

消癥汤对子宫内膜异位症模型大鼠腹腔液前列腺素和血清卵巢癌表面抗原水平的影响

徐慧军^{1*}, 孙明娥², 纪令士², 张婧婧¹

(1. 青岛市海慈医疗集团妇科, 山东 青岛 266033; 2. 青岛市海慈医疗集团检验中心, 山东 青岛 266033)

[摘要] 目的:探讨消癥汤对子宫内膜异位症模型大鼠腹腔液前列腺素(PGF_{2α})和血清卵巢癌表面抗原(CA₁₂₅)的影响。方法:实验分为生理盐水组,西药对照组,中药高剂量组,中药低剂量组,每组 10 只,采用 ELISA 法,观察子宫内膜异位症模型大鼠腹腔液 PGF_{2α}血清 CA₁₂₅水平浓度。结果:消癥汤能够降低子宫内膜异位症模型鼠血清 CA₁₂₅水平和腹腔液中 PGF_{2α}含量,对异位子宫内膜具有一定的抑制作用。结论:消癥汤能降低血清 CA₁₂₅水平、腹腔液中 PGF_{2α}含量,抑制异位子宫内膜的异常增生。

[关键词] 消癥汤;子宫内膜异位症模型大鼠;腹腔液前列腺素;血清卵巢癌表面抗原

[中图分类号] R 285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)06-0211-04

Influence and of Endometriosis Model Mouse's Liquid of Abdominal Cavity PGF_{2α} and Serum CA₁₂₅ Which Treated with Xiaozheng Decoction

XU Hui-jun^{*}, SUN Min-e, JI Ling-shi, ZHANG Jing-jing
(Hiser Medical Center of Qingdao, Qingdao 266033, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Xiaozheng Decoction(XZD) resolve in treating endometriosis model mouse and to explore its Liquid of abdominal cavity PGF_{2α}, serum CA₁₂₅. **Method:** Divide into four groups, the group treated with physiological saline, the group treated with Western medicine, the group treated with traditional Chinese medicine of high dosage, and the group treated with traditional Chinese medicine of low dosage, each group with ten mice. By ELISA to observe endometriosis model mouse's serum CA₁₂₅ and liquid of abdominal cavity PGF_{2α}. **Result:** XZD reduce the serum CA₁₂₅, liquid of abdominal cavity PGF_{2α}, of endometriosis model mouse and has some restrained function for endometriosis. **Conclusion:** XZD has an effect may be achieved by reducing the serum CA₁₂₅, liquid of abdominal cavity PGF_{2α}, restraining unusual proliferation of endometriosis.

[Key words] Xiaozheng Decoction; endometriosis model mouse; liquid of abdominal cavity PGF_{2α}; serum CA₁₂₅

子宫内膜异位症(EMT)是目前妇科领域中的多发病、常见病、疑难病,复发率较高。有关论述散见于中医学的“痛经”、“月经不调”、“不孕”、“癥瘕”

等文献中。在生育年龄妇女中,发病率约为 6% ~ 8%;在痛经的妇女中,其发病率为 40% ~ 60%;在不明原因不孕的妇女中,其发病率为 30% ~ 50%,且难以根治,其 5 年临床复发率超过 40%^[1],严重影响妇女的身心健康,日益受到国内外医学界的重视。由于西医对本病的病因及发病机制仍不完全清楚,西医药物治疗主要以激素疗法较为流行,但存在副作用大、停药后复发的缺点;手术疗法一般有保守性和根治性两种,前者治疗后复发率高,后者不适合

[收稿日期] 20100119(007)

[基金项目] 青岛市中医科研基金项目(2009-zyy008)

[通讯作者] *徐慧军,硕士,副主任医师,研究方向为不孕不育、卵巢早衰、子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征, Tel: (0532) 83777252, E-mail: Xuhuijun08@163.com

年轻且有生育要求的患者。因此防治子宫内膜异位症成为妇科领域的重要研究课题。

本实验通过以活血祛瘀、补肾化痰为法,拟定“消癥汤”观察其对子宫内膜异位症模型大鼠腹腔液前列腺素(PGF_{2α})和血清 CA₁₂₅(卵巢癌表面抗原)水平的影响,并希望通过本实验的开展,对今后中医治疗内异症在研究思路和方法上有所帮助。

1 材料与方

1.1 动物 SPF 级健康雌性育龄期末孕 Wistar 大鼠 40 只,42~56 日龄体重 200~220 g,青岛市动物研究所提供,许可证号 SCXK(鲁)20030010。饲养室温度保持在 20~24℃,相对湿度约 45%,清洁级,进食饮水正常的情况下,适应性喂养 2 周,于动情期进行实验。

1.2 药物与试剂 消癥汤:青岛海慈医疗集团中医院制剂室提供,组成为三棱 9 g,莪术 9 g,桃仁 9 g,红花 9 g,水蛭 6 g,土鳖虫 9 g,菟丝子 15 g,桑寄生 15 g,肉桂 9 g,制香附 12 g,枳壳 12 g,浙贝 9 g,山慈姑 9 g,鸡内金 12 g,党参 15 g,夏枯草 6 g。煎药前将中药饮片用水浸泡 30 min,由制剂室代煎。制成水煎浓缩液含生药约 7 g·mL⁻¹,置 4℃ 冰箱恒温保存备用。内美通(2.5 mg/粒,上海华联制药有限公司,批号 040302)临用时用蒸馏水制成混悬液。大鼠 CA₁₂₅ 放免试剂盒(中国医学科学院肿瘤研究所);大鼠 PGF_{2α} 酶免试剂盒(大连泛邦化工技术开发有限公司进口分装)。

1.3 模型制备 除生理盐水组外其余各组均采用手术移植法造模。术前以 0.2 mg 只·d 己烯雌酚促情,5 d 后参考 Jones 的方法^[2]手术开始造模。在 10% 的水合氯醛 0.35 g·kg⁻¹ ip 麻醉下,将大鼠固定手术台上,剃除手术区的被毛,碘酊消毒手术区;无菌条件下于耻骨上 1 cm 作 2 cm 左右切口,挑出右侧子宫,剥离系膜,结扎止血,切除子宫中段 1.5 cm 左右,将其剖开成片,切成 4 mm² 大小 3 块,用医用无损缝合线四角固定,缝合于对侧生殖道周围的系膜上,具体部位:①左卵巢内侧 1 cm 处,②左输卵管中部内侧 1 cm 处。另 1 块作组织学分析,以证实植入物为子宫内膜组织。向腹腔滴入以 0.9% 生理盐水溶解的青霉素 16 万·kg⁻¹,而后关闭腹腔。术后第 1 天 im 青霉素,16 万·kg⁻¹,每天 1 次,连续 5 d。造模第 4 周后再次剖腹探查,见移植的子宫内膜体积增大呈透明的结节状或囊状,内有液体积聚,

表面有结缔组织被覆及血管形成,并与大网膜肠管腹壁广泛粘连,剥离种植灶组织,进行组织学分析。组织形态学观察有子宫内膜腺体或上皮、间质细胞,结果证实子宫内膜种植存活,提示子宫内膜异位症模型制作成功。

1.4 动物分组给药 造模 4 周后,将 40 只造模大鼠随机分成 4 组:即生理盐水组,西药对照组,中药高剂量组,中药低剂量组,每组 10 只。给药方法:中药高剂量组 ig 中药浓缩液约相当于生药 13 g·kg⁻¹·d⁻¹,中药低剂量组 ig 中药浓缩液约相当于生药 2.65 g·kg⁻¹·d⁻¹,西药对照组 ig 约相当于内美通 0.42 mg·kg⁻¹ 混悬液,每周 2 次,其余时间 ig 等量生理盐水,生理盐水组 ig 等量生理盐水,连续 ig 4 周。

1.5 血清制备与标本采集 待给药疗程结束后,于末次给药后 24 h 内取标本和取血。将大鼠用 10% 的水合氯醛 0.35 g·kg⁻¹ ip 麻醉,麻醉成功后仰卧位固定于鼠台上,腹正中线切开,拨离肠管,注入 0.5 mL 生理盐水冲洗腹腔,抽取腹腔液保存于 -70℃ 低温冰箱待测。暴露腹主动脉,使用 5 mL 注射器腹主动脉取血 3~5 mL,以 3 000 r·min⁻¹,离心 15 min,分离血清,保存于 -70℃ 低温冰箱待测。采血后摘除种植的子宫内膜组织,放入 10% 福尔马林溶液中固定 24 h,脱水,包埋,切片,HE 染色,光镜观察。

1.6 指标检测 生化指标委托海慈医疗集团检验中心检测,操作过程严格遵循试剂盒说明书操作。

1.6.1 血清 CA₁₂₅ 水平测定 采用电化学发光免疫分析法。使用仪器为罗氏 e601 型全自动电化学发光免疫分析仪,试剂采用肿瘤相关抗原 125 定量测定试剂盒,均参照试剂说明书进行检测。

1.6.2 血清 PGF_{2α} 浓度测定 采用酶联免疫吸附法。大鼠前列腺素 F_{2α}(PGF_{2α}) ELISA 试剂盒购于上海亚培生物科技有限公司。参照试剂说明书先将试剂盒平衡至室温,分别设置空白孔、标准孔、待测样品孔。将各种反应板依次加入标准品(standars)、待测腹腔液、酶结合物、显色液、终止液(stop solution)。在酶标仪 450 nm 处读 A。以标准物的浓度为纵坐标,以 A 为横坐标,绘制标准曲线,根据样品的 A 由标准曲线查出各组大鼠 PGF_{2α} 相应的浓度。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验, P < 0.05

为差异显著。其中生理盐水组 1 只灌胃致死,西药对照组 2 只灌胃致死,均剔除,不在统计结果之内。

2 结果

2.1 消癥汤对各组大鼠血清 CA₁₂₅ 水平的影响

表 1 结果显示,各治疗组血清中 CA₁₂₅ 含量均低于生理盐水组,有极显著差异 ($P < 0.01$),中药高、低剂量组与西药对照组相比无显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 1 消癥汤对各组大鼠血清 CA₁₂₅ 水平、
腹腔液中 PGF_{2 α} 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CA ₁₂₅ /U · mL ⁻¹	PGF _{2α} /pg · mL ⁻¹
生理盐水	9	8.31 ± 1.08	850.5 ± 99.7
西药对照	8	5.87 ± 1.11 ¹⁾	648.2 ± 106.2 ¹⁾
中药高剂量	10	5.95 ± 1.01 ¹⁾	651.4 ± 98.7 ¹⁾
中药低剂量	10	6.89 ± 1.01 ¹⁾	739.4 ± 83.9 ¹⁾

注:与模型组相比 ¹⁾ $P < 0.01$ 。

2.2 消癥汤对各组大鼠腹腔液 PGF_{2 α} 含量的影响

表 1 显示,各治疗组腹腔液中 PGF_{2 α} 含量均明显低于生理盐水组 ($P < 0.01$)。中药高、低剂量组与西药对照组相比无显著性差异。

2.3 光学显微镜下各组子宫内膜形态观察

光学显微镜下,生理盐水组异位内膜腺上皮细胞呈高柱状或矮柱状,排列在囊泡的内腔面,细胞间连接较紧密,细胞核大,呈椭圆形,位于基底部,胞质丰富,内膜间质丰富,其中有个别部位上皮层内陷或疏松,有形成假腺体的特征,一些完整腺腔中还有分泌物存在,呈淡红色。在西药对照组、中药高剂量组和中药低剂量组中,异位内膜腺上皮层明显变薄,腺体较少甚至缺如,细胞呈矮柱状甚至扁平状松散排列,核不规则,位置不定,胞质嗜碱性增加,个别部位可见有凋亡形态特征的细胞,细胞缩小,核浓染,胞膜皱缩。

3 讨论

从中医的角度分析瘀血内阻是本病的病理基础,肾虚痰瘀互结是发病的病理环节。瘀血日久,可致肾虚;瘀血留滞体内,必然影响局部气机的升降出入,气机郁而不达,又可影响血液的运行,则所结之处日渐坚硬。气血坚结壅聚,津液输布失常,造成局部湿浊痰凝。痰浊停聚也能阻碍气机之流畅,气滞则血瘀。故“血瘀肾虚痰阻,痰瘀互结,渐成癥瘕”是本病的基本病机。消癥汤以三棱、莪术共为君药,破血祛瘀,消积止痛,为攻坚破结之要药。桃仁、红花活血祛瘀,通调经脉,水蛭、土鳖虫破血逐瘀,除腹中包块,消“离经之血”,上述 4 药共为臣药,增强君

药活血化瘀之功,同时又有化痰散结之功。制香附、山慈姑、浙贝母、鸡内金、菟丝子、党参等行气、化痰、散结、补肝肾之功以温运通达,以上共为佐药。纵观全方,痰瘀虚同治,攻补兼施,共奏活血祛瘀、补肾化痰之功。

CA₁₂₅ (卵巢癌表面抗原)是一种源于体腔上皮细胞的高分子量糖蛋白抗原,可作为肿瘤标记物,主要存在于子宫内膜、腹膜。当富含 CA₁₂₅ 的组织异常增生时,血液 CA₁₂₅ 的含量就会增加。McBean 等^[3] 研究发现,EMT 症患者在位子宫内膜细胞产生的 CA₁₂₅ 是正常人子宫内膜细胞的 2~4 倍,且随病情进展,释放入血的 CA₁₂₅ 随之增加。有文献资料报道,血清 CA₁₂₅ 测定对 EMT 有较理想的诊断价值^[4-6]。有研究结果显示,CA₁₂₅ 测定可用于监测内膜异位症病变活动情况,若药物或手术治疗有效时 CA₁₂₅ 下降,复发时又升高^[7]。检测 CA₁₂₅ 对评价内膜异位症治疗疗效具有一定意义,CA₁₂₅ 可作为发现内膜异位症复发的检测指标。可见,CA₁₂₅ 在对内膜异位症的诊断、病情复发的监测、治疗效果的评价方面均有重要的指导意义,故本研究以 CA₁₂₅ 作为消癥汤治疗内膜异位症效果评定的检测指标。

动物实验研究结果表明,西药对照组、中药高剂量组及中药低剂量组造模动物血清中 CA₁₂₅ 含量均低于生理盐水组,有极显著差异 ($P < 0.01$),中药高、低剂量组与西药对照组相比无显著性差异 ($P < 0.05$)。上述研究结果为消癥汤治疗子宫内膜异位症的有效性提供了客观依据。

研究表明^[8],EMT 患者腹腔液中前列腺素 (PG) 含量均显著高于对照组,当异位病灶祛除后,腹腔液中 PG 含量均显著降低。引起高浓度 PG 的原因^[9] 与异位内膜产生和释放大量 PG 有关。PG 本身就是一种致痛物质,尤其 PGF_{2 α} 与痛经程度密切相关,痛经的程度与 PGF_{2 α} 水平呈正相关^[10]。异位内膜结节过高的 PGF_{2 α} 可诱发无菌性炎症反应,并激活缓激肽,使局部痛觉过敏,同样会引起疼痛。在经期,由于溶酶体破裂、出血等因素的影响,子宫内膜 PGF_{2 α} 大量释放,从而导致局部疼痛加重。研究资料表明^[11],EMT 时 PG 升高,PG 对输卵管运动、卵巢功能及子宫舒缩功能均有直接影响。体外实验证实^[11]:局部 PG 过高或比例失调,可引起输卵管蠕动异常和子宫收缩,影响卵子的运行、受精和受精卵的着床,导致不孕。鉴于以上原因,本研究选用 PGF_{2 α}

作为消癥汤治疗子宫内膜异位症的观察指标。

动物实验研究表明,西药对照组、中药高剂量组及中药低剂量组造模动物腹腔液中 $PGF_{2\alpha}$ 含量均明显低于生理盐水组 ($P < 0.01$)。中药高、低剂量组与西药对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。上述研究结果表明,消癥汤能够降低子宫内膜异位症腹腔液中 $PGF_{2\alpha}$ 含量,从而达到治疗作用。

动物实验发现,西药对照组、中药高剂量组和中药低剂量组,异位内膜腺上皮层明显变薄,腺体较少甚至缺失,细胞呈矮柱状甚至扁平状松散排列,核不规则,位置不定,胞质嗜碱性增加,个别部位可见有凋亡形态特征的细胞,细胞缩小,核浓染,胞膜皱缩。上述研究结果表明,消癥汤对异位子宫内膜具有一定的抑制作用。

综上所述,消癥汤治疗子宫内膜异位症可能是通过降低模型鼠血清 CA_{125} 水平、腹腔液中 $PGF_{2\alpha}$ 含量,抑制异位子宫内膜的异常增生而实现的。

[参考文献]

[1] 曲军英. 卵巢子宫内膜异位囊肿研究进展[J]. 福建医科大学学报, 2000, 34(9): 318.
[2] Jones R C. The effect of a luteinizing hormone releasing hormon (LRH) agonist (Wy240, 972), levonorgestrel, danazolan ovariectomy on experimental endometriosis in

the rat[J]. Acta Endocrinol, 1984, 106(2): 282.

[3] 张薇, 沈洪沁, 黄启玲, 等. 非动情期 SD 大鼠子宫内膜异位症模型的建立[J]. 中国实验动物学报, 2004, 12(1): 21.
[4] McBean J H, Brumsted J R. *In vitro* CA_{125} secretion by endometrium from women with advanced endometriosis Fertile Steril, 1993, 95(1): 891.
[5] 巫云. 血清 CA_{125} 检测对子宫内膜异位症的临床诊断价值[J]. 交通医学, 2003, 17(5): 5351.
[6] 曹立幸, 韩冰, 李同玺, 等. 妇痛宁对大鼠子宫内膜异位症 CA_{125} 水平影响的实验研究[J]. 福建中医学院学报, 2003, 13(5): 31.
[7] 乐杰. 子宫内膜异位症和子宫腺肌病妇产科学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 13.
[8] 熊光武, 史常旭. 子宫内膜异位症致不孕的机理探讨[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1997, 13(6): 339.
[9] 王琳, 史常旭. 子宫内膜异位症导致不孕的原因探讨[J]. 第三军医大学学报, 1996. 18(10): 433.
[10] 张人捷. 子宫内膜异位症的子宫在位内膜和异位内膜结节的前列腺素测定[J]. 中华妇产科杂志, 1984, 19(2): 931.
[11] 熊光武, 史常旭. 腹腔液前列腺素和吞噬细胞在子宫内膜异位症致不孕中的作用[J]. 重庆医学, 1995, 24(1): 521.

[责任编辑 邹晓翠]

(上接第 210 页)

[3] Li J, Zhang Z, Wang D, *et al.* TGF- β 1/Smads signaling stimulates renal interstitial fibrosis in experimental AAN[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2009, 29(5): 280.
[4] Hills C E, Squires P E. TGF- β 1-Induced Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Therapeutic Intervention in Diabetic Nephropathy[J]. Am J Nephrol, 2010, 31(1): 68.
[5] Veerasamy M, Nguyen T Q, Motazed R, *et al.* Differential regulation of E-cadherin and alpha-smooth muscle actin by BMP 7 in human renal proximal tubule epithelial cells and its implication in renal fibrosis[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 297(5): F1238.
[6] 杨晓萍, 林智峰, 张春江, 等. 肾间质纤维化动物模型中整合素连接激酶及相关因子的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(2): 258.
[7] Lluís JM, Nachbur U, Cook WD, *et al.* TAK1 is required

for survival of mouse fibroblasts treated with TRAIL, and does so by NF- κ B dependent induction of Cflipl[J]. PloS One, 2010, 5(1): e8620.

[8] Kim SI, Kwak JH, Wang L, *et al.* Protein phosphatase 2A is a negative regulator of transforming growth factor- β 1-induced TAK1 activation in mesangial cells[J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10753.
[9] 陆敏, 周娟, 王飞, 等. 川芎嗪对肾间质纤维化模型大鼠 Smad 和 SnoN 蛋白表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 84.
[10] 董华玲, 马华. 中药芪红合剂对肾间质纤维化模型大鼠肾组织中 CTGF 表达的影响[J]. 中外医疗, 2009, (4): 10.
[11] 谷海瑛, 赵宗江, 杨美娟. 复方鳖甲软肝片对单侧输尿管结扎大鼠肾组织 NF- κ B 表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2005, 6(3): 137.

[责任编辑 聂淑琴]