

基于神经生长因子探讨温经活血汤治疗寒凝血瘀证原发性痛经的作用机制

王丹丹¹, 王东梅², 张英杰¹, 翟凤婷¹, 蔡平平³, 马青² (1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014; 3. 山东第一医科大学附属省立医院, 山东 济南 250021)

摘要: 目的 基于神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及酪氨酸激酶受体 A(TrkA)、p75 营养因子受体(p75NTR)揭示原发性痛经(primary dysmenorrhea, PD)的发病机理, 探讨温经活血汤治疗原发性痛经的作用机制。方法 将 48 只 SPF 级雌性 Wistar 大鼠随机分为正常组(8 只)和模型复制组(40 只)。采用寒冷刺激联合苯甲酸雌二醇和缩宫素复制寒凝血瘀证痛经模型, 模型复制成功后将大鼠随机分为模型组、西药布洛芬组($0.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和温经活血汤低、中、高剂量组(6.55、13.09、26.18 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组各 8 只。自模型复制第 7 天起所有大鼠分别给予温经活血汤、布洛芬和蒸馏水灌胃处理, 每天 1 次, 连续 6 d。观察大鼠注射缩宫素后的扭体潜伏时间和 30 min 内扭体次数。提取大鼠子宫组织, 蛋白质免疫印迹(Western Blot)法检测大鼠子宫组织中 NGF、TrkA 和 p75NTR 的蛋白水平; 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)法检测大鼠子宫组织中 NGF、TrkA 和 p75NTR 的 mRNA 表达。结果 与正常组比较, 模型组 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白水平及 mRNA 表达均明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组大鼠扭体潜伏时间均有所延长, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 扭体次数明显减少($P < 0.01$), NGF、TrkA、p75NTR 蛋白水平及 NGF、TrkA mRNA 表达均明显降低($P < 0.01$), 西药布洛芬组和温经活血汤中、高剂量组 p75NTR mRNA 表达降低($P < 0.01$)。结论 温经活血汤治疗寒凝血瘀证原发性痛经的作用机制可能与其下调 NGF、TrkA、p75NTR 的表达有关。

关键词: 原发性痛经; 温经活血汤; 寒凝血瘀证; 神经生长因子(NGF); 酪氨酸激酶受体 A(TrkA); p75 营养因子受体(p75NTR); 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)10-1468-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.10.008

Explore the Mechanisms of *Wenjing Huoxue* Decoction in the Treatment of Primary Dysmenorrhea with Cold Coagulation and Blood Stasis Syndrome Based on Nerve Growth Factor

WANG Dandan¹, WANG Dongmei², ZHANG Yingjie¹, ZHAI Fengting¹, CAI Pingping³, MA Qing² (1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355 Shandong, China; 2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014 Shandong, China; 3. Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250021 Shandong, China)

Abstract: Objective To reveal the pathogenesis of primary dysmenorrhea(PD) based on nerve growth factor(NGF) and tyrosine kinase receptor A(TrkA), p75 neurotrophin receptor(p75NTR) and explore the mechanisms of *Wenjing Huoxue* decoction in the treatment of PD. **Methods** A total of 48 SPF female Wistar rats were randomly divided into normal group(8 rats) and model group(40 rats). Dysmenorrhea rat model with cold coagulation and stasis syndrome was established by cold stimulation combined with estradiol benzoate and oxytocin. After successful modeling, rats were randomly divided into model group, western medicine group(ibuprofen, $0.06 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), TCM low dose group,

收稿日期: 2021-04-14

作者简介: 王丹丹, 女, 讲师, 博士, 研究方向: 中医药在原发性痛经中的应用。Email: wdd0304@163.com。通信作者: 王东梅, 女, 主任医师, 研究方向: 女性生殖内分泌。Email: 979716798@qq.com。

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2019MH083); 山东省中医药科技项目(2020Q005)。

middle dose group and high dose group(*Wenjing Huoxue* decoction, 6.55, 13.09, 26.18 g·kg⁻¹). There were eight rats in each group. All rats were treated with *Wenjing Huoxue* decoction, ibuprofen and distilled water respectively once a day at the 7th day of modeling, and for 6 days consecutively. We observed the time of writhing latency and writhing times of rats within 30 minutes after oxytocin injection. The proteins of rat uterus were extracted to detect the levels of NGF, TrkA and p75NTR by Western Blot. mRNA expression of NGF, TrkA and p75NTR was also examined by Real-time PCR. **Results** The protein level and mRNA expression of NGF, TrkA and p75NTR were significantly increased in the model group compared with the normal group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the time of writhing latency of rats in each treatment group was extended, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). The writhing times of rats were reduced significantly ($P < 0.01$). The protein levels of NGF, TrkA, p75NTR and the mRNA expressions of NGF and TrkA were reduced significantly ($P < 0.01$), and the mRNA expressions of p75NTR in the western medicine group, medium- and high- dose of Chinese medicine group were reduced significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** The mechanism of *Wenjing Huoxue* decoction in the treatment of PD with cold coagulation and blood stasis may be related to the down-regulation of NGF, TrkA and p75NTR.

Keywords: Primary dysmenorrhea; *Wenjing Huoxue* decoction; cold coagulation and stasis syndromes; nerve growth factor; tyrosine kinase receptor A; p75 neurotrophin receptor; rats

原发性痛经(primary dysmenorrhea, PD)是指伴随月经周期出现下腹部疼痛而无生殖器官器质性病变者,是妇科最常见的疼痛性疾病,占痛经的90%以上^[1]。临床可伴恶心、呕吐、腹泻、腰酸等症状,甚者可见晕厥,给患者的工作、生活和学习带来不同程度的困扰,同时也对社会经济的发展造成严重影响。据统计,原发性痛经的发病率为50%~90%^[2],其中约50%的患者疼痛程度为中度至重度^[3]。在一项针对18岁以上的原发性痛经患者人群调查中,超过一半的受访者表示原发性痛经在一定程度上限制了其正常的生活活动,17%的患者表示因此缺课或误工^[4]。

原发性痛经的确切发病机制目前尚未完全明确,多数学者认为与经期子宫内膜前列腺素F_{2α}(prostaglandin F_{2α}, PGF_{2α})释放异常增多,导致子宫平滑肌过度痉挛收缩,子宫缺血缺氧有关^[5]。原发性痛经的一线治疗药物为非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs),但仍有18%的患者是无效的^[6],且恶心、呕吐等胃肠道反应明显^[7]。此外,有研究^[8]表明NSAIDs会增加患者心血管疾病的风险。因此,进一步揭示原发性痛经的发病机制,探寻安全有效的治疗方法具有重要意义。

神经生长因子(nerve growth factor, NGF)为神经营养因子家族的重要成员之一,主要通过高亲和

力的酪氨酸激酶受体A(tropomyosin-receptor kinase, TrkA)和低亲和力的p75营养因子受体(p75 neurotrophin receptor, p75NTR)结合发挥相关生理功能^[9]。目前关于NGF的研究多与神经系统疾病、炎症反应、情感障碍以及某些疼痛性疾病有关^[10-13]。国内外仅有少量研究^[14-15]初步表明,NGF可能与原发性痛经的发生存在一定关系,但尚需要更多的研究予以证实。

由于临床寒凝血瘀证原发性痛经最为多见,我们以王清任的“少腹逐瘀汤”为基础,加重温经活血药的剂量,组成了具有温经化瘀止痛作用的温经活血汤,临床疗效明显^[16]。为进一步探索原发性痛经的发病机制及温经活血汤治疗原发性痛经的作用靶点,本研究采用寒冷刺激联合苯甲酸雌二醇和缩宫素复制寒凝血瘀证痛经模型,观察温经活血汤对痛经大鼠扭体反应的抑制作用。同时,对比分析痛经模型大鼠与正常大鼠子宫组织中NGF、TrkA、p75NTR蛋白及mRNA的表达差异及温经活血汤对其表达的影响。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF级性成熟雌性Wistar大鼠48只,未交配,7~8周龄,体质量(200±20)g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,动物质量合格证号:370726200100423846,动物生产许可证号:SCXK(鲁)

20140007。实验大鼠饲养于山东中医药大学附属医院实验室动物中心。饲养条件:室温 23 ℃~25 ℃,相对湿度 50%~60%,日光灯光照,明暗 12 h 交替,自由摄食、饮水。实验方案已通过山东中医药大学附属医院动物伦理委员会审核(伦理批件号: AWE-2019-011)。

1.2 药物及试剂 醋香附(批号: 18021421)、醋延胡索(批号: 18121841)、肉桂(批号: 18100681)、干姜(批号: 18016762)、盐小茴香(批号: 18092211)、川芎(批号: 18017941)、当归(批号: 18110381)、白芍(批号: 18015361)、煨肉豆蔻(批号: 18070401)、生蒲黄(批号: 19092481)、制没药(批号: 18023641)、赤芍(批号: 18030511)、陈皮(批号: 18018141)、生甘草(批号: 1901050),均由山东中医药大学附属医院中药房提供;布洛芬缓释胶囊(规格: 每粒 0.3 g),中美天津史克制药有限公司生产,批号: 18110645;苯甲酸雌二醇注射液(规格: 2 mL:4 mg),宁波第二激素厂生产,批号: 181214;缩宫素注射液(规格: 1 mL:5 IU),马鞍山丰原制药有限公司生产,批号: 180912-1。RIPA 裂解液(批号: G2002)、 β -actin(批号: GB12001)、HRP 标记山羊抗兔(批号: GB23303)、RNA 提取液(批号: G3013),均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;Rabbit Anti-NGF(批号: ab52918)、Rabbit Anti-TrkA(批号: ab76291)、Rabbit Anti-p75NTR(批号: ab52987),均购自北京博奥森生物技术有限公司;蛋白 Maker(批号: 26616)、RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(批号: K1622),均购自美国 Thermo 公司。

1.3 仪器 SW-CJ-1F 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;D3024R 型台式高速冷冻型微量离心机,大龙兴创实验仪器(北京)有限公司;TSY-B 型脱色摇床,武汉赛维尔生物科技有限公司;V300 型扫描仪,日本 EPSON 公司;alphaEaseFC 灰度分析软件,美国 Alpha Innotech 公司;Stepone plus 型荧光定量 PCR 仪,美国 ABI 公司;T-Gradient 型梯度 PCR 扩增仪,德国 Biometra 公司;220 凝胶成像系统,美国 Alpha 公司;EC250-90 型电泳仪,美国 Thermo 公司。

1.4 模型复制、分组及给药 所有大鼠适应性饲养 1 周后,按随机数字表法随机分为正常组和寒凝血瘀证痛经模型复制组。模型复制成功后将寒凝血瘀证痛经模型大鼠随机分为模型组、西药布洛芬组及温

经活血汤低、中、高剂量组,每组各 8 只,分别用苦味酸标记。

采用寒冷刺激联合苯甲酸雌二醇以及缩宫素建立寒凝血瘀证痛经大鼠模型^[17-18]。将大鼠每天固定时间置于冰块上 20 min,每天 1 次,连续 12 d;同时,每天给予每只大鼠皮下注射苯甲酸雌二醇注射液 0.4 mg,而第 1 天和第 12 天每只各 0.8 mg,末次注射苯甲酸雌二醇 1 h 后腹腔注射缩宫素每只 2 IU。以大鼠所表现的症状作为寒凝血瘀证模型复制成功的指标:大鼠寒战明显,喜扎堆,呼吸弱,弓背竖毛,蜷缩少动,爪尾部紫暗,耳色暗红,毛色枯槁,舌质紫暗,舌下脉络增粗增长,粪质不成形。以扭体反应作为痛经模型复制成功的指标:大鼠腹部收缩内凹,躯干与后肢伸展,臀部与一侧肢体内旋。

所有大鼠均自模型复制第 7 天起给予相应灌胃处理,其中西药布洛芬组和温经活血汤各组分别按体表面积折算为成人的等效剂量给药^[19]。温经活血汤低、中、高剂量组分别按 6.55、13.09、26.18 g·kg⁻¹给予温经活血汤水冲剂灌胃 2 mL;西药布洛芬组按 0.06 g·kg⁻¹给予布洛芬缓释胶囊灌胃 2 mL;正常组、模型组相同时间给予蒸馏水灌胃 2 mL,每天 1 次,连续 6 d。实验过程中,温经活血汤低、中剂量组大鼠各死亡 1 只。

1.5 扭体反应评价 从注射缩宫素开始计时,观察除正常组外所有大鼠扭体反应潜伏时间及 30 min 内扭体次数。记录完毕后,腹腔注射 10%水合氯醛 3.5 mL·kg⁻¹麻醉,取大鼠子宫组织后,脱颈处死。PBS 缓冲液冲洗掉子宫组织多余的血液,分装于无菌 EP 管中,-80 ℃冰箱冷冻保存。

1.6 蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测子宫组织 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达 取大鼠子宫组织约 30 mg,剪成小块置于 1.5 mL EP 管中,用预冷的 1×PBS 洗涤 2 次,加入 300 μ L RIPA 和 3 μ L PFMS,在液氮中充分研磨组织至匀浆状态,冰浴 30 min,于 4 ℃、12 000 r·min⁻¹(离心半径 8 cm)离心 20 min,取上清。BCA 法测定蛋白浓度,沸水浴变性 15 min,SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭,一抗 4 ℃孵育过夜,二抗慢摇孵育 1 h,ECL 中显影。Alpha 软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.7 实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)法检测 NGF、TrkA、p75NTR mRNA 表达水平 取 50 mg

子宫组织剪成小块,置于研钵中,加入 1 mL Trizol Reagent 在液氮中充分研磨,冰上裂解 10 min;于 4 ℃、12 000 r·min⁻¹(离心半径 8 cm)离心 10 min,取上清。加入与上清等体积的异丙醇;于 4 ℃、12 000 r·min⁻¹(离心半径 8 cm)离心 10 min,弃上清,75%乙醇洗涤沉淀;用无 RNA 酶的水溶解 RNA,55 ℃ 孵育 5 min。Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度。逆转录为 cDNA,引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成,95 ℃预变性 2 min,95 ℃变性 15 s,60 ℃退火,30 s,72 ℃延伸 30 s,40 个循环。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司公司合成,序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称	方向	引物序列
NGF	正向(5'-3')	5'-CATCACTGTGGACCCAACTGT-3'
	反向(3'-5')	5'-GTCCGTGGCTGTGGTCTTATCTC-3'
TrkA	正向(5'-3')	5'-TTCCTTTCTGCCCTCCTCCTA-3'
	反向(3'-5')	5'-TCCCACTTGAGAATGATGTCCTG-3'
p75NTR	正向(5'-3')	5'-ATTCTGTCTATTGCTCCATCTTG-3'
	反向(3'-5')	5'-TGCGTATGGGTCTGCTGGTC-3'
β-actin	正向(5'-3')	5'-TGCTATGTGCCCTAGACTTCG-3'
	反向(3'-5')	5'-GTTGCCATAGAGGTCTTTACGG-3'

1.8 统计学处理方法 应用 SPSS 25.0 统计软件进行数据处理,统计资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,若数据满足正态性和方差齐性,组间比较采用单因素方差分析,否则,组间比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 温经活血汤对大鼠扭体潜伏时间、扭体次数的影响 见表 2。与模型组比较,各治疗组扭体潜伏时间均有所延长,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与

表 2 温经活血汤对大鼠扭体潜伏时间、扭体次数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=7 \sim 8$)

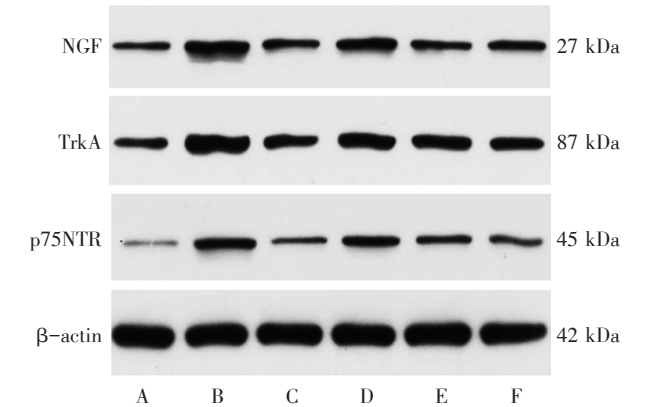
Table 2 Effect of Wenjing Huoxue decoction on the time of writhing latency and writhing times of rats($\bar{x} \pm s$, $n=7 \sim 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体潜伏时间/min	扭体次数/次
正常组	-	-	-
模型组	-	6.25 ± 0.71	19.75 ± 2.49
布洛芬组	0.06	7.25 ± 1.04	11.88 ± 1.81 ^{**}
温经活血汤低剂量组	6.55	6.43 ± 1.40	15.29 ± 2.14 ^{**}
温经活血汤中剂量组	13.09	6.86 ± 1.35	12.29 ± 1.80 ^{**}
温经活血汤高剂量组	26.18	6.75 ± 0.71	13.13 ± 1.73 ^{**}

注:与模型组比较,^{**} $P < 0.01$

模型组比较,各治疗组扭体次数均明显减少,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结果表明,温经活血汤能有效抑制寒凝血瘀证原发性痛经模型大鼠的扭体反应。

2.2 温经活血汤对大鼠子宫组织中 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达的影响 见图 1、表 3。与正常组比较,模型组 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组 NGF、TrkA、p75NTR 水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结果表明,温经活血汤能有效降低寒凝血瘀证原发性痛经模型大鼠子宫组织中的 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达。



注: A. 正常组; B. 模型组; C. 布洛芬组; D. 温经活血汤低剂量组; E. 温经活血汤中剂量组; F. 温经活血汤高剂量组

图 1 各组大鼠子宫组织中 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达条带图

Figure 1 Comparison of NGF、TrkA and p75NTR protein expression in the uterus of rats in each group

表 3 温经活血汤对大鼠子宫组织中 NGF、TrkA、p75NTR 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Effect of Wenjing Huoxue decoction on expression of NGF, TrkA and p75NTR in the uterus of rats($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	NGF	TrkA	p75NTR
正常组	-	0.29 ± 0.02	0.32 ± 0.04	0.14 ± 0.03
模型组	-	0.81 ± 0.06 ^{**}	0.78 ± 0.04 ^{**}	0.64 ± 0.03 ^{**}
布洛芬组	0.06	0.40 ± 0.02 ^{**}	0.44 ± 0.02 ^{**}	0.24 ± 0.06 ^{**}
温经活血汤低剂量组	6.55	0.62 ± 0.05 ^{**}	0.56 ± 0.01 ^{**}	0.46 ± 0.06 ^{**}
温经活血汤中剂量组	13.09	0.48 ± 0.09 ^{**}	0.50 ± 0.02 ^{**}	0.36 ± 0.09 ^{**}
温经活血汤高剂量组	26.18	0.44 ± 0.01 ^{**}	0.45 ± 0.02 ^{**}	0.30 ± 0.10 ^{**}

注:与正常组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$

2.3 温经活血汤对大鼠子宫组织中 NGF、TrkA、p75NTR mRNA 表达的影响 见表 4。与正常组比较,模型组 NGF、TrkA、p75NTR mRNA 表达均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比

较,各治疗组 NGF、TrkA mRNA 表达明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);布洛芬组和温经活血汤中、高剂量组 p75NTR mRNA 表达降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。结果表明,温经活血汤能有效降低寒凝血瘀证原发性痛经模型大鼠 NGF、TrkA、p75NTR mRNA 表达。

表 4 温经活血汤对大鼠子宫组织中 NGF、TrkA、p75NTR mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 4 Effect of *Wenjing Huoxue* decoction on mRNA expression of NGF, TrkA and p75NTR in the uterus of rats($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	NGF	TrkA	p75NTR
正常组	-	1.00	1.00	1.00
模型组	-	3.62 ± 0.04**	2.04 ± 0.21**	3.18 ± 0.09**
布洛芬组	0.06	1.80 ± 0.06**	1.35 ± 0.04**	1.88 ± 0.06**
温经活血汤低剂量组	6.55	2.64 ± 0.54**	1.52 ± 0.14**	2.97 ± 0.17
温经活血汤中剂量组	13.09	1.88 ± 0.03**	1.36 ± 0.11**	1.94 ± 0.17**
温经活血汤高剂量组	26.18	2.07 ± 0.35**	1.44 ± 0.14**	2.18 ± 0.55**

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$

3 讨论

原发性痛经病位在子宫,变化在气血,主要病机为“不通则痛”和“不荣则痛”,临床以“不通则痛”的实证较为多见。临床流调学研究^[20]表明,原发性痛经患者以瘀血体质为主,临床证型以寒凝血瘀证为主。程芳等^[21]对 606 例原发性痛经患者的证型分布进行统计分析,结果显示寒凝血瘀证患者比例最高。可见,寒凝血瘀是原发性痛经的主要病机。本研究的温经活血汤中肉桂补火助阳,温经散寒,醋延胡索行气止痛,共为君药;盐小茴香散寒止痛,醋香附、当归、川芎、白芍行气活血止痛,共为臣药。赤芍、生蒲黄、醋没药、干姜、煨肉豆蔻、陈皮温经散寒,化瘀止痛,共为佐药。生甘草调和诸药,缓急止痛,为使药。诸药合用,共奏温经活血,化瘀止痛之效。

生理状态下,神经生长因子(NGF)在人类子宫肌层、子宫肌层-子宫内膜交界面、子宫内膜基底层均有神经纤维支配,但这些神经纤维对子宫肌层和内膜基底层的具体作用机制尚不清楚^[22]。作为一种疼痛介质,NGF 一方面能够调控与中枢疼痛传导有关的 P 物质以及降钙素等的表达,另一方面 NGF 能够增加神经元的数量和密度^[23]。Hirata 等^[24]对 11 348 名日本

女性志愿者与 22 种妇科相关的表型变量进行了全基因组关联分析,确定了包括痛经严重程度在内的多种疾病和性状相关的核苷酸变异,其中包括 NGF 附近存在痛经单核苷酸位点变异,这种变异与 NGF 公认的 lncRNA 增强子(RP4-663N10.1)表达相关。Maranesi 等^[14]研究发现 NGF 可以通过上调一氧化氮合成酶和前列腺素 E₂-9-酮还原酶活性,增加 PGF_{2α} 的合成与分泌。此外,有研究^[15,25]证明 NGF 基因位点附近的基因多态性与原发性痛经的发生风险及疼痛程度有密切关系。以上研究均提示 NGF 在原发性痛经的发生、发展及疼痛的严重程度方面具有重要意义,可能成为治疗原发性痛经的有效靶点。

综上所述,NGF 及其受体异常表达与原发性痛经的发生具有密切关系。本研究结果显示,寒凝血瘀证痛经模型大鼠子宫组织中 NGF、TrkA 和 p75NTR 蛋白含量及 mRNA 表达水平明显升高,温经活血汤能有效抑制寒凝血瘀证痛经模型大鼠扭体反应,降低大鼠子宫组织中 NGF、TrkA 和 p75NTR 表达,表明 NGF 及其受体异常表达可能是原发性痛经的发病机制之一,温经活血汤可能通过下调 NGF 及其受体表达发挥治疗原发性痛经的作用,其具体作用途径尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 谢幸,孔北华,段涛.妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2018:351-352.
- [2] Al-JEFOUT M, NAWAISEH N. Continuous norethisterone acetate versus cyclical drospirenone 3 mg/ethinyl estradiol 20 mg for the management of primary dysmenorrhea in young adult women[J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2016, 29(2): 143-147.
- [3] ACOG Committee opinion No. 760: dysmenorrhea and endometriosis in the adolescent[J]. Obstet Gynecol, 2018, 132(6): e249-e258.
- [4] BURNETT M A, ANTAO V, BLACK A, et al. Prevalence of primary dysmenorrhea in Canada[J]. J Obstet Gynaecol Can, 2005, 27(8): 765-770.
- [5] FERRIES-ROWE E, COREY E, ARCHER J S. Primary dysmenorrhea: diagnosis and therapy[J]. Obstet Gynecol, 2020, 136(5): 1047-1058.
- [6] OWEN P R. Prostaglandin synthetase inhibitors in the treatment of primary dysmenorrhea. Outcome trials reviewed[J]. Am J Obstet Gynecol, 1984, 148(1): 96-103.
- [7] ABARAOGU U O, IGWE S E, TABANSI-OCHIOGU C S. Effectiveness of SP6 (Sanyinjiao) acupressure for relief of primary dysmenorrhea symptoms: a systematic review with meta and sensitivity analyses[J]. Complementary Therapies in Clinical Practice, 2016, 25: 92-105.

- [8] NAUMOV A V, TKACHEVA O N, KHOVASOVA N O. Safety of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in patients with cardiovascular risk[J]. *Ter Arkh*, 2019, 91(1): 108–113.
- [9] CASTELLINI C, MATTIOLI S, DAL BOSCO A, et al. Role of NGF on sperm traits: a review[J]. *Theriogenology*, 2020, 150: 210–214.
- [10] CUELLO A C, PENTZ R, HALL H. The brain NGF metabolic pathway in health and in Alzheimer's pathology[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 62.
- [11] INDO Y. NGF-dependent neurons and neurobiology of emotions and feelings: lessons from congenital insensitivity to pain with anhidrosis [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2018, 87: 1–16.
- [12] MINNONE G, DE BENEDETTI F, BRACCI-LAUDIERO L. NGF and its receptors in the regulation of inflammatory response[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): 1028.
- [13] HIROSE M, KURODA Y, MURATA E. NGF/TrkA signaling as a therapeutic target for pain[J]. *Pain Pract*, 2016, 16(2): 175–182.
- [14] MARANESI M, PARILLO F, LEONARDI L, et al. Expression of nerve growth factor and its receptors in the uterus of rabbits: functional involvement in prostaglandin synthesis[J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2016, 56: 20–28.
- [15] LI Z, CHEN J, ZHAO Y, et al. Common variants in ZMIZ1 and near NGF confer risk for primary dysmenorrhea[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14900.
- [16] 王丹丹, 王东梅, 蔡平平, 等. 温经化瘀法治疗原发性痛经的临床疗效及其对T细胞亚群的调控机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(20): 94–99.
- [17] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 145–146.
- [18] 成秀梅, 杜惠兰, 李丹. 寒凝血瘀证动物模型的创建[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11(8): 604–605.
- [19] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 69–73.
- [20] 王斌. 原发性痛经与瘀血体质临床流行病学调查研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [21] 程芳, 程红, 卢路艳, 等. 606例原发性痛经患者中医证候分布规律调查研究[J]. *中医研究*, 2015, 28(2): 16–18.
- [22] TAKEUCHI A, KOGA K, MIYASHITA M, et al. Dienogest reduces proliferation, NGF expression and nerve fiber density in human adenomyosis[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 207: 157–161.
- [23] DENK F, BENNETT D L, MCMAHON S B. Nerve growth factor and pain mechanisms[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2017, 40: 307–325.
- [24] HIRATA T, KOGA K, JOHNSON T A, et al. Japanese GWAS identifies variants for bust-size, dysmenorrhea, and menstrual fever that are eQTLs for relevant protein-coding or long non-coding RNAs[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 8502–8519.
- [25] JONES A V, HOCKLEY J R, HYDE C, et al. Genome-wide association analysis of pain severity in dysmenorrhea identifies association at chromosome 1p13.2, near the nerve growth factor locus [J]. *Pain*, 2016, 157(11): 2571–2581.

(编辑: 修春)