

引用: 蹇秀芳, 孙会仙. 内异方对子宫内位症 ICAM-1 的影响[J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(6): 133-135.

内异方对子宫内位症 ICAM-1 的影响

蹇秀芳, 孙会仙

(武警北京市总队医院, 北京, 100027)

[摘要] 目的: 探讨内异方对大鼠子宫内位症细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 的影响。方法: 采用自体子宫内位膜移植法制备大鼠子宫内位症模型, 将其分为内异方高、中、低剂量组 (予内异方药液干预, 给药剂量分别为 15 g/kg、7.5 g/kg、3.75 g/kg), 阳性组 (予达那唑胶囊药液干预, 给药剂量为 36 mg/kg), 模型组和假手术组 (均灌胃等体积溶媒), 灌胃 4 w。采用光镜观察异位内膜的病理组织变化, 并评价病变分级, 采用免疫组化法检测异位内膜组织的 ICAM-1 阳性表达。结果: 模型组大鼠异位内膜体积大, 腺体数量较多, 间质层丰富, 有大量炎性细胞浸润; 内异方各剂量组大鼠的异位内膜有不同程度的萎缩, 体积均较模型组显著缩小, 间质炎性细胞数量较少。与模型组相比, 内异方各剂量组病变分级程度均明显减轻, 异位内膜组织的 ICAM-1 表达均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 内异方具有治疗子宫内位症的作用, 其作用机制可能与抑制异位子宫内位在盆腔处的黏附等有关。

[关键词] 子宫内位症; 内异方; 细胞间黏附分子-1; 实验研究

[中图分类号] R271.917.1 **[文献标识码]** A DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.06.055

Effect of Neiyi prescription on intercellular adhesion molecule - 1 in rats with endometriosis

QIAN Xiufang, SUN Huixian

(Beijing Armed Police Corps Hospital, Beijing 100027, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Neiyi prescription on intercellular adhesion molecule - 1 (ICAM-1) in rats with endometriosis. Methods: A rat model of endometriosis was established by autologous endometrial transplantation, and then the rats were divided into high-, middle-, and low-dose Neiyi prescription groups (treated with the solution of Neiyi prescription at a dose of 15 g/kg, 7.5 g/kg, and 3.75 g/kg, respectively), positive group (treated with the solution of danazol capsules at a dose of 36 mg/kg), model group (treated with an equal volume of solvent by gavage), and sham-operation group (treated with an equal volume of solvent by gavage); the course of treatment was 4 weeks by gavage. Histopathological changes of the ectopic endometrium were observed under a light microscope, and the grade of lesions was determined; immunohistochemistry was used to measure the positive expression of ICAM-1 in the ectopic endometrium. Results: The rats in the model group had a large volume of the ectopic endometrium, a large number of glands, abundant mesenchymes, and massive inflammatory cell infiltration, and those in the high-, middle-, and low-dose Neiyi prescription groups had varying degrees of atrophy of the ectopic endometrium and significant reductions in the volume of the ectopic endometrium and the number of inflammatory cells compared with the model group. Compared with the model group, the high-, middle-, and low-dose Neiyi prescription groups had significant reductions in the pathological grade of lesions and the expression of ICAM-1 in the ectopic endometrium ($P < 0.01$). Conclusion: Neiyi prescription can exert a therapeutic effect on endometriosis, possibly by inhibiting the adhesion of the ectopic endometrium in the pelvic and abdominal cavity.

[Keywords] endometriosis; Neiyi prescription; intercellular adhesion molecule - 1; experimental study

子宫内位症是具有活性的子宫内位膜组织出现在子宫腔外的其他部位, 导致子宫囊肿、月经失调、疼痛甚至不

孕的疾病^[1]。目前临床上针对本病尚缺乏理想的治疗手段, 手术治疗复发率高, 西药治疗毒副作用多^[2]。笔者运用

中医学理论结合长期临床实践自拟内异方(由丹参、血竭、莪术等组成)治疗子宫内膜异位症,具有可靠疗效,现拟通过建立大鼠模型,探讨该方治疗子宫内膜异位症的作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 SPF级性成熟雌性未孕SD大鼠,体质量(220±20)g,由河北医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物 内异方(主要组成:丹参、血竭、莪术等),本室自制,含生药量0.75 g/ml;达那唑胶囊,购自江苏联环药业股份有限公司。

1.3 主要仪器与试剂 光学显微镜、生物研究显微镜(日本奥林巴斯公司);医学图文分析系统(武汉千屏影像技术有限公司);细胞间黏附分子-1(ICAM-1)多克隆抗体、免疫组织化学(SP法)试剂盒,购自武汉博士德生物工程有限公司。

2 实验方法

2.1 动物分组、给药及模型制备 光镜下观察大鼠的阴道涂片,确定其性周期,选择处于动情周期的雌性大鼠进行自体子宫内膜移植手术。造模方法:将大鼠以戊巴比妥腹腔注射麻醉后,常规备皮,注意无菌操作,沿腹中线切口,暴露子宫,取左侧远端约1 cm的子宫组织,置于0.9%氯化钠注射液,剔除脂肪,纵向剖开,使子宫内膜面朝向右侧腹腔壁,缝合固定于腹壁上。用0.9%氯化钠注射液和庆大霉素注射液冲洗腹腔,关腹^[3]。另取大鼠,开腹后以脂肪组织代替子宫内膜组织固定于腹壁,其他操作同上,作为假手术组。模型制备4周后,将动物随机分为:内异方高剂量组(生药15 g/kg)、内异方中剂量组(生药7.5 g/kg)、内异方低剂量组(生药3.75 g/kg)、阳性组(36 mg/kg)、模型组、假手术组,每组各10只。每天灌胃给药1次,假手术组和模型组给予等体积溶媒,连续干预4周。

2.2 取材及检测 末次灌胃,各组动物以戊巴比妥腹腔注射麻醉,打开腹腔,观察异位内膜的生长情况,钝性分离异位内膜与周围的粘连,分离出异位内膜,置于福尔马林液中固定保存。1)光镜下评价异位内膜的病变程度。异位内膜固定好后,以石蜡包埋,切片切片,常规HE染色,其病理组织学置于光镜下观察并评价。病变分级标准如下:①(+++)。假腺体数量多,间质内浸润有大量炎性细胞。②(++).假腺体数量较多,间质内浸润有较多炎性细胞。③(+).假腺体极少,间质内浸润少量炎性细胞。④(-)。无假腺体,间质内无炎性细胞。2)免疫组化SP法检测异位内膜的ICAM-1阳性表达。取异位内膜切片,按免疫组化试剂盒步骤进行操作,采用生物研究显微镜拍照,医学图文分析系统分析照片,异位内膜的ICAM-1阳性表达(间质细胞和上皮细胞的细胞核或细胞浆呈现出的棕黄色粒状物)用积分光密度(IOD)值表示。

2.3 统计学方法 采用SigmaStat 3.5统计学软件进行统计

学分析,病变分级采用完全随机设计的秩和检验;计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2组间比较采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠异位内膜外观和病变分级 假手术组采用的是异位脂肪组织,并未成活。模型组多数异位内膜呈隆起透亮的囊泡状,体积大,表面血管清晰可见,内部充满黄色浆液,周围与腹壁粘连;光镜下观察到其内膜腺上皮细胞层有显著增生,排列紧密,腺体数量较多,间质层丰富,有大量炎性细胞浸润。各给药组多数异位内膜虽形成,但有不同程度的萎缩现象,或体积较小,或未形成囊泡状,或表面血管较少;光镜下观察到内膜腺上皮细胞层排列不规则或较薄,腺体数量少或无,间质层炎性细胞数量较少,可见有个别凋亡形态的细胞。病变分级,内异方各剂量组与模型组比较,均有明显减轻,差异有统计学意义。(见表1)

表1 各组大鼠异位内膜病变分级(只)

组别	只数	剂量(g/kg)	病变分级			
			+++	++	+	-
模型组	10	-	8	2	0	0
内异方低剂量组	10	3.750	0	3	4	3
内异方中剂量组	10	7.500	0	1	5	4
内异方高剂量组	10	15.000	0	0	4	6
阳性组	10	0.036	0	0	3	7

注:与模型组比较,内异方低、中、高剂量组及阳性组差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

3.2 各组大鼠异位内膜ICAM-1表达情况比较 假手术组正常子宫内膜的ICAM-1呈现低表达。与假手术组比较,模型组异位内膜的ICAM-1阳性表达有明显升高,差异有统计学意义。与模型组比较,内异方低、中、高剂量组及阳性组异位内膜的ICAM-1阳性表达均有明显降低。(见表2)

表2 各组大鼠异位内膜ICAM-1表达情况比较($\bar{x} \pm s$, IOD值)

组别	只数	剂量(g/kg)	ICAM-1
假手术组	10	-	49.12 ± 20.04
模型组	10	-	214.68 ± 42.71 ^a
内异方低剂量组	10	3.75	143.50 ± 36.23 ^b
内异方中剂量组	10	7.5	107.76 ± 39.48 ^c
内异方高剂量组	10	15	96.97 ± 30.86 ^c
阳性组	10	0.036	51.39 ± 16.15 ^c

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$ 。

4 讨论

中医学认为,子宫内膜异位症的主要病机为气滞血瘀,因瘀血壅阻于脉络,血流动力不畅而发为癥瘕,并伴有粘连

和疼痛。《三因极一病证方论》载:“多因经脉失于将理……遂致营卫不输,新陈干忤,随经败浊,淋漓凝滞,为癥为瘕”,故中医学针对子宫内膜异位症多采用活血、化瘀、行气之法,其疗效已被基础和临床研究所证实^[4]。本研究用内异方的主要组成有丹参、血竭、莪术等活血化瘀之药,共奏行气活血、消癥止痛之功。现代药理学研究表明,丹参、血竭、莪术等具有抗炎、抗血栓、调节免疫、增加血流量的作用^[5]。本研究结果显示,经治疗4周后,大鼠的异位子宫内膜体积可见显著缩小,亦可观察到各给药组明显减轻的组织病理学和病变分级程度。

异位的子宫内膜组织要发展成子宫内膜异位症须历经黏附(attachment)-侵袭(aggregation)-血管生成(angiogenesis)的“3A”模式^[6],其中黏附是子宫内膜异位症形成的首要环节。进入盆腹腔的子宫内膜碎片必须先与盆腹腔黏膜发生黏附,子宫内膜细胞间也需要黏附并聚集成团,才可能种植成活、形成异位病灶。细胞间黏附分子 ICAM-1 (CD54)是黏附环节代表性的细胞因子,介导子宫内膜细胞与细胞间以及细胞与基质间的黏附作用,ICAM-1 在子宫内膜和腹膜的表达量可作为诊断子宫内膜异位症的生物标志物^[7]。据报道,ICAM-1 在子宫内膜异位症患者的异位内膜和腹腔液中呈现高表达,而在患者的在位内膜中呈现低表达状态^[8],提示存在于病灶中的 ICAM-1 可增强异位内膜的黏附性及稳定性。

本研究探讨了内异方对异位内膜组织中 ICAM-1 的影响,结果显示 ICAM-1 在大鼠正常子宫内膜组织表达活性较低,而在异位内膜组织表达显著升高,这与上述文献报道结果一致。内异方各剂量组均可明显降低异位内膜组织中 ICAM-1 的阳性表达,提示内异方对异位内膜的病变进程的抑制作用可能与抑制内膜组织的黏附能力有关。因此得

出结论:内异方采用活血化瘀法组方,能有效缓解大鼠子宫内膜异位症的发生和发展,其机制可能与抑制 ICAM-1 进而影响异位子宫内膜在盆腹腔处的黏附有关。

参考文献

- [1] SAMIMI M, POURHANIFEH MH, MEHDIZADEHKASHI A, et al. The role of inflammation, oxidative stress, angiogenesis, and apoptosis in the pathophysiology of endometriosis: Basic science and new insights based on gene expression [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (11): 19384 - 19392.
- [2] FRÜHAUF F, FANTA M, BURGETOVÁ A, et al. Endometriosis in pregnancy - diagnostics and management [J]. Ceska Gynekol, 2019, 84(1): 61 - 67.
- [3] PEREIRA FE, ALMEIDA PR, DIAS BH, et al. Development of a subcutaneous endometriosis rat model [J]. Acta Cir Bras, 2015, 30 (1): 6 - 12.
- [4] 曹佳佳,周英. 子宫内膜异位症各期与中医体质类型相关性研究 [J]. 中医学报, 2014, 29(4): 557 - 560.
- [5] 郑依玲,梅全喜,戴卫波,等. 妊娠禁忌中药研究概述 [J]. 中国药房, 2018, 29(3): 421 - 424.
- [6] HSIAO KY, WU MH, TSAI SJ. Epigenetic regulation of the pathological process in endometriosis [J]. Reprod Med Biol, 2017, 16 (4): 314 - 319.
- [7] KUESSEL L, WENZL R, PROESTLING K, et al. Soluble VCAM-1/soluble ICAM-1 ratio is a promising biomarker for diagnosing endometriosis [J]. Hum Reprod, 2017, 32(4): 770 - 779.
- [8] WU MH, YANG BC, LEE YC, et al. The differential expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and regulation by interferon-gamma during the pathogenesis of endometriosis [J]. Am J Reprod Immunol, 2004, 51(5): 373 - 380.

(收稿日期:2019-11-18)

科学认识发物 警惕小儿食复(三)

病例三

鸡汤也是发物?

可可是一名3岁的女孩,因为发热咳嗽5 d到医院就诊,诊断为支气管肺炎,按照肺炎治疗原则给予治疗1周,但热退2 d后出现高热,且咳嗽加重。可可妈妈再次带着她来复诊,医师复查了孩子的血常规和胸片,发现肺部炎症明显比之前好转,血常规也提示炎症指标下降,医师觉得很奇怪,病情怎么会再次加重?

经过询问得知,可可妈妈炖了老母鸡汤给孩子食用。医师说鸡汤是孩子疾病复发的重要原因,可可妈妈不解,母鸡不是发物,也很滋补,怎么就成了复发的原因呢?

孩子本来就脾胃虚弱,加上疾病初愈,各个脏器正气受损,还没有完全恢复,而鸡汤为肥甘厚腻之品,这个时候吃,不但不能补益脾胃,反而增加胃肠负担,让脾气受损,无法化生正气继续与邪气做斗争,所以会导致疾病反复。

这也是医师反复对急性疾病的患儿家长强调清淡饮食的原因。所以,对于可可来说这次母鸡就成了导致她疾病复发的发物。

需要注意的是,对发物的理解应该因病性而异,因病势而异,因病情而异,切不可一概而论,应该多听专业医师的指导意见。(http://paper.cntcm.com.cn/html/content/2020-06/01/content_624185.htm)