

# 子宫内膜异位症患者血清 MMP-9、TIMP-1 表达及红藤方的干预研究

黄晓燕<sup>1</sup>, 楼红英<sup>2</sup>, 黄筱泓<sup>3</sup>, 束兰娣<sup>1</sup>, 戴德英<sup>1</sup> (1.上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203; 2.浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310016; 3.浙江省湖州市中心医院, 浙江 湖州 313000)

**摘要:** 目的 探讨子宫内膜异位症患者采用红藤方治疗的临床疗效及血清 MMP-9、TIMP-1 及其比值的变化。方法 经腹腔镜手术确诊为子宫内膜异位症的患者 90 例随机分为 3 组即红藤方组、米非司酮组和对照组, 观察 3 组的临床疗效, 并于术前及药物治疗 3 月后分别测定血清 MMP-9 和 TIMP-1 水平。结果 与对照组比较, 红藤方组和米非司酮组总有效率明显提高( $P<0.05$ ), 且后 2 者治疗后 MMP-9 水平明显降低, TIMP-1 水平显著提高, 与前者相比差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。MMP-9/TIMP-1 比值 3 组治疗前后均显著降低, 且治疗后红藤方组和米非司酮组与对照组比较下降更明显, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 红藤方可能通过调节 MMP-9 /TIMP-1 的平衡而纠正盆腔内环境, 有效改善子宫内膜异位症患者的临床症状。

**关键词:** 子宫内膜异位症; 红藤方; MMP-9; TIMP-1

中图分类号: R285.6 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)01-0194-04

## Study on Serum MMP-9 and TIMP-1 Levels in Endometriosis by Caulis Sargentodoxae Formula

HUANG Xiaoyan<sup>1</sup>, LOU Hongying<sup>2</sup>, HUANG Xiaohong<sup>3</sup>, SHU Landi<sup>1</sup>, DAI Deying<sup>1</sup> (1.Shuguang Hospital, Shanghai Traditional Chinese Medicine University, Shanghai 201203, China; 2.Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China; 3.Zhejiang Huzhou Hospital, Huzhou 313000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the clinical value of laparoscopic operation combined with Caulis Sargentodoxae Formula on endometriosis. **METHODS** Ninety cases diagnosed endometriosis who were underwent laparoscopic operations were divided into three groups at random, 30 cases were treated with Caulis Sargentodoxae Formula as the Caulis Sargentodoxae Formula group, 30 cases were treated with mifepristone as the mifepristone group, the other 30 cases as the control group. **RESULTS** The total effective rate was significantly higher in the Caulis Sargentodoxae Formula group and in the mifepristone group than that of in the control group ( $P<0.05$ ). After treatment, serum MMP-9 level was significant lower and serum TIMP-1 level was significant higher in the Caulis Sargentodoxae Formula group and in the mifepristone group than that of in the control group. The ratio of MMP-9/TIMP-1 was also significant lower in the Caulis Sargentodoxae Formula group and in the mifepristone group than that of in the control group ( $P<0.05$ ). **CONCLUSION** Caulis Sargentodoxae Formula can significantly relieve the symptoms and signs of patients with endometriosis and improve inner environment of pelvic cavity by regulate the ratio of MMP-9/TIMP-1.

**KEY WORDS:** endometriosis; Caulis Sargentodoxae Formula; MMP-9; TIMP-1

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)是指具有功能的子宫内膜腺体和间质在子宫腔以外的部位生长, 多发生于育龄妇女, 其发病机制至今尚未阐明<sup>[1]</sup>。EM 也是一种与不孕密切相关的妇科常见病, 约占不孕症妇女的 30%~40%, 是导致女性不孕的重要因素<sup>[2]</sup>。为此, 笔者对经腹腔镜手术确诊为 EM 的患者采用红藤方治疗, 并对疗效进行比较研究, 以期探讨红藤方治疗 EM 的作用机理, 寻求中西医结合治疗新途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

选择 2010 年 2 月—2012 年 2 月在上海中医药

大学附属曙光医院和浙江大学医学院附属邵逸夫医院就诊的经腹腔镜下确诊为 EM 的患者 90 例。患者年龄介于 23~35 岁, 平均为 30 岁; 病程年限为 2~10 年, 平均 6 年。所有病例随机分为 3 组, 每组 30 例, 分别为红藤方组、米非司酮组和空白对照组。3 组的临床资料及手术前血清基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)及其金属蛋白酶抑制物-1(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1)以及 2 者比值相比较差异均无统计学意义, 具有可比性( $P>0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 腹腔镜手术** 所有患者术前均无手术禁

作者简介: 黄晓燕, 女, 硕士, 副主任医师 Tel: 13761919951

E-mail: Huang3278@163.com

忌。于月经干净后 3~7 d, 在全麻下行腹腔镜手术, 取膀胱截石位, 采取脐部及下腹两侧(相当于麦氏点水平)三点式切口。根据病情施行相应的手术, 包括卵巢子宫内膜异位囊肿剥除术、盆腔粘连松解术、双侧输卵管整形术及盆腔 EM 病灶切除或电灼术等, 合并不孕的患者常规行输卵管亚甲兰通液试验, 检查输卵管通畅情况。术后常规应用抗生素 3~5 d。

**1.2.2 药物治疗** 红藤方组: 于术后一周起服用红藤合剂, 每日 3 次, 每次 20 mL, 连服 3 月。红藤合剂是由上海中医药大学戴德英教授的经验方剂——红藤方制成的院内制剂, 其主要成分为红藤、败酱草、桃仁、丹参、牡丹皮、牡蛎、延胡索、制香附、生蒲黄等<sup>[3]</sup>。米非司酮组: 于术后月经来潮第 1 天开始口服米非司酮, 每日 1 次, 每次 10 mg, 连用 3 月。空白对照组: 不使用任何药物。

### 1.3 疗效判断

疗效标准依据中国中西医结合学会妇产科专业委员会 1990 年第 3 届学术会议修订的“子宫内膜异位症的诊疗标准”。治愈: 临床治愈: 症状全部消失。盆腔包块等局部体征基本消失; 显效: 症状基本消失, 盆腔包块缩小(月经周期同时期对比及治疗前后同时期对比); 有效: 症状减轻, 盆腔包块无增大或略缩小, 停经 3 个月内症状不加重; 无效: 主要症状无变化或恶化, 局部病变有加重趋势。

### 1.4 观察指标

**1.4.1 临床症状改善情况** 包括痛经、性交痛或非经期腹痛、下腹坠痛等, 在药物治疗前及治疗后 3 个月分别进行评价。

**1.4.2 血清学指标检测** 均于手术前和治疗 3 个月结束后空腹抽取前臂肘静脉血 5 mL, 采用 ELISA 法检测 MMP-9、TIMP-1 水平, 具体操作

按照试剂盒说明书。

**1.4.3 各种不良反应** 记录研究期间发生的各种药物不良反应等。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析, 计量资料单位以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用方差分析; 计数资料率的比较采用  $\chi^2$  检验。P<0.05 为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床症状改善情况比较

治疗 3 个月后红藤方组的总有效率与米非司酮组相似, 且均较空白对照组明显提高。结果见表 1。

表 1 3 组临床症状改善情况比较(n=30)

Tab 1 Comparison of clinic symptoms(n=30)

组别	痊愈/例	显效/例	好转/例	无效/例	总有效率/%
红藤方组	8	10	8	4	86.6 <sup>1)</sup>
米非司酮组	8	9	8	5	83.3 <sup>1)</sup>
对照组	3	9	8	11	63.3

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup>P<0.05

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup>P<0.05

### 2.2 治疗前后血清 MMP-9、TIMP-1 水平以及 MMP-9/TIMP-1 的变化

红藤方组和米非司酮组治疗后 MMP-9 水平明显降低, TIMP-1 水平显著提高, 差异均具有统计学意义(P<0.01); 对照组治疗后 MMP-9 水平明显降低与治疗前比较差异显著, 具有统计学意义, 但 TIMP-1 水平无显著变化(P>0.05)。MMP-9/TIMP-1 比值各组治疗后均较治疗前显著降低, 且治疗后红藤方组和米非司酮组与对照组比较下降更明显, 差异具有统计学意义(P<0.05)。结果见表 2。

表 2 治疗前后血清 MMP-9、TIMP-1 水平以及 MMP-9/TIMP-1 的变化(n=30)

Tab 2 Comparison of serum MMP-9, TIMP-1 levels and the ratio of MMP-9/TIMP-1(n=30)

组别	MMP-9/ng·mL <sup>-1</sup>		TIMP-1/ng·mL <sup>-1</sup>		MMP-9/TIMP-1	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
红藤方组	261.5±170.8	58.4±22.9 <sup>2)4)</sup>	31.0±9.4	51.3±9.5 <sup>2)4)</sup>	13.0±8.2	2.3±1.5 <sup>2)3)</sup>
米非司酮组	260.8±172.2	60.5±21.8 <sup>2)4)</sup>	29.9±8.8	50.9±9.7 <sup>2)4)</sup>	12.5±7.8	3.3±1.6 <sup>2)3)</sup>
对照组	269.4±180.8	132.5±90.8 <sup>1)</sup>	29.3±8.4	30.6±6.4	12.3±8.9	6.6±4.4 <sup>1)</sup>

注: 与治疗前比较, <sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01; 与对照组比较, <sup>3)</sup>P<0.05, <sup>4)</sup>P<0.01

Note: Compared with pretherapy, <sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01; compared with control group, <sup>3)</sup>P<0.05, <sup>4)</sup>P<0.01

### 2.3 药物不良反应情况

米非司酮组有 2 例在疗程结束后复查超声提示子宫内膜增厚(分别为 15 mm 和 23 mm), 于转经后复查好转; 有 1 例出现肝功能轻度损害于停药 1 月后自行恢复。其他均未出现严重不良反应。

## 3 讨论

### 3.1 EM 与 MMP-9、TIMP-1 的关系

目前, EM 的确切发病机制不明。该病虽属良性病变, 却有着类似于恶性肿瘤的侵袭性生物学行为。局部蛋白水解活性的增高, 可能是异位内膜具有侵袭生长特性的原因之一, 而细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的破坏是异位内膜发生侵袭转移的关键因素。因此, 多数研究认为 MMPs 及 TIMPs 在异位病灶的侵袭性生长过程中发挥重要作用。MMPs 是一个锌离子依赖的中性蛋白酶家族, 它们的共同作用几乎可以降解所有的 ECM 和基底膜成分。MMP-9 是其中的一大类, 又名明胶酶, 相对分子质量为 95 000, 是降解 ECM 最重要的酶系统, 在组织重建、炎症、肿瘤生长、侵袭及转移等过程中起重要作用。TIMP-1 是 MMP-9 的天然抑制剂。EM 患者的 MMP-9/TIMP-1 失调时, MMP-9 可因缺乏 TIMP-1 的有效抑制而呈现过强的蛋白水解能力。研究发现, EM 患者异位内膜可表现出 MMP-9 表达增强, 而 TIMP-1 表达降低, ECM 降解增多, 导致异位内膜侵袭性生长<sup>[4]</sup>, 因而 MMP-9、TIMP-1 水平的变化为 EM 的临床诊断、治疗、预后以及复发等提供了新方法<sup>[5-6]</sup>。由结果可见, 所有患者治疗前 MMP-9、TIMP-1 的比值均处于高水平状态, 而在治疗后明显下降, 表明该指标与疾病的发生发展存在着密切的联系。

### 3.2 EM 的手术和药物治疗

腹腔镜不仅是诊断 EM 的金标准, 还是治疗的首要手段。腹腔镜通过激光烧灼、电凝、电切子宫内膜异位灶、卵巢子宫内膜异位囊肿, 可分解粘连, 行输卵管开窗或造口等, 重新恢复盆腔内环境, 使术后妊娠率升高<sup>[7]</sup>。EM 患者腹腔液中高浓度的前列腺素、白细胞介素-1 和肿瘤坏死因子以及抗子宫内膜抗体等均可通过不同的途径妨碍精卵结合、受精卵着床以及胚胎发育, 导致不孕。因此, 子宫内膜异位症保守性手术后药物巩固治疗对消除或抑制残存病灶, 防止复发非常必要。

多数学者指出术后应用药物治疗的必要性, 并主张推荐使用 GnRHa 3~6 个月。GnRHa 的应用能使垂体脱敏, 抑制 LH 和 FSH 分泌, 卵巢活性

受到抑制, 局部 E<sub>2</sub> 浓度降低, 异位内膜灶萎缩<sup>[8]</sup>; GnRHa 治疗后 EM 患者腹腔液中炎症细胞因子水平降低减轻了其对胚胎的毒性作用, 故临床上常用于治疗 EM 以减轻症状和提高受孕率。但是, GnRHa 治疗除药物价格昂贵外, 临床上常出现一定程度的低雌激素症状如潮热、心悸、阴道干涩等<sup>[9]</sup>。为此, 寻求一种有效、经济、简便、不良反应小的药物尤为重要。

米非司酮价格低廉, 是治疗 EM 的常用药物之一。作为一种人工合成 19-去甲基睾酮的衍生物, 米非司酮能有效地抑制排卵、诱发黄体溶解、干扰子宫内膜的完整性, 并直接作用于子宫内膜, 阻断其对雌、孕激素的反应性, 抑制其增生与分化, 促进凋亡从而抑制内膜细胞的生长。

### 3.3 EM 的中医药治疗

中医认为 EM 属“痛经”、“不孕”、“月经不调”等范畴, 瘀血内阻已成为本病的公认发病机制。此瘀的形成与情志、寒湿、血热、肾亏、痰湿等都有一定关系。国内亦多见中医治疗 EM 不孕的经验报道<sup>[10]</sup>。红藤方是上海中医药大学戴德英教授经过 30 多年的临床应用及研究研制而成的经验方, 已作为院内制剂针对 EM 在临床上获得满意的治疗效果<sup>[3]</sup>。红藤方以红藤、败酱草为君药, 前者长于清热解毒、消痈止痛, 又有活血散瘀止痛的作用, 红藤中葡萄糖苷能显著抑制羊精囊中前列腺素合成酶, 表明其有抗炎作用; 后者治血气、心腹痛、破症结, 二者合用具有活血化瘀、清热解毒之功效; 臣以牡丹皮、丹参以活血化瘀、凉血消症; 佐以牡蛎、香附、延胡索、牡蛎以化痰软坚, 清热除湿。全方可清热活血, 化瘀止痛, 消除盆腔粘连。前期实验研究也表明红藤方能显著抑制在位及异位内膜组织中 MMP-9 的活性, 从而降低异位内膜的种植、侵袭能力, 认为该药物能够通过抑制异位内膜中 MMPs 的表达来控制 EM 的发生、发展<sup>[3]</sup>。从本研究结果来看, 红藤方组的临床有效率为 86.6% 与米非司酮组的 83.3% 类似, 但两者均较对照组的 63.3% 有明显改善, 具有统计学意义。同时, 经治疗后红藤方组的 MMP-9 水平和 MMP-9/TIMP-1 比值与对照组比较均显著降低, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。推测红藤方可能通过某种免疫途径干扰疾病的发生发展, 抑制异位内膜的侵袭和种植, 其机理值得进一步分子生物学的研究和探讨。

(下转第 203 页)

专科医师防治糖尿病水平高有关。血糖控制、降血糖治疗的不合理用药、患者对 RI 的依从性等方面, A 组最好, B 组次之, C 组最差。说明糖尿病专科医师掌握更多的糖尿病防治知识, 更遵循指南控制血糖和进行糖尿病宣教。外科医师糖尿病知识掌握相对少, 对糖尿病防治指南不了解。但 A 组在降血糖治疗中也有 15.1% 的患者曾经有过不合理用药, 主要为 RI 日剂量 > 40 U 且无禁忌症的肥胖患者未加用 RI 增敏剂, 以改善胰岛素抵抗, 降低 RI 的剂量。另 2 组的不合理用药主要是空腹血糖高合并严重感染或危重的急性脑卒中、急性心肌梗死、中等程度及以上的手术等应激状态时, 未及时使用 RI 迅速控制血糖。应激状态可发生胰岛素抵抗以及儿茶酚胺、糖皮质激素、生长激素、胰高血糖素等分泌, 使血糖升得更加高, 两者互为因果, 对疾病的愈后不利。禁忌症用药、不合理的联合用药以 B 组最高, 这与 B 组患者年龄大、合并症多、医师对降糖药相关知识不甚了解等有关。

综上所述, 县医院糖尿病防治工作不容乐观, 当前血糖控制理想率低, 不合理用药率高, 尤其是外科医师规范化防治意识和经验严重欠缺。因此临床药师应该与糖尿病专科医师、护士一起组成防治团队, 对非专科医师加强 T2DM 的规范化防治和降糖药相关知识的培训, 参与非专科 T2DM 患者降血糖方案的制定, 加强对 T2DM 治疗医嘱合理性的专项点评, 促进医务部门对 T2DM 治疗

进行临床路径管理, 使 T2DM 作为基础疾病时在各临床科室都能得到规范的治疗。

## REFERENCES

- [1] YANG W, LU J, WENG J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] ZHAO G, SU Y X, YAN L, et al. The effects of low-glycemic index dietary on states of metabolism and nutrition in patients with diabetes mellitus [J]. *Chin J Diabetes*(中国糖尿病杂志), 2007, 15(8): 495-497.
- [3] SHEN J M. Latest progress of drugs used in type-2 diabetes mellitus treatment [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2011, 28(4): 311-314.
- [4] Chinese Diabetes Society. Chinese type 2 diabetes prevention and control guidelines(2010) [J]. *Chin J Front Med Sci*(中国医学前沿杂志), 2011, 3(6): 54-109.
- [5] Asian-Pacific Type 2 Diabetes Policy Group. Type 2 diabetes practical targets and treatments [M]. 3<sup>rd</sup> ed. Sydney: Health Communications Australia Pty Ltd and *in Vivo* Communications Pty Ltd: 2002, 14-24.
- [6] MARY A K K, LLOYD Y Y, WAYNE A K, et al. Applied Therapeutics: the Clinical Use of Drugs(临床药物治疗学: 内分泌疾病) [M]. Version 8. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007.
- [7] STRATTON I M, ADLER A I, NEIL H A, et al. Association of glycemia with macrovascular and microvascular complication of type 2 diabetes(UKPDS 35): prospective observational study [J]. *BMJ*, 2000, 321(7258): 405-412.
- [8] Ch.P(2010)Vol III(中国药典 2010 年版. 三部)[S]. 2010: 576-577.
- [9] AN G H, GENG X F, JI M C. Interactions of antihyperglycemic agents and drug [J]. *Chin J Clin Pharmacol*(中国临床药理学杂志), 2003, 19(1): 67-70.

收稿日期: 2012-07-19

(上接第 196 页)

## REFERENCES

- [1] SENAPATI S, BARNHART K. Managing endometriosis-associated infertility [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2011, 54(4): 720-726.
- [2] DE ZIEGLER D, BORGHESE B, CHAPRON C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management [J]. *Lancet*, 2010, 376 (9742): 730-738.
- [3] ZHANG T T, LIU J Y, SHU L D, et al. Effect of "Caulis Sargentodoxae Formula" on MMP-9 and MMP-2 expression in endometriosis rats [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*(上海中医药大学学报), 2005, 19(4): 48-51.
- [4] LI Y, LANG J H. Expression s of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 mRNA in endometriosis [J]. *Chin J Obstet Gynecol*(中华妇产科杂志), 2006, 41(1): 30-33.
- [5] MABROUK M, ELMAKKY A, CAMELLI E, et al. Performance of peripheral (serum and molecular) blood markers for diagnosis of endometriosis [J]. *Arch Gynecol*

Obstet, 2012, 285(5): 1307-1312.

- [6] WEIGEL M T, KRAMER J, SCHEM C, et al. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 160(1):74-78.
- [7] DARAI E, CARBONNEL M, DUBERNARD G, et al. Determinant factors of fertility outcomes after laparoscopic colorectal resection for endometriosis [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2010, 149(2): 210-214.
- [8] LEE D Y, BAE D S, YOON B K, CHOI D. Post-operative cyclic oral contraceptive use after gonadotrophin-releasing hormone agonist treatment effectively prevents endometrioma recurrence [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(12):3050-3054.
- [9] KIM N Y, RYOO U, LEE D Y, et al. The efficacy and tolerability of short-term low-dose estrogen-only add-back therapy during post-operative GnRH agonist treatment for endometriosis [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011, 154(1): 85-89.
- [10] LIU J, HE K, LI Q. Effect of Shaofu Zhuyu Pill on expression of MMP-9 and TIMP-1 mRNA in endometriosis rats [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2012, 34(4): 610-613.

收稿日期: 2012-06-06