栓前状态的中西医结合干预模式的建立[J].世界中西医结合杂志,2014,9(6):620-623.
- [8] 张莹,李玛建,涂序珉.养血安胎颗粒对反复自然流产患者非孕期NK及T细胞活性的影响[J].优生与遗传杂志,2006,14(6):55,66.
- [9] WU Y, HE J Q, GUO C Y, et al. Serum biomarker analysis in patients with recurrent spontaneous abortion [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(3): 2367-2378.
- [10] 蔡少青,王璇,尚明英,等.中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势[J].中国中药杂志,2015,40(17):3435-3443.
- [11] AHMED S S, RAMAKRISHNAN V. Systems biological approach of molecular descriptors connectivity: optimal descriptors for oral bioavailability prediction [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40654.
- [12] URSU O, RAYAN A, GOLDBLUM A, et al. Understanding drug-likeness [J]. Wires Comput Mol Sci, 2011, 1(5): 760-781.
- [13] 狄文,洪祖蓓.女性生殖障碍相关疾病的发病机制及诊治研进展[J].上海交通大学学报:医学版,2012,32(9):1161-1165.
- [14] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [15] 王敏.甲状腺功能异常与复发性流产关系分析[J].中国妇幼保健,2012,27(24):3763-3765.
- [16] LI D, LI J. Association of miR-34a-3p/5p, miR-141-3p/5p, and miR-24 in decidual natural killer cells with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 922-929.
- [17] JADHAV A A, JAIN A. Adenosine deaminase activity in normal pregnancy and pregnancy associated disorders [J]. Arch Physiol Biochem, 2013, 119(2): 88-91.
- [18] 熊程俏,李伟莉.反复自然流产小鼠蜕膜 VEGF、VEGFR2 的表达及中药干预研究[J].中医药临床杂志,2013,25(2):164-166.
- [19] 张慧,黄裴颖,刘人源,等.不同寄主桑寄生药材对原发性高血压大鼠降压作用的影响[J].中成药,2018,40(2):249-254.
- [20] 肖义军,陈元仲,陈炳华,等.红花桑寄生总黄酮提取物增强多柔比星抗白血病效果及其相关机制研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(3):431-435.
- [21] 田欢,赵锋,李晔,等.川续断皂苷VI的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(5):226-234.
- [22] 万秋园,赵文娜,吴晓玲,等.益母草总生物碱对大鼠薄型子宫内膜 VEGF 和 Ang-2 表达的影响[J].临床和实验医学杂志,2019,18(24):2606-2610.
- [23] 丁岩,华永庆,林紫微,等.当归芍药散对围绝经期模型大鼠子宫结构及雌激素受体表达的影响[J].中国药房,2017,28(34):4788-4792.
- [24] ROMAGNUOLO I, ATTANASIO M, COZZOLINO M, et al. Thrombin potential and traditional coagulation assay: are they useful in exploring recurrent pregnancy loss risk? [J]. Blood Coagul Fibrin, 2018, 29(2): 160-166.
- [25] DEMPESEY M A, FLOOD K, BURKE N, et al. Viable pregnancies beyond 28 weeks gestation in women with a history of unexplained recurrent miscarriage have reduced platelet function [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2016, 200: 76-81.
- [26] ZHU Y, LU H, HUO Z, et al. MicroRNA-16 inhibits fetomaternal angiogenesis and causes recurrent spontaneous abortion by targeting vascular endothelial growth factor [J]. Sci Rep, 2016, 6: 35536.
- [27] SAMUDRA A N, DWYER K M, SELAN C, et al. CD39 and CD73 activity are protective in a mouse model of antiphospholipid antibody-induced miscarriages [J]. J Autoimmun, 2018, 88: 131-138.
- [28] XU Z, ZHANG Y, LIU W, et al. Polymorphisms of F2, PROC, PROZ, and F13A1 genes are associated with recurrent spontaneous abortion in Chinese Han women [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2018, 24(6): 894-900.
- [29] PAN H, SUO P, LIU C, et al. The ESR1 gene in unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Syst Biol Reprod Med, 2014, 60(3): 161-164.
- [30] 徐佳佳,梁玲芝,陈贤君,等.MTHFR 基因多态性与先兆流产和复发性流产的关系[J].中国妇幼保健,2019,34(6):1326-1328.
- [31] LI X, YUAN F L, ZHAO Y Q, et al. Effects of leonurine hydrochloride on medically induced incomplete abortion in early pregnancy rats [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011, 159(2): 375-380.
- [32] LI Y Y, LIN Y K, LIU X H, et al. Leonurine: from gynecologic medicine to pleiotropic agent [J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(2): 152-160.
- [33] LI B H, WU J D, LI X L. Simultaneous determination and pharmacokinetic study of stachydrine and leonurine in rat plasma after oral administration of Herba Leonuri extract by LC-MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2013, 76: 192-199.

[责任编辑 刘德文]