复方丹参注射液对人羊膜上皮细胞水通道蛋白 3 表达的影响

张译文　马小燕　丁盛娣　谢爱兰　朱雪琼

摘要　目的　研究复方丹参注射液对人羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)水通道蛋白 3(aquaporin 3,AQP3)表达的影响,探讨复方丹参注射液治疗羊水量过少的机制。**方法**　选取无并发症的 8 例羊水过少和 8 名羊水量正常的足月产妇的 hAECs 进行原代培养,采用 RT-PCR 和免疫印迹 Western blot 技术,检测复方丹参注射液不同浓度(0.000、0.001、0.010、0.020、0.060、0.100 mg/mL)、不同作用时间(0、6、12、24、48 h)作用前后,两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白的表达。**结果**　(1)羊水过少组 hAECs 中 AQP3 的表达较羊水正常组下调($P<0.05$)。(2)复方丹参注射液浓度为 0.010 mg/mL 时,两组 hAECs 中 AQP3 的表达均达到峰值,与其他浓度作用结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。(3)0.010 mg/mL浓度的复方丹参注射液作用 12 h,两组 hAECs 中 AQP3 的表达均达到峰值,与其他作用时间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。(4)0.010 mg/mL 浓度的复方丹参注射液作用 12 h 后,两组 hAECs 中 AQP3 的表达均上调,但羊水过少组中 AQP3 的表达上调较羊水正常组明显($P<0.05$)。**结论**　复方丹参注射液可调节 hAECs 中 AQP3 的表达,羊水过少时复方丹参注射液对 hAECs 中 AQP3 表达的调节作用更加明显。

关键词　水通道蛋白 3;羊水过少;人羊膜上皮细胞;复方丹参注射液

Effects of Compound Salvia miltiorrhiza Injection on Aquaporin 3 Expression in Human Amniotic Epithelial Cells

ZHANG Yi-wen, MA Xiao-yan, DING Sheng-di, XIE Ai-lan, and ZHU Xue-qiong
Department of Obstetrics and Gynecology, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou (325027), China

ABSTRACT　Objective　To study the effects of Compound Salvia miltiorrhiza Injection (CSI) on aquaporin 3 (AQP3) expression in human amniotic epithelial cells (hAECs), and to explore its mechanisms for treating oligohydramnios. Methods　The hAECs selected from 8 human term pregnancies with oligohydramnios and no other complications (as the test group) and 8 human term pregnancies with normal amniotic fluid volume (as the control group) were primarily cultured. The mRNA and protein expressions of AQP3 in hAECs were detected using reverse transcription-polymerase chain reaction and Western blot with various concentrations of CSI (0.000, 0.001, 0.010, 0.020, 0.060, and 0.100 mg/mL, respectively) at different time points (0, 6, 12, 24, and 48 h, respectively). Results　(1) Compared with the control group, the AQP3 expression was down-regulated in the test group ($P<0.05$). (2) The AQP3 expression in the two groups reached the peak when the concentration of CSI was 0.010 mg/mL, showing statistical difference when compared with other concentrations ($P<0.05$). (3) The AQP3 expression reached the peak when 0.010 mg/mL CSI acted for 12 h, showing statistical difference when compared with other concentrations ($P<0.05$). (4) The AQP3 expression was up-regulated in the two groups when 0.010 mg/mL CSI acted for 12 h. But the up-regulated AQP3 expression was more obvious in the test group than in the control group ($P<0.05$). Conclusions　CSI could regulate the AQP3 expression in hAECs. CSI showed more obvious effects on the AQP3 expression in hAECs of oligohydramnios human term pregnancies.

KEYWORDS　aquaporin 3; oligohydramnios; human amniotic epithelial cell; Compound Salvia miltiorrhiza Injection

基金项目:浙江省中医药管理局重点项目(No.2010ZZ009);温州市对外合作交流科技计划项目(No.H20100067)
作者单位:浙江省温州医学院附属第二医院妇产科(浙江温州 325027)
通讯作者:朱雪琼,Tel:0577-88002560, E-mail:zjwzzxq@163.com

羊水过少是一种常见的妊娠并发症,发病率为 8% ~38%,使围产儿发病率和死亡率明显升高[1]。研究表明水通道蛋白 3(aquaporin 3,AQP3)在人羊膜和胎盘中有表达[2,3]。无并发症的羊水过少产妇 AQP3 在羊膜、绒毛膜上表达的减少,而在胎盘上的表达增加[3]。认为 AQP3 在羊膜上的表达所发生的变化是一种生理性代偿反应,目的是调节母体和胎儿之间的液体以及溶质的运输,从而维持羊水量的平衡。

在我国,复方丹参注射液常用来治疗羊水过少,是一种无创并且有效的治疗方法[4],但只对部分患者有效,其具体作用机制尚不清楚。有文献报道,在缺血再灌注损伤诱导的急性肾衰小鼠模型中,小鼠肾脏髓质的 AQP2 表达下调,而复方丹参注射液可以使其下调趋势得以恢复[5]。由此推测复方丹参注射液可能是通过调节胎膜 AQPs 的转录、表达而达到治疗羊水过少的目的。

本研究采用 RT-PCR 和免疫印迹 Western blot 技术,分别从 mRNA 和蛋白质水平,检测不同浓度、不同作用时间复方丹参注射液对羊水过少以及羊水正常产妇羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)中 AQP3 的表达变化,探讨其治疗羊水过少的分子机制。

资料与方法

1　诊断标准　参照《妇产科学》第 7 版中羊水过少的诊断标准[6],产前 B 超监测羊水指数(amniotie fluid index, AFI): AFI 8 ~18 cm 为羊水量正常, AFI≤5 cm为羊水过少。剖宫产术时进一步核实羊水量[3],实际羊水总量 300 ~2 000 mL 为羊水正常,实际羊水总量 <300 mL 为羊水过少。

2　纳入及排除标准　(1)纳入标准:年龄 23 ~32 岁,原因不明的羊水过少和羊水量正常而行选择性剖宫产产妇;术中实际羊水总量与术前 AFI 诊断相符;均签署知情同意书。(2)排除标准:有其他妊娠合并症和并发症,如糖尿病、高血压、心血管疾病、过期妊娠、胎儿畸形、胎儿生长受限、胎儿窘迫、胎膜早破、自身免疫疾病等;有催产素引产史;有药物服用史。

3　一般资料　选择 2010 年 11 月—2012 年 3 月温州医学院附属第二医院产科 8 例羊水过少的产妇,平均年龄(28.17 ±2.32)岁,平均体重(71.03 ±4.46)kg,孕周(38.75 ±0.88)周,羊水指数为 3.6 ±0.5。同时选择 8 名羊水量正常的产妇作对照,平均年龄(27.65 ±1.78)岁,平均体重(70.81 ±5.64)kg,孕周(39.26 ±1.32)周。所有产妇均系初产妇、足月单胎。两组年龄、体重和孕周等一般资料比较,差异无统计学意义(P >0.05)。

4　方法

4.1　试剂与药物　兔抗人 AQP3 多克隆抗体(Santa Cruz 公司,美国),鼠抗人细胞角蛋白 18 单克隆抗体(武汉博士德生物技术有限公司),Tubulin 抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(碧云天生物技术有限公司),DMEM、胰酶、EDTA(GIBCO 公司,美国),胎牛血清(杭州四季青生物工程有限公司),逆转录试剂盒(MBI 公司,美国),免疫组化 SP 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),复方丹参注射液(上海新亚药业高邮有限公司,生产批号:101227 -3,规格:每支 2 mL)。

4.2　hAECs 原代培养　剖宫产术时取胎盘组织,将羊膜与绒毛层钝性分离后置于无菌培养皿中,无菌的 PBS 液冲洗 3 次,无血清培养基冲洗 3 次,放入含双抗的无血清培养基中灭菌 20 min,用眼科剪将其剪为 1 mm ×1 mm 碎块放入无菌离心管中,加 0.25%的胰蛋白酶消化液在 37 ℃的孵育箱中消化 60 min,加含 10%胎牛血清的培养基终止消化,用吸管吹打 1 min,用 200 目筛网离心管取细胞悬液,1 000 r/min离心 5 min,弃上清液,沉淀中加入完全培养液制成悬液,使其密度为 2×10^5 个细胞,接种在培养瓶中,置 37 ℃、饱和湿度、5% CO_2 环境下培养,隔天换液 1 次,一般 5 ~7 天以 1∶2 传代 1 次。

4.3　hAECs 传代培养　细胞生长增殖到 80%融合时传代。吸尽培养基,培养瓶中加入 0.25%的胰蛋白酶 ~0.02% EDTA 消化液, 37 ℃消化 3 min。倒置显微镜下见胞质回缩,细胞间隙增大后终止消化,加入含血清的培养基中止消化,吹打,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,在沉淀中加入完全培养基,制成细胞悬液,细胞计数后按 1∶2 比例接种培养,培养条件同上,隔天换液。

4.4　给药方法　待细胞贴壁生长至密度为 80%时,羊水过少组与羊水正常组分别予以浓度为 0.000、0.001、0.010、0.020、0.060、0.100 mg/mL 的复方丹参注射液作用 24 h,0.010 mg/mL 复方丹参注射液孵育 0、6、12、24、48 h。

4.5　抗人角蛋白单克隆抗体免疫细胞化学染色　hAECs 爬片后,用 PBS 漂洗,用 4% 多聚甲醛固定 20 min,PBS 漂洗,0.3% Triton-X100 作用 20 min,室温下 3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶 10 min,PBS 漂洗,加正常羊血清,37 ℃封闭 30 min,将鼠抗

人细胞角蛋白 18 单克隆抗体稀释成 1∶200,4 ℃孵育过夜,PBS 漂洗,滴加生物素标记二抗工作液,37 ℃孵育 30 min,PBS 漂洗,滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,37 ℃孵育 10 min,PBS 漂洗,DAB 显色 1 ~ 2 min,在显微镜下控制染色程度自来水冲洗终止染色,滴加苏木素 3 ~5 min,复染细胞核,自来水冲洗终止染色,淡氨水返蓝 1 min,自来水冲洗,爬片依次浸于 75%、85%、95%、100% 的乙醇、二甲苯脱水。爬片上滴加中性树胶,覆盖载玻片封片。以 PBS 代替一抗作阴性对照。

4.6 hAECs AQP3 mRNA 表达检测 取各组待测细胞消化、离心后,按 Trizol 试剂盒(R0016,碧云天生物技术有限公司)说明书介绍的步骤提取样品总 mRNA,反转录为 cDNA,以此为模板行 PCR 扩增。AQP3 上游引物序列为 5′-AGGATGGCGGTTG-GTCTATG-3′,下游引物序列为 5′-TGGCTTTGCTGT-CACTCTGG-3′,产物长度为 258 bp。β-actin 上游引物序列为 5′-GCTGGGGTGTTGAAGGTCTC-3′,下游引物序列为 5′-ACAGACTCCCCATCCCAAGA-3′,产物长度为 156 bp。PCR 反应条件:94 ℃预变性 3 min,94 ℃变性 30 s,65 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,循环 35 个周期,72 ℃最后延伸 10 min。取 PCR 产物行 3% 琼脂糖凝胶电泳(琼脂糖凝胶电泳仪,A130240,上海复日科技公司)检测,用 Quantity-One 图像分析系统分析并计算 AQP3 与 β-actin 条带吸光度积分的比值,作为 AQP3 mRNA 表达水平。实验重复 3 次。

4.7 hAECs AQP3 蛋白表达检测 细胞生长增殖到 80% 融合时,取生长在 6 cm 培养皿的 hAECs,用预冷的 PBS 漂洗 1 次,加入配好的细胞裂解液 80 μL,用细胞刮刮下细胞,收集细胞置 1.5 mL EP 管中,冰上静置 30 min,充分裂解,4 ℃ 14 000 r/min,离心 20 min,取上清液。96 孔板-BCA 法测定蛋白浓度。将蛋白变性,煮沸 100 ℃,5 min,放 −20 ℃保存。用 10% SDS-PAGE(10 μg/道),将蛋白质电转移至 PVDF 膜上,置于 5% 脱脂奶粉的 TBST 中,室温,封闭 2 h,然后用 TBST 洗膜 10 min,3 次。加入一抗(AQP3,1∶300,Tubulin,1∶1 000),4 ℃摇床,孵育过夜。用 TBST 洗膜 10 min,3 次,边洗边摇。加入二抗,标记 HRP 的二抗均用抗体稀释液以 1∶1 000 稀释加入,室温孵育 1 h,再用 TBST 洗膜 10 min,3 次,边洗边摇。用 ECL 并把膜放入美国 Bio-Rad 公司的图像摄取系统进行曝光,保存图像并分析,计算 AQP3 与 Tubulin 产物吸光度积分的比值,作为 AQP3 蛋白的表达水平。实验重复 3 次。

4.8 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件分析。正态分布资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布资料采用中位数($P_{25} \sim P_{75}$)表示。年龄、孕周和体重等遵循正态分布而且方差齐性,故两组间的比较采用独立样本 *t* 检验。复方丹参注射液不同浓度间以及不同时间作用后 AQP3 mRNA 和 AQP3 蛋白的表达的比较采用非参数检验,多组间的比较采用 *Kruskal-Wallis H* 检验,两两比较采用 *Mann-Whitney U* 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 hAECs 鉴定结果(图 1) 原代培养 24 h 后大部分细胞贴壁,刚贴壁的细胞呈圆形,折光性强,随着细胞质逐渐展开,折光性减弱,细胞融合成片,呈铺路石样生长。细胞呈扁平不规则多角形,轮廓清晰,胞浆丰富,胞核呈圆形、卵圆形。培养细胞的上皮细胞标记物人细胞角蛋白 18 染色阳性,胞浆染成棕黄色,苏木精衬染的胞核呈蓝紫色,证明培养的细胞为上皮细胞。

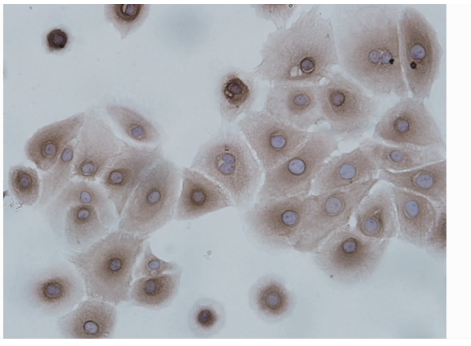


图 1 角蛋白 18 在 hAECs 胞浆中呈阳性表达(免疫细胞化学 SP 法,×400)

2 两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白表达比较(表 1) 与羊水正常组比较,羊水过少组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白的表达均减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白的表达比较 [中位数($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	例数	AQP3 mRNA	AQP3 蛋白
羊水正常	8	1.06(1.00 ~ 1.14)	28.89(28.42 ~ 29.95)
羊水过少	8	0.99(0.89 ~ 1.12)*	11.69(10.00 ~ 12.89)*

注:与羊水正常组比较,*$P < 0.05$

3 复方丹参注射液对两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 表达的影响比较

3.1 不同浓度复方丹参注射液作用 24 h 对两组

hAECs 中 AQP3 mRNA 表达的影响比较(表 2) 0.010 mg/mL的复方丹参注射液使羊水过少组和羊水正常组 hAECs 中的 AQP3 mRNA 表达达到峰值,与其他浓度作用比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2　不同浓度的复方丹参注射液作用后两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 的表达比较　[中位数(P_{25}~P_{75})]

复方丹参注射液浓度(mg/mL)	AQP3 mRNA	
	羊水正常(8 名)	羊水过少(8 例)
0	1.26(1.24~1.28)*	0.85(0.77~0.99)*
0.001	1.29(1.22~1.38)*	1.10(1.05~1.17)*
0.010	1.34(1.22~1.41)	1.70(1.22~1.82)
0.020	0.99(0.92~1.18)*	1.13(0.90~1.30)*
0.060	0.93(0.83~1.07)*	0.91(0.78~1.00)*
0.100	0.88(0.72~1.05)*	0.69(0.55~0.88)*

注:与 0.010 mg/mL 浓度比较,*$P<0.05$

3.2　0.010 mg/mL 复方丹参注射液不同作用时间对两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 表达的影响比较(表 3)　hAECs 在 0.010 mg/mL 复方丹参注射液培养液中分别孵育 6、12、24、48 h,结果显示羊水过少组和羊水正常组 hAECs 中 AQP3 mRNA 表达在 6 h开始增加,在 12 h 达到峰值,与其他作用时间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 3　0.010 mg/mL 复方丹参注射液不同作用时间后两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 表达比较　($\bar{x}\pm s$)

复方丹参注射液作用时间(h)	AQP3 mRNA	
	羊水过少(5 例)	羊水正常(5 名)
0	1.06±0.02*	1.09±0.09*
6	1.12±0.05*	1.24±0.04*
12	1.33±0.03	1.39±0.08
24	1.17±0.03*	0.94±0.06*
48	0.90±0.04*	0.66±0.09*

注:与作用 12 h 比较,*$P<0.05$

4　复方丹参注射液对两组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达的影响比较

4.1　不同浓度的复方丹参注射液作用24 h 对两组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达的影响比较(表 4)　浓度为 0.010 mg/mL 的复方丹参注射液使羊水过少组和羊水正常组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达达到峰值,与其他浓度的作用比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

4.2　0.010 mg/mL 复方丹参注射液不同作用时间对两组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达的影响比较(表5)　hAECs 在0.010 mg/mL 复方丹参注射液培养液中,分别孵育 6、12、24、48 h,结果显示羊水过少组和羊水正常组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达在 6 h 开始增加,在 12 h 达到峰值($P<0.05$)。

表 4　不同浓度复方丹参注射液作用对两组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达的影响比较　[中位数(P_{25}~P_{75})]

复方丹参注射液浓度(mg/mL)	AQP3 mRNA	
	羊水过少(8 例)	羊水正常(8 名)
0	1.49(1.27~1.91)*	2.75(0.94~18.00)*
0.001	1.39(1.20~2.74)*	31.91(0.24~87.00)*
0.010	2.21(1.90~3.22)	52.73(0.68~112.00)
0.020	1.94(1.77~3.48)*	1.25(0.51~105.00)*
0.060	1.37(1.25~1.67)*	1.50(1.00~3.00)*
0.100	1.00(0.67~1.40)*	1.13(0.50~2.14)*

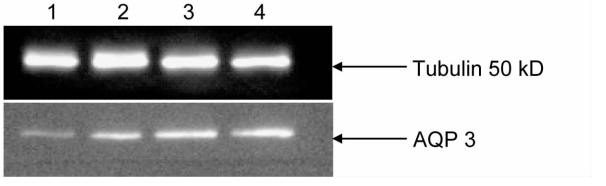
注:与 0.010 mg/mL 浓度比较,*$P<0.05$

表 5　0.010 mg/mL 复方丹参注射液不同作用时间两组 hAECs 中 AQP3 蛋白表达的影响比较

复方丹参注射液作用时间(h)	AQP3 蛋白	
	羊水过少(8 例)[中位数(P_{25}~P_{75})]	羊水正常(8 名)($\bar{x}\pm s$)
0	1.92(1.60~2.13)*	2.04±0.04*
6	2.28(1.92~2.53)*	2.22±0.08*
12	2.53(2.27~2.91)	2.48±0.08
24	2.09(1.89~2.43)*	2.12±0.04*
48	0.98(0.81~1.21)*	1.97±0.04*

注:与作用 12 h 比较,*$P<0.05$

5　0.010 mg/mL 复方丹参注射液作用 12 h 后两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和 AQP3 蛋白表达的变化比较(图 2,表 6)　0.010 mg/mL 的复方丹参注射液作用前,羊水正常组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白的表达均较羊水过少组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。复方丹参注射液作用后,羊水过少组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白表达的变化均较羊水正常组明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。



注:1 为羊水过少组;2 为羊水正常组;3 为羊水过少组加 0.010 mg/mL 复方丹参注射液 12 h;4 为羊水正常组加 0.010 mg/mL 复方丹参注射液 12 h

图 2　复方丹参注射液作用 12 h 后两组 hAECs 中 AQP3 蛋白的表达

讨　论

迄今为止,临床有许多治疗羊水过少的方法,如静脉滴注低渗液、等渗液,口服白开水,经腹羊膜腔内灌注

表 6 0.010 mg/mL 复方丹参注射液作用前后两组 hAECs 中 AQP3 mRNA 和蛋白的表达变化比较 [中位数(P_{25} ~ P_{75})]

组别	例数	时间	AQP3 mRNA	AQP3 蛋白
羊水正常	8	给药前	1.06(1.00 ~ 1.14)	28.89(28.42 ~ 29.95)
		给药后	1.11(1.04 ~ 1.18)	37.33(36.18 ~ 38.59)
		差值	0.05(0.00 ~ 0.08)	8.39(6.31 ~ 9.57)
羊水过少	8	给药前	0.99(0.89 ~ 1.12)*	11.69(10.00 ~ 12.89)*
		给药后	1.32(1.16 ~ 1.37)*	21.23(19.10 ~ 23.33)*
		差值	0.30(0.20 ~ 0.36)*	9.27(8.17 ~ 11.79)*

注:与羊水正常组同期比较,*P < 0.05

以及静脉滴注复方丹参注射液。在我国,复方丹参注射液治疗冠心病、高血压和其他老年心血管疾病已有 30 余年历史[7],其有效成分为丹参酮、丹参素、原儿茶醛等,主要作用是扩张血管、降低血黏度、减少血小板聚集、改善微循环。复方丹参注射液用以治疗羊水过少也有 10 余年历史。Chu HN 等[4]报道静脉滴注复方丹参注射液治疗羊水过少的有效率为 70%,但仍对约 30%的患者无效。因此,探讨复方丹参注射液治疗羊水过少的机制将为进一步提高疗效提供新思路。

相关文献均证实复方丹参注射液可以调节 AQPs 的表达,从而治疗相关疾病[5,8]。但复方丹参注射液对胎膜中 AQPs 表达的调节尚未见报道。本研究结果表明,复方丹参注射液可以使 hAECs 中 AQP3 的表达上调,推测复方丹参注射液可能是通过调节羊膜中 AQP3 的表达来达到治疗羊水过少的效果。

本研究结果发现,0.010 mg/mL 复方丹参注射液使 AQP3 在两组 hAECs 中的表达达到峰值,因此,该浓度定为最佳作用浓度。进一步研究发现,其最佳浓度作用 6 h 即可检测到 hAECs 中 AQP3 表达上调,而作用 12 h 时 AQP3 表达达到峰值,因此,0.010 mg/mL复方丹参注射液作用 12 h 为最适作用时间。超过复方丹参注射液的最佳浓度以及最佳作用时间,AQP3 表达都会下调,考虑可能是随着药物浓度的进一步增加或者作用时间的延长,使得细胞内以及细胞外的药物不能充分代谢,并且使渗透压发生改变,从而导致细胞结构的破坏,甚至细胞溶解、死亡。临床上有报道应用复方丹参注射液治疗羊水过少的浓度为 0.064 mg/mL,但在体外实验中,它并不是使 AQP3 表达达到峰值的理想浓度,推测可能是因为 hAECs 在体内受稳定的内环境调节,所以细胞能够对复方丹参注射液更加敏感,同时耐受相对较高的药物浓度来发挥治疗作用,但是在体外,独立的细胞之间缺乏体内稳态的支持,导致了调节作用相对减弱。

0.010 mg/mL 复方丹参注射液能使羊水正常组和羊水过少组 hAECs 中 AQP3 的表达增加,但对羊水过少组 hAECs 中 AQP3 表达的影响较羊水正常组更加明显,考虑羊水量正常时,细胞自身的调节功能较强,外界因素对其影响较小,而发生羊水过少时,细胞自身稳态被破坏,代偿能力有限,对于药物的治疗比较敏感。但复方丹参注射液调节 hAECs AQP3 表达的信号传导通路尚待进一步研究,对其具体机制的探索将成为临床治疗原因不明羊水过少的新突破口。

参 考 文 献

[1] Magann EF, Chauhan SP, Doherty DA, et al. A review of idiopathic hydramnios and pregnancy outcomes[J]. Obstet Gynecol Survey, 2007, 62(12): 795 - 802.

[2] Wang S, Amidi F, Beall M, et al. Aquaporin 3 expression in human fetal membranes and its up-regulation by cyclic adenosine monophosphate in amnion epithelial cell culture[J]. J Soc Gynecol Investig, 2006, 13(3): 181 - 185.

[3] Zhu XQ, Jiang SS, Zhu XJ, et al. Expression of aquaporin 1 and aquaporin 3 in fetal membranes and placenta in human term pregnancies with oligohydramnios[J]. Placenta, 2009, 30(8): 670 - 676.

[4] Chu HN, Shen MJ. Treating oligohydramnios with extract of *Salvia miltiorrhiza*: a randomized control trial[J]. Ther Clin Risk Manag, 2008, 4(1): 287 - 290.

[5] Kang DG, Oh H, Sohn EJ, et al. Lithospermic acid B isolated from *Salvia miltiorrhiza* ameliorates ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats[J]. Life Sci, 2004, 75(15): 1801 - 1816.

[6] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 128 - 129.

[7] Zhou L, Zuo Z, Chow MS. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use[J]. J Clin Pharmacol, 2005, 45(12): 1345 - 1359.

[8] Wang L, Zhou GB, Liu P, et al. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula *Realgar-Indigo naturalis* as an effective treatment for promyelocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(12): 4826 - 4831.

(收稿:2012 - 02 - 13 修回:2012 - 09 - 21)