

黄芩苷对小鼠的保胎作用及其对细胞因子的影响

马爱团^{1,3}, 钟秀会^{2*}, 孟立根¹, 刘占民¹, 张 铁¹, 周帮会¹

(1. 河北农业大学中兽医学院, 定州 073000; 2. 河北农业大学动物科技学院, 保定 071001;

3. 中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘要: 本试验旨在研究黄芩苷的促孕保胎作用及其对母胎界面细胞因子的影响。取怀孕小鼠分成 5 组, 除对照组外, 其它 4 组于孕 5—7 天皮下注射溴隐亭建立流产模型, 孕 1—7 天分别灌服蒸馏水、0.1、0.5、1 mg 黄芩苷。孕 3、5、7、10、12 天采样, 计算流产率, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清及子宫匀浆中干扰素- γ (IFN- γ)、白介素-10(IL-10)、孕酮的含量。结果孕 12 天时 1 mg 黄芩苷组流产率降低, 接近对照组, 与模型组均有显著差异。孕 5 天各组血清和子宫匀浆中 IFN- γ 含量显著上升, 其中 1 mg 黄芩苷组最高。孕酮含量随孕期延长而提高, 以 0.5 和 1 mg 黄芩苷组最高。表明黄芩苷可剂量依赖性上调孕酮的含量, 促进着床期 IFN- γ 分泌, 胚泡附植后又降低 IFN- γ 的含量, 调节着床和妊娠期 Th1/Th2 细胞因子平衡, 影响内分泌-免疫网络, 有利于胚胎着床和妊娠维持。

关键词: 黄芩苷; 着床; 流产; IFN- γ ; IL-10; 孕酮

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)09-0983-06

Antibortive Effect of Baicalin and Its Impact on Cytokines in Mouse

MA Ai-tuan^{1,3}, ZHONG Xiu-hui^{2*}, MENG Li-gen¹, LIU Zhan-min¹,
ZHANG Tie¹, ZHOU Bang-hui¹

(1. College of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Agricultural University of Hebei, Dingzhou 073000, China; 2. College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;

3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: To investigate the effect of Baicalin on abortion model and its impact on cytokines at the maternal-fetal interface, KM mice were divided into 5 groups and all mice except the control were injected with Bromocriptine subcutaneously on days 5 to 7 of pregnancy to establish abortion model. Then the mice in different groups were gavaged with distilled water, 0.1, 0.5, 1 mg Baicalin respectively on days 1 to 7 of gestation while the control group treated with ethanol and distilled water. Samples were collected on day 3, 5, 7, 10 and 12 to calculate abortion rate. The content of interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-10, progesterone in serum and uterine supernatant were measured by Enzyme-Linked Immuno-absorbent Assay (ELISA). Results showed that the abortion rate in 1 mg Baicalin group at day 12 of gestation was similar to that of control group, which was significantly different from all the abortion models. The volume of IFN- γ was significantly increased in all groups especially in 1mg Baicalin group throughout the implantation stage (day 5 of gestation). As the gestation progresses, the content of progesterone increased gradually with the significant higher level in 0.5 mg and 1 mg Baicalin groups. These results indicate that Baicalin up-regulates the level of progesterone in a dose-dependent manner, enhances the secretion of IFN- γ during implantation and down-regulates the IFN- γ production afterwards.

收稿日期: 2006-09-29

基金项目: 国家自然科学基金(30270980; 30571361)

作者简介: 马爱团(1968-), 女, 河北安新人, 副教授, 博士生, 主要从事中药药理及生殖免疫研究

* 通讯作者: 钟秀会, 教授, 博士生导师, Tel: 0312-2381158, E-mail: zhongxiuhui@263.net

These findings suggest that Baicalin can modulate cytokine network in pregnancy and benefit embryo implantation and survival.

Key words: Baicalin; implantation; abortion; IFN- γ ; IL-10; progesterone

黄芩为唇形科植物黄芩的干燥根,其有效成分为黄酮类化合物,主要有黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、汉黄芩苷等。研究表明黄芩黄酮具有广泛的生物学效应,如抗炎、抗病毒作用,抗氧化、清除自由基作用及其调节免疫系统等功能^[1]。Krakauer等证实黄芩苷的抗炎机制是通过抑制超级抗原激活的信号途径起到抗菌效果,同时抑制细胞因子与人类白细胞的结合或诱导一些细胞因子的表达而发挥作用^[2]。Fujii等^[3]认为中草药可以校正Th1/Th2细胞因子紊乱引起的反复流产,增强Th2型反应,而不造成母胎免疫调节的紊乱。

中药安胎具有悠久的历史,金元时期著名医家朱丹溪称“黄芩、白术为安胎之圣药”,Zhong等^[4]预先经口给予小鼠黄芩、白术能对抗LPS诱导的流产,并降低母胎界面Th1型细胞因子TNF- α 、IL-2的含量。本课题组前期工作证实黄芩单体成分黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等对妊娠期间的免疫状态具有调节作用,但不同黄芩成分之间差异较大。黄芩苷能够降低溴隐亭引发的流产,并提高胚胎数,与蒸馏水组、黄芩素组差异显著(待发)。本试验利用溴隐亭流产模型^[5],进一步研究黄芩苷促孕保胎的机理,探讨黄芩苷对胚胎着床的影响及其对母胎免疫的调控机制,为研究中药机理及临床筛选保胎药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及处理

选用纯种昆明系(KM)封闭群清洁级的7周龄处女母鼠,体重(25 \pm 2)g,7~8周龄雄小鼠,体重(30 \pm 2)g(购于石家庄市河北医科大学实验动物中心)。小鼠适应环境1周后,外观结合阴道涂片镜检,若全部为无核角化细胞或间有少量上皮细胞为动情期,与公鼠合笼,次日检出阴栓或阴道涂片发现精子作为孕0天。将怀孕母鼠随机分为5组,每组20只,B-E组于孕5~7天分别皮下注射溴隐亭0.075 mg/只建立流产模型^[5]。其中B组为模型组,于孕1~7天分别灌服蒸馏水0.4 mL;B、C、D、E组在模型基础上于孕1~7天分别灌服含0.1、0.5、1 mg黄芩苷的蒸馏水0.4 mL,每天1次,用药前后

观察小鼠有无异常情况。A组为对照组,孕5~7天皮下注射0.1 mL 75%乙醇(溴隐亭溶剂),1~7天灌服0.4 mL蒸馏水。于孕3、5、7、10、12天分别采样(每组每次采样4只)。通过眼球采血,血样4 \times 4 000 r/min离心10 min,取血清保存于-80 $^{\circ}$ C备用。脱颈处死小鼠后,打开腹腔,观察子宫形态,记录胚胎着床数及流产数,在冰盒上取出完整子宫,剪下周围脂肪及系膜等,去除胚胎,在冰水环境中立即进行子宫组织匀浆,分装上清液,-80 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2 药物及试剂

黄芩苷购自中国药品生物制品检定所;溴隐亭为Novartis pharam产品;小鼠IFN- γ 、IL-10酶联免疫试剂盒购自DIACLONE公司;小鼠孕酮酶联免疫试剂盒为MARKET INC USA公司产品。

1.3 测定指标及方法

通过酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清和子宫匀浆液IFN- γ 、IL-10和孕酮的含量,按照相应ELISA试剂盒说明书操作,加终止液后,立即在318 MC型酶标仪(上海三科仪器有限公司)于450 nm处读OD值,按标准曲线计算样品中IFN- γ 、IL-10和孕酮的含量。

1.4 统计学处理

使用Excel 2000和SPSS12软件包进行统计,数据以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 剖检结果

孕3天时剖检,各处理组小鼠子宫均比未孕鼠子宫增粗,子宫黏膜增厚,呈粉红色,有光泽。孕5天时,孕鼠子宫呈结节状,有明显的胚胎着床点。7天时,流产鼠子宫糜烂,内有死胚胎,呈暗红色,将要排出,有的流产鼠胚胎已经排出,子宫比未孕的粗大,淤血(B组);各组未流产鼠胚胎粉红色,胎鼠比小米粒稍大。孕10天时,流产鼠有的子宫内还留有死胚胎,大部分流产鼠子宫内死胎已全部排出;正常孕鼠子宫粉红色,有光泽,胎鼠绿豆粒大小。孕12天时,流产鼠子宫大部分已经恢复正常,呈白色或稍带红色;未流产鼠子宫竹节状,胎鼠如红豆粒大小。

将无胚胎存活者视为流产,流产率=流产鼠数目/处理鼠数目 $\times 100\%$ 。

由于孕 3 天时胚胎未着床,无法计算流产率,因此从孕 5 天开始统计。剖检结果显示,孕 5 天,溴隐亭处理组流产率开始上升,孕 7 天,流产率仍保持上升的趋势,至 10—12 天时,各组流产率出现变化。其中模型组流产率最高,孕 10 天时为 75%,12 天仍然维持在这个水平,与孕 5 天比较差异显著($P < 0.05$);不同剂量黄芩苷组中,1 mg 组流产率最低,5 天时为 0,10 天时上升到 37.5%,孕 12 天降时为 25%,与模型组相比有显著差异($P < 0.05$)。0.5 mg 黄芩苷组孕 5—12 天的流产率一直保持上升趋势,在 10 天为 45%,孕 12 天时达到 50%,但与黄芩苷 1 mg 组相比差异不显著。黄芩苷 0.1 mg 组的变化趋势与模型组相似而略低,10—12 天的流产率均与对照组差异显著($P < 0.05$)。对照组的流产率一直为零。详见图 1。

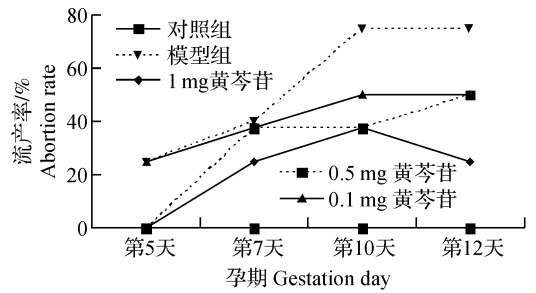


图 1 不同孕期流产率的变化趋势

Fig. 1 Changes of abortion rate in different gestation day

2.2 血清及子宫组织中 IFN- γ 的含量

血清中 IFN- γ 含量在不同孕期波动很大,孕 5 天时各处理组 IFN- γ 含量与 3 天比较均显著上升($P < 0.05$),7 天时回落,不同剂量黄芩苷组的变化趋势相近。组间比较:1 mg 黄芩苷组在孕早期(3—7 天)时 IFN- γ 含量高于其他处理组,孕 12 天显著下降,但各组之间差异不显著。见表 1。

表 1 不同孕期血清 IFN- γ 的含量的变化

Table 1 IFN- γ content in serum at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	0.543 \pm 0.281 ^b	0.605 \pm 0.417 ^b	0.433 \pm 0.103 ^d	0.622 \pm 0.220 ^b	0.931 \pm 0.139 ^b
第 5 天	1.548 \pm 0.311 ^a	1.120 \pm 0.315 ^a	1.189 \pm 0.157 ^{bc}	1.103 \pm 0.142 ^a	1.911 \pm 0.606 ^a
第 7 天	1.259 \pm 0.402 ^a	0.777 \pm 0.259 ^b	0.949 \pm 0.103 ^c	0.845 \pm 0.103 ^{ab}	1.430 \pm 0.362 ^a
第 10 天	1.223 \pm 0.206 ^a	1.129 \pm 0.060 ^a	1.808 \pm 0.157 ^a	1.206 \pm 0.250 ^a	1.756 \pm 0.849 ^a
第 12 天	0.590 \pm 0.231 ^b	0.639 \pm 0.103 ^b	1.430 \pm 0.157 ^b	1.017 \pm 0.355 ^a	0.760 \pm 0.679 ^b

同列上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$),下表同

Different superscript letters within the column indicate significant differences ($P < 0.05$), the same as below

子宫匀浆中 IFN- γ 的变化趋势与血清中相似,各组孕 5 天时 IFN- γ 含量显著高于($P < 0.05$)孕 3、7 天的含量,孕 10 天后下降。组间比较:孕 3—7 天,各处理组之间没有显著差异;孕 10 天,对照组与

模型组差异显著($P < 0.05$);孕 12 天,对照组、1 mg 和 0.5 mg 黄芩苷组均与模型组有显著差异($P < 0.05$),其中黄芩苷 1 mg 组孕 12 天时 IFN- γ 的含量最低。见表 2。

表 2 不同孕期子宫匀浆中 IFN- γ 的含量

Table 2 IFN- γ content in uterine supernatant lysate at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	7.029 \pm 0.207 ^b	7.581 \pm 0.315 ^c	7.512 \pm 0.119 ^c	7.409 \pm 0.331 ^b	7.237 \pm 0.273 ^b
第 5 天	10.038 \pm 0.412 ^a	11.120 \pm 0.595 ^a	10.845 \pm 0.179 ^a	10.433 \pm 0.372 ^a	10.708 \pm 0.417 ^a
第 7 天	8.319 \pm 0.165 ^b	8.371 \pm 0.273 ^{bc}	8.234 \pm 0.259 ^{bc}	7.581 \pm 0.119 ^b	7.615 \pm 0.157 ^b
第 10 天	8.024 \pm 0.417 ^b	9.780 \pm 0.362 ^b	9.265 \pm 0.157 ^{ab}	8.474 \pm 0.472 ^b	8.715 \pm 0.238 ^b
第 12 天	5.104 \pm 0.148 ^c	9.608 \pm 0.472 ^b	8.784 \pm 0.734 ^{bc}	7.718 \pm 0.519 ^b	4.419 \pm 0.877 ^c

2.3 血清及子宫组织中 IL-10 的含量

各处理组血清中 IL-10 含量均随孕期的延长而

缓慢上升,不同孕期和不同组别之间比较均没有显著差异($P>0.05$)。见表 3。

表 3 不同孕期血清中 IL-10 的含量

Table 3 IL-10 content in serum at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	2.315±0.273	2.206±0.358	2.873±0.459	2.846±0.261	2.944±0.398
第 5 天	3.133±0.376	2.363±0.123	3.367±0.328	2.965±0.416	3.074±0.061
第 7 天	3.406±0.204	2.289±0.228	2.774±0.398	3.200±0.163	3.320±0.450
第 10 天	3.539±0.109	2.879±0.347	3.141±0.542	3.114±0.148	3.233±0.327
第 12 天	3.701±0.623	3.020±0.401	3.105±0.680	3.406±0.123	3.164±0.670

子宫匀浆中 IL-10 含量随孕期延长而上升,各组孕 5 天时有一小高峰出现,对照组和 0.5 mg 黄芩苷组孕 5 天与孕 3 天比较差异显著($P<0.05$);0.5

及 1 mg 黄芩苷组孕 5 天与孕 7 天比较差异显著($P<0.05$)。各处理组之间比较各孕期均没有显著差异。见表 4。

表 4 不同孕期子宫匀浆中 IL-10 的含量

Table 4 IL-10 content in uterine supernatant serum at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	5.006±0.463 ^b	4.954±0.720 ^b	5.156±0.122 ^b	6.002±0.175 ^b	6.024±0.123 ^{ab}
第 5 天	6.918±0.622 ^a	5.886±0.935 ^{ab}	5.937±0.245 ^{ab}	7.517±0.373 ^a	6.675±0.307 ^a
第 7 天	6.325±0.415 ^{ab}	5.313±0.549 ^{ab}	5.865±0.913 ^{ab}	6.397±0.351 ^b	5.849±0.292 ^b
第 10 天	6.049±0.454 ^{ab}	6.165±0.360 ^a	6.393±0.527 ^a	6.530±0.906 ^{ab}	6.165±0.291 ^{ab}
第 12 天	7.577±0.390 ^a	6.140±0.522 ^a	6.579±0.383 ^a	6.870±0.624 ^{ab}	6.729±0.383 ^a

2.4 血清及子宫组织中孕酮的含量

对照组血清中孕酮含量随孕期的延长而升高,0.5 和 1 mg 黄芩苷组变化规律与对照组一致。模型组和 0.1 mg 黄芩苷组孕酮含量在孕 3—10 天上升,12 天时下降。组间比较:孕 5 天,模型组和 0.1

mg 黄芩苷组孕酮含量显著低于对照组($P<0.05$),0.5 和 1 mg 黄芩苷组与对照组差异不显著;孕 12 天,模型组和 0.1 mg 黄芩苷组孕酮含量下降,与对照组、0.5 和 1 mg 黄芩苷组差异显著($P<0.05$)。见表 5。

表 5 不同孕期血清中孕酮的含量

Table 5 Progesterone content in serum at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	3.406±0.167 ^c	3.352±0.295 ^c	3.220±0.426 ^d	3.630±0.604 ^c	3.957±0.359 ^c
第 5 天	6.019±0.578 ^b	4.061±0.553 ^{bc}	4.433±0.414 ^{bc}	4.790±0.244 ^b	5.024±0.152 ^b
第 7 天	6.813±0.220 ^{ab}	5.084±0.119 ^{ab}	5.150±0.113 ^b	5.271±0.232 ^b	5.381±0.139 ^b
第 10 天	7.001±0.263 ^{ab}	5.722±0.220 ^a	6.082±0.255 ^a	6.379±0.037 ^a	6.541±0.201 ^a
第 12 天	8.191±0.733 ^a	4.043±0.611 ^{bc}	4.347±0.346 ^c	6.997±0.374 ^a	7.034±0.211 ^a

各处理组子宫组织中孕酮含量变化与血清中的变化趋势非常接近,孕 3—10 d,各组孕酮含量均持续上升。孕 12 天时,对照组、0.5 和 1 mg 黄芩苷组继续升高,而模型组的孕酮含量显著下降,0.1 mg 黄芩苷组稍有降低,组间比较:孕 3—7 天,各处理组

间差异均不显著;孕 10 天,对照组与模型组有显著差异($P<0.05$);孕 12 天,对照组与模型组和 0.1 mg 黄芩苷组差异显著($P<0.05$),与 0.5 和 1 mg 黄芩苷组差异不显著,见表 6。

表 6 不同孕期子宫匀浆中孕酮的含量

Table 6 Progesterone content in uterine supernatant serum at different gestation day

pg/mL

孕期 Gestation day	对照组 Control	模型组 Abortion model	0.1 mg 黄芩苷组 0.1 mg Baicalin	0.5 mg 黄芩苷组 0.5 mg Baicalin	1 mg 黄芩苷组 1 mg Baicalin
第 3 天	3.992±0.340 ^c	3.767±0.656 ^c	4.298±0.332 ^c	4.943±0.648 ^c	4.896±0.529 ^c
第 5 天	6.875±0.711 ^b	5.095±0.194 ^{ab}	5.466±0.335 ^b	6.118±0.451 ^b	6.402±0.711 ^{ab}
第 7 天	6.955±0.624 ^b	5.350±0.141 ^a	5.569±0.487 ^b	6.229±0.385 ^b	6.223±0.133 ^b
第 10 天	7.108±0.222 ^{ab}	5.818±0.548 ^a	6.504±0.194 ^a	6.901±0.238 ^{ab}	6.590±0.244 ^{ab}
第 12 天	8.936±0.545 ^a	4.540±1.210 ^{bc}	6.205±0.167 ^a	7.254±0.434 ^a	7.154±0.297 ^a

3 讨论

3.1 黄芩苷对流产小鼠的保护作用

溴隐亭是多巴胺受体激动剂,能够降低母体促乳素及孕酮水平,影响 Th1/Th2 细胞因子平衡而导致流产,溴隐亭致流产模型是研究免疫调节异常流产的良好模型^[5]。本试验中,对照组在各孕期,均无流产发生,而应用溴隐亭造模后,各处理组孕鼠流产率都有上升的趋势,停用溴隐亭后流产率仍然继续增高,到孕 12 天时,1 mg 黄芩苷组流产率开始下降。胚胎数的变化与流产率相对应,随着流产率的上升,胎仔数减少(数据略)。各处理组以 1 mg 黄芩苷组的流产率最低,胚胎数最多,与模型组比较差异显著($P < 0.05$)。0.1 和 0.5 mg 组的流产率比模型组下降,但差异不显著($P > 0.05$)(见图 1)。黄芩苷可降低溴隐亭引起的流产,说明其能够调节细胞因子的表达,影响激素分泌,调控内分泌—免疫网络,并且具有剂量依赖性。

3.2 黄芩苷对 IFN- γ 、IL-10 含量的影响

妊娠期间母体内分泌—免疫网络发生改变,其中细胞因子发挥重要作用,它能够影响早期胚胎发育、胚胎附植及胎盘形成等生殖过程。1993 年 Wegmann 等^[6]首次提出妊娠是以 Th2 型细胞因子为主的生理现象。即 Th2 类细胞产生的 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子有利于妊娠的维持,而 Th1 类细胞产生的 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 等对妊娠不利^[7]。

本课题组前期工作表明,子宫组织中 IFN- γ 的变化与流产率密切相关,IFN- γ 含量上升,流产率升高;IFN- γ 下降,则妊娠成功率上升^[5]。本试验孕 12 天时,对照组和 1 mg 黄芩苷组流产率最低,与模型组差异显著,同时子宫组织中 IFN- γ 含量降低,也与模型组有显著差异($P < 0.05$)。Mosmann 等认为 IFN- γ 是最重要的 Th1 型因子,它促进 Th1 细

胞而抑制 Th2 细胞的分化及分泌功能,降低 IL-4、IL-10 的活性^[8]。另外 IFN- γ 还能诱导吞噬细胞到胎盘部位,损伤胎盘滋养层细胞,影响胎盘功能而导致流产^[9]。刘喆等认为 IFN- γ 之所以有抗生育作用,是因为 IFN- γ 抑制孕酮的分泌、诱导胎盘细胞凋亡并最终导致妊娠终止^[10]。黄芩苷降低溴隐亭引起的流产,使 IFN- γ 含量降低到对照组水平,说明黄芩苷影响妊娠期间 Th1 型细胞因子的分泌,保护胎盘功能而降低流产率,并且呈剂量依赖性。

IL-10 属于 Th2 型细胞因子,试验证明,IL-10 在小鼠自发性流产模型中有保护胎儿的作用,注射 IL-10 可降低小鼠流产率^[7]。本试验表明,对照组及不同剂量黄芩苷处理组 IL-10 含量在各孕期均比模型组高,但差异不显著。总之,黄芩苷逆转了溴隐亭引起的细胞因子的改变,使不利于妊娠的 Th1 型因子 IFN- γ 含量下降,Th2 型的 IL-10 升高。表明黄芩苷可调节母胎界面的免疫网络,有利于妊娠的维持。

3.3 黄芩苷对胚胎着床的影响

胚胎着床是成功妊娠的关键,母体接受带有异体抗原的胚泡而不发生排斥,其免疫系统必然要发生相应变化,另外胚胎附植要求胚泡与子宫内膜达到时空上的同步协调,需要细胞因子、黏附分子及甾体激素等协调作用共同完成胚泡的着床。

应用黄芩苷后,孕 12 天时血清和子宫组织中 IFN- γ 含量下降,流产率降低,与 Wegmann 等的假说一致。孕 5 天时,各处理组均出现 IFN- γ 分泌的高峰(见表 1、2),推测孕 4.5—5 天正处于胚胎着床阶段,由于胚泡的植入,在植入点出现炎症反应,有大量炎性因子参加,IFN- γ 含量随之上升。Seok-woon 等^[11]证明着床期 IFN- γ mRNA 表达增加,认为与胚泡附植密切相关。这些提示着床期母胎界面免疫状态发生变化,Th1 型细胞因子 IFN- γ 含量升高以适应胚泡的植入,与 Wegmann 等的假说出现

分歧。Chaouat 认为在胚胎着床阶段,有炎性分子的参与,是逐渐发展的调节过程,用 Th1/Th2 模式解释显得牵强^[12]。近年来有人提出 IFN- γ 对小鼠和人妊娠的维持是必不可少的,子宫自然杀伤细胞刺激蜕膜分泌 IFN- γ 参与妊娠蜕膜血管的重建,对保持蜕膜的细胞完整性是必须的。这些表明正常生理剂量的 Th1 型细胞因子对成功的妊娠也是必不可少的^[13]。本试验中,孕 5 天血清中 IFN- γ 含量以 1 mg 黄芩苷组最高,显著高于其他处理组,12 天时显著下降。表明 1 mg 黄芩苷在着床期促进炎性分子 IFN- γ 的分泌,利于胚泡附植,着床后又抑制 IFN- γ 的产生,通过调节妊娠期母胎界面的细胞因子网络而发挥促孕保胎的作用。0.1 mg 黄芩苷作用不明显,与模型组无显著差异,说明黄芩苷对母胎免疫的调控具有剂量依赖性。

3.4 黄芩苷对孕酮的影响

除细胞因子在胚胎附植中发挥重要作用外,激素也是必不可少的。对孕酮的检测结果表明,随着妊娠的进行,体内孕酮含量不断上升,其中 0.5 和 1 mg 黄芩苷组变化与对照组接近,孕 3—12 天一直呈上升趋势,孕 12 天时,上述 3 组血清中孕酮含量显著高于模型组及 0.1 mg 黄芩苷组(见表 5、6)。正常的激素水平促进子宫内膜容受性,利于胚泡的植入及胎盘的发育,以维持胚胎持续生长发育。0.5 和 1 mg 黄芩苷通过提高体内孕酮含量保证胚胎的正常发育,说明黄芩苷既影响细胞因子产生,又影响内分泌系统,共同发挥其促孕保胎作用。

总之,随着床和妊娠的进行,体内激素水平和细胞因子不断变化,在母胎界面形成调节网络,在动态平衡中维持正常的妊娠。黄芩苷通过上调孕酮的含量,调节着床和妊娠期子宫内膜 IFN- γ 、IL-10 的水平,影响内分泌—免疫平衡网络,有利于胚胎着床及胎儿的生长发育。

参考文献:

[1] Chen X, Nishida H, Konishi T. Baicalin promoted the repair of DNA single strand breakage caused by H₂O₂ in cultured NIH3T3 fibroblasts [J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(2): 282~284.

[2] Krakauer T, Li B Q, Howard A, et al. The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines [J]. Immuno Pharmacology, 2000, 49(3): 295~306.

[3] Fujii T, Kanai T, Kozuma S, et al. Theoretical basis for herbal medicines, Tokishakuyaku-san and Saireito, in the treatment of autoimmunity-related recurrent abortion by correcting T helper1/T helper2 balance [J]. Am J Reprod Immunol, 2000, 44(6): 342~346.

[4] ZHONG X H, ZHOU Z X, Li T S, et al. Anti-abortion effect of *Radix Scutellariae* and *Rhizoma Atractylodis* in mice [J]. Amer J Chin Med, 2002, 30(1): 109~117.

[5] 马爱团, 钟秀会, 孟立根, 等. 溴隐亭对小鼠生育的影响及其作用机理 [J]. 动物学报, 2006, 52(3): 536~541.

[6] Wegmann T G, Lin H, Guilbert L, et al. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon [J]. Immunol Today, 1993, 14: 353~356.

[7] LIN D, Smith M A, Champagne C, et al. Porphyromonas gingivalis infection during pregnancy increases maternal tumor necrosis factor alpha, suppresses maternal interleukin-10, and enhances fetal growth restriction and resorption in mice [J]. Infect Immun, 2003, 71(9): 5156~5162.

[8] Mosmann T R, Sad S. The expanding universe of T-cells subsets: Th1, Th2 and more [J]. Immunol Today, 1996, 17: 138~146.

[9] Hill J A, Choi B C. Immunodystrophism: evidence for a novel alloimmune hypothesis for recurrent pregnancy loss involving Th1-type immunity to trophoblast [J]. Semin in Reprod Med, 2000, 18(4): 401~405.

[10] 刘喆, 杨颖, 陈云, 等. 人重组 γ 干扰素对兔妊娠的影响 [J]. 动物学报, 2002, 48(2): 277~280.

[11] Seokwoon K, Youngsok C, Fuller W, et al. Spencer identification of fenes in the ovine endometrium regulated by interferon gamma independent of signal transducer and activator of transcription [J]. Endocrinology, 2003, 144(12): 5203~5214.

[12] Chaouat G, Lédée-Bataille N, Zourbas S, et al. Cytokines, implantation and early abortion: re-examining the Th1/Th2 paradigm leads to question the single pathway, single therapy concept [J]. Am J Reprod Immunol, 2003, 50(3): 177~186.

[13] 夏红飞, 郝艳红, 彭景梗. 妊娠大鼠子宫和胎盘 IL-1 β 表达及 IFN- γ 对其表达的影响 [J]. 动物学报, 2004, 50(1): 48~54.