

# 活血消异方对子宫内膜异位大鼠内膜容受性及 CXCL12/CXCR4 信号通路的作用机制\*

赵秀萍 郝秀芳 朱秀娟

(北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029)

**【摘要】** 目的 探究活血消异方对子宫内膜异位大鼠内膜容受性及 CXCL12/CXCR4 信号通路的作用机制。  
**方法** 将 50 只 SPF 级 SD 雌性大鼠按照数字随机法分为假手术组、模型组(子宫内膜异位症大鼠模型组)、中药组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予活血消异方干预治疗组)、西药组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予醋酸亮丙瑞林干预组)和拮抗剂组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予 AMD3100 干预组), 每组 10 只(只在检测 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达中使用拮抗剂组干预)。ELISA 检测 4 组大鼠性激素 E<sub>2</sub>、P 水平; HE 染色比较 4 组大鼠子宫内膜组织病理学变化; LIF、αvβ3、CXCL12 和 CXCR4 蛋白(Western blot 检测); CXCL12 和 CXCR4 mRNA 表达(RT-PCR)。  
**结果** 与假手术组相比, 模型组大鼠血清中性激素指标 E<sub>2</sub>、P 含量均显著降低(P<0.05); 与模型组相比, 西药组和中药组血清中性激素指标 E<sub>2</sub>、P 含量均不同程度升高, 且中药组 E<sub>2</sub>、P 含量升高的较为显著(P<0.05)。模型组大鼠子宫内膜中 LIF、αvβ3 蛋白表达明显低于假手术组(P<0.05); 干预后的西药组和中药组中的 LIF、αvβ3 蛋白表达明显升高, 且中药组升高较为显著(P<0.05)。模型组 CXCL12 和 CXCR4 蛋白和相对表达量较假手术组明显升高(P<0.05); 干预后的西药组、中药组和拮抗剂组大鼠子宫内膜组织中 CXCL12 和 CXCR4 蛋白和相对表达均明显低于模型组, 且中药组和拮抗剂组大鼠 CXCL12 和 CXCR4 蛋白和相对表达较西药组降低的更为显著(P<0.05)。  
**结论** 活血消异方对子宫内膜异位症大鼠子宫内膜容受性进行有效的改善, 同时可抑制子宫内膜异位症大鼠 CXCL12、CXCR4 表达。

**【关键词】** 活血消异方; 子宫内膜异位; 内膜容受性; CXCL12/CXCR4

**【中图分类号】** R711.71 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.09.009

## Mechanism of Huoxue Xiaoyi Decoction on endometrial receptivity and CXCL12/CXCR4 signaling pathway in rats with endometriosis

ZHAO Xiuping, HAO Xiufang, ZHU Xiujuan

(The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**【Abstract】** **Objective** To explore the mechanism of Huoxue Xiaoyi Recipe on endometrial receptivity and CXCL12/CXCR4 signaling pathway in rats with endometriosis. **Methods** The rats were divided into sham operation group, model group (endometriosis rat model group), traditional Chinese medicine group (endometriosis rat model group was given Huoxue Xiaoyi prescription intervention treatment group) and western medicine group (endometriosis rat model group was given leuproteroline acetate intervention group) according to digital random method, with 10 rats in each group. The levels of E2 and P in serum were detected by ELISA, the histopathological changes of endometrium were detected by HE staining, and the levels of LIF and P in endometrium were detected by ELISA αvβ3 The protein expressions of cxcl3, LIF, αvβ3. CXCL12 and CXCR4 protein expression were detected by Western blot. CXCL12 and CXCR4 mRNA expression were detected by RT-PCR. **Results** The levels of E2 and P in the model group were significantly lower than those in the sham operation group (P<0.05). Compared with the model group, the levels of E2 and P in western medicine group and traditional Chinese medicine group were increased in varying degrees, and the levels of E2 and P in traditional Chinese medicine group were significantly increased (P<0.05). In the model group, the expression of LIF and α v β 3 protein ex-

基金项目: 北京中医药大学中央高校基本科研课题(2019-JYB-JS-166)

通信作者: 郝秀芳, E-mail: gyjrk@163.com

引用本文: 赵秀萍, 郝秀芳, 朱秀娟. 活血消异方对子宫内膜异位大鼠内膜容受性及 CXCL12/CXCR4 信号通路的作用机制[J]. 西部医学, 2022, 34(9):1296-1301. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.09.009

pression was significantly lower than that in sham operation group ( $P < 0.05$ ). After the intervention, LIF in the western medicine group and the traditional Chinese medicine group  $\alpha v \beta 3$  protein expression increased significantly, and Chinese medicine group increased more significantly ( $P < 0.05$ ). The protein and relative expression of CXCL12 and CXCR4 in endometrium of model group were significantly higher than those of sham operation group ( $P < 0.05$ ). After intervention, the protein and relative expression of CXCL12 and CXCR4 in endometrium of Western medicine group and traditional Chinese medicine group were significantly lower than those of model group, and the protein and relative expression of CXCL12 and CXCR4 in traditional Chinese medicine group were significantly lower than those of Western medicine group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Huoxue Xiaoyi decoction can improve the endometrial receptivity of Endometriosis Rats, and has obvious inhibitory effect on the expression of CXCL12 and CXCR4 in Endometriosis Rats.

**【Key words】** Huoxue Xiaoyi formula; Endometriosis; Endometrial receptivity; CXCL12/CXCR4

子宫内膜异位症 (Endometriosis, EMS) 好发于育龄期妇女, 是导致不孕的重要因素<sup>[1-2]</sup>。子宫内膜异位症本身和手术均会造成不排卵、不受精或着床失败等, 其主要因素是盆腔局部环境发生恶化, 卵巢功能受到损伤及子宫内膜容受性受到改变等。在临床上子宫内膜异位症以性交疼痛、痛经、慢性盆腔疼痛为主要症状<sup>[3]</sup>。临床上治疗 EMS 采用腹腔镜腹部手术和药物治疗为主, 有很好的疗效, 可降低复发率, 但在一定程度上对卵巢组织造成损伤, 导致卵巢储备降低, 进而对生育功能造成影响。在临床上, 治疗 EMS 的费用相对较高, 且术后恢复也相对较慢, 如果术后使用激素抑制类药物, 不仅会耽误患者的最佳生育时机, 还会有复发的可能性, 二次手术患者一般都难以接受<sup>[4]</sup>。目前学者对中药治疗子宫内膜异位症的研究越来越深入, 因此中药治疗子宫内膜异位症的优势也逐渐显现<sup>[5]</sup>。有学者研究证实, 给予子宫内膜异位症患者活血消异方干预后发现, 不孕患者的妊娠率明显是升高, 且子宫内膜异位症大鼠体外受精-胚胎移植率及活胎率也明显提升, 由此猜测活血消异方可能是通过对免疫平衡的调节, 改善卵泡发育及子宫内膜容受性来实现的<sup>[6]</sup>。CXC 趋化因子配体 12 (Chemokine C-X-C motif ligand 12, CXCL12) 产生于基质细胞, 在胚胎发育过程中介导多种细胞的形成, 例如 B 淋巴细胞、骨髓髓系细胞、神经元等<sup>[7]</sup>。受体趋化因子 CXC 基序受体 4 (Chemokine C-X-C motif receptor 4, CXCR4) 是趋化因子 CXCL12 特异性受体, 在机体中广泛表达<sup>[8]</sup>, 在肿瘤的侵袭、转移等恶性生物学活性中, CXCL12 及其受体 CXCR4 构成的 CXCL12/CXCR4 生物轴在其中起重要作用<sup>[9]</sup>, 但 CXCL12/CXCR4 生物轴在子宫内膜异位症中的具体表达研究较少。本研究旨在探究活血消异方对子宫内膜异位症大鼠子宫容受性及子宫内 CXCL12/CXCR4 信号通路的影响。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验共需雌性 SD 大鼠 50 只, 性

成熟且健康未孕, 均从北京维通利华实验动物技术有限公司购买, 合格证编号 SCXK(京)2012-0001。大鼠体质量为  $(200 \pm 20)$  g, SPF 级, 所有大鼠均饲养在动物房内, 保持室内温度恒定  $25^{\circ}\text{C}$ , 光照 12 h 一循环。所有大鼠均自由进食饮水, 适应新环境 7 d 后进行后续实验。本研究通过医院动物伦理委员会审核批准。

1.2 试剂与仪器 活血消异方汤剂由柴胡 10 g, 制香附 10 g, 丹参 20 g, 莪术 10 g, 皂角刺 10 g 等组成, 将以上生药加入 10 倍水量, 煎煮 3 次, 每次 1 h, 合并煎液, 过滤浓缩至药物浓度为  $1.8 \text{ g/mL}$ , 置于  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用 (北京中医药大学第三附属医院中药房提供); LIF、 $\alpha v \beta 3$  抗体 (深圳市豪帝华拓生物科技有限公司); CXCL12、CXCR4 抗体 (美国 R&D 公司); BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Pierce 公司); 半定量 RT-PCR 试剂盒, Western-blot 试剂盒 (美国 TaKara 公司); 苯甲酸雌二醇 (宁波第二激素厂); 注射用青霉素钠 (华北制药有限公司); CXCR4 拮抗剂 AMD3100 (美国 Sigma 公司); 小动物麻醉机 (玉研仪器厂); 包埋机 (孝感宏业医用器械有限公司); 封片机、显微镜、切片机、透射电子显微镜 (日本 HITACHI 公司)。

1.3 动物分组和 EMS 大鼠模型制备<sup>[10]</sup> 将实验大鼠随机分假手术组 10 只, 造模组 (子宫内膜异位症大鼠模型组) 40 只。于造模前 2 d 肌肉注射苯甲酸雌二醇, 使实验大鼠处于同一动情期, 连续 1 周每日定时做阴道涂片检查, 观察大鼠动情周期, 一般为  $4 \sim 5 \text{ d}$ , 实验选择动情周期正常的大鼠进行。将造模组 30 只大鼠制备 EMS 大鼠模型, 手术前先称重大鼠后麻醉, 置于超净工作台, 腹部备皮, 在尿道口上约 1 cm 处靠左侧做平行于正中中线长约 1.5 cm 的纵切口进腹, 游离大鼠左侧子宫, 近端离左子宫角 1 cm 处结扎, 远端离卵巢 2 cm 处结扎, 并结扎两端间的子宫系膜血管, 切除约 1 cm 长子宫段立即放入盛有无菌生理盐水的培养皿中, 用眼科剪沿系膜部剪开管状子宫, 切割成  $3 \text{ mm}^2$  大小的子宫碎片, 共 4 片, 注意区分肌层与内膜面, 内膜面朝向肠系膜, 将右侧肠系膜血管丰富处用

线进行缝合,检查腹腔无出血后,腹腔留置青霉素钠 0.25 mL,再次缝合腹壁,逐层缝合皮肤关腹。分笼喂养,待所有大鼠自然苏醒。手术后所有大鼠均肌肉注射青霉素钠,连续 3 d,每天 1 次,以预防术后感染。术后第二天肌肉注射苯甲酸雌二醇,以促进异位灶的生长。假手术大鼠切除右侧子宫后,在结肠系膜上用 4-0 可吸收线缝合 4 个线结,相邻线结间距离约 5 mm,余处理同前。

1.4 给药干预 在制备模型过程中两组大鼠均无死亡。造模后 30 d 再次开腹检查,验证造模是否成功。造模成功标志是:当移植病灶形成透明、半透明囊肿,表面有血管形成且移植物呈淡褐色时说明以为病灶内有子宫内膜生长。将造模成功的大鼠分为模型组(子宫内膜异位症大鼠模型组)、中药组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予活血消异方干预治疗组)、西药组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予醋酸亮丙瑞林干预组)、拮抗剂组(子宫内膜异位症大鼠模型组给予 AMD3100 干预组),每组 10 只。拮抗剂组:该组大鼠灌胃给予 100 mg/mL AMD3100 干预;中药组:所有大鼠均给予活血消异方灌胃,10 mL/kg,1 天 1 次;西药组:每只大鼠灌胃给予醋酸亮丙瑞林干预,0.04 mg/kg,1 d/次;假手术组和模型组大鼠均给予同体积的生理盐水灌胃,1 d/次;所有大鼠均连续给药 7 d,后 21 d 按起始量的 1/5 维持。

1.5 取标本采集 各组大鼠于停药前 5 d 起每日上午 9 时行阴道脱落细胞学涂片观察动情周期,停药后择动情期将大鼠以雌雄比例 2:1 合笼。合笼次日每日定时检查雌鼠,如发现阴栓或阴道脱落细胞涂片发现精子定位“孕鼠”,将当日记为妊娠 1 d,在妊娠第 4 d 进行实验标本采集。2.5%戊巴比妥钠麻醉大鼠(35 mg/kg),打开腹腔,将异位内膜小心取出后放入标记的包埋框,用中性福尔马林溶液固定后用于实验。取各组大鼠腹主动脉血 3 mL,取血后迅速分离左侧子宫,将子宫组织置于冰盘上,刮取内膜组织裂解后用于蛋白质印迹实验检测内膜上 LIF 和  $\alpha v \beta 3$  的表达及 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达。

1.6 ELISA 检测血清中  $E_2$ 、P 水平 麻醉各组大鼠后分离大鼠左侧颈总动脉,取 5 mL 动脉血后离心 10 min,取上层血清置于 -80℃ 冰箱中保存备用。用 ELISA 检测血清中  $E_2$ 、P 含量,实验步骤均按照试剂盒说明进行。

1.7 各组大鼠子宫内膜组织学观察 与宫内膜组织在 10% 的中性福尔马林液固定 36 h,经脱水、浸蜡、包埋切片后染色,组织切片厚度为 4  $\mu m$ ,显微镜下观察各组大鼠子宫内膜组织的病理学改变。

1.8 蛋白质印迹检测子宫内膜 LIF、 $\alpha v \beta 3$  蛋白及 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达 刮取各组大鼠子宫内膜组织于 EP 管中,置于 -80℃ 冰箱中保存。组织加入 RIPA 裂解液、PMSF 与蛋白酶抑制剂混合的混合液,50  $\mu L$ /100mg 组织,提取总蛋白。BCA 法检测蛋白浓度。10% SDS-PAGE 胶电泳分离蛋白,5% 脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 3 h,分别加入一抗 LIF、 $\alpha v \beta 3$  (1:2000),CXCL12、CXCR4 (1:2000),4℃ 过夜孵育,室温 TBST 漂洗 PVDF 膜 3 次,每次 10 min,加入二抗羊抗兔 IgG HRP (1:2000) 37℃ 1 h,漂洗 PVDF 膜,使用全自动化学发光图像分析系统扫描 PVDF 膜成像后以各组目的蛋白条带光密度值与内参蛋白  $\beta$ -actin 光密度值计算相对比值作为各组蛋白表达量。

1.9 qRT-PCR 检测子宫内膜组织中 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9 mRNA 表达 取各组大鼠子宫内膜组织研磨后裂解,用 TRIzol 试剂提取总 RNA,用分光光度法测定其含量和浓度 miR-218 检测方法按照试剂盒说明书反转录合成 cDNA,检测 CXCL12、CXCR4 及其下游 MMP-2、MMP-9 的表达水平(内参 GAPDH)。反应条件:3 min + 94℃ 预热;循环步骤 30 s + 94℃,30 s + 60℃,45 s + 72℃,共 40 个循环。72℃ 延伸 10 min,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算最后相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列表  
Table 1 Primer sequence

基因	方向	mRNA
CXCL12	F	5'-AGAAGGCCAAACCCATCAA-3'
	R	5'-GGGCAGGTACATCCAAGT-3'
CXCR4	F	5'-GAACTTCCTATGCAAGGCAGTCC-3'
	R	5'-CCATGATGTGCTGAAACTGGAAC-3'
MMP-2	F	5'-CACGCTGGGCCCTGTCACTCT-3'
	R	5'-TGGGGCCTCGTATACCGCATCAAT-3'
MMP-9	F	5'-TGCCCGGACCAAGGATACAGTTT-3'
	R	5'-AGGCCGTGGCTCAGGTTTCAGG-3'
GAPDH	F	5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'
	R	5'-TCATGGGTGTGAACCATGAGAA-3'

1.10 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件对大鼠血清中  $E_2$ 、P 含量,子宫内膜组织病理学变化,子宫内膜整合素 LIF、 $\alpha v \beta 3$  蛋白,子宫内膜组织中 CXCL12 和 CXCR4 蛋白级相对表达量进行统计学分析,用重复测量方差法分析 4 组间的数据,4 组间的比较用  $t$  进行检验,结果用  $(\bar{x} \pm s)$  表示,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠血清中  $E_2$ 、P 水平比较 与假手术组相比,模型组大鼠血清中性激素指标  $E_2$ 、P 含量均显著降低 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,西药组和中药组血清中性激素指标  $E_2$ 、P 含量均不同程度升高,且中药

组 E<sub>2</sub>、P 含量升高的较为显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 各组大鼠血清中性激素指标 E<sub>2</sub>、P 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum levels of sex hormone E<sub>2</sub> and P in each group

组别	n	E <sub>2</sub> (ng/mL)	P(mg/mL)
假手术组	10	80.12 ± 6.73	25.31 ± 2.67
模型组	10	41.64 ± 8.15 <sup>①</sup>	13.48 ± 3.15 <sup>①</sup>
西药组	10	58.77 ± 9.11 <sup>①②</sup>	18.69 ± 4.22 <sup>①②</sup>
中药组	10	64.35 ± 9.82 <sup>①②③</sup>	20.14 ± 4.87 <sup>①②③</sup>
F		64.64	16.17
P		<0.0001	<0.0001

注:与假手术组相比,① $P < 0.05$ ;与模型组相比,② $P < 0.05$ ;与西药组相比,③ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠子宫内膜组织学比较 假手术组大鼠

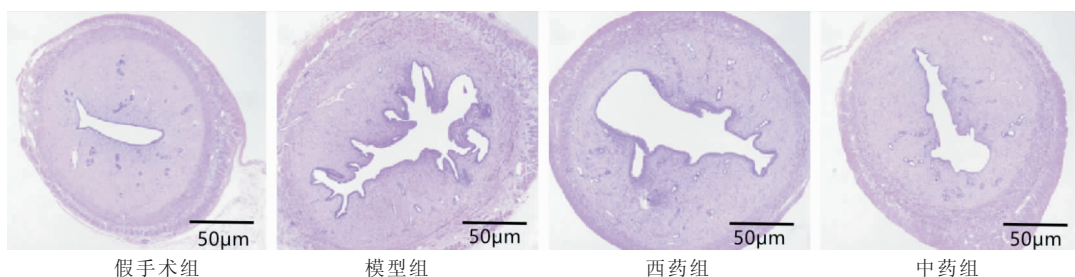


图 1 各组大鼠子宫内膜组织病理学比较(HE 染色, 40×)

Figure 1 Histopathological comparison of rat endometrium in each group

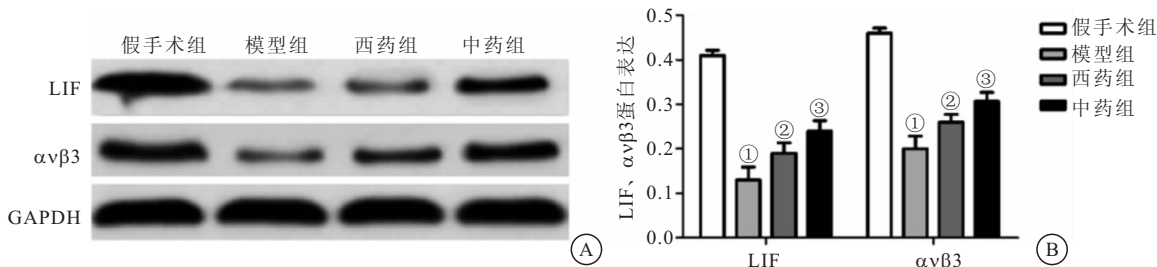


图 2 各组大鼠子宫内膜中 LIF、αvβ3 蛋白表达

Figure 2 Expression of LIF and αvβ3 protein in the endometrium of rats in each group

注:A. 4 组大鼠子宫内膜中 LIF、αvβ3 蛋白表达;B. 4 组大鼠子宫内膜中 LIF、αvβ3 蛋白表达比较。与假手术组相比,① $P < 0.05$ ;与模型组相比,② $P < 0.05$ ;与西药组相比,③ $P < 0.05$

2.4 各组大鼠子宫内膜组织中 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达比较 模型组子宫内膜组织中 CXCL12 和 CXCR4 蛋白较假手术组表达明显增多 ( $P < 0.05$ ); 干预后的西药组、中药组和拮抗剂组大鼠子宫内膜组织中 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达均明显低于模型组, 中药组和拮抗剂组大鼠 CXCL12 和 CXCR4 蛋白较西药组降低的更为显著 ( $P < 0.05$ ), 说明活血消癥方可抑制 CXCL12 和 CXCR4 蛋白的活性, 与 CXCR4 拮抗剂具有相似的作用机制, 见图 3。

2.5 各组大鼠子宫内膜组织中 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9mRNA 表达比较 与假手术组 CXCL12 (0.61 ± 0.23)、CXCR4 (0.21 ± 0.11)、MMP-2

子宫壁结构完整, 子宫内膜腺体密集, 腺管增生、扩张迂曲, 上皮细胞呈高柱状, 管腔内可见分泌, 间质细胞排列疏松; 模型组大鼠子宫内膜腺体稀少, 腺腔较直并且狭小, 血管数量减少; 与模型组相比, 西药组和中药组大鼠子宫内膜组织均得到了明显改善, 间质轻度疏松, 血管轻度增生, 且中药组情况明显好于西药组, 见图 1。

2.3 各组大鼠子宫内膜 LIF、αvβ3 蛋白表达比较 模型组大鼠子宫内膜中 LIF、αvβ3 蛋白表达明显低于假手术组 ( $P < 0.05$ ); 干预后的西药组和中药组中的 LIF、αvβ3 蛋白表达明显升高, 且中药组升高较为显著 ( $P < 0.05$ ), 见图 2。

(0.50 ± 0.03)、MMP-9 (0.50 ± 0.02) 相比, 模型组大鼠子宫内膜组织中 CXCL12 (1.35 ± 0.58)、CXCR4 (0.76 ± 0.32) MMP-2 (0.85 ± 0.04)、MMP-9 (0.98 ± 0.05) 表达均显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 西药组 CXCL12 (1.04 ± 0.36)、CXCR4 (0.54 ± 0.24)、MMP-2 (0.76 ± 0.03)、MMP-9 (0.83 ± 0.03) 表达, 中药组 CXCL12 (0.85 ± 0.38)、CXCR4 (0.42 ± 0.26)、MMP-2 (0.62 ± 0.02)、MMP-9 (0.65 ± 0.02) 表达, 拮抗剂组 CXCL12 (0.80 ± 0.36)、CXCR4 (0.39 ± 0.25)、MMP-2 (0.65 ± 0.02)、MMP-9 (0.67 ± 0.02) 表达均显著降低, 且中药组和拮抗剂组较西药组降低的较为显著 ( $P < 0.05$ ), 见图 4。

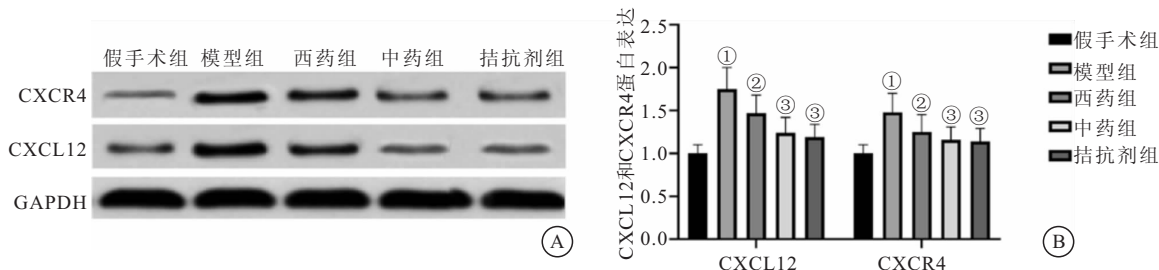


图 3 各组大鼠子宫内组织 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达比较

Figure 3 Comparison of CXCL12 and CXCR4 protein expression in rat endometrial tissues in each group

注:A. 各组大鼠子宫内组织 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达;B. 各组大鼠子宫内组织 CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达比较。与假手术组相比, ①P<0.05;与模型组相比,②P<0.05;与西药组相比,③P<0.05

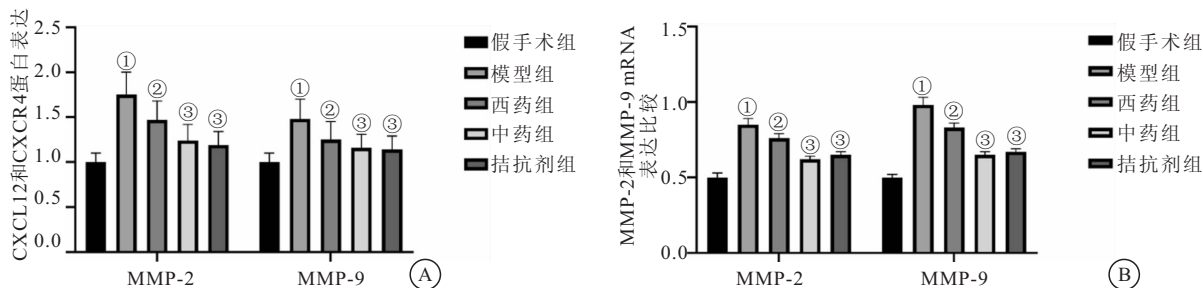


图 4 各组大鼠子宫内组织 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9mRNA 表达比较

Figure 4 Comparison of mRNA expressions of CXCL12, CXCR4, MMP-2 and MMP-9 in endometrial tissues of rats in each group

注:A. 各组大鼠子宫内组织 CXCL12、CXCR4 mRNA 表达比较;B. 各组大鼠子宫内组织 MMP-2、MMP-9mRNA 表达比较。与假手术组相比,①P<0.05;与模型组相比,②P<0.05;与西药组相比,③P<0.05

### 3 讨论

子宫内膜异位症是一种雌激素依赖性疾病,异位病灶的上皮和间质细胞内不但有雌孕激素受体的表达,而且还有合成甾体激素的芳香化酶,病灶组织不仅对体循环中的雌激素发生反应,而且自身也能产生雌激素,形成局部高雌激素状态,通过改变细胞因子分泌,黏附分子的表达等途径促进异位病灶的生长,和巨噬细胞相互作用,进而对病灶的生长、增殖有一定促进作用<sup>[11-12]</sup>。同时有研究发现 EMS 患者的在位及异位内膜在体外孕酮作用下均表现为增长的趋势,这与正常内膜的反应相反<sup>[13]</sup>。推测因孕激素受体表达方式改变而使孕激素的抑制和促分化作用减弱或消失,从而不能抑制异位灶的生长。因此探究 EMS 模型大鼠体内雌孕激素在发病前后的变化对于研究 EMS 的病理本质有重要的意义。

中医范畴学中,把子宫内膜异位症归为“痛经”、“不孕”等,其中“血瘀”是中医中公认的子宫内膜异位症发病机制,也是导致其不孕的重要病理因素<sup>[14]</sup>。瘀血占据血室,或逆流于胞宫之外或蕴结于肠膜络脉肌肉之间,瘀血阻滞下焦少腹,影响冲任的正常功能,导致冲任功能发生失调,进而会发生月经失调、腹痛及摄精失败等,治疗多以活血化瘀为准绳<sup>[15]</sup>。活血消异方重用丹参、赤芍、莪术以活血化瘀,散结消癥,加用

香附、柴胡等宣畅气机、疏肝解郁之品,使气行血畅,瘀血可除<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,活血消异方治疗后大鼠血清中 E<sub>2</sub>、P 含量明显升高,可见活血消异方对 EMS 大鼠体内的性激素指标有明显的调节作用。

子宫内膜容受性的改变及形成受多种不同的因素所调节。整合素是细胞表面的黏附分子,主要由 α、β 两亚单位构成,有粘附和信号传递两大基本功能<sup>[17-18]</sup>。有研究显示,子宫内膜整合素 αvβ3 发生异常表达时会发现着床失败,当改善 αvβ3 的表达时会发现妊娠的结局也得到明显改善。因此,整合素 αvβ3 作为子宫内膜容受性建立的衡量标志已被国内外广大学者认可,其高表达对促进受态子宫内膜的建立具有重要意义。在判断内膜对胚泡是否有容受性及胚泡是否着床时,可根据着床窗口期 LIF 在子宫内膜的表达来进行判断。本研究结果显示,αvβ3 和 LIF 蛋白在子宫内膜异位症大鼠中表达降低,可见在子宫内膜异位症大鼠体内 αvβ3 发生了异常的表达,LIF 表达降低,说明大鼠子宫内膜容受性也同时被降低,进而降低了子宫内膜对胚泡的容受性。活血消异方干预后发现 αvβ3 和 LIF 蛋白表达得到了明显的回升,提示活血消异方对子宫内膜异位症大鼠的子宫内膜容受性有明显的改善作用。通过对子宫内膜异位症小鼠给予活血消异方干预,发现其对让小鼠围着床期子宫内膜着

床因子整合素  $\alpha v \beta 3$  和 LIF 的表达量显著增加,进而对 EMS 小鼠的子宫内腔容受性进行改善。

CXCL12/CXCR4 是近年来研究较多的与肿瘤发病相关的因子,CXCL12 会和 CXCR4 结合成为生物轴学,进而影响肿瘤细胞的恶性生物学活性,其也是肿瘤发生转移及形成的先决条件<sup>[19-20]</sup>。子宫内膜异位症的生物学特性与恶性肿瘤极为相似。基质金属蛋白酶(MMPs 肿瘤)在肿瘤侵袭和转移中发挥关键作用,有学者研究发现 CXCR4、CXCL12 相互作用可调节 MMPs 表达,且在癌细胞的侵袭和转移中发挥巨大作用<sup>[21-22]</sup>。本研究结果发现子宫内膜异位症大鼠体内 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9 表达明显升高,活血消异方干预后的中药组大鼠子宫内膜中 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9 表达得到了显著的抑制,且中药组与拮抗剂组大鼠 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9 表达水平无显著差异,均较低于西药组,说明活血消异方可抑制 CXCL12、CXCR4、MMP-2、MMP-9 蛋白的活性,与 CXCR4 抗结剂具有相似的作用机制,推测活血消异方可通过抑制 CXCL12/CXCR4 信号,抑制 MMP-2、MMP-9 表达进而改善子宫内膜异位症。姚燕婷等<sup>[23]</sup>研究证实,SDF-1、CXCR4 可能通过参与子宫内膜增殖,侵袭过程而导致不孕发生。

#### 4 结论

活血消异方对子宫内膜异位症大鼠子宫内膜容受性进行有效的改善,同时可抑制子宫内膜异位症大鼠 CXCL12、CXCR4 表达。

#### 【参考文献】

- [1] ZWIMPFER T A, CÉCILE MONOD, REDLING K, *et al.* Uterine pseudoaneurysm on the basis of deep infiltrating endometriosis during pregnancy—a case report [J]. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2021, 21(1): 282.
- [2] HRM K, BINDA A, ITH M, *et al.* Cloverleaf Sign in Pelvic Magnetic Resonance Imaging for Deep Infiltrating Endometriosis [J]. *Investigative Radiology*, 2020, 55(1): 53-59.
- [3] ABRAMIUK M, BBNOWSKA D, HRYNKIEWICZ R, *et al.* CLTA-4 Expression Is Associated with the Maintenance of Chronic Inflammation in Endometriosis and Infertility [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 487.
- [4] NIKITINA I M, BOIKO V I, SMIAN S A, *et al.* Estimation to efficiency of the multifunction method of endometriosis ovaries treatment [J]. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland; 1960)*, 2020, 73(5): 868-872.
- [5] 黄艳辉,冯丹,丑丹,等. 当归四逆汤加减调节 Akt/mTOR 信号诱导自噬治疗子宫内膜异位症的研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(12): 174-178, 298-306.
- [6] 孙伟伟,常欢,赵瑞华. 活血消异方对子宫内膜异位症大鼠生育力和早期妊娠毒性的影响 [J]. *中文科技资料目录-中草药*, 2019, 42(4): 648-652.
- [7] 刘晨茜,龚雪巍,何艳,等. 靶向 CXCL12/CXCR4 轴在肿瘤治疗中的作用 [J]. *生命的化学*, 2020, 40(1): 55-60.
- [8] 谷庆,嵇建峰,郑晓. 电离辐射通过 CXCL12/CXCR4 信号轴调控肿瘤生物学行为的研究进展 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2019, 39(12): 955-960.
- [9] 赵秀敏,李杰,彭洋颖,等. 子宫腺肌病患者 CXCL12/CXCR4/CXCR7 mRNA 及其蛋白表达水平 [J]. *中华妇幼临床医学杂志* 2020, 16(3): 309-315.
- [10] VELAZQUEZ-CRUZ J, CRUZ M L, CHOMPRES G, *et al.* Voluntary Exercise Impacts Body Composition, Leptin and Vesicle Size in a Rat Model of Endometriosis [J]. *The FASEB Journal*, 2020, 34(S1): 1.
- [11] MORI T, ITO F, KOSHIBA A, *et al.* Local estrogen formation and its regulation in endometriosis [J]. *Reproductive Medicine and Biology*, 2019, 18(4): 305-311.
- [12] POOJA S, HSIN-HAN T, LYNN J Y, *et al.* A prominent environmental endocrine disruptor, 4-nonylphenol, promotes endometriosis development via plasmacytoid dendritic cells [J]. *Molecular Human Reproduction*, 2020, 26(8): 601-614.
- [13] 史振英. 炔雌醇环丙孕酮片对子宫内膜异位症患者疼痛程度及妊娠率的影响观察 [J]. *中国合理用药探索*, 2019, 16(11): 153-155, 159.
- [14] 武梅,刘德慧,俞超芹. 子宫内膜异位症中医证候初探 [J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(5): 38-44.
- [15] 苗振立. 子宫内膜异位症中医内治法的研究 [J]. *医学理论与实践*, 2020, 33(10): 52-53, 56.
- [16] 帅永开. 补肾活血方联合宫腔灌注改善宫腔粘连术后子宫内膜容受性的影响 [J]. *实用医院临床杂志*, 2019, 16(4): 127-130.
- [17] 刘卓,宋景艳,邱月,等. 不明原因不孕妇女着床期子宫内膜  $\alpha v \beta 3$ , Hox10, MMPs 基因的表达 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15(3): 115-118.
- [18] ZHOU L, LI C, LIU X, *et al.* Effect of Irisin on LIF and integrin  $\alpha v \beta 3$  in rats of implantation failure [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 18.
- [19] 刘晨茜,龚雪巍,何艳,等. 靶向 CXCL12/CXCR4 轴在肿瘤治疗中的作用 [J]. *生命的化学*, 2020, 40(1): 55-60.
- [20] NAZARI A, KHORRAMDELAZAD H, HASSANSHAHI G. Correction to: Biological/pathological functions of the CXCL12/CXCR4/CXCR7 axes in the pathogenesis of bladder cancer [J]. *International Journal of Clinical Oncology*, 2018, 23(4): 799-799.
- [21] DOFARA S G, CHANG S L, DIORIO C. Gene Polymorphisms and Circulating Levels of MMP-2 and MMP-9: A Review of Their Role in Breast Cancer Risk [J]. *Anticancer Research*, 2020, 40(7): 3619-3631.
- [22] LI H, ZHAO J, JIA X, *et al.* miR-21 promotes growth, invasion and migration of lung cancer cells by AKT/P-AKT/cleaved-caspase 3/MMP-2/MMP-9 signaling pathway [J]. *International journal of clinical and experimental pathology*, 2020, 13(4): 692-700.
- [23] 姚燕婷,赵霞,宋勤. SDF-1/CXCR4 在子宫内膜异位症合并不孕患者子宫内膜表达 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2020, 28(10): 1650-1653.