

姜黄素在子宫内膜异位症中的作用及机制研究进展

毛佳婷 余柯达 包云 柴娟 邹立波

(金华市人民医院生殖医学中心, 浙江金华 321000)

摘要 近年来多项基础研究表明,姜黄素可通过对异位子宫内膜细胞生长增殖、凋亡、迁移、侵袭、炎症反应、血管生成、雌激素合成等方面的影响从而抑制子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)的发生、发展及改善EMs相关性不孕。虽然姜黄素运用于EMs的治疗取得一定进展,但仍存在一些问题。今后应设计严谨的临床研究,以验证姜黄素的疗效与安全性。同时姜黄素如何对EMs不孕相关的卵泡微环境及卵泡生长发育产生影响,也是未来的研究方向之一。

关键词 子宫内膜异位症;姜黄素;药理学;综述

中图分类号 R282.705 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X (2021) 03-0079-04

目前育龄女性中6%~10%患有子宫内膜异位症(endometriosis, EMs), 25%~50%的不孕女性患有EMs, 30%~50%的EMs女性患者不孕^[1]。EMs的发病机制目前仍不清楚,可能与细胞增殖、凋亡、炎症反应及血管生成等有关。EMs的治疗主要通过药物及手术治疗,西药治疗具有避孕效果,且有激素相关副作用及费用较高等局限性^[2];手术治疗可以去除病灶,缓解患者的临床症状,但术后1年内复发率为10%~15%,5年内复发率为40%~50%^[3]。因此寻找安全、有效、副作用少的EMs治疗方法仍然是研究的重点。

目前姜黄已被广泛用作食品添加剂和药物,姜黄素是一类从姜黄类植物中提取的多酚物质,具有抗炎、抗肿瘤和抗氧化等多方面的药理作用,且具有安全、副作用较小等特点^[4-5]。多项研究表明姜黄素能抑制EMs的发展并逆转EMs引起的不孕,其作用机制涉及对EMs病理过程的抑制及对卵泡生长的改善。现将姜黄素对EMs的作用及机制的研究进展概述如下。

1 对异位内膜细胞生长增殖的抑制及对凋亡的促进作用

子宫内膜细胞增殖与凋亡的相互协调致子宫内膜周期性增生与脱落,EMs患者的异位子宫内膜细胞增殖与凋亡的失衡可能是EMs发生的重要原因^[6]。体内外实验表明姜黄素可抑制EMs异位子宫内膜间质细胞和上皮细胞的生长增殖并促进细胞的凋亡^[7-8]。CAO等^[7]的体外研究显示0、20、

50 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素以浓度和时间依赖的方式抑制正常和异位子宫内膜间质细胞的生长,将细胞周期阻滞在G1期,阻碍细胞进入S期,抑制细胞DNA合成及增殖。50 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素可诱导异位子宫内膜间质细胞出现4.7%早期凋亡及28.4%晚期凋亡,而诱导正常子宫内膜间质细胞出现2.8%早期凋亡及21.4%晚期凋亡。BOROUMAND S等^[8]的研究结果表明,将姜黄素负载纳米纤维腹腔注射EMs小鼠21 d后,可显著抑制异位病灶中囊肿的生长,抑制异位子宫内膜腺体和间质的生长及炎性细胞浸润。

姜黄素对细胞凋亡的促进作用主要涉及以下通路的激活^[9-10]。王澍弘等^[9]将22例EMs患者的异位内膜离体组织分离为单细胞后培养,给予0、10、50 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素处理,姜黄素以时间、剂量依赖性方式抑制异位子宫内膜细胞生长,并上调半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的表达而促进细胞凋亡。JANA S等^[10]研究显示姜黄素可抑制EMs小鼠腹腔异位内膜病灶中核因子 κB (NF- κB)的核转录及基质金属蛋白酶-3(MMP-3)的活性,抑制EMs的进展,并通过线粒体依赖的方式上调细胞色素-c(cytochrome-c)、caspase-9促凋亡因子/抑制凋亡因子(Bax/Bal-2)、肿瘤抑制蛋白P53的表达,促进异位内膜细胞的凋亡。

2 抑制EMs雌激素生成

EMs是一种雌激素依赖性疾病,EMs患者血清、腹膜液及病灶中的雌二醇(E_2)浓度增高, E_2 与雌

激素受体(ER)结合,促进异位病灶中血管内皮细胞增殖、血管形成;E₂也可提高基质金属蛋白酶(MMPs)的活性,从而促进内膜细胞的浸润、迁移等。EMs异位病灶中雌激素的生成是通过环氧化酶(COX-2)—前列腺素E₂(PGE₂)—芳香化酶(P450arom)—雌二醇(E₂)的正反馈形式产生,白细胞介素1 β (IL-1 β)刺激COX-2合成,使体内E₂水平及活性增高^[11]。姜黄素则可抑制PGE₂、P450arom、COX-2与IL-1 β 的表达,阻断E₂生成而抑制异位子宫内膜生长^[11]。ZHANG Y等^[12]的研究也表明30 μ mol/L、50 μ mol/L姜黄素可抑制异位子宫内膜间质细胞分泌的E₂水平,从而抑制细胞生长。此外,姜黄素可降低EMs大鼠血清E₂的表达水平,降低异位内膜组织雌激素受体 α (ER α)、增殖细胞核抗原(PCNA)、血管内皮生长因子(VEGF)的表达,从而抑制异位子宫内膜病灶的体积增长及血管生成^[13]。

3 发挥抗氧化应激作用

近年来的研究发现EMs患者体内存在着氧化应激反应的异常激活及活性氧(ROS)的显著增加,而总抗氧化能力减弱即抗氧化酶和抗氧化标志物水平降低,使DNA、蛋白质、脂质产生氧化修饰作用并影响其功能。氧化与抗氧化的失衡导致ROS升高,促进异位内膜组织在异位病灶的生长及黏附,促进EMs的发展及女性不孕^[14]。一些研究认为姜黄素对EMs具有一定的抗氧化应激及抗自由基活性的特性^[15-16]。KUMAR JANA S^[15]的研究结果表明,来曲唑结合姜黄素的纳米颗粒的应用可降低EMs小鼠血清中ROS和脂质过氧化物(LPO)水平,且升高总抗氧化能力(TAC)水平,明显降低血清中MMP-2、MMP-9、VEGF、E₂的水平,从而抑制异位子宫内膜样腺体及微血管的生长,继而抑制EMs的发展。SWARNAKAR S等^[16]的研究结果表明,姜黄素可抑制MMP-9的活性及异位子宫内膜组织中脂质和蛋白质的氧化。

4 抑制EMs相关的炎症反应

有证据表明炎症反应与EMs的发生发展密切相关,当EMs患者病灶中出现异位的子宫内膜时,引起巨噬细胞、淋巴细胞、NK细胞等的浸润,激活相关炎症信号通路,分泌肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6等各类因子,促进细胞生长增殖、黏附、侵袭、血管生成,并抑制异位子宫内膜细胞的凋亡^[17-18]。多项研究表明,姜黄素可以调整上述炎症细胞的活性及其分泌的各类细胞因子的表达^[19]。

EMs患者血液、腹膜液、异位内膜组织中IL-1 β 、巨噬细胞抑制因子(MIF)的表达升高,IL-1 β 可通过NF- κ B通路促进MIF的产生,姜黄素则可阻断IL-1 β 诱导的NF- κ B的激活及MIF的表达,从而发挥抗炎作用,抑制血管生成和组织重构^[20]。TNF- α 、干扰素- γ (INF- γ)可诱导细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)的表达,后两者对白细胞黏附于血管内皮及迁移至炎症部位具有重要的作用,姜黄素则可抑制TNF- α 诱导的子宫内间质细胞中IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、ICAM-1、VCAM-1的分泌及逆转抑制蛋白- α (I κ B- α)的激活^[21]。

姜黄素对EMs炎症因子表达的影响,也涉及其他信号通路。CHOWDHURY I等^[22]的研究表明,姜黄素可通过抑制I κ B激酶(IKK α / β)、NF- κ B、信号传导与转录激活因子3(STAT3)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)的磷酸化而抑制异位子宫内膜间质细胞中的细胞因子IL-6、IL-8、趋化因子-10(IP-10)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、MCP-1、受激活调节正常T细胞表达和分泌因子(RANTES)的表达,上调抗炎因子IL-10和IL-12的表达。

5 抑制异位子宫内膜细胞迁移和侵袭

基质金属蛋白酶(MMPs)与基质金属蛋白酶抑制物(TIMPs)以一定的比例存在,维持细胞外基质(ECM)的稳定,两者比例失衡造成ECM的降解而增强子宫内膜组织的侵袭力,促进EMs的发生发展。

研究发现EMs患者异位子宫内膜组织中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-11的活性较高,而姜黄素可抑制MMP-2、MMP-3、MMP-9及相关分子的表达^[10,16,23-24]。SWARNAKAR S等^[16]的研究结果表明,MMP-9的表达与异位子宫内膜组织体积呈正相关,姜黄素则以剂量依赖的方式抑制EMs小鼠体内异位子宫内膜组织中MMP-9的表达与分泌,上调TIMP-1的表达。EMs早期阶段的异位子宫内膜组织中也存在MMP-2表达上调,其主要参与了IV型胶原蛋白的降解、MMP-2的激活及抑制受TIMP-2及膜型基质金属蛋白酶-1(MT1MMP)调节。JANA S等^[24]发现在BABL/C小鼠子宫内膜异位症诱导的第2~5日出现了proMMP-2的表达增强、TIMP-2表达抑制,第3、5日出现MMP-2的表达增强,而按48 mg/kg姜黄素给药可抑制异位子宫内膜中MT1MMP、MMP-2的表达,上调TIMP-2的表达及降低MMP-2/TIMP-2的比例,从而抑制EMs的进展。

此外,近期的研究证实EMs异位子宫内膜组织中c-AMP依赖的Cl⁻和HCO₃⁻转运通道(CFTR)和尿激酶型纤溶酶原激活物受体(uPAR)的mRNA和蛋白质表达水平均显著增加,两者可促进细胞迁移,姜黄素或Bay则可抑制CFTR高表达的人子宫内膜Ishikawa细胞中的NF-κB、p65和uPAR的表达而抑制细胞迁移^[25]。

6 抑制异位内膜组织血管生成

异位的内膜组织需要形成新的血管,为细胞生长、增殖、侵袭提供营养物质。血管内皮生长因子(VEGF)是促进异位内膜组织血管形成的最主要的细胞因子^[26]。在EMs患者腹腔液及异位病灶中VEGF表达增高,与病灶组织中微血管密度(MVD)升高呈正相关。ZHANG Y等^[27]对EMs大鼠胃内给予姜黄素[0 mg/(kg·d)、50 mg/(kg·d)、100 mg/(kg·d)和150 mg/(kg·d)],进行连续4周的治疗,通过组织学和免疫组织化学染色检查异位子宫内膜MVD及VEGF的表达情况,结果表明姜黄素以剂量依赖的方式抑制MVD及VEGF的表达($P<0.05$)。CAO H等^[7]研究表明20 μmol/L、50 μmol/L姜黄素可抑制异位子宫内膜间质细胞及正常子宫内膜间质细胞中VEGF的表达。以上研究表明姜黄素可通过抑制EMs动物模型病灶血管生成及异位子宫内膜间质细胞中VEGF的表达,阻碍EMs的进展。

7 改善EMs卵泡生长

EMs与不孕的相关机制并未明确,有研究者提出EMs中氧化应激及炎症因子改变是导致卵泡生长障碍、卵母细胞质量下降而不孕的因素之一。卵泡的生长与发育是一个动态的过程,包括颗粒细胞的增殖分化及卵母细胞的成熟,卵母细胞和颗粒细胞通过旁分泌的方式相互作用,促进生长^[28]。生长分化因子-9(GDF-9)是由卵母细胞产生的转化生长因子β(TGFβ)家族的细胞因子,促进颗粒细胞的生长与分化;颗粒细胞则分泌Kit配体(KitL),与卵母细胞上的干细胞因子受体(c-Kit)结合,KitL/c-Kit的结合激活下游的信号通路,促进卵母细胞的生长^[29-30]。HENDARTO H等^[29]发现EMs不孕女性卵泡液中GDF-9的浓度较对照组低,且随着EMs严重程度的增加而降低,因此卵泡液中较低的GDF-9浓度与EMs卵泡发育异常及排卵障碍密切相关。该研究者在后续的实验中发现姜黄素可改善EMs患者GDF-9的表达,其首先取出牛卵巢卵泡中的卵冠丘复合物(COCs),收集EMs不孕妇女腹膜液(PF),然后在PF和组织培养基

199(TCM199)中加入姜黄素,制成培养基;将牛COCs培养在TCM199、TCM199+PF和TCM199+PF+姜黄素3组培养基后,采用免疫组织化学技术检测COCs中GDF-9、KitL和TNF-α表达。结果表明PF处理组中COCs的GDF-9、KitL表达下降,TNF-α表达升高,而经TCM199+PF+姜黄素处理后,COCs中GDF-9、KitL表达上调,TNF-α表达下调^[30]。综上,姜黄素对EMs引起的不孕可能具有一定的调理作用,但仍需深入的研究以明确其疗效。

8 结语

综上所述,姜黄素可通过以上各机制抑制EMs的发生和发展,因此姜黄素有望用于EMs的治疗,改善其相关症状及抑制不孕症的发生。近年来姜黄素对EMs的研究虽然较多,但局限于体外细胞实验与小鼠的体内实验,姜黄素运用于EMs的临床治疗实验较为缺乏,仍需严谨的临床研究,以验证其疗效和安全性。目前研究多关注姜黄素对EMs发生、发展的抑制作用,而关于姜黄素是否能改善EMs不孕相关的卵泡微环境及卵泡生长发育的研究相对较少,因此,姜黄素是否能调节EMs不孕相关卵泡液中的各类炎症因子、细胞因子的浓度,颗粒细胞中的因子和受体的表达,卵母细胞成熟度等,这其中所涉及的其他分子机制仍有待于进一步研究。此外姜黄素和西医药相结合用于EMs及相关性不孕的治疗,以减少西医药副作用及解决有关EMs易复发的问题,也是未来的研究方向之一。

参考文献

- [1] BULLETTI C, COCCIA M E, BATTISTONI S, et al. Endometriosis and infertility[J]. J Assist Reprod Genet, 2010, 27(8): 441.
- [2] 丛珊珊, 张广美. 子宫内膜异位症药物治疗新进展[J]. 中国生育健康杂志, 2020, 31(3): 292.
- [3] BERLANDA N, VERCELLINI P, FEDELE L. The outcomes of repeat surgery for recurrent symptomatic endometriosis[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2010, 22(4): 320.
- [4] MANTZOROU M, PAVLIDOU E, VASIOS G, et al. Effects of curcumin consumption on human chronic diseases: A narrative review of the most recent clinical data[J]. Phytother Res, 2018, 32(6): 957.
- [5] SOLEIMANI V, SAHEBKAR A, HOSSEINZADEH H. Turmeric (Curcuma longa) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review[J]. Phytother Res, 2018, 32(6): 985.
- [6] TANIGUCHI F, KAPONIS A, IZAWA M, et al. Apoptosis and endometriosis[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2011, 3: 648.

- [7] CAO H, WEI Y X, ZHOU Q, et al. Inhibitory effect of curcumin in human endometriosis endometrial cells via downregulation of vascular endothelial growth factor[J]. Mol Med Rep, 2017, 16 (4): 5611.
 - [8] BOROUHAND S, HOSSEINI S, PASHANDI Z, et al. Curcumin-loaded nanofibers for targeting endometriosis in the peritoneum of a mouse model[J]. J Mater Sci Mater Med, 2019, 31 (1): 8.
 - [9] 王澍弘, 徐鸿毅, 董毅飞, 等. 姜黄素对体外培养异位内膜细胞生长及凋亡的影响[J]. 中国中医急症, 2009, 18 (5): 784.
 - [10] JANA S, PAUL S, SWARNAKAR S. Curcumin as anti-endometriotic agent: implication of MMP-3 and intrinsic apoptotic pathway[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83 (6): 797.
 - [11] 张沁舒, 方毅, 陈蓉, 等. 姜黄素对大鼠子宫内膜异位症雌激素生成的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35 (4): 1018.
 - [12] ZHANG Y, CAO H, YU Z, et al. Curcumin inhibits endometriosis endometrial cells by reducing estradiol production[J]. Iran J Reprod Med, 2013, 11 (5): 415.
 - [13] 方毅, 张沁舒, 王继东, 等. 姜黄素对大鼠子宫内膜异位症影响的实验研究[J]. 中成药, 2013, 35 (3): 440.
 - [14] CARVALHO L F, SAMADDER A N, AGARWAL A, et al. Oxidative stress biomarkers in patients with endometriosis: systematic review[J]. Arch Gynecol Obstet, 2012, 286 (4): 1033.
 - [15] KUMAR JANA S. Letrozole and curcumin loaded-PLGA nanoparticles: A therapeutic strategy for endometriosis[J]. J Nanomedicine Biotherapeutic Discov, 2014, 4 (1): 130.
 - [16] SWARNAKAR S, PAUL S. Curcumin arrests endometriosis by downregulation of matrix metalloproteinase-9 activity[J]. Indian J Biochem Biophys, 2009, 46 (1): 59.
 - [17] BERGQVIST A, BRUSE C, CARLBERG M, et al. Interleukin 1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in endometriotic tissue and in endometrium[J]. Fertil Steril, 2001, 75 (3): 489.
 - [18] KAPONIS A, IWABE T, TANIGUCHI F, et al. The role of NF-kappaB in endometriosis[J]. Front Biosci (Schol Ed), 2012, 4 (4): 1213.
 - [19] 商玮. 姜黄素对免疫细胞及细胞因子的作用研究进展[J]. 江苏中医药, 2008, 40 (4): 92.
 - [20] VERONIQUE VEILLAT, LAVOIE C H, METZ C N, et al. Involvement of nuclear factor-kappaB in macrophage migration inhibitory factor gene transcription up-regulation induced by interleukin-1 beta in ectopic endometrial cells [J]. Fertil Steril, 2009, 91 (5-suppl-S): 2153.
 - [21] KIM K H, LEE E N, PARK J K, et al. Curcumin attenuates TNF- α -induced expression of intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and proinflammatory cytokines in human endometriotic stromal cells[J]. Phytother Res, 2012, 26 (7): 1037.
 - [22] CHOWDHURY I, BANERJEE S, DRISS A, et al. Curcumin attenuates proangiogenic and proinflammatory factors in human eutopic endometrial stromal cells through the NF- κ B signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (5): 6298.
 - [23] COLLETTE T, MAHEUX R, MAILLOUX J, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis[J]. Hum Reprod, 2006, 21 (12): 3059.
 - [24] JANA S, RUDRA D S, PAUL S, et al. Curcumin delays endometriosis development by inhibiting MMP-2 activity[J]. Indian J Biochem Biophys, 2012, 49 (5): 342.
 - [25] HUANG W Q, JIN A H, ZHANG J T, et al. Upregulation of CFTR in patients with endometriosis and its involvement in NF κ B-uPAR dependent cell migration[J]. Oncotarget, 2017, 8 (40): 66951.
 - [26] TAN X J, LANG J H, LIU D Y, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 mRNA in patients with endometriosis[J]. Fertil Steril, 2002, 78 (1): 148.
 - [27] ZHANG Y, CAO H, HU Y Y, et al. Inhibitory effect of curcumin on angiogenesis in ectopic endometrium of rats with experimental endometriosis[J]. Int J Mol Med, 2011, 27 (1): 87.
 - [28] WIGGLESWORTH K, LEE K B, O'BRIEN M J, et al. Bidirectional communication between oocytes and ovarian follicular somatic cells is required for meiotic arrest of mammalian oocytes[J]. PNAS, 2013, 110 (39): 3723.
 - [29] HENDARTO H, PRABOWO P, MOELOEK F A, et al. Growth differentiation factor 9 concentration in the follicular fluid of infertile women with endometriosis[J]. Fertil Steril, 2010, 94 (2): 758.
 - [30] HENDARTO H, WIDYANUGRAHA M Y, WIDJIATI W. Curcumin improves growth factors expression of bovine cumulus-oocyte complexes cultured in peritoneal fluid of women with endometriosis[J]. Int J Reprod BioMed, 2018, 16 (12): 780.
- 第一作者: 毛佳婷 (1990—), 女, 医学硕士, 检验技师, 主要从事生殖医学实验室工作。
- 通讯作者: 余柯达, 硕士, 助理研究员。
yukeda1990@163.com

收稿日期: 2020-10-15

编辑: 傅如海