

亚群, ALT 正常组和 ALT 不正常组间 T 淋巴细胞各亚群无显著性差异; AST 不正常组 CD8⁺ 细胞明显低于 AST 正常组, 而 CD3⁺ 细胞和 CD4⁺ 细胞则无显著性差异, 表明感染后肝损伤较轻时外周血细胞免疫处于动态平衡, 若是病情较重如合并有心肌损伤等, 则外周血细胞免疫动态平衡处于紊乱状态, 提示临床上患者感染后若 AST 升高且细胞免疫紊乱, 应充分考虑并发其他如心肌损伤的可能。

综上所述, 麻疹患儿感染早期存在 T 淋巴细胞免疫功能紊乱和不同程度的肝损伤, 外周血 T 淋巴细胞亚群和血清酶学的测定, 有助于麻疹患儿的免疫状态

监测和肝损伤的早期诊断。

参考文献

- 1 陈灏珠. 实用内科学. 10 版, 北京: 人民卫生出版社, 1997: 296
- 2 杨绍基. 传染病学. 7 版, 北京: 人民卫生出版社, 2008: 69: 74
- 3 章松平, 邱莲女, 厉小玉, 等. 麻疹患儿外周血 T 淋巴细胞及杀伤细胞分析. 中国公共卫生, 2010, 26(1): 9-10
- 4 赵红心, 张福杰, 姚均, 等. 成人麻疹急性期外周血 T 淋巴细胞亚群测定的临床意义. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, (3): 204
- 5 韩国强, 张桂莲. 麻疹患儿免疫状态的探讨. 温州医学院学报, 2002, 32(4): 237-238

(收稿: 2010-11-23)

(修回: 2010-12-14)

小柴胡汤对大鼠子宫内膜异位症 COX-2、P450arom 表达的影响

潘 丽 郑 辉

摘 要 目的 探讨小柴胡汤对大鼠子宫内膜异位症(内异症)的治疗作用及其机制。**方法** 建立大鼠内异症动物模型, 随机分为空白对照组、模型对照组、小柴胡汤组、丹那唑组、联合用药组(小柴胡汤+丹那唑), 利用免疫组化方法, 观察分析各组大鼠在位、异位内膜中 COX-2、P450arom 的表达水平。**结果** COX-2、P450arom 在正常子宫内膜无表达, 而在内异症内膜有强表达; 小柴胡汤组和联合用药组 COX-2、P450arom 的表达水平明显低于模型对照组($P < 0.05$); 而西药丹那唑组 COX-2 的表达水平无明显变化, 但 P450arom 的表达明显低于模型组($P < 0.01$)。**结论** 小柴胡汤可能通过下调异位内膜 COX-2、P450arom 的表达, 抑制局部雌激素的产生而达到治疗目的。

关键词 子宫内膜异位症 小柴胡汤 COX-2 P450arom

Effect of Xiaochaihu Soup on the Expression of COX-2 and P450arom of Endometriosis in Rats. Pan Li, Zheng Hui. Department of Physiology of Nursing School, Guangzhou Medical College, Guangdong 510180, China

Abstract Objective To investigate the effect of Xiaochaihu soup on treatment endometriosis in rats and to explore the mechanism of Xiao chaihu soup on treatment. **Methods** The rat model of endometriosis was established and the rats were treated with Xiaochaihu soup. The height of endometrial epithelium on endometriotic tissue(EOS) was investigated by the morphometry method. Expression of cyclooxygenase-2(COX-2) and aromatase cytochrome P450(P450arom) in each group of endometrium and endometriotic tissue was observed by immunohistochemistry method. **Results** The expression of COX-2 and P450 arom in the endometriotic tissue was lower than endometrium in Xiaochaihu soup group and Xiaochaihu soup plus Danazol group. The expression of COX-2 in EOS of Danazol group was of no difference with the control group although the expression of P450 arom was lower than the control group($P < 0.01$). **Conclusion** The mechanism of Xiao Chaihu Tang on the treatment endometriosis may be decreasing the expression of COX-2 and P450arom and reducing the form of estradiol.

Key words Endometriosis; Xiaochaihu soup; COX-2; P450arom

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs, 简称内异

症)是一种雌激素依赖的良性疾病, 内异症病灶随着血中雌激素的消长而增殖萎缩。实验表明, 内异症在位、异位内膜中均有高水平雌激素(estradiol, E₂)表达, 高水平 E₂ 对内异症发生、发展起重要作用^[1]。本实验采用免疫组化方法观察内异症大鼠环氧合酶-2

作者单位: 510108 广州医学院护理学院医学基础学部(潘丽); 510240 广州暨南大学生理学教研室(郑辉)

通讯作者: 郑辉, 电子信箱: tlihz@jnu.edu.cn

(cyclooxygenase - 2, COX - 2) 和芳香化酶(Aromatase cytochrome P450, P450arom) 的表达水平, 探讨异位内膜局部 E₂ 的产生机制及小柴胡汤对内异症生殖内分泌的调节作用。

材料与方法

1. 实验动物: 选择健康雌性成年 SD 大鼠, 体重 200 ~ 250g, 由广东省医学实验动物中心提供。

2. 方法: (1) 模型制备: 经阴道涂片检查, 参照 Jones 等^[2]建模方法在大鼠动情期进行建模。缝合切口, 常规饲养。(2) 分组给药观察: 建模 3 周后, 择动情期开腹, 可见移植的子宫内膜体积明显增大, 并形成内有液体积聚表面有血管攀生的透明小泡, 证明建模成功。用两脚规测量移植物的体积 V₁ (长 × 宽 × 高) mm³。将建模成功的大鼠完全随机分为 4 组: 模型对照组 (n = 11)、小柴胡汤组 (n = 11)、丹那唑组 (n = 11) 和联合用药组 (n = 10) 进行药物治疗, 另外随机选取 10 只大鼠作为空白对照组。其中空白对照组和模型对照组每日灌服蒸馏水 2ml, 小柴胡汤组每日灌服 2ml (含生药 4g), 丹那唑组每日灌服 2ml (含生药 25mg), 联合用药组每日灌服小柴胡汤和丹那唑各 1ml。每组每日给药 1 次, 连续 4 周。(3) 标本采集和处理: 给药 4 周后, 择动情期处死大鼠, 用两脚规测量移植物的体积 V₂ (长 × 宽 × 高) mm³, 择动情期处死大鼠, 取下在位、异位内膜, 在冷的 4% 多聚甲醛溶液中固定, 石蜡包埋, 4μm 厚度连续切片, 进行常规 HE 染色和免疫组化染色。(4) 免疫组化染色: 采用 SP 法, 严格按照说明进行操作。抗体: 山羊抗鼠多克隆 COX - 2 抗体由 Santa Cruz 公司提供; 兔抗鼠多克隆 P450arom 抗体由武汉博士德生物公司提供。SP 试剂盒、显色剂 DAB 由福建迈新生物有限公司提供。尽量保证所有切片均在同一条件下进行免疫组化, DAB 显色时间均为 3min。(5) 染色结果观察及图像分析: 采用 Leica Qwin 图像分析系统, 参照毛熙光等^[3]方法将染色强度 (i) 分为 3 级: 浅黄色 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分。在高倍镜 (40 ×) 下随机选取 5 个视野, 计算阳性细胞占同类细胞的比例 (Pi), 根据公式 $H = \sum_{i=1}^3 (i + 1) \times Pi$ (i: 染色强度; Pi: 不同染色强度细胞百分比; H: 蛋白表达评分) 计算出 H 值, H 值是 0 ~ 400。0 分为所有细胞均无阳性染色, 即表达阴性; 400 分为所有细胞均为强染色; 0 ~ 400 分可代表不同程度的蛋白表达水平。

3. 统计学分析: 实验数据采用 SPSS 11.50 软件进行统计学分析。体积改变以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析检测; 对于在位、异位内膜 COX - 2、P450arom 的表达评分结果采用 Wilcoxon 秩和检验分析。

结 果

1. 治疗前后在位、异位内膜体积的变化: 小柴胡汤组、丹那唑组及联合用药组对 EOS 造成的抑制效果, 比对照组大鼠自身免疫系统对 EOS 生长的抑

制作用要明显, 尤其联合用药组的抑制效果最为明显。

表 1 各组内异症大鼠移植物体积变化的比较 (mm³, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	V ₁	V ₂	Ir (%)
空白对照组	10	0	0	0
模型对照组	11	138.7 ± 47.6	134.3 ± 60.6	2.53 ± 2.74
小柴胡汤组	11	136.1 ± 23.3	38.9 ± 17.1 ^{*#}	71.0 ± 12.57 [#]
丹那唑组	11	139.9 ± 40.1	27.3 ± 17.6 ^{*#}	78.36 ± 17.56 [#]
联合用药组	10	20.02 ± 4.23	8.16 ± 1.26	57.54 ± 11.58 ^{*#}

与治疗前比较, ^{*}P < 0.01; 与对照组比较, [#]P < 0.01

2. 各组在位内膜、异位内膜 COX - 2 的表达: COX - 2 在正常大鼠子宫内膜中无表达, 各组内异症大鼠 EM、EOS 腺上皮细胞的胞质中强表达。小柴胡汤组与联合用药组异位内膜 COX - 2 表达明显低于在位内膜, 而丹那唑组与模型对照组异位内膜的表达却明显高于在位内膜。

表 2 各组在位内膜、异位内膜间 COX - 2 蛋白表达水平的比较 (H, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	H _{EM}	H _{EOS}
空白对照组	10	6.23 ± 20.34	6.23 ± 20.34
模型对照组	11	141.33 ± 25.05	166.85 ± 23.66 [#]
小柴胡汤组	11	151.07 ± 23.17	103.83 ± 12.55 ^{*##}
丹那唑组	11	137.89 ± 22.93	170.19 ± 35.26 [#]
联合用药组	10	147.51 ± 26.99	109.03 ± 14.80 ^{*#}

与对照组比较, ^{*}P < 0.01; 在位、异位内膜比较, [#]P < 0.05, ^{##}P < 0.01

3. 各组在位内膜、异位内膜 P450arom 的表达: P450arom 在正常大鼠子宫内膜中无表达, 各组内异症大鼠 EM、EOS 腺上皮细胞中强表达。各用药组 EOS 中 P450arom 的表达明显低于模型对照组。小柴胡汤组和联合用药组 EOS 中 P450arom 的表达明显低于 EM, 而丹那唑组 EM 与 EOS 中 P450arom 的表达无明显差异。

表 3 各组 EMs 大鼠 EM、EOS 中 P450arom 蛋白表达水平的比较 (H, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	H _{EM}	H _{EOS}
空白对照组	10	4.58 ± 18.59	4.58 ± 18.59
模型对照组	11	224.18 ± 14.98	250.20 ± 25.50 [#]
小柴胡汤组	11	212.95 ± 56.12	150.83 ± 21.55 ^{*#}
丹那唑组	11	187.62 ± 23.27 [*]	156.91 ± 34.92 [*]
联合用药组	10	197.73 ± 28.26	121.35 ± 23.48 ^{*#}

与对照组比较, ^{*}P < 0.01; EOS 与 EM 比较, [#]P < 0.05

讨 论

内异症的发病机制尚不完全清楚,因多发生于生育期妇女,提示发生发展与雌激素水平密切相关,任何与雌激素合成代谢有关的因素均可能影响内异症异位内膜的生长萎缩^[4]。EOS 中高表达的 COX - 2 可能通过改变异位内膜微环境、促进血管生成以及促进 PGE₂ 大量生成而参与内异症的发病^[5]。EOS 中高表达的 COX - 2 可以产生大量的 PGE₂,而 PGE₂ 是 P450arom 的有效诱导剂,可以催化 C19 雄激素向 E₂ 转化,而雌激素可以通过诱导 EOS 中更多的 COX - 2 的表达,进一步促进 PGE₂ 的生成,这样在 EOS 中形成一个正反馈环,使 EOS 局部保持高雌激素环境^[6,7]。

本实验通过对各组 EM、EOS 中 COX - 2、P450arom 表达水平的观察,证实 EOS 存在促进局部雌激素过量合成的酶系统,进一步证明局部病灶高雌激素状态参与内异症的形成与发展。

本实验中观察到丹那唑对于 COX - 2、P450arom 表达的影响不具有相关性,对 EOS 中的 COX - 2 表达无明显影响,但能够明显下调 P450arom 的表达。这种影响作用可能是通过其对下丘脑 - 垂体 - 卵巢轴中各个环节的影响而实现的,也可能是通过减少 EOS 中 IL - 1 β 和 TNF - α 的产生,减弱花生四烯酸在 COX - 2 的作用下转化成 PGE₂ 的能力,从而影响 P450 arom 的表达及雌激素的合成^[8]。但其对 COX - 2 的表达却无影响,具体机制还不清楚,可能与 COX - 2 表达的调控位点及 COX - 2 的作用途径有关,这一点还有待于进一步研究。

小柴胡汤由柴胡、黄芩、半夏、生姜、人参、甘草、大枣共 7 味药组成,是中医和解少阳的著名代表方剂。近年小柴胡汤调节免疫、抗肿瘤作用以及对神经 - 内分泌 - 免疫系统的调节作用越来越受到更多学者的重视^[9]。王自能教授等^[10,11]分析小柴胡汤的药理作用,发现小柴胡汤在免疫学方面的调节作用优势恰恰与内异症的发病机制针锋相对,首次应用小柴胡汤治疗大鼠内异症获得成功。

本实验中观察到小柴胡汤对 EM 中两种酶蛋白的表达没有调节作用,而对 EOS 中 COX - 2、P450arom 的表达有下调作用,提示小柴胡汤作用可能仅限于局部,即子宫内膜的移植物,小柴胡汤可能是通过下调 COX - 2、P450arom 的表达,减弱异位内膜局部病灶雌激素的合成而达到治疗目的。小柴胡汤具有明显的保护肝细胞作用,应用小柴胡汤联合丹那唑治疗内异症,可以相得益彰,取得满意的治疗效果。

参考文献

- 1 陈世荣,赵轩,厉芳,等. 子宫内膜异位症在位异位内膜中雌激素含量的变化. 第三军医大学学报,2006,28(4):379-381
- 2 Jones R C. The effect of a luteinizing hormone releasing hormone (LRH) agonist, levonorgestrel, danazol and ovariectomy on experimental endometriosis in the rat. Acta Endocrinologica,1984,106(2):282-288
- 3 毛熙光,彭芝兰,郑莹,等. FAS 基因蛋白在人子宫内膜的表达及意义. 泸州医学院学报,1998,21(5):361-364
- 4 Kitawaki J,Kado N,Ishihara H,et al. Endometriosis:the pathophysiology as an estrogen - dependent disease. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,2003,83:149-155
- 5 樊杨,陈必良. COX - 2 在子宫内膜异位症发病中的意义. 国外医学妇幼保健分册,2004,15(1):54-56
- 6 Gurates B,Bulun S E. Endometriosis:the ultimate hormonal disease [J]. Sem in Reproduse Med,2003,21(2):125-134
- 7 陈艳雅,卢丽娜. 细胞色素芳香化酶及环氧合酶 - 2 在子宫内异症的表达[J]. 广东医学,2007,11:56-57
- 8 Ebert AD,Bartle YJ,David M,et al. Aromatase inhibitors theoretical concept and present experience in the treatment of endometriosis[J]. Zentralbl Gynakol,2003,125(7-8):247
- 9 林子洪,傅明,廖威明,等. 复方小柴胡汤抑制荷 EAC 小鼠肿瘤生长及提高体液免疫水平的初步研究. 国际内科学杂志,2008,4:8-14
- 10 王自能,张文举,郑辉,等. 小柴胡汤联合丹那唑抑制内异症大鼠血管生成的研究. 中国病理生理杂志,2004,20(5):862-864
- 11 郑辉,左联东. 小柴胡汤诱导内异症异位内膜细胞凋亡的研究. 时珍国医国药,2007,2:151-152

(收稿:2011-02-21)

(修回:2011-03-08)

(上接第 121 页)

- 7 Bracke K,Cataldo D,Maes T,et al. Matrix metalloproteinase - 12 and cathepsin D expression in pulmonary macrophages and dendritic cells of cigarette smoke exposed mice. Int Arch Allergy Immunol,2005,138(2):169-179
- 8 Demedts IK,Bracke KR, Van Pottelberge G,et al. Accumulation of Dendritic Cells and Increased CCL20 Levels in the airways of patients

with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Am J Respir Crit Care Med,2007,175(10):998-1005

- 9 Tsoumakidou M,Bouloukaki I,Koutala H,et al Decreased sputum mature dendritic cells in healthy smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. Int Arch Allergy Immunol,2009,150(4):389-397

(收稿:2010-12-01)

(修回:2010-12-29)