

祛痰化瘀补肾方辅助 TCRA 对宫腔粘连患者 TGF- β_1 及 Smad2/3 表达的影响*

黎丽娜, 侯建峰[△], 杜娟, 李丽慧, 钟文珍, 张潇涵, 吴怡平

广东省中医院珠海医院, 广东 珠海 519000

[摘要] 目的: 观察祛痰化瘀补肾方辅助宫腔镜宫腔粘连分离术(transcervical resection of adhesion, TCRA)治疗宫腔粘连(intrauterine adhesions, IUA)患者粘连组织中转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)、Smad2/3表达的影响。方法: 收集IUA患者50例, 随机分为试验组30例与对照组20例, 两组患者TCRA术后, 试验组予中药祛痰化瘀补肾方治疗, 对照组予雌孕激素人工周期疗法治疗, 治疗2个月后复查宫腔镜。评估两组临床疗效, 免疫组化法检测治疗前后粘连组织中TGF- β_1 与Smad2/3的表达情况。结果: 两组治疗后粘连范围、性质、输卵管开口状态、子宫内膜厚度、月经状态评分差异均无统计学意义($P>0.05$); 试验组总有效率[95.0%(19/20)]高于对照组[86.7%(26/30)], 两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。TGF- β_1 与Smad2/3在IUA组织中阳性表达率高于正常内膜($P<0.05$)。治疗后, 患者宫腔恢复正常者治疗组占46.7%(14/30)、对照组占45.0%(9/20), 两组比较差异无统计学意义($\chi^2=0.13, P=0.908$)。两组仍有粘连者, 治疗后TGF- β_1 和Smad2/3表达积分均下降($P<0.05$), 但两组下降幅度比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论: 祛痰化瘀补肾方辅助TCRA治疗IUA临床疗效与雌孕激素人工周期效果相当, 对TGF- β_1 、Smad2/3表达的影响与雌孕激素人工周期治疗接近; 调节TGF- β_1 /Smad信号通路是祛痰化瘀补肾方治疗IUA可能的现代作用机制。

[关键词] 宫腔粘连; 祛痰化瘀补肾; 转化生长因子 β_1 ; Smad2/3

[中图分类号] R271.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 2096-9600(2025)01-0147-04

Effects of Phlegm-removing Stasis-resolving Kidney-Tonifying Prescription as Adjunctive Therapy of TCRA on the Expressions of TGF- β_1 and Smad2/3 in Patients with Intrauterine Adhesions

LI Lina, HOU Jianfeng[△], DU Juan, LI Lihui, ZHONG Wenzhen, ZHANG Xiaohan, WU Yiping
Zhuhai Hospital, Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Zhuhai 519000, China

Abstract Objective: To observe the influence of phlegm-removing stasis-resolving kidney-tonifying prescription as adjunctive therapy and transcervical resection of adhesion (TCRA) on the expressions of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and Smad2/3 in patients with intrauterine adhesions (IUA). Methods: All 50 IUA patients were collected and randomized into 30 cases in the test group and 20 cases in the control group, after TCRA, the test group took phlegm-removing stasis-resolving kidney-tonifying prescription orally, and the control group was given artificial cycle therapy with estrogen and progesterone, to recheck hysteroscopy after two months of the treatment. To assess clinical effects in the two groups, immunohistochemistry was used to detect the expressions of TGF- β_1 and Smad2/3 in adhesive tissue before and after the treatment. Results: The difference had no statistical meaning in the extent and nature of adhesions, state of tubal opening, endometrial thickness and the scores of menstrual state after the treatment between both groups ($P>0.05$); total effective rate of the test group was [95.0%(19/20)], higher than [86.7%(26/30)] of the control group, and the difference had no statistical meaning ($P>0.05$). Positive expressions of TGF- β_1 and Smad2/3 in the tissue of IUA were higher than these in normal endometrium ($P<0.05$). After the treatment, the patients whose uterine cavity returns to normal held 46.7% (14/30) in the test group, and 45.0% (9/20) in the control group, and the difference had no statistical meaning ($\chi^2=0.13, P=0.908$). For those who still have adhesions in both groups, the scores of TGF- β_1 and Smad2/3 expressions lowered after the treatment ($P<0.05$), while there was no difference in the decrease between both groups ($P>0.05$). Conclusion: Phlegm-removing stasis-resolving kidney-tonifying prescription as adjunctive therapy and TCRA are equivalent to artificial cycle therapy with estrogen and progesterone in the treatment of IUA, the effects on the expressions of TGF- β_1 and Smad2/3 are close to these of artificial cycle therapy with estrogen and progesterone. The regulation of TGF- β_1 /Smad signaling pathway is the potential modern mechanism of the prescription in the treatment of IUA.

Keywords intrauterine adhesions; phlegm-removing stasis-resolving kidney-tonifying; transforming growth factor- β_1 ; Smad2/3

宫腔粘连(intrauterine adhesions, IUA)多继发于人工流产、刮宫等宫腔操作后,是月经量减少、继发不孕的主要病因。宫腔镜宫腔粘连分离术(transcervical resection of adhesion, TCRA)是目前治疗 IUA 的主要方法,但术后再粘连率高达 62.5%^[1]。因此,防治 TCRA 术后再粘连是当前研究重点。目前,认为成纤维细胞增殖活跃学说是 IUA 发生的主要病理机制^[2]。研究发现,转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)/Smad 信号传导通路在成纤维化起重要作用,促进了 IUA 的发生与发展^[3-4]。阻断成纤维细胞增生是预防 IUA 复发的思路之一。

中医药在防治 IUA 方面进行了有益的探索,目前多认为 IUA 病机以肾虚血瘀为主,治以补肾化瘀为法。本课题组前期总结 IUA 临床特点认

为,痰凝血瘀肾虚是 IUA 的主要中医发病机制^[5]。现代中医研究也认为,化痰方药有改善黏附分子表达的作用。基于此,以祛痰化瘀补肾方辅助 TCRA 治疗 IUA,观察其临床疗效,及对 TGF- β_1 与 Smad2/3 表达的影响,并探讨其可能机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2017 年 9 月至 2021 年 1 月在广东省中医院珠海医院妇科收治的 IUA 患者 50 例,按 3:2 比例分为试验组 30 例与对照组 20 例。两组患者年龄、病程、宫腔操作次数、IUA 评分等基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1,具有可比性。另选取因其他原因(如宫颈息肉、子宫纵隔)行宫腔镜手术的非 IUA 患者 20 例,作为内膜 TGF- β_1 及 Smad2/3 表达的对照。本研究经广东省中医院伦理委员会审查通过(B2017-096)。

表 1 两组患者基线资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	病程(月)	宫腔操作次数(次)	IUA 评分(分)
试验组	30	33.4±5.7	11.0 (5.8, 16.0)	2.2±1.7	13.77±5.58
对照组	20	31.0±6.6	12.5 (4.3, 30.5)	2.3±1.2	12.92±5.29
<i>P</i>		0.177	0.324	0.821	0.593

1.2 诊断标准^[6-7] 1)有人流、刮宫等宫腔操作史;2)临床表现:月经过少、停闭、痛经,不孕;3)经阴道彩超检查示:子宫内膜线不连续,与肌层分界不清,三维彩超提示粘连;4)宫腔镜检查提示 IUA,并参照《宫腔粘连临床诊疗中国专家共识》^[7]评分标准评分。

1.3 纳入标准 1)符合 IUA 诊断标准者;2)既往月经规律者;3)无生殖系统畸形、子宫黏膜下肌瘤、子宫腺肌病等生殖系统疾病者;4)无糖尿病,无严重心、肝、肾等功能障碍或凝血功能障碍者;5)签署知情同意书者。

1.4 排除标准 1)既往存在功能障碍性子宫出血、多囊卵巢综合征、高泌乳素血症等生殖内分泌疾病者;2)30 天内应用性激素者;3)妊娠或哺乳女性。

1.5 治疗方法 常规行 TCRA 术,试验组术后第 2 天起服用祛痰化瘀补肾方。药物组成:苍术 10 g,法半夏 10 g,橘红 10 g,熟地黄 10 g,淮山 15 g,山茱萸 10 g,丹参 20 g,赤芍 10 g,川牛膝 15 g,甘草 6 g。服用 7~10 天后加续断 15 g、杜仲 10 g,再服 10 天。服法:水煎 400 mL,早晚温服。对照组应用雌孕激素人工周期,补佳乐(拜耳医药保健品公司广州分公司,国药准字 J20171038,规格:1 mg×21 片)口服每次 1 mg,每日 2 次,共 21 天;后 10 天加用黄体酮胶囊(浙江仙琚制药股份

有限公司,国药准字 H20041902,规格:50 mg×20 粒)口服 200 mg,每日睡前服用 1 次。两组均治疗 1 个月经周期。

1.6 观察指标

1.6.1 临床疗效 参考《宫腔粘连临床诊疗中国专家共识》^[7]拟定临床疗效评定标准。治愈:宫腔镜下宫腔形态正常,无可见粘连,双侧输卵管开口可见,月经恢复正常。有效:未达治愈标准,但按中国宫腔粘连诊断分级评分标准,减轻一个分级。无效:评分分级较治疗前无改善。

总有效率(%)=(治愈+有效)例数/总例数×100%

1.6.2 TGF- β_1 与 Smad2/3 水平 宫腔镜下取粘连处组织,免疫组化检测 TGF- β_1 与 Smad2/3 的表达,非 IUA 患者内膜组织 20 例为对照。试剂:兔抗人 TGF- β_1 (批号:BM4876)、兔抗人 Smad2/3 抗体(批号:BA1395)及 SP 免疫组化试剂盒均购自武汉博士德公司。免疫组化试验步骤根据 SP 试剂盒说明书进行。已知阳性的乳腺浸润性导管癌为阳性对照,PBS 代替一抗为阴性对照。结果判定:以染色强度及阳性细胞百分比综合判定。染色强度无着色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性细胞百分比<5%为 0 分,5%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分。上述二项评分乘积≥2 分为阳性。

1.7 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件分析数据;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料用 χ^2 检验或Fisher's精确概率法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IUA评分 除试验组输卵管开口评分治疗后变化不明显($P > 0.05$)外,其余各项IUA评分两组治疗

前后比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗后两组IUA评分比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.2 临床疗效 总有效率试验组为86.7%(26/30),对照组为95.0%(19/20)。两组总有效率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.926, P = 0.336$)。见表3。

表2 两组患者IUA评分改善情况比较($\bar{x} \pm s$) 分

组别	例数	时间	粘连范围	粘连性质	输卵管开口状态	子宫内膜厚度	月经状态
试验组	30	治疗前	1.50 ± 0.94	3.50 ± 0.94	1.13 ± 1.41	2.90 ± 1.24	2.13 ± 1.38
		治疗后	0.57 ± 0.63*	1.47 ± 1.66*	0.50 ± 1.25**	1.07 ± 0.78*	0.47 ± 0.51*
对照组	20	治疗前	1.55 ± 0.94	3.30 ± 1.13	1.10 ± 1.44	2.95 ± 1.23	2.30 ± 1.45
		治疗后	0.45 ± 0.90*	1.15 ± 1.63*	0.30 ± 0.98*	1.45 ± 0.99*	0.45 ± 0.51*

注:与本组治疗前比较,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P > 0.05$

表3 两组患者临床疗效比较[n(%)]

组别	例数	治愈	有效	无效	总有效
试验组	30	14(46.7)	12(40.0)	4(13.3)	26(86.7)
对照组	20	9(45.0)	10(50.0)	1(5.0)	19(95.0)

2.3 TGF- β_1 与Smad2/3表达情况 TGF- β_1 表达于细胞浆及细胞核,Smad2/3表达于细胞核,见图1。IUA患者粘连组织中TGF- β_1 阳性表达率为86.7%(26/30),高于正常内膜阳性表达率[5.0%(1/20)]($\chi^2 = 29.016, P = 0.000$)。Smad2/3的阳性表达率为90.0%(27/30),高于正常内膜的阳性表达率[15.0%(3/20)]($\chi^2 = 28.329, P = 0.000$)。治疗后再次宫腔镜

复查时,治疗组46.7%(14/30)的患者宫腔恢复正常,对照组45.0%(9/20)的患者宫腔恢复正常,两组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.13, P = 0.908$)。对于仍有粘连者(试验组16例、对照组11例)再于粘连处取样,检测TGF- β_1 和Smad2/3表达积分情况。与治疗前表达相比,TGF- β_1 在试验组($P = 0.027$)、对照组($P = 0.020$)治疗后均有下降,差异有统计学意义;试验组($P = 0.016$)、对照组($P = 0.027$)治疗后Smad2/3下降,差异有统计学意义。TGF- β_1 和Smad2/3表达治疗后下降幅度两组间比较,差异无统计学意义($P = 0.603, P = 0.586$),见表4。

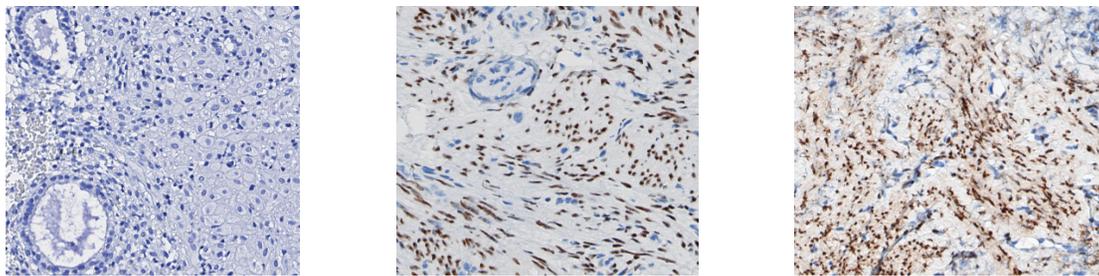


图1 TGF- β_1 与Smad2/3表达情况(SP, × 200)

表4 两组患者治疗前后宫腔粘连组织中TGF- β_1 和Smad2/3表达比较($\bar{x} \pm s$) 分

组别	例数	TGF- β_1		P	Smad2/3		P
		治疗前	治疗后		治疗前	治疗后	
试验组	16	2.61 ± 0.67	2.04 ± 0.72	0.027	2.49 ± 0.56	1.94 ± 0.65	0.016
对照组	11	2.55 ± 0.52	1.91 ± 0.66	0.020	2.41 ± 0.58	1.81 ± 0.60	0.027
P		0.603			0.586		

3 讨论

IUA的发病机制多为流产、刮宫等宫腔操作

损伤胞脉胞络,津液外渗,凝聚成痰,痰邪阻滞气血,进一步形成血瘀,痰瘀互结,形成宫腔局部粘

连,导致月经过少,甚则闭经、不孕^[8-10]。痰瘀日久,又可损伤肾气,进一步加重各临床表现,故痰凝血瘀肾虚是IUA的主要中医病理机制^[5]。基于此,采用祛痰化瘀补肾方治疗IUA,方中苍术、法半夏、橘红燥湿祛痰;丹参、赤芍、川牛膝活血化瘀;熟地、淮山药、山萸肉补肾,后半期加用续断、杜仲取补肾调周之意;川牛膝能引药下行,甘草调合诸药。

本临床观察显示,补肾祛痰化瘀方辅助TCRA治疗IUA起到了较好的临床效果,治疗后粘连范围、粘连性质、输卵管开口状态、子宫内膜厚度、月经状态等方面改善情况与雌孕激素人工周期辅助治疗结果无差异,总有效率接近。有研究已证实雌孕激素人工周期能改善IUA术后再粘连^[11],故认为补肾祛痰化瘀方辅助TCRA治疗IUA同样能起到降低再粘连发生的作用。

目前认为成纤维细胞增殖活跃是导致IUA的主要病理机制^[12],TGF- β 可激活和调控纤维化病变的发生,调节成纤维细胞的表型和功能^[13]。HU等^[14]研究发现,与对照组相比,IUA患者子宫内膜纤维化面积增加,并且TGF- β_1 作为纤维化标记物在IUA患者子宫内膜中高表达。TGF- β_1 可通过与细胞膜受体结合,激活受体后,可诱导Smad2/3发生磷酸化,再与Smad4结合形成复合物进入细胞核内,启动靶基因的转录^[15],从而促进纤维粘连蛋白、胶原蛋白等基质蛋白的基因转录,加速纤维粘连形成。现代医学研究认为,痰邪与黏附分子的表达相关,化痰药有调节黏附分子表达的作用。陈刚毅等^[16]研究发现,化痰祛瘀中药处理腹膜纤维化大鼠,能够降低TGF- β_1 /Smad2/3表达。本研究显示补肾祛痰化瘀方能降低IUA内膜中TGF- β_1 和Smad2/3的表达,其作用与雌孕激素人工周期治疗相似,而多项研究显示雌孕激素人工周期有降低IUA中TGF- β_1 表达的作用^[17-18],故认为补肾祛痰化瘀方能通过调节TGF- β_1 /Smad通路,起到抑制成纤维细胞增生,预防IUA复发的作用。同时这一方法也为宫腔操作后预防IUA的发生提供了诊疗思路。

参考文献

[1] YU D, WONG Y M, CHEONG Y, et al. Asherman syndrome: one century later[J]. Fertil Steril, 2008, 89(4): 759-779.

[2] 中华医学会妇产科学分会. 宫腔粘连临床诊疗中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(12): 881-887.

[3] NING J, ZHANG H, YANG H. MicroRNA-326 inhibits endometrial fibrosis by regulating TGF- β_1 /Smad3 pathway in intrauterine adhesions[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2): 2286-2292.

[4] 周曼萍, 何援利, 乔琳, 等. 转化生长因子- β_1 及Smad2/3在宫腔粘连患者子宫内膜组织中的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(12): 1844-1847.

[5] 侯建峰, 林芳, 卢丽波. 宫腔粘连中医痰凝血瘀肾虚证型临床研究[J]. 新中医, 2019, 51(6): 26-28.

[6] 王娜, 范艳艳, 徐文, 等. 宫腔粘连诊断及发病机制的研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2021, 25(6): 939-941.

[7] 中华医学会妇产科学分会. 宫腔粘连临床诊疗中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(12): 881-887.

[8] 毛利云, 朱铮, 王屹雯, 等. 补肾填精行气活血法治疗中重度宫腔粘连疗效研究[J]. 陕西中医, 2020, 41(12): 1731-1734.

[9] 孟媛媛, 李兰兰, 吴海燕, 等. 自拟益肾活血方在肾虚血瘀型难治性宫腔粘连宫腔镜下宫腔粘连分离术后的应用效果[J]. 中国医药导报, 2022, 19(9): 107-111.

[10] 杨蕊, 陈欣敏, 曾薇薇, 等. 宫腔粘连的中医诊疗进展[J]. 河北中医, 2022, 44(2): 333-340.

[11] 孙燕, 张小柳, 蒋晓莉, 等. 宫腔镜治疗宫腔粘连所致月经异常疗效相关因素分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(11): 844-847.

[12] PRIANISHNIKOV V A. On the concept of stem cell and a model of functional-morphological structure of the endometrium[J]. Contraception, 1978, 18(3): 213-223.

[13] CHEGINI N. TGF-beta system: the principal profibrotic mediator of peritoneal adhesion formation[J]. Semin Reprod Med, 2008, 26(4): 298-312.

[14] HU J, ZENG B, JIANG X, et al. The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2): 1525-1534.

[15] POHLERS D, BRENNMOEHL J, LÖFFLER I, et al. TGF- β and fibrosis in different organs-molecular pathway imprints[J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis, 2009, 1792(8): 746-756.

[16] 陈刚毅, 林育, 汤水福, 等. 活血祛瘀法对糖尿病肾病大鼠核因子活化B细胞 κ 轻链增强子NF- κ B信号通路的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2014, 16(5): 18-21.

[17] YU D, LI T C, XIA E, et al. Factors affecting reproductive outcome of hysteroscopic adhesiolysis for Asherman's syndrome[J]. Fertil Steril, 2008, 89(3): 715-722.

[18] PABUCCU R, ONALAN G, KAYA C, et al. Efficiency and pregnancy outcome of serial intrauterine device-guided hysteroscopic adhesiolysis of intrauterine synechiae[J]. Fertil Steril, 2008, 90(5): 1973-1977.

收稿日期: 2024-02-26

*基金项目: 广东省中医药局科研项目(20231306)。

作者简介: 黎丽娜(1985—), 女, 硕士学位, 主治医师。研究方向: 妇科疾病的中医诊治。

△通讯作者: 侯建峰(1978—), 男, 博士学位, 副主任医师。研究方向: 妇科疾病的中医诊治。Email: sir-hou@163.com。