

# 姜黄素对子宫内膜异位症模型大鼠的影响及机制<sup>Δ</sup>

秦翠梅<sup>1\*</sup>, 刘心怡<sup>1</sup>, 丁晓兰<sup>1</sup>, 郭会领<sup>2</sup>, 陈品英<sup>2</sup>, 刘 姣<sup>3</sup>, 程 杰<sup>2#</sup> (1. 滨州市中医医院妇科, 山东 滨州 256601; 2. 河北省中医院药学部, 石家庄 050011; 3. 河北中医药大学中药药理教研室, 石家庄 050200)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2024)22-2744-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.22.07



**摘要** **目的** 基于Notch1信号通路探讨姜黄素对子宫内膜异位症(EMS)模型大鼠的影响及机制。**方法** 在动情周期趋于一致的雌性SD大鼠腹壁上种植自体子宫内膜, 构建EMS模型, 并将其随机分为模型组、姜黄素低、中、高剂量组(60、120、240 mg/kg)和Notch1抑制剂DAPT组(7 mg/kg), 另设假手术组, 每组10只。各组大鼠灌胃或尾静脉注射相应药物, 给药4周后, 分别通过超声仪和肉眼观察、测量子宫内膜异位病灶并计算体积; 观察病灶组织病理形态; 检测大鼠腹腔液中白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、IL-6和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )含量, 以及子宫内膜异位病灶中Notch1、基质金属蛋白酶9(MMP-9)和血管内皮生长因子(VEGF)mRNA和蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, 姜黄素低、中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶的体积均显著减小( $P<0.05$ ), 柱状上皮萎缩或消失, 囊泡消失; 腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ (姜黄素低剂量组除外)水平以及子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF mRNA(姜黄素低剂量组MMP-9、VEGF除外)及蛋白(姜黄素低剂量组MMP-9除外)表达水平均显著降低( $P<0.05$ ), 其中姜黄素高剂量组和DAPT组大部分指标优于姜黄素低、中剂量组。**结论** 姜黄素对EMS具有改善作用, 其作用机制可能与抑制Notch1信号通路、减轻局部炎症反应、抑制异位内膜的侵袭和血管生成有关。

**关键词** 子宫内膜异位症; 姜黄素; Notch1信号通路

## Impact and mechanism of curcumin on endometriosis model rats

QIN Cuimei<sup>1</sup>, LIU Xinyi<sup>1</sup>, DING Xiaolan<sup>1</sup>, GUO Huiling<sup>2</sup>, CHEN Pinying<sup>2</sup>, LIU Jiao<sup>3</sup>, CHENG Jie<sup>2</sup> (1. Dept. of Gynecology, Binzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong Binzhou 256601, China; 2. Dept. of Pharmacy, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3. Dept. of Chinese Medicine Pharmacology, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To explore the impact and mechanism of curcumin on endometriosis (EMS) model rats based on Notch1 signaling pathway. **METHODS** Female SD rats with synchronized estrous cycles were implanted with autologous endometrium on the abdominal wall to construct EMS model. EMS rats were randomly divided into model group, low-, medium- and high-dose groups of curcumin (60, 120, 240 mg/kg), and Notch 1 inhibitor DAPT group (7 mg/kg). The sham surgery group was also established, with 10 rats in each group. Rats in each group received intragastric administration or injection via caudal veins with the corresponding drugs for 4 weeks. Endometriotic lesions were observed and measured using ultrasound and visual inspection, and their volumes were calculated. Histopathological morphology of the lesion tissues was observed. The levels of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the abdominal cavity fluid, as well as the mRNA and protein expression levels of Notch1, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the endometriotic lesions were measured. **RESULTS** Compared with the model group, the volume of endometriotic lesions in the low-, medium- and high-dose groups of curcumin and the DAPT group was significantly decreased ( $P<0.05$ ); atrophy or disappearance of columnar epithelium, cyst disappearance; the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  (except for the low-dose curcumin group) in the abdominal cavity fluid, as well as the mRNA (except for MMP-9 and VEGF in the low-dose curcumin group) and protein (except for MMP-9 in the low-dose curcumin group) expression levels of Notch1, MMP-9, and VEGF in the endometriotic lesions were significantly decreased ( $P<0.05$ ). The curcumin high-dose group and DAPT group showed superior results in most indicators compared to the curcumin low- and medium-dose groups. **CONCLUSIONS** Curcumin has an improving

effect on EMS, and its mechanism may be related to inhibiting Notch1 signaling pathway, reducing local inflammatory responses, and inhibiting ectopic endometrial invasion and angiogenesis.

**KEYWORDS** endometriosis; curcumin; Notch1 signaling pathway

<sup>Δ</sup> **基金项目** 河北省自然科学基金项目(No.H2020423222); 山东省中医药科技项目(No.2021M048); 河北省中医药管理局科研计划项目(No.2022066)

\* **第一作者** 副主任医师, 硕士。研究方向: 妇科基础及临床。E-mail: qcm1226@163.com

# **通信作者** 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药药效物质。E-mail: 323240022@qq.com

子宫内膜异位症(endometriosis, EMS)是育龄期女性的常见疾病,在世界范围内的发病率为10%~15%<sup>[1]</sup>。该病是指子宫内膜组织在宫腔与肌层以外的脏器或位置生长,异位病灶有类似于肿瘤迁移、侵袭、种植和血管新生的特性。现代研究发现,Notch1信号通路能够受到雌激素受体活性的调节,进而影响细胞的增殖、凋亡和迁移,该信号通路的异常与恶性肿瘤的发生和发展关系密切<sup>[2]</sup>。EMS是与雌激素密切相关的疾病,且病理过程与肿瘤相似,也被证实受到Notch1信号通路的调控即Notch1的异常激活可能促进了异位内膜的迁移及侵袭<sup>[3]</sup>。

姜黄素是从姜科植物姜黄、莪术、芥末、咖喱、郁金等根茎中提取的一种天然多酚类化合物,具有显著的抗肿瘤作用,其抗肿瘤机制可能与抑制Notch1蛋白活性有关<sup>[4]</sup>。现代研究发现,姜黄素能够有效抑制异位子宫内膜间质细胞的增殖、迁移和侵袭,但其机制尚不明确<sup>[5]</sup>。本研究拟通过建立EMS大鼠模型,探究姜黄素对EMS的干预效果以及对Notch1信号通路相关蛋白表达的影响,以期为揭示姜黄素治疗EMS的机制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括:Mylab Five型小动物超声仪(意大利 Esaote 公司),VME2型小动物专用吸入麻醉机(美国 Matrx 公司),1658001小型垂直电泳槽、Gel-Doc 2000型凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司),StepOne-Plus Real-Time型聚合酶链式反应(PCR)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),DM500型显微镜(德国 Leica 公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

姜黄素原料药(批号 C400222,纯度 $\geq 98\%$ )购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;雌二醇片(批号 340436,规格 2 mg/片)购自比利时 Solvay S.A. 公司;Notch1抑制剂(3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酰基-L-2-苯基甘氨酸叔丁酯(DAPT)(批号 HY-12860,纯度 $\geq 99.8\%$ )购自美国 MCE 公司;兔源 Notch1、金属基质蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体(批号分别为 GR317746-27、ab760003、ab32152、ab9485)均购自美国 Abcam 公司;抗兔 IgG 二抗(批号 20000798)购自美国 Proteintech 公司;白细胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(批

号分别为 C09PDB、C12PDB、C06PZB)均购自北京北方生物技术研究所;异氟烷(批号 217181101)购自深圳瑞沃德生命科技有限公司;核糖核酸(RNA)提取试剂盒和 SYBR Green qPCR 预混试剂盒(批号分别为 AG21102、AG11701)均购自湖南艾科瑞生物工程有限公司;反转录试剂盒(批号 130516)购自莫纳(苏州)生物科技有限公司。

### 1.3 动物

健康性成熟的 SD 大鼠,雌性,SPF 级,体重 180~220 g,购自河北伊维沃生物科技有限公司,动物生产许可证号为 SCXK(冀)2020-002。大鼠饲养于河北中医药大学中药药理实验室,实验动物使用许可证号为 SYXK(冀)2022-010。大鼠饲养环境为恒温、恒湿,12 h/12 h 昼夜交替;大鼠喂饲灭菌标准大鼠饲料和去离子水,自由取食和饮水。本研究动物实验经河北省中医院医学伦理委员会审核批准,伦理审查批准号为 HBZY2023-YS-223-01。

## 2 方法

### 2.1 模型制备

取 60 只性成熟的 SD 雌性大鼠,按 0.1 mg/kg 灌胃雌二醇(使用时以 1% 的羧甲基纤维素钠溶液溶解,配制成 0.01 mg/mL 溶液,下同),给药体积为 10 mL/kg,每日 1 次,连续 3 d,使大鼠动情周期趋于一致。采用自体子宫内膜移植法制备 EMS 模型;大鼠术前 24 h 禁食,以小动物专用吸入麻醉机麻醉,备皮后开腹,将左侧子宫用手术线进行结扎,截取中间部分组织;将所取子宫组织纵向剖开,修剪为 5 mm $\times$ 5 mm 的组织片,用手术线钉于腹壁上,逐层缝合腹部<sup>[6]</sup>。另取 10 只性成熟的 SD 雌性大鼠行假手术,仅结扎和截取子宫组织,不进行异位种植。术后为预防感染,每只大鼠每日腹腔注射硫酸庆大霉素 0.4 万单位,给药体积为 10 mL/kg,连续 3 d。为促进子宫组织块的植入,大鼠术后第 2 天开始灌胃雌二醇 0.1 mg/kg,每隔 3 d 给药 1 次,连续 5 次;假手术大鼠灌胃等体积去离子水。末次灌胃雌二醇后的第 3 天,麻醉大鼠,超声仪示各组大鼠腹壁下方可见 EMS 病灶——呈囊状的灰黑色低回声区。以小动物超声分析软件测量并计算子宫内膜异位病灶体积,体积 $\geq 50$  mm<sup>3</sup>者为 EMS 造模成功大鼠<sup>[6]</sup>,可用于后续实验。

### 2.2 分组与给药

将造模成功的大鼠随机分为模型组、姜黄素低剂量组(60 mg/kg)、姜黄素中剂量组(120 mg/kg)、姜黄素高剂量组(240 mg/kg)以及 DAPT 组(7 mg/kg),每组 10 只;另取 10 只假手术大鼠作为假手术组。姜黄素的给药剂

量参考既往文献<sup>[7]</sup>确定,溶剂为0.5%的羧甲基纤维素钠溶液。各姜黄素组小鼠均灌胃给药,每日1次,给药4周,给药体积为10 mL/kg。DAPT组大鼠尾静脉注射DAPT 7 mg/kg(DAPT先用10%的二甲基亚砷溶解,再用生理盐水稀释至所需溶度),分别于分组后的第3、7、10、14、17、21、24、28天给药<sup>[8-9]</sup>。假手术组和模型组大鼠每日灌胃去离子水,给药体积为10 mL/kg。

2.3 子宫内膜异位病灶观察

末次给药后,以小动物专用吸入麻醉机将大鼠麻醉,用超声仪观察各组大鼠子宫内膜异位病灶,并测算子宫内膜异位病灶体积。检测后将大鼠开腹,肉眼观察位于腹壁上的子宫内膜异位病灶的色泽、形态及周围新生血管情况,用卡尺测量子宫内膜异位组织的长径、宽径,按照下列公式计算异位病灶体积:异位病灶体积( $\text{mm}^3$ )= $0.52 \times A \times B^2$ ( $A$ 为长径, $B$ 为宽径)。剪取完整异位病灶,备用。

2.4 子宫内膜异位病灶组织病理形态学观察

各组取5只大鼠的子宫内膜异位病灶,石蜡包埋,切片,以苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色,用显微镜观察其病理形态学变化。

2.5 腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平检测

取各组大鼠的腹腔液,离心,取上清液,按照ELISA试剂盒说明书操作,分别检测其中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 的水平。

2.6 子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF mRNA表达检测

各组取3只大鼠的部分子宫内膜异位病灶组织,提取、纯化总RNA,并反转录合成cDNA。在反应体系中加入cDNA 8  $\mu\text{L}$ ,SYBR Green PCR Master Mix 20  $\mu\text{L}$ ,正、反向引物各0.8  $\mu\text{L}$ ,最后用无核酸酶水加至40  $\mu\text{L}$ ,按下述条件进行扩增:96  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;93  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,58  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,共35个循环;全部循环结束后在74  $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算Notch1、MMP-9和VEGF mRNA表达水平。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列和扩增产物长度见表1。

表1 引物序列和扩增产物长度

基因	引物序列(5'→3')	扩增产物长度/bp
Notch1	正向: TGCCGAGTGTGAGTGGGATGG	123
	反向: AAGTGAAGGAGTTGTTGCGTAGC	
MMP-9	正向: AAAGGTCGCTCGGATGGTAT	136
	反向: TCGACTCCAGTAGACAATCCTT	
VEGF	正向: CACGACAGAAGGGGAGCAGAAAG	150
	反向: GGCACACAGGACGGCTTGAAG	
GAPDH	正向: AGTGCCAGCCTCTCTCATA	77
	反向: GGTAAACAGGCGTCCGATAC	

2.7 子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF蛋白表达检测

各组取3只大鼠的部分子宫内膜异位病灶组织,经裂解、匀浆后,提取蛋白;蛋白定量后,煮沸5 min使其变性,经电泳分离、转膜后,用5%牛血清白蛋白室温封闭2 h,分别加入Notch1、MMP-9、VEGF和GAPDH抗体(稀释比例均为1:1 000),4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;再加入相应二抗(稀释比例为1:10 000),室温孵育1 h。采用化学发光法进行检测,并用Image J软件对目的蛋白条带进行分析,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值代表目的蛋白的表达水平。

2.8 统计学方法

使用SPSS 26.0软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,满足正态分布和方差齐者,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用LSD- $t$ 检验进行多组间两两比较;不满足正态分布者,采用多个独立样本的非参数秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 姜黄素对子宫内膜异位病灶外观和体积的影响

给药前,超声仪测得各组大鼠子宫内膜异位病灶的体积相近,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),异位病灶周围均可见丰富血流。给药后,与模型组比较,超声仪和直尺测得的姜黄素低、中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶的体积均显著减小( $P<0.05$ ),异位病灶周围的血流亦均明显减少。与姜黄素低剂量组比较,姜黄素中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶体积均显著减小( $P<0.05$ )。结果见图1和表2。

3.2 姜黄素对子宫内膜异位病灶组织病理形态的影响

假手术组大鼠子宫内膜组织可见整齐排列的柱状上皮细胞,固有层中有腺体和血管分布。模型组大鼠子宫内膜异位病灶呈囊泡状,柱状上皮细胞与假手术组大鼠子宫内膜上皮细胞相似,囊内可见液体积聚。与模型组比较,姜黄素低剂量组大鼠子宫内膜组织可见萎缩的柱状上皮,囊内积液消失;姜黄素中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜组织中柱状上皮消失,囊内有结缔组织生长。结果见图2。

3.3 姜黄素对腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,姜黄素低、中、高剂量组和DAPT组大鼠腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ (姜黄素低剂量组除外)水平均显著降低( $P<0.05$ )。与姜黄素低剂量组比较,姜黄素中、高剂量组和DAPT组大鼠腹腔液中IL-6水平均显著降低( $P<0.05$ )。结果见表3。



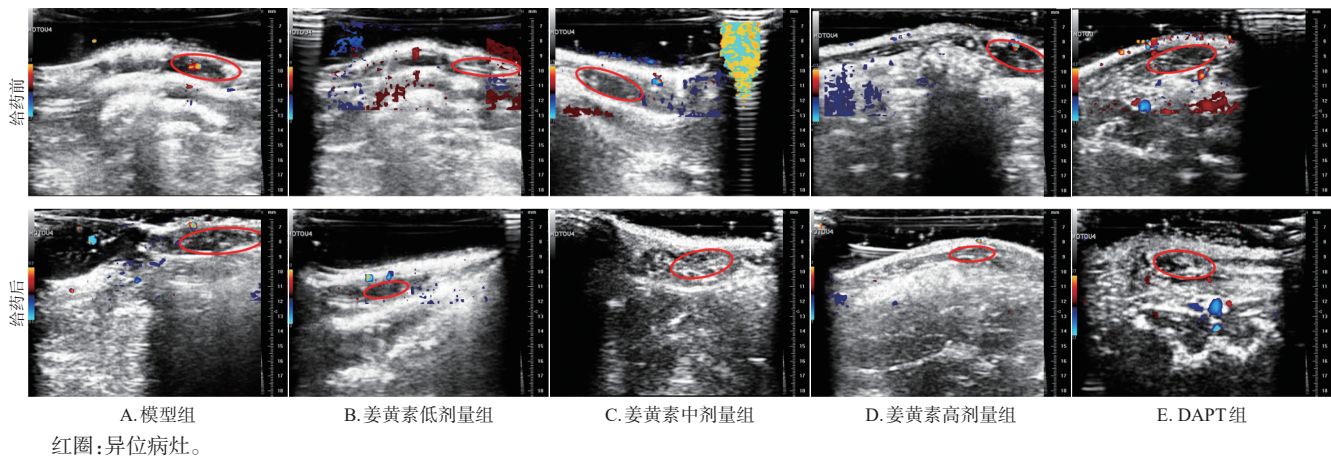


图1 各组大鼠给药前后子宫内膜异位病灶的B超图

表2 各组大鼠子宫内膜异位病灶体积比较( $\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}^3$ )

组别	超声仪测算体积		直尺测量计算体积
	给药前	给药后	
模型组	55.5±4.7	72.8±16.6	68.9±16.4
姜黄素低剂量组	55.6±4.3	49.9±14.2 <sup>a</sup>	44.6±19.0 <sup>a</sup>
姜黄素中剂量组	53.6±4.0	35.7±9.8 <sup>ab</sup>	28.7±12.4 <sup>ab</sup>
姜黄素高剂量组	53.8±3.8	28.7±11.1 <sup>ab</sup>	20.4±12.9 <sup>ab</sup>
DAPT组	53.6±3.4	26.3±11.2 <sup>ab</sup>	20.1±13.6 <sup>ab</sup>

a: 与模型组比较,  $P<0.05$ ; b: 与姜黄素低剂量组比较,  $P<0.05$ 。

表3 各组大鼠腹腔液中IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=10, \mu\text{g/L}$ )

组别	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$
假手术组	104.9±16.9	92.3±11.3	1.03±0.14
模型组	137.2±16.1 <sup>a</sup>	112.5±8.2 <sup>a</sup>	1.38±0.23 <sup>a</sup>
姜黄素低剂量组	127.3±17.6 <sup>b</sup>	104.4±9.4 <sup>b</sup>	1.29±0.27
姜黄素中剂量组	122.6±16.3 <sup>b</sup>	100.8±8.2 <sup>bc</sup>	1.24±0.17 <sup>b</sup>
姜黄素高剂量组	119.1±14.4 <sup>b</sup>	93.3±8.1 <sup>bc</sup>	1.17±0.18 <sup>b</sup>
DAPT组	116.1±15.9 <sup>b</sup>	92.5±11.3 <sup>bc</sup>	1.14±0.15 <sup>b</sup>

a: 与假手术组比较,  $P<0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c: 与姜黄素低剂量组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.4 姜黄素对子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF mRNA表达的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF mRNA表达水平均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较, 姜黄素低、中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9(姜黄素低剂量组除外)和VEGF(姜黄素低剂量组除外)mRNA表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。与姜黄素低剂量组比较, 姜黄素中、高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶中Notch1、MMP-9和VEGF mRNA表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。与姜黄素中剂量组比较, 姜黄素高剂量组和DAPT组大鼠子宫内膜异位病灶中MMP-9 mRNA表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。结果见表4。

表4 各组大鼠子宫内膜异位病灶中Notch1、VEGF和MMP-9 mRNA表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	Notch1	MMP-9	VEGF
假手术组	0.99±0.08	0.98±0.07	1.05±0.11
模型组	3.27±0.41 <sup>a</sup>	3.82±0.52 <sup>a</sup>	2.88±0.29 <sup>a</sup>
姜黄素低剂量组	2.82±0.12 <sup>b</sup>	3.63±0.11	2.48±0.38
姜黄素中剂量组	2.25±0.29 <sup>bc</sup>	2.93±0.18 <sup>bc</sup>	1.92±0.35 <sup>bc</sup>
姜黄素高剂量组	1.96±0.22 <sup>bc</sup>	2.17±0.30 <sup>bcd</sup>	1.28±0.14 <sup>bc</sup>
DAPT组	1.74±0.15 <sup>bc</sup>	1.68±0.28 <sup>bcd</sup>	1.37±0.19 <sup>bc</sup>

a: 与假手术组比较,  $P<0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c: 与姜黄素低剂量组比较,  $P<0.05$ ; d: 与姜黄素中剂量组比较,  $P<0.05$ 。

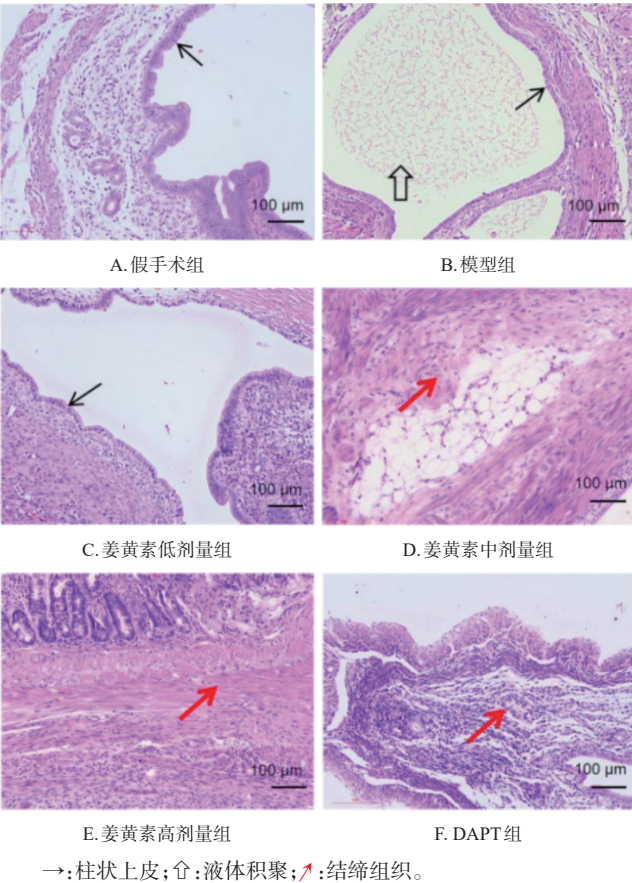
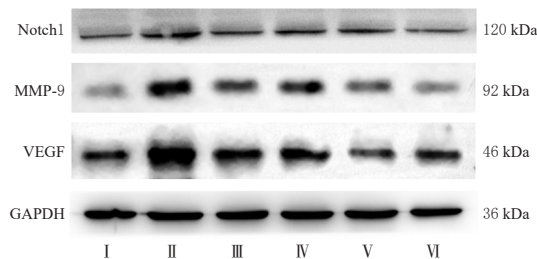


图2 各组大鼠子宫内膜异位病灶组织病理形态显微镜图(HE染色)

3.5 姜黄素对子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9 和 VEGF 蛋白表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9 和 VEGF 蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,姜黄素低、中、高剂量组和 DAPT 组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9(姜黄素低剂量组除外)和 VEGF 蛋白表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。与姜黄素低剂量组比较,姜黄素高剂量组和 DAPT 组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1 和 MMP-9(姜黄素高剂量组除外)蛋白表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。与姜黄素中剂量组比较,姜黄素高剂量组和 DAPT 组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1 蛋白表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。结果见图 3 和表 5。



I:假手术组;II:模型组;III:姜黄素低剂量组;IV:姜黄素中剂量组;V:姜黄素高剂量组;VI:DAPT组。

图3 各组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9 和 VEGF 蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9 和 VEGF 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	Notch1/GAPDH	MMP-9/GAPDH	VEGF/GAPDH
假手术组	0.62±0.07	0.41±0.13	0.36±0.12
模型组	0.83±0.18 <sup>a</sup>	0.70±0.23 <sup>a</sup>	0.65±0.19 <sup>a</sup>
姜黄素低剂量组	0.61±0.12 <sup>b</sup>	0.52±0.21	0.38±0.05 <sup>b</sup>
姜黄素中剂量组	0.61±0.12 <sup>b</sup>	0.36±0.04 <sup>b</sup>	0.25±0.14 <sup>b</sup>
姜黄素高剂量组	0.41±0.06 <sup>cd</sup>	0.31±0.19 <sup>b</sup>	0.23±0.16 <sup>b</sup>
DAPT组	0.38±0.08 <sup>cd</sup>	0.22±0.06 <sup>c</sup>	0.28±0.17 <sup>b</sup>

a:与假手术组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与姜黄素低剂量组比较, $P<0.05$ ;d:与姜黄素中剂量组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

EMS是一类常见于育龄女性的妇科疾病,严重影响女性的身心健康。目前临床治疗EMS多采用前列腺素抑制剂及激素类药物,因副作用大,患者的依从性较差。中药治疗EMS因效果显著、不良反应轻微而受到广泛关注。本课题组前期研究发现,中药莪术可有效减小EMS模型大鼠的异位病灶体积,但其中活性成分仍不明确<sup>[10]</sup>。姜黄素是莪术中含有的天然多酚类化合物,已有研究发现,该成分对卵巢癌、子宫内膜癌等妇科疾病有较好的治疗作用<sup>[11-12]</sup>。因EMS的转移、迁徙和侵袭与癌症十分相似,因此,本课题组以莪术中的有效成分姜黄素为研究对象,研究姜黄素对大鼠EMS的影响。结果发现,EMS大鼠用姜黄素治疗4周后,通过超声仪和肉

眼均能发现其子宫内膜异位病灶的体积较模型组减小;病理观察可发现,姜黄素治疗可使子宫内膜异位病灶的囊泡消失,柱状上皮萎缩或消失,对结缔组织的生长也有促进作用。以上观察和检测结果证明,姜黄素对EMS具有改善作用。

本研究发现,模型组大鼠子宫内膜异位病灶中 Notch1 mRNA 和蛋白表达水平均显著高于假手术组。Notch1 为哺乳动物体内一种高度保守的信号通路,参与细胞增殖、分化和凋亡等调控过程<sup>[13]</sup>。Notch1 的基因启动子雌激素反应元件拥有雌激素受体(estrogen receptor, ER)的结合位点,具有雌激素反应性,雌激素能够通过 ER $\alpha$  激活 Notch1 信号通路。EMS 是一种雌激素依赖性疾病,已经证实,EMS 患者的异位病灶和异位内膜间质细胞中均可观察到 ER 表达的上调和 Notch1 水平的升高<sup>[14]</sup>。子宫碎片的植入通常会引起局部炎症反应,炎症微环境又会促使异位子宫内膜组织的种植,并通过 MMP-9 激活 Notch1,同时通过 IL-6 增强 E 蛋白与 Notch1 启动子的结合,进一步上调 Notch1 的表达<sup>[15]</sup>。Notch1 的激活除直接参与异位子宫内膜组织的侵袭及血管生成等过程,还可以与 Jagged1 蛋白相互作用,间接影响子宫内膜柱状上皮细胞的分化<sup>[16]</sup>。本研究结果发现,与模型组比较,姜黄素和 Notch1 的抑制剂 DAPT 均能显著降低大鼠腹腔液中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平,以及子宫内膜异位病灶中 Notch1、MMP-9(与异位病灶迁移、侵袭密切相关)和 VEGF(与血管新生密切相关)的 mRNA 和蛋白表达水平,使子宫内膜异位病灶萎缩、体积减小,说明阻断 Notch1 和使用姜黄素均可以抑制异位子宫内膜组织生长。

综上所述,姜黄素能够促使 EMS 模型大鼠子宫内膜异位病灶萎缩,其作用机制可能与抑制 Notch1 信号通路、减轻局部炎症反应、抑制异位内膜的侵袭和血管生成有关。而姜黄素的上述作用是否通过 Notch1 通路影响异位内膜间质细胞的转化、增殖和迁移过程,本课题组后续将通过细胞实验继续研究。

参考文献

[1] KAPOOR R, STRATOPOULOU C A, DOLMANS M M. Pathogenesis of endometriosis: new insights into prospective therapies[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21):11700.

[2] MOLDOVAN G E, MIELE L, FAZLEABAS A T. Notch signaling in reproduction[J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(12):1044-1057.

[3] RUMPH J T, STEPHENS V R, ARCHIBONG A E, et al. Environmental endocrine disruptors and endometriosis[J]. Adv Anat Embryol Cell Biol, 2020, 232:57-78.

[4] CAI J Q, SUN H, ZHENG B, et al. Curcumin attenuates



- lncRNA H19-induced epithelial-mesenchymal transition in tamoxifen-resistant breast cancer cells[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1):13.
- [5] 沈龙德,李爱禄,李丽春,等. 姜黄素对大鼠子宫内膜异位症影响的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2020, 25(8):862-868.
- SHEN L D, LI A L, LI L C, et al. Experimental study on the effect of curcumin on endometriosis in rats[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2020, 25(8):862-868.
- [6] 秦翠梅,聂晓博,王炎,等. 基于 JAK2/STAT3 信号通路探讨三棱莪术及配伍干预大鼠子宫内膜异位症的配伍研究[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(1):134-139.
- QIN C M, NIE X B, WANG Y, et al. Compatibility analysis of Rhizoma Sparganii and Curcumae Rhizoma on endometriosis in rats based on JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2022, 38(1):134-139.
- [7] 曹立花,李丽娟,胡晓丹,等. 姜黄素对子宫内膜异位症大鼠 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  通路及肥大细胞活化的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(4):480-485.
- CAO L H, LI L J, HU X D, et al. Effects of curcumin on PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  pathway and mast cell activation in endometriosis rats[J]. Chin J Immunol, 2021, 37(4):480-485.
- [8] 陈雪,石亚琳,孙合圣,等. 基于 Notch 信号通路探讨柚皮素调节 Th17/Treg 平衡治疗哮喘的机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(7):1383-1389.
- CHEN X, SHI Y L, SUN H S, et al. Mechanism of naringenin in regulating Th17/Treg balance to treat asthma based on Notch signaling pathway[J]. Chin J Immunol, 2023, 39(7):1383-1389.
- [9] NISHAD R, MESHRAM P, SINGH A K, et al. Activation of Notch1 signaling in podocytes by glucose-derived AGEs contributes to proteinuria[J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2020, 8(1):e001203.
- [10] 韩丽丽,张文秀,刘姣. 莪术对子宫内膜异位症大鼠的改善作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(19):2328-2331.
- HAN L L, ZHANG W X, LIU J. Improvement of *Rhizoma zedoariae* on endometriosis in rats[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2019, 35(19):2328-2331.
- [11] 马蓉,李娟,王芳. 姜黄素通过降低 miR-135b-5p 和 FEN1 表达增强卵巢癌 OVCAR-3 细胞顺铂敏感性[J]. 江苏大学学报(医学版), 2024, 34(4):324-330.
- MA R, LI J, WANG F. Curcumin enhances cisplatin sensitivity of OVCAR-3 cells by decreasing the expression of miR-135b-5p and FEN1[J]. J Jiangsu Univ Med Ed, 2024, 34(4):324-330.
- [12] 汪洁,杨彩凤,吴亚凡,等. 姜黄素通过调控 Notch1 通路对子宫内癌 ISH 细胞株孕激素治疗敏感性的影响[J]. 西部医学, 2022, 34(5):688-693.
- WANG J, YANG C F, WU Y F, et al. Effect of curcumin on the sensitivity of human endometrial carcinoma ISH cell line to progesterone therapy by regulating Notch1 pathway[J]. Med J West China, 2022, 34(5):688-693.
- [13] ZHOU B H, LIN W L, LONG Y L, et al. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1):95.
- [14] 廖源,王开举,李浩德,等. 雌激素调控子宫内癌异位症基质细胞侵袭和迁移的机制研究[J]. 局解手术学杂志, 2023, 32(8):673-679.
- LIAO Y, WANG K J, LI H H, et al. Mechanism of estrogen regulating the invasion and migration of endometriosis stromal cells[J]. J Reg Anat Oper Surg, 2023, 32(8):673-679.
- [15] SONG Y, SU R W, JOSHI N R, et al. Interleukin-6(IL-6) activates the NOTCH1 signaling pathway through E-proteins in endometriotic lesions[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(5):1316-1326.
- [16] KÖRBEL C, GERSTNER M D, MENDER M D, et al. Notch signaling controls sprouting angiogenesis of endometriotic lesions[J]. Angiogenesis, 2018, 21(1):37-46.

(收稿日期:2024-07-12 修回日期:2024-10-26)

(编辑:邹丽娟)