

- 17beta- estradiol in breast cancer cells[J]. J Biol Chem , 1999 , 274(45) : 32099- 32107.
- [3] 阿依木古丽,蔡勇,范光丽,等. 雌激素对大鼠肾上腺皮质中 Bax、Bcl- 2 表达的影响[J]. 动物学杂志, 2006 , 41(3) : 114- 117.
- [4] 刘慧娟,贾德永,刘凯,等. 去卵巢对大鼠肾上腺皮质网状带结构的影响[J]. 新乡医学院学报, 2005 , 22(4) : 313- 317.
- [5] 张帆,马卫东. 自拟更年期汤治疗肾阳虚型绝经前后诸证 35 例[J]. 辽宁中医杂志, 2008 , 35(9) : 1360- 1362.
- [6] 张帆,侯聪. 更年期汤对围绝经期模型大鼠 E₂、LH、FSH、GnRH 的干预作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012 , 39(9) : 1850- 1854.
- [7] 曾灵,张帆. 自拟更年期汤对围绝经期模型大鼠雌激素受体及细胞凋亡相关因子的影响和作用机理研究[D]. 贵阳: 贵阳中医学院, 2013.
- [8] 侯聪,张帆. 张帆治疗肾阳虚型围绝经期综合征经验[J]. 辽宁中医杂志, 2011 , 38(8) : 1504- 1505.
- [9] 邢传平,刘斌,董亮. 免疫组织化学标记结果的判断方法[J]. 中华病理学杂志, 2001 , 30(4) : 318.
- [10] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判定标准[J]. 中国癌症杂志, 1996(6) : 229- 231.
- [11] 于萍,步宏,王华,等. 免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究[J]. 生物医学工程杂志, 2003 , 20(2) : 288- 290.
- [12] 沈晓明,杜元灏,李谈. 调神益智针法对更年期大鼠雌激素分泌器官的干预作用[J]. 中国药理学, 2002 , 20(3) : 336- 355.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)

针灸配合中药干预输卵管炎性阻塞性不孕症 sICAM-1 蛋白表达的研究

彭志华, 韩霞, 杨丽霞, 徐娟, 谢宇锋, 金素芳

深圳市福田区中医院, 广东 深圳 518034

[摘要] 目的: 观察针灸配合中药对输卵管阻塞炎性不孕症 sICAM-1 蛋白表达的影响。方法: 选取 Wistar 雌性大鼠 68 只, 将其随机分成空白对照组、模型组、通孕方组、针灸组、通孕方加针灸组和头孢呋辛加甲硝唑组共 6 组, 造模成功后连续治疗 30 天, 然后采用免疫组化方法检测各组大鼠输卵管 sICAM-1 蛋白的表达。结果: 与空白组比较, 造模后各组大鼠 sICAM-1 蛋白表达阳性细胞计数均增高, 且差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 通孕方加针灸组 sICAM-1 蛋白表达阳性细胞计数较其他对照组降低, 且差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 针灸联合中药治疗输卵管炎性阻塞性不孕症可抑制 sICAM-1 蛋白的表达, 促进炎症吸收与消散, 为临床上针灸配合中药治疗输卵管阻塞炎性不孕症提供了实验理论依据。

[关键词] 输卵管炎性阻塞性不孕症; 针灸; 通孕方; sICAM-1 蛋白; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2016)08-0306-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.08.134

Study of Acupuncture Therapy Combined with Chinese Medicine Intervening sICAM-1 Protein Expression of Salpingemphraxis Inflammatory Infertility

PENG Zhihua, HAN Xia, YANG Lixia, XU Juan, XIE Yufeng, JIN Sufang

Abstract: Objective: To observe effect of acupuncture therapy combined with Chinese medicine(CM) on soluble intercellular cell adhesion molecule(sICAM-1) protein expression of salpingemphraxis inflammatory infertility. Methods: Selected 68 cases of Wistar female rats and divided them into blank group, model group, Tongyun fang group, acupuncture group, Tongyun fang+ acupuncture group, cefuroxime + metronidazole group randomly, total 6 groups. Continues treat for 30d after molding successfully, then detected sICAM-1 protein expression of rats' oviduct in every group by immunohistochemical

[收稿日期] 2016-03-28

[基金项目] 广东省中医药局科研项目 (20131035); 深圳市科技计划基础研究项目 (JCYJ20140414145007219)

[作者简介] 彭志华 (1976-), 女, 医学硕士, 主治医师, 主要从事针灸临床工作。

[通讯作者] 韩霞, E-mail: 957848451@qq.com。

method. Results: After molding, counting of sICAM-1 protein expression positive cell of rats in every molding group were increased obviously, counting of sICAM-1 protein expression positive cell in Tongyun fang+ acupuncture group was lower than that in other groups, difference being significant ($P < 0.05$). Conclusion: Acupuncture therapy combined with CM for salpingemphraxis inflammatory infertility can inhibit sICAM-1 protein expression, promote absorption and disappearance of inflammation. It provides experimental theory basis for acupuncture therapy combined with CM for salpingemphraxis inflammatory infertility clinically.

Keywords: Acupuncture; Tongyun fang; Salpingemphraxis inflammatory infertility; soluble Intercellular cell adhesion molecule(sICAM-1) protein

输卵管炎性阻塞性不孕是指因致病菌作用于输卵管使之发生肥大、增粗、渗出、狭窄、粘连以致卵子不能正常运送,而导致不孕的一种病症,是女性不孕症的重要原因之一,急慢性炎症均能导致输卵管组织功能的降低,约占女性不孕症的25%~50%,且呈逐年上升趋势,严重影响女性身心健康^[1~3]。针灸治疗不孕症历史悠久且疗效肯定,尤其在促排卵的治疗方面有其独特的优势^[4]。本研究建立了大鼠模型,造模成功后连续治疗30天,然后采用免疫组化方法检测各组大鼠输卵管sICAM-1蛋白的表达,以期阐明针灸联合中药干预输卵管炎性阻塞性不孕症的作用机理,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 70日龄的Wistar雌性大鼠58只,重量180~240g,采用颗粒饲料常规饲养。大鼠由广州中医药大学动物实验室提供,动物合格证号SCXK(粤)2013-0020,SPF动物实验室:广州中医药大学动物实验中心SPF级动物室,环境许可证号:SYXK(粤)2013-001。

1.2 实验药物 通孕方组方:赤芍、丹参各15g,当归、黄芪、牡丹皮、白术、桂枝、桃仁、三棱、莪术各10g,甘草6g。水煎30min后,滤取煎液,消毒,灭菌,4℃保存备用。

1.3 实验方法

1.3.1 造模方法^[5~6] 从68只Wistar雌性大鼠中随机选取10只作为空白对照组,其他58只按照以下方法进行造模:用体积分数为10%乌拉坦(剂量按10mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,待麻醉生效后,将大鼠固定于操作台上,无菌消毒后,在下腹部正中切开长约0.8~1cm的切口,开腹寻找大鼠子宫双角,分别在子宫角近输卵管处进针,向输卵管-卵巢方向注射细菌悬液0.15mL(细菌溶液组成如下:大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌按2:1:1用无菌生理盐水稀释,配成浓度为 3.0×10^9 mL⁻¹混合菌),手术过程尽量避免伤到其他组织,缝合切口后,恢复饮水,正常清洁饲养。

1.3.2 分组及处置方法 空白对照组10只大鼠,另外58只造模大鼠,在造模术后第5、10、15、20天分别随机处死2只进行病理学观察,确认模型复制成功后,取剩余造模组大鼠50只(剔除个体差异过大者)随机均分为5组。①模型组:标准饲养,造模后第2天开始连续生理盐水灌胃30天,每次10

mL,每天2次;自制大鼠固定器将大鼠束缚固定20min,每天1次,连续30天。②通孕方组:标准饲养,造模后第2天开始连续中药通孕方煎液灌胃30天,每次10mL,每天2次;自制大鼠固定器将大鼠束缚固定20min,每天1次,连续30天。③针灸组:标准饲养,造模后第2天开始连续生理盐水灌胃30天,每次10mL,每天2次;自制大鼠固定器将大鼠束缚固定。取穴:关元、血海(双侧,泻法)、三阴交(双侧,泻法)、太冲(双侧,泻法);按照《实验针灸学》^[7]标准取穴,局部用75%酒精常规消毒后,选用环球牌0.3mm×25mm毫针,刺入约0.5cm,针刺得气后留针20min,每天1次,连续治疗30天。④通孕方加针灸组:标准饲养,造模后第2天开始连续中药通孕方煎液灌胃30天,每次10mL,每天2次,针灸干预方案同针灸组。⑤头孢呋辛加甲硝唑组:标准饲养,造模后第2天开始连续头孢呋辛加甲硝唑混合液(头孢呋辛0.175g/kg加甲硝唑0.02g/kg)灌胃30天,每次10mL,自制大鼠固定器将大鼠束缚固定20min,每天1次,连续30天。

1.3.3 免疫组化法检测 处死各组大鼠后迅速解剖,观察输卵管管色泽、形状,及其与周围组织粘连、积液等情况,取出双侧输卵管,常规石蜡切片,免疫组化法检测sICAM-1蛋白的表达。采集图像、分析数据。

2 统计学方法

应用SPSS19.0统计软件进行数据资料的统计学处理,实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,当数据满足正态分布且方差齐时,采用单因素方差分析进行比较,组间两两比较采用SNK检验;若方差不齐时,采用Tambane法进行两两比较。

3 研究结果

各组大鼠sICAM-1蛋白阳性细胞计数比较,见表1。造模后大鼠sICAM-1蛋白表达阳性细胞计数均增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,经过干预后通孕方组、针灸组、通孕方加针灸组、头孢呋辛加甲硝唑组sICAM-1蛋白表达阳性细胞计数降低,且差异均有统计学意义($P < 0.05$);与头孢呋辛加甲硝唑组比较,通孕方组、针灸组sICAM-1蛋白表达阳性细胞计数相当,差异均无统计学意义($P > 0.05$);但通孕方加针灸组sICAM-1蛋白表达阳性细胞计数降低,且差异

有统计学意义($P < 0.05$)；与通孕方加针灸组比较，通孕方组、针灸组 sICAM-1 蛋白表达阳性细胞计数降低幅度较小，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 各组大鼠 sICAM-1 蛋白阳性细胞计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sICAM-1 蛋白表达阳性细胞
空白组	10	-
模型组	10	85.90 ± 3.78 ^①
通孕方组	10	20.40 ± 3.86 ^{①②③⑤}
针灸组	10	19.2 ± 4.29 ^{①②③⑤}
通孕方加针灸组	10	11.5 ± 2.95 ^{①②④}
头孢呋辛加甲硝唑组	10	19.70 ± 3.59 ^{①②}

注：各组数据经正态性检验及方差齐性检验提示正态分布但方差不齐，故采用 Tamhane 法进行方差分析， $F=795.31$ ， $P=0.000$ ；与空白组比较，^① $P=0.000 < 0.05$ ；与模型组比较，^② $P=0.000 < 0.05$ ；与头孢呋辛加甲硝唑组比较；^③ $P=1.000 > 0.05$ ；^④ $P=0.000 < 0.05$ ；与通孕方加针灸组比较，^⑤ $P=0.000 < 0.05$

5 讨论

输卵管炎性阻塞性不孕散见于中医学不孕、癥瘕、无子、绝嗣、断续等疾病中^⑧。中医学认为本病因冲任空虚，外邪乘虚而入所致，若邪气内聚久而不去，则易致气滞血瘀、瘀血阻滞胞宫，气血运行不畅，胞络闭塞精卵运行受阻，两精不能结合而导致不孕，发病机制均与瘀滞有关，正如《妇人良方》指出：“妇人病皆由冲任劳损而致”，《景岳全书·妇人规》曰：“瘀血留滞作，唯人有之，其证或由经期，或由产后，凡内伤生冷，或外受风寒，或愤怒伤肝，气逆而血留……总有血动之时，余血未净，而一有所逆，则留滞日积，而渐以成”。气血瘀滞可影响冲任及脏腑功能，影响经脉畅通，妨碍精卵结合。因此，行气活血、化瘀通络应是治疗此类不孕症的总则^⑨。我国古代医籍记载着丰富的针灸治疗不孕症的遣方用穴经验，《针灸大成》云：“关元主月经不通，绝嗣不生”，现代临床实验研究显示，针灸治疗不孕症疗效确切^⑩，故用关元能调理冲任，血海是足太阴脾经的穴位，能活血祛瘀，祛瘀有利于炎症消除；太冲为足厥阴肝经原穴，可行气通络，活血化瘀。三阴交是足三阴经交会穴，也是妇科疾病经验用穴，临床广泛用于各类妇产科病症。

通孕方由《医林改错》中的少腹逐瘀汤化裁而来，为本院中医妇科经验用方，临床应用多年，取得较好疗效，方中丹参与赤芍共为君药以活血祛瘀，赤芍有活血通经、散瘀消癥的作用，配伍桃仁应用可增强活血化瘀之功，三棱辛散，既能破血逐瘀，又能行气止痛，与莪术相须为用，其中，三棱偏于破血，莪术偏于破气，四君药相须为用，增强活血化瘀疗效，丹

参能活血调经，为活血化瘀之要药，当归补血和血，调经止痛，牡丹皮活血散瘀。黄芪大补元气、扶正固本；黄芪、白术相配，既健脾清热，又助孕安胎，治愈后不影响服药当月受孕，且有安胎功用，桂枝升发阳气，温通经络。甘草为使，具有调和诸药之功效，诸药合用，共奏活血化瘀、通经活络、助孕安胎之效，是理想的治疗输卵管阻塞性不孕的中药方剂。

sICAM-1 是免疫球蛋白基因超家族成员^⑥，位于多种细胞表面，可介导细胞间黏附和信号传递，参与细胞间，及细胞与细胞外基质间、效应细胞与靶细胞的相互作用，参与感染、炎症、变态反应等过程，多种炎症均有 sICAM-1 蛋白表达增加现象。本研究结果表明：针灸配合中药通孕方治疗本病可显著降低 sICAM-1 蛋白表达阳性细胞计数，抑制炎症引起的 sICAM-1 蛋白表达异常升高，从而发挥其抗炎作用，疗效优于西药治疗组，且无西药的毒副作用，是治疗本病的较好方法，值得在临床进一步研究。

【参考文献】

- [1] 宋素艳, 唐玉红. 自拟中药分期治疗输卵管阻塞性不孕 50 例[J]. 中医药导报, 2012, 18(11): 108.
- [2] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 351.
- [3] 杨晓梅, 张奕, 张淑华. 输卵管阻塞性不孕的中西医结合治疗进展[J]. 中医学报, 2010, 25(3): 595-596.
- [4] 常福丽, 李淑玲. 针灸治疗不孕症临床研究概况[J]. 中医杂志, 2008, 49(8): 754-757.
- [5] 赵广兴, 王春田, 马宝璋, 等. 大鼠输卵管炎性不孕症模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(1): 23-26.
- [6] 邱宇清. 活血助孕方对输卵管炎性不孕大鼠 sICAM-1 表达的研究[J]. 中医学报, 2012, 27(2): 185.
- [7] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [8] 杨新鸣, 侯丽辉, 吴效科. 妍婷颗粒对输卵管炎性不孕大鼠模型 ICAM-1 的影响[J]. 北京中医药大学学报: 中医临床版, 2006, 13(2): 1-4.
- [9] 罗亚萍, 马惠荣, 杜惠兰, 等. 逍遥丸对雄激素致无排卵大鼠卵巢功能的影响[J]. 河北中医药学报, 2009, 24(3): 33-34.
- [10] 吴茗玉, 邓小娟. 中药配合针灸治疗输卵管阻塞性不孕症 40 例临床观察[J]. 中医药导报, 2013, 19(6): 61-62.

(责任编辑: 刘淑婷)