

复方莪术散对子宫内膜异位症患者血清糖类癌抗原 125、19-9 水平及细胞周期蛋白 D 表达的影响

魏 明¹ 曹保利² 刘 筠²

摘要 目的 研究复方莪术散对子宫内膜异位症患者细胞周期蛋白 D(cyclinD)表达、血清糖类癌抗原 125(CA125)、19-9(CA19-9)水平的影响,为复方莪术散的临床应用提供理论依据。**方法** 选取 2011 年 1 月—2013 年 1 月于天津市南开医院妇产科进行手术治疗的子宫内膜异位症患者 69 例,随机分配至 A 组(35 例)和 B 组(34 例);另外选择同时期进行手术治疗的子宫肌瘤患者 30 例作为对照组(30 例)。A 组于术前 3 个月开始服用复方莪术散;B 组及对照组患者术前未进行任何治疗;术前检测 3 组患者血清 CA125、CA19-9 水平及子宫异位和在位内膜组织中 cyclinD 的表达。**结果** A、B 两组 cyclinD 表达水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);A 组血清 CA125、CA19-9 水平均低于 B 组($P < 0.05$);A 组子宫异位内膜的 cyclinD 表达均低于 B 组,但差异无统计学意义($P > 0.05$);A 组子宫在位内膜的 cyclinD 表达亦低于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);血清 CA125 与 CA19-9 水平呈正相关($r = 0.45, P < 0.05$)。**结论** 子宫内膜异位症患者 cyclinD 表达明显增加,与子宫内膜异位症发病有关;而复方莪术散可降低 cyclinD 表达水平及血清 CA125、CA19-9 水平,提示其在抑制细胞周期进程中发挥作用。

关键词 子宫内膜异位症;糖类癌抗原 125;糖类癌抗原 19-9;细胞周期蛋白 D;复方莪术散

Effect of Compound Ezhu Powder on Serum Levels of CA125 and CA19-9, and the Expression of Cyclin D Protein in Endometriosis Patients WEI Ming¹, CAO Bao-li², and LIU Yun² 1 Postgraduate Department, Tianjin Medical University, Tianjin (300070), China; 2 Department of Gynecology and Obstetrics, Nankai Hospital, Tianjin (300100), China

ABSTRACT Objective To study the effect of Compound Ezhu Powder (CEP) on serum levels of CA125 and CA19-9, and the expression of cyclin D protein in endometriosis patients, thus providing theoretical evidence for clinical application of CEP. **Methods** Totally 69 all endometriosis patients underwent surgical treatment at Department of Gynecology and Obstetrics, Tianjin Nankai Hospital from January 2011 to January 2013 were randomly assigned to group A (35 cases) and group B (34 cases). Meanwhile, 30 patients with uterine fibroids who prepared for surgical treatment during the same period were recruited as the control group. Patients in group A took EJP 3 months before surgery. No treatment was given to patients in group B and the control group. The serum CA125 level and the expression of cyclin D in the ectopic endometrium and the eutopic endometrium were detected in the 3 groups before surgery. **Results** The expression of cyclin D was higher in group A and group B than in the control group ($P < 0.05$). The serum levels of CA125 and CA19-9 were significantly lower in group A than in group B ($P < 0.05$). The expression of cyclin D in the ectopic endometrium was lower in group A than in group B, but with no statistical difference ($P > 0.05$). The expression of cyclin D in the eutopic endometrium was significantly lower in group A than in group B with statistical difference ($P < 0.05$). Meanwhile, the serum CA125 level was positively correlated with the serum CA19-9 level ($r = 0.45, P < 0.05$). **Conclusions** The expression of cyclin D obviously increased in endometriosis patients, which was associated with the occurrence of endometriosis. CEP could lower serum levels of CA125 and CA19-9, and down-regulate the

基金项目:天津市卫生局中医、中西医结合科研专项基金项目(No.11014)

作者单位:1 天津医科大学研究生院(天津 300070);2 天津市南开医院妇产科(天津 300100)

通讯作者:曹保利, Tel:15822295282, E-mail:xiaomh66@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.08.0926

expression level of cyclin D, indicating its roles in inhibiting the cell cycle.

KEYWORDS endometriosis; CA125; CA19-9; cyclin D; Compound Ezhu Powder

子宫内膜异位症最常侵犯的部位是卵巢,是日趋增多的生育年龄妇女的常见病,大约有 10% ~ 15% 的发病率,且有明显上升趋势。继发性痛经是最典型的临床症状,50% 的患者合并不孕^[1]。具有的恶性肿瘤的生物学行为已引起国内外的广泛关注,涉及女性盆腔,包括腹膜、卵巢、输卵管、膀胱等,恶变率为 0.33% ~ 1.50%^[2,3]。血清糖类癌抗原 125、19-9 (CA125、CA19-9) 水平对诊断子宫内膜异位症均有一定的价值^[4]。研究证实,细胞周期调节蛋白(cyclin)在恶性肿瘤的药物治疗中发挥重要作用,其中 cyclinD 是中药的细胞周期起正性调节因子,过度表达并与周期蛋白依赖性蛋白激酶 CDK4、CDK6 等结合,加速细胞通过 G1 检查点,促进进入 S 期,与异位子宫内膜的不正常生长、增殖、浸润及转移等恶性生物学表现有关^[5]。笔者于 2011 年 1 月—2013 年 1 月采用复方莪术散加手术治疗子宫内膜异位症取得良好效果,现报告如下。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 子宫内膜异位症西医诊断及分期标准 采用“子宫内膜异位症、妊娠高血压综合征及女性不孕症的中西医结合诊疗标准”^[6]及《中药新药临床研究指导原则》^[7]拟定子宫内膜异位症的中、西医诊疗标准,并经腹腔镜检查确诊。采用 1985 年美国生育学会提出的“修正子宫内膜异位症分期法”(r-AFS 分期法)进行分期,经腹腔镜检查或剖腹探查确诊,并详细观察和记录内膜异位病灶、数目、大小、深度和粘连程度,最后进行评分,Ⅰ期 1 ~ 5 分;Ⅱ期 6 ~ 15 分;Ⅲ期 16 ~ 40 分;Ⅳ期 >40 分^[1]。

1.2 子宫肌瘤的诊断标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[7]拟定子宫肌瘤的中、西医诊疗标准,并经妇科盆腔检查及 B 超、CT 确诊。

1.3 中医辨证标准 参照《中国中西医结合妇产科学》^[8]分为气滞血瘀、肾虚血瘀、寒凝血瘀、痰瘀互结、气虚血瘀、肾虚血瘀 6 个证型。

2 纳入标准 (1)符合西医诊断标准及中医辨证分型标准且经病理证实;(2)年龄为 18 ~ 50 岁;(3)签署知情同意书。

3 排除标准 (1)合并子宫腺肌症、多囊卵巢综合征等其他激素依赖性疾病;(2)妊娠及 3 个月内有

激素类药物治疗史患者。

4 临床资料 99 例病例均为 2011 年 1 月—2013 年 1 月于天津市南开医院妇科住院手术治疗的。包括进行手术治疗的子宫内膜异位症的 69 例,采用随机数字法分为 2 组。A 组(35 例)和 B 组(34 例);另选择同期进行手术治疗的子宫肌瘤患者 30 例作为对照组。A 组平均年龄(32.00 ± 6.11)岁,Ⅱ期 8 例,Ⅲ期 17 例,Ⅳ期 10 例;B 组平均年龄(33.08 ± 7.23)岁,Ⅱ期 5 例,Ⅲ期 18 例,Ⅳ期 11 例。对照组平均年龄(32.50 ± 6.70)岁。3 组患者的平均年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

5 治疗方法

5.1 手术治疗 3 组均采用手术治疗。A 组和 B 组:行子宫全切术或子宫次全切患者,术中取子宫内膜异位病灶组织,术后取子宫内膜组织;行异位病灶清除且保留子宫者,术中取子宫内膜异位病灶组织,同时刮取子宫内膜组织。对照组:行子宫全切术或子宫次全切患者,术后取子宫内膜组织;行子宫肌瘤剥除术且保留子宫者,术中刮取子宫内膜组织。所取标本送天津市南开医院病理科,常规 4% 甲醛固定组织,石蜡包埋,组织切片厚 4 μm ,HE 染色后挑选具有典型内膜的组织标本为入选标本。

5.2 中药治疗 A 组于手术治疗前 3 个月应用中药复方莪术散颗粒剂(组成:三棱 10 g 莪术 10 g 淫羊藿 10 g 延胡索 10 g 黄芪 10 g,由江阴天江药业有限公司制成颗粒剂型),按组成中各单药剂量 5 味药一起冲服,每日 2 次,早、晚冲服,经期不停药,连服 3 个月。B 组和对照组未进行药物治疗。

6 观察项目及检测指标

6.1 血清 CA125 和 CA19-9 测定 均采用直接电化学发光法。CA125 及 CA19-9 直接电化学发光法试剂盒由西门子医学诊断产品(上海)有限公司提供。使用仪器为日本西门子公司生产的 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪,由专人按说明书操作。临床正常参考范围:血清 CA125 < 35 U/mL;CA19-9 < 37 U/mL。

6.2 cyclinD 测定 采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)试剂盒、cyclinD1 鼠抗人单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术公司,采用免疫组化法严格按照 SP 试剂盒说明书操作。cyclinD 染色以细胞核和(或)细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性判

断标准。光镜下每张切片选取 5 个有代表性高倍镜视野(200 倍),计数 1 000 个细胞,计算阳性细胞百分率。阴性(-),无阳性染色细胞或阳性染色细胞数 < 5%;弱阳性(+),为 5%~25%;阳性(++),为 25%+~50%;强阳性(+++),为 >50%。

7 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用率表示;3 组血清 CA125、CA19-9 水平比较采用方差分析;3 组 cyclinD 蛋白表达强度采用 χ^2 检验;血清 CA125、CA19-9 的关联性采用 Spearman 等级相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 3 组血清 CA125 及 CA19-9 水平比较(表 1)
与对照组比较,A、B 组 CA125 及 CA19-9 升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。且 A 组患者血清 CA19-9 水平低于 B 组,差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 3 组血清 CA125 及 CA19-9 水平比较 (U/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CA125	CA19-9
A	35	32.24 ± 2.66 * [△]	23.86 ± 3.08 * [△]
B	34	48.13 ± 3.58 *	44.23 ± 4.16 *
对照	30	13.74 ± 1.32	13.91 ± 1.19

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与 B 组比较,[△] $P < 0.05$

2 A、B 两组 CA125 与 CA19-9 水平相关性分析 Spearman 等级相关分析表明,A、B 两组患者血清 CA125 与 CA19-9 均呈正相关($r = 0.45, P < 0.05$)。

3 3 组异位和在位子宫内膜 cyclinD 表达比较(图 1,表 2-4) cyclinD 在对照组内膜中阳性表达率为 20%;A 组异位子宫内膜中阳性表达率(48.6%)高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);B 组异位子宫内膜中阳性表达率(58.5%)亦高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。cyclinD 在 A 组异位内膜的阳性表达率低于 B 组的异位子宫内膜的阳性表达率,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

cyclinD 在 A 组在位子宫内膜中的阳性表达率(28.6%)高于对照组,差异无统计学意义($P > 0.05$);B 组在位子宫内膜中阳性表达率(52.9%)高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。cyclinD 在 A 组在位内膜阳性表达率低于 B 组的在位子宫内膜中阳性表达率,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

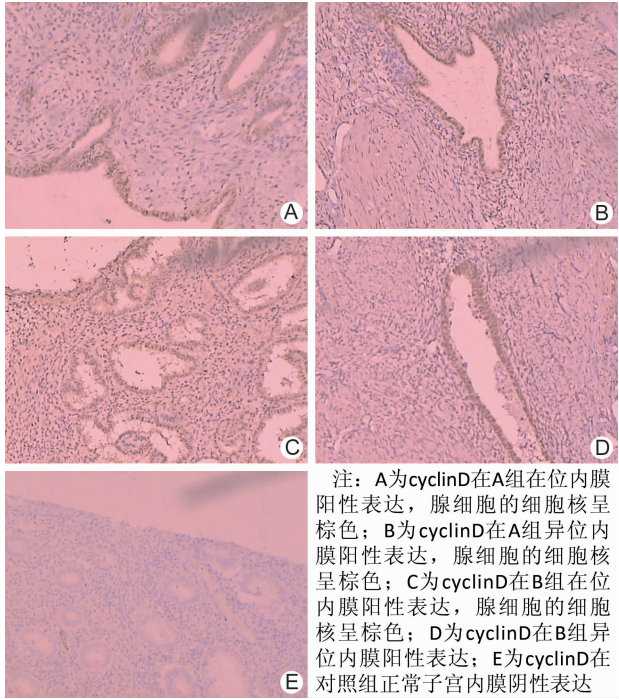


图 1 3 组在位和异位子宫内膜 cyclinD 表达结果 (DAB 染色, ×100)

表 2 3 组异位和在位子宫内膜 cyclinD 表达强度的比较 (例)

组别	例数	cyclinD 表达强度			
		-	+	++	+++
A 异位内膜	35	18	7	4	6
在位内膜	35	25	5	2	3
B 异位内膜	34	14	6	4	10
在位内膜	34	16	3	6	9
对照	30	24	4	1	1

表 3 3 组异位子宫内膜 cyclinD 表达比较 [例(%)]

组别	例数	cyclinD 表达	
		阴性	阳性
A 异位内膜	35	18(51.4)	17(48.6) *
B 异位内膜	34	14(41.2)	20(58.8) *
对照	30	24(80.0)	6(20.0)

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

表 4 3 组在位子宫内膜 cyclinD 表达比较 [例(%)]

组别	例数	cyclinD 表达	
		阴性	阳性
A 在位内膜	35	25(71.4)	10(28.6)
B 在位内膜	34	16(47.0)	18(52.9) * [△]
对照	30	24(80.0)	6(20.0)

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与 A 组比较,[△] $P < 0.05$

讨 论

CA125 是一种高分子量糖蛋白,是与卵巢上皮细胞癌高度相关的肿瘤标志物,当细胞膜上的蛋白酶和唾液酸酶活性增高,破坏细胞骨架,抗原脱落^[9]。血清 CA125 是临床中较为有效的反应内膜异位的指标,临床基本肯定了其在子宫内膜异位症患者中的检测价值,血清 CA125 值在中重度子宫内膜异位症患者可能升高,一般低于 100 IU/L^[11]。CA19-9 是一种消化道表达癌性 Sialyated Lewis A 抗原,在子宫内膜异位症诊断中的特异性和敏感性有一定争议。研究表明,其敏感性与 CA125 相似,但特异性较低^[4]。有报道米非司酮、桂枝茯苓丸可降低 CA125 及 CA19-9 水平,来治疗子宫内膜异位症^[10,11]。本研究发现血清 CA125 和 CA19-9 水平在 A 组和 B 组均高于对照组,且两者呈正相关,提示其在诊断子宫内膜异位症的有一定价值。血清 CA125 和 CA19-9 水平在 A 组明显低于 B 组,提示复方莪术散能降低血清 CA125 和 CA19-9 水平,具体机制需要通过进一步的研究。

细胞周期调控异常与肿瘤的发生、发展密切相关,细胞周期中的 G1 期到 S 期期调控点是细胞内外信号传递、细胞增殖调控的关键点,cyclinD1 正是该调控点的调节因子,启动细胞周期通过关键限速卡点^[5]。cyclinD1 基因定位于染色体 11q13 上,蛋白含 295 个氨基酸,它通过与 CDK4/CDK6 结合,使 Rb 蛋白磷酸化,并且与 E₂F 分离。游离的 E₂F 进细胞核内,启动 S 期相关基因的转录,使细胞由 G1 期进入 S 期,促进 DNA 合成,起到正性调控细胞的增殖。如果 cyclinD1 呈持续的高表达状态,G1 期将缩短,使细胞提前进入 S 期,最终导致细胞增殖失控^[12]。本研究结果显示,cyclinD 在 A 组和 B 组阳性表达率均高于对照组,提示其与子宫内膜异位症的发生发展密切相关。cyclinD 在 A 组阳性表达率均低于 B 组,提示复方莪术散能抑制子宫在位及异位内膜的增殖、浸润,对阻止疾病的发展及手术后预防复发有一定的作用。cyclinD 在 A 组异位内膜阳性表达率低于 B 组,但差异无统计学意义,可能与样本量过小有关,待进一步研究。

子宫内膜异位症属中医学“血瘀证”范畴。多由外邪入侵,情志内伤,宿体因素或手术损伤等原因,导致机体脏腑功能失调,冲任损伤,气血失和,血液离经,瘀血形成,流结于下腹而发病。手术是子宫内膜异位症的首选治疗方法,药物联合手术治疗,即术前药物治疗 2~3 个月以使内膜异位缩小、软化,缩小手术范围,利于手术操作;术后给与药物治疗,以降低复发率。

复方莪术散包括三棱、莪术、淫羊藿、延胡索及黄芪,治则为活血化瘀,消癥散结,益肾扶正,其中莪术、三棱为君药,可破血祛瘀、行气止痛;黄芪、淫羊藿作为臣药,可补气益肾扶正,同时辅助莪术、三棱;元胡为佐药,能行气活血止痛^[13,14]。李艳芳^[15]研究表明,莪术挥发油能将人卵巢癌 SKOV₃ 细胞阻滞于 G0/G1 期,从而明显抑制 SKOV₃ 细胞的增殖。莪术中含有挥发油和姜黄素两大类成分。莪术油的主要药理作用是抗肿瘤,其活性成分为莪术醇和 β-榄香烯。有研究表明^[16],β-榄香烯具有广谱抗肿瘤活性,阻滞细胞从 S 期进入 G2M 期,抑制增殖并诱导细胞凋亡,降低小鼠 HepA 肝癌细胞超五倍体的比例。田芳等^[17]通过体外实验发现,姜黄素能下调 cyclinD1 表达,进而抑制食管鳞癌细胞的增殖。综上,本研究进一步肯定了子宫内膜异位症患者血清 CA125、CA19-9 水平及 cyclinD 表达的异常改变,并且中药复方莪术散能降低血清 CA125、CA19-9 水平,改善异位和在位子宫内膜 cyclinD 的异常表达,为其治疗子宫内膜异位症的临床应用提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] 丰有吉,沈铿,马丁等主编. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 368-377.
- [2] Yumi H, Hirotaka K, Hiroshi S, et al. Identification of multiple pathways involved in the malignant transformation of endometriosis [J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(26): 3-9.
- [3] Benoit L, Arnould L, Cheynel N, et al. Malignant extraovarian endometriosis: a review [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2006, 32(1): 6-11.
- [4] May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, et al. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review [J]. *Human Reproduction Update*, 2010, 16(6): 651-674.
- [5] Wang H, Chen X, Chen Y, et al. Antitumor activity of novel chimeric peptides derived from cyclinD/CDK4 and the protein transduction domain 4 [J]. *Amino Acids*, 2013, 44(2): 499-510.
- [6] 中国中西医结合学会妇产科专业委员会. 子宫内膜异位症妊娠高血压综合征及女性不孕症的中西医结合诊疗标准 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1991, 11(6): 376-379.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 267-279.
- [8] 尤昭玲,杜惠兰,王秀云等主编. 中西医结合妇产科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 553-562.
- [9] Saarelainen SK, Peltonen N, Lehtimäki T, et al. Predictive value of serum HE4 and CA125 concentrations in endometrial carcinoma [J]. *Am J Obstetr Gynecol*, 2013, 8(2): 142-148.

- [10] 霍香云. 桂枝茯苓胶囊治疗子宫内膜异位症临床观察及对 CA125 及 CA19-9 影响[J]. 中医药导报, 2008, 14(8): 54-55.
- [11] 梁红艳, 许红英. 中药水蛭内金汤对子宫内膜异位症患者血清 CA125 的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12(18): 1502-1505.
- [12] Choi YJ, Anders L. Signaling through cyclin D-dependent kinases[J]. Oncogene, 2014, 33(15): 1890-1903.
- [13] 张玉珍. 中医妇科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 137-143.
- [14] 吴莹, 曹保利. 子宫内膜异位症腹腔镜术后应用复方莪术散的疗效探讨[J]. 吉林中医药, 2011, 31(2): 146-147.
- [15] 李艳芳. 莪术油对人卵巢癌 SKOV₃ 细胞及顺铂耐药细胞 SKOV₃/DDP 的影响以及联合 TC 方案化疗的价值[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2012.
- [16] 王颖, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 姜黄、莪术、郁金的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2013, 35(12): 3338-3341.
- [17] 田芳, 柴玉荣, 江亚南, 等. 姜黄素通过下调 IkB α 磷酸化抑制食管鳞癌细胞的体外增殖[J]. 基础医学与临床, 2011, 31(7): 767.

(收稿: 2013-11-10 修回: 2014-04-22)

2014 年全国中药学术研讨会暨中药专业委员会换届改选会在杭州召开

“2014 年全国中药学术研讨会暨中药专业委员会换届改选会”于 2014 年 4 月 18-20 日在浙江省杭州市召开。此次会议由中国中西医结合学会中药专业委员会主办, 浙江中医药大学药物研究所、浙江省中西医结合学会中药专业委员会、中国中医科学院中药资源中心承办。会议以“中药应用系统研究”为主题, 内容包括中药新药及保健食品设计的方法与技术; 中药创新研究新技术、新方法; 中药资源的可持续利用研究; 中药材综合利用; 中药临床应用的关键问题。

2014 年 4 月 18 日, 中国中西医结合学会中药专业委员会进行了换届改选。浙江中医药大学药物研究所所长吕主源教授当选为中国中西医结合学会中药专业委员会第六届主任委员。上一届中药专业委员会主任委员黄璐琦研究员推荐为名誉主任委员。天津中医药大学副校长高秀梅教授、华中科技大学同济医学院方建国主任药师、杭州师范大学谢恬教授、北京中医药大学刘勇教授、中国中医科学院中药研究所副所长杨洪军研究员 5 人当选为副主任委员; 中国医学科学院药用植物研究所所长孙晓波研究员等 15 人当选为常务委员, 其中中国中医科学院郭兰萍研究员、温州医科大学陈素红研究员当选为常务委员兼秘书。

大会开幕式由中国中西医结合学会中药专业委员会第六届主任委员吕主源教授主持。中国工程院院士、中国中医科学院院长、天津中医药大学校长、中国中西医结合学会副会长张伯礼教授代表中国中西医结合学会致开幕辞, 浙江中医药大学校长范永升教授致欢迎辞。中国工程院院士、中国中西医结合学会副会长、解放军肾脏病研究所所长暨国家重点实验室主任陈香美教授; 国家中医药管理局科技司副司长、中国中医科学院副院长、中药专业委员会名誉主任委员黄璐琦研究员等中医药、中西医结合学界著名专家出席会议。

大会邀请了中国工程院张伯礼院士、陈香美院士、黄璐琦教授、高秀梅教授等 10 位专家作专题报告。报告包括: 张伯礼院士“中药现代化研究进展”、陈香美院士“中药创新研究与临床应用”、黄璐琦研究员“中药资源可持续利用与新药研发”、高秀梅教授“基于雌激素样作用的经典名方研究”、国家食品药品监督管理局保健食品审评中心白鸿处长“中药保健食品监管现状与趋势”、国家食品药品监督管理局药品审评中心张晓东协调员“近年我国中药新药注册申请情况分析”、中国中医科学院中药研究所副所长杨洪军“基于整合药理学策略的元胡止痛片研究”、四川省中医药科学院《中药药理与临床》主编邓文龙“中药注射剂反思”、华中科技大学同济医学院方建国主任药师“鱼腥草抗炎活性物质基础及其质量研究”、浙江中医药大学药物研究所所长吕主源教授“中药抗高血压特色研究”。本次会议的大会报告内容丰富, 从中药物质基础到创新中药研究, 从中药资源可持续利用到临床应用, 从中药新药的注册到保健食品的研发、审评, 对全国中药学术和行业的现状及发展进行了全方位研讨, 提出了建设性观点和创新思路。

(收稿: 2014-06-23)