

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

李 亚 刘新玉 王俊玲 刘昱磊 滕 辉

摘要 目的 探讨寿胎丸含药血清对自然流产(spontaneous abortion, SA)患者滋养层细胞增殖、侵袭、分泌等生物学特性的影响。**方法** 体外分离培养正常妊娠人工流产及 SA 患者滋养层细胞,采用不同浓度(5%、10%、20%)的寿胎丸含药血清进行干预,以空白血清(正常对照)及地屈孕酮含药血清(阳性对照)作为对照,采用噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)比色法、流式细胞术(flow cytometry, FCM)、Transwell 侵袭移动实验及 ELISA 法分别测定滋养层细胞增殖活力、周期分布、侵袭迁移能力及人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)水平。**结果** 与正常对照组比较,干预 24 h 后,SA 组细胞增殖活性明显降低($P < 0.05$),凋亡细胞(亚 G_0/G_1 期)及 G_2/M 期细胞比例明显升高,S 期细胞比例明显降低(均 $P < 0.05$);Transwell 实验示细胞侵袭及迁移能力明显降低;干预 72 h 分泌 β -HCG 水平亦明显降低(均 $P < 0.05$);与 SA 组比较,地屈孕酮组及寿胎丸各浓度组细胞增殖活性均明显升高,凋亡细胞及 G_2/M 期细胞比例明显降低,S 期细胞比例明显升高,细胞侵袭及迁移能力均明显增强;干预 72 h 分泌 β -HCG 量均明显升高(均 $P < 0.05$);滋养层细胞增殖活性、S 期细胞比例、细胞侵袭及迁移能力及分泌 β -HCG 水平随着寿胎丸含药血清浓度增加而增强,且 20% 寿胎丸组对滋养层细胞的作用均优于地屈孕酮组($P < 0.05$)。**结论** 寿胎丸含药血清呈剂量依赖性地增强 SA 患者滋养层细胞的增殖活性、侵袭迁移力及分泌 β -HCG 能力,减少细胞凋亡,可能为寿胎丸防治 SA 的作用机制之一。

关键词 寿胎丸;滋养层细胞;自然流产;生物学特征

Effects of Shoutai Pill Containing Serum on Bioactivity Behavior of Trophoblast Cells of Spontaneous Abortion Patients LI Ya, LIU Xin-yu, WANG Jun-ling, LIU Yu-lei, and TENG Hui Department of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen Maternal and Child Healthcare Hospital, Southern Medical University, Shenzhen (518028)

ABSTRACT Objective To explore the effect of Shoutai Pill (STP) containing serum on bioactivity behaviors of trophoblast cells in spontaneous abortion (SA) patients such as cell proliferation, invasion, migration and secretion. **Methods** Trophoblast cells in artificial abortion in normal pregnancy and SA patients were isolated and cultured *in vitro*, which were then treated with STP containing serum at various concentrations (5%, 10%, 20%, respectively). Blank serum was taken as the normal control group and dydrogesterone containing serum as the dydrogesterone control group. The proliferation, cycle distribution, invasion and migration capacity, and β human chorionic gonadotropin (β -HCG) level were detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) colorimetry, flow cytometry (FCM), Transwell experiments, and ELISA, respectively. **Results** Compared with the normal control group, the activity of cell proliferation obviously decreased, ratios of apoptotic cells (Sub G_0/G_1) and G_2/M phase were obviously elevated, S phase cell ratio was obviously reduced (all $P < 0.05$). Transwell experiments indicated invasion and migration capacity obviously decreased, secreted β -HCG level were obviously reduced after 72-h intervention ($P < 0.05$). Compared with the SA group, the activity of cell proliferation obviously increased, ratios of apoptotic cells and G_2/M phase were obviously reduced, S phase cell ratio was obviously elevated, in-

基金项目:深圳市科技创新委员会基础科研项目(No. JCYJ20130402093356218)

作者单位:南方医科大学附属深圳市妇幼保健院中医科(广东 518028)

通讯作者:王俊玲, Tel: 0755-83506106, E-mail: wjl97@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.05.0586

vasion and migration capacity were obviously enhanced, secreted β -HCG level were obviously elevated after 72-h intervention in the dydrogesterone control group and each STP containing serum group (all $P < 0.05$). The activity of trophoblastic cell proliferation, S phase cell ratio, invasion and migration capacity, and secreted β -HCG level were strengthened along with increased STP containing serum. Besides, the effects of 20% STP containing serum group were significantly superior to those of the dydrogesterone control group ($P < 0.05$). Conclusion STP containing serum could dose-dependently enhance the proliferative activity of trophoblastic cells, invasion and migration capacity, secretion of β -HCG, and reduce the apoptosis of trophoblast cells, which might be one of mechanisms for STP preventing and treating SA.

KEYWORDS Shoutai Pill; trophoblast cell; spontaneous abortion; bioactivity behavior

滋养层细胞(trophoblast, TB)来源于胚泡周围的滋养层,胚泡着床后细胞滋养细胞可分裂增殖形成生物学特性不同的绒毛滋养细胞及绒毛外细胞滋养细胞,其增殖分化、侵袭、分泌等生物学功能对胎盘的结构功能及胚胎生长发育起着重要作用^[1-3]。中医学认为,安胎首重补肾,寿胎丸即是这一基本治法的体现,也是防治自然流产(spontaneous abortion, SA)的代表方。研究表明,寿胎丸对 SA 患者具有较好的临床疗效^[4-6],本研究探讨寿胎丸对 SA 患者 TB 生物学特性的影响及其可能的作用机制,为进一步研究该复方防治 SA 的分子生物学机制及其作用靶点奠定基础。

材料与方法

1 动物 30 只成年雌性 SD 大鼠,SPF 级,体重(200 ± 20)g,由南方医科大学动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK(粤)2011-0015。大鼠饲养于南方医科大学实验动物中心清洁屏障环境中,温度 $20 \sim 22^\circ\text{C}$,光照/黑暗 12 h/12 h,相对湿度 40% ~ 70%,适应性饲养 1 周。整个实验过程大鼠自由摄食饮水。

2 药物 寿胎丸药物组成:菟丝子(批号:131117)、桑寄生(批号:131211)、续断(批号:131116)、阿胶(批号:1309068),中药饮片均购自深圳市华辉药业有限公司。将上述 4 味药按 4:3:3:2 的比例混合,提取水溶性部分制成溶液,浓缩至含生药量 1 g/mL。地屈孕酮片(10 mg/片,批号:L08040210003b)购自雅培制药有限公司。

3 试剂与仪器 主要试剂:胎牛血清购自美国 Gibco 公司(批号:10099141),细胞角蛋白(批号:BM1618)、波形蛋白抗体购自上海泽迈公司(批号:BM0135),免疫组化试剂盒(KIT-5020,羊抗鼠/兔)购自福州迈新公司,MTT 购自南京凯基生物公司(KGA312),ELISA 试剂盒购自美国 Cusabio 公司。

主要仪器:旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司),TG16-W 台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),全自动酶标仪(美国 Thermo Electron 公司),流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)。

4 标本采集 分别选取深圳市妇幼保健院妇科门诊人流室妊娠 6 ~ 10 周的正常妊娠自愿人工流产及 SA 患者的绒毛组织。其中正常妊娠人工流产者年龄 20 ~ 32 岁,平均年龄(27.3 ± 4.9)岁,孕龄(8.6 ± 1.0)周;SA 患者年龄 20 ~ 32 岁,平均年龄(27.5 ± 3.1)岁,孕龄(8.4 ± 1.2)周。无妊娠合并症及并发症,均征得患者本人同意。两组年龄及孕龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

5 方法

5.1 含药血清制备 将 30 只 SD 大鼠随机分为 3 组,每组 10 只,分别为空白血清对照组(等量生理盐水灌胃)、寿胎丸组(6.25 g/kg 剂量灌胃)、地屈孕酮组(2.08 mg/kg 剂量灌胃),每天给药 2 次,连续 3 天,末次给药前禁食不禁水 12 h,上述给药剂量均根据人鼠标准体重剂量折算系数计算^[7]。末次给药 1 h 后麻醉采血,制备不同浓度(5%、10%、20%)的寿胎丸含药血清、地屈孕酮含药血清及空白血清。

5.2 滋养细胞分离、培养和鉴定 按照参考文献^[8],绒毛组织经充分洗涤后,去除蜕膜组织及血污,剩余组织剪碎至约 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 大小,加入 0.25%胰蛋白酶 37°C 振荡消化约 5 min,取上清液,沉淀再加入 0.1% I 型胶原酶 37°C 振荡消化后取上清,10%胎牛血清终止消化,残余组织继续重复以上步骤直至组织消化完全。消化液过滤离心后,制成细胞悬液并小心铺于 Percoll 梯度液上(30%和 60%), $2\ 500\text{ r/min}$, 20°C 离心 20 min,吸取云雾絮状中层细胞带。将细胞种植于含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的 DMEM/F12 全培养液中,置于 37°C 5% CO_2 培养箱中培养。细胞鉴定采用 SP 法,免疫组化检测贴壁细胞中

细胞角蛋白-7 (cytokeratin-7, CK-7) 和波形蛋白 (Vimentin) 表达。

5.3 实验分组 将原代培养的 TB 随机分为 6 组:即正常对照组(正常妊娠 TB + 空白血清)、SA 组(SA 患者 TB + 空白血清)、地屈孕酮组(SA 患者 TB + 地屈孕酮含药血清)、5% 寿胎丸组(SA 患者 TB + 5% 寿胎丸含药血清)、10% 寿胎丸组(SA 患者 TB + 10% 寿胎丸含药血清)、20% 寿胎丸组(SA 患者 TB + 20% 寿胎丸含药血清)。

5.4 MTT 法检测细胞增殖活力 在 96 孔板加入细胞 100 μ L/孔(约 1×10^4),培养 4 h 后去除培养液,洗两次,按照上述分组给药,分别培养 24、48、72 h,加入工作浓度的 MTT,继续培养 4 h,采用酶标仪在 470 nm 波长处测光密度。

5.5 细胞周期分析 含药血清培养细胞 24、48 h,常规计数收集细胞,70% 冷乙醇固定,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,PBS 洗细胞,加入 100 μ L RNA 酶(10 mg/mL) 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min,PI 染色,采用流式细胞仪 (FCM) 检测,应用 Cell Modifit 软件进行分析。

5.6 Transwell 侵袭及移动实验 将 50 mg/L Matrigel 1:8 稀释液混匀,均匀涂抹于 Transwell 微孔膜上室面,加入含有 BSA 的无血清培养基,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。制备细胞悬液(2.5×10^5 /mL),在 24 孔板下室加入 1 mL 含胎牛血清的培养液,上室加细胞悬液,培养 72 h,用棉签轻拭去上层细胞,4% PFA 固定,吉姆萨染液染色,倒置显微镜下计数,每组随机记取 5 个高倍视野,取其均数。Transwell 移动实验除 Transwell 小室膜不铺 Matrigel 外,其余步骤同侵袭实验。

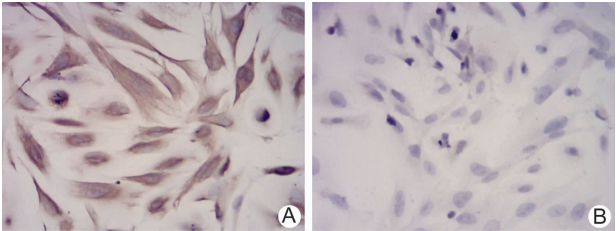
5.7 激素水平测定 细胞培养 72 h 后,吸出上清液,采用 ELISA 法检测培养瓶上清液人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)浓度。

6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,不同时间点数据采用重复测量方差分析,各处理组间及不同时间点两两比较采用 LSD 检

验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 TB 鉴定(图 1) CK-7 染色阳性,而 Vimentin 染色阴性。正常妊娠与 SA 患者滋养层细胞阳性表达率均大于 90%。



注:A 为 CK-7 染色阳性;B 为 Vimentin 染色阴性

图 1 TB 鉴定 (免疫组化 SP 法, $\times 400$)

2 各组 TB 增殖活性比较(表 1) 含药血清干预前(0 h),各组 TB 增殖活性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组比较,干预 24、48、72 h 后,SA 组细胞增殖活性明显降低(均 $P < 0.05$);与 SA 组比较,地屈孕酮组及寿胎丸各浓度组细胞增殖活性均明显升高($P < 0.05$);与地屈孕酮组比较,20% 寿胎丸组细胞增殖活性明显升高,5%、10% 寿胎丸组明显降低($P < 0.05$);TB 增殖活性随着寿胎丸含药血清浓度的升高而增加($P < 0.05$)。不同干预时间比较,差异有统计学意义($F = 289.241, P < 0.05$),且 TB 增殖活性随作用时间延长而增加,干预 72 h 与 48 h 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 各组 TB 细胞周期分布比较(表 2) 与正常对照组比较,干预 24 h 后,SA 组凋亡细胞(亚 G_0/G_1 ,%)及 G_2/M 期细胞比例明显升高,S 期细胞比例明显降低(均 $P < 0.05$);与 SA 组比较,地屈孕酮组及寿胎丸各浓度组凋亡细胞及 G_2/M 期细胞比例明显降低,S 期细胞比例明显升高($P < 0.05$);与地屈孕酮组比较,20% 寿胎丸组凋亡细胞及 G_2/M 期细胞比例明

表 1 各组 TB 增殖活力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TB 增殖活力			
		0 h	24 h	48 h	72 h
正常对照	3	54.70 $\pm$ 0.87	56.20 $\pm$ 0.72	58.60 $\pm$ 0.70	59.30 $\pm$ 0.72
SA	3	53.63 $\pm$ 0.74	54.53 $\pm$ 0.76*	56.90 $\pm$ 0.62*	57.63 $\pm$ 0.76*
地屈孕酮	3	54.23 $\pm$ 0.81	66.77 $\pm$ 1.06 Δ	69.30 $\pm$ 1.08 Δ	69.87 $\pm$ 1.06 Δ
5% 寿胎丸	3	53.90 $\pm$ 0.44	58.00 $\pm$ 1.21 $\Delta\Delta$	60.37 $\pm$ 1.36 $\Delta\Delta$	61.13 $\pm$ 1.17 $\Delta\Delta$
10% 寿胎丸	3	53.37 $\pm$ 0.57	60.73 $\pm$ 1.97 $\Delta\Delta$	63.13 $\pm$ 1.86 $\Delta\Delta$	63.83 $\pm$ 1.97 $\Delta\Delta$
20% 寿胎丸	3	53.47 $\pm$ 1.17	69.73 $\pm$ 1.47 $\Delta\Delta$	71.90 $\pm$ 1.30 $\Delta\Delta$	72.83 $\pm$ 1.47 $\Delta\Delta$

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与 SA 组比较, $\Delta P < 0.05$;与地屈孕酮组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$

表 2 各组 TB 细胞周期分布比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	亚 G ₀ /G ₁ 期		S 期		G ₂ /M 期	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
正常对照	3	25.23 ± 0.36	27.86 ± 0.26	15.97 ± 0.14	12.90 ± 0.17	29.91 ± 0.75	33.57 ± 0.25
SA	3	26.58 ± 0.58 *	29.10 ± 0.25 *	10.41 ± 0.69 *	10.63 ± 0.48 *	34.88 ± 0.43 *	37.57 ± 0.12 *
地屈孕酮	3	17.76 ± 0.75 [△]	17.10 ± 0.13 [△]	23.94 ± 0.57 [△]	30.09 ± 0.26 [△]	23.91 ± 0.38 [△]	21.43 ± 0.44 [△]
5% 寿胎丸	3	23.86 ± 0.41 ^{△△}	23.14 ± 0.33 ^{△△}	15.85 ± 0.22 ^{△△}	21.19 ± 0.43 ^{△△}	31.15 ± 0.55 ^{△△}	29.50 ± 0.46 ^{△△}
10% 寿胎丸	3	20.75 ± 0.62 ^{△△}	19.93 ± 0.34 ^{△△}	20.84 ± 0.32 ^{△△}	26.46 ± 0.30 ^{△△}	28.74 ± 0.93 ^{△△}	25.72 ± 0.41 ^{△△}
20% 寿胎丸	3	14.03 ± 0.26 ^{△△}	11.62 ± 0.41 ^{△△}	32.35 ± 0.82 ^{△△}	35.20 ± 0.33 ^{△△}	18.78 ± 0.89 ^{△△}	15.97 ± 0.44 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与 SA 组比较,[△] $P < 0.05$;与地屈孕酮组比较,^{△△} $P < 0.05$

显降低,S 期细胞比例明显升高($P < 0.05$),5% 及 10% 寿胎丸组凋亡细胞及 G₂/M 期细胞比例明显升高,S 期细胞比例明显降低($P < 0.05$)。随着寿胎丸含药血清浓度的升高,凋亡细胞及 G₂/M 期细胞比例降低,S 期细胞比例升高($P < 0.05$)。作用 48 h 的细胞周期分布变化趋势与 24 h 一致,且变化更明显。

4 各组 TB 侵袭及迁移能力比较(表 3) 与正常对照组比较,SA 组细胞侵袭及迁移能力明显降低($P < 0.05$);与 SA 组比较,地屈孕酮组及寿胎丸各浓度组细胞侵袭及迁移能力均明显增强($P < 0.05$);与地屈孕酮组比较,20% 寿胎丸组细胞侵袭及迁移能力明显升高,5%、10% 寿胎丸组明显降低($P < 0.05$)。TB 侵袭及迁移能力随寿胎丸含药血清浓度的升高而增强($P < 0.05$)。

表 3 各组 TB 侵袭及迁移能力比较 (个/高倍视野, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	侵袭细胞计数	迁移细胞计数
正常对照	15	37.00 ± 4.12	53.60 ± 4.39
SA	15	26.60 ± 3.58 *	37.60 ± 4.78 *
地屈孕酮	15	143.60 ± 6.43 [△]	150.00 ± 9.87 [△]
5% 寿胎丸	15	72.80 ± 5.31 ^{△△}	79.60 ± 4.04 ^{△△}
10% 寿胎丸	15	107.60 ± 8.79 ^{△△}	114.80 ± 12.24 ^{△△}
20% 寿胎丸	15	174.60 ± 5.18 ^{△△}	178.60 ± 9.04 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与 SA 组比较,[△] $P < 0.05$;与地屈孕酮组比较,^{△△} $P < 0.05$

5 各组 TB 分泌 β-HCG 水平比较(表 4) 干预 72 h 后,与正常对照组比较,SA 组细胞分泌 β-HCG 含

表 4 各组 TB 分泌 β-HCG 水平比较 (mIU/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	β-HCG	
		0 h	72 h
正常对照	2	2.61 ± 0.06	22.22 ± 0.24
SA	2	2.77 ± 0.04	18.95 ± 0.09 *
地屈孕酮	2	2.65 ± 0.04	21.47 ± 0.33 [△]
5% 寿胎丸	2	2.84 ± 0.07	29.82 ± 0.39 ^{△△}
10% 寿胎丸	2	2.58 ± 0.06	37.36 ± 0.12 ^{△△}
20% 寿胎丸	2	2.61 ± 0.10	67.92 ± 0.59 ^{△△}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与 SA 组比较,[△] $P < 0.05$;与地屈孕酮组比较,^{△△} $P < 0.05$

量明显降低($P < 0.05$);与 SA 组比较,地屈孕酮组及寿胎丸各浓度组细胞分泌 β-HCG 含量均明显升高($P < 0.05$);寿胎丸各浓度组细胞分泌 β-HCG 含量均明显高于地屈孕酮组($P < 0.05$),且细胞分泌 β-HCG 含量随含药血清浓度升高而增加,呈明显的剂量依赖性($P < 0.05$)。

讨 论

寿胎丸出自《医学衷中参西录》,是保胎名方,由菟丝子、桑寄生、续断和阿胶 4 味药组成,具有补肾固冲安胎的功效,临床应用广泛。研究发现寿胎丸能改善肾虚—黄体抑制流产模型大鼠的流产状态,降低流产率,提高雌孕激素水平、增强黄体功能^[9, 10],表明寿胎丸能通过调控生殖内分泌系统起到安胎效果。目前对寿胎丸防治 SA 的分子机制主要集中在免疫因素方面,包括激活信号传导与转录激活因子(STAT)3 和 STAT6 信号转导途径、上调 AnnexinA₂ 及转甲腺素(TTR)蛋白表达、调节母胎界面局部 Th1/Th2 型细胞因子的表达等^[11-13]。

滋养细胞对胚泡的植入及妊娠的维持起重要作用,由绒毛滋养细胞融合形成的合体滋养细胞直接参与母体-胎儿之间物质交换,丧失了增殖能力,需要由细胞滋养细胞持续增生、融合以维持其功能,因此细胞滋养细胞的增殖能力是胚胎正常生长发育的基础,研究证实 SA 绒毛滋养细胞凋亡明显高于正常妊娠者,提出滋养细胞的过度凋亡可能是 SA 的发生机制之一^[14, 15]。本研究中 MTT 检测细胞增殖活力的变化发现,寿胎丸含药血清能明显促进 SA 患者 TB 的增殖活力,并随着浓度的增加而增强,20% 浓度寿胎丸含药血清作用明显优于地屈孕酮组。采用 FCM 分析不同浓度寿胎丸含药血清作用后各细胞周期的比例,发现 S 期细胞明显增多,凋亡细胞及阻滞在 G₂/M 期的细胞减少,表明寿胎丸含药血清可诱导细胞处于 DNA 合成期和有丝分裂期,促进细胞增殖,减少细胞凋亡。其机制可能在于控制或阻断了凋亡调控相关基因(如

Bax 蛋白、FasL 基因、野生型 p53 基因等)的作用途径^[16-18]。寿胎丸及其组分发挥安胎药效的物质基础及其机制仍需进一步研究证实。目前对寿胎丸组分的研究发现,菟丝子总黄酮能降低流产模型大鼠的流产率,下调蜕膜、胎盘 Fas/FasL 的表达,改善滋养细胞凋亡及增殖状态,作用与地屈孕酮相似^[19-21]。

滋养层细胞具有类似肿瘤细胞的侵袭迁移行为,可侵入子宫将胚胎黏附于子宫内膜,侵入血管内皮开启胎盘的血流供应。滋养细胞的侵入过程受机体精细的调控,若侵入不足就可导致 SA、胎儿宫内发育迟缓等的发生^[22]。本实验 Transwell 检测发现寿胎丸含药血清呈浓度依赖性地促进 SA 患者 TB 的侵袭及迁移能力,其可能的机制有:促进基质金属蛋白酶-2 (MMPs-2) 和 MMP-9 的转录与表达,上调其分泌水平^[23, 24];下调 E-钙黏蛋白的表达^[25];调控胎盘特异性基因 (PLAC1) 的表达等^[26]。

滋养层细胞分泌足量 HCG 对胚胎发育有重要意义,ELISA 法测定含药血清干预后 β -HCG 的分泌量发现,寿胎丸含药血清能明显促进细胞分泌功能,且呈浓度依赖性,其作用明显优于地屈孕酮。此外,研究发现寿胎丸及其君药菟丝子能提高流产模型大鼠孕激素水平,促进体外培养人早孕绒毛组织 HCG 的分泌,并可能通过影响妊娠黄体 and 胎盘 HCG/LH 受体的表达促进黄体和胎盘的发育,从而达到维持妊娠的作用^[21, 27]。

综上,本研究证实寿胎丸含药血清能明显增强 SA 患者滋养层细胞的增殖活性、侵袭迁移力及激素分泌能力,减少细胞凋亡。寿胎丸为中药复方,成分复杂,其作用具有多靶点、多层次的特点,该复方发挥多效性作用的物质基础、分子机制和作用靶点仍有待深入研究,进而为中医药防治 SA 提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Qumsiyeh MB, Kim KR, Ahmed MN, et al. Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi[J]. Cytogenet Cell Genet, 2000, 88(3-4): 230-235.
- [2] Minas V, Jeschke U, Kalantaridou SN, et al. Abortion is associated with increased expression of FasL in decidual leukocytes and apoptosis of extravillous trophoblasts: a role for CRH and urocortin[J]. Mol Hum Reprod, 2007, 13(9): 663-673.
- [3] Tian FJ, Qin CM, Li XC, et al. Decreased stathmin-1 expression inhibits trophoblast proliferation

and invasion and is associated with recurrent miscarriage[J]. Am J Pathol, 2015, 185(10): 2709-2721.

- [4] 韩永梅,卫爱武. 寿胎丸治疗先兆流产临床研究[J]. 中医学报, 2013, 28(7): 1025-1026.
- [5] 陈兰,曹佩霞. 寿胎丸治疗先兆流产 164 例分析[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(32): 5372-5373.
- [6] 郜洁,罗颂平. 寿胎丸治疗先兆流产临床观察[J]. 新中医, 2011, 42(8): 81-83.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修主编. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:1049-1050.
- [8] Petroff MG, Phillips TA, Ka H, et al. Isolation and culture of term human trophoblast cells[J]. Methods Mol Med, 2006, 121: 203-217.
- [9] 郜洁. 寿胎丸的药物组成及其补肾安胎的药效学研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2009.
- [10] 郜洁,罗颂平. 寿胎丸不同提取部位对肾虚流产模型孕鼠补肾安胎的药效学筛选[J]. 中药材, 2011, 34(8): 1251-1255.
- [11] 何冬梅,尤昭玲,赖毛华,等. 寿胎丸对反复自然流产小鼠母胎界面 CD4⁺ T 细胞 STAT 信号转导途径的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(1): 23-25.
- [12] 李慧芳,雷磊,谭展望,等. 寿胎丸对 RSA 模型小鼠子宫蜕膜 Annexin A2 及 TTR 表达影响的研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 32(11): 2369-2372.
- [13] 赖毛华,尤昭玲,马红霞,等. 寿胎丸对母胎界面 Th1/Th2 细胞因子和妊娠结局的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3065-3068.
- [14] Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in human chorionic villi and decidua in normal and ectopic pregnancy[J]. Mol Hum Reprod, 1998, 4(1): 87-91.
- [15] 贺子秋,刘岚,陶昱. 自然流产绒毛与蜕膜组织中细胞凋亡的研究[J]. 同济大学学报(医学版), 2010, 31(3): 38-40.
- [16] Mu J, Kanzaki T, Si X, et al. Apoptosis and related proteins in placenta of intrauterine fetal death in prostaglandin of receptor-deficient mice[J]. Biol Reproduct, 2003, 68(6): 1968-1974.
- [17] Choi HK, Choi BC, Lee SH, et al. Expression of angiogenesis- and apoptosis-related genes in chorionic villi derived from recurrent pregnancy loss patients[J]. Molec Reprod Develop, 2003, 66(1): 24-31.
- [18] He G, Xu W, Chen Y, et al. Abnormal apoptosis of trophoblastic cells is related to the up-regulation of CYP11A gene in placenta of preeclampsia patients[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59609.

- [19] 刘华, 韦炳华, 马红霞, 等. 菟丝子黄酮对流产大鼠模型母胎免疫平衡因子的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(10): 837-841.
- [20] 马红霞, 尤昭玲, 王小云. 菟丝子总黄酮对大鼠流产模型母-胎界面 Fas/FasL、PCNA、HB-EGF 表达的影响[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1706-1709.
- [21] 马红霞, 尤昭玲, 王若光. 菟丝子总黄酮对大鼠流产模型血清 P、PR、Th1/Th2 细胞因子表达的影响[J]. 中药材, 2008, 31(8): 1201-1204.
- [22] Carter AM, Enders AC, Pijnenborg R. The role of invasive trophoblast in implantation and placentation of primates [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2015, 370(1663): 20140070.
- [23] Staun-Ram E, Goldman S, Gabarin D, et al. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and-9) in human trophoblast invasion [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2004, 2(1): 59.
- [24] Deng Q, Chen Y, Yin N, et al. N-acetyl glucosaminyl transferase V inhibits the invasion of trophoblast cells by attenuating MMP2/9 activity in early human pregnancy [J]. Placenta, 2015, 36(11): 1291-1299.
- [25] Wheelock MJ, Johnson KR. Cadherins as modulators of cellular phenotype [J]. Ann Rev Cell Develop Biol, 2003, 19(1): 207-235.
- [26] Chang WL, Yang Q, Zhang H, et al. Role of placenta-specific protein1 in trophoblast invasion and migration [J]. Reproduction, 2014, 148(4): 343-352.
- [27] 秦达念, 余白蓉, 余运初. 菟丝子黄酮对实验动物及人绒毛组织生殖功能的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(6): 349-351.

(收稿:2015-04-20 修回:2015-12-28)

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2016 年 *Chinese Journal of Integrative Medicine*

Chinese Journal of Integrative Medicine (《中国结合医学杂志》)是由中国中西医结合学会、中国中医科学院主办的国际性学术期刊,旨在促进结合医学及替代医学的国际交流,及时发表结合医学或替代医学领域的最新进展、趋势以及临床实践、科学研究、教育、保健方面经验和成果的科学论文。1995 年创刊,由中国科学院院士陈可冀担任主编。设有述评、专题笔谈、论著、临床经验、病例报道、综述、药物相互作用、法规指南、学术探讨、思路与方法、跨学科知识、会议纪要、书评、读者来信等栏目。本刊被多种国际知名检索系统收录,如:Science Citation Index Expanded (SCI-E)、Index Medicus/Medline、Chemical Abstracts (CA)、Abstract Journal (AJ)、CAB Abstracts、CAB International、Excerpta Media (EMBASE)、Expanded Academic、Global Health、Google Scholar、Index Copernicus (IC)、Online Computer Library Center (OCLC)、SCOPUS 等。本刊于 2007 年被 SCI-E 收录。根据 2014 年 7 月底汤姆森公司公布的 2013 年期刊引证报告,本刊 SCI 影响因子为 1.401。2010 年 10 月 1 日与汤森路透集团签约,正式采用 ScholarOne Manuscripts 在线投审稿系统。

Chinese Journal of Integrative Medicine 为大 16 开本,铜版纸印刷,彩色插图,2011 年改为月刊,80 页,国内定价为 40.00 元/期,全年定价:480.00 元。国际标准刊号:ISSN 1672-0415,国内统一刊号:CN 11-4928/R,国内邮发代号:82-825,海外发行由 Springer 公司代理。国内订户在各地邮局均可订阅,也可直接汇款至本社邮购。

地址:北京海淀区西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社,邮政编码:100091;电话:010-62886827,62876547,62876548;传真:010-62874291;E-mail: cjim_en@cjim.cn;网址: <http://www.cjim.cn>。