

阿胶治疗地中海贫血孕妇疗效及对热休克蛋白70表达的影响

李艳芳¹, 王淑平¹, 周静文¹, 张战锋¹, 李道成¹, 罗颂平²

(¹广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; ²广州中医药大学, 广州 510405)

摘要: 目的: 观察口服中药阿胶治疗地中海贫血患者妊娠期贫血的疗效以及对热休克蛋白70 (HSP70) 表达的影响。方法: 采用转录组测序方法, 检测阿胶治疗前后地中海贫血孕妇基因表达的变化, 分析潜在作用靶标。再通过实施一项随机对照研究, 验证转录组测序结果。结果: 转录组测序分析显示, “蛋白质二聚活性” “热休克蛋白70结合” 以及 “相同的蛋白结合” 等是富集的差异表达基因的最显著分子功能。口服阿胶治疗4周后, 治疗组孕妇外周血血红蛋白 (Hb) 浓度、HSP70 mRNA和蛋白水平均显著高于对照组 ($r < 0.05$, $r < 0.01$); 且治疗前后Hb浓度差值与HSP70 mRNA和蛋白表达量差值存在显著正相关关系 ($r < 0.01$)。结论: 口服阿胶治疗能有效改善部分地中海贫血孕妇贫血, 同时上调HSP70表达, 推测阿胶的消化产物, 如多肽和氨基酸等, 可能作为底物与HSP70等分子伴侣结合, 通过蛋白-蛋白相互作用发挥抗贫血作用。

关键词: 地中海贫血; 贫血; 妊娠; 阿胶; 热休克蛋白70; 分子伴侣; 疗效; 转录组测序

基金资助: 国家自然科学基金项目 (No. 81704111), 广东省科技计划项目 (No. 2017ZC0150)

Efficacy of Asini Corii Colla therapy on pregnant women with thalassemia and its effects on the expression of HSP70

LI Yan-fang¹, WANG Shu-ping¹, ZHOU Jing-wen¹, ZHANG Zhan-feng¹,
LI Dao-cheng¹, LUO Song-ping²

(¹First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

²Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Objective: To observe the effects of Asini Corii Colla on anemia and heat shock protein 70 (HSP70) level in pregnant women with thalassemia. Methods: Transcriptome sequencing was used to detect the changes of gene expression in pregnant women with thalassemia before and after Asini Corii Colla treatment, and to analyze the potential targets. A randomized controlled study was conducted to confirm the results of transcriptome sequencing. Results: The top molecular functions of differentially expressed genes were mainly involved in the ‘Protein Heterodimerization Activity’, ‘HSP70 Protein Binding’ and ‘Homologous Protein Binding’. After treatment, the Hb concentration, and the level of HSP70 mRNA and HSP70 protein of pregnant women in the treatment group were significantly higher than those in the control group ($r < 0.05$, $r < 0.01$). Moreover, there was a significant positive correlation between the change of Hb concentration and the change of HSP70 mRNA and protein level before and after treatment ($r < 0.01$). Conclusion: Asini Corii Colla therapy can effectively improve anemia in pregnant women with thalassemia. It is speculated that the main digestive produce of Asini Corii Colla, such as polypeptides and amino acids, might occur protein-protein interaction by binding with HSP70 and other molecules, and play an anti-anemia role.

通信作者: 罗颂平, 广东省广州市白云区机场路12号广州中医药大学, 邮编: 510405, 电话: 020-36598857

E-mail: gynspluo@hotmail.com

Key words: Thalassemia; Anemia; Pregnancy; Asini Corii Colla; Heat shock protein 70 (HSP70); Molecular chaperone; Efficacy; Transcriptome sequencing

Funding: National Natural Science Foundation of China (No.81704111), Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (No.2017ZC0150)

地中海贫血(以下简称地贫)是目前世界范围内发病率高、危害最大的单基因遗传病。2013年流行病学调查显示,广东省孕妇地贫基因突变的检出率为17.83%^[1]。地贫患者妊娠后,尤其是在孕24~32周,容易出现进行性加重的贫血。研究^[2]显示,大约60%~80%的中间型 β -地贫患者在孕期需输血治疗,其中,约30%的患者既往无输血史。

目前,国内外对地贫合并妊娠期贫血的治疗尚未达成共识,缺乏安全有效的治疗方法,导致许多地贫孕妇长期处于贫血状态,威胁母胎的健康和安全^[2-4]。本课题组前期临床研究结果显示,约50%的轻型或中间型地贫合并轻度贫血孕妇口服单味中药阿胶治疗可有效提高血红蛋白(hemoglobin, Hb)浓度和红细胞(red blood cell, RBC)计数^[5-6]。对作用机制的研究发现,阿胶的抗贫血作用可能与热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)等分子伴侣富集有关,现将研究结果报道如下。

资料与方法

1. 整体设计 运用转录组测序的方法,研究地贫合并妊娠期贫血患者服用阿胶治疗前后,外周血细胞转录组水平的变化,分析阿胶抗贫血作用的潜在作用靶标,研究方案参考本课题组前期研究^[6]。基于转录组学测序的结果,进一步开展一项随机、双盲、安慰剂平行对照的前瞻性临床试验,扩大临床试验样本量,应用实时聚合酶链反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹(Western blotting)方法验证转录组分析获得的靶标。

2. 研究对象 收集2018年6月至2020年12月在广州中医药大学第一附属医院(以下简称本院)产科门诊产检的轻型或中间型地贫孕妇。本研究通过本院医学研究伦理委员会的审查和批准(批件编号:ZYECK[2017]074),并在Clinical Trials临床试验资料库上注册(注册号:NCT03392298),所有受试者在入组前均知情同意。

3. 诊断标准 基于孕妇的地贫基因检测结果,参照中华医学会血液学会编写的《血液病诊断及疗效标准》^[7]中对地贫的诊断标准,做出诊断并确定地贫基因类型。

4. 纳入标准 ①确诊为轻型或中间型 α -或 β -地贫患者;②纳入研究前孕妇为轻度贫血,且 $70\text{ g/L} \leq \text{Hb} < 100\text{ g/L}$;③经彩超检查结果核实孕龄为24~32周,单胎妊娠;④近12周内未曾输血,未服用任何抗贫血的药物。

5. 排除标准 ①重型 β -地贫或复合类型地贫者;②纳

入研究前 $\text{Hb} < 70\text{ g/L}$ 或 $\text{Hb} \geq 100\text{ g/L}$;③纳入研究前合并铁缺乏(血清铁蛋白 $< 30\text{ ng/mL}$);④孕龄不足24周,或大于32周;⑤双胎或多胎妊娠;⑥有免疫缺陷性疾病,或有心、肝、肾、消化道、内分泌系统疾病及血液系统其他原发性疾病者;⑦过敏体质或曾对两种以上药物过敏者;⑧近12周内曾输血,或服用过抗贫血的药物;⑨近12周内曾参加其他临床试验者;⑩有心理精神疾病者或者既往对药物治疗依从性差者;⑪嗜烟酒,或吸毒者。

6. 剔除标准 ①受试者不符合纳入标准而被误纳入试验;②受试者虽符合纳入标准而纳入后未曾用药者;③受试者于试验期间违背方案自行换药或加用非规定范围内治疗用药者。

7. 样本量计算 参考徐瑞荣等^[8]报道,普通贫血人群在病因治疗基础上口服复方阿胶浆治疗3个月,Hb水平上升66.9%。有研究^[9]报道,RhEpo联合铁剂治疗地贫4周,Hb上升15%。设定地贫孕妇口服阿胶治疗4周Hb水平上升30%,显著水准(α 值)为0.05,检验效能($1-\beta$)为0.80,用PS power软件计算出每组所需的样本量为34例,按照2个研究组计算,总样本量为68例。

8. 治疗方法 使用SPSS 21.0统计软件产生随机数字表,将受试者按比例随机分配:治疗组42例,对照组26例。研究医师严格按随机原则入组受试者,治疗组孕妇予口服阿胶粉(山东阿阿胶股份有限公司,批号:20180101,规格:15 g/袋),每日15 g,温开水冲服;对照组口服阿胶模拟剂,每日15 g,温开水冲服。两组受试者均每日服药,连续治疗4周。

阿胶模拟剂由山东阿阿胶股份有限公司制作提供,与阿胶颜色、气味、外观完全一致而不含活性成分的散剂,主要成分为糊精、淀粉和焦糖。研究药物均有相应的药物编号,并附有标签,试验药和对照药外包装保持一致。研究药物放置医院临床研究药房储存,由药物管理员专人保管,根据研究医生开出的处方,按药物编号顺序逐例发放给受试者,并填写药物发放和回收登记表。对受试者、研究医生、药物管理员以及研究结果评估者设盲。

9. 观察指标 治疗前及治疗4周后分别抽取两组孕妇晨起空腹肘静脉血15 mL,检测以下指标。

9.1 临床疗效指标 用全自动血细胞分析仪检测血液分析Hb、RBC、网织红细胞百分比(percentage of reticulocyte, RET)水平,用全自动免疫分析仪检测血清铁蛋白(serum ferritin, SF)水平。

9.2 转录组测序 参照文献[6], 从外周血标本中提取单核细胞保存在1 mL Trizol中, -80 °C冰箱保存, 集中送至深圳华大基因股份有限公司进一步提取细胞的总RNA, 使用高通量测序平台Illumina HiSeq™, 采用聚类分析对两组孕妇治疗前后血样品中mRNA的表达强度进行分类, 根据两组样本中mRNA标准化后的表达丰度, 筛选两组样本中差异表达显著的mRNA。基于目标基因集进行基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析, 结合前期研究结果推测差异表达基因在改善地贫孕妇贫血中的作用, 筛选出可能调控的靶基因。测序数据保存在NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra>) 中进行序列片段归档, 加入号为SRP175968。

9.3 采用Real-time PCR方法检测HSP70 mRNA表达水平 在收集新鲜外周全血后6 h内加入6倍体积的Trizol试剂, 按Trizol试剂说明书操作, 混匀分装放置-80 °C冰箱中保存。按试剂盒说明书进行Real-time PCR扩增检测, 采用相对定量方法进行mRNA表达量分析。

9.4 采用Western blotting方法检测HSP70蛋白表达 按Trizol试剂说明书操作, 分离新鲜外周血中的有核细胞, 按BCA法对总蛋白进行定量。制备SDS-PAGE胶, 并进行电泳, 电泳后进行膜转印、封闭、孵育和洗膜, 最后按化学发光试剂盒的操作说明进行显色。

10. 统计学方法 采用SPSS 21.0统计软件进行数据的统计处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行方差齐性分析, 若服从正态分布, 组间比较采用独立样本t检验, 相关性分析采用Pearson相关性分析; 若不服从正态分布, 组间比较则采用Mann-Whitney U检验, 相关性分析采用Spearman相关性分析。计数资料用率或构成比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 转录组测序的GO富集分析结果 本部分研究共纳入20例符合条件的孕妇, 按3:1随机分配到治疗组15例, 对照组5例。治疗组中有1例基因型为 β CD17 (A-T) / β N的地贫孕妇在治疗期间因流行性感冒而停止治疗11 d, 其测序结果被排除在转录组分析之外。入组时各受试者人口统计学特征及临床指标Hb浓度上升情况方面差异均无统计学意义。

为探讨阿胶对地贫贫血孕妇的抗贫血作用的潜在机制, 本研究对差异表达基因进行GO富集分析。数据是根据目前公开的关于基因、Hb与地贫相关的文献和实验证据进行筛选的。GO分析主要涵盖生物过程、细胞组分和分子功能3个领域 (<http://www.geneontology.org>)。如表1所示, 基因GO富集分析结果显示, 差异表达基因的前5个最显著的分子功能包括“蛋白

表1 治疗组受试者的GO富集分析 (相关系数 ≥ 0.95)

领域	GO术语	聚类频率 (%)	校正P值
分子功能	蛋白质二聚活性	4/481 (0.83)	0.01
	热休克蛋白70蛋白结合	2/35 (5.71)	0.01
	激活转录因子结合	2/64 (3.13)	0.03
	相同的蛋白结合	5/1 384 (0.36)	0.03
	RNA聚合酶II远端增强子序列特异性DNA结合	2/66 (3.03)	0.03
细胞组分	细胞液	8 138/8 694 (93.60)	$<1 \times 10^{-20}$
	膜的组成部分	12 211/13 019 (93.79)	$<1 \times 10^{-20}$
	细胞膜	10 864/11 447 (94.91)	$<1 \times 10^{-20}$
	细胞质	24 371/26 123 (93.29)	$<1 \times 10^{-20}$
	细胞外外来体	6 240/6 690 (93.27)	$<1 \times 10^{-20}$
生物过程	RNA聚合酶II启动子转录的负调控	1 876/1 950 (96.21)	1.53×10^{-19}
	GTP酶活性的正调控	1 219/1 262 (96.59)	9.07×10^{-14}
	RNA聚合酶II启动子转录的正调控	2 564/2 700 (94.96)	2.78×10^{-12}
	转录调控, DNA模板	8 319/8 765 (94.91)	1.05×10^{-10}
	翻译后蛋白质修饰	914/950 (96.21)	3.19×10^{-10}



图1 GO富集分析5个富集最显著分子功能的拓扑学结构图
注: 方框表示5个最重要的分子功能, 方框颜色表示重要性, 从深红色 (最显著) 到浅黄色 (最不显著) 的颜色刻度表示变化的程度, 图例中的数字表示与相应颜色相关的原始P值大小。

质异二聚活性”“热休克蛋白70蛋白结合”“激活转录因子结合”“RNA聚合酶II远端增强子序列特异性DNA结合”以及“相同的蛋白结合”。

图1是展现GO富集分析中5个最显著分子功能的拓扑学结构图。结合表1和图1的信息可知,治疗组受试者的差异表达基因可能通过激活蛋白结合,且主要是通过促进HSP70结合,参与GTP酶活性激活、RNA聚合酶II启动子转录调控、翻译后蛋白质修饰等生物过程。

2. 扩大临床样本验证试验结果

2.1 入组时受试者的人口统计学特征 研究共纳入符合条件的地贫孕妇68例。受试者因各种原因自行退出10例,最终共58例完成试验并参与数据分析,其中,治疗组34例,对照组24例(图2)。两组孕妇入组时在年龄、孕前BMI、孕产次数、人工流产和自然流产次数、教育水平、地贫基因类型构成、孕周、Hb浓度、RBC计数方面比较,差异无统计学意义。所有受试者均为汉族已婚女性,无死胎或死产史。

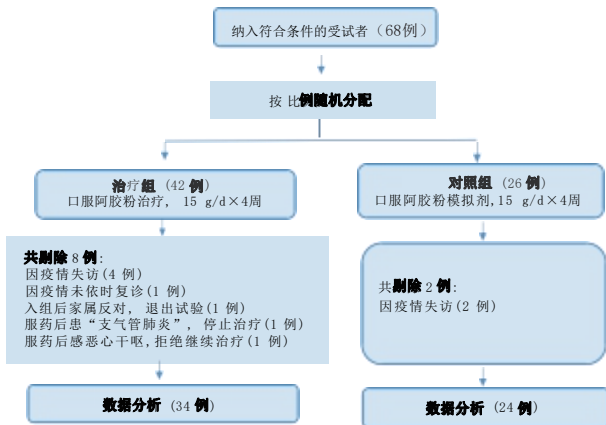


图2 临床研究流程图

2.2 临床疗效分析 见表2。治疗组治疗后Hb浓度平均上升(5.15±4.62)g/L, RBC计数平均上升(0.09±0.22)×10¹²/L,与对照组比较,差异有统计学意义(P<0.05)。两组孕妇治疗前后网织红细胞百分比(percentage of reticulocyte, RET)及SF水平比较,差异无统计学意义。

表2 两组患者治疗前后临床疗效指标差值比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (24例)	治疗组 (34例)	t值	P值
RBC(×10 ¹² /L)	-0.08±0.26	0.09±0.22	2.17	0.03
Hb(g/L)	0.67±3.76	5.15±4.62	2.57	0.01
SF(μg/L)	-13.99±19.97	-10.98±16.25	0.63	0.53
RET(%)	3.57±22.80	8.36±16.71	0.89	0.38

2.3 Real-time PCR和Western blotting分析结果 见图3,表3。与对照组比较,治疗组地贫孕妇口服阿胶治疗4周后,外周

血中HSP70 mRNA水平显著升高(P<0.05),外周血中HSP70蛋白表达量亦显著升高(P<0.01)。

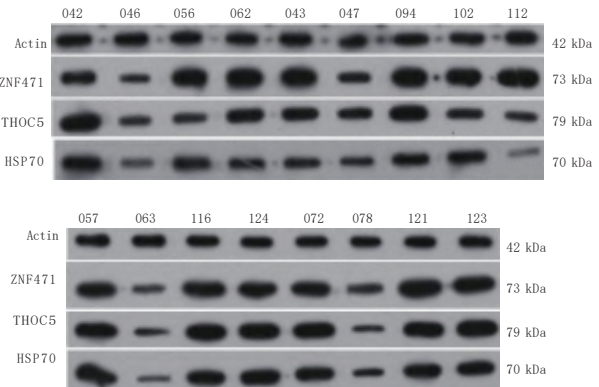


图3 部分患者样本Western blotting蛋白表达条带

注:第一行数字为样本编号。Actin为内参,ZNF471和THOC5为通过转录组测序发现的2个差异表达基因^[6]。

表3 两组患者治疗前后外周血中HSP70 mRNA和蛋白水平差值比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 (24例)	治疗组 (34例)	t值	P值
HSP70 mRNA水平	-6.07±21.87	3.11±5.46	2.41	0.02
HSP70蛋白水平	-0.28±0.34	0.49±0.34	8.47	0.00

2.4 相关性分析 见图4。两组地贫孕妇治疗前后外周血中Hb浓度的差值与HSP70表达量的差值间存在显著正相关关系。其中,Hb浓度差值与HSP70 mRNA表达量的Spearman相关系数为0.80(P<0.01);Hb浓度差值与HSP70蛋白表达量的Spearman相关系数为0.76(P<0.01)。提示两组孕妇的HSP70表达量随Hb浓度的升高而升高,且存在较强的相关性。

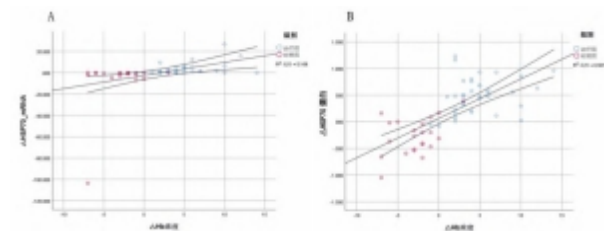


图4 两组患者治疗前后外周血中Hb浓度差值与HSP70表达量差值相关性分析的散点图

注:A. Hb浓度差值与HSP70 mRNA表达量差值的相关性; B. Hb浓度差值与HSP70蛋白表达量差值的相关性。3条曲线为拟合曲线(中间)及平均值的95%置信区间(两侧)。

讨论

本研究通过转录组测序发现,HSP70富集可能是阿胶改善地贫孕妇贫血一种关键的调控因素。通过实施一项高质量的临床研究,运用安慰剂对照、双盲、随机对照等研究方法,尽可能控制偏倚,采用Real-time PCR、WB实验方法分析地贫孕妇治疗前后外周血中HSP70 mRNA和蛋白水平的变化,结果发现:地贫

孕妇口服单味中药阿胶治疗4周,能有效改善贫血;而且,治疗后伴随着Hb浓度的升高,外周血中HSP70 mRNA蛋白表达量升高,两者间存在较强的相关性,进一步论证并支持转录组测序的结果。

HSP70是生物细胞中含量最高的一种热休克蛋白,可诱导性最强,具有多种生物学功能,因此,又被称为主要热休克蛋白,可作为各种疾病的生理和病理状况以及药物靶标的生物标志物^[10]。现有证据表明,HSP70参与细胞蛋白稳态,在红细胞生成中起关键作用^[11]。而且,越来越多的证据支持HSP70与地贫的相关性。研究显示,地贫患者外周血中HSP70水平与RET和促红细胞生成素水平呈正相关,而与Hb浓度和输血需求呈负相关。在 β -地贫患者的外周血成熟红细胞中,游离的 α -珠蛋白链与HSP70相互作用,导致红细胞终末期成熟阻滞和凋亡,这进一步加剧了无效的红细胞生成^[12-13]。

一般来说,HSP70等分子伴侣蛋白都不是单独起作用的,研究^[13]发现,与多肽底物的结合导致HSP70的构象和动力学均发生显著变化,从而发挥各种生物学功能。HSP70蛋白等分子伴侣蛋白相互作用的调节剂通常来源于天然产物,如蛋白质、多肽或次级代谢物^[14]。研究表明,蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPIs)可能参与了大量生理和病理过程的调控,其中HSP70蛋白作为一种经典的分子伴侣,介导了PPIs网络,有望作为一类新的治疗靶点^[15-16]。

中医将地贫归于“血虚”“血证”“虚黄”“童子劳”等范畴,认为地贫的病因与先天禀赋不足,后天失养相关,主要累及肾、脾、心、肝等脏腑,病变涉及气、血、阴、阳等范畴^[17]。从气血阴阳辨证,患者首发证候多为气血两虚证,到疾病晚期,可转化为阴阳两虚。妊娠后母体脏腑经络的阴血下注冲任,以养胎元,出现阴血聚于下,阳气浮于上,甚至阳气偏亢的状态,亦即妊娠期间整个机体出现“血分不足,气偏有余”的生理特点^[18]。对于血虚证患者,妊娠后可进一步加重血虚。

阿胶是从驴皮中提取的一种以蛋白质为基础的中药,被临床广泛用于治疗贫血,已有2 000多年的历史,具有补血、滋阴、止血的功效。常用于治疗缺铁性贫血、再生障碍性贫血等多种血液系统疾病,还常用于先兆流产的安胎止血治疗^[19-20],安全有效。大量药理学研究^[21-22]证明,阿胶既有促进红细胞生成、升高Hb水平的功效,又有抑制血小板黏附、降低血液黏稠度的作用,这与妊娠期“血分不足”“血液高凝”的生理特点不谋而合,理论上十分适合用于地贫孕妇的抗贫血治疗。

现代药理学研究发现,阿胶的补血作用具有多环节和多靶点的作用特点,从阿胶中分离出多种化合物,包括胶原蛋白、糖胺多糖、纤维黏连蛋白、挥发性物质和无机物质等,其中,胶原蛋白是主要的活性成分,在体内被消化分解为多肽和氨基酸^[21,23]。动物实验结果显示,阿胶中的胶原蛋白和氨基酸可

以激活贫血小鼠骨髓中的红细胞祖细胞,进而增加外周血中RET,最终提高RBC和Hb水平^[22,24]。

结合前期研究^[6]结果笔者推测,阿胶在体内消化水解产生的多肽和氨基酸可能作为底物,与HSP70结合,导致HSP70富集,调控PPIs,维持细胞膜蛋白骨架的稳态,延长红细胞寿命,可能是阿胶改善地贫孕妇贫血的其中一种关键的作用机制。这一发现或许能为未来地贫孕妇的抗贫血治疗提供新思路和新视角,但对于HSP70在PPIs调节网络中与相关蛋白质相互作用的具体机制,以及如何最佳利用HSP70这一分子伴侣等一些重要的科学问题有待日后深入研究。

参 考 文 献

- [1] Yin A, Li B, Luo M, et al. The prevalence and molecular spectrum of alpha- and beta-globin gene mutations in 14332 families of Guangdong Province, China. *PLoS One*, 2014, 9(2):1-7
- [2] Amooee S, Samsami A, Jahanbakhsh J, et al. The pregnancy outcome in patients with minor beta-thalassemia. *Iran J Reprod Med*, 2011, 9(1):9-14
- [3] Leung TY, Lao TT. Thalassemia in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2012, 26(1):37-51
- [4] Voskaridou E, Balassopoulou A, Boutou E, et al. Pregnancy in beta-thalassemia intermedia: 20-year experience of a Greek thalassemia center. *Eur J Haematol*, 2014, 93(6):492-499
- [5] Li Y, He H, Yang L, et al. Therapeutic effect of Colla corii asini on improving anemia and hemoglobin compositions in pregnant women with thalassemia. *Int J Hematol*, 2016, 104(5):559-565
- [6] Li Y, Zhang Z, Yang L, et al. Colla corii asini might upregulate ZNF471 and THOC5 by KRAB domain-containing zinc-finger protein pathway and THO complex subunit 5 pathway to improve anemia of pregnant women with beta-thalassemia. *Ann Hematol*, 2019, 98(8):1813-1826
- [7] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准. 3版. 北京: 科学出版社, 2007:29-34
- [8] 徐瑞荣, 沈丽萍. 复方阿胶浆治疗贫血的临床疗效观察. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(3):289-291
- [9] Gabriela B, Alexander K, Tilo B. Variable efficacy of recombinant human erythropoietin in anemic pregnant women with different forms of heterozygous hemoglobinopathy. *Acta Haematol*, 2006, 116:259-265
- [10] 樊欣, 彭仁. 热休克蛋白70:生物学功能与作用机制研究进展. *生命科学*, 2019, 31(3):270-278
- [11] Qu B, Jia Y, Liu Y, et al. The detection and role of heat shock protein 70 in various nondisease conditions and disease conditions: A literature review. *Cell Stress Chaperones*, 2015, 20(6):885-892
- [12] Levin C, Koren A, Rebibo-Sabbah A, et al. Extracellular vesicle

- characteristics in beta-thalassemia as potential biomarkers for spleen functional status and ineffective erythropoiesis. *Front Physiol*, 2018, 9:12-14
- [13] Guillem F, Dussiot M, Colin E, et al. XPO1 regulates erythroid differentiation and is a new target for the treatment of beta-thalassemia. *Haematologica*, 2020, 105(9):2240-2249
- [14] Mayer MP. HSP70 chaperone dynamics and molecular mechanism. *Trends Biochem Sci*, 2013, 38(10):507-514
- [15] Hartman A M, Hirsch A. Molecular insight into specific 14-3-3 modulators: Inhibitors and stabilisers of protein-protein interactions of 14-3-3. *Eur J Med Chem*, 2017, 136:573-584
- [16] Fernandez-Fernandez M R, Valpuesta J M. HSP70 chaperone: A master player in protein homeostasis. *F1000Res*, 2018, 7:F1000 Faculty Rev-1497
- [17] 王文娟, 吴志奎. 地中海贫血的中医药研究进展. *中国中医药信息杂志*, 2007, 14(9):90-91
- [18] 张玉珍. *中医妇科学*. 2版. 北京:中国中医药出版社, 2017:194-194
- [19] 刘谷全. 中药阿胶的临床应用及药理作用. *临床合理用药杂志*, 2014, 7(35):74-75
- [20] 常晓慧, 向阳. 阿胶及其制剂在血液系统疾病中的应用. *河南中医*, 2011, 31(5):538-540
- [21] Wang D, Ru W, Xu Y, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Colla corii asini*. *Drug Discov Ther*, 2014, 8(5):201-207
- [22] Wu H, Ren C, Yang F, et al. Extraction and identification of collagen-derived peptides with hematopoietic activity from *Colla corii asini*. *J Ethnopharmacol*, 2016, 182:129-136
- [23] Li X, Shi F, Gong L, et al. Species-specific identification of collagen components in *Colla corii asini* using a nano-liquid chromatography tandem mass spectrometry proteomics approach. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12:4443-4454
- [24] Wu H, Yang F, Cui S, et al. Hematopoietic effect of fractions from the enzyme-digested *Colla corii asini* mice with 5-fluorouracil induced anemia. *Am J Chin Med*, 2007, 35(5):853-866

(收稿日期: 2021年11月23日)

· 临床报道 ·

育肾活血方联合促性腺激素释放激素类似物 治疗肾虚型子宫内膜异位症不孕症 腹腔镜术后临床疗效观察

黄家宓¹, 胡国华², 张亚楠², 王佳云², 谷灿灿², 孔珏莹², 万怡婷², 陈静²(¹上海中医药大学, 上海 201203; ²上海中医药大学附属市中医医院, 上海 200071)

摘要: 目的: 观察育肾活血方联合促性腺激素释放激素类似物(GnRH-a)对肾虚型子宫内膜异位症(EMs)不孕症腹腔镜术后患者的临床疗效。方法: 收集2019年12月至2020年12月于上海中医药大学附属市中医医院就诊的肾虚型EMs不孕症腹腔镜术后患者64例, 按照随机数表法分为两组: 试验组(32例)予中药育肾活血方联合GnRH-a, 对照组(32例)予GnRH-a, 均治疗3个月。比较两组患者妊娠率、临床疗效、肾虚型中医证候评分、抗缪勒管激素(AMH)含量。结果: 在1年随访中, 对照组总妊娠率为53.13%(17/32), 试验组总妊娠率为78.13%(25/32), 试验组显著高于对照组($r < 0.05$)。两组患者临床症状、体征及实验室检查均改善, 对照组总有效率为71.88%(23/32), 试验组总有效率为96.88%(31/32), 试验组显著高于对照组($r < 0.01$)。试验组治疗后肾虚型中医证候评分较治疗前显著降低($r < 0.01$), 且较对照组亦显著降低($r < 0.01$), 试验组治疗后血清AMH较治疗前显著升高($r < 0.01$), 且较对照组亦显著升高($r < 0.05$)。结论: 育肾活血方联合GnRH-a治疗肾虚型EMs