

益肾种子丸对不明原因不孕症患者黄体中期 子宫内膜 E-钙黏素表达的影响

田 葱¹ 王文辉² 李 娟¹ 邢春萍¹

摘要 目的:通过观察益肾种子丸对不明原因不孕症患者黄体中期子宫内膜 E-钙黏素表达的影响,探讨其治疗不孕症的机制。方法:采用免疫组织化学方法分别检测 45 例不明原因不孕症患者(研究组 30 例,对照组 15 例)及 17 例正常妇女(正常组)黄体中期子宫内膜 E-钙黏素的表达,然后研究组连续服用益肾种子丸 3 个月,对照组不服药,监测排卵,指导同房,疗程结束后复查。结果:不孕症患者黄体中期子宫内膜 E-钙黏素表达呈弱阳性,正常组呈强阳性,二者比较差异有显著性意义($P < 0.01$)。研究组治疗后较治疗前表达增高,差异有显著性意义($P < 0.01$)。结论:不明原因不孕症患者黄体中期子宫内膜 E-钙黏素表达缺陷可能是导致不孕症的原因之一;益肾种子丸能增强不孕症患者黄体中期 E-钙黏素的表达,可能是其治疗不孕的机制。

主题词 不育,女(雌)性/中医药疗法;@ E-钙黏素;@ 益肾种子丸

Effect of Yishen Zhongzi Pills on E-cadherin Expression in Endometrium at Mid-Lutein Phase in Unexplained Infertility

Tian Cong¹, Wang Wenhui², Li Juan¹, et al.

(1. Institute of Medical Science of Kaifeng City, Henan 475000; 2. Henan Medical School)

Objective: To explore the possible mechanism of Yishen Zhongzi Pills (YSZZP) in treatment of unexplained infertility by observing the effects of YSZZP on E-cadherin expression in endometrium at mid-lutein phase in unexplained infertility patients. **Methods:** E-cadherin expression in endometrium at mid-lutein phase was respectively determined in 45 cases of unexplained infertility patients (research group of 30 cases and control group of 15 cases) and 17 cases of healthy women by using immunohistochemical method. Research group was given YSZZP for 3 months, and the control group was given sexual life instruction based on monitoring ovulation. E-cadherin expression was re-examined after treatment course finished. **Results:** E-cadherin expression was weak positive in unexplained infertility patients, and was strong positive in healthy women, with significant differences ($P < 0.01$). E-cadherin expression significantly increased after treatment in research group ($P < 0.01$). **Conclusion:** E-cadherin expression deficiency in endometrium at mid-lutein phase might be one of the causes of infertility, and increase of E-cadherin expression by YSZZP might be the mechanism of treatment of infertility.

Key Words Infertility female/TCM therapy; @ E-cadherin; @ Yishen Zhongzi Pills

研究表明,E-钙黏素在着床期高表达有利于胚胎着床,反之表达缺陷是导致原发性不孕症的原因之一^[1]。但有关中药对 E-钙黏素在着床环节影响的研究较少。本研究采用临床有效的院内制剂益肾种子丸,利用免疫组织化学技术,检测不明原因不孕症患者服用中药益肾种子丸治疗前后黄体中期子宫内膜 E-钙黏素表达的变化,旨在探讨该制剂治疗不明原因不孕症的分子机制,为临床更有效地治疗不孕症提供依据。

1 临床资料

1.1 一般资料:选取开封市医学科学研究所生殖中心 2003 年 4 月~2004 年 12 月就诊的不明原因不孕症患者 45 例,不孕年限 4~8 年,年龄 25~38 岁。45 例患者按就诊顺序以 2:1 比例随机分为研究组 30 例、对照组 15 例,另外选取正常生育妇女 17 例设为正常组。

1.2 诊断及纳入标准:月经周期规则,基础体温呈双相型,阴道 B 超连续监测有正常排卵,子宫输卵管造影示双侧输卵管通畅,生殖内分泌六项(卵泡刺激素、黄体生成素、催乳素、睾酮、孕酮、雌二醇)基础值正常,男方精液检查正常,夫妇抗精子抗体阴性。符合以上标准且 3 个月未用过激素治疗者纳入。

2 治疗及观察方法

2.1 治疗方法:研究组患者在月经第 3 天开始口服益肾种子丸,每次 6g,每日 3 次,3 个月为 1 个疗程;对照组不用药物,采用阴道 B 超、宫颈黏液、尿黄体生成素动态监测排卵,指导同房。益肾种子丸组成:党参 15g,白术 10g,当归 15g,白芍 15g,郁金 12g,丹参 15g,川续断 10g,杜仲 10g,菟丝子 10g,淫羊藿 10g,熟地黄 15g,山茱萸 10g,川芎 10g,炙甘草 6g。原药材经拣、筛、洗、切、干燥后混匀,粉碎过 6 号筛,制成颗粒。该制剂由开封市医学科学研究所制剂室生产(豫药制字 204020157),规格 60g/瓶,成品质量标准按《中国药典》2005 年版一部《制剂通则》水丸剂标准执行。

1 河南省开封市医学科学研究所生殖中心,开封市丁角街 1 号

(475000) (C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 河南省医药学校

收稿日期:2006-08-16;修回日期:2006-10-01

2.2 观察指标及方法:在黄体中期(即卵泡直径 $\geq 18\text{mm}$,羊齿状结晶 I 型,尿黄体生成素阳性后 6~10 日)内,用小号刮匙在子宫前后壁各取内膜少许,立即投入 10% 缓冲福尔马林中固定 6~24 小时,常规石蜡包埋,4℃ 冰箱保存待用。采用免疫组化(SABC)法检测 3 组及治疗后研究组 E-钙黏素的表达。所用免疫组化试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供,按标准程序操作,每份标本均做两张切片,一张用苏木素复染用于照片,另一张不复染细胞核,用于阳性染色颗粒定量分析。在高倍显微镜下观察细胞着色情况,以细胞浆内出现棕黄色颗粒沉着为阳性,测定每张片子的阳性单位(PU)值^[2]。

2.3 统计学方法:计量资料以平均数 $\pm$ 标准差表示。治疗前 PU 值比较采用独立样本 t 检验,研究组治疗前后比较采用配对样本 t 检验。妊娠情况以构成比描述,率的比较用 χ^2 检验。

3 治疗结果

3.1 两组患者与正常组黄体中期子宫内膜 E-钙黏素的表达比较:附表示,两组患者与正常组比较 E-钙黏素表达差异均有显著性意义($P < 0.01$),提示不明原因不孕症患者黄体中期 E-钙黏素的水平明显低于正常育龄妇女。而研究组与对照组比较 E-钙黏素表达差异无显著性意义($P > 0.05$)。研究组治疗后黄体中期 E-钙黏素的表达较治疗前明显上升($P < 0.01$)。

附表 各组黄体中期子宫内膜 E-钙黏素表达比较(PU 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后
研究组	30	13.69 $\pm$ 4.15 *	21.16 $\pm$ 3.91 Δ
对照组	15	14.20 $\pm$ 5.76 *	—
正常组	17	21.98 $\pm$ 4.26	—

* 与正常组比较, $P < 0.01$; Δ 与本组治疗前比较, $P < 0.01$

3.2 研究组与对照组妊娠情况比较:治疗后半年内随访妊娠情况,研究组妊娠 10 例,妊娠率 33.33%;对照组妊娠 1 例,妊娠率 6.67%,研究组较对照组妊娠率提高($P < 0.05$)。

4 讨论

随着研究的深入和助孕技术的开展,不孕症的诊治水平不断提高,但仍有 15%~20% 的不孕症患者最终找不到确切的病因,被称为不明原因不孕症。作为治疗不孕症最终手段的体外受精-胚胎移植成功率也只有 12%~35%^[3]。另外,临床应用高敏感度的 βHCG 测定发现,不少在月经前已阳性而发生流产,称为隐性流产^[4]。这些现象使人们对“着床”环节及“着床缺陷”越来越关注。着床是一个极复杂的免疫调控过程,需多

种因素参与,其中 E-钙黏素是重要的调节因子。E-钙黏素是能介导细胞黏附的细胞受体家族成员之一,主要表达在上皮细胞^[5]。研究表明^[6],子宫内膜腺上皮细胞表达的 E-钙黏素到分泌中期达到高峰,提示 E-钙黏素参与子宫内膜植入窗的开放,其表达的增加有利于胚泡的黏附与植入。王少为等^[1]发现,原发不孕患者黄体中期 E-钙黏素表达明显缺陷,推断 E-钙黏素在子宫内膜表达缺陷使子宫内膜容受性下降,是导致不孕症的原因之一。本研究结果显示,正常组腺上皮细胞黄体中期 E-钙黏素强阳性表达,不孕组弱表达,与王少为等^[1]的研究一致,提示不明原因不孕可能与 E-钙黏素减少和分泌时相异常,导致分泌中期子宫内膜微环境改变,从而影响胚泡黏附与着床有关。

益肾种子丸中党参大补元气,白术健脾益气,补后天实先天;菟丝子补肝肾益精髓,为滋阴通络上品,阴中有阳,守而能走;川续断、杜仲补肝肾壮腰固冲任;淫羊藿温肾助阳,暖宫助孕;熟地黄、山茱萸滋肾益精;郁金疏肝理气解郁;丹参活血祛瘀;川芎行气活血,全方共奏健脾补肾、疏肝、调气血、固冲任之功。已证实中药在受精、胚胎发育、分化、免疫调节等过程中发挥作用^[7];现代药理研究证明,补肾健脾中药对内分泌有调节作用。如川续断、杜仲、菟丝子能促进孕激素分泌,使孕激素受体增加,促进黄体功能^[8]。另外,杜仲、丹参、白术、菟丝子均具有双向调节免疫功能的作用^[9]。说明中药对黄体功能、内膜反应性的协作提供了动力,对改善局部微环境,促进着床具有很好作用。本研究结果显示,益肾种子丸治疗后黄体中期子宫内膜 E-钙黏素的表达较治疗前明显增高,研究组较对照组妊娠率升高。

参考文献

- 王少为,王莉敏,李荷莲,等.原发不孕患者黄体中期子宫内膜 E-钙黏素的表达.中国实用妇科与产科杂志,2002,18(11):677~678.
- 申洪.免疫组织化学染色定量方法研究(III).中国组织化学与细胞化学杂志,1995,(1):89~91.
- 栾少红,孙宝治.子宫内膜种植窗的研究进展.青岛医药卫生,2002,34(3):184.
- 葛秦生.临床生殖内分泌学.北京:科学技术文献出版社,2001:584.
- Fujimoto J, Sakaguchi H, Hirose R, et al. Significance of sex steroids in roles of cadherin subfamily and its related proteins in the uterine endometrium and placenta. Horm Res, 1998, 50(Suppl 2):30~36.
- 刘芸,陈士岭,邢福祺.上皮钙黏附因子在子宫内膜的表达及其与不孕的关系.中华妇产科杂志,2001,36(4):245~246.
- 葛红颖,陈利国.中药调节细胞黏附分子表达研究概况.中国中西医结合杂志,2004,24(5):477~478.
- 李小球,罗颂平.补肾健脾中药对妊娠大鼠孕激素及其受体的影响.广州中医药大学学报,1998,15(3):208~209.
- 康晓玲,刘玲会,段中琪,等.中西医结合治疗习惯性流产 50 例.现代中医药,2005,1(1):13.