

温经汤加味对EM肾虚血瘀型大鼠JAK2/STAT3信号通路及其下游因子的影响

孙瑞英¹, 崔轶凡^{2*}, 曹娟², 焦锐²

(1. 山西中医药大学第二临床学院, 太原 030000;

2. 山西中医药大学第四临床学院, 基础医学院, 护理学院, 山西晋中 030619)

[摘要] 目的:探讨温经汤加味对子宫内膜异位症(EM)肾虚血瘀型大鼠的治疗作用及其机制研究。方法:从105只SPF级雌性未孕健康SD大鼠中随机选取10只作为空白组,余采用复合因素法构建肾虚血瘀型大鼠模型,造模成功后随机抽取10只为假手术组,仅开腹,不缝内膜,余采用自体内膜移植法构建EM肾虚血瘀型大鼠模型。从造模成功的56只大鼠中随机选取50只大鼠随机分为模型组、达那唑组(63 mg·kg⁻¹)及温经汤加味低、中、高剂量组(5, 10, 20 g·kg⁻¹),每组10只,每日灌胃1次,连续4周。取各组内膜组织进行苏木素-伊红(HE)染色,观察组织病理变化;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组血清上清液中白细胞介素-10(IL-10),白细胞介素-17(IL-17)含量;测量治疗前后各造模组异位灶长(D₁),宽(D₂),高(D₃),并计算异位灶体积;免疫组化(IHC)检测各组大鼠内膜组织中Janus激酶2(JAK2),信号转导与转录活化因子3(STAT3),磷酸化STAT3(p-STAT3),血管内皮生长因子(VEGF),肿瘤坏死因子-α(TNF-α),血小板反应素-1(TSP-1)蛋白表达情况;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测VEGF, TNF-α以及TSP-1蛋白表达情况。结果:镜下病理观察可见空白组大鼠子宫内膜腺体细胞排列整齐,腺体及间质细胞生长良好;与空白组比较,模型组子宫内膜结构完整,呈子宫腔状或环形封闭式结构,内有囊肿形成,上皮为立方状或柱状上皮,大部分上皮细胞有分泌现象,间质致密,基质呈少许纤维化,血管增生密集,并可见少量腺体及炎细胞浸润。与空白组比较,模型组血清中IL-10含量显著降低(P<0.01),IL-17含量显著升高(P<0.01);模型组内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3, VEGF, TNF-α蛋白表达明显升高(P<0.05), TSP-1蛋白表达明显降低(P<0.05)。与模型组比较,温经汤加味各剂量组大鼠血清中IL-10含量显著升高(P<0.01),IL-17含量显著降低(P<0.01),异位灶体积显著减小(P<0.01);温经汤加味高、中剂量组内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3, TNF-α, VEGF蛋白水平均明显降低(P<0.05), TSP-1蛋白水平明显升高(P<0.05)。结论:温经汤加味具有抑制EM肾虚血瘀型大鼠异位灶侵袭作用,其机制可能与干预JAK2/STAT3信号通路过度激活所介导的免疫屏障、阻断微血管新生功能有关。

[关键词] 温经汤加味; 子宫内膜异位症; Janus激酶2(JAK2)/信号转导与转录活化因子3(STAT3)信号通路; 血管内皮生长因子(VEGF); 肿瘤坏死因子-α(TNF-α); 血小板反应素-1(TSP-1)

[中图分类号] R2-0;R289;R271.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)05-0041-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210540

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20210111.1724.006.html>

[网络出版日期] 2021-1-12 14:53

Effect of Modified Wenjingtang on JAK2/STAT3 Signal Pathway and Downstream Factors Protein Expression in Endometriosis Rats

SUN Rui-ying¹, CUI Yi-fan^{2*}, CAO Juan², JIAO Rui²

(1. Second Clinical College, Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030000, China;

2. Fourth Clinical College, School of Basic Medicine, School of Nursing, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

[收稿日期] 20200910(024)

[基金项目] 山西省卫生和计划生育委员会科研课题(2017128);山西中医药大学科技创新团队项目(2018TD-017);山西省科技厅应用基础研究计划面上自然基金项目(201901D111341)

[第一作者] 孙瑞英,在读硕士,从事子宫内膜异位症的中医基础与临床研究, E-mail: 814557862@qq.com

[通信作者] *崔轶凡,博士,副教授,硕士生导师,从事妇科病的基础应用研究, E-mail: cuiyf1120@163.com

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect and mechanism of modified Wenjingtang on endometriosis (EM) rats with kidney deficiency and blood stasis. **Method:** The 10 from 105 SPF female healthy SD rats were randomly selected as the blank group. The rest constructed the rat model of kidney deficiency and blood stasis by compound factorial method. After the model was successfully established, 10 rats were randomly selected as the sham operation group, with only laparotomy and no intima suture, and the remaining rats were established with EM kidney deficiency and blood stasis type by autologous intimal transplantation. Fifty rats which were randomly selected from 56 successful rats were treated with the modified Wenjingtang (5, 10, 20 g·kg⁻¹) and danazol group (63 mg·kg⁻¹), 1 time daily, for 4 weeks. The endometrial tissues of each group were stained with hematoxylin eosin (HE) to observe the histopathology. The levels of inflammatory factors interleukin-10 (IL-10) and interleukin-17 (IL-17) in serum supernatant were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Measuring the length (D₁), width (D₂) and height (D₃) of the heterotopic foci in each group before and after treatment. Then calculating the volume of them. The expression of tyrosine kinase 2 (JAK2), transcription factor 3 (STAT3), phosphorylation transcription factor 3 (p-STAT3), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and thrombospondin-1 (TSP-1) were detected by immunohistochemistry (IHC). The expression of VEGF, TNF- α and TSP-1 was detected by Western blot. **Result:** Microscopic pathological observation showed that the endometrial glandular cells of the blank group were arranged in order, and the glandular and stromal cells grew well, compared with the blank group, the endometrial structure of the model group was complete, showing a cavity like or annular closed structure, with cyst formation, and the epithelium was cubic or columnar epithelium, most of the epithelial cells had secretion, the stroma was dense, and the matrix showed a little fibrosis. There were a few glands and inflammatory cell infiltration. Compared with the blank group, the content of IL-10 in serum of model group was significantly decreased ($P < 0.01$), and the content of IL-17 was significantly increased ($P < 0.01$), the protein expression of JAK2, STAT3, p-STAT3, VEGF, TNF- α in endometrial tissue of model group was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of TSP-1 protein was significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the serum IL-10 content of rats in modified Wenjingtang treatment group increased significantly ($P < 0.01$), the IL-17 content decreased significantly ($P < 0.01$), and the volume of ectopic foci decreased significantly ($P < 0.01$). While the level of JAK2, STAT3, p-STAT3, TNF- α , VEGF protein in intimal tissue of modified Wenjingtang high and middle dose group decreased significantly ($P < 0.05$) and the level of TSP-1 protein increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Modified Wenjingtang can inhibit the invasion of ectopic foci in EM rats with kidney deficiency and blood stasis, the mechanism may be related to the intervention of immune barrier and block angiogenesis function mediated by JAK2/STAT3 signaling pathway activation.

[Key words] modified Wenjingtang; endometriosis; tyrosine kinase 2 (JAK2)/transcription factor 3 (STAT3) signaling pathway; vascular endothelial growth factor (VEGF); tumor necrosis factor- α (TNF- α); thrombospondin-1 (TSP-1)

子宫内膜异位症(EM),因其极具侵袭性和复发性,有盆腔的“沙尘暴”之称,该症能够导致育龄期妇女不孕、月经不调以及痛经、性交痛、下腹痛等各种盆腔痛疾病,影响女性生活质量,是严重威胁女性健康的重要疾病之一。

Janus 激酶 2/信号转导与转录活化因子 3 (JAK2/STAT3)信号通路是近年发现的细胞内信号转导通路,在肿瘤细胞的增殖、分化、血管生长以及免疫调节等生物学过程中起重要作用^[1]。而EM具

有类似恶性肿瘤生物学特性,如种植、转移及复发等^[2]。YAN等^[3]对已发表的15篇STAT3基因多态性与肿瘤关系的论文进行Meta分析显示,STAT3基因多态性增加了EM发病率。吴松等^[4]研究结果显示,EM患者体内的JAK2/STAT3通路处于活跃状态,与EM发病机制有一定联系。陈建梅等^[5]推测JAK2/STAT3信号通路在EM发展过程中发挥了重要作用,而抑制JAK2/STAT3信号通路则能够对EM的治疗产生积极作用。王玲等^[6]揭示了JAK2/

STAT3通路可能在EM中有重要作用。

本团队前期从EM患者与肾虚血瘀证患者免疫失调状态的一致性的角度,分析EM基本病机是肾虚为本,血瘀为标^[7]:患者机体因多种病因导致“肾虚”,“肾虚”气化无力从而“瘀血”内蓄,瘀血又随月经周期不断蓄积,最终使本病呈进行性加重的趋势。亦有学者基于EM发病特点与中医“伏邪”发病相符,提出了“伏寒伤肾,致瘀损络”的病因病机理论^[8]。异位的子宫内膜促进慢性炎症局部微环境及全身免疫的改变,引起黏连、血管生成和增殖的发生^[9-10]。前期研究亦发现,EM发病的关键环节与肾虚血瘀的重要病理基础均为免疫抑制与微血管新生^[11]。因此推测运用补肾化瘀法调节免疫抑制及阻断微血管新生是治疗EM的重要治法,但目前关于温经汤加味治疗EM对JAK2/STAT3信号通路影响的多靶点、多层次作用机制研究尚不明确。推测其可以通过调控JAK2/STAT3信号通路,调整免疫状态,阻断微血管新生,起到治疗EM的作用。温经汤首见于《金匮要略》,其对EM疗效确切、作用机制研究较为深入,是具有良好研究前景的经方^[12],不仅能够缓解痛经,提高受孕率,还可以调整月经周期等,是治疗EM的常用、有效方剂。本研究通过观察EM肾虚血瘀型大鼠模型血清中白细胞介素-10(IL-10),白细胞介素-17(IL-17)以及子宫内膜组织中JAK2/STAT3信号通路及其下游相关蛋白,如血管内皮生长因子(VEGF),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),血小板反应素-1(TSP-1)变化,以及在中医学“方证相应”原则下,温经汤加味对EM肾虚血瘀型模型大鼠的影响,探讨其治疗作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级雌性未孕健康SD大鼠105只,7周龄,体质量180~200 g,购自北京斯贝福实验动物有限公司,合格证号SCXK(京)2019-0010。于山西中医药大学SPF级实验室常规饲养,实验动物处理经山西中医药大学医学伦理委员会批准(批号2020DW121)。

1.2 药材 温经汤加味由桑寄生12 g,续断9 g,吴茱萸9 g,桂枝6 g,当归6 g,白芍6 g,川芎6 g,牡丹皮(去心)6 g,生姜6 g,炙甘草6 g,炙半夏6 g,麦门冬(去心)6 g,人参片6 g,阿胶6 g组成,均由山西中医药大学附属医院药剂科提供,并由山西中医药大学中药与食品工程学院裴香萍副教授鉴定均为正品。将中药置8倍温水中浸泡0.5 h,沸腾后文火煎煮4 h,取汁后经3层纱布过滤;第2,3次煎煮均分别

以6倍水文火煎煮2 h,同样方法取汁,合并3次药液,用旋转蒸发器浓缩至 $5\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。药液常温冷却后,至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存备用,实验时根据所需浓度按比例用蒸馏水稀释。

1.3 药品与试剂 羟基脲片(齐鲁制药有限公司,批号8M0843D05);盐酸肾上腺素注射液(天津金耀药业有限公司,批号1903091);达那唑胶囊(江苏联环药业股份有限公司,批号H32022729);大鼠IL-10,IL-17酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海将来实业股份有限公司,批号均为01/2020);兔抗JAK2多克隆抗体,兔抗STAT3多克隆抗体,兔抗STAT3(p-Ser727)多克隆抗体,TNF- α 抗体,苏木素-伊红(HE)染色液,DAB免疫组织化学显色试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号分别为D260525-0025, D220083-0025, D155018-0025, D164309, E607318-0200, E670033-1000]; VEGF, TSP-1抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为19003-1-AP, 18304-1-AP); β -肌动蛋白抗体(β -actin,英国Abcam公司,批号ab8277);羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)二抗,羊抗鼠HRP二抗(碧云天生物技术研究所,批号分别为A0208, A0216)。

1.4 仪器 RM2125RT型石蜡切片机,PPTHK-21B型组织摊片机(德国Leica公司);BX53型显微镜(日本Olympus公司);Himac CR 22F型低温离心机(日本Hitachi公司);MK3型酶标仪(芬兰Labsystems公司);Mini Protean 3 cell型电泳仪(美国Bio-Rad公司);TE77XP型电转仪(美国Hoefer公司)。

2 方法

2.1 EM肾虚血瘀型大鼠模型制备 参照文献[13-15]采取复合因素制备EM肾虚血瘀型大鼠模型,造模组大鼠每天上午给予羟基脲片 $450\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃,持续10 d;下午将其放入 $0\sim 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰水混合物中,持续2周;后给予盐酸肾上腺素 $0.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 皮下注射1次。冰水浴结束休息2 d后参照VERNON等^[15]的方法进行自体内膜移植。

2.2 EM肾虚血瘀型大鼠模型评价

2.2.1 异位灶 造模3周后,开腹探察移植物生长状况。测量异位灶长(D_1),宽(D_2),高(D_3),计算体积($V=0.52\times D_1\times D_2\times D_3$)。 $V>25\text{ mm}^3$ 为造模成功,剔除 $V\leq 25\text{ mm}^3$ 大鼠^[16]。可见移植物呈隆起的透明结节或囊内充满黄色或透亮浆液囊泡样结构,移植物表面被结缔组织覆盖并有血管生成^[17]。

2.2.2 异位内膜 切取移植物进行病检,依据EM

病理诊断标准为镜下出现明显的子宫内膜上皮及基质,层次清晰,表面上皮呈柱状,基质呈少许纤维化,可见多量微血管形成^[17]。

2.2.3 肾虚血瘀型表现 造模组大鼠出现体型偏瘦,体质量下降,畏寒喜暖,背弓毛枯,蜷缩少动,反应较为迟钝,食少便溏,爪甲、耳缘紫暗,紫暗舌,舌底脉络增粗、色暗等符合肾虚血瘀的症状^[18]。

2.3 分组及给药 从造模成功的56只大鼠中随机选取50只大鼠随机分为模型组、达那唑组及温经汤加味低、中、高剂量组,每组10只,另取10只正常SD大鼠作为空白组,10只肾虚血瘀型大鼠作为假手术组,假手术组只开腹,不缝内膜。各治疗组用药量均按 $100\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 计算,均按照《药理实验方法学》^[19]人与大鼠体表面积折算的等效剂量比值计算,折算系数0.018,温经汤加味低、中、高剂量分别为5, 10, $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于人等效剂量的0.5, 1, 2倍,达那唑组剂量为 $63\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于人等效剂量,模型组、假手术组、空白组分别给予等体积生理盐水,连续给药21 d。

2.4 一般情况 观察各组大鼠体质量变化、皮毛色泽、饮食及活动情况、精神状态、耳缘及舌色变化等情况。

2.5 标本采集与处理 治疗4周后,大鼠禁食12 h,腹主动脉采血4 mL,将血液于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置12 h后, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径12 cm),吸取上清液 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存待测。取空白组、假手术组子宫内膜组织,模型组、达那唑组以及温经汤加味各剂量组在位内膜、异位内膜组织,分别置于4%多聚甲醛溶液中供HE染色、免疫组化检测; $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存供蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

2.5.1 HE染色观察 各组子宫内膜组织病理学变化 各组大鼠子宫内膜组织标本分割后置入4%多聚甲醛溶液保存,经固定、脱水、透明、石蜡包埋后,做 $5\ \mu\text{m}$ 连续切片,HE染色,封片、镜检并采用病理图像分析仪对切片进行拍照观察。

2.5.2 ELISA检测 各组大鼠血清IL-10, IL-17的含量 按照ELISA试剂盒说明书进行规范操作,分别检测各组血清上清液中IL-10, IL-17的吸光度 A ,计算各指标含量。

2.5.3 免疫组化检测 各组内膜组织中相关蛋白的表达 各组大鼠内膜组织标本采用病理图像分析仪对切片进行拍照,利用Image Pro Plus 6.0软件测定每个视野下 A ,以每片3个视野的平均积分吸光度 AA 作为测量值,分析各组大鼠内膜组织中JAK2,

STAT3, p-STAT3, VEGF, TNF- α , TSP-1蛋白的表达。

2.5.4 Western blot检测 各组内膜组织中VEGF, TNF- α , TSP-1蛋白表达 冰上将组织剪成细小的碎片,按每20 mg组织加入裂解液150~250 μL 的比例加入裂解液,匀浆器匀浆直至完全裂解。将裂解后的样品 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $12\ 000\times\text{g}$ 离心15 min,取上清,进行蛋白质定量后贮存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。上样,聚丙烯酰胺凝胶电泳,120 V恒压转膜,室温封闭3 h,一抗(β -actin 1:1 000, VEGF 1:1 000, TNF- α 1:1 万, TSP-1 1:1 000), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,1 \times TBST洗膜3次,每次摇床10 min,二抗室温孵育2 h,洗膜3次,每次摇床10 min,最后采用化学发光底物进行化学发光,显影后用Quantity one图像分析软件进行扫描分析,并使用Image J软件进行数据分析。以目的蛋白与 β -actin灰度值比值表示各目的蛋白的相对表达量。

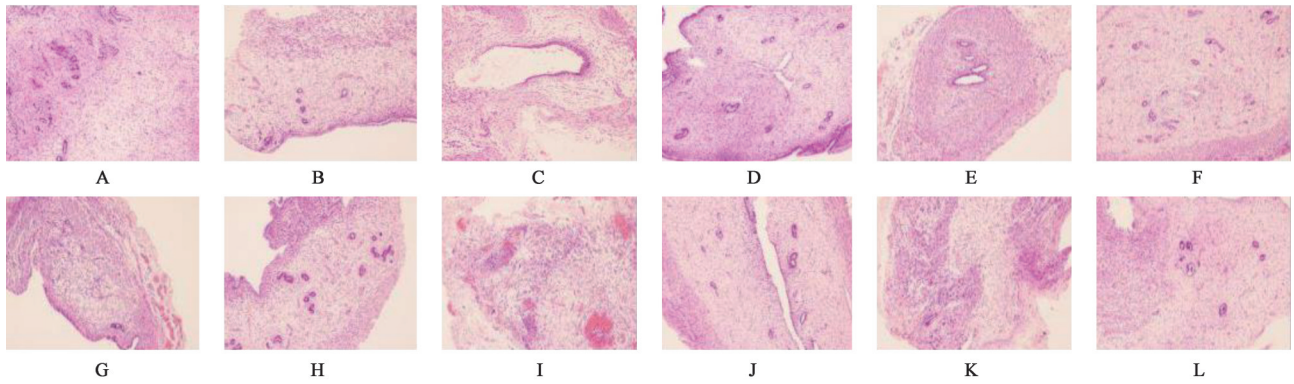
2.6 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行数据分析,所得数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间均数比较用 t 检验,组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对肾虚血瘀型EM大鼠一般情况的影响 用药前各造模组大鼠背毛干枯、无光泽,神态倦怠,双目无神,蜷缩少动,反应较为迟钝,食少便溏,耳缘紫暗、紫暗舌、舌底脉络增粗色暗。给药后各治疗组大鼠毛色恢复整齐、有光泽,精神状态有所恢复,其他情况变化不明显。空白组、假手术组大鼠毛发光滑有光泽,双目有神,无明显不良反应。

3.2 对肾虚血瘀型EM大鼠子宫内膜组织病理变化的影响 空白组、假手术组大鼠子宫内膜腺体细胞排列整齐,腺体及间质细胞生长良好;模型组子宫内膜结构完整,呈子宫腔状或环形封闭式结构,内有囊肿形成。上皮为立方状或柱状上皮,大部分上皮细胞有分泌现象,间质致密,血管增生密集,并可见到少量腺体及炎细胞浸润;达那唑组和温经汤加味低、中、高组大鼠子宫内膜上皮层不同程度地变薄,细胞低平,呈扁平状,甚至萎缩呈线状排列,细胞排列疏松,内膜脱落,间质细胞减少、小而稀疏,血管明显减少,未见明显增生及假腺体改变,纵切面异位内膜呈缝隙状、腺体萎缩,有纤维化倾向。见图1。

3.3 对肾虚血瘀型EM大鼠血清中IL-10, IL-17含量的影响 与空白组比较,模型组大鼠IL-10含量显著降低($P<0.01$),IL-17含量显著升高($P<0.01$);



A. 空白组; B. 假手术组; C. 模型异位内膜组; D. 模型在位内膜组; E. 达那唑异位内膜组; F. 达那唑在位内膜组; G. 温经汤加味低剂量异位内膜组; H. 温经汤加味低剂量在位内膜组; I. 温经汤加味中剂量异位内膜组; J. 温经汤加味中剂量在位内膜组; K. 温经汤加味高剂量异位内膜组; L. 温经汤加味高剂量在位内膜组(图2~7同)

图1 温经汤加味对肾虚血瘀型EM大鼠在位内膜、异位内膜组织病理学的影响(HE, ×100)

Fig. 1 Effect of modified Wenjingtang on histopathology of eutopic and ectopic endometrium in EM rats with kidney deficiency and blood stasis(HE, ×100)

与模型组比较,温经汤加味各剂量组和达那唑组大鼠血清中IL-10含量均显著升高($P < 0.01$),IL-17含量显著降低($P < 0.01$)。见表1。

表1 温经汤加味对肾虚血瘀型EM大鼠血清中IL-10,IL-17含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of modified Wenjingtang on IL-10 and IL-17 in serum of EM rats with kidney deficiency and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-10	IL-17
空白		80.25±1.40	11.15±0.28
假手术		79.10±1.39	11.46±0.34
模型		47.49±0.81 ¹⁾	56.04±3.50 ¹⁾
达那唑	0.063	68.08±1.75 ²⁾	21.91±0.92 ²⁾
温经汤加味	20	66.86±1.32 ²⁾	22.87±0.73 ²⁾
	10	62.21±1.53 ²⁾	38.53±1.15 ²⁾
	5	55.83±1.46 ²⁾	45.79±0.86 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表7同)。

3.4 对肾虚血瘀型EM大鼠异位灶体积变化的影响 与模型组比较,达那唑组与温经汤加味各剂量组异位灶体积均显著减小($P < 0.01$);与达那唑组比较,温经汤加味低、中剂量组异位灶体积明显增大($P < 0.05$);与温经汤加味高剂量组比较,温经汤加味低、中剂量组异位灶体积明显较大($P < 0.05$);与本组治疗前比较,各治疗组异位灶体积均显著减小($P < 0.01$)。见表2。

3.5 对肾虚血瘀型EM大鼠内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组在位内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达明显升高($P < 0.05$);与模型在位内膜组比较,

表2 温经汤加味对肾虚血瘀型EM大鼠异位灶体积变化的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of modified Wenjingtang on volume change of ectopic focus in rats with kidney deficiency and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	治疗前	治疗后
模型		64.41±2.32	63.34±2.43
达那唑	0.063	63.93±2.59	18.85±3.51 ^{1,3)}
温经汤加味	20	64.10±1.95	19.69±2.20 ^{1,2,3)}
	10	64.49±2.76	30.82±2.74 ^{1,2,3)}
	5	64.07±2.68	42.53±2.25 ^{1,2,3)}

注:治疗后,与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$;与温经汤加味高剂量组比较²⁾ $P < 0.05$;与本组治疗前比较³⁾ $P < 0.01$ 。

达那唑组与温经汤加味高、中剂量组大鼠在位内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达均明显降低($P < 0.05$);温经汤加味低剂量组在位内膜组织中JAK2蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。见图2~4,表3。

与空白组比较,模型组异位内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达量均明显升高($P < 0.05$);与模型组异位内膜比较,达那唑组异位内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),温经汤加味高剂量组异位内膜组织中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白表达量均明显降低($P < 0.05$),温经汤加味低、中剂量组异位内膜组织中p-STAT3蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。见图2~4,表4。

3.6 对肾虚血瘀型EM大鼠内膜组织中VEGF, TNF- α , TSP-1蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组在位内膜组织中VEGF, TNF- α 蛋白表达明显

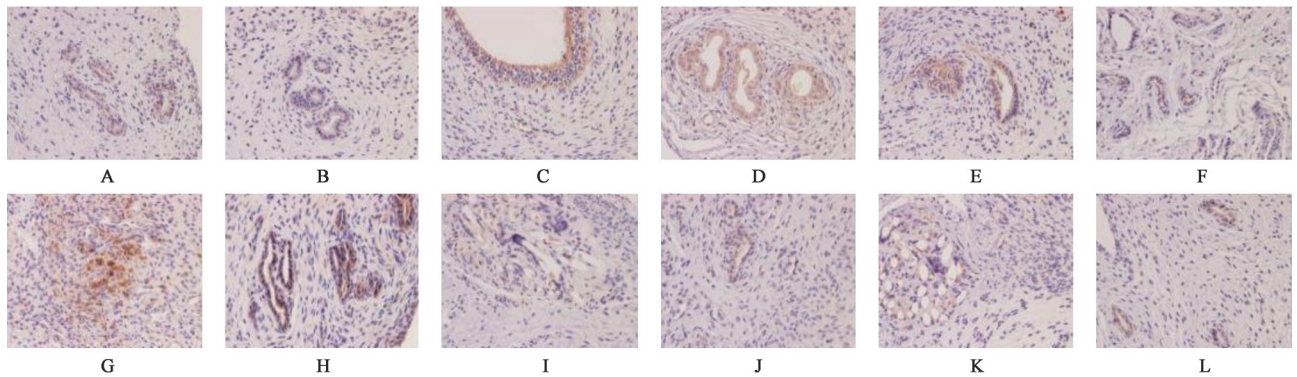


图2 温经汤加味对大鼠内膜组织中JAK2表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 2 Effect of modified Wenjingtang on expression of JAK2 in rat intimal tissue (IHC, ×400)

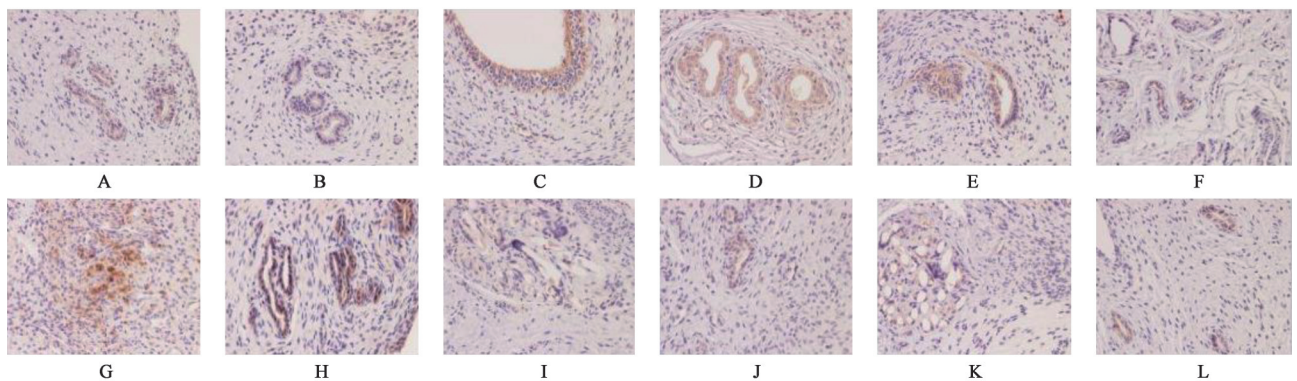


图3 温经汤加味对大鼠内膜组织中STAT3表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 3 Effect of modified Wenjingtang on expression of STAT3 in rat intimal tissue (IHC, ×400)

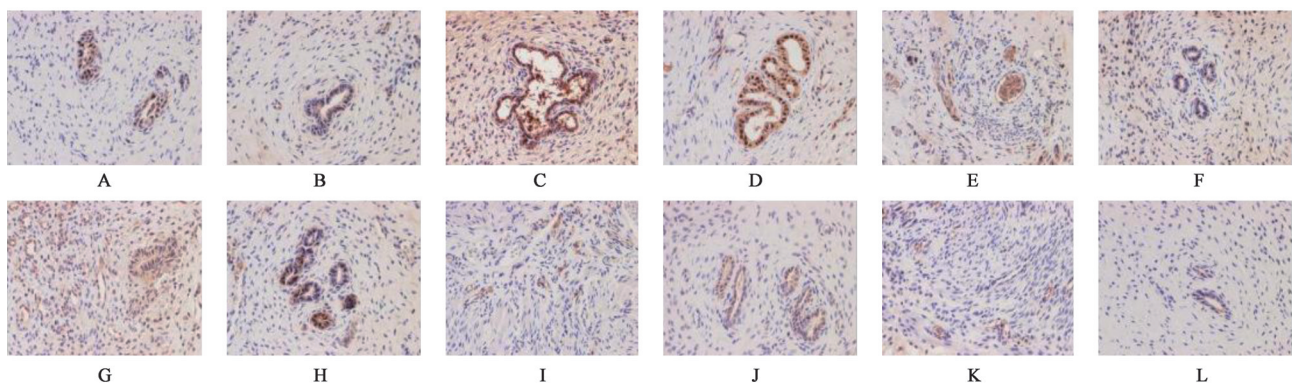


图4 温经汤加味对大鼠内膜组织中p-STAT3表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 4 Effect of modified Wenjingtang on expression of p-STAT3 in rat intimal tissue (IHC, ×400)

升高($P<0.05$), TSP-1 蛋白表达明显降低($P<0.05$); 与模型在位内膜组比较, 达那唑组与温经汤加味高、中剂量组在位内膜组织中 VEGF, TNF- α 蛋白表达明显降低($P<0.05, P<0.01$), TSP-1 蛋白表达明显升高($P<0.05$); 温经汤加味低剂量组在位内膜组织中 TNF- α 蛋白表达明显降低, TSP-1 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。见图 5~7, 表 5。

与空白组比较, 模型组异位内膜组织中 VEGF, TNF- α 蛋白表达明显升高($P<0.05$), TSP-1 蛋白表达明显降低($P<0.05$); 与模型组异位内膜比较, 达那

唑组与温经汤加味高、中、低剂量组异位内膜组织中 VEGF, TNF- α 蛋白表达明显降低($P<0.05$), TSP-1 蛋白表达明显升高($P<0.05$)。见图 5~7, 表 6。

3.7 对肾虚血瘀型 EM 大鼠内膜组织中 VEGF, TNF- α , TSP-1 蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组在位和异位内膜组织中 VEGF, TNF- α 蛋白表达均显著升高($P<0.01$), TSP-1 蛋白表达显著降低($P<0.01$); 与模型组在位内膜比较, 达那唑组及温经汤加味高、中、低剂量组在位内膜组织中 VEGF 蛋白表达均显著降低($P<0.01$), TSP-1 蛋白表达均显著

表 3 温经汤加味对大鼠在位内膜组织中 JAK2, STAT3 与 p-STAT3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of modified Wenjingtang on JAK2, STAT3 and p-STAT3 protein expression in rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	JAK2(×10 ⁻³)	STAT3(×10 ⁻³)	p-STAT3(×10 ⁻³)
空白		0.15±0.12	0.46±0.32	1.39±1.76
假手术		0.16±0.10	1.70±0.93	1.05±0.36
模型		8.11±1.99 ¹⁾	25.05±2.64 ¹⁾	33.61±6.60 ¹⁾
达那唑	0.063	0.29±0.05 ²⁾	6.53±1.90 ²⁾	2.71±0.77 ²⁾
温经汤加味	5	0.59±0.40 ²⁾	23.44±4.85	21.04±3.28
	10	0.40±0.08 ²⁾	12.69±2.68 ²⁾	3.85±1.34 ²⁾
	20	0.27±0.05 ²⁾	5.90±1.70 ²⁾	3.24±0.99 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05(表6同)。

表 4 温经汤加味对大鼠异位内膜组织中 JAK2, STAT3 与 p-STAT3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of modified Wenjingtang on JAK2, STAT3 and p-STAT3 protein expression in rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	内膜组织	JAK2(×10 ⁻³)	STAT3(×10 ⁻³)	p-STAT3(×10 ⁻³)
空白		在位	0.15±0.12	0.46±0.32	1.39±1.76
假手术		在位	0.16±0.10	1.70±0.93	1.05±0.36
模型		异位	10.96±3.33 ¹⁾	27.39±9.04 ¹⁾	40.26±4.43 ¹⁾
达那唑	0.063	异位	2.31±0.50 ²⁾	7.04±3.05 ²⁾	4.32±1.72 ²⁾
温经汤加味	5	异位	9.79±0.91	23.58±2.10	23.06±3.20 ²⁾
	10	异位	4.88±2.16	17.07±4.07	6.75±2.52 ²⁾
	20	异位	2.30±0.64 ²⁾	6.60±3.20 ²⁾	4.92±2.20 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.05;与模型组比较²⁾P<0.05,³⁾P<0.01(表5同)。

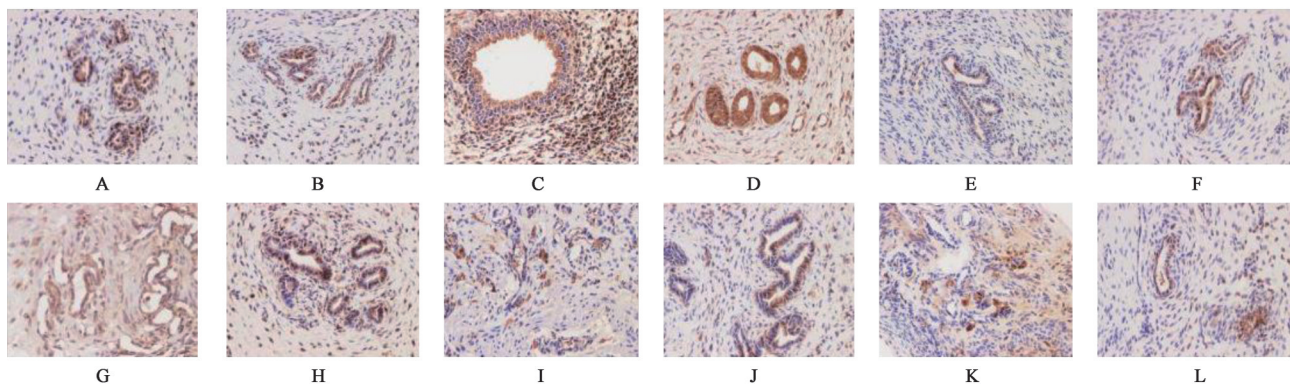


图 5 温经汤加味对大鼠内膜组织中 VEGF 表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 5 Effect of modified Wenjingtang on expression of p-STAT3 in rat intimal tissue (IHC, ×400)

升高($P<0.01$),温经汤加味高剂量组在位内膜组织中 TNF- α 蛋白表达显著降低($P<0.01$);与模型组异位内膜比较,达那唑组及温经汤加味高、中、低剂量组中 VEGF, TNF- α 蛋白表达均显著降低($P<0.01$), TSP-1 蛋白表达均显著升高($P<0.01$)。见图 8,表 7。

4 讨论

近年 EM 发病率上升,育龄女性中达 15%^[20]。西医治疗 EM 主要有药物疗法和手术疗法,不仅副作用大,还极易复发,中医药在治疗 EM 方面具有独

特的优势。

本研究选取温经汤加味探讨其治疗 EM 作用机制,《金匱要略讲义》原文释义认为本方在治疗虚寒夹瘀而致崩漏以及妇人少腹寒,久不受孕或月经不调属冲任虚寒者均具有疗效^[21]。其治疗关键在于补虚与祛瘀并用,故肾虚血瘀之经行腹痛、久不受孕、月事不调者皆可用之。方中吴茱萸、桂枝温经散寒。当归、川芎活血祛瘀,养血调经;牡丹皮、阿胶、白芍养血调肝;人参片、炙甘草益气健脾,资生化之源;炙半夏、生姜助祛瘀调经;生姜又温胃气以

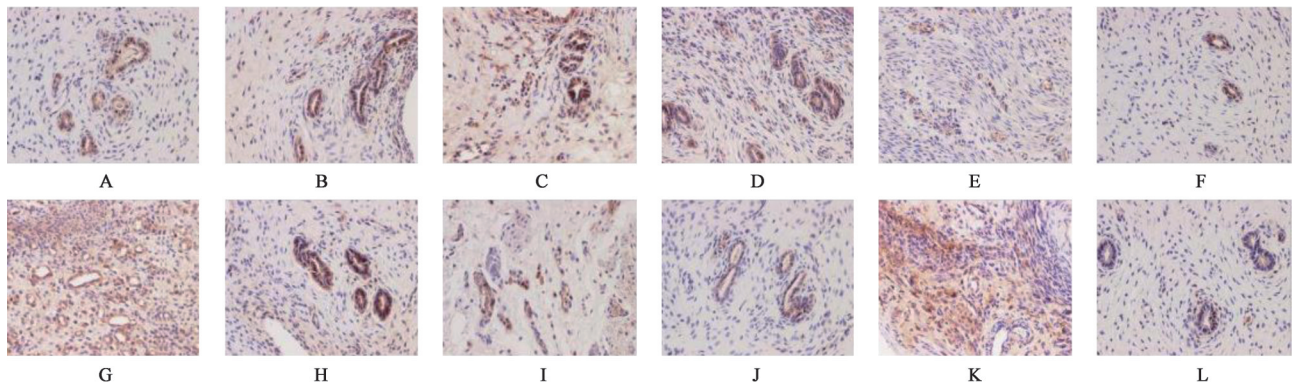


图6 温经汤加味对大鼠内膜组织中TNF- α 表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 6 Effect of modified Wenjingtang on expression of TNF- α in rat intimal tissue (IHC, $\times 400$)

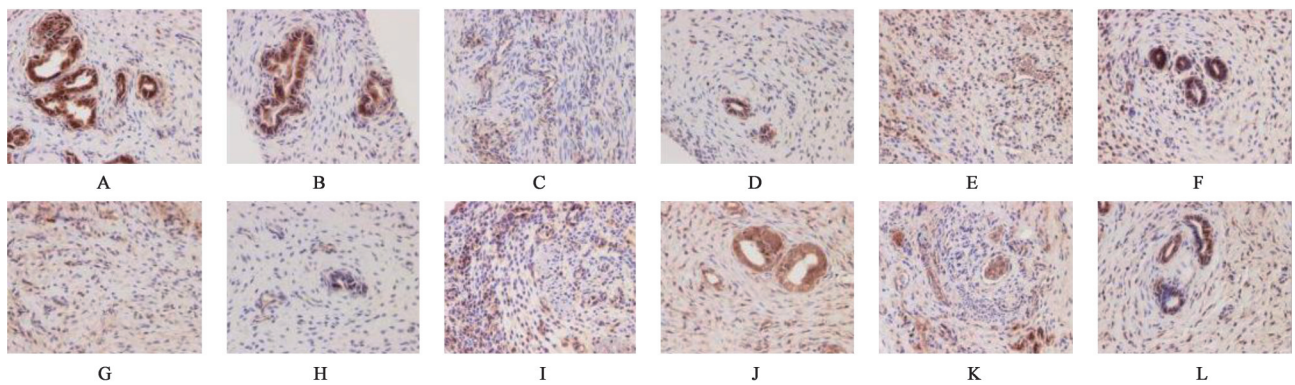


图7 温经汤加味对大鼠内膜组织中TSP-1表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 7 Effect of modified Wenjingtang on expression of TSP-1 in rat intimal tissue (IHC, $\times 400$)

表5 温经汤加味对大鼠模型在位内膜组织VEGF, TNF- α 与TSP-1蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of modified Wenjingtang on VEGF, TNF- α and TSP-1 protein expression in endometrial tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	VEGF($\times 10^{-3}$)	TNF- α ($\times 10^{-3}$)	TSP-1($\times 10^{-3}$)
空白		3.31 \pm 0.12	0.61 \pm 0.48	22.58 \pm 6.34
假手术		5.14 \pm 4.65	5.04 \pm 1.47	14.92 \pm 1.71
模型		34.74 \pm 3.37 ¹⁾	22.43 \pm 3.69 ¹⁾	4.29 \pm 0.87 ¹⁾
达那唑	0.063	5.76 \pm 2.32 ²⁾	6.34 \pm 1.44 ²⁾	110.90 \pm 1.77 ²⁾
温经汤加味	5	20.89 \pm 3.05 ²⁾	13.46 \pm 3.63	6.76 \pm 1.89
	10	9.54 \pm 5.89 ²⁾	10.45 \pm 2.34 ²⁾	10.04 \pm 0.43 ²⁾
	20	6.06 \pm 3.04 ²⁾	6.55 \pm 1.70 ²⁾	11.30 \pm 1.76 ²⁾

表6 温经汤加味对大鼠模型异位内膜组织中VEGF, TNF- α 与TSP-1蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of modified Wenjingtang on VEGF, TNF- α and TSP-1 protein expression in rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	内膜组织	剂量/g·kg ⁻¹	VEGF($\times 10^{-3}$)	TNF- α ($\times 10^{-3}$)	TSP-1($\times 10^{-3}$)
空白	在位		3.31 \pm 0.12	0.61 \pm 0.48	22.58 \pm 6.34
假手术	在位		5.14 \pm 4.65	5.04 \pm 1.47	14.92 \pm 1.71
模型	异位		38.79 \pm 12.97 ¹⁾	32.43 \pm 3.52 ¹⁾	0.49 \pm 0.58 ¹⁾
达那唑	异位	0.063	7.05 \pm 5.15 ²⁾	14.00 \pm 0.61 ²⁾	4.41 \pm 0.15 ²⁾
温经汤加味	异位	5	33.01 \pm 2.10	28.66 \pm 0.95	1.09 \pm 0.24
		10	15.78 \pm 1.05 ²⁾	21.77 \pm 2.52 ²⁾	2.28 \pm 0.57 ²⁾
		20	11.30 \pm 2.31 ²⁾	14.26 \pm 0.31 ²⁾	4.64 \pm 0.56 ²⁾

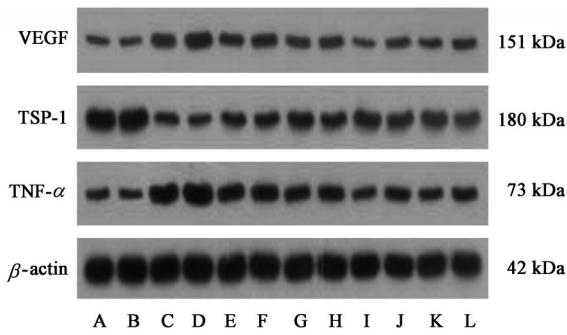


图8 大鼠内膜组织中VEGF, TSP-1, TNF- α 蛋白表达电泳
A. 空白组; B. 假手术组; C. 模型在位组; D. 模型异位组; E. 温经汤加味低剂量在位组; F. 温经汤加味低剂量异位组; G. 温经汤加味中剂量在位组; H. 温经汤加味中剂量异位组; I. 温经汤加味高剂量在位组; J. 温经汤加味高剂量异位组; K. 达那唑在位组; L. 达那唑异位组

Fig. 8 Electrophoresis of VEGF, TSP-1 and TNF- α protein expression in rat intimal tissue

助生化,且助吴茱萸、桂枝以温经散寒;炙甘草调和诸药。温经汤加减治疗不仅可以缓解痛经症状^[12,22],还可以改善黄体功能,改善子宫内膜容受性,促进妊娠^[23],同时通过促进卵泡成熟、排卵,调节孕酮分泌达到纠正月经周期紊乱的效果^[24]。本研究在温经汤基础上加桑寄生、杜仲两味补肾药。2015年版《中华人民共和国药典》介绍桑寄生苦甘平,归肝肾经,祛风湿,补肝肾,强筋骨,安胎元,用于风湿痹痛,腰膝酸软,筋骨无力,崩漏经多,妊娠漏血,胎动不安,头晕目眩;续断苦、辛,微温,归肝、肾经,补肝肾,强筋骨,续折伤,止崩漏^[25]。桑寄生滋补阴血,续断温补肾阳,二药肝肾并补,阴阳兼顾。现代药理学认为桑寄生具有抗肿瘤、抗炎镇痛、抗氧化抑制血小板聚集,抗血栓形成,改善微循

表7 温经汤加味对大鼠内膜组织中VEGF, TNF- α , TSP-1蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of modified Wenjingtang on VEGF, TNF- α and TSP-1 protein expression in rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	内膜组织	剂量/g·kg ⁻¹	VEGF/ β -actin	TNF- α / β -actin	TSP-1/ β -actin
空白			0.395 \pm 0.012	0.614 \pm 0.010	1.090 \pm 0.053
假手术			0.314 \pm 0.014	0.422 \pm 0.011	0.908 \pm 0.034
模型	在位		0.587 \pm 0.017 ¹⁾	0.976 \pm 0.020 ¹⁾	0.514 \pm 0.034 ¹⁾
	异位		0.828 \pm 0.050 ¹⁾	1.252 \pm 0.045 ¹⁾	0.486 \pm 0.020 ¹⁾
达那唑	在位	0.063	0.504 \pm 0.023 ²⁾	0.638 \pm 0.014 ²⁾	0.864 \pm 0.045 ²⁾
	异位	0.063	0.663 \pm 0.018 ²⁾	0.841 \pm 0.029 ²⁾	0.730 \pm 0.030 ²⁾
温经汤加味	在位	5	0.598 \pm 0.014 ²⁾	0.921 \pm 0.008	0.768 \pm 0.011 ²⁾
	异位	5	0.665 \pm 0.032 ²⁾	0.982 \pm 0.032 ²⁾	0.778 \pm 0.021 ²⁾
	在位	10	0.527 \pm 0.023 ²⁾	0.864 \pm 0.043	0.992 \pm 0.033 ²⁾
	异位	10	0.545 \pm 0.029 ²⁾	0.898 \pm 0.032 ²⁾	0.831 \pm 0.034 ²⁾
	在位	20	0.315 \pm 0.015 ²⁾	0.565 \pm 0.049 ²⁾	0.990 \pm 0.027 ²⁾
	异位	20	0.495 \pm 0.014 ²⁾	0.812 \pm 0.015 ²⁾	0.849 \pm 0.023 ²⁾

环的作用^[26]。续断具有增强免疫力和抗氧化的作用^[27]。总之,温经汤加味具有补肾活血的功效,临床上能够有效治疗EM,本实验通过不同剂量的温经汤加味干预肾虚血瘀型EM模型大鼠,探究该方对肾虚血瘀型EM治疗作用机制。

JAK2与STAT3的关系最为密切,共同参与细胞增殖、分化、凋亡、转化、细胞免疫等过程^[28]。细胞质中的STAT3被JAK2激活后,进入细胞核,通过对相关基因的调控作用促进血管新生,诱导细胞增殖、分化或凋亡^[29]。本研究发现,与空白组比较,模型组异位灶中JAK2, STAT3, p-STAT3蛋白过度表达。提示JAK2蛋白的过量表达促进了STAT3的磷酸化,导致JAK2/STAT3信号通路在EM肾虚血瘀型大鼠模型中处于异常活跃状态,这种异常活化促进

了异位内膜的生长,与EM肾虚血瘀型的发病机制有一定的联系。这与其他学者对JAK2/STAT3信号通路在癌细胞中作用机制的研究一致,具有相似性^[30-31]。因此,JAK2/STAT3信号通路很可能参与了EM异位灶的生成。

活化的STAT3在胞核中稳定存在,使其所调控的下游靶基因表达紊乱,对细胞侵袭和增殖等过程起着重要作用^[32]。IL-10主要是由调节性T细胞(Tregs)分泌,在抑制自身免疫性疾病及过度炎症反应中发挥重要作用。IL-17是由一类重要的淋巴细胞亚群辅助性T细胞17(Th17)分泌,是T细胞诱导炎症反应的启动因子,促进前炎性因子(TNF等)释放,可导致趋化性因子水平升高,大量募集中性粒细胞和单核细胞,促进多种细胞释放炎症因子,扩

大炎症反应,从而有效介导组织炎症反应。MUCIDA等^[33]通过检测去除IL-10的小鼠模型发现Th17和Treg细胞平衡失调,表现为促炎性细胞Th17表达升高而抑炎性细胞Treg减少。TNF- α 具有诱导炎症、新生血管生成及参与免疫调节作用,其过量表达降低了机体免疫功能,使异位的内膜细胞逃脱机体免疫监控,导致EM的发生。EM异位内膜黏附、种植处存在微血管大量新生,导致疾病的不断进展,而VEGF是最为重要的血管生长因子,其过量表达会诱导血管新生,增加血管通透性,并参与细胞的迁移和浸润,是调节血管生长作用最强并且具有多种生物学效应的因子。TSP-1是一种具有多种功能的细胞基质糖蛋白,可在血小板、血管内皮细胞等多种细胞得到表达,能够通过多种信号诱导血管内皮细胞凋亡。本研究发现,与空白组比较,模型组血清中IL-17细胞因子水平以及异位灶中TNF- α ,VEGF蛋白呈高表达,IL-10细胞因子水平以及TSP-1蛋白呈低表达。推测此过程可能是JAK2/STAT3信号通路启动了IL-17,TNF- α ,VEGF等下游因子,抑制IL-10细胞因子以及TSP-1蛋白表达水平,激发大量炎症、抑制自身免疫性、促进细胞生长、血管生成及侵袭的持续进展,最终导致EM的发生。

本研究进一步观察温经汤加味对肾虚血瘀型EM大鼠JAK2/STAT3信号通路的影响,结果显示,与模型组比较,温经汤加味低、中、高剂量组IL-17水平降低,IL-10水平升高;异位灶体积均明显减小,JAK2,STAT3,p-STAT3,VEGF,TNF- α 蛋白表达水平均有不同程度的降低,TSP-1蛋白表达水平均有不同程度的升高,尤以高剂量组明显。

综上所述,可推测温经汤加味能明显抑制炎症因子分泌,具有调节免疫、血管内皮细胞生长因子的作用,能够有效抑制异位内膜种植、生长,从而阻断EM不断进展。因此,温经汤加味具有抑制EM肾虚血瘀型大鼠异位灶侵袭,通过调控JAK2/STAT3信号通路,调整免疫状态,阻断微血管新生,起到治疗EM的作用。

[参考文献]

[1] CHEN P, ZHANG Z F, CHEN Q, et al. Expression of Th1 and Th2 cytokine associated transcription factors, T-bet and GA-TA-3, in the eutopic endometrium of women with endometriosis[J]. Acta Histochem, 2012, 114: 779-784.

[2] SHAFRIR A L, FARLAND L V, SHAH D K, et al. Risk for and consequences of endometriosis: a critical epidemiologic review[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2018, 8(51): 1-15.

[3] YAN R, LIN F, HU C, et al. Association between STAT3 polymorphisms and cancer risk: a Meta-analysis[J]. Mol Genet Genomics, 2015, 290(6): 2261-2270.

[4] 吴松, 郑桂霞, 张艳辉, 等. JAK2/STAT3信号通路与子宫内膜异位症发病机制相关性研究[J]. 中国继续医学教育, 2016, 8(30): 51-53.

[5] 陈建梅, 杨蕊蕊, 刘洪恩, 等. JAK2/STAT3信号转导通路在子宫内膜异位症发病过程中的作用[J]. 天津医药, 2019, 47(2): 136-139.

[6] 王玲, 黄蓉, 林晓潭, 等. GnRHa治疗子宫内膜异位与JAK2/STAT3信号通路的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(12): 2121-2124, 2150.

[7] 崔轶凡, 王庆国. 从微观辨证论子宫内膜异位症的病机[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(6): 370-373.

[8] 马遇春, 孟庆刚, 李佩玲, 等. 基于“伏邪”、“络病”理论探讨子宫内膜异位症中医病机通路构建[J]. 湖北中医药大学学报, 2017, 19(6): 58-60.

[9] GUO S W, DU Y, LIU X. Platelet-derived TGF- β_1 mediates the down-modulation of NKG2D expression and may be responsible for impaired natural killer (NK) cytotoxicity in women with endometriosis[J]. Hum Reprod, 2016, 31(7): 1462-1474.

[10] GUEUVOGHLANIAN-SILVA B Y, BELLELIS P, BARBEIRO D F, et al. Treg and NK cells related cytokines are associated with deep rectosigmoid endometriosis and clinical symptoms related to the disease[J]. J Reprod Immunol, 2018, 126: 32-38.

[11] 崔轶凡, 刘宏奇. 基于子宫内膜异位症与恶性肿瘤的相关性探析补肾化瘀法作用机制及中医理论依据[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(2): 441-445.

[12] 祝敏捷, 孙莲芳, 杨静. 温经汤治疗子宫内膜异位症的疗效及对机体免疫功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(2): 148-151.

[13] 林继红, 杨海英. 雌性大鼠肾虚模型初探[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(10): 78.

[14] 谷栩萌. 基于PDGFR/JAK2/STAT3通路探讨痛愈舒颗粒对寒凝血瘀型EMs大鼠在位内膜的调控机制[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[15] VERNON M W, WILSON E A. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat[J]. Fertil Steril, 1985, 44(5): 684-694.

[16] ZULFIKAROGLU E, ISLIMYE M, AYDIN M, et al. Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy on

- endometriosis in an experimental rat mode [J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 283(4): 799-800.
- [17] 曾如辉, 罗丽莉, 许铭炎, 等. 自体子宫移植建立子宫内膜异位症大鼠模型[J]. 实验动物与比较医学, 2006, doi:10.3969/j.issn.1674-5817.2006.02.002.
- [18] 崔轶凡, 王庆国. 子宫内膜异位症肾虚血瘀证大鼠模型的建立与评价方法研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(7): 607-609.
- [19] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 238.
- [20] 李雷, 冷金花. 子宫内膜异位症及其治疗对女性生育影响的研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(5): 393-396.
- [21] 张琦, 林昌松. 金匱要略讲义[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 263-264.
- [22] 汤艳秋, 吴燕虹. 温经汤治疗子宫内膜异位症痛经30例临床观察[J]. 江苏中医药, 2015, 47(6): 36-37.
- [23] 梁俊燕. 温经汤对子宫内膜病变不孕症患者子宫内膜形态与妊娠的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(29): 3259-3261.
- [24] 江志扬. 温经汤加减治疗月经不调肾虚血瘀型临床观察[J]. 新中医, 2010, 42(10): 57-58.
- [25] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 299-300.
- [26] 管俊, 崔瑛. 桑寄生药理作用及临床应用研究进展[J]. 河北中医, 2017, 39(3): 460-463.
- [27] 罗鹏. 川续断化学成分及药理作用研究进展[J]. 化工管理, 2015, 19: 199.
- [28] SZYMANOWSKI K, NIEPSUJ B J, DERAZYMANOWSKA A, et al. An influence of immunomodulation on Th1 and Th2 immune response in endometriosis in an animal model [J]. Biomed Res Int, 2013, 10(5): 1-7.
- [29] KODAPPULLY S S, SAKSHI S, ROHIT S, et al. Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors [J]. BBA-Reviews on Cancer, 2014, 1845(2), 21(6): 698-702.
- [30] 李佳萍, 余功, 谢斌. 清燥救肺汤对肺癌 JAK2/STAT3 信号通路及其下游凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 48-53.
- [31] 蒋树龙, 花宝金. JAK2/STAT3/SOCS3 信号通路与肿瘤转移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(6): 698-702.
- [32] LONCLE C, BONJOCH L, FOLCHPUY E, et al. IL17 Functions through the novel REG3 β -JAK2-STAT3 inflammatory pathway to promote the transition from chronic pancreatitis to pancreatic cancer [J]. Cancer Res, 2015, 75(22): 4852-4862.
- [33] MUCIDA D, HUSAIN M M, MUROI S, et al. Transcriptional reprogramming of mature CD4⁺ T helper cells generates distinct MHC class II-restricted cytotoxic T lymphocytes [J]. Nat Immunol, 2013, 14(3): 281-289.

[责任编辑 孙丛丛]