

温经汤对子宫内膜异位症大鼠 LncRNA H19/miR-216a/ACTA2 分子轴的影响

王娜梅^{1,2}, 李 潇^{3*}, 余晓依³, 李鑫坤³, 张宇航³
(1. 河南中医药大学第三临床医学院妇产科, 河南 郑州 450000; 2. 河南中医药大学针灸推拿学院, 河南 郑州 450000; 3. 河南中医药大学第二临床医学院妇科, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 探讨温经汤对子宫内膜异位症 (EMs) 大鼠长链非编码核糖核酸 H19 (LncRNA H19) /微小核糖核酸-216a (miR-216a) / α -平滑肌肌动蛋白 2 (ACTA2) 分子轴的影响。**方法** 将大鼠随机分为空白组、模型组、温经汤组、温经汤+阴性对照组、温经汤+LncRNA H19 过表达组, 每组 10 只, 前 3 组注射生理盐水, 温经汤+阴性对照组注射阴性对照病毒, 温经汤+LncRNA H19 过表达组注射 LncRNA H19 过表达腺相关病毒 (AAV9-H19), 每天 1 次, 持续 2 周。空白组进行假手术, 其余各组进行子宫内膜自体移植, 建模成功后肌肉注射青霉素 5 d, 空白组、模型组灌胃生理盐水, 各给药组灌胃给予温经汤 (4.7 g/kg), 持续 4 周。HE 染色法观察子宫内膜组织病理形态, ELISA 法检测血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, RT-qPCR 法检测子宫内膜组织 LncRNA H19、miR-216a mRNA 表达, Western blot 法检测子宫内膜组织 ACTA2、BCL2、Bax、Caspase-3 蛋白表达, 免疫组化法检测子宫内膜组织细胞增殖能力。**结果** 与模型组比较, 温经汤组异位子宫内膜萎缩, 血管和炎症细胞数量减少, 结缔组织排列紧密, 未见异物肉芽肿或多核巨细胞, 血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P<0.01$), 子宫内膜组织 LncRNA H19 mRNA 表达及细胞增殖能力降低 ($P<0.01$), miR-216a mRNA 及 Bax、Caspase-3 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与温经汤+阴性对照组比较, 温经汤+LncRNA H19 过表达组子宫内膜组织增生明显, 有大量血管和炎症细胞浸润, 水肿明显, 结缔组织排列疏松, 可见异物肉芽肿和多核巨细胞, IL-6 水平、LncRNA H19 mRNA 及 ACTA2 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), miR-216a mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 温经汤可减少炎症因子释放, 抑制异位子宫内膜组织细胞增殖, 其机制与调控 LncRNA H19/miR-216a/ACTA2 分子轴有关。

关键词: 温经汤; 子宫内膜异位症; 长链非编码核糖核酸 H19/微小核糖核酸-216a/ α -平滑肌肌动蛋白 2 分子轴 (LncRNA H19/miR-216a/ACTA2); 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)06-1997-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.06.035

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs) 是一种常见的妇科慢性炎症性疾病, 多发于育龄期女性, 其中 25~45 岁患者约占 76%^[1]。EMs 具有雌激素依赖性, 其发病机制尚未明确, 与遗传、免疫、炎症等多种因素相关, 严重影响女性生活质量和生殖健康^[2]。中医理论中, EMs 多归属于“痛经”, 寒凝血瘀是其主要证型之一, 而温经汤是温经散寒、化瘀止痛的中医良方, 临床研究表明其可明显减轻 EMs 症状, 改善免疫功能和炎症状态, 调节雌激素分泌^[3]。

非编码核糖核酸广泛参与子宫蜕膜化的调控, 与 EMs 的发生密切相关^[4]。其中, 长链非编码核糖核酸 H19 (LncRNA H19) 和微小核糖核酸-216a (miR-216a) 之间的相互作用, 及对 α -平滑肌肌动蛋白 2 (ACTA2) 的调控, 在细胞凋亡中具有潜在作用, 为揭示 EMs 的病理机制提供了新视角。LncRNA H19 是一种母源印迹基因, 可与多种 microRNA 竞争性结合^[5]。miR-216a 与癌症的发生进程相关, 其表达升高可促进细胞凋亡^[6]。ACTA2 与肌成纤维细胞的分化和增殖有关, 在 EMs 的病变组织中呈阳性表达^[7]。

本研究通过手术构建 EMs 大鼠模型, 探讨温经汤对 LncRNA H19/miR-216a/ACTA2 分子轴表达的影响, 探讨其治疗 EMs 的潜在分子机制, 以期为临床中医药治疗提供理论支持。

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 2023 年河南省科学技术厅科技攻关课题 (232102310478); 河南省卫生健康委员会 2023 年度河南省中医药科学研究专项课题 (2023ZY2109); 2023 年度河南中医药大学科研苗圃工程项目 (MP2023-15)

作者简介: 王娜梅 (1981—), 女, 博士, 讲师, 主治医师, 从事中西医结合治疗多囊卵巢综合征、不孕症的研究。Tel: 13683713065, E-mail: wnm0371@163.com

***通信作者:** 李 潇 (1980—), 女, 硕士, 副教授, 副主任医师, 从事中西医结合治疗妇科内分泌的研究。Tel: 13663864710, E-mail: szyy_lx@126.com

1 材料

1.1 动物 50 只 SPF 级成年未孕 SD 大鼠，8~9 周龄，体质量（200±10）g，购自河南省实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK（豫）2022-0001]，饲养于河南省中医药研究院实验室 SPF 级动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK（豫）2022-0007]，环境温度（23±2）℃，相对湿度 40%~60%，12 h/12 h 光暗循环，自由饮水进食，每 3 d 更换垫料。实验经河南省中医药研究院实验动物伦理委员会审查批准（伦理号 HNTCMDW-20231221）。

1.2 药物与试剂 温经汤组方药材吴茱萸、桂枝、生姜、清半夏各 6 g，当归、川芎、麦冬、炒白芍各 15 g，人参 5 g，阿胶 8 g，牡丹皮 10 g，甘草 12 g，其配方颗粒剂购自河南省中医院颗粒剂药房。*LncRNA H19* 过表达腺相关病毒（AAV9-H19）及其阴性对照病毒购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司，货号 CAG-EGFP-H19（NR_027324.1）-SV40 PolyA、CAG-MCS-3flag-T2A-EGFP-SV40 PolyA。苯甲酸雌二醇（EB）注射液（宁波第二激素厂，批号 C2302242）；注射用青霉素钠（山东鲁抗医药股份有限公司，批号 43230112）；10% 水合氯醛 [普惠分实验室科技（山东）有限公司，批号 20231220]；RNA 提取液、RNA 溶解液、SweScript RT I First Strand cDNA Synthesis 试剂盒、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量检测试剂盒、聚偏二氟乙烯（PVDF）膜、ECL 发光液、兔源 GAPDH、ACTA2、BAX、Bcl2、Caspase3、Ki-67 一抗、戊二醛-山羊抗兔二抗、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗、环保型脱蜡透明液、柠檬酸抗原修复液（pH 6.0）、二氨基联苯胺四氯化碳（DAB）显色剂（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号 G3013、G3029、G3330、G2002、G2026-200T、G6015、G2161、GB15004、GB111364、GB15690、GB154380、GB11767C、GB111499、GB23303、GB23303、G1128、G1202、G1212）；大鼠肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素（IL）-1β、IL-6 ELISA 试剂盒（美国赛默飞世尔科技公司，货号 88-7340-88、88-6010A-22、88-7064-88）。

1.3 仪器 JB-P5 包埋机（武汉俊杰电子有限公司）；RM2016 病理切片机（德国徕卡公司）；Pannoramic DESK 全景切片扫描仪（匈牙利 3DHISTECH 公司）；D3024R 台式高速冷冻型微量离心机 [大龙兴创实验仪器（北京）股份公司]；Infinite M200 多功能荧光酶标仪（美国 BioTek 公司）；CFX Connect 荧光定量 PCR 仪（美国 Bio-Rad 公司）；KZ-Ⅲ-F 研磨仪、SVE-2 垂直电泳仪、SVT-2 转印电泳仪、SCG-W2000 化学发光成像系统、E100 免疫组化笔（武汉赛维尔生物科技有限公司）；E100 显微镜（日本尼康公司）。

2 方法

2.1 分组与病毒注射 大鼠适应性喂养 2 d 后，随机分为空白组、模型组、温经汤组、温经汤+阴性对照组、温经汤+*LncRNA H19* 过表达组，每组 10 只。空白组、模型组、温经汤组大鼠尾静脉注射 0.5 mL 生理盐水。AAV9-H19 及其阴性病毒用生理盐水稀释至 2×10¹² vg/mL，温经汤+阴性

对照组大鼠尾静脉注射 0.5 mL 阴性病毒稀释液，温经汤+*LncRNA H19* 过表达组大鼠尾静脉注射 0.5 mL AAV9-H19 稀释液。注射后观察 2 周，待 AAV9-H19 及其阴性病毒完成转染。

2.2 造模 转染完成后，参考李佩双^[8]的研究，采用子宫内膜自体移植法建立 EMs 大鼠模型，持续 3 周。大鼠手术前 1 d 禁食，肌肉注射 EB（0.2 mg/kg）使子宫充盈。术前，大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛（3 mL/kg）麻醉后，仰卧位固定于操作台上，碘伏消毒腹部皮肤，于尿道口上约 1 cm 处沿腹中线切开腹壁和腹膜，切口 2~3 cm。空白组随后即缝合，不进行子宫内膜移植等操作，其余各组分离右侧子宫，切除约 1.5 cm 的子宫段放入 37℃ 灭菌生理盐水中，随后吻合结扎断端。用眼科剪纵向切开子宫腔，去除浆膜、肌层及脂肪组织，分离子宫内膜，修剪为 5 mm×5 mm 的含子宫肌层的内膜片段，用可吸收线四角缝合种植于左侧腹壁内侧，内膜面朝向腹壁。关腹前腹腔给予 2 mL 生理盐水，补充丢失的体液，逐层缝合腹壁和皮肤，切口处覆盖输液贴。术后分笼常规喂养，每天切口碘伏消毒、肌肉注射青霉素 20 万/d，连续 5 d。术后第 2 天肌肉注射 EB（0.1 mg/kg）以促进子宫内膜生长，随后每 4 d 注射 1 次，共 3 次。3 周后开腹观察移植物的生长情况，造模成功标准为移植物体积增大，积液深度≥2 mm，移植物镜检有子宫内膜上皮、间质细胞与腺体。

2.3 给药 造模成功后，关腹，肌肉注射青霉素（20 万单位/d），共 5 d，并开始灌胃给药。空白组、模型组灌胃给予 2 mL 生理盐水，其余组灌胃给予温经汤（根据大鼠与人的剂量换算公式换算得出大鼠的每天颗粒剂量为 4.7 g/kg），给药容量为每天 10 mL/kg，持续 4 周。给药完成后，麻醉处死所有大鼠，采集各组大鼠的血液及子宫内膜组织或异位子宫内膜组织。

2.4 HE 染色法观察子宫内膜组织病理形态 取子宫内膜组织或异位子宫内膜移植组织于 4% 多聚甲醛中固定 48 h，修剪，梯度乙醇脱水，石蜡包埋，制成 5 μm 切片，用苏木精-伊红（HE）染色，在光学显微镜下观察并拍照。

2.5 ELISA 法检测血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平 取大鼠血液适量，3 000 r/min 离心 10 min，取上层血清，按 ELISA 试剂盒说明书操作，检测血清 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平。

2.6 RT-qPCR 法检测子宫内膜组织 *LncRNA H19*、*miR-216a* mRNA 表达 取子宫内膜组织或异位子宫内膜移植组织适量，提取总 RNA，稀释至 200 ng/μL，逆转录成 cDNA，进行 RT-qPCR，反应条件为 95℃、30 s；95℃、15 s，60℃ 30 s，40 个循环；65℃ 至 95℃，每 0.5℃ 采集 1 次荧光信号。*LncRNA H19* 以 *GAPDH* 为内参，*miR-216a* 以 *U6* 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因相对表达。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成，序列见表 1。

2.7 Western blot 法检测子宫内膜组织 ACTA2、Bcl2、Bax、Caspase-3 蛋白表达 取子宫内膜组织或异位子宫内膜移植

表 1 引物序列

基因	序列(5'→3')
LncRNA H19	正向 TGCACGTGTATGCCCTAACCG
	反向 CAGCTGCTTTACCTCGCTCT
miR-216a	正向 ACACCTCCAGCTGGGCACAGTGTCTCTGGG
	反向 TGGTGTCCTGGAGTCG
GAPDH	正向 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG
	反向 GGTGGAAGAAATGGGAGTTGCT
U6	正向 CTCGCTTCGGCAGCACACA
	反向 AACGCTTCACGAATTTCGCT

物组织适量，使用 RIPA 裂解液提取总蛋白，冰上孵育 30 min，离心后取上清液，BCA 法检测总蛋白浓度。取 50 μg 蛋白进行凝胶电泳，湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜，加 5% 脱脂奶粉溶液在室温下封闭 1 h，然后将 PVDF 膜依次与一抗、二抗进行孵育。根据 ECL 荧光液组合说明书进行可视化处理，采用 Bio-Rad 化学发光分析系统进行成像。

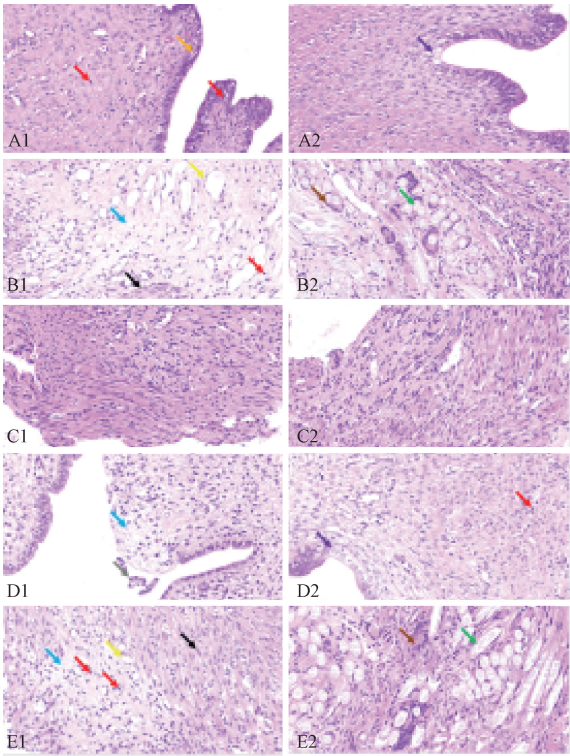
2.8 免疫组化法检测子宫内膜组织细胞增殖能力 取“2.4”项下未染色的 5 μm 切片，依次将其放入梯度浓度的环保型脱蜡液和无水乙醇中进行脱蜡，蒸馏水清洗。切片用柠檬酸抗原修复液微波中火加热 8 min，停火 7 min 后转低火加热 7 min，暴露抗原表位。自然冷却后，用 3% 过氧化氢溶液室温避光孵育 10 min，阻断内源性过氧化物酶活性，漂洗后依次滴加 Ki-67 一抗、二抗进行孵育。洗涤后滴加 DAB 显色液，待出现棕黄色时，蒸馏水冲洗终止显色。苏木精复染、分化至细胞核显蓝色，将切片放入梯度浓度乙醇中脱水，封片胶进行封片。在显微镜下截取 3 个视野进行观察，根据组织免疫染色结果进行阳性程度划分，阴性无着色，计 0 分；弱阳性呈淡黄色，计 1 分；中阳性呈棕黄色，计 2 分；强阳性呈棕褐色，计 3 分。采用 Aipathwell 软件自动判断阳性程度并计算相应区域面积，公式为阳性面积比=阳性面积/组织面积×100%，组织化学评分=（弱阳性面积百分比×1+中阳性面积百分比×2+强阳性面积百分比×3）×100，数值越大表明子宫内膜组织细胞增殖能力越强。

2.9 统计学分析 通过 GraphPad Prism 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用方差分析，多重比较采用 LSD 法，两组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 温经汤对 EMs 大鼠异位子宫内膜组织病理形态的影响 由图 1 可知，空白组子宫内膜组织中黏膜层可见少量上皮细胞变性、胞质空泡化、点状上皮细胞坏死、核碎裂，黏膜上皮与固有层可见点状的淋巴细胞与粒细胞浸润，固有层未见子宫腺结构，间质较致密，间质细胞未见明显异常。模型组异位子宫内膜组织可见子宫内腺样结构，未见黏膜上皮结构，可见显著的结缔组织增生，较多新生血管及散在的淋巴细胞浸润，局部水肿，结缔组织排列疏松；可见较多异物，并形成异物肉芽肿，可见多核巨细胞。温经汤组黏膜层未见黏膜上皮结构，固有层未见子宫腺结构，

间质较致密，间质细胞未见明显异常，未见明显的炎症细胞浸润。温经汤+阴性对照组组织中黏膜层可见少量上皮细胞变性，胞质空泡化；固有层未见子宫腺结构，多见水肿，结缔组织排列疏松，及点状的淋巴细胞浸润。温经汤+LncRNA H19 过表达组可见子宫内腺样结构，未见黏膜上皮结构，可见显著的结缔组织增生，较多新生血管，及点状淋巴细胞与粒细胞浸润，局部水肿，结缔组织排列疏松；可见较多的异物并形成异物肉芽肿，可见多核巨细胞。

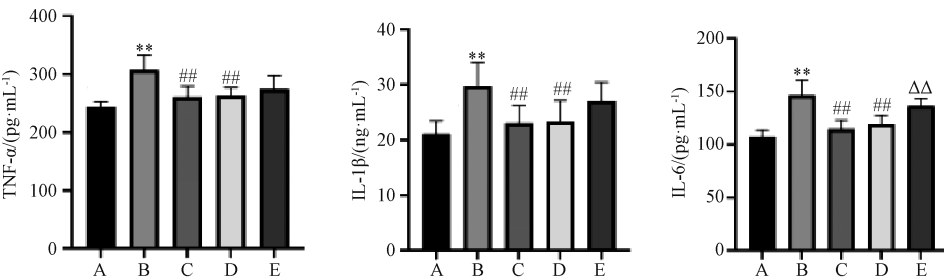


注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。灰色箭头指示上皮细胞脱落，黑色箭头指示结缔组织增生，黄色箭头指示新生血管，紫色箭头指示上皮细胞变性，橙色箭头指示上皮细胞坏死，红色箭头指示淋巴细胞与粒细胞浸润，蓝色箭头指示局部水肿，绿色箭头指示异物肉芽肿，棕色箭头指示多核巨细胞。

图 1 各组大鼠子宫内膜组织病理形态（HE 染色，×400）

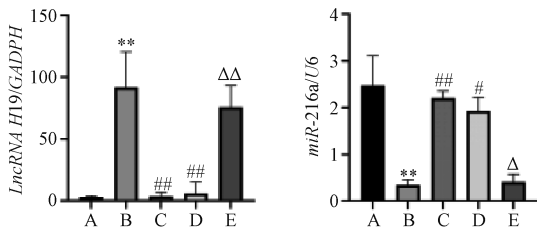
3.2 温经汤对 EMs 大鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平的影响 由图 2 可知，与空白组比较，模型组血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，温经汤组、温经汤+阴性对照组 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平降低 (*P*<0.01)；与温经汤+阴性对照组比较，温经汤+LncRNA H19 过表达组 IL-6 水平升高 (*P*<0.01)。

3.3 温经汤对 EMs 大鼠异位子宫内膜组织 LncRNA H19、miR-216a mRNA 表达的影响 由图 3 可知，与空白组比较，模型组 LncRNA H19 mRNA 表达升高 (*P*<0.01)，miR-216a mRNA 表达降低 (*P*<0.01)；与模型组比较，温经汤组、温经汤+阴性对照组 LncRNA H19 mRNA 表达降低 (*P*<0.01)，miR-216a mRNA 表达升高 (*P*<0.05，*P*<0.01)；与温经汤+阴性对照组比较，温经汤+LncRNA H19 过表达



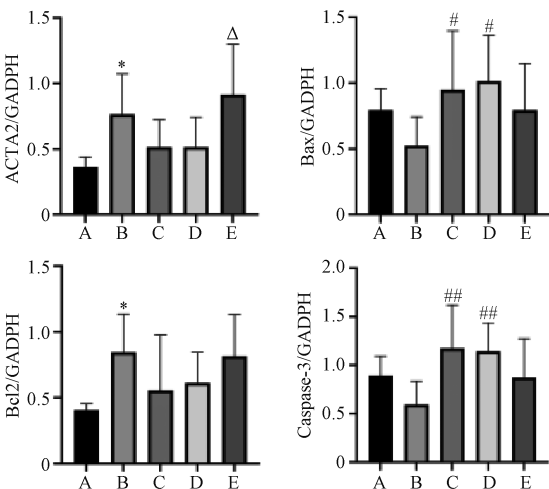
注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ ；与温经汤+阴性对照组比较， $\Delta\Delta P<0.01$ 。

图 2 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



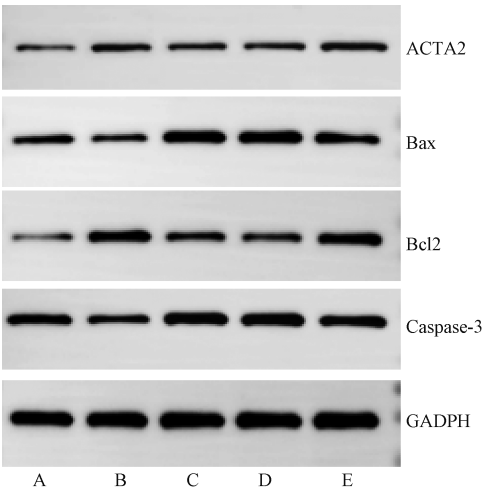
注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ ；与温经汤+阴性对照组比较， $\Delta P<0.05$ ， $\Delta\Delta P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠子宫内膜组织 LncRNA H19、miR-216a mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。与空白组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ ；与温经汤+阴性对照组比较， $\Delta P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠子宫内膜组织 ACTA2、Bax、Bcl2、Caspase-3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。

图 5 各组大鼠子宫内膜组织 (ACTA2、Bax、Bcl2、Caspase-3) 蛋白条带图

组 LncRNA H19 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，miR-216a mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。

3.4 温经汤对 EMs 大鼠异位子宫内膜组织 ACTA2、Bax、Bcl2、Caspase-3 蛋白表达的影响 由图 4~5 可知，与空白组比较，模型组大鼠异位子宫内膜组织 ACTA2、Bcl2 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，温经汤组、温经汤+阴性对照组 Bax、Caspase-3 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与温经汤+阴性对照组比较，温经汤+LncRNA H19 过表达组 ACTA2 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。

3.5 温经汤对 EMs 大鼠异位子宫内膜组织细胞增殖能力的影响 由图 6~7 可知，与空白组比较，模型组组织化学评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，温经汤组、温经汤+阴性对照组组织化学评分降低 ($P<0.01$)；与温经汤+阴性对照组比较，温经汤+LncRNA H19 过表达组组织化学评分升高 ($P<0.01$)。

4 讨论

EMs 是子宫内膜组织出现在子宫体以外的一种妇科病，多发生于盆腔脏器和壁腹膜^[9]，呈雌激素依赖性，异位子宫内膜随卵巢激素变化周期性出血，导致周围纤维组织增生，形成水肿、粘连或肉芽肿^[10-11]。免疫调节异常、炎症和局部微环境在异位子宫组织的生长中起重要作用，而子宫内膜的粘附性、侵袭性和血管生成能力等的增强均与 EMs 之间存在联系^[12-13]。中医将 EMs 归为“痛经”，认为其源于脏腑失调、气血阴阳亏虚，日久则致瘀血内阻，致

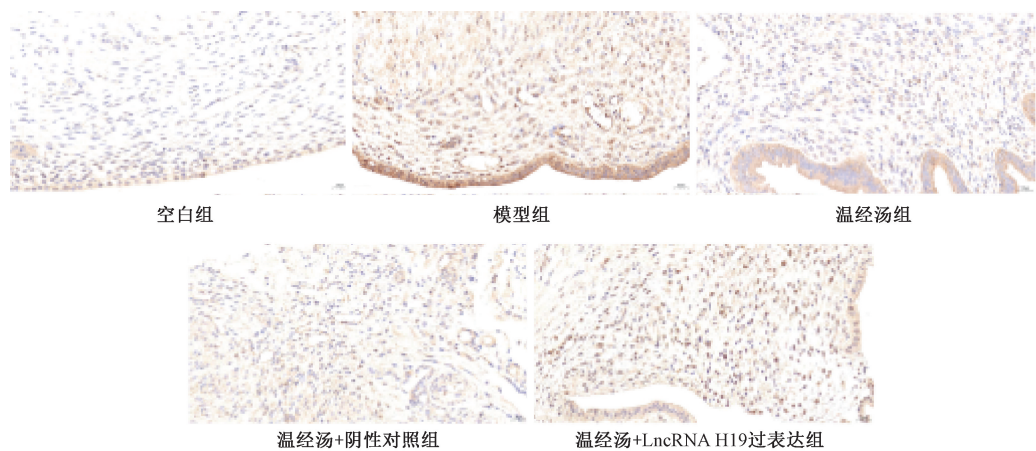
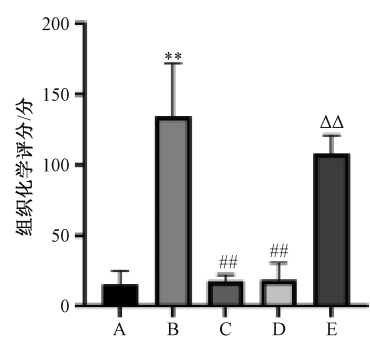


图 6 各组大鼠子宫内膜组织免疫组化（Ki-67 染色，×400）



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为温经汤组，D 为温经汤+阴性对照组，E 为温经汤+LncRNA H19 过表达组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ ；与温经汤+阴性对照组比较，ΔΔ $P<0.01$ 。

图 7 各组组织化学评分得分图（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

使子宫病理性变化^[14]。温经汤为理血名方，具有滋阴温经、活血散瘀、补益肝肾功效^[15-16]。本研究结果显示，温经汤作用后，EMs 大鼠异位子宫内膜逐渐萎缩，血管新生和炎症浸润得到有效遏制，腺体和腺上皮细胞数量接近正常，表明经温经汤干预后 EMs 病理状态改善。

LncRNA H19 参与多种疾病的发病机制^[17]。Liu 等^[18]研究表明，LncRNA H19 在异位内膜组织中的表达异常升高，且与 EMs 治疗后复发风险有关。miR-216a 的表达上调可抑制细胞增殖活性，并促进其凋亡，并通过负调控炎症信号通路，抑制炎症介质的释放^[19-20]。其中，促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均受 miR-216a 调控^[21]。ACTA2 是肌成纤维细胞标志物之一，研究表明异位子宫内膜的纤维化程度提高可导致 ACTA2 表达异常升高，与 EMs 的严重程度正相关^[22-23]。LncRNA H19 具有海绵作用，可竞争结合多种 miRNA，而 miR-216a 与 LncRNA 具有靶向关系，LncRNA H19 可通过 miR-216a 调控其下游靶基因 ACTA2，从而调节 EMs 间质细胞的侵袭和迁移^[24-25]。

本研究通过 AAV9-H19 上调 LncRNA H19 表达后，miR-216a 表达降低、ACTA2 表达上升，炎症因子和细胞凋亡相关蛋白的表达均受影响，表明 EMs 通过上调 LncRNA H19

的表达影响下游的 miR-216a/ACTA2 信号通路，导致炎症反应加剧，细胞凋亡减弱。Bax 是促凋亡蛋白，通过激活 Caspase-3 导致细胞凋亡，而 Bcl2 是凋亡保护蛋白，可抑制 Caspase-3 活性^[26-27]。应用温经汤后，LncRNA H19 表达降低，与 miR-216a 的竞争性结合减弱，抑制异位子宫内膜组织中 ACTA2 表达，间接减少 TNF- α 和 IL-1 β 释放，并通过增大 Bax/Bcl2 比例激活 Caspase-3，促进异位子宫内膜组织凋亡，以达到改善 EMs 的目的。

此外，LncRNA H19 表达上升后，免疫组化染色结果显示 Ki-67 阳性表达增加。Ki-67 蛋白表达可反映细胞的增殖状态^[28]。尚丽等^[29]研究表明，Ki-67 在异位子宫内膜组织中的表达明显上调，与疾病的发生发展密切相关，且与细胞凋亡呈负相关。温经汤作用后，异位子宫内膜组织 Ki-67 表达降低，表明温经汤可通过下调 LncRNA H19，抑制 EMs 异位组织增殖，间接促使其凋亡。

综上所述，温经汤可减少炎症因子释放，抑制异位子宫内膜组织细胞增殖，促进异位子宫组织中的细胞凋亡，其机制与调控 LncRNA H19/miR-216a/ACTA2 分子轴有关。

参考文献：

- [1] 刘向东，闫松果，孙世松. CT、MRI 诊断盆腔子宫内膜异位症的应用价值[J]. 罕少疾病杂志, 2022, 29(6): 94-95.
- [2] Tassinari V, Smeriglio A, Stillitano V, et al. Endometriosis treatment: role of natural polyphenols as anti-inflammatory agents[J]. *Nutrients*, 2023, 15(13): 2967.
- [3] 王媛媛，蒙 婷，丁慧敏. 温经汤治疗肾虚型更年期综合征的效果及对生殖内分泌和免疫功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(17): 1847-1850; 1855.
- [4] 刘 琳，刘学润，吴 漾，等. 非编码 RNA 在调控子宫内膜蜕膜化中的研究进展[J]. 华中科技大学学报（医学版）, 2023, 52(3): 403-408.
- [5] 肖南松，宁安凤，王 珊，等. LncRNA H19 和 HIF-1 α 及与其相关的 miRNAs 在稽留流产胎盘绒毛组织中表达模式的研究[J]. 生殖医学杂志, 2023, 32(5): 740-746.
- [6] 凌 静，朱 琳，吴群英. miR-216a 通过靶向 CAPN6 影响子宫肌细胞的增殖和凋亡[J]. 现代医学, 2020, 48(8):

939-943.

[7] Alpoim-Moreira J, Szostek-Mioduchowska A, Slyszevska M, *et al.* 5-aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC, Decitabine) inhibits collagen type I and III expression in TGF-β1-treated equine endometrial fibroblasts[J]. *Animals (Basel)*, 2023, 13(7): 1212.

[8] 李佩双. 桂皮醛经 HMOX-1 抑制子宫内膜异位症子宫内膜间质细胞侵袭、迁移的研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.

[9] 王 玉 凤, 毛 婷. CYP1B1 基 因 RS1800440A/G 与 RS1056836 C/G 联合基因型多态性与子宫内膜异位症易感性的相关性[J]. *吉林医学*, 2023, 44(8): 2092-2095.

[10] 陆菁菁, 孙孟言, 王曼岷. 磁共振成像在子宫腺肌病诊断中的应用及研究进展[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2019, 35(5): 505-509.

[11] 王梓璇, 薛晓鸥. 王子瑜教授使用对药、角药治疗子宫内膜异位症经验[J]. *环球中医药*, 2022, 15(2): 273-275.

[12] 陈 碗, 任 雪, 姜天悦, 等. 程序性细胞死亡受体 1 与妊娠及相关疾病的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(5): 77-84.

[13] Shan J, Chang L Y, Li D J, *et al.* Rab27b promotes endometriosis by enhancing invasiveness of ESCs and promoting angiogenesis[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2023, 90(3): e13762.

[14] 金美琴, 陶 梦, 金鸥阳. 温经汤联合米非司酮治疗寒凝血瘀型子宫内膜异位症的疗效及对免疫功能的影响[J]. *临床合理用药*, 2023, 16(36): 27-30.

[15] 康 燕, 黄明华, 李海鹏, 等. 温经汤改善子宫内膜异位症患者临床症状及免疫功能的作用分析[J]. *中药材*, 2020, 43(2): 482-485.

[16] 王心茹, 果金玉, 高 乐, 等. 温经汤对子宫内膜异位症患者异位内膜间质细胞 HIF-1α 表达及线粒体功能的调控作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(6): 17-25.

[17] Li J, Cao L T, Liu H H, *et al.* Long non coding RNA H19: an emerging therapeutic target in fibrosing diseases[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(1): 1-7.

[18] Liu S, Xin W, Tang X, *et al.* LncRNA H19 overexpression in endometriosis and its utility as a novel biomarker for predicting recurrence[J]. *Reprod Sci*, 2020, 27(9): 1687-1697.

[19] 张贤雨, 马 欢, 宋凤丽, 等. miR-216a 通过下调 CAPN6 抑制宫颈癌细胞增殖并促进细胞凋亡的研究[J]. *中国妇幼保健研究*, 2023, 34(1): 75-84.

[20] 谭庆晶, 张 雪, 窦维华, 等. 微小 RNA 及相关信号通路参与缺血性脑卒中炎症反应的机制及中医药干预研究进展[J]. *中国医药*, 2023, 18(10): 1582-1586.

[21] 沈银红, 张 涛, 杨紫哈, 等. 多房棘球蚴对巨噬细胞糖代谢表型转变及极化类型影响的初步研究[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2023, 35(6): 590-603; 613.

[22] 金文琪, 郭修田, 朱 影, 等. 温和灸联合间充质干细胞移植对大鼠肛门括约肌损伤的修复作用及其机制[J]. *山西医科大学学报*, 2023, 54(2): 215-221.

[23] Vannuzzi V, Bernacchioni C, Muccilli A, *et al.* Sphingosine 1-phosphate pathway is dysregulated in adenomyosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2022, 45(1): 15-18.

[24] 王婷婷, 黄靖麟, 毛艳华, 等. LncRNA H19 促进子宫内膜蜕膜化的作用研究[J]. *陆军军医大学学报*, 2023, 45(16): 1722-1730.

[25] 徐 臻. LncRNA H19/miR-216a/ACTA2 和 STING/IRF3/IFNB1 信号通路在子宫内膜异位症中的作用和机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2021.

[26] 陈 康, 陈 颖, 牛宗新, 等. 基于 Caspase-3/Bcl-2/Bax 信号通路探究 SMAC 基因对肺腺癌细胞紫杉醇敏感度及细胞活性的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2023, 50(4): 357-363.

[27] 钟大仓, 陈 超, 李 桐, 等. 胡椒碱诱导人胰腺癌 PANC-1 细胞凋亡的 Caspase 3/Bax/Bcl-2 信号通路机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(14): 1687-1691.

[28] 郭秀丽, 姚 宏, 路 静. 细胞蜡块免疫组织化学在宫颈细胞学中的应用价值[J]. *山西医药杂志*, 2023, 52(23): 1812-1814.

[29] 尚 丽, 杜二球, 李咏梅, 等. 子宫内膜异位症患者子宫上皮 Survivin 和 Ki67 的表达与细胞凋亡的相关性[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(1): 25-28.