

# 生化散瘀汤调控Fas/FasL信号通路对人工流产后大鼠子宫内膜损伤的影响

张久严<sup>1</sup>, 时娟娟<sup>2</sup>, 张丹<sup>1</sup>

(滕州市中心医院 1. 药学部; 2. 妇一科, 山东 滕州 277599)

**摘要** **目的** 探讨生化散瘀汤调控Fas/Fas配体(FasL)信号通路对大鼠人工流产后子宫内膜损伤的影响。**方法** 将妊娠成功的50只大鼠随机分为正常对照组, 模型组, 低、高剂量(12.6 g/kg、25.2 g/kg)生化散瘀汤组和地屈孕酮(3 mg/kg)组, 每组10只。除正常对照组外, 其他各组大鼠采用16.6 mg/kg米非司酮联合100 μg/kg米索前列醇构建人工流产模型, 并采用机械损伤法建立人工流产后子宫内膜损伤模型。给予相应的药物干预后, 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中雌激素(E<sub>2</sub>)、孕激素(P)、催乳素(PRL)含量; HE染色检测子宫内膜组织病理学改变; Masson染色检测子宫内膜组织纤维化; 原位末端转移酶标记法(TUNEL)检测子宫内膜组织中细胞凋亡; 实时定量PCR检测子宫内膜组织中雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、催乳素受体(PRLR)、血管内皮生长因子(VEGF)、Fas、FasL mRNA表达; Western blotting检测子宫内膜组织中转化生长因子-β(TGF-β)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Fas、FasL蛋白表达。**结果** 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量, 子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达, MMP-9蛋白表达水平均降低; 子宫内膜组织中细胞凋亡率, Fas、FasL mRNA表达, TGF-β、Fas、FasL蛋白表达均升高(均P < 0.05); 子宫内膜组织严重受损, 胶原纤维增多。与模型组比较, 低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量, 子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达, MMP-9蛋白表达均升高; 子宫内膜组织中细胞凋亡率, Fas、FasL mRNA表达, TGF-β、Fas、FasL蛋白表达均降低(均P < 0.05); 子宫内膜组织病理学损伤减轻, 胶原纤维减少。**结论** 生化散瘀汤能够减轻人工流产后大鼠子宫内膜纤维化和细胞凋亡, 促进子宫内膜修复, 其机制可能与抑制Fas/FasL信号通路激活有关。**关键词** 生化散瘀汤; 人工流产; Fas/Fas配体信号通路; 子宫内膜损伤; 大鼠

中图分类号 R714.2 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2025)01-0030-08

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250109.1102.016>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.01.006

## Effect of Shenghua Sanjia decoction on endometrial damage after induced abortion in rats by regulating Fas/FasL signaling pathway

ZHANG Jiuyan<sup>1</sup>, SHI Juanjuan<sup>2</sup>, ZHANG Dan<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacy, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277599, China; 2. Department of Gynecology, Tengzhou Central People's Hospital, Tengzhou 277599, China)

**Abstract** **Objective** To investigate the effect of the Shenghua Sanjia decoction on endometrial damage after induced abortion in rats by regulating the Fas/Fas ligand (FasL) signaling pathway. **Methods** Fifty pregnant rats were randomly assigned to five groups: normal control, model, low- and high-dose Shenghua Sanjia decoction (12.6 g/kg and 25.2 g/kg, respectively), and dydrogesterone (3 mg/kg) groups, with 10 rats in each group. In all groups except the normal control group, rats were administered 16.6 mg/kg mifepristone combined with 100 μg/kg misoprostol to establish an artificial abortion model, and the endometrial injury model was established by a mechanical injury method. After administering the respective drug intervention, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum levels of estrogen (E<sub>2</sub>), progesterone (P), and prolactin (PRL). Histopathological changes of the endometrium were evaluated using HE staining. Masson staining was employed to assess endometrial fibrosis, whereas TdT-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) was utilized to detect apoptosis in the endometrial tissue. Additionally, the mRNA expression levels of the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), prolactin receptor (PRLR), vascular endothelial growth factor (VEGF), Fas, and FasL in the endometrial tissue were measured using real-time quantitative PCR. Finally, Western blotting was performed to analyze the protein expression levels of transforming growth factor-β (TGF-β), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Fas, and FasL in the endometrial tissue. **Results** Compared to the normal control group, the model group showed a decreased E<sub>2</sub>, P, and PRL serum levels, a reduction in the mRNA expressions of ER, PR, PRLR,

基金项目: 山东省中医药科技项目(2021M102)

作者简介: 张久严(1980-), 男, 副主任药师, 硕士.

通信作者: 张丹, E-mail: zhdan2013@126.com

收稿日期: 2023-12-16

网络出版时间: 2025-01-09 15:09:08

and *VEGF* as well as decreased protein expression of MMP-9 in the endometrial tissue. However, the apoptosis rate, mRNA expression of *Fas* and *FasL*, and protein expression of TGF- $\beta$ , *Fas*, and *FasL* in the endometrial tissue were all increased ( $P < 0.05$ ). Lastly, the endometrial tissue was found to be severely damaged with the collagen fibers increased. Compared to the model group, the low- and high-dose Shenghua Sanjia decoction and dydrogesterone groups showed an increase in the serum levels of  $E_2$ , P, and PRL, as well as an elevation in the mRNA expression of *ER*, *PR*, *PRLR*, and *VEGF*; similarly the protein expression of MMP-9 in the endometrial tissue was increased. However, the apoptosis rate, mRNA expression of *Fas* and *FasL*, and protein expression of TGF- $\beta$ , *Fas*, and *FasL* in the endometrial tissue were all decreased ( $P < 0.05$ ). Conversely, the histopathological damage of the endometrium was found to be alleviated with the collagen fibers decreased. **Conclusion** The Shenghua Sanjia decoction can reduce endometrial fibrosis and apoptosis, while promoting endometrial repair after the induction of abortion in rats. The underlying mechanism may be associated with the inhibition of the Fas/FasL signaling pathway activity.

**Keywords** Shenghua Sanjia decoction; induced abortion; Fas/Fas ligand signaling pathway; endometrial damage; rat

近年来人工流产发生率呈现上升趋势<sup>[1]</sup>。临床上人工流产手段包括手术流产和药物流产2种。其中,药物流产相比于手术流产更容易获得且侵入性更小,可被绝大多数患者接受<sup>[2]</sup>。然而研究<sup>[3]</sup>显示,药物流产的安全性和有效性虽然有较大的保障,但依然可能出现不完全流产,导致出血时间延长、感染以及子宫变薄等并发症,从而严重损害子宫内膜,引发宫内粘连,甚至闭经和不孕。因此,有效修复损伤的子宫内膜是人工流产后医疗保健中的重要问题之一。目前,雌激素(estrogen,  $E_2$ )治疗仍是临床上治疗子宫内膜损伤的最常用方法,但并不是对所有患者有效,且一些患者存在严重不良反应。因此,开发新的有效治疗人工流产后子宫内膜损伤的策略仍然很有必要<sup>[4]</sup>。

已有研究<sup>[5]</sup>表明,传统中医为促进人工流产后子宫内膜修复的治疗方法提供了新见解。生化散瘀汤由当归、熟地黄、川芎、益母草等12种中药材组成,与低剂量米非司酮联合使用能够促进药物流产后宫腔残留物排出,减少阴道流血时间,加快月经复潮,且不增加药物不良反应。另有报道<sup>[6]</sup>显示,生化散瘀汤中的主要药物组成当归、熟地黄和川芎是治疗子宫内膜损伤的中药复方中使用频次最多的3种中药,益母草、川牛膝使用频次也较高。目前,生化散瘀汤在人工流产后子宫内膜损伤修复中的作用及其机制尚不清楚。Fas/Fas配体(Fas ligand, FasL)信号通路作为细胞凋亡途径之一,在子宫内膜细胞凋亡过程中起重要作用,并参与子宫内膜异位症的进展<sup>[7]</sup>。此外,抑制Fas/FasL信号通路激活能够降低氧化应激诱导的子宫内膜细胞凋亡,从而缓

解氧化应激对子宫内膜细胞造成的不利影响<sup>[8]</sup>。本研究通过药物流产构建人工流产模型大鼠,并采用机械损伤法建立人工流产后子宫内膜损伤模型,探讨生化散瘀汤对大鼠人工流产后子宫内膜损伤以及Fas/FasL信号通路的影响,以期为生化散瘀汤应用于人工流产后子宫内膜损伤修复提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

8周龄SPF级SD大鼠(雌60只,雄30只),体重( $210 \pm 20$ )g,购自山东大学实验动物中心,实验动物生产许可证号为SCXK(鲁)2019-0001。所有大鼠统一饲养于温度( $23 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度40%~50%、12 h光照/12 h黑暗的恒定环境下,自由进食与饮水。本研究获得滕州市中心人民医院伦理委员会批准(202212031)。

### 1.2 药物、试剂与仪器

生化散瘀汤由当归24 g、益母草15 g、川芎9 g、鸡血藤15 g、炒桃仁6 g、蒲黄9 g、川牛膝9 g、炙黄芪15 g、熟地黄15 g、党参15 g、炮姜3 g、炙甘草3 g组成;所有中药材均购自滕州市中心人民医院。上述药材加500 mL蒸馏水浸泡40 min,先武火后文火煎煮30 min后滤出药液,药渣再加400 mL蒸馏水煎煮20 min,合并2次药液并浓缩至1.26 g/mL,于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。米非司酮片、米索前列醇片(北京紫竹药业有限公司),地屈孕酮片(荷兰AbbottBiologicals B.V.公司)。 $E_2$ 、孕激素(progesterone, P)、催乳素(prolactin, PRL)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosor-

bent assay, ELISA) 试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司), HE染色液(上海源叶生物科技有限公司), Masson三色染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), 原位末端转移酶标记法(TdT-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL) 凋亡检测试剂盒(美国Sigma-Aldrich公司), TRIzol试剂(美国Invitrogen公司), 反转录试剂盒、QuantiNova SYBR Green PCR试剂盒(德国QIAGEN公司), 兔抗大鼠FasL抗体(上海雅吉生物科技有限公司), 兔抗大鼠转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、Fas、GAPDH抗体以及HRP标记羊抗兔IgG(英国abcam公司)。iMark酶标仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司], Nikon Eclipse Ci生物显微镜(日本Nikon公司), LightCycler 480实时定量PCR仪(瑞士Roche公司), WD-9413C凝胶成像分析系统(北京六一生物科技有限公司)。

### 1.3 动物造模、分组及给药

所有大鼠适应性饲养7 d后, 于下午5时按雌雄比2 : 1合笼交配, 次日上午8时对雌鼠进行阴道涂片检查, 发现阴栓或大量精子表示受孕, 记为妊娠第1天。将妊娠成功的50只大鼠随机分为正常对照组, 模型组, 低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组, 每组10只。

除正常对照组外, 其余各组大鼠于妊娠第7天上午8时米非司酮(16.6 mg/kg)灌胃, 于下午6时米索前列醇(100  $\mu$ g/kg)灌胃, 构建大鼠人工流产模型; 在孕鼠阴道内置入1个消毒棉球, 次日清晨收集阴道棉球, 棉球上若见血迹表示人工流产大鼠模型造模成功<sup>[9]</sup>。第8天进行子宫内手术, 用2.5%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠, 切开腹部, 在子宫远端(靠近卵巢侧)做1个小切口(长约0.2 cm), 将内膜刮刀放入子宫内, 沿子宫内壁反复刮擦内膜, 直到子宫内膜变得粗糙, 停止刮擦, 缝合切口、关腹, 建立人工流产后子宫内膜损伤大鼠模型<sup>[10]</sup>。造模成功次日, 低、高剂量生化散瘀汤组分别灌胃给予生化散瘀汤(12.6 g/kg、25.2 g/kg; 根据人和大鼠间等效剂量系数折算大鼠给药剂量, 体重70 kg人的有效临床剂量约为2 g/kg, 故大鼠等效剂量为2 g/kg  $\times$  6.3=12.6 g/kg); 地屈孕酮组灌胃给予地屈孕酮(3 mg/kg)<sup>[11]</sup>; 正常对照组、模型组灌胃给予蒸馏水, 灌胃体积均为20 mL/kg,

1次/d, 连续10 d。

### 1.4 样本采集

给药结束后24 h内, 腹腔注射1%戊巴比妥钠麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 血液静置2 h后3 000 r/min离心15 min, 分离血清, 放入-20  $^{\circ}$ C冰箱中保存。取血后处死大鼠, 小心剥离子宫内膜, 一部分组织放入4%多聚甲醛固定, 剩余组织放入-80  $^{\circ}$ C冰箱中保存。

### 1.5 检测方法

1.5.1 ELISA检测血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量: 取出冰箱中保存的血清, 参照ELISA试剂盒说明书, 使用酶标仪检测各孔标准品和血清吸光度(optical density, OD)值, 根据标准曲线计算血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量。

1.5.2 HE染色检测子宫内膜组织病理学改变: 子宫内膜组织于4%多聚甲醛固定24 h后进行石蜡包埋, 并切成4  $\mu$ m厚的切片。将切片脱蜡、水合后, 于苏木素染液中染色5 min, 1%氨水返蓝后0.5%伊红染液染色1 min, 脱水、透明、封片后在显微镜下观察子宫内膜组织病理学改变并拍照。

1.5.3 Masson染色检测子宫内膜组织纤维化: 将子宫内膜组织石蜡切片脱蜡至水, 依次进行Weigert铁苏木素染色8 min、Masson蓝化液返蓝4 min、丽春红品红染色8 min、苯胺蓝染色2 min、1%醋酸分化1 min等步骤, 脱水、透明、封片后在显微镜下观察子宫内膜组织纤维化情况(胶原纤维呈蓝色)并拍照。

1.5.4 TUNEL检测子宫内膜组织中细胞凋亡: 将子宫内膜组织石蜡切片脱蜡至水, 依次添加蛋白酶K、3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>进行孵育, 随后TUNEL反应液37  $^{\circ}$ C避光孵育1 h, Streptavidin-HRP工作液孵育20 min, DAB显色液显色, 苏木素染核, 脱水、透明、封片后在显微镜下观察染色细胞(凋亡细胞呈棕褐色)并拍照, 随机选取5个视野计数凋亡细胞, 计算凋亡率。凋亡率(%)=凋亡细胞数/总细胞数  $\times$  100。

1.5.5 实时定量PCR检测子宫内膜组织中雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、催乳素受体(prolactin receptor, PRLR)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Fas、FasL mRNA表达: 取出冰箱中保存的部分子宫内膜组织, TRIzol试剂提取组织中总RNA, 参照反转录试剂盒说明将RNA反转录为cDNA, 随后以cDNA为模板, 并参照QuantiNova SYBR Green PCR试剂盒说明书配制实时定量PCR反应体系, 置于实时

定量PCR仪中进行扩增,获取循环阈值(Ct值)。引物由山东沃恩生物科技有限公司设计并合成,引物序列见表1。以 $\beta$ -actin为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因mRNA表达水平。

1.5.6 Western blotting检测子宫内膜组织中TGF- $\beta$ 、MMP-9、Fas、FasL蛋白表达:取出冰箱中保存的剩余部分子宫内膜组织,使用RIPA裂解液充分裂解后获取总蛋白,采用BCA法定量蛋白浓度并将蛋白煮沸

变性,每泳道上样20  $\mu$ g蛋白(20  $\mu$ L)进行SDS-PAGE电泳,通过电转移将切胶分离的蛋白转至PVDF膜,使用5%脱脂奶粉室温封闭膜1.5 h,添加一抗(TGF- $\beta$ 、MMP-9、Fas、FasL、GAPDH抗体,1 : 1 000稀释)4  $^{\circ}$ C孵育过夜,PBST洗涤后添加二抗(HRP标记羊抗兔IgG,1 : 5 000稀释),再次洗涤后添加化学发光试剂显色。ImageJ软件分析各蛋白条带灰度值,以GAPDH为内参蛋白计算目的蛋白的相对表达量。

表1 引物序列  
Tab.1 Primer sequence

Gene	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
ER	TCTGGAGTGTGCCTGGTTGGA	CGGGAATCGACTTGACGTAGCC
PR	GACAACACAAAGCCCGACAC	CGGAAACCTGGCAGAGACTT
PRLR	TTACACGGGGCTCAGGAAAC	TTCAGGTTGGCCCTTCTTC
VEGF	GCACTGGACCCCTGGCTTACT	ACTTCACCACITTCATGGGCTTTCTG
Fas	TGTCAACCGTGTGACGCTG	GTGCAAGGCTCAAGGACT
FasL	AATGCCTGCATCATGAGCCA	AGTCTCAGCTTATCCATGA
$\beta$ -actin	CCCGCGAGTACAACTTCTTG	GTCATCCATGGCGAACTGGTG

## 1.6 统计学分析

采用SPSS 25.0统计软件分析数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用SNK-*q*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生化散瘀汤对人工流产大鼠血清中 $E_2$ 、P、PRL含量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清中 $E_2$ 、P、PRL含量降低(均 $P < 0.05$ )。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠血清中 $E_2$ 、P、

PRL含量升高(均 $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.2 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织病理学损伤的影响

正常对照组大鼠子宫内膜组织结构完整,上皮细胞排列整齐,血管、腺体清晰。与正常对照组比较,模型组大鼠子宫内膜变薄,血管、腺体数量减少。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜厚度以及血管、腺体数量均有不同程度增加。另外,高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜组织病理学损伤改善程度较低剂量生化散瘀汤组更为明显。见图1。

表2 生化散瘀汤对人工流产大鼠血清中 $E_2$ 、P、PRL含量的影响

Tab.2 Effect of Shenghua Sanjia decoction on serum levels of  $E_2$ , P, and PRL in rats subjected to induced abortion

Group	n	$E_2$ (ng/L)	P ( $\mu$ g/L)	PRL ( $\mu$ g/L)
Normal control	10	93.54 $\pm$ 4.69	2.63 $\pm$ 0.38	3.57 $\pm$ 0.42
Model	10	49.89 $\pm$ 3.87 <sup>1)</sup>	1.27 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>	1.94 $\pm$ 0.26 <sup>1)</sup>
Low-dose Shenghua Sanjia decoction	10	64.37 $\pm$ 4.05 <sup>2)</sup>	1.88 $\pm$ 0.24 <sup>2)</sup>	2.69 $\pm$ 0.29 <sup>2)</sup>
High-dose Shenghua Sanjia decoction	10	76.95 $\pm$ 4.38 <sup>2)</sup>	2.34 $\pm$ 0.28 <sup>2)</sup>	3.32 $\pm$ 0.34 <sup>2)</sup>
Dydrogesterone	10	78.62 $\pm$ 4.16 <sup>2)</sup>	2.41 $\pm$ 0.31 <sup>2)</sup>	3.38 $\pm$ 0.40 <sup>2)</sup>

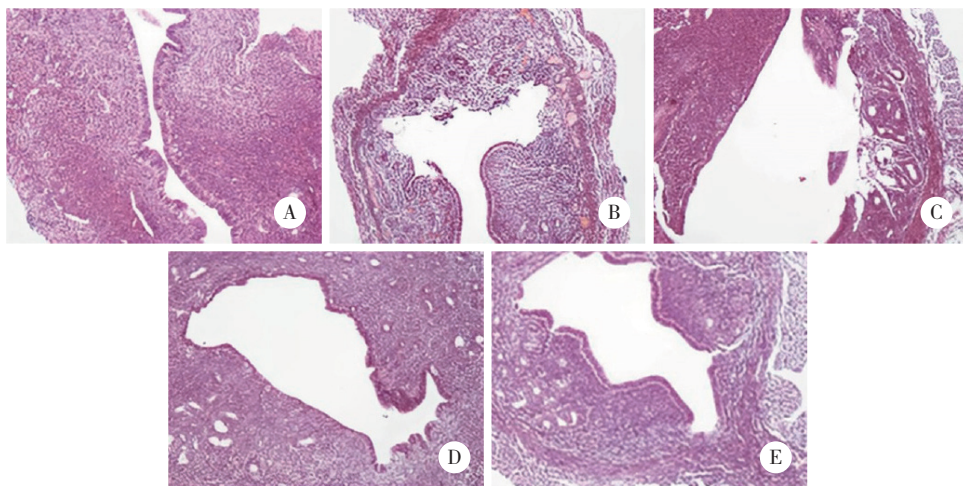
1)  $P < 0.01$  vs. normal control group; 2)  $P < 0.01$  vs. model group.

### 2.3 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织纤维化的影响

正常对照组大鼠子宫内膜形态、结构正常,呈蓝色染色的胶原纤维排列整齐。与正常对照组比

较,模型组大鼠子宫内膜中胶原纤维增多。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜中胶原纤维均不同程度减少。

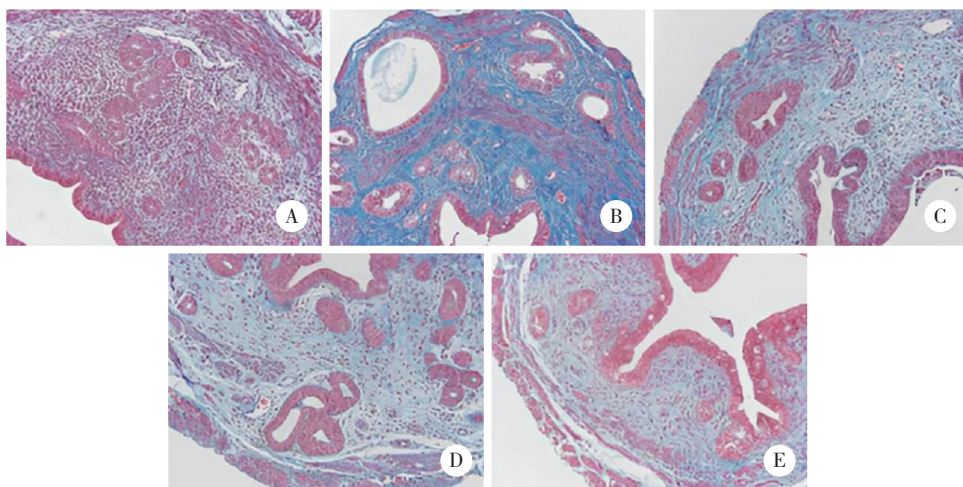
另外,高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜中胶原纤维较低剂量生化散瘀汤组减少。见图2。



A, normal control group; B, model group; C, low-dose Shenghua Sanjia decoction group; D, high-dose Shenghua Sanjia decoction group; E, dydrogesterone group.

图1 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织病理学损伤的影响 HE × 200

Fig.1 Effect of Shenghua Sanjia decoction on the histopathological damage of the endometrium in rats subjected to induced abortion HE × 200



A, normal control group; B, model group; C, low-dose Shenghua Sanjia decoction group; D, high-dose Shenghua Sanjia decoction group; E, dydrogesterone group.

图2 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织纤维化的影响 Masson × 200

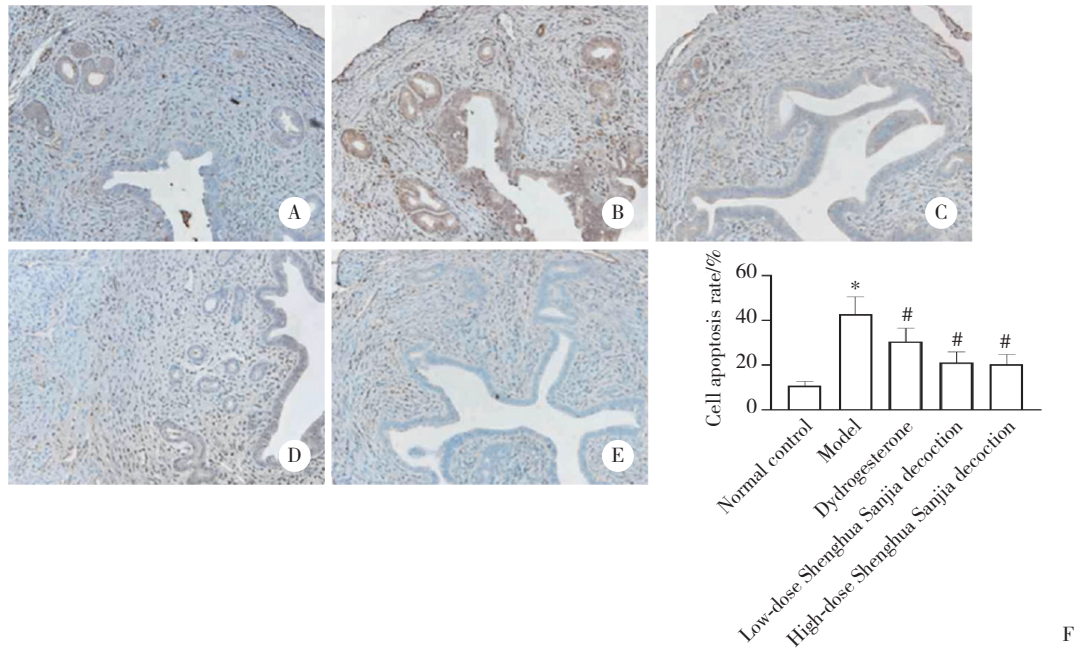
Fig.2 Effect of Shenghua Sanjia decoction on endometrial tissue fibrosis in rats subjected to induced abortion Masson × 200

### 2.4 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡的影响

TUNEL检测结果显示,与正常对照组比较,模型组大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡率升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡率降低(均 $P < 0.05$ )。见图3。

### 2.5 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达水平降低(均 $P < 0.05$ )。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达水平升高(均 $P < 0.05$ )。见表3。



A, normal control group (×200); B, model group (×200); C, low-dose Shenghua Sanjia decoction group (×200); D, high-dose Shenghua Sanjia decoction group (×200); E, dydrogesterone group (×200); F, statistical results of cell apoptosis. \* $P < 0.01$  vs. normal control group; # $P < 0.01$  vs. model group.

图3 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡的影响

Fig.3 Effect of Shenghua Sanjia decoction on endometrial tissue apoptosis in rats subjected to induced abortion

表3 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达的影响

Tab.3 Effect of Shenghua Sanjia decoction on the mRNA expression of ER, PR, PRLR, and VEGF in the endometrial tissue of rats subjected to induced abortion

Group	n	ER mRNA	PR mRNA	PRLR mRNA	VEGF mRNA
Normal control	10	1.01 ± 0.08	1.03 ± 0.09	1.00 ± 0.07	0.98 ± 0.08
Model	10	0.64 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.68 ± 0.08 <sup>1)</sup>	0.52 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.61 ± 0.07 <sup>1)</sup>
Low-dose Shenghua Sanjia decoction	10	0.78 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.81 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.69 ± 0.06 <sup>2)</sup>	0.77 ± 0.08 <sup>2)</sup>
High-dose Shenghua Sanjia decoction	10	0.89 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.92 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.83 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.90 ± 0.09 <sup>2)</sup>
Dydrogesterone	10	0.93 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.94 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.85 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.91 ± 0.08 <sup>2)</sup>

1)  $P < 0.01$  vs. normal control group; 2)  $P < 0.01$  vs. model group.

### 2.6 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中TGF-β、MMP-9蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠子宫内膜组织中TGF-β蛋白表达水平升高,MMP-9蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$ )。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜组织中TGF-β蛋白表达水平降低,MMP-9蛋白表达水平升高(均 $P < 0.05$ )。见图4。

### 2.7 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中Fas、FasL mRNA及蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠子宫内膜组织中Fas、FasL mRNA及蛋白表达水平升高(均 $P <$

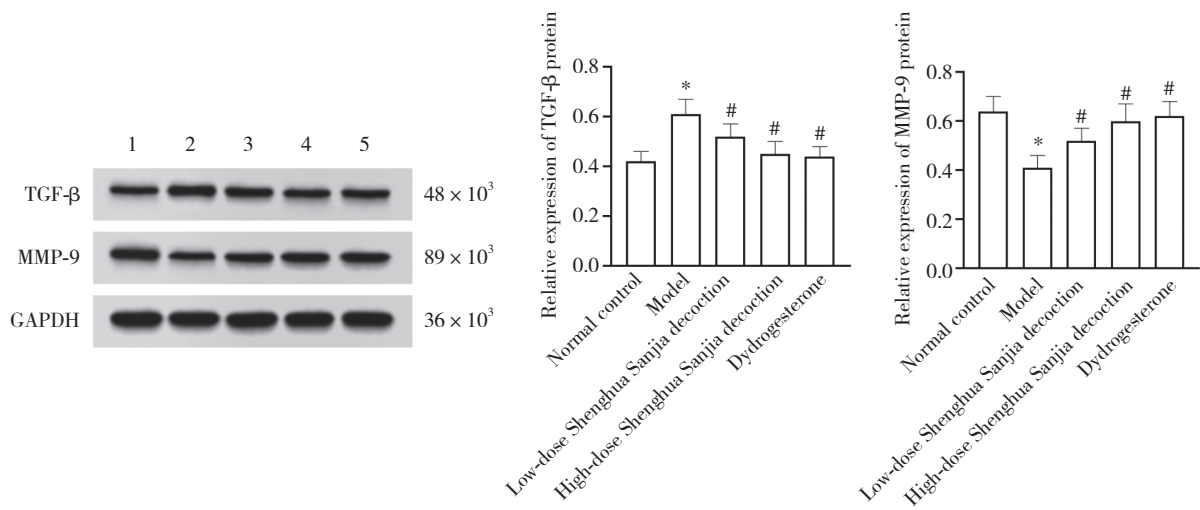
0.05)。与模型组比较,低、高剂量生化散瘀汤组和地屈孕酮组大鼠子宫内膜组织中Fas、FasL mRNA及蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$ )。见表4、图5。

## 3 讨论

药物流产(尤其米非司酮联合米索前列醇)具有安全、简便、有效且不良反应少等优点,已成为早期妊娠终止的主要方式<sup>[12]</sup>。但同时药物流产也存在一些弊端与不足,如出血多、宫腔残留等,甚至可能损害生育能力;而且药物流产后引发的子宫内膜损伤仍是目前亟待解决的重要问题<sup>[13]</sup>。已有研究<sup>[14]</sup>表明,基于干细胞的治疗已经成为修复子宫内膜损

伤的一种有利的替代方法,但至今仍未应用于人类,还需要进一步的临床试验,另外,干细胞治疗的安全

性也是具有争议的话题。因此,积极寻找新的有效缓解人工流产后子宫内膜损伤的方法至关重要。



1, normal control group; 2, model group; 3, low-dose Shenghua Sanjia decoction group; 4, high-dose Shenghua Sanjia decoction group; 5, dydrogesterone group. \**P* < 0.01 vs. normal control group; #*P* < 0.01 vs. model group.

图4 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中TGF-β、MMP-9蛋白表达的影响

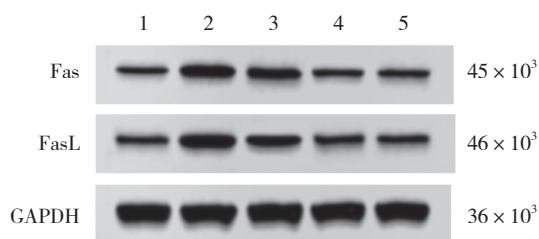
Fig.4 Effect of Shenghua Sanjia decoction on the protein expression of TGF-β and MMP-9 in the endometrial tissue of rats subjected to induced abortion

表4 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中Fas、FasL mRNA及蛋白表达的影响

Tab.4 Effect of Shenghua Sanjia decoction on the mRNA and protein expression of Fas and FasL in the endometrial tissue of rats subjected to induced abortion

Group	n	Fas		FasL	
		mRNA	Protein	mRNA	Protein
Normal control	10	1.02 ± 0.07	0.21 ± 0.03	0.99 ± 0.08	0.25 ± 0.04
Model	10	2.16 ± 0.11 <sup>1)</sup>	0.57 ± 0.05 <sup>1)</sup>	2.58 ± 0.13 <sup>1)</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>1)</sup>
Low-dose Shenghua Sanjia decoction	10	1.63 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.42 ± 0.05 <sup>2)</sup>	1.89 ± 0.11 <sup>2)</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>2)</sup>
High-dose Shenghua Sanjia decoction	10	1.21 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>2)</sup>	1.32 ± 0.12 <sup>2)</sup>	0.32 ± 0.05 <sup>2)</sup>
Dydrogesterone	10	1.15 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>2)</sup>	1.25 ± 0.11 <sup>2)</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>2)</sup>

1) *P* < 0.01 vs. normal control group; 2) *P* < 0.01 vs. model group.



1, normal control group; 2, model group; 3, low-dose Shenghua Sanjia decoction group; 4, high-dose Shenghua Sanjia decoction group; 5, dydrogesterone group.

图5 生化散瘀汤对人工流产大鼠子宫内膜组织中Fas、FasL蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of Shenghua Sanjia decoction on the protein expression of Fas and FasL in the endometrial tissue of rats subjected to induced abortion

研究<sup>[10]</sup>证实,传统中医药在促进人工流产后子宫内膜修复中显示出一定优越性,其中人参、熟地黄、党参等15种中药材组成的滋肾育胎丸能够加速大鼠人工流产后子宫内膜的修复,并恢复生育能力。此外,已有临床研究<sup>[5]</sup>证实,相比于低剂量米非司酮单独治疗,生化散瘀汤与其联合可加快药物流产后宫腔残留包块吸收,临床效果好,患者满意度高。E<sub>2</sub>、P、PRL是维持女性正常内分泌的关键激素,可分别与靶细胞上对应的受体ER、PR、PRLR结合发挥作用,一旦其分泌异常可引发子宫内膜的一系列病理变化,且其水平增加有助于子宫内膜的恢复;VEGF是由血管内皮细胞产生的一种促血管生成因

子,其高表达有利于加速子宫内膜再生<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,模型大鼠血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量以及子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达水平均降低,且HE染色可见子宫内膜变薄,且血管、腺体数量减少等病理改变。提示本研究构建的人工流产模型大鼠子宫内膜严重受损。经低、高剂量生化散瘀汤治疗后,人工流产大鼠血清中E<sub>2</sub>、P、PRL含量以及子宫内膜组织中ER、PR、PRLR、VEGF mRNA表达水平均升高,且子宫内膜组织病理学损伤均有所改善,表明生化散瘀汤可能通过调节性激素水平以及促进血管新生修复受损的子宫内膜,并与地屈孕酮作用效果一致。此外,时娟娟等<sup>[5]</sup>研究显示生化散瘀汤联合米非司酮治疗能够降低血VEGF水平,降低宫腔残留蜕膜或绒毛膜组织的生长及血管生成,促进残留物的脱落,与本研究结果不一致,分析原因可能是其研究纳入的患者为药物流产后宫腔残留患者,与本研究所构建人工流产模型大鼠的子宫内膜损伤所处阶段或严重程度不同。

人工流产后引起的子宫内膜损伤亦可导致子宫内膜纤维化,故阻断子宫内膜纤维化有利于子宫内膜修复。研究<sup>[17]</sup>显示,TGF- $\beta$ 高表达可导致子宫内膜纤维化,而MMP-9有助于减少纤维化,并参与子宫内膜组织重塑过程<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,人工流产模型大鼠子宫内膜组织中胶原纤维增多,且MMP-9蛋白表达水平降低,TGF- $\beta$ 蛋白表达水平升高;而生化散瘀汤和地屈孕酮均能够减少人工流产大鼠子宫内膜组织中胶原纤维,促进MMP-9表达并抑制TGF- $\beta$ 表达。这表明人工流产大鼠子宫内膜组织存在纤维化,而生化散瘀汤可能通过调控MMP-9、TGF- $\beta$ 表达减轻大鼠人工流产后子宫内膜纤维化。LI等<sup>[10]</sup>研究也显示,滋肾育胎丸可降低大鼠流产后子宫内膜纤维化的严重程度。

细胞过度凋亡也是子宫内膜受损的重要表现之一。Fas/FasL信号通路是与子宫细胞凋亡密切相关的信号转导途径<sup>[19]</sup>,且FasL上调可促进子宫内膜纤维化<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,人工流产模型大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡率以及Fas、FasL mRNA和蛋白表达水平均升高,提示人工流产大鼠子宫内膜组织中细胞凋亡严重,且Fas/FasL信号通路参与调控此细胞凋亡过程。进一步分析显示,生化散瘀汤和地屈孕酮均能够降低人工流产大鼠子宫内膜组织

中细胞凋亡率,并抑制Fas、FasL mRNA和蛋白表达。表明生化散瘀汤可能通过抑制Fas/FasL信号通路激活,减轻大鼠人工流产后子宫内膜细胞凋亡和纤维化,促进子宫内膜修复。

综上所述,生化散瘀汤能够减轻大鼠人工流产后子宫内膜纤维化和细胞凋亡,促进子宫内膜修复,其机制可能与抑制Fas/FasL信号通路激活有关。本研究为生化散瘀汤在人工流产后子宫内膜修复中的应用提供了可能。在未来的研究中将对Fas/FasL信号通路进行干预来进一步验证生化散瘀汤在人工流产后子宫内膜修复中的作用机制。

#### 参考文献:

- [1] WANG T,JIANG QB. Recent trend and correlates of induced abortion in China:evidence from the 2017 China Fertility Survey [J]. BMC Womens Health,2022,22(1):469. DOI:10.1186/s12905-022-02074-5.
- [2] MAZZA D,BURTON G,WILSON S,et al. Medical abortion [J]. Aust J Gen Pract,2020,49(6):324-330. DOI:10.31128/ajgp-02-20-5223.
- [3] DICKENS BM. Post-abortion care:ethical and legal duties [J]. Int J Gynaecol Obstet,2019,147(2):273-278. DOI:10.1002/ijgo.12951.
- [4] SHAO XW,AI GH,WANG L,et al. Adipose-derived stem cells transplantation improves endometrial injury repair [J]. Zygote,2019,27(6):367-374. DOI:10.1017/S096719941900042X.
- [5] 时娟娟,张丹,张久严,等. 生化散瘀汤联合米非司酮治疗药物流产术后宫腔残留的临床疗效研究 [J]. 国际医药卫生导报,2022,28(13):1825-1829. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2022.13.010.
- [6] 张云,艾浩,薛晓鸥,等. 基于现代文献探析治疗子宫内膜损伤的中药复方用药规律分析 [J]. 中医药信息,2017,34(5):84-87. DOI:10.3969/j.issn.1002-2406.2017.05.024.
- [7] AKHAVAN SALES Z,TAHOORI MT,SHEIKHHA MH,et al. Identification of a FAS/FASL haplotype associated with endometriosis in Iranian patients [J]. Gynecol Endocrinol,2020,36(3):261-264. DOI:10.1080/09513590.2019.1655729.
- [8] 靳青,张相伦,魏晨,等. 氧化应激通过Fas/FasL信号通路调控奶牛子宫内膜细胞凋亡 [J]. 畜牧兽医学报,2022,53(6):1819-1828. DOI:10.11843/j.issn.0366-6964.2022.06.015.
- [9] 马静静,刘宇,梁艳,等. 益母草总生物碱对药物流产大鼠蜕膜绒毛组织排出的促进作用及其机制 [J]. 吉林大学学报(医学版),2021,47(6):1476-1484. DOI:10.13481/j.1671-587X.20210618.
- [10] LI MM,NING N,LIU Y,et al. The potential of Zishen Yutai pills to facilitate endometrial recovery and restore fertility after induced abortion in rats [J]. Pharm Biol,2021,59(1):1505-1516. DOI:10.1080/13880209.2021.1993272.
- [11] WU HW,FENG YH,WANG DY,et al. Effect of total flavones from Cuscuta chinensis on anti-abortion via the MAPK signaling pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med,2018,2018:6356190. DOI:10.1155/2018/6356190.
- [12] KAPP N,ECKERSBERGER E,LAVELANET A,et al. Medical abortion in the late first trimester:a systematic review [J]. Contraception,2019,99(2):77-86. DOI:10.1016/j.contraception.2018.