

仙早合剂治疗排卵障碍性异常子宫出血疗效及机制探讨

刘恒炼, 冯 倩, 夏 敏*

重庆市中医院 妇科, 重庆 400021

摘要:目的 通过网络药理学分析仙早合剂治疗排卵障碍性异常子宫出血 (abnormal uterine bleeding-ovulatory dysfunction, AUB-O) 的作用机制, 观察仙早合剂治疗 AUB-O 的临床疗效, 以及从血液动力学、血清白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 信号通路相关因子水平的变化对其作用机制进行探讨。**方法** 通过网络药理学分析仙早合剂治疗 AUB-O 的活性成分及作用机制。选择重庆市中医院妇科 97 例血热型 AUB-O 患者, 运用随机数字表法分为对照组 49 例和治疗组 48 例。对照组患者口服宫血宁胶囊治疗, 治疗组患者口服仙早合剂治疗, 治疗持续 10 d。观察两组的临床疗效, 比较两组治疗前后的出血量、止血时间、D-二聚体水平、血小板数量、子宫血液动力学、优势卵泡率以及血清血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂)、前列环素 I₂ (prostaglandin I₂, PGI₂)、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、前列腺素 F_{2α} (prostaglandin F_{2α}, PGF_{2α}) 水平及 IL-17 信号通路相关因子 IL-6、IL-1β、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、MMP1、转录激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 的变化情况。**结果** 通过网络药理学发现仙早合剂治疗 AUB-O 与 IL-17 信号通路相关。治疗组总有效率为 95.8%, 对照组总有效率为 79.6%, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后, 两组出血量随着治疗时间的延长均减少, 第 7、10 天出血量比治疗前及第 3 天显著减少 ($P < 0.05$), 第 10 天出血量显著少于第 7 天 ($P < 0.05$), 第 10 天出血量治疗组显著少于对照组 ($P < 0.05$); 治疗组止血时间显著短于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后, 与治疗前比较, 治疗组患者子宫动脉子宫动脉收缩期最大血流速度/舒张末期血流速度 (S/D)、阻力指数 (RI) 升高, D-二聚体下降 ($P < 0.05$), 对照组改善不明显, 且治疗组 S/D 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后, 两组血小板数量与治疗前比较显著增加, 且治疗组血小板数量多于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后, 治疗组优势卵泡率 58.3%, 对照组优势卵泡率 26.5%, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后, 治疗组血清 PGI₂、PGE₂ 水平明显降低 ($P < 0.05$), 两组血清 PGF_{2α}、TXA₂ 水平明显升高 ($P < 0.05$), 且治疗组血清 PGI₂ 水平优于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后, 治疗组血清 IL-6、IL-1β、MMP9、MMP1、NF-κB、AP-1、COX-2 水平与治疗前比较均显著下降 ($P < 0.05$), 且治疗组血清 IL-6、IL-1β、AP-1、COX-2 水平与对照组比较均显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 仙早合剂治疗 AUB-O 疗效确切, 其止血机制与增加血小板数量使血小板聚集、增加子宫动脉血流阻力, 收缩子宫螺旋动脉相关。仙早合剂可通过 IL-17 信号通路中的有效靶点, 降低血清炎症因子的分泌, 阻断 COX-2 诱导 PGE₂ 的生成, 起到止血的作用。

关键词: 排卵障碍性异常子宫出血; 仙早合剂; 网络药理学; IL-17 信号通路; 止血作用

中图分类号: R285.64 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)12-3921-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.12.019

Curative effect and mechanism of Xianhan Mixture in treatment of abnormal uterine bleeding-ovulatory dysfunction

LIU Heng-lian, FENG Qian, XIA Min

Department of Gynecology, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China

Abstract: Objective To observe the clinical efficacy of Xianhan Mixture (仙早合剂) in the treatment of abnormal uterine bleeding-ovulatory dysfunction (AUB-O), analyze its active ingredients and signal pathway through network pharmacology, and explore the mechanism in hemodynamics and interleukin-17 (IL-17) signal pathway. **Method** The active ingredients and mechanism of Xianhan

收稿日期: 2022-11-13

基金项目: 重庆市卫生计生委中医药科技项目 (ZY201602106); 重庆市中医药重点学科项目 [(2018)43]; 国家中医药管理局第三届国医大师传承工作室及全国名中医传承工作室 (2018YFC1704104); 第七批全国老中医药专家学术经验传承项目 [(2022)79]; 夏敏重庆英才·创新领军人才项目 [2019(2)]

作者简介: 刘恒炼, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向为生殖内分泌疾病、不孕症。E-mail: 765307823@qq.com

***通信作者:** 夏 敏, 主任医师, 从事妇科内分泌、辅助生殖工作。E-mail: 491405096@qq.com

Mixture in the treatment of AUB-O were analyzed by network pharmacology. A total of 97 cases of hemothermic AUB-O were selected from the department of gynecology in Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine. They were randomly divided into control group (49 cases) and treatment group (48 cases). The control group was given Gongxuening Capsule (宫血宁胶囊) orally, and the treatment group was given Xianhan Mixture orally for 10 d. The clinical effect of the two groups was observed. The bleeding volume, bleeding time, D-dimer level, platelet count, uterine hemodynamics, dominant follicle rate and serum thromboxane A₂ (TXA₂) and prostaglandin I₂ (PGI₂), prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) level and IL-17 signaling pathway related factors IL-6, IL-1β, matrix metalloproteinase 9 (MMP9), MMP1, activator protein-1 (MMP1), activator protein-1 (AP-1), cyclooxygenase-2 (COX-2), and nuclear factor-κB (NF-κB) were compared between the two groups before and after treatment. **Results** Through network pharmacological analysis, it was found that the treatment of AUB-O by Xianhan Mixture was related to IL-17 signaling pathway. The total effective rate was 95.8% in the treatment group and 79.6% in the control group, the treatment group was superior to the control group ($P < 0.05$). After treatment, the bleeding volume in the two groups decreased with the extension of treatment time, the bleeding volume in the 7th and 10th day was significantly reduced compared with that before treatment and the 3rd day ($P < 0.05$), the bleeding volume in the 10th day was significantly less than that in the 7th day ($P < 0.05$), and bleeding volume in the 10th day was significantly less than that in the control group ($P < 0.05$); The bleeding time in the treatment group was less than that in the control group ($P < 0.05$). After treatment, compared with before treatment, the maximum systolic blood velocity/end-diastolic blood velocity (S/D) and resistance index (RI) of uterine artery in the treatment group were increased, and D-dimer was decreased ($P < 0.05$), while the improvement was not obvious in the control group, and S/D in the treatment group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). After treatment, the number of platelets in the two groups was significantly increased compared with that before treatment, and the number of platelets in the treatment group was higher than that in the control group ($P < 0.05$). After treatment, the dominant follicle rate was 58.3% in the treatment group and 26.5% in the control group, and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, serum PGI₂ and PGE₂ levels in the treatment group were significantly decreased ($P < 0.05$), serum PGF_{2α} and TXA₂ levels in the two groups were significantly increased ($P < 0.05$), and serum PGI₂ levels in the treatment group were better than those in the control group ($P < 0.05$). After treatment, serum levels of IL-6, IL-1β, MMP9, MMP1, NF-κB, AP-1 and COX-2 in treatment group were significantly decreased compared with before treatment ($P < 0.05$), and serum levels of IL-6, IL-1β, AP-1 and COX-2 in treatment group were significantly decreased compared with control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Xianhan Mixture was effective in the treatment of AUB-O, and its hemostatic mechanism was related to increasing the number of platelets, increasing the blood flow resistance of uterine artery, and shrinking the spiral artery of uterus. Xianhan Mixture could reduce the secretion of serum inflammatory factors through effective targets in IL-17 signaling pathway, block the generation of COX-2 induced PGE₂, and play a hemostatic role.

Key words: abnormal uterine bleeding-ovulatory dysfunction; Xianhan Mixture; network pharmacology; IL-17 signaling pathway; hemostasis effect

异常子宫出血(abnormal uterine bleeding, AUB)是指非妊娠期或妊娠期妇女源自宫腔的出血,是妇科常见病,发病率 11%~13%。排卵障碍性异常子宫出血(AUB-ovulatory dysfunction, AUB-O)在临床比较常见,临床表现为月经的规律丧失,经期延长超过 7 d 或少于 3 d,月经量过多(>80 mL)或过少(<20 mL)^[1]。国际妇产科联盟将其统一命名并进行了分类。AUB 可引起患者贫血、继发感染、不孕,可能伴发子宫内膜增生、子宫内膜恶变,我国也根据国际分类形成专家共识^[2-3]。AUB 不仅严重影响患者的生活质量,并对患者的精神造成负担^[4]。现代医学在治疗 AUB-O 上主要使用激素治疗和手术治疗^[5]。口服激素治疗患者依从性差,并具有一定副作用,患者对手术的接受度较差,并且病情容易

反复,对大部分功能性出血不能起到根治作用。通过研究证实中医药治疗 AUB-O 是有效的并通过专家共识得以推荐^[6-7]。本课题组前期对血热型 AUB-O 患者进行疗效观察,发现仙早合剂止血效果稳定,并能缓解患者症状、体征,改善患者的凝血相关指标^[8]。仙早合剂由仙鹤草、旱莲草、侧柏叶、地黄、丹皮、甘草、槐角、白及、荆芥炭、白茅根、地榆 11 味中药组成,可凉血、止血,用于痔漏及内脏出血。宫血宁胶囊作为治疗血热型崩漏出血的上市药物,具有凉血止血的作用,故选作本研究的对照药物。本研究通过网络药理学分析仙早合剂治疗 AUB-O 的机制,通过观察口服药物后在不同时间点的出血量及治疗前后的血液指标的变化情况,验证仙早合剂的止血效果,并探讨仙早合剂治疗 AUB-

O 的机制,为临床药物研究奠定基础。

1 仙早合剂网络药理学研究

1.1 仙早合剂活性成分及靶点的筛选

借助中药系统药理学技术平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP) 检索仙早合剂中 11 味药材的所有化学成分,以药物口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 作为筛选条件,筛选较高活性的化合物。然后在 TCMSP 平台获取化合物对应的靶点蛋白,同时使用蛋白质数据库 (Uniprot Database) 筛选出物种为“人”的靶点。

1.2 疾病靶点的筛选及与活性成分靶点交集

通过 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库进行检索,获得 AUB-O 疾病以及药物有效成分相关靶点,取交集后筛选出共同作用靶点。

1.3 “活性成分-靶蛋白-疾病”网络的构建

采用 Cytoscape 3.7.0 软件构建仙早合剂治疗 AUB-O 的“活性成分-靶蛋白-疾病”共表达网络图,其中发现仙早合剂与 AUB-O 相关的有效成分和共同靶点。

1.4 蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络

将筛选得到的疾病-药物成分共同靶蛋白在 String 平台构建 PPI 网络,将蛋白种类设置为“homo sapiens”,最低相互作用阈值设为“high confidence (0.7)”,其他保持默认设置,获得 PPI 网络图。

1.5 基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析

对靶蛋白进行 GO 注释,寻找仙早合剂治疗 AUB-O 所参与的生物学过程,通过 Cluster Profiler R 软件对上述获得的靶蛋白进行生物过程富集分析,分析关键靶点参与的生物过程。同时对靶蛋白进行 KEGG 富集分析,借助 Cluster Profiler R 软件对仙早合剂治疗 AUB-O 的靶点进行 KEGG 富集分析。寻找仙早合剂治疗 AUB-O 可能的信号通路。

2 临床研究

2.1 资料来源与试验设计

本研究病例均为 2016 年 10 月—2019 年 10 月重庆市中医院妇科收治的 AUB-O 患者,辨证属血热型。依照比例 1:1 随机分配为对照组和治疗组,

比较类型为差异性检验,且以综合疗效指数为主要评价指标。根据前期研究结果、相关文献专家估计^[8],计算得出所需样本量为 45,两组共计 100 例,借助 SAS 统计分析系统,产生随机分组表,患者入组序号即为受试者序号,每个患者根据对应受试者序号接受相应的治疗方案。本研究通过重庆市中医院伦理审查,批号 2016-KY-12。

2.2 诊断标准

2.2.1 西医诊断标准 根据美国美国妇产科学会指南和国际妇产科联盟最新修订指南^[9]制定:(1)与正常月经的周期频率、规律性、经期长度、经期出血量任何 1 项不符的、源自子宫腔的异常出血,并且包括近期在出血量、频率、持续时间和疼痛的改变。(2)患者不伴有其他疾病(如甲状腺疾病、高血压、肾脏疾病、厌食症或暴食症、精神病和其他一些慢性病)。(3)患者未使用类似或相关药物治疗。

2.2.2 中医证候血热证诊断标准 参照《中药新药临床研究指导原则》^[10]以及《中医妇科临床诊疗指南》^[11]拟定:(1)突然出血,量多,或淋漓不尽,色深红,质黏稠;(2)头晕面赤;(3)烦渴;(4)大便秘结,小便黄;(5)舌质红绛或舌尖红,舌苔黄或黄腻;(6)脉数或弦数、洪数。具备上述 (1)和其他任何 3 项即可诊断。

2.3 纳入和排除标准及终止标准

2.3.1 纳入标准 (1)符合西医诊断标准并为出血期患者;(2)符合中医血热型辨证的标准;(3)年龄 14~49 岁;(4)患者或其法定监护人愿意参加本研究并签署患者知情同意书。

2.3.2 排除标准 (1)先天性生殖器官发育异常导致功血者以及妇科内外生殖器器官、生殖道的损伤、病变、感染等;(2)妊娠和产褥期相关出血;(3)近 3 个月内服用激素类药物或其他可引起月经失调的药物;(4)血红蛋白 < 90 g/L 的患者;(5)染色体异常;(6)合并有严重心血管、肝、肾和造血系统等原发性疾病;(7)精神病患者;(8)过敏体质或对本研究药物组成成分过敏者。

2.3.3 终止标准 (1)未能坚持按时服药或采用其他药物治疗者;(2)无任何检测记录者;(3)患者 3 个月内参加其他临床试验;(4)研究过程中发现患有其他病,需要用其他药物或非药物治疗者;(5)对于入组研究观察的患者超过 10 d 未止血者建议患者终止观察,改用其他药物或手段干预。

2.4 治疗方法

2.4.1 治疗药物 仙早合剂为院内制剂，由重庆市中医院制剂室生产（渝药制字 Z20051115，生产批号 180801），规格：100 mL/瓶。宫血宁胶囊由云南白药集团股份有限公司生产（国药准字 Z20020087，生产批号 ZMA1701），规格：0.13 g×18 粒/瓶。

2.4.2 给药方法 治疗组患者口服仙早合剂每次 30 mL，3 次/d 连续服用。对照组患者口服宫血宁胶囊，每次 2 粒，3 次/d，连续服用。两组均连续服药，血止后停药，最长给药时间不超过 10 d。对于超过 10 d 未止血者建议患者终止观察，改用其他药物或手段干预。前期观察数据纳入本研究，终止观察后数据不纳入本研究。

2.5 疗效标准

参照国家卫生部颁发的《中药新药临床研究指导原则》中医证候评分标准对患者治疗前后症状进行积分。依据《中药新药临床研究指导原则》^[1]拟定临床治愈、显效、有效及无效标准。（1）治愈：阴道血止，症状积分减少>95%；（2）显效：阴道血止，症状积分减少>70%；（3）有效：阴道出血控制，症状积分减少>30%；（4）无效：阴道出血未停止，其他症状无改善，症状积分减少<30%。

总有效率=（治愈例数+显效例数+有效例数）/总例数

2.6 观察指标

2.6.1 出血量、止血时间 在治疗第 3、7、10 天分别记录患者出血量和止血时间。根据月经失血图法评分测量出血量。

2.6.2 血液指标及血清因子水平 治疗前后静脉采血，血细胞计数仪计数两组患者血小板，全自动凝血仪检测 D-二聚体水平；利用彩超检测子宫动脉血流动力学指标子宫动脉收缩期最大血流速度/舒张末期血流速度（S/D）、阻力指数（RI）和优势卵泡率（卵泡>15 mm 则视为有优势卵泡）；静脉血以 3000 r/min 分离血清后，采用 ELISA 法检测血清血栓素 A₂（thromboxane A₂, TXA₂）、前列环素 I₂（prostaglandin I₂, PGI₂）、前列腺素 E₂（prostaglandin E₂, PGE₂）、前列腺素 F_{2α}（prostaglandin F_{2α}, PGF_{2α}）的水平，检测试剂盒由上海酶联生物科技有限公司生产。

2.6.3 白细胞介素-17（interleukin-17, IL-17）信号通路相关因子水平 采用 ELISA 法检测血清中白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）、IL-1β、基质金属蛋白酶（matrix metalloprotein, MMP9）、MMP1、转录激活蛋白-1（activator protein-1, AP-1）、环氧合

酶-2（cyclooxygenase-2, COX-2）、核因子-κB（nuclear factor-κB, NF-κB）水平，严格按照试剂盒（上海酶联生物科技有限公司）说明书操作。

2.7 不良反应观察

治疗期间检查患者血常规、肝功能，并记录服药过程中出现的不良反应。

2.8 统计学方法

全部资料均采用 SPSS 23.0 统计软件（美国 IBM 公司）进行分析。计量资料行 Shapiro-Wilk 检验，若服从正态分布则用 $\bar{x} \pm s$ 对集中趋势和离散程度进行统计描述，组内比较采用配对 *t* 检验，组间比较采用独立样本 *t* 检验；计数资料用 χ^2 检验。以 *P*<0.05 为差异有显著学意义。

3 结果

3.1 网络药理学分析结果

3.1.1 药物-疾病共同作用靶点 获得与候选化合物 134 种，相关的靶点蛋白 235 个。通过检索 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库，获得 AUB-O 疾病靶点 2993 个，与药物有效成分相关靶点取交集后筛选出共同作用靶点 158 个（图 1）。

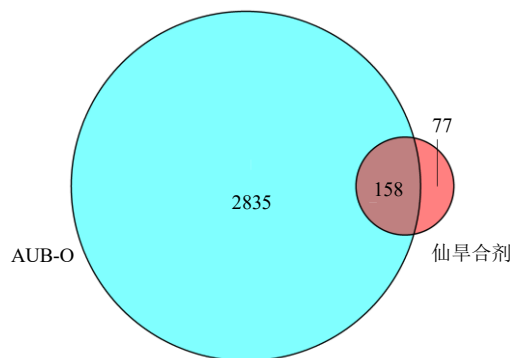
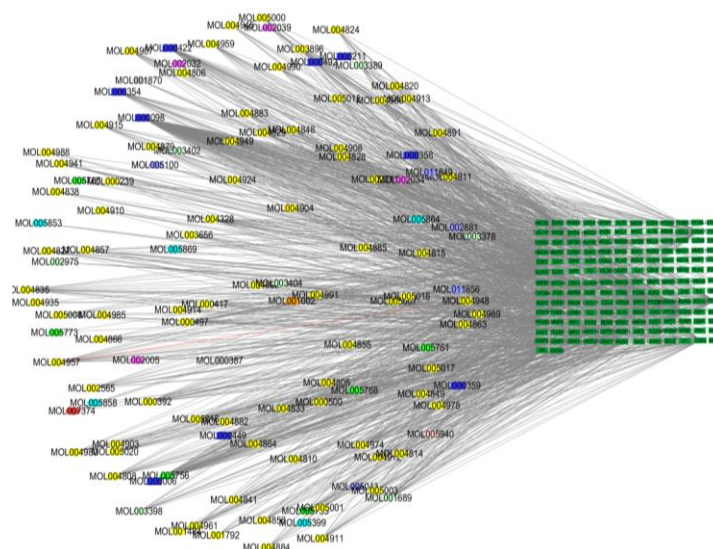


图 1 仙早合剂治疗 AUB-O 靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of target of Xianhan Mixture in treatment of AUB-O

3.1.2 “活性成分-靶蛋白-疾病”共表达网络 采用 Cytoscape 3.7.0 软件构建仙早合剂治疗 AUB-O “活性成分-靶蛋白-疾病”网络，其中仙早合剂与 AUB-O 相关的有效成分有 122 种，共同作用于 158 个靶点（图 2）。网络图表明同一活性成分作用不同的靶点，同一作用靶点也可对应于不同的活性成分，显示出仙早合剂通过多成分、多靶点途径治疗 AUB-O。

3.1.3 PPI 网络及核心靶点 利用 String 平台构建 PPI 网络图，利用 Cytohubba 插件中 degree 算法筛选出度值大于平均度值（16.1）的前 50 个作用最强靶蛋白（图 3），这些靶蛋白在网络中起到关键作用。



不同颜色和形状节点分别代表活性成分和作用靶点，边代表活性成分和疾病作用靶点之间的相互作用关系
Nodes with different colors and shapes represent active ingredients and targets respectively, and edges represent interactions between active ingredients and disease targets

图 2 仙旱合剂治疗功能性异常子宫出血“活性成分-靶蛋白-疾病”共表达网络图

Fig. 2 Co-expression network diagram of “active ingredient-target protein-disease” of Xianhan Mixture in treatment of functional abnormal uterine bleeding

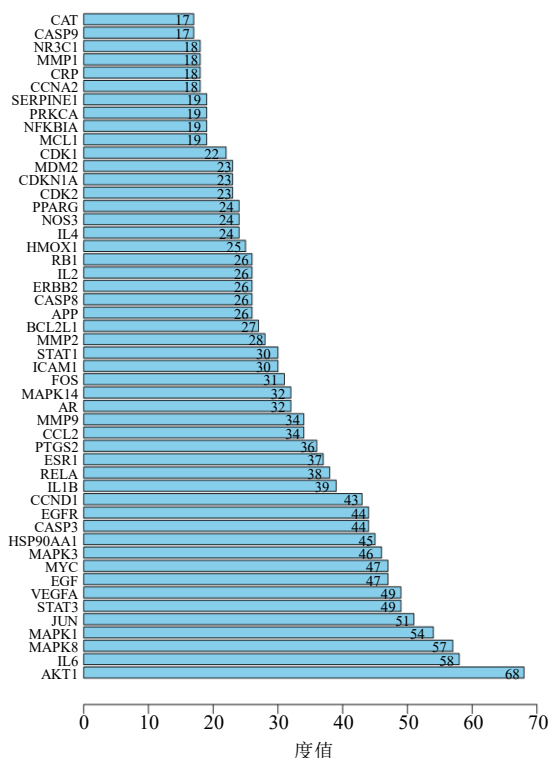


图 3 疾病预测靶点 PPI 网络中核心靶蛋白

Fig. 3 Core target protein in PPI network of disease prediction targets

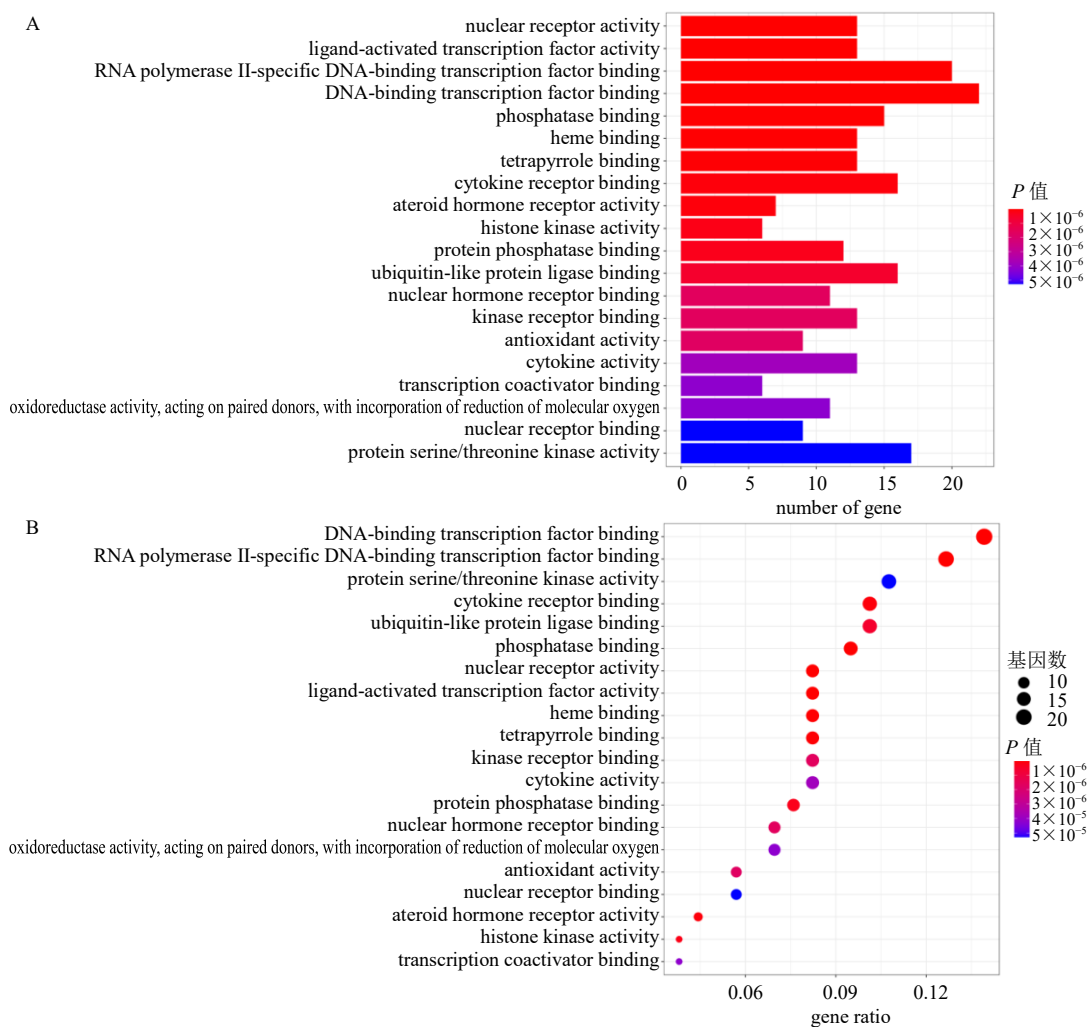
3.1.4 GO 功能和 KEGG 途径富集分析 对 158 个共作用靶蛋白进行 GO 注释，寻找仙旱合剂治疗功

能性异常子宫出血所参与的生物学过程。通过 Cluster Profiler R 软件对 158 个靶蛋白进行 GO 富集分析，分析关键靶点参与的生物过程。仙旱合剂治疗功能性异常子宫出血的靶点影响了 166 个生物学过程，(图 4-A、B)。借助 ClusterProfiler R 软件对仙旱合剂治疗功能性异常子宫出血的 158 个共同靶点进行 KEGG 富集分析，以 $P < 0.05$ 为筛选条件，筛选出通路共 160 条，排名前 20 的通路见图 5-A、B。通过查阅文献以及前期研究基础，AUB-O 可能与炎症相关，因此推测 IL-17 信号通路可能是仙旱合剂作用于 AUB-O 的主要信号通路，并查找出可能参与通路作用的相关因子有 IL-6、IL-1 β 、MMP9、MMP1、NF- κ B、AP-1、COX-2。

3.2 临床研究结果

3.2.1 两组基线资料比较 因研究中脱落 3 例患者，最终对照组 49 例和治疗组 48 例。治疗组患者年龄 16~49 岁，平均 (35.48 ± 6.22) 岁，病程 2.5~6 个月，平均 (3.35 ± 2.56) 个月；对照组患者年龄 14~50 岁，平均 (36.91 ± 7.48) 岁，病程 2.5~6.5 个月，平均 (3.65 ± 2.13) 个月。两组患者的年龄、病程资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，具有可比性。

3.2.2 临床疗效 治疗组治愈 24 例，显效 12 例，有效 10 例，无效 2 例，总有效率为 95.8%；对照组治愈 14 例，显效 15 例，有效 10 例，无效 10 例，



A-预测靶点的 GO 功能分析柱状图 B-预测靶点的 GO 功能分析气泡图
A-bar chart for GO functional analysis of predicted targets B-bubble chart for GO functional analysis of predicted targets

图 4 药物-疾病共作用靶点 GO 富集分析 (前 20)

Fig. 4 GO enrichment analysis of drug-disease co-interacting targets (top 20)

总有效率为 79.6%；两组总有效率差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 1。

3.2.3 两组优势卵泡率比较 经彩超检查，治疗前治疗组优势卵泡率 23.8%，对照组优势卵泡率 24.2%，两组比较差异无统计学意义。治疗后，治疗组有优势卵泡者 28 例，无优势卵泡者 20 例，优势卵泡率 58.3%；对照组有优势卵泡者 13 例，无优势卵泡者 36 例，优势卵泡率 26.5%。两组相比，治疗组优势卵泡率明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2.4 两组止血时间及出血量比较 治疗前两组出血量差异无统计学意义。治疗后治疗组患者止血时间显著短于对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后，两组出血量随着治疗时间的延长均减少，第 7、10 天出血量比治疗前及第 3 天显著减

少 ($P < 0.05$)，第 10 天出血量显著少于第 7 天 ($P < 0.05$)，第 10 天出血量治疗组显著少于对照组 ($P < 0.05$)，见表 2。

3.2.5 两组血小板、D-二聚体、子宫动脉血流动力学比较 治疗前两组血小板、D-二聚体、子宫动脉血流动力学指标差异无统计学意义。治疗后，治疗组患者子宫动脉 S/D、RI 较治疗前升高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；对照组子宫动脉 S/D、RI 较治疗前有升高趋势，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；治疗后，治疗组 S/D 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后，两组血小板数量与治疗前比较显著增加，且治疗组血小板数量多于对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后，两组 D-二聚体均下降，与治疗前比较治疗组下降明显，差异有统计学

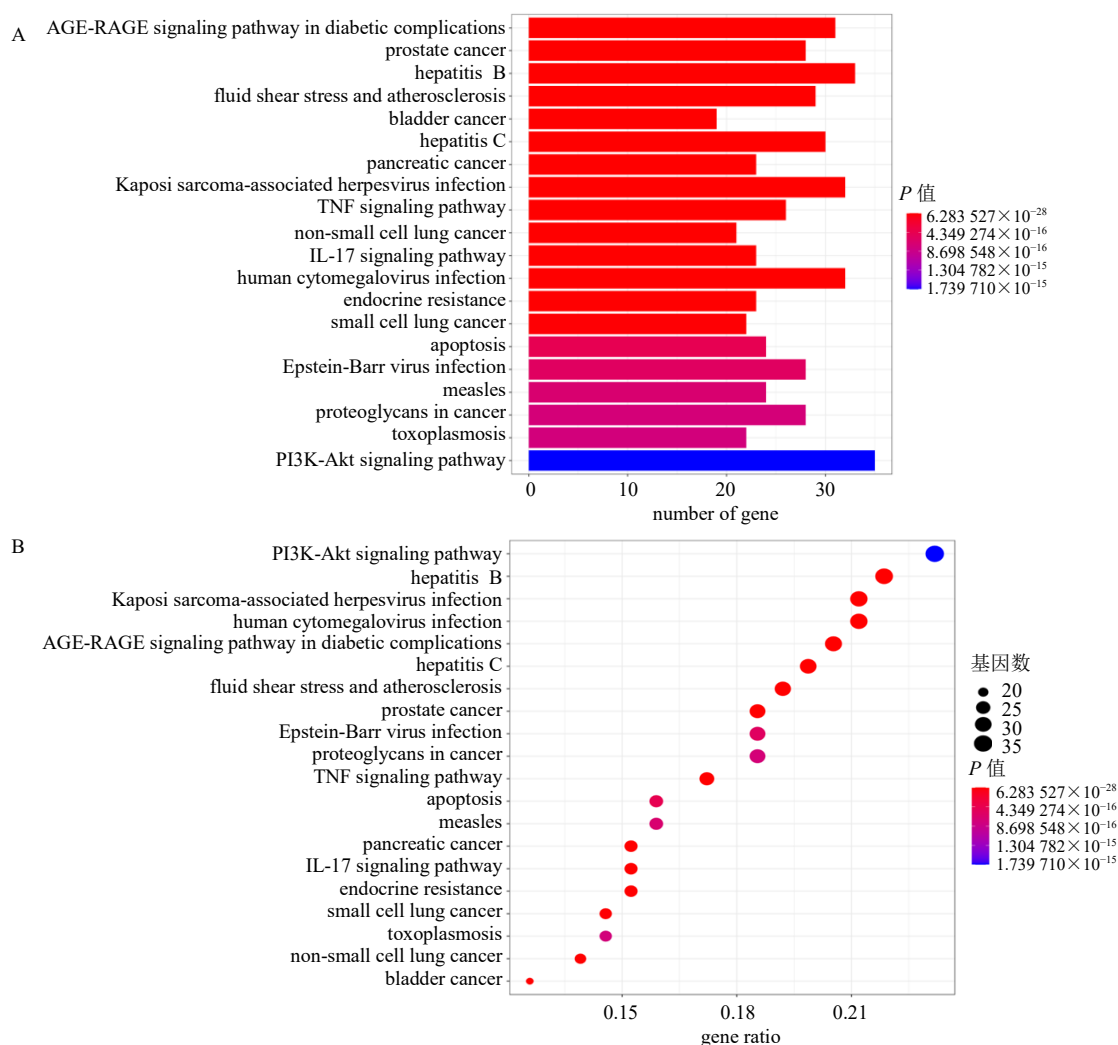


Fig. 5 KEGG enrichment analysis of drug-disease co-interacting targets (top 20)

表 1 两组患者总有效率和排卵率比较

Table 1 Comparison on total effective rate and ovulation rate between two groups

组别	n/例	治愈/例	显效/例	有效/例	无效/例	总有效率/%	优势卵泡率/%
对照	49	14	13	10	19	79.6	26.5
治疗	48	24	12	10	2	95.8*	58.3*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

表 2 两组患者出血量及止血时间的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison on blood loss and total bleeding time between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	出血量/mL				止血时间/d
		治疗前	第 3 天	第 7 天	第 10 天	
对照	49	93.578 ± 45.152	91.667 ± 35.946	68.667 ± 43.315*&	43.000 ± 47.703*&Δ	8.87 ± 1.76
治疗	48	95.416 ± 39.978	74.737 ± 47.118	56.316 ± 44.322*&	23.684 ± 37.736*&Δ▲	5.47 ± 1.49▲

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后同期比较: ▲ $P < 0.05$; 与同组第 3 天比较: & $P < 0.05$; 与同组第 7 天比较: Δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; ▲ $P < 0.05$ vs control group in same period after treatment; & $P < 0.05$ vs same group on day 3; Δ $P < 0.05$ vs same group on day 5

意义 ($P<0.05$), 对照组下降不明显, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

3.2.6 两组血清 PGI₂、PGE₂、PGF2 α 、TXA₂ 水平比较 治疗前两组血清 PGI₂、PGE₂、PGF2 α 、TXA₂ 水平差异无统计学意义。治疗后, 治疗组血清 PGI₂、PGE₂ 水平明显降低 ($P<0.05$), 对照组血清 PGI₂、PGE₂ 水平无明显改善。两组血清 PGF2 α 、TXA₂ 水平明显升高 ($P<0.05$), 且治疗组血清 PGI₂ 水平优于对照组 ($P<0.05$)。见表 4。

3.2.7 两组血清 IL-6、IL-1 β 、MMP9、MMP1 水平比较 治疗前两组血清 IL-6、IL-1 β 、MMP9、MMP1 水平差异无统计学意义。治疗后, 治疗组血清 IL-6、IL-1 β 、MMP9、MMP1 水平与治疗前比较均下降, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 对照组治疗后血清 MMP9、MMP1 水平与治疗前比较均下降, 差异有

统计学意义 ($P<0.05$), 但 IL-6、IL-1 β 虽有所下降, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后, 治疗组 IL-6、IL-1 β 水平与对照组比较均显著降低 ($P<0.05$)。见表 5。

3.2.8 两组血清 NF- κ B、AP-1、COX-2 水平比较 治疗前两组血清 NF- κ B、AP-1、COX-2 水平差异无统计学意义。治疗后, 与治疗前比较, 治疗组血清 NF- κ B、AP-1、COX-2 水平均显著下降 ($P<0.05$), 对照组血清 NF- κ B 水平显著下降 ($P<0.05$), AP-1、COX-2 水平无明显改变 ($P>0.05$)。治疗后, 治疗组血清 AP-1、COX-2 水平均比对照组低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

3.2.9 安全性评价 治疗前后对两组患者的血常规、尿常规、大便常规、心电图、肝肾功能进行检测, 未发现异常或治疗前异常而治疗后异常加重病例,

表 3 两组血小板、D-二聚体、子宫动脉血流动力学比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison on platelet, D-dimer uterine, arterial hemodynamics between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	时间	S/D	RI	D-二聚体/(mg·L ⁻¹)	血小板数量/($\times 10^6$)
对照	49	治疗前	5.28 $\pm$ 0.33	0.79 $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.21	128.49 $\pm$ 38.46
		治疗后	7.01 $\pm$ 0.26	0.82 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.13	197.71 $\pm$ 48.51*
治疗	48	治疗前	5.31 $\pm$ 0.36	0.78 $\pm$ 0.04	0.76 $\pm$ 0.24	132.55 $\pm$ 45.87
		治疗后	9.70 $\pm$ 0.54* Δ	0.91 $\pm$ 0.03*	0.42 $\pm$ 0.04*	254.71 $\pm$ 54.12* Δ

与同组治疗前比较: * $P<0.05$; 与对照组治疗后比较: $\Delta P<0.05$

* $P<0.05$ vs same group before treatment; $\Delta P<0.05$ vs control group after treatment

表 4 两组血清 PGI₂、PGE₂、PGF2 α 、TXA₂ 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison on serum levels of PGI₂, PGE₂, PGF2 α and TXA₂ between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	时间	PGI ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PGF2 α /(pg·mL ⁻¹)	TXA ₂ /(pg·mL ⁻¹)
对照	49	治疗前	21.124 $\pm$ 2.716	111.651 $\pm$ 15.464	6.957 $\pm$ 0.720	20.551 $\pm$ 1.037
		治疗后	22.233 $\pm$ 4.398	110.116 $\pm$ 19.310	8.387 $\pm$ 0.751*	24.292 $\pm$ 0.909*
治疗	48	治疗前	25.602 $\pm$ 4.650	116.936 $\pm$ 19.293	8.272 $\pm$ 0.765	18.530 $\pm$ 1.726
		治疗后	19.459 $\pm$ 2.666* Δ	106.412 $\pm$ 15.779*	9.837 $\pm$ 0.797*	24.076 $\pm$ 0.997*

与同组治疗前比较: * $P<0.05$; 与对照组治疗后比较: $\Delta P<0.05$

* $P<0.05$ vs same group before treatment; $\Delta P<0.05$ vs control group after treatment

表 5 两组血清 IL-6、IL-1 β 、MMP9、MMP1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison on serum levels of IL-6, IL-1 β , MMP9 and MMP1 between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	时间	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	MMP9/(pg·mL ⁻¹)	MMP1/(pg·mL ⁻¹)
对照	49	治疗前	28.504 $\pm$ 3.716	36.589 $\pm$ 5.142	26.643 $\pm$ 0.490	20.510 $\pm$ 1.041
		治疗后	26.346 $\pm$ 2.923	34.503 $\pm$ 4.774	18.371 $\pm$ 0.354*	16.931 $\pm$ 0.671*
治疗	48	治疗前	28.473 $\pm$ 3.672	36.743 $\pm$ 5.118	26.542 $\pm$ 0.389	19.334 $\pm$ 1.269
		治疗后	22.664 $\pm$ 3.213* Δ	31.647 $\pm$ 2.778* Δ	18.445 $\pm$ 0.293*	16.668 $\pm$ 0.537*

与同组治疗前比较: * $P<0.05$; 与对照组治疗后比较: $\Delta P<0.05$

* $P<0.05$ vs same group before treatment; $\Delta P<0.05$ vs control group after treatment

表 6 两组 NF-κB、AP-1、COX-2 比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 6 Comparison on NF-κB, AP-1 and COX-2 between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	时间	NF-κB/(pg·mL ⁻¹)	AP-1/(pg·mL ⁻¹)	COX-1/(pg·mL ⁻¹)
对照	49	治疗前	26.984 ± 1.616	44.120 ± 5.458	30.561 ± 1.547
		治疗后	22.548 ± 0.612*	44.412 ± 5.437	31.215 ± 1.201
治疗	48	治疗前	27.495 ± 1.578	42.881 ± 5.623	31.532 ± 1.374
		治疗后	23.777 ± 0.981*	37.124 ± 2.559*▲	27.558 ± 0.936*▲

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: ▲ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; ▲ $P < 0.05$ vs control group after treatment

疗程中未见与药物相关不良反应发生。

3 讨论

国际妇产科联盟将 AUB 分为 9 大类, 其中 AUB-O 最为常见, 约占 AUB 的 50%^[2], 排卵障碍包括无排卵、稀发排卵与黄体功能不足。无排卵常见于青春期、绝经过渡期出血, 稀发排卵常见于育龄期多囊卵巢综合征、卵巢功能减退等。AUB-O 临床表现有急性出血和慢性出血之分, 该病见于中医“崩漏”“月经先期”“月经过多”“经期延长”“经间期出血”范畴, 但排除“月经后期”“月经过少”。

中医认为, AUB-O 的主要病机为冲任损伤, 不能制约经血, 胞宫蓄溢失常, 导致经血非时妄行。常见病因有脾虚、肾虚、血热、血瘀等^[12], 肾虚是 AUB-O 的根本内因, 热扰冲任是 AUB-O 的主要病机, 瘀血是病理产物^[13]。临床中血热型 AUB 最常见、比例大, 因此在治疗血热型 AUB 需治病求本——补肾滋阴、清热凉血、化瘀止血。本课题前期研究已经证实仙早合剂在止血方面的疗效是确切的, 该药的方药成分亦具有滋阴清热、凉血化瘀止血的作用^[8], 本研究通过多途径研究探索其止血机制。

3.1 仙早合剂止血效果可能与改善凝血功能、血流动力学有关

本研究显示, 治疗组总有效率为 95.8%, 显著高于对照组为 79.6%。仙早合剂治疗后患者止血时间短于对照(宫血宁胶囊)组, 并且总出血量少于对照组, 两组治疗过程中未见明显不良反应发生。上述结果提示了仙早合剂疗效优于宫血宁胶囊, 且安全性较好。仙早合剂在止血、改善症状方面疗效确切。

D-二聚体是纤维蛋白的降解产物, 主要反映纤维蛋白的溶解功能, 其水平升高可反映继发性纤溶亢进, 纤溶亢进可能是 AUB 的机制之一, 仙早合剂治疗后患者 D-二聚体水平下降说明其在抑制纤溶活性增强方面产生作用; 治疗后患者血小板数量增加、

子宫动脉血流阻力增加、子宫内膜厚度变薄, 说明仙早合剂在改善凝血功能方面可能与其活性成分参与内源性凝血途径发挥凝血功能有关, 并能增加子宫动脉阻力, 减低子宫血流灌注, 加速内膜坏死、崩溃、脱落, 促进子宫血窦关闭, 子宫收缩、复旧, 使患者身体从异常的凝血机制逐渐恢复为正常。

3.2 仙早合剂可通过 IL-17 信号通路治疗 AUB-O 出血

网络药理学研究表明, 仙早合剂可通过多成分、多途径、多靶点治疗 AUB-O。课题组选取其中 IL-17 信号通路中的靶点进行 ELISA 检测发现, 患者服用仙早合剂 10 d 后, 血清中 IL-6、IL-1β、MMP9、MMP1、AP-1 (JUN)、COX-2、NF-κB 均下降。

现代研究表明, 月经来潮的机制主要涉及 2 方面的问题: 一是螺旋动脉血管活性的变化。血管活性的变化除了受雌孕激素的周期性影响之外, 还受局部的前列腺素、内皮素、NO 等血管活性物质的影响; 二是组织破坏, 即 MMPs 及其组织抑制剂金属蛋白酶-1 (tissue inhibitor metalloproteinase-1, TIMP-1) 间的平衡失调导致组织崩解, 血管脆性增加, 破裂引起出血^[14-15]。因此有学者认为, AUB 也与这 2 个方面息息相关。炎症会导致子宫内膜螺旋动脉发生损伤, 从而引起异常出血。子宫内膜局部炎症时, 粒细胞和单核/巨噬细胞显著增加, 二者除可以合成分泌 PGE、PGI₂ 和纤维蛋白溶酶激活剂 (plasmnepen activator, PA) 外, 还可释放松弛素, 使内膜中局部的网状纤维分解, 造成内膜松弛、崩溃而不规则脱落, 致使经间期出血和迁延不愈的出血^[16]。

IL-17 信号通路中被激活细胞的 NF-κB、AP-1 因子诱导细胞分泌 IL-1β、IL-6 等促炎症细胞因子, 这些促炎因子作用于子宫内膜能通过 IL-17 诱导的 IL-6 维持辅助性 T 细胞 17 (Thelper cell 17, Th17) 细胞数量, 从而形成正反馈确立一种慢性炎症状态^[17]。IL-17 还能刺激多种趋化因子, 这些

因子将招募粒细胞、巨噬细胞与淋巴细胞从而加重炎症。长期炎症刺激子宫内膜会导致部分子宫内膜坏死, IL-17 信号通路可以降解胞外 MMP1、2、3、9、13 参与到这个过程中。MMPs 可以水解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中多种成分, 以促进经血纤溶及子宫内膜的剥脱^[18]。IL-17 还可通过 COX-2 诱导 PGE₂^[19], PGE₂ 的扩血管作用也能促进炎症细胞进入炎症部位, 吞噬免疫复合物及释放溶酶体, 包括中性蛋白酶和胶原酶, 造成子宫异常出血。

PGE₂ 是脂代谢产物, 其合成受 COX-2 影响, 在发热、炎症、血管舒缩过程中发挥重要作用, 在炎症产生的过程中具有促进炎症发生和扩张血管作用, 月经过多患者 PGE₂ 的合成分泌较正常月经女性增多^[20-21]。而 PGF₂α 是一种强有力的血管收缩剂^[22], 可以通过前列腺素 F 受体 (prostaglandin F receptor gene, PTGFR) 促使局部组织缺血诱导缺氧诱导因子 1α (hypoxia-inducible factor 1α, HIF1α) 表达, 进而 HIF1α 通过正反馈直接调控 PTGFR 的表达, 维持必要的低氧环境。PGF₂α 和其他血管收缩剂 (如内皮素-1) 导致螺旋小动脉收缩, 从而导致子宫内膜功能层的缺氧, 以致子宫内膜坏死脱落^[23]。PGF₂α 和 PGE₂ 主要存在于子宫内膜上, 在月经周期的增生期合成, 月经期含量最多。

TXA₂ 是血小板在血小板环氧化物和血小板氧化酯酶的氧化作用下生成的代谢产物, 是缩血管物质, 并能使血小板聚集; PGI₂ 与 TXA₂ 的作用相反, 其是由血管内皮细胞合成和释放, 具有较强的抗血小板凝集作用, 还可舒张动脉。PGI₂/TXA₂ 通路参与炎症和肿瘤的调节过程。在 AUB 时 PGI₂ 与 TXA₂、PGF₂α 和 PGE₂ 的平衡被打破, PGI₂ 与 PGE₂ 升高, PGF₂α 与 TXA₂ 下降, PGE₂/PGF₂α 增大, 扩血管、抗凝、抗血小板聚集的活性增强, 表现为出血时间延长、出血量过多, 在中医学中与“血瘀证”的表现相契合, 因此是“血瘀证”的重要分子标志物^[24]。治疗组患者 PGI₂ 与 PGE₂ 明显降低, PGF₂α 与 TXA₂ 明显升高。仙早合剂的方药组成中含有大量化瘀、清热、凉血止血的药物, 与本研究的机制相吻合。仙早合剂并可以增加血小板含量, 并纠正出血期 PGI₂ 与 TXA₂、PGF₂α 和 PGE₂ 的失衡, 增加血小板聚集, 收缩螺旋动脉, 从而起到止血的作用。

3.3 仙早合剂可能通过改善排卵达到止血作用

血热型崩漏治疗不仅要“塞流”, 还需要“澄源”

和“固本”。仙早合剂为复方中药, 其中药物不仅有清热凉血、化瘀止血的作用, 起到止血塞流的作用, 其中的地黄、墨旱莲等中药具有滋阴补肾的作用, 说明仙早合剂亦有“澄源”和“固本”的作用。对于 AUB-O, 经血排出到排卵期之间是经后期, 夏桂成教授认为经后期应滋阴养血以奠定物质基础, 此期是阴分恢复和滋长的时期, 调治应以补阴为主^[25]。方中的滋阴药物恰好起到相应的作用。本研究中治疗组患者优势卵泡率明显高于对照组, 由此推测仙早合剂中药物可能通过改善患者排卵功能, 达到止血功能, 其间的机制值得进一步探讨。

4 结论

仙早合剂治疗 AUB-O 疗效确切, 其作用机制与其活性成分参与凝血机制的调节, 增加子宫动脉阻力, 减低子宫血流灌注有关, 从而促进子宫血窦关闭, 子宫收缩、复旧, 使患者身体从异常的凝血机制逐渐恢复到正常。通过调节 IL-17 信号通路, 降低血清炎症因子 PGI₂、PGE₂、PGF₂α、TXA₂ 水平, 纠正出血期的失衡状态, 起到增加血小板含量和血小板聚集, 收缩螺旋动脉, 达到止血的作用。仙早合剂还可能促进 AUB-O 患者卵泡发育, 改善患者排卵功能, 增强止血作用。由于仙早合剂中药组成众多, 今后还需进一步研究其有效成分及其药理机制, 以便进行新药开发和推广。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 曹泽毅. 中华妇产科学: 临床版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 2576-2578.
- [2] 中华医学会妇产科学分会妇科内分泌学组. 排卵障碍性异常子宫出血诊治指南 [J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(12): 801-807.
- [3] Munro M G, Critchley H O D, Fraser I S, *et al.* The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions [J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2018, 143(3): 393-408.
- [4] 中华医学会妇产科学分会妇科内分泌学组. 异常子宫出血诊断与治疗指南 [J]. 中华妇产科杂志, 2014, 49(11): 801-806.
- [5] 排卵障碍性异常子宫出血诊治路径共识专家组, 中华预防医学会生育力保护分会生殖内分泌生育保护学组. 排卵障碍性异常子宫出血诊治路径 [J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(6): 703-715.
- [6] 中国中西医结合学会妇产科专业委员会. 排卵障碍性异常子宫出血中西医结合诊疗指南 [J]. 中国中西医结合

- 合杂志, 2020, 40(4): 391-400.
- [7] 世界中医药学会联合会, 中华中医药学会. 国际中医临床实践指南崩漏 (2019-10-11) [J]. 世界中医药, 2021, 16(6): 870-877.
- [8] 刘恒炼, 夏敏, 翁双燕, 等. 仙孕合剂对血热型功能失调性子宫出血止血效果观察 [J]. 陕西中医, 2017, 38(9): 1205-1207.
- [9] Fraser I S, Critchley H O D, Broder M, *et al.* The FIGO recommendations on terminologies and definitions for normal and abnormal uterine bleeding [J]. *Semin Reprod Med*, 2011, 29(5): 383-390.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 (第 1 辑) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993: 236-240.
- [11] 中华中医药学会. 中医妇科临床诊疗指南 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2019: 105-120.
- [12] 邹晴燕, 谢小馨, 曾榕, 等. 崩漏的中医诊疗进展 [J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(11): 36-38.
- [13] 李绍林. 功能性子宫出血的中医病机及治疗思路探析 [J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(9): 1185-1188.
- [14] Livingstone M, Fraser I S. Mechanisms of abnormal uterine bleeding [J]. *Hum Reprod Update*, 2002, 8(1): 60-67.
- [15] Chodankar R, Critchley H O D. Biomarkers in abnormal uterine bleeding [J]. *Biol Reprod*, 2019, 101(6): 1155-1166.
- [16] Wright J F, Bennett F, Li B L, *et al.* The human IL-17F/IL-17A heterodimeric cytokine signals through the IL-17RA/IL-17RC receptor complex [J]. *J Immunol*, 2008, 181(4): 2799-2805.
- [17] Ogura H, Murakami M, Okuyama Y, *et al.* Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction [J]. *Immunity*, 2008, 29(4): 628-636.
- [18] Grzechocinska B, Dabrowski F A, Chlebus M, *et al.* Expression of matrix metalloproteinase enzymes in endometrium of women with abnormal uterine bleeding [J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2018, 38(8): 537-543.
- [19] 王旭光, 梁统, 周克元. 前列腺素 E₂ 合成酶研究进展 [J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2004, 24(5): 474-479.
- [20] Chandrasekharan N V, Dai H, Lamar Turepu Roos K, *et al.* COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13926-13931.
- [21] 薛瑞, 苗一非, 杨吉春, 等. 前列腺素 E₂ 对免疫细胞及炎症相关疾病的调控作用 [J]. 生理科学进展, 2011, 42(3): 168.
- [22] Jabbour H N, Sales K J, Smith O P, *et al.* Prostaglandin receptors are mediators of vascular function in endometrial pathologies [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 252(1/2): 191-200.
- [23] 周芳. 前列腺素及其受体在月经发生中对子宫内膜崩解脱落作用机制的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [24] 徐永跃, 黄清春, 何羿婷, 等. COX-2/TxA₂ 通路在炎症相关疾病中的分子机制研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(6): 763-767.
- [25] 王静. 国医大师夏桂成教授月经周期分期分时分法探析 [J]. 江苏中医药, 2022, 54(8): 24-27.

[责任编辑 潘明佳]