

• 论 著 •

维凤精调控 Nrf2/HO-1 信号通路对薄型子宫内膜小鼠的改善作用*

王蕴秋¹, 王春晴¹, 王晓菲¹, 孟兆青², 田景振^{3△}

1. 山东第一医科大学第一附属医院(山东省千佛山医院)医学检验科/山东省医药卫生临床检验诊断学重点实验室, 山东济南 250014; 2. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 山东济南 250000; 3. 山东中医药大学药学院, 山东济南 250355

摘要:目的 探讨维凤精对薄型子宫内膜(TE)小鼠的改善作用及其机制。方法 将 48 只雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、维凤精低剂量组(5 mL/kg)、中剂量组(10 mL/kg)、高剂量组(20 mL/kg)及戊酸雌二醇阳性对照组, 每组 8 只。除空白对照组外, 其余各组采用 95% 乙醇宫腔灌注法建立 TE 模型。建模成功后, 各组分别灌胃给药 8 周, 检测子宫形态(子宫内膜厚度与腺体数量)、血清雌二醇(E2)、促黄体生成素(LH)和孕酮(P)水平、子宫内膜容受性相关蛋白[细胞角蛋白-19(CK-19)、波形蛋白(Vimentin)、白血病抑制性因子(LIF)]表达、子宫炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-10]mRNA 表达、氧化应激指标[超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)], 以及核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)和血红素氧合酶 1(HO-1)蛋白表达水平。结果 与模型对照组比较, 维凤精各剂量组尤其是高剂量组能显著增加子宫质量与系数, 恢复子宫内膜厚度与腺体数量, 升高血清 E2 水平, 上调 CK-19、Vimentin 和 LIF 蛋白表达, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。维凤精可显著降低促炎因子 TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 表达水平, 升高抗炎因子 IL-10 的 mRNA 表达水平, 增强子宫组织 SOD 活性与 GSH 水平, 降低 MDA 水平, 并呈剂量依赖性促进 Nrf2 及 HO-1 蛋白表达。高剂量维凤精的改善效果与阳性对照组相当。结论 维凤精通过调控 Nrf2/HO-1 信号通路, 增强子宫内膜抗氧化能力, 减轻氧化应激损伤, 并改善子宫局部炎症微环境, 从而改善 TE 小鼠的子宫内膜结构与功能。

关键词:薄型子宫内膜; 维凤精; Nrf2/HO-1 信号通路; 氧化应激

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.16.013 **中图法分类号:**R711.5

文章编号:1673-4130(2026)16-1994-07 **文献标识码:**A

Improvement effect of Chufengjing on thin endometrium mice by regulating the Nrf2/HO-1 signaling pathway*

Wang Yunqiu¹, Wang Chunqing¹, Wang Xiaofei¹, Meng Zhaoqing², Tian Jingzhen^{3△}

1. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Shandong First Medical University(Shandong Provincial Qianfoshan Hospital)/Shandong Medicine and Health Key Laboratory of Laboratory Medicine, Jinan, Shandong 250014, China; 2. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co. Ltd., Jinan, Shandong 250000, China; 3. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250355, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of Chufengjing on thin endometrium (TE) mice and its mechanism. **Methods** Forty-eight female C57BL/6J mice were randomly divided into blank control group, model control group, low-dose Chufengjing group (5 mL/kg), medium-dose Chufengjing group (10 mL/kg), high-dose Chufengjing group (20 mL/kg), and estradiol valerate positive control group, with 8 mice in each group. Except for the blank control group, the other groups established the TE model by intracavitary perfusion with 95% ethanol. After successful modeling, each group was administered the respective treatment by gavage for 8 weeks. The following parameters were measured: uterine morphology (endometrial thickness and glandular number), serum estradiol (E2), luteinizing hormone (LH), and progesterone (P) levels, expres-

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(82303249);山东省自然科学基金青年项目(ZR2022QH290);山东省自然科学基金面上项目(ZR2026MS1374)。

作者简介:王蕴秋,女,副主任技师,主要从事临床检验诊断学研究。△ 通信作者, E-mail: tianjingzhen@163.com。

sion of endometrial receptivity-related proteins [cytokeratin-19 (CK-19), Vimentin, leukemia inhibitory factor (LIF)], expression of inflammatory factors [tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-6, IL-10] mRNA, oxidative stress indicators [superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA)], and protein expression levels of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1). **Results** Compared with the model control group, each Chufengjing dose group, especially the high-dose group, significantly increased uterine weight and coefficient, restored endometrial thickness and gland count, elevated serum E2 level, and upregulated the protein expression of CK-19, Vimentin and LIF, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Meanwhile, Chufengjing significantly reduced the mRNA expression levels of pro-inflammatory factors TNF- α and IL-6, increased the mRNA expression level of anti-inflammatory factor IL-10, enhanced SOD activity and GSH content in uterine tissue, decreased MDA level, and promoted Nrf2 and HO-1 protein expression in a dose-dependent manner. The ameliorative effect of high-dose Chufengjing was comparable to that of the positive control group. **Conclusion** Chufengjing enhances the antioxidant capacity of the endometrium, alleviates oxidative stress damage, and improves the local inflammatory microenvironment of the uterus by regulating the Nrf2/HO-1 signaling pathway, thereby improving the endometrial structure and function in TE mice.

Key words: thin endometrium; Chufengjing; Nrf2/HO-1 signaling pathway; oxidative stress

薄型子宫内膜(TE)是女性生殖功能障碍中的一种重要病理状态,在临床上主要表现为子宫内膜厚度显著低于生理阈值,同时伴有容受性受损^[1]。这一病理改变会直接阻碍胚胎的成功着床,不仅是导致反复种植失败的常见原因,也与不良妊娠密切相关^[2]。近年来,TE 的发生率逐年升高,但其发病机制尚未完全阐明,且缺乏安全、有效的干预手段,已成为生殖医学领域亟待解决的难题之一。近年研究提示,氧化应激在其病理进程中发挥关键作用^[3]。过量活性氧(ROS)可破坏子宫内膜细胞内氧化-抗氧化平衡,诱发线粒体功能障碍、细胞凋亡及血管生成异常^[4]。核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/血红素氧合酶 1(HO-1)是机体重要的抗氧化信号通路,通过调控下游抗氧化酶的表达,在维持细胞氧化还原稳态中发挥核心作用^[5-10]。有研究表明,该通路的激活可改善多种组织损伤,但其在 TE 中的具体调控作用尚不清楚。中药基于整体观念和辨证论治原则,在调节女性生殖内分泌功能、促进子宫内膜修复及提升容受性等方面具有独特的临床价值^[11-12]。雏凤精作为临床应用的复方制剂,具有温补肾阳、补气养血等功效,已被用于治疗月经失调等多种妇科疾病^[13-14],但其是否能够改善 TE,以及其中涉及的具体分子机制尚未得到系统阐明。基于此,本研究拟以 TE 小鼠为研究对象,探讨雏凤精对 TE 的改善作用及氧化应激的调控作用,解析 Nrf2/HO-1 信号通路在其中的关键机制,旨在从分子水平揭示雏凤精改善 TE 的科学内涵,并为后续临床应用转化提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 48 只 SPF 级雌性 C57BL/6J 小鼠,

周龄为 8 周,体重 18~20 g,由北京维通利华实验动物有限公司提供[许可证号:SYXK(京)2021-0011]。动物饲养于山东第一医科大学第一附属医院(以下简称本院)实验动物中心,实验方案经本院伦理委员会批准(伦理审查编号:2025100301)。

1.2 仪器与试剂 旋转切片机(德国徕卡公司),倒置显微镜(卡尔蔡司股份公司),台式高速冷冻离心机(德国艾本德股份公司),全自动酶标仪(赛默飞世尔科技公司),NanoDrop 2000 分光光度计(赛默飞世尔科技公司),电泳转印系统(美国伯乐公司),蛋白印迹成像系统(上海天能科技有限公司);雏凤精(山东宏济堂制药集团股份有限公司,国药准字:Z37020144),戊酸雌二醇[拜耳(中国)有限公司,国药准字:J20171038],HE 染液(上海联祖生物科技有限公司,货号:LZ-01X6698),小鼠雌二醇(E2)、促黄体生成素(LH)及孕酮(P)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,货号:CSB-E05109m、CSB-E12770m、CSB-E05104m),总 RNA 提取试剂(北京兰杰柯科技有限公司,货号:BS258A),Anti-rabbit 细胞角蛋白-19 (CK-19)、Anti-rabbit 波形蛋白(Vimentin)、Anti-rabbit 白血病抑制性因子(LIF)、Anti-rabbit Nrf2、Anti-rabbit HO-1、Anti-mouse GAPDH(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:10712-1-AP、10366-1-AP、26757-1-AP、16396-1-AP、10701-1-AP、60004-1-Ig),超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:A001-3-2、A006-1-1、A003-1-2)。

1.3 方法

1.3.1 TE 小鼠模型的建立与分组 采用 95%乙醇宫腔灌注法建立 TE 小鼠模型^[15]。该方法是目前建立 TE 动物模型的常用造模方式,已在多项前期研究中被证实可稳定诱导子宫内膜损伤,并显著降低胚胎着床率及妊娠结局,具有较好的可重复性。具体操作如下:小鼠麻醉后,在尿道口上方作一纵向切口,用无齿镊将子宫牵出。以血管夹分别夹闭子宫角和子宫颈,从近宫颈处注入 95%乙醇至宫腔充盈(空白对照组注入等量生理盐水)。保留 2 min 后生理盐水冲洗宫腔 3 次,对侧子宫同法处理。造模结束后分组干预:依据临床成人维凤精常用剂量,结合小鼠与人体体表面积换算关系,设置低、中、高三个剂量,分别为 5、10、20 mL/kg,均用生理盐水定容至 100 μ L 后灌胃给药;阳性对照组灌胃戊酸雌二醇悬浊液(0.4 mg/kg,100 μ L);空白对照组与模型对照组灌胃生理盐水(100 μ L)。各组每日给药 1 次,连续 8 周。

1.3.2 苏木精-伊红染色(HE 染色) 子宫组织固定后经脱水、透明处理,行石蜡包埋(竖直包埋)。包埋块切片前可见横断面宫腔形态。以 5 μ m 厚度进行切片,HE 染色后于显微镜下拍照。子宫内膜腺体计数原则:随机选取 5 个不重叠的子宫内膜横断面视野,计数每个视野内完整横切面的腺体数目(仅计数具有

明确腺腔结构的腺体,排除斜切或纵切面),取平均值作为该样本的腺体数量。组织学分析均采用盲法,由两名独立观察者分别进行测量,每张切片测量 3 次,取平均值进行统计分析。采用 Image J 软件测量子宫内膜厚度。

1.3.3 酶联免疫吸附试验(ELISA) 采集小鼠外周血并分装于 1.5 mL 离心管中,将样本置于室温环境下静置 2 h,使其充分凝固。随后离心分离血清,按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清 E2、LH 和 P 水平。

1.3.4 总 RNA 提取与 cDNA 合成 取小鼠子宫组织,利用总 RNA 提取试剂抽提总 RNA。采用分光光度计评估 RNA 样品的纯度及浓度。最后,将所得 RNA 作为模板进行反转录,获得 cDNA。

1.3.5 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) PCR 反应体系总体积 10 μ L,包含:2 $\times$ SYBR Green Pro Taq HS Premix 5 μ L,RNase-free H₂O 2.8 μ L,正、反向引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,cDNA 模板 0.2 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;随后进行 40 个循环的扩增反应,包括 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 30 s;4 $^{\circ}$ C 终止反应。采用小鼠 GAPDH 作为内参基因,采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算各基因的相对表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列(5'-3')

基因名称	正向引物	反向引物
GAPDH	TGTCTCTGCGACTTCAACA	GGTGGTCCAGGGTTTCTTACT
TNF- α	CCACCATCAAGGACTCAA	CAGGGAAGAATCTGGAAAGG
IL-6	AACCGGCCTCTTACTCTCTCA	CAGGTATGTCTTTCCCCGCTC
IL-10	TTCATCTGCGATCCTGACGAC	CACTGAGGGGTCAATGCACCTC

注:TNF- α 为肿瘤坏死因子 α ,IL 为白细胞介素。

1.3.6 蛋白质印迹法(Western blot) 取小鼠子宫组织,加入蛋白裂解液匀浆后,于 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,将提取到的上清液用 BCA 法进行蛋白定量分析。每孔上样总蛋白量为 30 μ g。样品经 10%SDS-PAGE 凝胶电泳分离,浓缩胶电压 70 V,分离胶电压 140 V。电泳后采用湿转法将蛋白转移至 NC 膜,转印电流 280 mA,时间 120 min。膜用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h 后,分别加入一抗:Anti-rabbit CK-19(1 : 1 000)、Anti-rabbit Vimentin(1 : 1 000)、Anti-rabbit LIF(1 : 1 000)、Anti-rabbit Nrf2(1 : 1 000)、Anti-rabbit HO-1(1 : 1 000)及 Anti-mouse GAPDH(1 : 5 000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。洗涤后加入相应 HRP 标记的二抗(山羊抗兔/抗小鼠 IgG,1 : 5 000)室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光底物显色,曝光时间 5~30 s,使用蛋白印迹成像系统采集图像并分析

条带灰度值。

1.3.7 氧化应激指标测定 称取适量子宫组织,按质量、体积比 1 : 9 加入生理盐水,匀浆后离心收集上清液。随后,严格按照各试剂盒说明书操作,分别取适量上清液与相应工作液反应,于特定波长(SOD 550 nm,GSH 405 nm,MDA 532 nm)下测定吸光度值。根据各试剂盒提供的计算公式,将测得的 SOD 活性、GSH 及 MDA 水平除以上清液蛋白浓度,完成蛋白浓度校正。

1.4 统计学处理 所有数据采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 检验对数据进行正态性检验,采用 Levene 检验评估方差齐性。符合正态分布及方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行组间比较,多重比较采用 Tukey 法。若数据不符合正态分布或方差齐性假设,

则采用 Kruskal-Wallis 非参数检验进行多组比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 雏凤精对 TE 小鼠子宫的影响 空白对照组小鼠子宫外观正常,呈饱满淡红色,子宫质量及系数均处于正常范围。模型对照组呈现典型 TE 病理改变:子宫萎缩、苍白,质量及系数较空白对照组显著降低($P<0.01$),提示模型构建成功。与模型对照组相比,雏凤精干预组呈剂量依赖性改善:雏凤精低剂量组小鼠子宫质量及系数较模型对照组均略有升高($P<0.05$),子宫色泽有所恢复,提示初步改善效果;雏凤精中剂量组小鼠子宫质量及系数进一步增加($P<0.01$);雏凤精高剂量组小鼠子宫形态及色泽红润程度接近空白对照组,子宫质量及系数显著升高($P<0.01$),干预效果最佳。阳性对照组小鼠子宫质量及系数显著高于模型对照组($P<0.01$),其改善效果与

雏凤精高剂量组相当。见图 1、表 2。

2.2 雏凤精对 TE 小鼠子宫内膜组织学的影响 空白对照组内膜结构完整,腺体丰富、排列规则。模型对照组呈现典型 TE 病理改变:内膜显著变薄,腺体稀少、萎缩、排列紊乱,间质水肿伴炎症浸润,厚度及腺体数较空白对照组显著降低($P<0.01$)。与模型对照组相比,雏凤精干预组呈剂量依赖性改善:低剂量组内膜厚度及腺体数均增加,排列更整齐;中剂量组小鼠子宫内膜厚度进一步增加,腺体结构更加清晰,间质水肿减轻,改善作用增强;高剂量组内膜厚度及腺体数量接近空白对照组,腺体规则有序,间质基本恢复正常,提示该剂量下子宫内膜组织学结构得到有效重建。阳性对照组表现出类似的修复效果,其子宫内膜厚度、腺体数量及组织结构恢复程度与雏凤精高剂量组相当。见图 2、表 3。

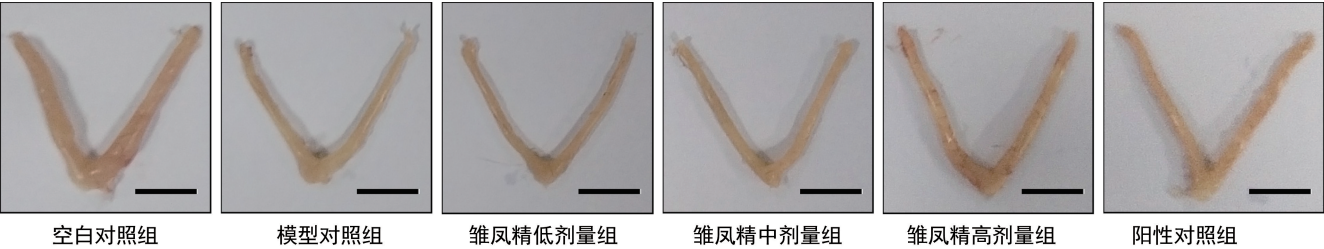


图 1 各组小鼠子宫形态图(比例尺=1 cm)

表 2 各组小鼠的子宫质量和子宫系数比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

项目	空白对照组	模型对照组	雏凤精低剂量组	雏凤精中剂量组	雏凤精高剂量组	阳性对照组
子宫质量(g)	0.06±0.01	0.02±0.01 ^a	0.04±0.01 ^b	0.05±0.01 ^b	0.06±0.01 ^b	0.06±0.00 ^b
子宫系数(%)	0.24±0.01	0.13±0.01 ^a	0.15±0.01 ^b	0.20±0.02 ^b	0.23±0.02 ^b	0.23±0.02 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.05$ 。

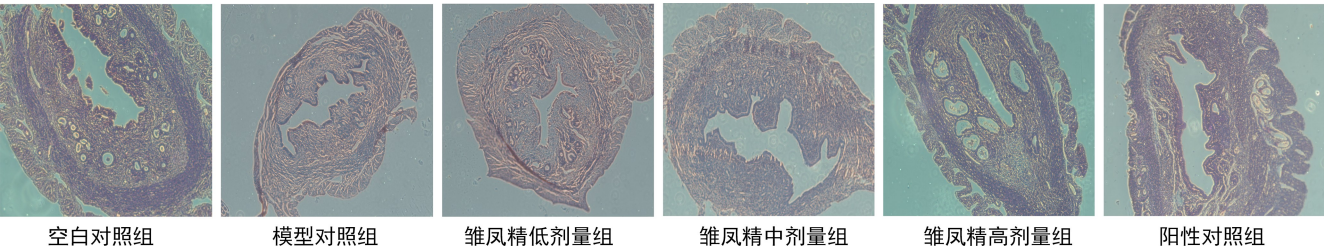


图 2 各组小鼠子宫组织 HE 染色结果(100×)

表 3 各组小鼠的子宫内膜厚度和腺体数量比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

项目	空白对照组	模型对照组	雏凤精低剂量组	雏凤精中剂量组	雏凤精高剂量组	阳性对照组
子宫内膜厚度(μm)	467.64±14.90	169.92±19.52 ^a	315.23±19.19 ^b	398.58±23.62 ^b	442.56±24.41 ^b	437.34±22.28 ^b
腺体数量(个)	41.38±5.18	7.50±2.39 ^a	23.13±4.39 ^b	31.13±4.67 ^b	38.00±3.46 ^b	35.38±3.96 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.01$ 。

2.3 雏凤精对 TE 小鼠血清 E2、LH、P 水平的影响 与空白对照组相比,模型对照组 E2 水平显著降低

($P<0.01$),LH 和 P 水平无明显变化($P>0.05$),提示模型小鼠存在以雌激素下降为主的内分泌紊乱。

经雏凤精干预后,各剂量组小鼠血清 E2 水平呈剂量依赖性回升($P<0.01$),其中高剂量组 E2 水平恢复至接近空白对照组水平。雏凤精各剂量组对血清 LH 及 P 水平均未产生显著影响($P>0.05$),提示其调节作用主要针对雌激素途径。阳性对照组同样显著升高血清 E2 水平($P<0.01$),其改善效果与雏凤精高剂量组相当。见表 4。

表 4 各组小鼠的血清 E2、LH、P 水平比较
($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	E2(pg/mL)	LH(ng/mL)	P(ng/mL)
空白对照组	20.92±1.30	16.18±1.65	10.66±1.99
模型对照组	14.31±2.50 ^a	18.18±2.90	9.69±1.72
雏凤精低剂量组	17.53±1.71 ^b	17.90±2.66	10.78±0.73
雏凤精中剂量组	18.73±0.97 ^b	18.24±1.37	10.85±0.60
雏凤精高剂量组	19.25±1.67 ^b	17.36±1.86	11.57±0.58
阳性对照组	19.58±1.09 ^b	18.36±1.85	11.17±1.42

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.01$ 。

2.4 雏凤精对 TE 小鼠子宫内膜容受性相关分子表达的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠子宫内膜组织中 CK-19、Vimentin 及 LIF 的蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$)。与模型对照组比较,雏凤精低、中、高剂量组小鼠子宫内膜组织中 CK-19、Vimentin 及 LIF 的蛋白表达水平均显著上调($P<0.01$),其中雏凤精高剂量组的改善作用最为显著。阳性对照组作用显著($P<0.01$),效果与雏凤精高剂量组相当。见图 3、表 5。

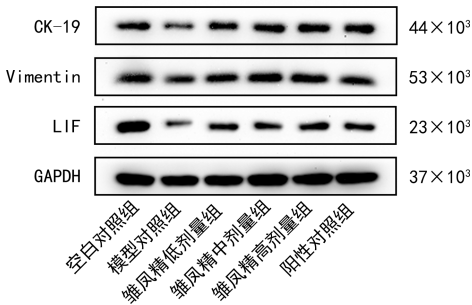


图 3 各组小鼠子宫内膜容受性相关分子的表达水平比较

2.5 雏凤精对 TE 小鼠子宫炎症因子表达的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠子宫组织 TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达水平升高,IL-10 的 mRNA 表达水平降低($P<0.01$)。上述结果提示,TE 模型小鼠子宫局部存在明显的促炎/抗炎失衡。经雏凤精干预后,各剂量组小鼠子宫组织中 TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达水平呈剂量依赖性下降,IL-10 呈剂量依赖性回升($P<0.01$),高剂量组效果最显著,各指标接近空白对照组。阳性对照组同样显著逆转 TNF- α 、

IL-6 及 IL-10 的 mRNA 表达水平($P<0.01$),其调节作用与雏凤精高剂量组相当。见表 6。

表 5 各组小鼠子宫内膜容受性相关分子的相对表达水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	CK-19	Vimentin	LIF
空白对照组	1.00±0.10	1.00±0.10	1.00±0.09
模型对照组	0.24±0.11 ^a	0.35±0.04 ^a	0.15±0.04 ^a
雏凤精低剂量组	0.50±0.07 ^b	0.65±0.09 ^b	0.34±0.04 ^b
雏凤精中剂量组	0.73±0.06 ^b	0.75±0.05 ^b	0.39±0.04 ^b
雏凤精高剂量组	0.90±0.06 ^b	0.93±0.04 ^b	0.46±0.04 ^b
阳性对照组	0.88±0.07 ^b	0.84±0.05 ^b	0.41±0.02 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.01$ 。

2.6 雏凤精对 TE 小鼠子宫组织氧化应激水平的影响 与空白对照组相比,模型对照组 SOD 活性及 GSH 水平降低,MDA 水平升高($P<0.01$),提示内源性抗氧化防御受损。雏凤精干预后,各剂量均能有效纠正上述异常:SOD 及 GSH 升高,MDA 降低($P<0.01$),呈剂量依赖性,高剂量组效果最显著,各指标接近空白对照组。阳性对照组亦表现出相似抗氧化作用,其 SOD 活性、GSH 及 MDA 水平与雏凤精高剂量组相当($P<0.01$)。见表 7。

表 6 各组小鼠子宫炎症因子相对表达水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-10
空白对照组	1.00±0.10	1.00±0.11	1.00±0.09
模型对照组	2.83±0.25 ^a	2.65±0.22 ^a	0.33±0.05 ^a
雏凤精低剂量组	2.01±0.19 ^b	1.99±0.18 ^b	0.51±0.06 ^b
雏凤精中剂量组	1.52±0.14 ^b	1.47±0.14 ^b	0.74±0.07 ^b
雏凤精高剂量组	1.12±0.11 ^b	1.10±0.11 ^b	0.92±0.08 ^b
阳性对照组	1.16±0.11 ^b	1.12±0.10 ^b	0.89±0.08 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.01$ 。

表 7 各组小鼠子宫组织氧化应激水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD (U/mg)	GSH (μ mol/g)	MDA (nmol/mg)
空白对照组	162.85±11.27	425.87±22.69	4.78±1.18
模型对照组	98.51±8.13 ^a	213.59±18.01 ^a	7.71±0.95 ^a
雏凤精低剂量组	122.41±9.86 ^b	350.88±19.55 ^b	5.94±0.86 ^b
雏凤精中剂量组	126.84±6.29 ^b	367.13±18.88 ^b	5.61±0.56 ^b
雏凤精高剂量组	135.96±9.67 ^b	410.32±26.10 ^b	5.14±0.83 ^b
阳性对照组	130.69±9.71 ^b	399.83±18.79 ^b	5.15±0.80 ^b

注:与空白对照组比较,^a $P<0.01$;与模型对照组比较,^b $P<0.01$ 。

2.7 雏凤精对 TE 小鼠 Nrf2/HO-1 信号通路的影响 与空白对照组比较,模型对照组小鼠子宫组织中 Nrf2 及 HO-1 的蛋白表达水平均显著降低($P<$

0.01)。与模型对照组比较, 雏凤精各剂量组小鼠子宫组织中 Nrf2 及 HO-1 的蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.01$)。其中, 雏凤精低剂量组已显示激活作用, Nrf2 及 HO-1 表达水平较模型对照组略有升高; 随着剂量增加, 雏凤精中、高剂量组的激活效应进一步增强, 呈剂量依赖性 ($P<0.01$)。阳性对照组同样显著激活该通路 ($P<0.01$), 其作用与雏凤精高剂量组相当。见图 4、表 8。

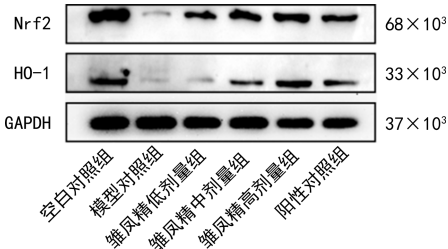


图 4 各组小鼠子宫组织 Nrf2 和 HO-1 的表达水平比较

表 8 各组小鼠子宫组织 Nrf2 和 HO-1 的相对表达水平比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	Nrf2	HO-1
空白对照组	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.06
模型对照组	0.11 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.04 ^a
雏凤精低剂量组	0.31 ± 0.05 ^b	0.29 ± 0.05 ^b
雏凤精中剂量组	0.47 ± 0.06 ^b	0.40 ± 0.06 ^b
雏凤精高剂量组	0.61 ± 0.07 ^b	0.65 ± 0.05 ^b
阳性对照组	0.46 ± 0.06 ^b	0.50 ± 0.05 ^b

注: 与空白对照组比较, ^a $P<0.01$; 与模型对照组比较, ^b $P<0.01$ 。

3 讨 论

TE 是导致辅助生殖技术中胚胎植入失败和临床妊娠率下降的重要病理因素之一, 其核心病理特征表现为子宫内膜厚度明显变薄, 同时伴有子宫内膜容受性显著降低, 从而阻碍胚胎的黏附、侵入及后续的胎盘形成过程。尽管临床上尝试使用雌激素、阿司匹林、粒细胞集落刺激因子及免疫调节剂等多种方法进行干预, 但这些治疗策略的疗效存在显著的个体差异; 同时, 其长期应用的安全性数据仍不充分, 潜在风险包括血栓形成、异常免疫激活及代谢紊乱等^[16-17]。本研究以 95%乙醇宫腔灌注法构建的 TE 小鼠模型为基础, 系统揭示了经典妇科复方制剂雏凤精对改善 TE 的显著效果及其调控 Nrf2/HO-1 信号通路的分子机制。

本研究结果显示, 95%乙醇灌注成功诱导了小鼠子宫内膜显著变薄、腺体结构紊乱及间质水肿等典型病理改变, 模拟了临床 TE 的结构特征。经雏凤精干预后, 尤其是中、高剂量组, 子宫内膜厚度得到明显恢复, 腺体数量增多、排列趋于整齐, 间质水肿减轻。此

外, 实验结果显示雏凤精能够显著纠正 TE 小鼠血清中 E2 水平的异常, 提示其药理作用可能涉及对下丘脑-垂体-卵巢轴功能的整体调控, 改善生殖内分泌微环境, 为子宫内膜的周期性生长与转化提供必要的激素支持。本研究进一步检测了子宫内膜容受性关键标志物 CK-19、Vimentin 及 LIF 的蛋白表达。TE 模型小鼠上述三种蛋白表达显著下调, 而雏凤精干预可剂量依赖性地上调其表达。CK-19 反映上皮细胞完整性与功能状态, Vimentin 参与间质细胞骨架重塑及蜕膜化过程, LIF 则是在着床窗口期由腺上皮分泌的重要细胞因子。上述分子的恢复表明, 雏凤精不仅修复了子宫内膜的组织结构, 更重要的是从分子水平改善了子宫内膜的容受性功能。同时, 研究结果发现雏凤精干预后, TNF-α 和 IL-6 的表达呈剂量依赖性下降, IL-10 的表达显著回升, 表明雏凤精能够有效改善 TE 小鼠子宫局部的炎症微环境。这一抗炎作用与雏凤精中多种活性成分(如人参皂苷、淫羊藿苷等)已知的抗炎药理活性相一致^[18-19]。

随着对 TE 发病机制的不断探索, 氧化还原稳态失衡在其发生发展过程中的核心作用日益明确。过度的 ROS 积累与内源性抗氧化防御能力下降, 可导致子宫内膜细胞发生脂质过氧化及 DNA 损伤, 进而干扰细胞增殖、分化、血管生成及容受性建立等多个关键生理过程, 从而共同推动 TE 的发生发展^[20]。本研究证实, TE 模型小鼠子宫组织中抗氧化酶活性下降, 脂质过氧化产物 MDA 水平升高。这种过氧化环境可直接损伤子宫内壁上皮细胞与基质细胞, 诱导线粒体功能障碍、细胞衰老与凋亡, 最终导致内膜修复障碍与容受性下降。而雏凤精干预可显著逆转氧化应激指标的异常, 这表明抗氧化是雏凤精发挥内膜保护作用的核心药理学效应。本研究进一步明确了雏凤精改善 TE 的效应与 Nrf2/HO-1 信号通路密切相关。

从中医学角度看, 肾藏精, 主生殖; 肾阳不足则胞宫失于温煦, 气血生化乏源, 子宫内膜失养, 进而发展为薄型子宫内膜; 气血亏虚则无以濡润胞宫, 进一步加重内膜发育不良。雏凤精基于温补肾阳、补气养血的功效, 改善肾虚血瘀、气血不足的核心病机。现代研究表明, 肾虚血瘀状态常伴有氧化应激水平升高及内源性抗氧化能力下降, 而 Nrf2/HO-1 信号通路是机体关键的抗氧化防御通路之一。在此基础上, 雏凤精通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 增强子宫内膜的抗氧化能力, 并改善局部炎症微环境。上述结果为中医理论与现代分子机制研究之间提供了一定的实验依据。本研究也存在一定局限: 首先, 未采用该通路的特异性抑制剂(如 ML385)进行验证, 目前证据尚不

足以证明雏凤精的作用完全依赖于 Nrf2/HO-1 通路的激活;其次,结论主要来源于动物模型实验,其疗效与机制尚未在人体中得到直接验证。因此,未来需进一步开展规范的临床试验,以系统评价雏凤精在 TE 患者中的实际疗效、安全性及适宜剂量,推动其向临床应用转化。

综上所述,本研究在 TE 小鼠模型中初步证实,雏凤精能有效修复子宫内膜的结构与功能,其作用机制与调控 Nrf2/HO-1 信号通路密切相关。

参考文献

[1] Genovese H, Mayo C A, Kalafat E, et al. Does endometrial thickness impact live birth rate following a frozen embryo transfer; outcomes of 30 676 euploid single embryo transfers[J]. Hum Reprod, 2025, 40(10):1919-1927.

[2] Celik O, Ersahin A, Gungor N D, et al. Thin endometrium restricts peri-ovulatory physiological transition between anti-adhesive and adhesive receptivity modulators[J]. Reprod BioMedicine Online, 2025, 51(2):104697.

[3] Hickey M, Krikun G, Kodaman P, et al. Long-term progestin-only contraceptives result in reduced endometrial blood flow and oxidative stress[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(9):3633-3638.

[4] Yan Z Y, Zhou W J, Ye J F, et al. Cellular senescence in endometrium: a pivotal regulator in physiological remodeling and pathological disorders[J]. Int J Biol Sci, 2025, 21(15):6745-6758.

[5] Nan W, Zhou W M, Zi J L, et al. Ferroptosis and bone metabolic diseases: the dual regulatory role of the Nrf2/HO-1 signaling axis[J]. Front Cell Dev Biol, 2025, 13:1615197.

[6] 余坤, 李秀山, 莫荣波, 等. IRAK4 通过调控 Nrf2/HO-1 信号通路对创伤性脑损伤后神经元铁死亡的作用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2026, 47(1):65-71.

[7] Stojanovic B, Milivojcevic Bevc I, Dimitrijevic Stojanovic M, et al. Nrf2 as a molecular guardian of redox balance and barrier integrity in IBD[J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14(12):1407.

[8] 李林芳, 李玲艳, 武元会. 血清 NRF2、HO-1 水平与狼疮性肾炎患者疾病活动度及预后的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2025, 46(19):2371-2377.

[9] Pham J, Refesse M, Saeed A, et al. Haem oxygenase-1,

ferroptosis and disorders-a narrative review[J]. Nutrients, 2025, 17(24):3921.

[10] O'Rourke S A, Shanley L C, Dunne A. The Nrf2-HO-1 system and inflammaging[J]. Front Immunol, 2024, 15:1457010.

[11] Zhang W, Yuan Y, Huang G. Network pharmacology and molecular docking approach to reveal the immunotherapeutic mechanism of cuscuteae semen in treating thin endometrium[J]. J Immunol Res, 2022, 2022:4333128.

[12] Lin X, Chen H, Zhou X, et al. Effects of Gegen-heisu decoction on endometrial receptivity in patients with thin endometrium-related infertility: a prospective randomized controlled trial [J]. J Integr Complement Med, 2025:27683605251396846.

[13] 曲钧庆, 郑瑶琴, 李子荣, 等. 雏凤精的药理效应研究[J]. 泰山医学院学报, 1990(2):62-68.

[14] 刘子夜, 罗毅, 张艳欣, 等. 雏凤精口服液 HPLC 指纹图谱及多指标成分含量测定方法的建立[J]. 中南药学, 2025, 23(8):2402-2407.

[15] Chen M, Tang J, Liang B, et al. Establishing a mouse model of thin endometrium [J]. JoVE, 2024 (213):273804152.

[16] Wang Y, Tang Z, Teng X. New advances in the treatment of thin endometrium [J]. Front Endocrinol, 2024, 15:1269382.

[17] Xie J, Xu Q, Fu T, et al. GM-CSF improves the receptivity of thin endometrium by promoting glandular and stromal cell proliferation in mice and humans[J]. Cell Death Discov, 2025, 12(1):65.

[18] Li P, Zhao L C, Sun Y S, et al. Systematic review and pharmacological insights of ginsenoside Rf; current status and future perspectives [J]. Phytomedicine, 2025, 148:157403.

[19] Liu S P, Li Y F, Zhang D, et al. Pharmacological actions of the bioactive compounds of Epimedium on the male reproductive system: current status and future perspective [J]. Asian J Androl, 2025, 27(1):20-29.

[20] Xu L, Fan Y, Wang J, et al. Dysfunctional intercellular communication and metabolic signaling pathways in thin endometrium[J]. Front Physiol, 2022, 13:1050690.

(收稿日期:2026-04-29 修回日期:2026-05-17)