

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2021.21.013

实验研究

减味寿胎丸对流产模型大鼠子宫蜕膜脂质过氧化及铁死亡蛋白表达的影响



赖裕玲¹, 张莹轩¹, 曾丽华¹, 邓高丕², 罗颂平², 郜洁²✉

1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东省广州市白云区机场路12号, 510545; 2. 广州中医药大学第一附属医院

[摘要] **目的** 探讨减味寿胎丸治疗流产的潜在分子机制。**方法** SD雌性及雄性大鼠各48只, 按雌、雄1:1合笼持续配种2周, 以观察到阴道栓作为妊娠第0天, 共获得妊娠大鼠40只, 随机分为正常组、模型组、地屈孕酮组、减味寿胎丸组, 每组10只。自妊娠第0天开始, 正常组和模型组雌鼠予10 ml/(kg·d)纯水灌胃, 减味寿胎丸组予减味寿胎丸药液1.8 g/(kg·d)灌胃, 地屈孕酮组予地屈孕酮片5.4 mg/(kg·d)灌胃, 每日1次, 连续13天。在妊娠第13天上午, 模型组、地屈孕酮和减味寿胎丸组予浓度为1.2 mg/ml米非司酮药液10 ml/kg灌胃建立流产大鼠模型。妊娠第14天取材, HE染色观察各组大鼠子宫蜕膜组织的病理形态改变, 检测蜕膜组织脂质过氧化相关指标[还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、丙二醛(MDA)]水平及总铁离子[Fe^(II+III)]含量, 普鲁士蓝(Perls)染色检测大鼠蜕膜组织铁离子分布, 免疫组化及Western Blot法检测蜕膜组织铁死亡关键蛋白[谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)、转铁蛋白受体1(TFR1)]蛋白分布及相对表达量。**结果** HE染色结果显示, 正常组大鼠蜕膜组织血管丰富, 蜕膜细胞排列紧密; 模型组大鼠蜕膜组织血管分布少, 胞浆水肿, 部分细胞核消失; 地屈孕酮组及减味寿胎丸组大鼠蜕膜组织病理较模型组明显改善。模型组大鼠较正常组蜕膜组织中GSH、GPX水平及GPX4、SLC7A11蛋白表达降低, Fe^(II+III)含量、MDA水平及TFR1蛋白表达升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较, 减味寿胎丸组大鼠蜕膜组织中GSH、GPX水平及GPX4、SLC7A11蛋白表达升高, MDA水平、Fe^(II+III)含量、TFR1蛋白表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 地屈孕酮组GPX水平升高, Fe^(II+III)含量降低($P<0.01$)。地屈孕酮组与减味寿胎丸组各指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 减味寿胎丸可减轻流产大鼠脂质过氧化及过度铁累积, 抑制子宫蜕膜组织铁死亡, 从而防止流产的发生。

[关键词] 流产; 减味寿胎丸; 子宫; 蜕膜组织; 铁死亡; 脂质过氧化

流产指妊娠未达28周, 胎儿体重不足1 kg而终止妊娠, 是困扰全球的生殖难题^[1]。流产病因尚未明确, 且迄今尚无确切有效的方法预防流产的发生与复发。研究显示, 铁死亡与病理妊娠有关, 可破坏母胎界面平衡, 引起早产^[2]、子痫前期^[3]、妊娠期糖尿病^[4]等不良妊娠并发症。铁死亡以谷胱甘肽依赖的抗氧化机制失败, 导致铁依赖的自由基生成和脂质过氧化过度累积为特征^[5]。本课题组采

用的减味寿胎丸由张锡纯“寿胎丸”化裁而来, 前期研究结果显示, 减味寿胎丸可以降低小鼠流产率, 具有安胎作用^[6-7]。本实验拟观察铁死亡对流产大鼠模型的影响以及减味寿胎丸的干预作用, 探讨减味寿胎丸治疗流产的潜在分子机制。本研究获得广州中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准(批准号: B202007-9)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级SD雌性及雄性大鼠各48只, 7~8周龄, 体质量200~250 g, 购自广东省医学实验动物中心, 实验动物生产许可证号: SYXK(粤)2018-0002。

基金项目: 国家自然科学基金(81774358); 广东省重点领域研发计划(2020B1111100003); 霍英东教育基金会第十五届高等院校青年教师基金基础性研究课题(151042); 广州中医药大学学科研究重点项目及特色培育项目(XK2019016)

✉ 通讯作者: gaojie1769@gzucm.edu.cn

饲养湿度 40%~70%，温度 26℃，昼夜 12 h/12 h 间断照明。

1.2 药物

减味寿胎丸组成：菟丝子（广东天诚中药饮片有限公司，批号：150701），桑寄生（广东天诚中药饮片有限公司，批号：160601），续断（康美药业股份有限公司，批号：140705511）。以上药物按照 2 : 1 : 1 比例混合，加水煎煮 2 次，趁热过滤，合并 2 次滤液，制备成冻干粉，储存于 4℃ 备用。地屈孕酮片（10mg/片，Abbott Healthcare Products B. V 公司，批号：H20140110）。

1.3 主要试剂及仪器

一抗：谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4，批号：ab125066）、溶质载体家族 7 成员 11（SLC7A11，批号：ab175186），Abcam 公司；转铁蛋白受体 1（TFR1，批号：10084-2-AP）、GAPDH（批号：10491-1-AP）、山羊抗兔 IgG（批号：SA00001-2），Proteintech 公司；ECL 化学发光试剂盒（Tanon 公司，批号：180-5001）；DAB 显色剂（批号：ZLI-9017）、兔二步法检测试剂盒（批号：PV6001），中杉金桥生物技术有限公司；3% 过氧化氢（赣珊瑚公司，批号：20200603）；普鲁士蓝（Perls）染色试剂盒（BestBio 公司，批号：44371）；还原型谷胱甘肽（GSH）试剂盒（批号：S0052）、谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）试剂盒（批号：S0056）、丙二醛（MDA）试剂盒（批号：S0131S）、RIPA 裂解液（批号：P0013B）、BCA 蛋白浓度测定试剂盒（批号：P0010），碧云天生物技术有限公司；总铁离子 $[\text{Fe}^{(II+III)}]$ 含量检测试剂盒（批号：BC4355）、4% 多聚甲醛（批号：P1110）、HE 染色试剂盒（批号：G1120）、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（批号：P1015），Solarbio 公司。

全自动组织脱水机（型号：KD-TR）、组织包埋机（型号：KD-BM3）、石蜡切片机（型号：KD-2258），科迪仪器设备有限公司；酶标仪（型号：Multiskan FC）、低温离心机（型号：legend micro 17R），Thermofisher 公司；倒置显微镜（Olympus 公司，型号：IX71）；多功能成像系统（Bio-Rad 公司，型号：ChemiDocTMMP）。

1.4 动物分组及干预方法

将大鼠适应性喂养 3 天，按雌：雄 1 : 1 合笼配种 12 h。雌鼠于次日早晨观察阴道栓，以观察到阴道栓作为妊娠第 0 天，连续配种 5 天，休息 2 天后，

继续第二次配种，持续配种 2 周。见阴道栓即为孕鼠，共获得妊娠大鼠 40 只，应用随机数字表分为正常组、模型组、地屈孕酮组、减味寿胎丸组，每组 10 只。自妊娠第 0 天开始，正常组和模型组雌鼠予 10 ml/(kg·d) 纯水灌胃，减味寿胎丸组予减味寿胎丸冻干粉 1.8 g/(kg·d) 灌胃（灌胃浓度为 180 mg/ml），地屈孕酮组予地屈孕酮片 5.4 mg/(kg·d) 灌胃（灌胃浓度为 0.54 mg/ml），每日 1 次，连续 13 天。在妊娠第 13 天上午，模型组、地屈孕酮和减味寿胎丸组予浓度为 1.2 mg/ml 米非司酮药液 10 ml/kg 灌胃建立流产大鼠模型^[8]。以观察到孕鼠宫腔内有明显瘀血或坏死胚胎；或仅见胚胎着床点，未见胚胎；或胚胎呈黑褐色；或曾有阴道出血作为模型建立成功的标准^[8]。正常组给予等体积生理盐水灌胃。

1.5 观察指标及方法

考虑到人类的医学流产在妊娠的前 10 周进行，因此本研究妊娠终止在大鼠妊娠期的中期即第 12~14 天（相当于人类妊娠胚胎发育的第 28~40 天）^[9]。妊娠第 14 天，即灌胃米非司酮 24 h 后，快速取出子宫，刮取着床部位的蜕膜组织，每只大鼠取一部分蜕膜组织置于 4% 多聚甲醛固定，用于病理、铁离子、免疫组化检测；一部分蜕膜组织于 -80℃ 保存，用于铁死亡相关指标、蛋白表达检测。由于部分大鼠蜕膜匀浆用于铁死亡指标检测时含量低，无法检测，故最后每组用 8 只检测；部分大鼠蜕膜质量较少，样本在多次重复检测过程中有降解，最后每组选取 6 只大鼠蜕膜组织用于 Western Blot 法检测。

1.5.1 HE 染色检测蜕膜组织病理形态学改变 组织包埋，制成 4 μm 的石蜡切片，切片常规脱蜡至水。苏木素染色 10 min，自来水冲洗，1% 盐酸酒精分化，伊红浸染 3 min，梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片并覆盖玻片，风干后显微镜下观察并拍照。

1.5.2 蜕膜组织 GSH、GPX、MDA 水平及 $\text{Fe}^{(II+III)}$ 含量检测 取冻存的蜕膜组织 100 mg，加入裂解液，匀浆离心取上清，BCA 测蛋白浓度，按照各试剂盒说明书的操作方法分别检测 GSH、GPX、MDA 及 $\text{Fe}^{(II+III)}$ 含量。

1.5.3 Perls 染色检测大鼠蜕膜组织铁离子分布情况 石蜡切片常规脱蜡至水。Perls 试剂 A 染色 40 min，蒸馏水充分冲洗，核固红试剂淡染胞核 5 min，水

冲洗。常规脱水透明，中性树胶封片，倒置显微镜拍照。

1.5.4 免疫组化检测蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白分布情况 石蜡切片常规脱蜡至水，PBS 洗 3 次，EDTA 钠微波热修复，PBS 洗 3 次，3% 过氧化氢进行酶修复。PBS 洗 3 次，滴加一抗，4℃ 过夜。次日观察一抗在位情况，PBS 洗 3 次，孵育二抗，37℃，20 min。PBS 洗 3 次，滴加 DAB 显色液，自来水冲洗终止显色，苏木素染色 3 min，1% 盐酸酒精分化，常规脱水透明，封片，倒置显微镜拍照。

1.5.5 Western Blot 法检测蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白表达 取 100 mg 冻存的蜕膜组织，加入蛋白裂解液，匀浆离心取上清液，BCA 法测定上清液蛋白质浓度。加入上样缓冲液，SDS-PAGE 电泳，转膜，5% 脱脂奶粉封闭 2 h。加入一抗 4℃ 摇床孵育过夜。1×TBST 洗涤 3 次，加入二抗，室温封闭 1 h。1×TBST 洗涤 5 次，ECL 化学发光试剂盒显色，Bio-Rad 多功能成像仪曝光条带，ImageJ 软件进行蛋白条带灰度值分析。

1.6 统计学方法

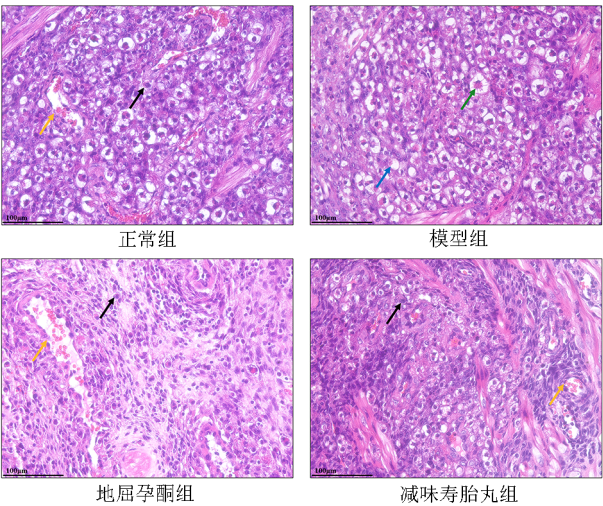
采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布，以均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多样本比较采用单因素方差分析，组间多重比较方差齐时采用 LSD 检验，方差不齐时采用 Kruskal-Wallis 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 Graphprism 8.0 软件作图。

2 结果

2.1 各组大鼠子宫蜕膜组织病理形态学结果

正常组大鼠蜕膜组织血管丰富，管壁完整，蜕膜细胞排列紧密，胞质丰富，着粉红色，细胞核呈卵圆形，核仁大而明显，呈蓝紫色。模型组大鼠蜕膜组织血管分布少，胞浆水肿，部分细胞核消失。地屈孕酮组大鼠蜕膜组织血管分布较丰富，管壁完

整，少数部分蜕膜细胞胞浆水肿。减味寿胎丸组大鼠蜕膜组织血管丰富，管壁完整，蜕膜细胞排列整齐有序，细胞核基本无坏死。各组大鼠子宫蜕膜组织 HE 染色病理图片见图 1，请扫本文二维码获取彩图。



注：黑色箭头：正常蜕膜细胞，卵圆形细胞核，核仁大而明显；黄色箭头：血管，内含大量红细胞；绿色箭头：蜕膜细胞胞浆水肿；蓝色箭头：细胞核消失。

图1 各组大鼠子宫蜕膜组织 HE 染色结果 (×400)

2.2 各组大鼠子宫蜕膜组织 GSH、GPX、MDA 及 Fe^(II+III) 含量比较

表 1 示，模型组大鼠较正常组蜕膜组织中 GSH、GPX 水平降低，Fe^(II+III) 含量及 MDA 水平升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较，减味寿胎丸组大鼠蜕膜组织中 GSH、GPX 水平升高，MDA 水平及 Fe^(II+III) 含量降低 ($P < 0.01$)；地屈孕酮组 GPX 水平升高，Fe^(II+III) 含量降低 ($P < 0.01$)。地屈孕酮组与减味寿胎丸组各指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组大鼠子宫蜕膜组织铁离子分布情况

Perls 是经典的组织化学反应，为显示组织内三价铁的一种敏感、传统优良的检测手段，当三价

表1 各组大鼠蜕膜组织 GSH、GPX、MDA 及 Fe^(II+III) 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	GSH	GPX	MDA	Fe ^(II+III)
		/μmol·mg ⁻¹	/mU·mg ⁻¹	/μmol·mg ⁻¹	/μg·mg prot ⁻¹
正常组	8	2.54±0.30 ^{a)}	66.63±8.40 ^{b)}	4.60±0.56 ^{b)}	0.04±0.01 ^{b)}
模型组	8	0.29±0.08	17.39±0.82	10.82±0.84	0.26±0.01
地屈孕酮组	8	1.90±0.04	61.41±11.39 ^{b)}	8.48±0.57	0.17±0.02 ^{b)}
减味寿胎丸组	8	3.39±0.45 ^{b)}	112.11±3.34 ^{b)}	5.82±0.58 ^{b)}	0.15±0.01 ^{b)}

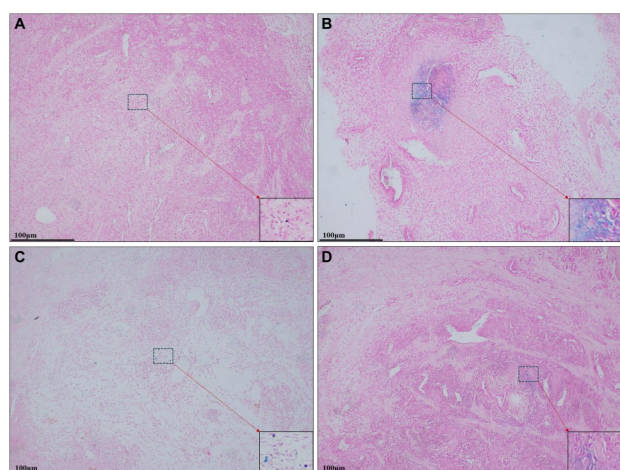
注：GSH，还原型谷胱甘肽；GPX，谷胱甘肽过氧化物酶；MDA，丙二醛；Fe^(II+III)，总铁离子。

a) 与模型组比较， $P < 0.05$ ；b) 与模型组比较， $P < 0.01$ 。

铁与亚铁氰化钾反应时,生成一种不溶解的蓝色化合物。正常组只有少数蓝色铁颗粒沉积;模型组有明显的铁沉积;减味寿胎丸组铁沉积数量少,只可见少数铁质分布;地屈孕酮组铁沉积数量少,与减味寿胎丸组相似。各组大鼠子宫蜕膜组织铁离子分布 Perls 染色图见图 2, 请扫本文二维码获取彩图。

2.4 各组大鼠子宫蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白免疫组化染色情况

免疫组化中 DAB 染色的深浅代表阳性强弱。



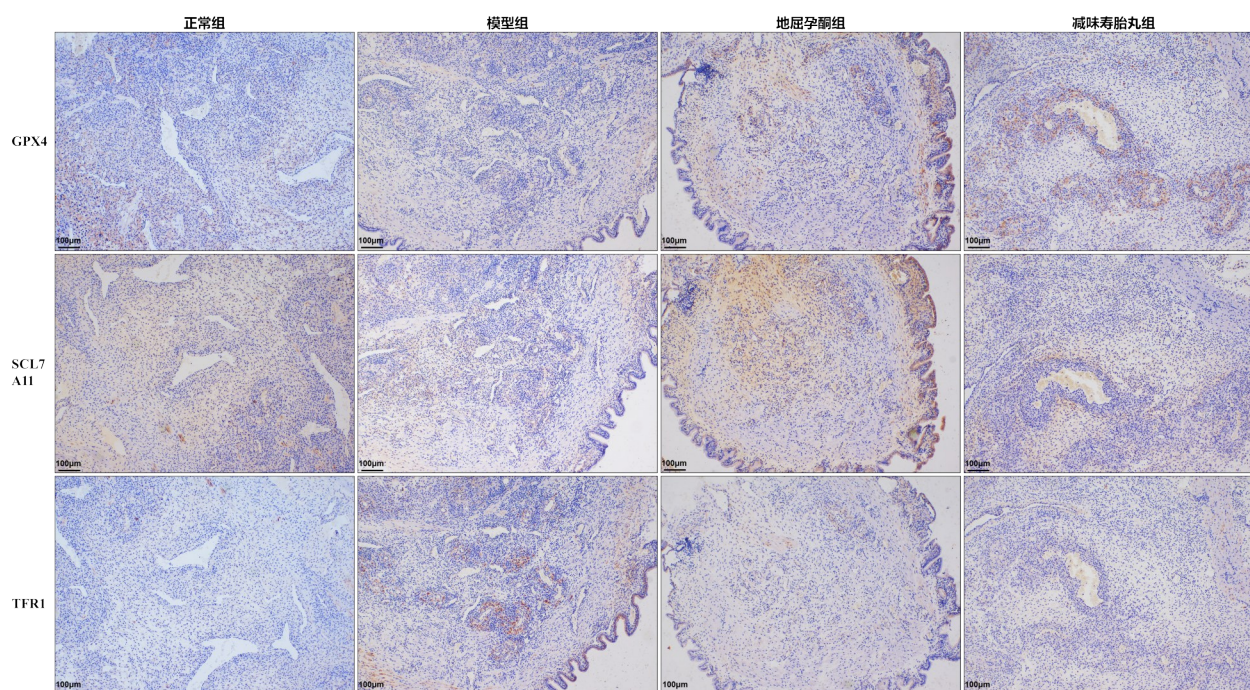
注: A 正常组; B 模型组; C 地屈孕酮组; D 减味寿胎丸组。

图 2 各组大鼠子宫蜕膜组织铁离子分布
Perls 染色结果 (×100)

GPX4 及 SLC7A11 蛋白表达在正常组呈棕黄色,模型组呈浅黄色,地屈孕酮及减味寿胎丸组呈棕褐色;TFR1 蛋白在正常组基本未显色,模型组呈棕褐色,地屈孕酮及减味寿胎丸组呈浅黄色。模型组中 GPX4 及 SLC7A11 的染色明显较正常组、地屈孕酮及减味寿胎丸组浅,提示模型组中谷胱甘肽生成和合成均减少,而给予地屈孕酮或减味寿胎丸后能逆转这个现象。模型组中 TFR1 的染色较正常组、地屈孕酮及减味寿胎丸组明显加深,表明转运至细胞内的铁离子增多,这与 Perls 染色趋势相同。各组大鼠子宫蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白免疫组化染色图见图 3, 请扫本文二维码获取彩图。

2.5 各组大鼠子宫蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白相对表达量比较

表 2 示,模型组大鼠较正常组蜕膜组织中 GPX4、SLC7A11 蛋白表达降低,TFR1 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。与模型组比较,减味寿胎丸组 GPX4、SLC7A11 蛋白表达升高,TFR1 蛋白表达降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);地屈孕酮组各指标差异无统计学意义 ($P>0.05$)。地屈孕酮组与减味寿胎丸组各指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。各组大鼠子宫蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白电泳图见图 4。



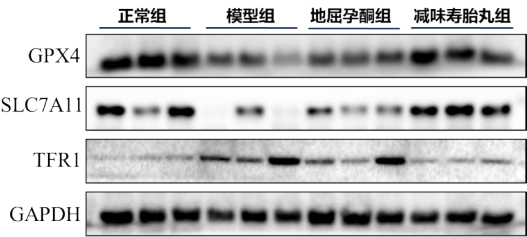
注: GPX4, 谷胱甘肽过氧化物酶 4; SLC7A11, 溶质载体家族 7 成员 11; TFR1, 转铁蛋白受体 1。

图 3 各组大鼠子宫蜕膜组织 GPX4、SLC7A11、TFR1 蛋白免疫组化染色结果 (×100)

表2 各组大鼠蜕膜组织GPX4、SLC7A11、TFR1蛋白相对表达量比较 (x̄±s)

组别	鼠数	GPX4	SLC7A11	TFR1
正常组	6	1.80±0.08 ^{a)}	0.37±0.09 ^{a)}	0.26±0.57 ^{a)}
模型组	6	1.28±0.19	0.11±0.09	0.63±0.87
地屈孕酮组	6	1.53±0.08	0.21±0.03	0.51±0.14
减味寿胎丸组	6	1.78±0.07 ^{a)}	0.49±0.02 ^{b)}	0.28±0.04 ^{a)}

注：GPX4，谷胱甘肽过氧化物酶4；SLC7A11，溶质载体家族7成员11；TFR1，转铁蛋白受体1。
a) 与模型组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ 。



注：GPX4，谷胱甘肽过氧化物酶4；SLC7A11，溶质载体家族7成员11；TFR1，转铁蛋白受体1

图4 各组大鼠子宫蜕膜组织GPX、SLC7A11、TFR1蛋白电泳图

3 讨论

流产属于妊娠常见病，育龄期女性发生一次流产的风险约为10%^[10]。中医学认为，流产属于“堕胎”“小产”范畴，以肾虚冲任损伤、胎元不固为基本病机，故治疗多以固冲安胎、补肾健脾之法。寿胎丸由菟丝子、桑寄生、续断、阿胶组成，为补肾安胎基础方。我们研究团队从“肾气-天癸-冲任-胞宫轴”学说出发，进行了系列补肾与健脾复方防治流产的作用研究，采用均匀设计对寿胎丸进行配伍规律研究并验证得出优选方，该方由菟丝子、桑寄生、续断组成^[11]。

Ng等^[3]对人胎盘单细胞测序结果进行分析，发现铁死亡相关基因在绒毛滋养细胞、合体滋养细胞、蜕膜细胞中高表达，提示母胎界面上不同细胞谱系对细胞内铁调节非常敏感。另一项研究^[12]显示，自发性早产与铁死亡有关，并且磷脂酶A2组VI（PLA2G6）可减轻由GPX4抑制或体内缺氧/复氧损伤诱导的人原代绒毛滋养细胞及小鼠妊娠期间的铁死亡。Zhang等^[13]在多囊卵巢综合征（PCOS）大鼠模型中发现，母体的高雄激素血症和胰岛素抵抗可激活妊娠子宫和胎盘发生铁死亡，进而导致流产的发生。上述研究提示胎盘损伤、妊娠丢失与铁死亡有关。流产过程中活性氧自由基（ROS）的过度生成可诱导母胎界面脂质过氧化，而脂质过氧化

所需的铁元素在滋养细胞中表达丰富，这可能为流产过程中铁死亡的发生提供基础条件。米非司酮是一种合成类固醇，是医学人工流产的常用药物^[14]，故本研究用米非司酮诱导大鼠流产模型。

铁死亡受到铁代谢、GSH及GPX4脂质修复系统的严密调控，且依赖于一系列酶活性反应^[15]。GPX4是目前所知的唯一能直接还原复杂的磷脂氢过氧化物的酶，当GPX4不能正常工作时，磷脂氢过氧化物能够在铁过度存在的情况下引发催化反应，最终导致铁死亡^[16]。SLC7A11为胱氨酸/谷氨酸逆向转运系统的主要亚基成分，通过引入胱氨酸和促进GSH的生物合成，防止脂质氧化产物的积累，保护细胞不进入铁死亡程序^[17]。细胞水平的铁摄取主要是通过细胞膜上的TFR1与血浆中的转铁蛋白结合，经过内吞的方式进入细胞^[18]。本研究中，HE染色结果表明，地屈孕酮和减味寿胎丸组均可减轻米非司酮诱导的大鼠蜕膜细胞损伤；模型组相较于正常组大鼠蜕膜组织中GSH、GPX含量降低，而Fe^(II+III)及MDA水平升高，且给予减味寿胎丸后上述指标均得到逆转，提示流产大鼠发生脂质过氧化，而给予减味寿胎丸可以抑制脂质过氧化进展。

本研究结果表明，与正常组相比，模型组大鼠蜕膜组织中GPX4、SLC7A11蛋白表达显著降低，提示GPX4、SLC7A11的抑制可能是流产大鼠蜕膜脂质过氧化发生的关键因素。模型组中TFR1的表达明显高于正常组，表明转运至细胞的铁蛋白更多，提示蜕膜组织中铁摄取功能失调是铁蛋白沉积的关键。上述结果提示流产大鼠蜕膜组织损伤过程中发生铁死亡，抑制铁死亡可能为治疗流产的新思路。给予减味寿胎丸干预后，GPX4、SLC7A11的表达较模型组高，TFR1表达较模型组降低，且铁质染色减少，说明减味寿胎丸可以促进流产大鼠蜕膜组织中谷胱甘肽生成，减轻脂质过氧化，并且可以减少铁沉积，从而抑制蜕膜组织铁死亡。此外，在给予地屈孕酮后，GPX4、SLC7A11蛋白表达与模型组相比差异无统计学意义，我们认为这与地屈孕酮治疗流产的药理作用有关。地屈孕酮作为口服孕激素，主要通过抑制子宫收缩、促进淋巴细胞生成黄体酮诱导阻断因子或抑制母胎界面自然杀伤（NK）细胞活性来降低母体对胚胎的排斥作用，从而降低流产发生率^[19]，但其本身对脂质过氧化状态无影响^[20]。

综上，减味寿胎丸治疗大鼠流产的机制可能与

抑制蜕膜组织脂质过氧化,进而缓解铁死亡有关。目前铁死亡的研究处于起步阶段,对铁死亡标志物及相关通路的认识仍不明朗,将来我们会进一步通过体内外研究探索铁死亡在流产发生发展过程的分子机制以及减味寿胎丸对铁死亡的调控作用。

参考文献

- [1] LARSEN EC, CHRISTIANSEN OB, KOLTE AM, et al. New insights into mechanisms behind miscarriage [J]. BMC Med, 2013, 11: 154. doi: 10.1186/1741-7015-11-154.
- [2] BAI RX, TANG ZY. Long non-coding RNA H19 regulates Bcl-2, Bax and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in spontaneous abortion [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(1): 41.
- [3] NG SW, NORWITZ SG, NORWITZ ER. The impact of iron overload and ferroptosis on reproductive disorders in humans: implications for preeclampsia [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3283.
- [4] HAN D, JIANG L, GU X, et al. SIRT3 deficiency is resistant to autophagy-dependent ferroptosis by inhibiting the AMPK/mTOR pathway and promoting GPX4 levels [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(11): 8839-8851.
- [5] DIXON SJ, LEMBERG KM, LAMPRECHT MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [6] 周月希, 余庆英, 罗颂平, 等. 减味寿胎丸对自然流产模型小鼠子宫蜕膜组织中 FOXO3 及 PR 蛋白表达的影响 [J]. 中医杂志, 2021, 62(4): 335-340.
- [7] 郝晓丽, 王冬盈, 郜洁, 等. 寿胎丸减味方对肾虚自然流产模型小鼠 IL-17 的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(2): 292-295.
- [8] TELLERIA CM, DEIS RP. Reproductive function in rats after mifepristone-induced termination of pregnancy [J]. Contraception, 1996, 53(3): 185-190.
- [9] CAMILLERI C, BEITER RM, PUENTES L, et al. Biological, behavioral and physiological consequences of drug-induced pregnancy termination at first-trimester human equivalent in an animal model [J]. Front Neurosci, 2019, 13: 544. doi: 10.3389/fnins.2019.00544.
- [10] RAI R, REGAN L. Recurrent miscarriage [J]. Lancet, 2006, 368(9535): 601-611.
- [11] 冯婷. 减味寿胎丸补肾安胎有效部位对 RU486 诱导滋养细胞损伤模型的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [12] BEHARIER O, TYURIN VA, GOFF JP, et al. PLA2G6 guards placental trophoblasts against ferroptotic injury [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(44): 27319-27328.
- [13] ZHANG Y, HU M, JIA W, et al. Hyperandrogenism and insulin resistance modulate gravid uterine and placental ferroptosis in PCOS-like rats [J]. J Endocrinol, 2020, 246(3): 247-263.
- [14] HCINI N, JOLIVET A, POMAR L, et al. Cervical maturation using mifepristone in women with normal pregnancies at or beyond term [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2020, 248: 58-62. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.03.020.
- [15] STOCKWELL BR, FRIEDMANN ANGELI JP, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. Cell, 2017, 171(2): 273-285.
- [16] FRIEDMANN AJ, KRYSKO DV, CONRAD M. Ferroptosis at the crossroads of cancer-acquired drug resistance and immune evasion [J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(7): 405-414.
- [17] KOPPULA P, ZHANG Y, ZHUANG L, et al. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer [J]. Cancer Commun (Lond), 2018, 38(1): 12.
- [18] BROWN R, RICHARDSON KL, KABIR TD, et al. Altered iron metabolism and impact in cancer biology, metastasis, and immunology [J]. Front Oncol, 2020, 10: 476. doi: 10.3389/fonc.2020.00476.
- [19] GRUBER CJ, HUBER JC. The role of dydrogesterone in recurrent (habitual) abortion [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2005, 97(5): 426-430.
- [20] BUREAU I, LAPORTE F, FAVIER M, et al. No antioxidant effect of combined HRT on LDL oxidizability and oxidative stress biomarkers in treated post-menopausal women [J]. J Am Coll Nutr, 2002, 21(4): 333-338.

(下转第 1929 页)