

补经合剂对初老大鼠卵巢 FSH 受体和子宫 E、P 受体的影响

金沈锐* 徐晓娟* 秦旭华* 杨家林*

摘要 目的:以补经合剂对初老大鼠卵巢、子宫内膜受体的影响,拟从分子生物学水平进一步阐明该方的作用机理。方法:以雌性初老大鼠为自然肾虚模型,采用免疫组织化学方法观察该药对肾虚大鼠卵巢的卵泡刺激素受体(FSHR)和子宫内膜的雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)的影响。结果:补经合剂高剂量组(相当于31g原生药/kg)能正向调节大鼠卵巢中卵泡和黄体的FSHR的水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$);同时补经合剂高、低剂量组(相当于7.8g原生药/kg)也能正向调节大鼠子宫ER水平,以低剂量组更为明显($P<0.05$);补经合剂高剂量组还能正向调节子宫内膜上皮PR的水平($P<0.05$)。结论:补经合剂临床上用于治疗月经后期或伴量少的机理,可能与该药正向调节卵巢FSHR和子宫内膜ER、PR的水平有关。

主题词 卵巢/药物作用 子宫/药物作用 @ 补经合剂

补经合剂为四川省著名中医妇科专家杨家林教授的临床经验方,该方具有补肾益气、养血调经的功效,临床上用于治疗月经后期或伴量少,中医辨证属肾虚血亏者。研究表明,补经合剂可以增高血清雌二醇(E_2)、催乳素(P)的水平和卵巢中各级卵泡数目、子宫内膜厚度^[1],为进一步探讨该方的作用机理,我们于1999年10月~2002年3月以雌性初老大鼠为自然肾虚模型,连续给补经合剂15天后,采用免疫组织化学方法,观察了该药对肾虚大鼠卵巢中卵泡和黄体的卵泡刺激素受体(FSHR)和子宫内膜的雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)的影响。从而进一步探讨该方对初老大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴功能的影响,以阐明该方的现代药理作用机理。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂:补经合剂(由参芪四物汤加味化裁,组成:党参30g,黄芪24g,当归12g,川芎10g,熟地黄10g,白芍12g,紫河车6g,补骨脂12g,鸡血藤18g,桂枝10g。每100ml补经合剂含原生药172g)为成都中医药大学附属医院制剂室提供,批号001108。乌鸡白凤丸系江西汇仁制药有限公司产品,批号0104058;FSHR、ER、PR免疫组织化学试剂盒,一抗购自

SANTA CRUZ公司,二抗及SP试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 动物:初老SD大鼠,18月龄,雌性,体重在250~350g之间;青年SD大鼠,3月龄,雌性,体重150~250g。均由成都中医药大学实验动物中心提供(动管号:川实动管质第8号)。

1.3 仪器:日本BH-2 OLYMPUS光学显微镜;Mias-2000图像分析仪,由四川大学图形图像分析研究所研制。

1.4 方法

1.4.1 分组:取初老大鼠40只按体重随机分层,每组10只,分别设为补经合剂高剂量组、补经合剂低剂量组、乌鸡白凤丸组和初老空白对照组;另取青年大鼠10只,设为青年空白对照组。实验共分5组。

1.4.2 给药:补经合剂高剂量组按每日人用量的20倍,即用相当于31g原生药/kg予大鼠灌胃;补经合剂低剂量组按每日人用量的5倍,即相当于7.8g原生药/kg予大鼠灌胃;乌鸡白凤丸组按每日人用量的20倍,即每日用中成药4.8g/kg剂量予大鼠灌胃;其余各组给等量生理盐水1ml/100g灌胃;每日灌胃1次,连续灌胃15天。

1.4.3 取材:末次给药24小时后断头处死动物,立即取出大鼠子宫、卵巢,置入醋酸-酒精-甲醇固定液中固定,48小时后取出,经常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片,石蜡切片用于免疫组织化学法染色后的观察。

1.4.4 免疫组织化学染色法:先用二甲苯脱蜡,然后加入3% H_2O_2 (PBS),室温作用10min阻断内源性过氧化物酶;用0.01MPBS洗涤3次,每次5min;用5%正常山羊血清室温封闭10min,并弃去多余血清,加入一抗,置37℃温箱孵育120min;再用PBS洗涤3次,每次5min;加生物素标记二抗,置37℃温箱孵育30min;用PBS洗涤3次,每次5min;加辣根酶标记链酶卵白素,再次孵育30min,用PBS洗涤3次,每次5min,用新配制DAB(0.02%)显色,光镜下控制染色,PBS终止反应,流水充分冲洗,复染,封片。

1.4.5 图像分析:以BH-2 OLYMPUS光学显微镜在200倍、400倍光镜下观察染色结果,采用Mias-2000图像分析仪对图像进行处理。

基金项目:四川省教委青年基金项目(2000-B10)

* 成都中医药大学基础医学院生化与分子生物学教研室、临床医学院妇科教研室、药学院中药教研室,成都市十二桥路37号(610075)

收稿日期:2002-02-07;修回日期:2002-03-20

附表 各组大鼠卵巢 FSHR、子宫内膜上皮 ER 及 PR 的比较(黑度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	卵泡 FSHR	黄体 FSHR	ER	腺上皮 PR	间质 PR
补经合剂高剂量组	10	75.89±3.01*	69.28±3.01**	136.39±30.59	126.41±9.51*	94.10±5.74
补经合剂低剂量组	10	60.41±6.50	58.91±4.84	145.39±10.61*	113.72±7.42	90.73±6.24
乌鸡白凤丸组	10	71.18±7.13	47.95±4.02	145.04±7.89*	114.94±2.23	93.67±6.34
初老空白组	10	64.44±6.51	57.54±7.18	104.60±43.14	110.91±7.08	89.04±5.56
青年空白组	10	73.09±3.67	70.84±3.91**	156.28±7.23*	121.92±5.96	99.59±5.40*

与初老空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

1.4.6 统计学方法: Mias-2000 图像分析结果均用 SPSS 统计软件进行检验。

2 结果

各实验组大鼠卵泡 FSHR、黄体 FSHR、ER、腺上皮 PR、间质 PR 统计结果见附表。附表表示, 补经合剂高剂量组均能正向调节大鼠卵巢中卵泡和黄体的 FSHR 的水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 同时补经合剂高、低剂量组也能正向调节大鼠子宫内膜 ER 水平, 以低剂量组更为明显 ($P < 0.05$); 补经合剂高剂量组能正向调节子宫内膜上皮 PR 的水平 ($P < 0.05$); 对照组乌鸡白凤丸在对 ER 的调节作用上与补经合剂相似。

3 讨论

月经后期或伴量少属中医学月经不调范畴, 相当于现代医学的月经稀发, 是妇科临床上常见多发病证, 本病若不及时治疗可发展成闭经, 导致不孕^[2]。本病的病因很多, 病机也极为复杂, 在排除患者器质性病变的基础上, 现代医学认为其机理主要与女性下丘脑-垂体-卵巢轴功能失调有关, 以卵泡发育不良、不排卵及子宫内膜增生不充分等因素常见^[3]。对本病的治疗现代医学多采用雌、孕激素来调整月经周期^[4], 虽有一定疗效, 但停药后病情容易复发, 加之激素疗法有一定副作用, 患者不易长期坚持治疗。

中医学对该病的认识和治疗有上千年悠久的历史, 调经治病历来是中医妇科的特色, 中医学认为本病的发生机理为精血不足或邪气阻滞, 杨家林教授依据其长期的临床经验, 认为本病的发生在于虚多实少, 虚以肾虚为主, 肾虚不能生精化血, 导致血海不能按时满溢, 而实者如气滞、血瘀则较为少见。补经合剂由参芪四物汤加紫河车、补骨脂、鸡血藤等 10 味药组成, 以补肾益精、养血益气为其专长。前期研究表明, 补经合剂可明显增高大鼠血清中雌激素、孕激素的水平; 同时, 成熟卵泡的数目、子宫内膜的厚度等指标也相应增高。而作为激素的效应器官上的靶点——受体, 它们又有如何的变化则是本实验所关注的中心问题。与此同时, 我们还选用目前国内治疗该病的功效最为接近的代表中成药乌鸡白凤丸, 作为对照药进行了研究, 便于探讨该类中成药相似的作用特点。

本研究结果表明, 补经合剂高剂量组 (相当于 31g 原生药/kg) 均能正向调节大鼠卵巢中卵泡和黄体的 FSHR 的水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 同时补经合剂高、低剂量组 (相当于 7.8g 原生药/kg) 也能正向调节大鼠子宫 ER、PR 的水平 ($P < 0.05$)。而中成药乌鸡白凤丸在正向调节大鼠子宫 ER 水平方面与补经合剂有类似的作用。乌鸡白凤丸由乌鸡、鹿角胶、鳖甲、牡蛎、桑螵蛸、人参、黄芪、当归、白芍、香附、天门冬、甘草、生地、熟地黄、川芎、银柴胡、丹参、芡实、鹿角霜 19 味补气养血、滋阴清热的中药组成, 长于清虚热, 补气养血, 调经止带, 其中虽也含有参芪四物汤, 共有补肾养血的功效, 但其补肾养血不及补经合剂之专。故两方之间作用有一定的异同, 这一点在我们的实验中也得到了证实, 它们均能正向调节大鼠子宫 ER 的水平, 而对 FSHR、PR 的影响则有所不同。综上所述, 补经合剂的调经机理可能与其对初老大鼠卵巢中黄体的 FSHR 和子宫 ER、PR 调节有关。同时也提示该类补肾养血中成药可能有类似正向调节子宫内膜 ER 的作用机理。

参考文献

- 徐晓娟, 金沈锐, 秦旭华, 等. 补经合剂对初老大鼠血清激素水平和卵巢、子宫病理形态学的影响. 中药药理与临床, 2001, 17(4): 34-35.
- 马宝璋主编. 中医妇科学. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 51-52.
- 李诵弦, 于传鑫主编. 实用妇科内分泌学. 上海: 上海医科大学出版社, 1997: 9-10.
- 乐杰主编. 妇产科学. 北京: 人民卫生出版社, 1980: 319-320.

风湿病专科培训招生

本校为风湿病专科培训基地, 办学 6 年来, 已培养了大批专科人才, 校长陶纪志治疗风湿病积累了 10 余年的治疗经验。本校主要传授中药内服外用治疗风湿病的新疗法及类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、无菌性骨坏死、肩周炎、坐骨神经痛、椎间盘突出症、颈椎、腰椎、膝关节等部位的骨质增生、产妇受寒引起的腰腿痛、麻、凉等治疗方法。

本校常年招生, 每月 1 日、20 日开课, 学期 10 天, 汇 10 元报名费索取详细资料及入学通知书。学习期满成绩合格者发邢台市教委统一印制的钢印结业证书。地址: 河北省巨鹿县朝阳路中医风湿病专科培训学校, 邮编: 055250, 电话: (0319) 4338888, 联系人: 李老。 广告批号: 2002004 号, 广告编号: 20030322