

## · 基础研究 ·

## 助孕宁 I 号方对复发性自然流产孕鼠滋养及蜕膜细胞凋亡的影响

刘禹熙<sup>1</sup> 陈璐<sup>2</sup> 陈丽羽<sup>3</sup> 冯晓玲<sup>2</sup>

**摘要 目的** 探讨助孕宁 I 号方防治复发性自然流产(RSA)的可能作用机制。**方法** 建立 DBA/2 × CBA/J RSA 小鼠模型,以不同浓度助孕宁 I 号方对实验组模型小鼠进行灌胃,留取药物干预后的滋养细胞及蜕膜组织,并设空白组(空白滋养细胞及蜕膜组织)、模型组(模型滋养细胞及蜕膜组织)及西药组(地屈孕酮含药滋养细胞及蜕膜组织),每组 15 只。分别采用免疫组化法及 PCR 法检测各组不同浓度药物干预后的滋养细胞及蜕膜中 PI3K/AKT 信号传导通路上人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)和 B 细胞淋巴瘤/白血病-XL(Bcl-XL)细胞凋亡相关因子表达水平。**结果** (1)与空白组比较,模型组死胎率增加( $P < 0.05$ );与模型组比较,西药组及助孕宁 I 号各剂量组死胎率降低( $P < 0.05$ )。(2)模型组滋养细胞中可见细胞碎裂溶解或凋亡趋势;空白组滋养细胞结构清晰,胞质染色均匀,血管丰富,助孕宁 I 号(低、中、高)及西药组及次之。(3)与模型组比较,滋养细胞助孕宁 I 号高、低剂量组中 PTEN mRNA 和蛋白含量减少,助孕宁 I 号高、中、低剂量组和西药组中 Bcl-XL mRNA 和蛋白含量增多,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与模型组比较,蜕膜助孕宁 I 号高、低剂量组和西药组中 PTEN mRNA 和蛋白含量增多,蜕膜助孕宁 I 号高、中剂量组和西药组中 Bcl-XL mRNA 和蛋白含量增多,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** PTEN 及 Bcl-XL 与 RSA 有关,助孕宁 I 号方能够促进 RSA 小鼠滋养细胞及蜕膜中 Bcl-XL 表达;分别下调和促进 RSA 小鼠滋养细胞及蜕膜中 PTEN 表达,平衡母胎界面的细胞异常凋亡,从而达到保胎作用。

**关键词** 助孕宁 I 号;复发性流产;细胞凋亡;人第 10 号染色体缺失的磷酸酶;B 细胞淋巴瘤/白血病-XL

Effect of Zhuyunning I Recipe on Trophocyte and Decidua Apoptosis in Recurrent Spontaneous Abortion Rats LIU Yu-xi<sup>1</sup>, CHEN Lu<sup>2</sup>, CHEN Li-yu<sup>3</sup>, and FENG Xiao-ling<sup>2</sup> 1 Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150040); 2 Department of Gynecology, First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150040); 3 Department of Gynecology, Second Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin (150000)

**ABSTRACT Objective** To observe the possible mechanism of Zhuyunning I Recipe (ZYN I R) in preventing and treating recurrent spontaneous abortion (RSA). **Methods** DBA/2 × CBA/J model of RSA was established in mice. The model mice in the experimental group were given different concentrations of ZYN I R by gastrogavage, and the trophoblasts and decidua tissues after drug intervention were retained. A blank group (blank trophoblasts and decidua tissues), a model group (model trophoblasts and decidua tissues), and a Western medicine group (dydrogesterone containing drug trophoblasts and decidua tissues) were also established, 15 mice in each group. The expression levels of phosphatase (PTEN) and Bcl-XL cell apoptosis-related factors in PI3K/AKT signal transduction pathway of trophoblasts and decidua tissues were detected by immunohistochemistry and PCR. **Results** (1) Compared with the blank group, the rate of embryonic death increased in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81574014)

作者单位:1. 黑龙江中医药大学研究生院(哈尔滨 150040); 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院妇科(哈尔滨 150040); 3. 黑龙江中医药大学附属第二医院哈南分院妇科(哈尔滨 150000)

通讯作者:冯晓玲, Tel: 0451-82193038, E-mail: doctorfxl@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190116.095

with the model group, the rates of embryonic death were reduced in the Western medicine group and each dose ZYN I R group group ( $P < 0.05$ ). (2) The trophoblast cells showed the trend of cell fragmentation and dissolution or apoptosis in the model group. Clear trophoblast cell structure, uniform cytoplasm staining, and abundant blood vessels could be seen in the blank group. These changes were also seen in the Western medicine group and each dose ZYN I R group. (3) Compared with the model group, PTEN mRNA and protein contents were reduced in high and low dose ZYN I R groups; Bcl-XL mRNA and protein contents increased in each dose ZYN I R group and Western medicine group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the model group, PTEN mRNA gene and protein contents increased in high, low dose ZYN I R groups and Western medicine group. The contents of Bcl-XL mRNA and protein increased in high and medium dose ZYN I R groups and Western medicine group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Conclusion PTEN and Bcl-XL were related to RSA, and ZYN I R promoted the expressions of Bcl-XL in trophoblasts and decidua, down-regulated and promoted PTEN expressions in RSA mice, balanced abnormal cell apoptosis of maternal-fetal interface, thus reaching the effect of fetal protection.

**KEYWORDS** Zhuyunning I Recipe; recurrent spontaneous abortion; cell apoptosis; gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten; B cell lymphoma-extra large

复发性自然流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指同一性伴侣连续发生两次及两次以上的自然流产,且发生在妊娠 20 周以前,是一种常见的妊娠并发症,中医学称其为“滑胎”、“数堕胎”。研究显示连续发生两次及以上自然流产者再次妊娠流产的可能性高达 60% 以上,而 50% 以上病因未被查明<sup>[1]</sup>。PI3K/AKT 信号通路近年被证实在细胞凋亡中具有重要作用,因其可提高细胞生存能力和抑制细胞凋亡的机制,被广泛应用在肿瘤、糖代谢、各种细胞分化等的研究领域中<sup>[2-4]</sup>。RSA 的研究尚且有限,本实验用以补肾活血安胎为要的助孕宁 I 号方干预 RSA 小鼠蜕膜及滋养细胞,观察其对 PI3K/AKT 信号通路中 PTEN 及 Bcl-XL 的影响,探索助孕宁 I 号方通过影响细胞凋亡防治 RSA 的可能性。

## 材料与方

**1 动物** SPF 级雌性鼠 CBA/J 90 只,雄性鼠 DBA/2 38 只,雄性鼠 BALB/c 8 只,鼠龄为 8 周,雌鼠体重 16~20 g,雄鼠体重 18~22 g,3 种鼠均购置于北京华阜康生物科技股份有限公司,质量检测单位为中国医学科学院实验动物研究所,动物许可证编号:SCXK(京)2014-0004。本实验遵守关于国家实验动物保护与使用准则。

**2 药物** 助孕宁 I 号方组方:菟丝子、川续断、桑寄生、阿胶、黄芪、党参、丹参各 20 g 混合,提取水溶性部分制作成溶液,浓缩至含生药量 1 mg/mL(药物及药液提取工艺由黑龙江中医药大学附属第一医院药局提供);地屈孕酮片(每片 10 mg,苏威制药 Slovay Pharmaceuticals B.V.提供,生产批号:H20130110)。

**3 主要试剂与仪器** 枸橼酸缓冲液(pH6.0)、苏木素体细胞染色液、组织分化液购自福州迈新生物技术开发有限公司;一抗兔抗鼠 IgG、二抗辣根酶标记兔抗羊 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司;丝氨酸蛋白酶抑制剂(PMSF)购自北京索莱宝科技有限公司产品(批号:321D032);核糖核酸酶抑制剂(RNase Inhibitor)购自美国 Thermo Scientific 公司;反转录酶 MLV 购自美国 Promega 公司;Tag 聚合酶购自美国 Thermo Scientific 公司。

全自动组织脱水机,Thermo Scientific Excelsior ES;PCR 仪,Thermo Scientific 5020,美国赛默飞世尔科技有限公司;高速冰冻离心机,Allegra-21R,美国贝克曼库尔特公司;电热恒温水浴箱,DK-98-1 型,天津市泰斯特仪器公司;磁力加热搅拌器,78-78-1,江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂;凝胶图像分析系统,Tanon2500R,上海天能科技有限公司。

## 4 方法

**4.1 分组及给药方法** 取 CBA/J 雌鼠 90 只随机分为空白组,助孕宁 I 号高、中、低剂量组,模型组,地屈孕酮片组(西药组),每组 15 只。DBA/2 雄鼠按 1:2 配备,DBA/2 与 CBA/J 雌鼠合笼交配成 RSA 鼠模型<sup>[5]</sup>,BALB/c 雄鼠与 CBA/J 雌鼠合笼交配成空白组。按动物与人的每公斤体重剂量折算系数表“小鼠每千克体重剂量=人类体重一般剂量×(小鼠剂量折算系数/人剂量折算系数)”计算,助孕宁 I 号高、中、低剂量组及西药组小鼠灌胃量分别为 1.8、0.9、0.45、0.1 mL/kg,模型组与空白组小鼠生理盐水灌胃量同助孕宁 I 号中剂量组。

**4.2 孕鼠胚胎数量** 孕后小鼠连续灌胃 8 天,

于小鼠妊娠第 9 天时配制 4% 台盼蓝母液,用 PBS 稀释到 0.4%,于小鼠尾静脉注射。注射前用 3% 戊巴比妥那 0.1 mL/20 g 腹部皮下注射,麻醉后行台盼蓝染色,观察 30 min,断颈处死小鼠,剥离子宫并标记,见胚胎着床点处紫蓝色着色,无正常发育胚胎处仍可见着床处的紫蓝色染色点,有着色点但未见正常发育胚胎为死胎,以此方法确定总妊娠数并计算死胎率(%) = 死胎个数/着床染色个数 × 100%。留存小鼠子宫及胎盘,部分组织行液氮保存留做 PCR,部分组织行 4% 多聚甲醛液固定留做免疫组化。

**4.3 RSA 模型孕鼠滋养细胞形态学改变** 采用光镜观察。将复发性流产模型组小鼠及空白组,分别进行病理常规 HE 染色,对比蜕膜及滋养细胞组织结构。光镜下观察凋亡细胞,凋亡细胞呈圆形,胞浆红染,细胞核染色质聚集成团块状,无炎症反应,由经验丰富的病理医生确定。

**4.4 PTEN 及 Bcl-XL 蛋白表达** 采用免疫组化法检测。方法参考文献[6],具体为:(1)烤片:将组织制作蜡块后常规切片,贴片,胶片捞片,烘片机中烤 30 min,放置于 64 °C 温箱中过夜;(2)脱蜡及脱水:常规二甲苯脱蜡,后梯度酒精脱水;(3)阻断灭活内源性过氧化物酶;(4)抗原修复:将配置好的枸橼酸盐用微波高火加热 10 min,放入需要修复的玻璃片,微波高火加热 10 min,水浴使其将至室温后取出玻片;(5)一抗孵育:取湿盒,玻片用 PBS 洗净,甩干并吸干玻片上组织周围多余的液体,滴加一抗兔抗鼠,4 °C 过夜;(6)二抗孵育:PBS 冲洗玻片 3 遍,滴加二抗兔抗羊 37 °C 孵育 30 min,充分水洗;(7)DAB(二氨基联苯)染色:取 250 μL PBS 加入 ABC 染色液各 1 滴,混匀,每个指标约滴加 50 mL 显色液,镜下观察着色阳性即入水终止显色;(8)苏木素复染:苏木素 5 min 盐酸酒精分化-温水返蓝-酒精脱水;(9)封片:滤纸吸干玻片多余液体,室温存放 10 min,封存,并摄片。蛋白表达以“阳性细胞着色百分率法”表示,即在 40 倍光镜下,随机选择不重叠的 10 个视野,人工计数阳性着色细胞,表示为,+ :表达率 < 25%; ++ :表达率为 25% ~ 50%; +++ :表达率 > 50%。

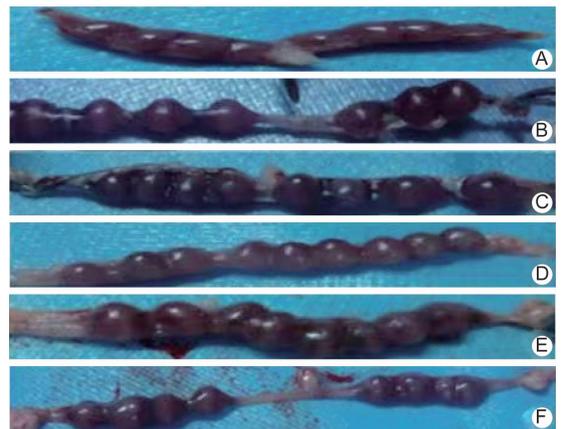
**4.5 PTEN、Bcl-XL mRNA 表达** 采用 PCR 法检测。方法参考文献[6],具体为:(1)组织总 RNA 提取步骤:匀浆化作用、RNA 分离、RNA 沉淀、RNA 洗涤、溶解 RNA;(2)反转录 cDNA 合成:于冰盒中操作;(3)PCR 扩增:PCR 扩增反应条件:①95 °C 预变性 5 min;②94 °C 变性 30 s,引物退火适宜温度 30 s,引物延伸 72 °C 30 s,进行 35 个循环;③最后延

伸 72 °C 10 min,4 °C 终止;(4)琼脂糖凝胶电泳检测:①制备琼脂糖凝胶;②加样;③电泳;④观察:紫外线透射分析仪下观察并拍摄,保存结果。⑤以 β-actin 为内参,各个样品的 β-actin 与目的基因在同等条件下扩增,计算目的基因扩增产物条带灰度值后,对比内参 β-actin 基因扩增产物条带灰度,分析二者比值,进行半定量分析。

**4.6 统计学方法** 使用 SAS 9.1.3 软件进行统计学分析,计量资料(满足正态性)采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,多重比较使用 LSD-t 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组妊娠 9 天小鼠子宫形态变化及孕鼠死胎率比较(图 1,表 1) 6 组小鼠妊娠第 9 天处死解剖后肉眼观察可见空白组小鼠正常妊娠子宫饱满,宫内胚胎完整如串珠状,胚胎发育良好,个体数一般为 8 ~ 10 枚模型组流产子宫经过台盼蓝染色,宫腔内的流产胚胎仅见紫蓝色着床点,或呈黑褐色瘀血状,吸收胚胎明显较正常胚胎小,发育不同步,且胚胎较小,不饱满,吸



注:A 为空白组;B 为模型组;C 为西药组;D 为助孕宁 I 号高剂量组;E 为助孕宁 I 号中剂量组;F 为助孕宁 I 号低剂量组

图 1 6 组小鼠灌胃后各组胚胎形态比较  
(台盼蓝染色, ×5)

表 1 各组孕鼠死胎率比较

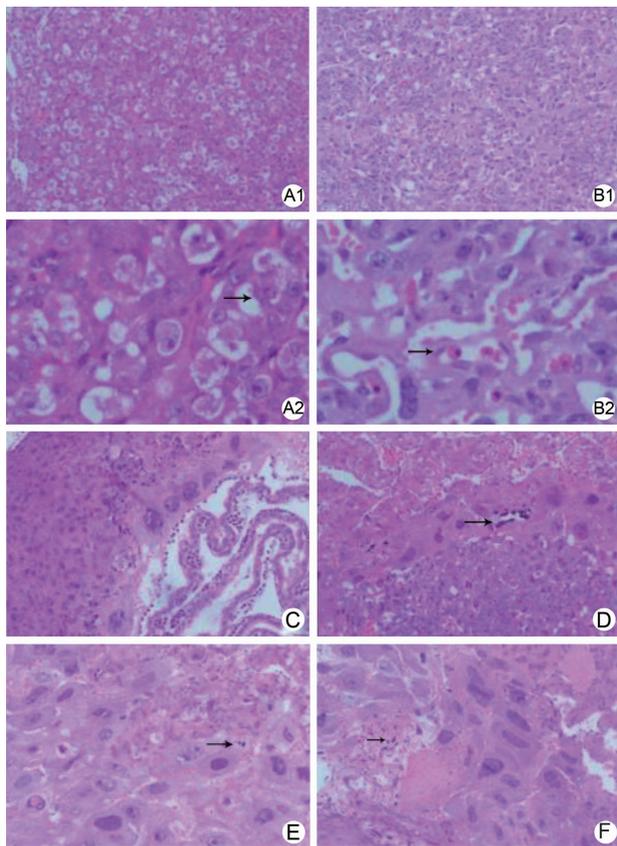
[%(组内死胎率总和/组内鼠个数)]

组别	n	死胎率
空白	15	11.6(1.74/15)
模型	15	37.9(5.68/15)*
西药	15	19.7(2.95/15) <sup>△</sup>
助孕宁 I 号高剂量	15	15.7(2.35/15) <sup>△</sup>
中剂量	15	16.2(2.43/15) <sup>△</sup>
低剂量	15	31.6(4.74/15)

注:与空白组比较,\*  $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$

收胚胎及未发育胚胎较多,为 3~5 枚,流产率与文献 [5] 报道的 DBA/2 × CBA/J 流产发生率相符,造模成功。西药组、助孕宁 I 号高剂量组与中剂量组胚胎完整,发育尚可,正常胚胎个体数一般为 8 枚左右,可见 1~2 枚吸收胚胎;低剂量组胚胎发育不良,吸收胚胎及未发育胚胎个数一般为 2~3 枚。与空白组比较,模型组死胎率增加 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,西药组及助孕宁 I 号高、中剂量组死胎率降低 ( $P < 0.05$ )。

2 6 组孕鼠滋养细胞形态学改变(图 2,表 2) 经肉眼可观察到,空白组滋养细胞结构清晰,连接紧密,胞质染色均匀,排列规则,血管丰富;模型组滋养细胞周围血管不丰富,细胞嗜酸性变,并可见细胞碎裂、溶解并且消失或有凋亡趋向;西药组、助孕宁 I 号高剂量组及中剂量组滋养细胞结构清晰,胞质染色均匀;低剂量组滋养细胞胞质染色欠均匀,可见细胞破碎且有凋亡趋向。



注:A 为空白组,A1(×10),A2(×40);B 为模型组,B1(×10),B2(×40);C 为西药组(×100);D 为中药低剂量组(×100);E 为中药中剂量组(×100);F 为中药高剂量组(×100);箭头所指为凋亡细胞

图 2 各组孕鼠滋养细胞在光镜下形态结果 (HE)

3 各组孕鼠蜕膜及滋养细胞中 PTEN 及 Bcl-XL 蛋白表达比较(表 2) 在妊娠早期的滋养细胞中,

PTEN 蛋白表达部位主要在滋养细胞的胞核中,Bcl-XL 蛋白表达部位主要在滋养细胞的胞浆中,均呈棕黄色颗粒性表达。滋养细胞中表达阳性率,PTEN 蛋白空白组低于模型组 ( $P < 0.05$ ),助孕宁 I 号低、高剂量组低于模型组 ( $P < 0.05$ );Bcl-XL 蛋白空白组高于模型组 ( $P < 0.05$ ),助孕宁 I 号(低、中、高)及西药组均高于模型组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

蜕膜细胞中表达阳性率,PTEN、Bcl-XL 蛋白空白组均高于模型组 ( $P < 0.01$ );助孕宁 I 号中、高剂量组均高于模型组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

表 2 6 组孕鼠滋养细胞及蜕膜中 PTEN 及 Bcl-XL 的阳性细胞着色强度水平比较

组别	n	PTEN		Bcl-XL	
		滋养细胞	蜕膜	滋养细胞	蜕膜
空白	15	+	+++	++	+++
模型	15	++*	+++	+	+++
西药	15	++	++ <sup>△</sup>	++ <sup>△</sup>	++ <sup>△</sup>
助孕宁 I 号低剂量	15	+ <sup>△</sup>	+	++ <sup>△</sup>	+
中剂量	15	++	++ <sup>△</sup>	+++ <sup>△△</sup>	+++ <sup>△△</sup>
高剂量	15	+ <sup>△</sup>	+++ <sup>△△</sup>	++ <sup>△</sup>	++ <sup>△</sup>

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$

4 6 组孕鼠滋养细胞及蜕膜中 PTEN 及 Bcl-XL mRNA 表达比较(表 3) 滋养细胞中:PTEN mRNA 的表达水平空白组低于模型组,助孕宁 I 号高、中、低剂量组及西药组高于模型组 ( $P < 0.01$ ); Bcl-XL mRNA 的表达水平空白组高于模型组,助孕宁 I 号高、中、低剂量组、西药组高于模型组 ( $P < 0.01$ )。蜕膜中:PTEN、Bcl-XL mRNA 的表达水平空白组高于模型组 ( $P < 0.01$ ),助孕宁 I 号高、低剂量组、西药组 PTEN mRNA 高于模型组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );助孕宁 I 号高、中剂量组、西药组 Bcl-XL mRNA 高于模型组 ( $P < 0.01$ )。

### 讨 论

由古代医家的理论学说可总结出,“滑胎”、“数堕胎”的最主要病因就是肾虚,可见补肾在治疗滑胎的过程中具有决定性作用。助孕宁 I 号是黑龙江中医药大学附属第一医院以补肾为主要功效的复方中药制剂,本方以丹参活血调经,补血养血;续断、菟丝子、桑寄生以补肾安胎,阿胶、黄芪、党参补血益气七味中药组成,符合补肾、活血的安胎大法。

地屈孕酮为口服纯黄体酮<sup>[7]</sup>,可有效防止孕妇由先兆流产进一步发展成流产<sup>[8-12]</sup>。地屈孕酮特殊微观的结构特点,使其口服后经胃肠道吸收、通过肝脏稳

表 3 6 组小鼠滋养细胞及蜕膜中 PTEN mRNA 及 Bcl-XL mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	PTEN mRNA		Bcl-XL mRNA	
		滋养细胞	蜕膜	滋养细胞	蜕膜
空白	15	0.60 ± 0.05	1.16 ± 0.12	1.08 ± 0.07	1.26 ± 0.11
模型	15	0.95 ± 0.06 *	0.64 ± 0.07 *	0.55 ± 0.06 *	0.72 ± 0.05 *
西药	15	1.35 ± 0.09 $\Delta\Delta$	0.90 ± 0.05 $\Delta\Delta$	1.29 ± 0.08 $\Delta\Delta$	1.29 ± 0.06 $\Delta\Delta$
助孕宁 I 号低剂量	15	1.20 ± 0.10 $\Delta\Delta$	0.88 ± 0.15 $\Delta$	1.16 ± 0.06 $\Delta\Delta$	0.79 ± 0.05
中剂量	15	1.17 ± 0.06 $\Delta\Delta$	0.61 ± 0.08	1.15 ± 0.05 $\Delta\Delta$	1.35 ± 0.10 $\Delta\Delta$
高剂量	15	0.60 ± 0.08 $\Delta\Delta$	1.29 ± 0.14 $\Delta\Delta$	0.92 ± 0.10 $\Delta\Delta$	0.96 ± 0.05 $\Delta\Delta$

注:与空白组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ , $\Delta\Delta P < 0.01$

定代谢、具有高纯浓度的孕激素活性,几乎不与其他受体结合,不良反应小,身体高利用度,应用时间长,无致畸报道,且临床及研究验证其为安全有效的孕激素<sup>[13]</sup>,因此选择地屈孕酮作为西药组灌胃药物。

细胞凋亡系指细胞遵循自身特定的规律,经过一系列基因的激活(主要为内源性 DNA 内切酶的激活)、表达及调控,进行程序性死亡的过程。细胞凋亡在胚胎发育、造血、免疫系统以及维护组织和器官细胞生长平衡乃至人体发展各个阶段都起着重要作用。正常妊娠是一个细胞不断增殖与凋亡的过程,包括绒毛及蜕膜在内的胎盘组织在动态平衡的过程中得以生长,若过度凋亡打乱抗炎反应,促炎因子增加,会促使细胞死亡<sup>[14]</sup>,平衡打破引发流产<sup>[15,16]</sup>。研究证实,自然流产患者绒毛滋养细胞凋亡明显高于正常妊娠者<sup>[17]</sup>,孕 4~5 周时合体滋养细胞及细胞滋养细胞中的细胞凋亡相对占优势,而在孕 7 周后细胞凋亡显著下降,孕晚期细胞滋养细胞凋亡率显示增高,提示胎盘滋养细胞的细胞凋亡存在于整个妊娠期,并且妊娠的不同时期可能会有不同的表现<sup>[18]</sup>。

PI3K/AKT 信号传导通路在细胞凋亡方面具有重要作用,本实验选取该通路中的下游细胞因子 PTEN 及 Bcl-XL 进行研究。PTEN 是一种抑癌基因,通过细胞凋亡机制抑制癌细胞增殖,其被发现于上个世纪九十年代,具有双磷酸酶活性,即脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性,并以此双重特异性磷酸酶活性来调控细胞周期,调节胚胎的着床和发育、细胞迁移和凋亡等<sup>[19]</sup>。PTEN 表达水平下降可降低细胞间的黏附能力,使癌细胞容易向基质侵袭<sup>[20]</sup>。其细胞凋亡作用是通过抑制由多种因子调节的 PI3K/AKT 信号传导通路,调节细胞周期中的凋亡,并影响细胞生长而实现<sup>[21]</sup>,PTEN 活性被抑制后,通路中 AKT 及其下游的信号传导通路就被激活<sup>[22]</sup>。Bcl-XL 属于 Bcl-2 基因家族中的凋亡抑制基因,存在于细胞凋亡通路<sup>[23]</sup>。在肿瘤研究领域,Bcl-XL 对肿瘤的发生和发展起到重要作用,其可能发挥独立调控功能,使细胞凋亡受到抑

制。Bcl-XL 的过度表达与诸多癌症,如前列腺癌、直肠癌等癌症都有密切关系<sup>[24,25]</sup>,也是近年来细胞凋亡的研究热点。

本实验表明,正常妊娠及 RSA 模型小鼠的滋养细胞和蜕膜中细胞凋亡基因 PTEN 和凋亡抑制基因 Bcl-XL 皆有表达,与以往研究表达趋势相一致<sup>[18]</sup>。模型组小鼠的滋养细胞与蜕膜中的凋亡呈现异常状态,导致自然流产等病理妊娠结局的发生,与研究关于细胞凋亡平衡被打破会产生疾病的结论相符<sup>[26]</sup>。我们推测在正常的早期妊娠中,滋养细胞主要以抑制凋亡为主导,使绒毛滋养细胞逐渐向蜕膜侵袭,而蜕膜中的凋亡与抑制凋亡则处在同一水平;蜕膜中细胞的凋亡有利于滋养细胞向母体生长,抑制细胞凋亡则有利于蜕膜重构。助孕宁 I 号方具有补肾活血之功效,补肾促进滋养细胞及蜕膜结构重组,活血使细胞进行有益凋亡,通过调节母胎界面凋亡及凋亡抑制因子表达来维持妊娠,或可成为防治 RSA 的可能性方法之一,但对于平衡滋养细胞及蜕膜中凋亡表达水平最适合的药物剂量还需要进一步的探究。

利益冲突:无。

## 参 考 文 献

- [1] Alijotas-Reig J, Garrido-Gimenez C. Current concepts and new trends in the diagnosis and management of recurrent miscarriage[J]. Obstet Gynecol Surv, 2013, 68(6): 445-466.
- [2] Abraham AG, O'Neill E. PI3K/Akt-mediated regulation of p53 in cancer[J]. Biochem Soc Trans, 2014, 42(4): 798-803.
- [3] Hajiaghaalipour F, Khalilpourfarshbafi M, Arya A. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in type 2 diabetes mellitus[J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(5): 508-524.
- [4] Nagai S, Kurebayashi Y, Koyasu S. Role of PI3K/Akt and mTOR complexes in Th17 cell differentiation[J]. Ann N Y Acad Sci, 2013, 1280(1):

- 30 - 34.
- [5] 邓为民, 李长虹, 廖联明, 等. 成体骨髓源多能间充质干细胞体内分化皮肤干细胞和皮肤组织[J]. 细胞生物学杂志, 2003, 25(2): 98 - 104.
- [6] Brown LY, Bonney EA, Raj RS, et al. Generalized disturbance of DNA methylation in the uterine decidua in the CBA/J x DBA/2 mouse model of pregnancy failure[J]. *Biol Reprod*, 2013, 89(5): 120.
- [7] Mirzal FG, Patki A, Pexman-Fieth C. Dydrogesterone use in early pregnancy [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(2): 97 - 106.
- [8] El-Zibdeh MY, Yousef LT. Dydrogesterone support in threatened miscarriage [J]. *Maturitas*, 2009, 65S(1): S43 - 46.
- [9] Wahabi HA, Fayed AA, Esmaeil SA, et al. Progesterone for treating threatened miscarriage[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011, 7(12): CD005943.
- [10] Alimohamadi S, Javadian P, Gharedaghi MH, et al. Progesterone and threatened abortion: A randomized clinical trial on endocervical cytokine concentrations[J]. *J Reprod Immunol*, 2013, 98(1 - 2): 52 - 60.
- [11] Kumar A, Begum N, Prasad S, et al. Oral dydrogesterone treatment during early pregnancy to prevent recurrent pregnancy loss and its role in modulation of cytokine production: a double-blind, randomized, parallel, placebo-controlled trial[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(5): 1357 - 1363.
- [12] Omar MH, Mashita MK, Lim PS, et al. Dydrogesterone in threatened abortion: pregnancy outcome [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005, 97(5): 421 - 425.
- [13] Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, et al. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles [J]. *Hum Reprod Update*, 2007, 13(6): 581 - 590.
- [14] 陈镇燕, 王琪, 黄光英, 等. 寿胎丸含药血清对自然流产患者滋养层细胞生物学特性的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 35(5): 586 - 591.
- [15] Lyall F. Mechanisms regulating cytotrophoblast invasion in normal pregnancy and pre-eclampsia [J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2006, 46(4): 266 - 273.
- [16] Green DR. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors[J]. *Cell*, 2000, 102(1): 1 - 4.
- [17] 李亚, 刘新玉, 刘昱磊, 等. 补肾益气活血方对胎儿生长受限孕鼠胎盘滋养细胞凋亡的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(6): 611 - 616.
- [18] 张月莲, 陈贵安, 刘以训, 等. 正常与药物流产绒毛蜕膜组织细胞凋亡及相关基因的表达[J]. 中华妇产科杂志, 2002, 37(4): 220 - 222.
- [19] Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression [J]. *Cell*, 2000, 100(4): 387 - 390.
- [20] Cho SH, Lee CH, Ahn Y, et al. Redox regulation of PTEN and protein tyrosine phosphatases in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediated cell signalling [J]. *FEBS Lett*, 2004, 560(1 - 3): 7 - 13.
- [21] Gonzalez-Angulo AM, Ferrer-Lozano J, Stemke-Hale K, et al. PI3K pathway mutations and PTEN levels in primary and metastatic breast cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(6): 1093 - 1101.
- [22] Wishart MJ, Dixon JE. PTEN and myotubularin phosphatases: from 3-phosphoinositide dephosphorylation to disease [J]. *Trends Cell Biol*, 2002, 12(12): 579 - 585.
- [23] Boise LH, González-García M, Postema CE, et al. Bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death [J]. *Cell*, 1993, 74(4): 597 - 608.
- [24] Li X, Marani M, Mannucci R, et al. Overexpression of Bcl-X(L) underlies the molecular basis for resistance to staurosporine-induced apoptosis in PC-3 cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(4): 1699 - 1706.
- [25] Hayward RL, Macphersin JS, Cummings J, et al. Antisense Bcl-XL down-regulation switches the response to topoisomerase I inhibition from senescence to apoptosis in colorectal cancer cells, enhancing global cytotoxicity [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(7): 2856 - 2865.
- [26] Lv B, Shi T, Wang X, et al. Overexpression of the novel human gene, nuclear apoptosis-inducing factor 1, induced apoptosis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(4): 671 - 683.

(收稿: 2018 - 03 - 19 在线: 2019 - 03 - 07)

责任编辑: 段碧芳  
英文责编: 张晶晶