

引用:冯玮,王艳辉,史力卉,雷磊.基于P38MAPK/P53信号通路探讨寿胎丸对复发性流产小鼠的影响[J].中医导报,2025,31(4):67-72.

# 基于P38MAPK/P53信号通路探讨寿胎丸对复发性流产小鼠的影响\*

冯 玮,王艳辉,史力卉,雷 磊

(湖南中医药大学中西医结合学院,湖南 长沙 410208)

**[摘要]** 目的:观察寿胎丸对复发性流产(RSA)小鼠的影响,通过p38丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)/抑癌基因(P53)信号通路研究其作用机理。方法:根据Clark的经典建模流程,将40只雌性CBA/J小鼠与20只雄性DBA/2小鼠以2:1的比例进行合笼交配,构建RSA小鼠模型,将40只妊娠小鼠随机分为地屈孕酮组、模型组、寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组,每组8只。将8只雌性CBA/J小鼠与4只雄性BALB/c小鼠以2:1的比例合笼,构建正常妊娠小鼠模型,将8只正常妊娠小鼠模型设置为空白组。各组小鼠予相应药物干预,观察小鼠的妊娠状态,并计算小鼠胚胎丢失率;苏木素-伊红(HE)染色观察各组小鼠胎盘组织病理学改变;Western blotting检测胎盘组织P38MAPK、磷酸化P38MAPK(p-P38MAPK)、P53、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白表达;ELISA检测血清中MDA含量;PCR检测胎盘组织P38MAPK mRNA、p-P38MAPK mRNA、P53 mRNA、Bcl-2 mRNA表达。结果:空白组小鼠子宫淡红色,胚胎发育均衡,大小一致,排列有序;模型组小鼠胎盘形态破坏,细胞排列不规则、细胞核固缩;与模型组比较,地屈孕酮组、寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组大鼠胎盘组织内病理状态改善,细胞排列有序,形态较规则。模型组小鼠胚胎丢失率及血清MDA含量高于空白组( $P<0.01$ );寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组及地屈孕酮组小鼠胚胎丢失率及血清MDA含量均低于模型组( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ )。模型组小鼠胎盘组织中p-P38MAPK/P38MAPK及P53蛋白相对表达量高于空白组( $P<0.01$ ),Bcl-2蛋白相对表达量低于空白组( $P<0.01$ );寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织p-P38MAPK/P38MAPK及P53蛋白相对表达量均低于模型组( $P<0.01$ );寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织Bcl-2蛋白相对表达量均高于模型组( $P<0.01$ )。模型组小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA及P53 mRNA相对表达量高于空白组( $P<0.01$ ),Bcl-2 mRNA相对表达量低于空白组( $P<0.01$ );寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA及P53 mRNA相对表达量均低于模型组( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),Bcl-2 mRNA相对表达量均高于模型组( $P<0.01$ )。结论:寿胎丸可能通过P38MAPK/P53信号通路调控氧化应激,发挥防治小鼠复发性流产的作用。

**[关键词]** 复发性流产;寿胎丸;P38MAPK/P53通路;氧化应激;小鼠

**[中图分类号]** R285.5;R714.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)04-0067-06

**DOI:** 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.04.011

## The Effect of Shou Tai Wan (寿胎丸) on Recurrent Abortion Mice Based on P38MAPK/P53 Signaling Pathway

FENG Wei, WANG Yanhui, SHI Lihuai, LEI Lei

(College of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China)

**[Abstract]** Objective: To observe the effects of Shou Tai Wan on recurrent abortion (RSA) mice, and to study its mechanism of action through the P38MAPK/P53 signaling pathway. Methods: According to Clark's classical modeling procedure, 40 female CBA/J mice and 20 male DBA/2 mice were mated in a combined cage based on a 2:1 ratio to construct the RSA mouse model, and 40 pregnant mice were randomly divided into dydrogesterone group, model group, Shou Tai Wan high dose group, Shou Tai Wan medium dose group,

\*基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(23A0306)

通信作者:雷磊,男,教授,研究方向为中西医结合妇产科生殖与内分泌疾病防治研究

and Shou Tai Wan low dose group, with 8 mice in each group. Totally 8 female CBA/J mice and 4 male BALB/c mice were caged together based on a 2:1 ratio to construct a normal pregnancy mouse model, and the 8 normal pregnancy mice model was set as blank group. The mice in each group were given appropriate drug interventions. The pregnancy status of the mice was observed, and the embryo loss rate was calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histopathological changes in the placenta of the mice in each group. Western blotting detected p38 mitogen-activated protein kinase (P38MAPK), phosphorylated p38MAPK (p-P38MAPK), oncogene (P53), and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) protein expression. ELISA was used to detect MDA content in serum. PCR was used to detect the expression of P38MAPK mRNA, p-P38MAPK mRNA, P53 mRNA, and Bcl-2 mRNA in placental tissues. Results: The uterus of mice in the blank group was light red, with balanced embryonic development, uniform size and orderly arrangement. The placenta of mice in the model group was irregularly arranged with disrupted morphology and solidified cell nuclei. Compared with the model group, the pathological state of the placenta tissue was improved in the dydrogesterone group as well as the Shou Tai Wan high, medium and low dose groups, and the cellular arrangement was orderly with a more regular morphology. The model group showed higher embryo loss rate and serum MDA content than blank group ( $P<0.01$ ). The Shou Tai Wan high dose group, Shou Tai Wan medium dose group and dydrogesterone group showed lower embryo loss rate and serum MDA content than model group ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ). The model group showed higher p-P38MAPK/P38MAPK and relative expression of P53 proteins than blank group ( $P<0.01$ ), while lower relative expression of Bcl-2 proteins than blank group ( $P<0.01$ ). The Shou Tai Wan high dose group, Shou Tai Wan medium dose group and dydrogesterone group showed lower p-P38MAPK/P38MAPK and relative expression of P53 proteins than model group ( $P<0.01$ ). The Shou Tai Wan high dose group, Shou Tai Wan medium dose group, Shou Tai Wan low dose group and dydrogesterone group showed higher relative expression of Bcl-2 proteins than model group ( $P<0.01$ ). The model group showed higher relative expression of P38MAPK mRNA and P53 mRNA than blank group ( $P<0.01$ ), while lower relative expression of Bcl-2 mRNA than blank group ( $P<0.01$ ). The Shou Tai Wan high dose group, Shou Tai Wan medium dose group, Shou Tai Wan low dose group and dydrogesterone group showed lower relative expression of P38MAPK mRNA and P53 mRNA than model group ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ), while higher relative expression of Bcl-2 mRNA than model group ( $P<0.01$ ). Conclusion: Shou Tai Wan may regulate oxidative stress through the P38MAPK/P53 signaling pathway, and play a role in preventing recurrent abortion in mice.

[Keywords] recurrent miscarriage; Shou Tai Wan; P38MAPK/P53 pathway; oxidative stress; mice

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指在妊娠达到28周之前,与同一位性伴侣发生两次及以上的妊娠终止,包括生化妊娠。RSA病因复杂,能识别病因的仅有50%,其余属于不明原因的复发性流产<sup>[1]</sup>。对于RSA患者的诊断和治疗,临床上一一般采用排除诊疗法,增加了医疗资源的消耗和患者的经济、精神压力。在现代社会中,不孕不育是影响家庭幸福和谐的重要因素,其中不良的妊娠结局,严重危及女性的身体、心理健康。RSA在中医学中称为“滑胎”“数堕胎”,具有屡孕屡堕及应期而下的特点<sup>[2]</sup>。《医学衷中参西录》中所载的寿胎丸(菟丝子、桑寄生、续断、阿胶为原料)具有补肾、固冲、安胎的作用。临床和实验研究均证实该方具有明显的防治RSA的作用<sup>[3-5]</sup>。因此,分析RSA的发病机制,探讨寿胎丸的干预作用具有重要意义。p38丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)是MAPK的一个亚类,是存在于大多数细胞内的一类重要信号转导酶。调控P38MAPK/P53信号通路以及相关有效靶点可以预防自然流产,改善不良妊娠结局。汪莲等<sup>[6]</sup>发现,氧化应激状态下,成纤维细胞P38蛋白表达量升高,提示P38MAPK/P53信号通路与氧化应激失衡所致的不良妊娠

结局具有相关性。因此本研究通过P38MAPK/P53信号通路研究寿胎丸对RSA小鼠的影响,探讨其作用机理。

## 1 材 料

1.1 实验动物 48只SPF级CBA/J雌性小鼠及20只DBA/2雄性小鼠,8~10周龄,体质量分别为(21.84±0.65)g及(21.68±0.63)g,购自北京华阜康生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0008。动物质量合格证号:110322231100579834。4只BALB/c雄性小鼠,8~10周龄,体质量(21.96±1.28)g,购自北京华阜康生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0008。动物质量合格证号:110322231102048947。动物质量合格证号:SCXK(京)2019-0008。所有小鼠均于湖南中医药大学SPF级实验动物中心饲养,饲养温度(22±2)℃,湿度(50±5)%,光照/黑暗周期为12 h/12 h。温度、湿度光照均符合SPF级动物饲养要求,适应性喂养7 d后进行实验。本实验经湖南中医药大学动物伦理委员会批准,批准编号:LL2023061404。

1.2 药物 寿胎丸组成:菟丝子12 g,桑寄生6 g,续断6 g,阿胶6 g。菟丝子(批号:NG23040305)、桑寄生(批号:HY23042701)、

续断(批号:HYHY23041104)、阿胶(批号:220330)均购于湖南中医药大学第一附属医院中药饮片药房,经湖南中医药大学第一附属医院药剂科主任戴冰教授鉴定为正品。寿胎丸用水提醇沉法制备。将菟丝子、桑寄生与续断置于容器中,加入6~8倍体积的蒸馏水,进行两次煎煮处理。随后,将煎煮液浓缩,并添加乙醇,直至乙醇体积分数为65%。将此混合物冷藏保存24 h后,过滤以去除乙醇,直至滤液中不再有乙醇的气味。另将阿胶进行烊化处理,再将其与已过滤的液体混合,最后再次冷藏,直至无沉淀物析出。加入蒸馏水调节pH值为6.5~7.0,分装至EP管中备用。地屈孕酮片(荷兰Abbott Biologicals B.V.公司,批号:369081)

1.3 主要试剂 P38MAPK抗体(批号:66234-1-Ig)、Bcl-2抗体(批号:26593-1-AP)、p-P38MAPK抗体(批号:28796-1-AP)、P53抗体(批号:60283-2-Ig)、羊抗兔Ig G(批号:RS0002)及羊抗小鼠IgG(批号:RS0001)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,批号:3600000515);超纯总RNA提取试剂盒(杭州新景生物试剂开发有限公司,批号20231018);荧光定量试剂盒NovoStart® SYBR qPCR SuperMix Plus(苏州近岸蛋白质科技股份有限公司,批号:E096)丙二醛(MDA)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:20240418)。

1.4 主要仪器 Gel Doc XR+凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);多功能酶标仪(美国BioTek公司);Heraeus Fresco型超速冷冻离心机、HM355S型石蜡切片机均购自美国Thermo Fisher Scientific公司;Mini-PROTEAN Tetra型电泳槽、Mini Trans-Blot型转印槽及T100TMTThermal Cycler型RTPCR扩增仪均购自美国BioRad公司。

## 2 方 法

2.1 动物造模 遵循Clark的经典建模流程,将BALB/c小鼠、CBA/J小鼠交配作为正常妊娠模型,将DBA/2小鼠、CBA/J小鼠交配作为RSA模型。将40只雌性CBA/J小鼠与20只雄性DBA/2小鼠依据2:1的比例进行合笼交配,次日06:00:00,检查各组小鼠阴道是否有阴道栓脱落,并进行阴道涂片检查,将涂片中大量精子出现的时刻定为妊娠的第0天。将40只妊娠雌性CBA/J小鼠随机分为模型组、地屈孕酮组、寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组,每组8只。将8只雌性CBA/J小鼠与4只雄性BALB/c小鼠依据2:1的比例进行合笼交配,构建正常妊娠小鼠模型,设置为空白组,次日06:00:00,检查各组小鼠阴道是否有阴道栓脱落,并进行阴道涂片检查,将涂片中大量精子出现的时刻定为妊娠的第0天。

2.2 给药 寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组小鼠分别灌胃高[12.00g/(kg·d)]、中[6.00/(kg·d)]、低[0.00/(3kg·d)]剂量寿胎丸药液<sup>[7-9]</sup>;地屈孕酮组小鼠灌胃地屈孕酮药液,4.55 mg/(kg·d)。给药剂量相当于60 kg成人等效剂量;模型组和空白组每天给予等量生理盐水灌胃,0.1 mL/(kg·d)。各组均连续灌胃12 d。

2.3 取材 将孕12 d的雌鼠麻醉后剪去胡须,进行眼球取血,将血静置2 h后4 °C离心(3 000 r/min,离心半径为10 cm)

15 min,取上清冻存。将小鼠固定,解剖小鼠,分离子宫,用相机拍照后称质量。用小号眼科剪顺着子宫壁轻轻分离胎盘,经PBS冲洗后吸干水分,部分放于4%多聚甲醛避光保存,剩下于-80°冻存。

### 2.4 观察指标

2.4.1 胚胎丢失率 从小鼠腹腔分离出子宫后,置于白色背景下用相机拍照,记录、观察胚胎的数量、形态。参考赵爱民等<sup>[10]</sup>制定胚胎丢失标准的方法,记录胚胎丢失数量,计算小鼠胚胎丢失率。胚胎丢失率(%)=流产胚胎数/(正常存活胚胎数+流产胚胎数)×100%<sup>[11]</sup>。

2.4.2 胎盘组织HE染色 将多聚甲醛中的胎盘组织取出后,将标本处理成为4 μm厚的蜡片。在脱蜡处理后,依次进行苏木素染色、蒸馏水冲洗、PBS返蓝处理,伊红染色2 min,后再用蒸馏水冲洗。最后一步为梯度酒精脱水。将封片置于显微镜下观察其一般形态。

2.4.3 血清MDA含量 取血清,按照ELISA试剂盒说明书检测血清MDA含量,用酶标仪测定532 nm处的吸光度,根据说明书中公式计算各组小鼠血清中MDA含量。

2.4.4 胎盘组织中P38MAPK、p-P38MAPK、P53、Bcl-2蛋白表达水平 采用Western blotting检测胎盘组织中P38MAPK、p-P38MAPK、P53、Bcl-2蛋白表达水平。将胎盘组织制成匀浆后裂解,4 °C离心(12 500 r/min,离心半径为10 cm)15 min,后取上清,用BCA测定蛋白浓度,取上样液,依次进行电泳、转膜、封闭、洗膜,稀释P38MAPK一抗(1:3 000)、p-P38MAPK一抗(1:3 000)、P53一抗(1:10 000)、Bcl-2一抗(1:2 000)过夜。TBST洗3次后,稀释二抗(1:10 000),摇床孵育1 h。再次用TBST漂洗3次后显影,曝光并采集图片,使用Image-Lab分析灰度值。

2.4.5 胎盘组织中P38MAPK mRNA、P53 mRNA、Bcl-2 mRNA表达水平 采用RT-PCR检测小鼠胎盘组织中P38MAPK mRNA、P53 mRNA、Bcl-2 mRNA表达水平。于-80 °C冰箱中的RNA保存液中取出胎盘组织,提取胎盘组织RNA,测定RNA260、A280吸光值,要求比值≥1.9,测定RNA浓度后,将RNA逆转录为cDNA。配制扩增反应体系进行扩增。实验条件设定如下:95 °C预变性处理1 min;随后95°20 s,60 °C持续1 min,40个循环;95 °C变性处理15 s,60 °C退火60 s。采用GAPDH作为内参,用以计算目标基因的表达水平。所有引物均由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列参见表1。

表1 引物序列

目的基因	序列	扩增产物长度/bp
P38MAPK	上游引物:GGCATCGTGTGGCAGTAAGAAG	84
	下游引物:GCAGACGCAACTCTCGGTAGG	
P53	上游引物:CGCCGACCTATCCTTACCATCATC	98
	下游引物:CTCCAGGGCAGGCACAAAC	
Bcl-2	上游引物:TCCACCGAAACTCCAGGCTTTG	91
	下游引物:GATCCATGACCACAGGCACAG	
GAPDH	上游引物:AGAAGGTGGTGAAGCAGGCATC	111
	下游引物:CGAAGGTGAAGAGTGGGAGTTG	

2.5 统计学方法 采用SPSS 27.0统计软件进行数据分析。

计量资料以“均数±标准差”( $\bar{x}\pm s$ )表示。计量资料符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析。组间多重比较采用最小显著性差异法(LSD)。P<0.05为差异有统计学意义。

### 3 结果

3.1 各组小鼠胚胎发育比较 空白组小鼠子宫展现出淡红色泽,其胚胎发育均衡,大小一致,排列有序,未见显著淤血或发育不良现象。模型组小鼠的子宫呈现黯红色,胚胎的发育不均匀,部分胚胎伴有淤血、坏死及被吸收的情况。与模型组比较,地屈孕酮组、寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组小鼠在胚胎发育方面显著改善。与寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组比较,寿胎丸高剂量组小鼠胚胎发育明显好转,仅个别胚胎出现淤血。(见图1)模型组小鼠胚胎丢失率高于空白组(P<0.01);地屈孕酮组、寿胎丸中剂量组及寿胎丸高剂量组小鼠胚胎丢失率均低于模型组(P<0.01或P<0.05)。(见表2)

表2 各组小鼠胚胎丢失率比较

组别	n	给药剂量	丢失胚胎数量/个	总胚胎数量/个	胚胎丢失率( $\bar{x}\pm s$ ,%)
空白组	8		3	46	5.95±8.24 <sup>a</sup>
模型组	8		14	49	30.43±15.87
地屈孕酮组	8	4.55 mg/(kg·d)	6	59	11.00±11.38 <sup>a</sup>
寿胎丸低剂量组	8	3.00 g/(kg·d)	11	50	22.04±7.27
寿胎丸中剂量组	8	6.00 g/(kg·d)	9	60	15.38±7.98 <sup>b</sup>
寿胎丸高剂量组	8	12.00 g/(kg·d)	6	61	11.09±11.32 <sup>a</sup>
F					5.469
P					0.000

注:与模型组比较,<sup>a</sup>P<0.01,<sup>b</sup>P<0.05。

3.2 各组小鼠胎盘组织病理形态 空白组小鼠胎盘绒毛展现出规则的形态,大小均匀,滋养层细胞紧密嵌合,排列有序,胞质充盈,胞核染色深且均匀。模型组小鼠胎盘绒毛细胞排列杂乱无章,绒毛间质出现水肿现象,部分区域发生萎缩与变性、细胞核固缩。此外,模型组小鼠胎盘小血管发育存在缺陷,可见微血管数量减少,血管腔形态异常或缺乏明确的管腔结构,并伴有炎症细胞的浸润。与模型组比较,地屈孕酮组、寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组小鼠胎盘组织的细胞排列展现出较高的整齐度,细胞形态亦较为规范,仅观察到少量细胞发生水肿及核固缩现象,同时血管分布较为均衡。(见图2)



图1 各组小鼠子宫形态

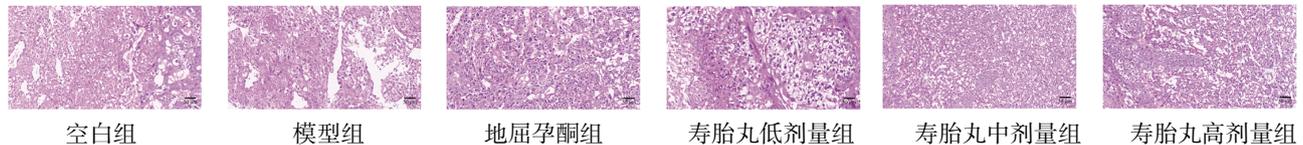


图2 小鼠胎盘组织 HE 染色(×400)

3.3 各组小鼠血清MDA含量比较 模型组小鼠血清MDA含量高于空白组(P<0.01);寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组及地屈孕酮组小鼠血清MDA含量均低于模型组(P<0.01)。(见表3)

表3 各组小鼠血清 MDA 含量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	MDA
空白组	8		3.50±0.15
模型组	8		4.70±0.18 <sup>a</sup>
地屈孕酮组	8	4.55 mg/(kg·d)	3.83±0.10 <sup>b</sup>
寿胎丸低剂量组	8	3.00 g/(kg·d)	4.15±0.09
寿胎丸中剂量组	8	6.00 g/(kg·d)	3.21±0.15 <sup>b</sup>
寿胎丸高剂量组	8	12.00 g/(kg·d)	3.92±0.30 <sup>b</sup>
F			25.767
P			0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

3.4 各组小鼠胎盘组织中P38MAPK、p-P38MAPK、P53及Bcl-2蛋白相对表达量比较 模型组小鼠胎盘组织中p-38MAPK/P38MAPK及P53蛋白相对表达量高于空白组,Bcl-2蛋白相对表达量低于空白组,差异均有统计学意义(P<0.01)。寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织p-P38MAPK/P38MAPK及P53蛋白相对表达量均低于模型组(P<0.01);寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织Bcl-2蛋白相对表达量均高于模型组(P<0.01)。(见图3、表4)

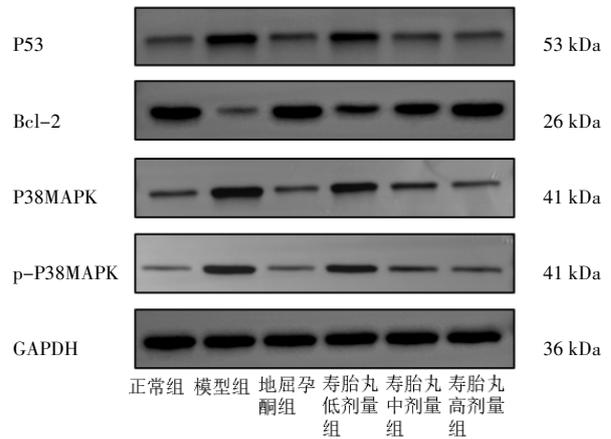


图3 各组小鼠胎盘组织中 p-P38MAPK、P38MAPK、Bcl-2、P53 蛋白表达 Western blotting 图

表4 各组小鼠胎盘组织 p-P38MAPK/P38MAPK 及 P53、

Bcl-2 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )					
组别	n	给药剂量	p-P38MAPK/P38MAPK	P53/GAPDH	Bcl-2/GAPDH
空白组	8		1.00±0.11	1.00±0.21	1.00±0.10
模型组	8		1.97±0.16 <sup>a</sup>	2.24±0.26 <sup>a</sup>	0.27±0.08 <sup>a</sup>
地屈孕酮组	8	4.55 mg/(kg·d)	0.98±0.15 <sup>b</sup>	0.94±0.12 <sup>b</sup>	0.97±0.05 <sup>b</sup>
寿胎丸低剂量组	8	3.00 g/(kg·d)	2.00±0.15	1.95±0.12	0.51±0.03 <sup>b</sup>
寿胎丸中剂量组	8	6.00 g/(kg·d)	1.34±0.07 <sup>b</sup>	1.00±0.03 <sup>b</sup>	0.67±0.02 <sup>b</sup>
寿胎丸高剂量组	8	12.00 g/(kg·d)	1.24±0.37 <sup>b</sup>	0.85±0.16 <sup>b</sup>	0.97±0.17 <sup>b</sup>
F			16.668	39.026	32.993
P			0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.01。

3.5 各组小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA、P53 mRNA、Bcl-2 mRNA相对表达量比较 模型组小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA及P53mRNA相对表达量高于空白组,Bcl-2 mRNA相对表达量低于空白组,差异均有统计学意义(P<0.01);寿胎丸高剂量组、寿胎丸中剂量组、寿胎丸低剂量组及地屈孕酮组小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA及P53 mRNA相对表达量均低于模型组(P<0.01或P<0.05),Bcl-2 mRNA相对表达量均高于模型组(P<0.01)。(见表5)

表5 各组小鼠胎盘组织 P38MAPK mRNA、P53 mRNA、

Bcl-2 mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )					
组别	n	给药剂量	P38MAPK mRNA	P53 mRNA	Bcl-2 mRNA
空白组	8		1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.00±0.00 <sup>a</sup>	1.00±0.00 <sup>a</sup>
模型组	8		1.85±0.06	2.04±0.07	0.22±0.01
地屈孕酮组	8	4.55 mg/(kg·d)	1.05±0.02 <sup>a</sup>	1.11±0.09 <sup>a</sup>	1.04±0.03 <sup>a</sup>
寿胎丸低剂量组	8	3.00 g/(kg·d)	1.78±0.05 <sup>a</sup>	1.73±0.04 <sup>a</sup>	0.36±0.03 <sup>a</sup>
寿胎丸中剂量组	8	6.00 g/(kg·d)	1.47±0.07 <sup>b</sup>	1.35±0.04 <sup>a</sup>	0.79±0.02 <sup>a</sup>
寿胎丸高剂量组	8	12.00 g/(kg·d)	1.06±0.07 <sup>a</sup>	1.12±0.01 <sup>a</sup>	1.06±0.09 <sup>a</sup>
F			155.634	178.424	225.933
P			0.000	0.000	0.000

注:与模型组比较,<sup>a</sup>P<0.01,<sup>b</sup>P<0.05。

#### 4 讨 论

RSA多发于妊娠期间,对正常生育不利。RSA不仅对女性身心健康有不利影响,且会影响正常的家庭关系<sup>[12]</sup>。该病病因较为复杂。常规西药治疗能改善机体激素水平,支持妊娠,但疗效远达不到预期。在中医学理论中,滑胎的主要病因被归结为肾虚,以及冲任虚损衰弱、胎元失于滋养,以致胎元未能稳固。肾可藏精系胞,调控冲脉和任脉,为生殖之根本,故补肾安胎为根本。寿胎丸由菟丝子、桑寄生、续断及阿胶组成。方中菟丝子为君药,补肾益精,滋阴固阳;桑寄生作为臣药之一,具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的功效,能稳固肾元以安胎,同时养血固冲任;续断同为臣药,性味甘温,有助阳之效,能补益肝肾,调理冲任;阿胶亦属臣药,专于补阴养血,兼能补气以生血。四药合用,滋阴补阳,生血养血,固本养元,恢复肾气。前期研究<sup>[13-17]</sup>证明寿胎丸具有防治复发性流产、改善复发性流产妊娠结局的作用。本研究结果显示,寿胎丸可改善RSA小鼠胚胎颜色、病理形态,降低胚胎丢失率,表明寿胎丸对RSA小鼠有保护作用。

氧化应激是一种病理状态,其根源在于机体氧化系统与抗氧化系统失衡。在RSA的病理生理机制中,氧化应激扮演着

关键角色,能够导致滋养细胞遭受损伤,胎儿营养不足<sup>[18]</sup>,最终导致流产。因此,缓解氧化损伤可以为临床防治RSA提供新思路。POPOVIĆ J K等<sup>[19]</sup>研究表明,除超氧化物歧化酶外,自然流产孕妇的前列腺素E<sub>2</sub>水平及血浆铜浓度均显著低于健康孕妇群体。这一结果提示非酶类抗氧化系统的功能减退亦可能是引发自然流产的因素之一。MAPK信号通路是由一系列蛋白激酶及其磷酸化修饰所组成的反应,这一过程在调控基因表达、细胞蛋白质合成与代谢、促进细胞生长以及介导炎症反应中扮演着关键角色。P38MAPK/P53是目前最主要、研究最深入的MAPK家族重要成员之一,被认为是多条信号途径的交汇点和共同通道。P38MAPK/P53在机体应激和炎症反应调控过程中具有极其重要的作用,是调控炎症因子产生的重要信号转导通路之一。研究<sup>[20]</sup>表明,炎症因子可激活P38MAPK/P53信号通路,进而介入炎症响应、氧化应激状态以及细胞凋亡等多个病理生理过程。氧化应激在RSA病理生理机制中具有重要作用<sup>[21-22]</sup>。在缺血、缺氧、炎症等病理状态下,机体内过氧化物的过量生成会打破氧化与抗氧化之间的平衡状态,从而诱发氧化应激反应<sup>[23]</sup>。RSA与氧化应激之间存在着紧密的联系<sup>[24-25]</sup>。

本研究结果显示,寿胎丸可降低RSA小鼠胚胎丢失率,改善胚胎组织形态,提高小鼠胎盘组织P53蛋白表达及p-P38 MAPK/P38MAPK,降低Bcl-2。同时寿胎丸可降低RSA小鼠胎盘组织P38MAPK mRNA、P53 mRNA表达,提高Bcl-2 mRNA,表明寿胎丸可通过激活P38 MAPK/P53通路抑制氧化应激进而改善复发性流产结局。现代药理学发现,寿胎丸中含有多种抗氧化剂,包括对香豆酸<sup>[26]</sup>、金丝桃苷<sup>[27]</sup>、槲皮素<sup>[28]</sup>、绿原酸<sup>[29]</sup>、槲皮苷<sup>[30]</sup>和山柰酚<sup>[31]</sup>。此外,构成寿胎丸的中药,如菟丝子和阿胶,在细胞和动物模型中显示出抗氧化活性<sup>[32-33]</sup>。金梅君等<sup>[34]</sup>研究表明,寿胎丸能够显著提升孕鼠胎盘中总抗氧化力、谷胱甘肽过氧化物酶及过氧化氢酶的活性水平,降低MDA的含量,从而有效调节胎盘组织中的氧化应激失衡状况,改善妊娠结局。

综上所述,寿胎丸能够通过调节P38MAPK/P53信号通路,优化调节RSA小鼠胎盘组织的氧化平衡状态,进而减少胚胎丢失的发生,展现出与地屈孕酮相类似的保胎功效。这些发现可为进一步研究寿胎丸的作用机制及临床治疗RSA提供新思路。但是目前对于调控氧化应激状态治疗RSA的研究还不够全面,后续研究还将继续深入研究其作用机制,为早期临床诊治RSA提供实验基础。

#### 参 考 文 献

- [1] 林涛,陈玄宇,沈晓露,等.子宫动脉血流在预测孕早期不明原因复发性流产中的价值[J].中国卫生检验杂志,2020,30(7):821-823.
- [2] 邵雯,赵爱,杨亚文,等.添加外源性维生素D对原因不明复发性流产患者代谢指标及免疫炎症因子水平的影响[J].实用预防医学,2023,30(11):1384-1387.
- [3] 刘子平,尹巧芝,张天娥,等.寿胎丸临床应用及实验研究进展[J].河北中医,2020,42(5):784-788.
- [4] 杜乐,潘丁晨,沈明洁,等.寿胎丸治疗复发性自然流产作用机制研究进展[J].河北中医,2021,43(3):511-515.
- [5] 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.
- [6] 汪莲,谢敏,况菊.NALP3炎症复合体及p38 MAPK信号通路在氧化应激中的作用及阿魏酸钠的干预机制[J].四川大学学报(医学版),2018,49(2):209-214.
- [7] 牟珍妮,申思楠,唐丽,等.基于JAK1/STAT3通路的寿胎丸对复发性流产小鼠细胞自噬的影响[J].中国中医药信息杂志,2023,30(6):87-93.
- [8] 乔宗惠,申思楠,邓敦,等.寿胎丸通过调控Caspase-1/GS-DMD通路发挥干预复发性流产的作用[J].时珍国医国药,2022,33(9):2122-2125.
- [9] 李慧芳,雷磊,谭展望,等.寿胎丸对复发性流产模型小鼠子宫蜕膜HSP27和Tf表达的影响[J].中华中医药杂志,2014,29(3):745-748.
- [10] 赵爱民,林其德,鲍世民,等.自然流产小鼠模型的胚胎丢失率[J].上海实验动物科学,1999,19(4):26-27.
- [11] 王启芝,刘敏,刘雨,等.细胞焦亡分子机制及其相关疾病中医药研究进展[J].中国中医药信息杂志,2020,27(12):140.
- [12] 付亚利,王娜.复发性流产女性患者生殖免疫抗体阳性检测率结果分析及临床意义[J].罕少疾病杂志,2024,31(6):111-113.
- [13] ZENG L T, YANG K L, LIU L T, et al. Systematic biological and proteomics strategies to explore the regulation mechanism of Shoutai Wan on recurrent spontaneous Abortion's biological network[J]. J Ethnopharmacol,2020,263:113156.
- [14] 杨冬梅,雷磊.寿胎丸干预复发性流产大鼠模型的尿液代谢组学研究[J].中国临床药理学杂志,2023,39(1):81-85.
- [15] 杨冬梅,雷磊.寿胎丸治疗复发性自然流产大鼠的血浆代谢组学研究[J].中华中医药杂志,2023,38(1):336-340.
- [16] 申思楠,牟珍妮,唐丽,等.寿胎丸通过调控Nrf2信号通路减轻人绒毛膜滋养层细胞的氧化损伤治疗复发性流产[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(3):44-51.
- [17] JAUNIAUX E, HEMPSTOCK J, GREENWOLD N, et al. Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies[J]. Am J Pathol,2003,162(1):115-125.
- [18] 王明蕊,李玉婷,张娜,等.Nrf2-Keap1-ARE信号通路在复发性流产绒毛组织中的表达及其与氧化应激和炎症反应关系研究[J].中国性科学,2023,32(7):58-63.
- [19] POPOVIĆ J K, GRUJIĆ Z, GRUJIĆ I, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub>, trace elements and levels of oxidative processes in spontaneous miscarriages [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2016,20(22):4786-4790.
- [20] 中华医学会妇产科学分会产科学组.复发性流产诊治的专家共识[J].中华妇产科杂志,2016,51(1):3-9.
- [21] 李佳丽,涂许许,王士萌,等.母胎界面氧化应激与复发性流产[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2024,43(5):435-440.
- [22] 李发敏子,吴淑娟,韩璐,等.生物钟基因BMAL1通过促进ROCK1调控滋养层细胞功能障碍的研究[J].生殖医学杂志,2024,33(7):934-943.
- [23] 肖文霞,王会芝,周广杰,等.绒毛组织氧化应激状态与稽留流产的相关性研究[J].中国生育健康杂志,2018,29(4):358-359.
- [24] JAYASENA C N, RADIA U K, FIGUEIREDO M, et al. Reduced testicular steroidogenesis and increased Semen oxidative stress in male partners as novel markers of recurrent miscarriage[J]. Clin Chem,2019,65(1):161-169.
- [25] 黄慧群,陆浩天,纪冬梅.线粒体异常与复发性流产[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2020,39(6):490-494.
- [26] KHEIRY M, DIANAT M, BADA VI M, et al. P-coumaric acid attenuates lipopolysaccharide-induced lung inflammation in rats by scavenging ROS production: An in vivo and in vitro study[J]. Inflammation,2019,42(6):1939-1950.
- [27] KWON S H, LEE S R, PARK Y J, et al. Suppression of 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by hyperoside via activation of Nrf2/HO-1 signaling in dopaminergic neurons[J]. Int J Mol Sci,2019,20(23):5832.
- [28] LU X L, ZHAO C H, YAO X L, et al. Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/AKT signaling pathway[J]. Biomedicine Pharmacother,2017,85:658-671.
- [29] YAO J, PENG S J, XU J Q, et al. Reversing ROS-mediated neurotoxicity by chlorogenic acid involves its direct antioxidant activity and activation of Nrf2-ARE signaling pathway[J]. Biofactors,2019,45(4):616-626.
- [30] LI X C, JIANG Q, WANG T T, et al. Comparison of the antioxidant effects of quercitrin and isoquercitrin: Understanding the role of the 6"-OH group [J]. Molecules,2016,21(9):1246.
- [31] SIMUNKOVA M, BARBIERIKOVA Z, JOMOVA K, et al. Antioxidant vs. prooxidant properties of the flavonoid, kaempferol, in the presence of Cu (II) ions: A ROS-scavenging activity, Fenton reaction and DNA damage study[J]. Int J Mol Sci,2021,22(4):1619.
- [32] LIN M K, LEE M S, HUANG H C, et al. Cuscuta chinensis and C. campestris attenuate scopolamine-induced memory deficit and oxidative damage in mice[J]. Molecules,2018,23(12):3060.
- [33] WANG D L, LIU M X, CAO J C, et al. Effect of Colla corii asini (E'jiao) on D-galactose induced aging mice[J]. Biol Pharm Bull,2012,35(12):2128-2132.
- [34] 金梅君,传洁,沈毅,等.寿胎丸对邻苯二甲酸二乙酯染毒孕鼠免疫功能及氧化应激的影响[J].南方医科大学学报,2020,40(6):850-855.

(收稿日期:2024-10-14 编辑:蒋凯彪)