

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.13.037

基于 P-mTOR/mTOR 通路探讨来曲唑片联合益母草颗粒对 多囊卵巢综合征患者的作用及其机制研究 *

梁 军¹ 任 璐¹ 陶 琳¹ 陈 华¹ 康淑芳^{2Δ}

(1 济南市第二妇幼保健院药剂科 山东 济南 271100; 2 济南市第二妇幼保健院妇科 山东 济南 271100)

摘要 目的:基于磷酸化雷帕霉素靶蛋白(P-mTOR)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路探讨来曲唑片联合益母草颗粒对多囊卵巢综合征(PCOS)患者的作用及其机制研究。**方法:**选取 2021 年 4 月至 2022 年 8 月期间济南市第二妇幼保健院收治的 142 例 PCOS 患者,按照随机数字表法将患者分为对照组(接受来曲唑片治疗, n=71)和研究组(接受来曲唑片联合益母草颗粒治疗, n=71)。对比两组性激素指标、空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、血清 P-mTOR、mTOR 水平。**结果:**两组治疗 3 个月后黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)、睾酮(T)下降,促卵泡激素(FSH)上升,且研究组的 LH、E₂、T 低于对照组,FSH 高于对照组($P<0.05$)。两组治疗 3 个月后 FPG、HOMA-IR、FINS 下降,且研究组低于对照组($P<0.05$)。两组治疗 3 个月后血清 P-mTOR 及 mTOR 水平下降,且研究组低于对照组($P<0.05$)。**结论:**益母草颗粒、来曲唑片联合治疗可能通过调控 P-mTOR/mTOR 通路改善 PCOS 患者的性激素、血糖水平及胰岛素抵抗。

关键词:P-mTOR/mTOR 通路;来曲唑片;益母草颗粒;多囊卵巢综合征;作用机制

中图分类号:R-33;R711.75 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)13-2582-04

Study on the Effect and Its mechanism of Letrozole Tablets Combined with Motherwort Granules on Patients with Polycystic Ovarian Syndrome Based on P-mTOR/mTOR Pathway*

LIANG Jun¹, REN Lu¹, TAO Lin¹, CHEN Hua¹, KANG Shu-fang^{2Δ}

(1 Department of Pharmacy, Jinan Second Maternal and Child Health Hospital, Jinan, Shandong, 271100, China;

2 Department of Gynaecology, Jinan Second Maternal and Child Health Hospital, Jinan, Shandong, 271100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect and its mechanism of letrozole tablets combined with motherwort granules on patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) based on phosphorylated-mammalian target of rapamycin (P-mTOR)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. **Methods:** 142 patients with PCOS who were admitted to Jinan Second Maternal and Child Health Hospital from April 2021 to August 2022 were selected, and they were divided into control group (receiving letrozole tablets, n=71) and study group (receiving letrozole tablets combined with motherwort granules, n=71) according to random number table method. Sex hormone indexes, Fasting plasma glucose (FPG), fasting insulin (FINS), insulin resistance index (HOMA-IR), serum P-mTOR and mTOR levels were compared in the two groups. **Results:** 3 months after treatment, luteinizing hormone (LH), estradiol (E₂) and testosterone (T) in the two groups decreased, while follicle-stimulating hormone (FSH) increased. LH, E₂ and T in the study group were lower than those in the control group, and FSH was higher than that in the control group ($P<0.05$). FPG, HOMA-IR and FINS in the two groups at 3 months after treatment decreased, and the study group was lower than the control group ($P<0.05$). Serum P-mTOR and mTOR levels in the two groups at 3 months after treatment decreased, and the study group was lower than the control group ($P<0.05$). **Conclusion:** The combination of motherwort granules and letrozole tablets may improve the sex hormones, blood glucose levels and insulin resistance in patients with PCOS by regulating P-mTOR/mTOR pathway.

Key words: P-mTOR/mTOR pathway; Letrozole tablets; Motherwort granules; Polycystic ovarian syndrome; Effect and mechanism

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R711.75 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)13-2582-04

前言

多囊卵巢综合征(PCOS)是临床常见的妇科内分泌紊乱性

疾病,以高雄激素血症、下丘脑-垂体-卵巢功能紊乱、慢性无排卵等为主要特征,是导致育龄妇女不孕的主要病因^[1,2]。来曲唑片为第 3 代芳香化酶抑制剂,是临床治疗 PCOS 的常用药

* 基金项目:山东省中医药科技发展计划项目(2019-0134)

作者简介:梁军(1974-),女,本科,主管药师,研究方向:药理学及临床应用,E-mail: lj13906340091@163.com

Δ 通讯作者:康淑芳(1972-),女,本科,副主任医师,研究方向:计划生育、宫颈病变和宫腔疾病,E-mail: 18663428889@163.com

(收稿日期:2023-02-06 接受日期:2023-02-27)

物,可通过抑制雌激素对性腺轴的负反馈调节,促使卵泡发育成熟,但也存在长期用药可能会造成卵巢过度刺激或导致卵巢功能早衰的风险^[3]。益母草颗粒是由益母草制备的中药颗粒剂,对妇科经产诸症如闭经、月经不调、排卵障碍等具有较好的疗效^[4]。雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是一种在细胞内恒定表达的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,作为一种主要的整合因子,被认为在卵巢生物学中起着重要的作用^[5]。磷酸化 mTOR(P-mTOR)为 mTOR 的活性状态,可使 mTOR 信号通路发挥一系列级联反应,促进 PCOS 的疾病进展^[6]。目前 mTOR 与 PCOS 的相关研究大多局限于动物实验^[7,8],故本次研究基于 P-mTOR/mTOR 通路探讨来曲唑片联合益母草颗粒对 PCOS 患者的作用及其机制,旨在为临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2021 年 4 月至 2022 年 8 月期间济南市第二妇幼保健院收治的 142 例 PCOS 患者。纳入标准:(1)参考《多囊卵巢综合征中国诊疗指南》^[9]中 PCOS 的相关诊断标准:月经稀发或闭经或不规则子宫出血;同时符合下列 2 项中的 1 项:① 高雄激素临床表现或高雄激素血症;② 超声下表现为多囊卵巢;并排除其他可能引起高雄激素的疾病和引起排卵异常的疾病即可确诊为 PCOS;(2)年龄 ≥ 18 岁;(3)研究对象签署知情同意书;(4)对本次研究用药无过敏、禁忌症者;(5)入组前 3 个月内未使用激素类或其他影响本研究的药物。排除标准:(1)存在既往盆腔手术史、子宫内膜异位症者;(2)由于库欣综合征、先天性肾上腺皮质增生等其他原因引起的高雄激素病者;(3)合并恶性肿瘤者;(4)精神疾病者;(5)合并严重心、肝、肾等原发性疾病者;(6)合并糖尿病、甲状腺等其他内分泌疾病者。按照随机数字表法将所有 PCOS 患者分为对照组(接受来曲唑片治疗, $n=71$) 和研究组(接受来曲唑片联合益母草颗粒治疗, $n=71$)。对照组病程 2~6 年,平均 (3.67 ± 0.41) 年;年龄 23~39 岁,平均 (31.59 ± 4.16) 岁;体质指数 $24.62 \sim 34.67 \text{ kg/m}^2$,平均 $(26.68 \pm 0.86) \text{ kg/m}^2$ 。研究组病程 1~6 年,平均 (3.63 ± 0.38) 年;年龄 25~38 岁,平均 (31.42 ± 3.95) 岁;体质指数 $24.25 \sim 37.13 \text{ kg/m}^2$,平均 $(26.35 \pm 0.74) \text{ kg/m}^2$ 。两组一般资料对比无差异

($P>0.05$),具有可比性。本研究经济南市第二妇幼保健院伦理委员会批准进行。

1.2 方法

对照组接受来曲唑片(国药准字 H20133109,规格:2.5 mg,生产单位:浙江海正药业股份有限公司)治疗,每次 2.5 mg,口服,每日 1 次。研究组在对照组的基础上联合益母草颗粒(国药准字 Z45020831,规格:每袋装 15 g,生产单位:广西金嗓子药业股份有限公司)治疗,开水冲服,1 次 15 g,1 日 2 次。两组均治疗 3 个月。

1.3 观察指标

抽取两组患者治疗前、治疗 3 个月后清晨空腹肘静脉血 6 mL,以 2800 r/min 离心 13 min,离心半径 6 cm,取上清液保存待检测。(1)性激素相关指标:采用全自动生化分析仪(重庆润康生物科技有限公司生产,型号规格:RC-480)检测两组血清黄体生成素(LH)、雌二醇(E_2)、促卵泡激素(FSH)和睾酮(T)水平。(2)空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)及胰岛素抵抗指数(HOMA-IR):采用葡萄糖氧化酶法检测两组的 FPG,试剂盒购自沈阳万类生物科技有限公司。采用放射免疫法检测 FINS 水平,试剂盒购自潍坊三维生物工程集团有限公司。并计算 $HOMA-IR = FPG \times FINS / 22.5$ 。(3)血清 P-mTOR 及 mTOR:采用双抗体夹心酶联免疫吸附实验法定量检测患者血清中的 P-mTOR 及 mTOR 水平。mTOR 试剂盒购自武汉赛培生物科技有限公司;P-mTOR 试剂盒购自上海赫果生物科技有限公司。

1.4 统计学方法

研究中所有数据均采用 SPSS 23.0 软件录入及统计分析,性激素指标、P-mTOR 及 mTOR 水平、空腹血糖等计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 进行描述,采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组性激素指标对比

两组治疗前 LH、 E_2 、FSH、T 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。两组治疗 3 个月后 LH、 E_2 、T 下降,FSH 上升($P<0.05$)。研究组治疗 3 个月后 LH、 E_2 、T 低于对照组,FSH 高于对照组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组性激素指标对比($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of sex hormone indexes in the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	Time points	LH(U/L)	$E_2(\text{pg/mL})$	FSH(U/L)	T(nmol/L)
Control group($n=71$)	Before treatment	19.58 ± 3.29	58.97 ± 6.35	6.05 ± 1.13	3.42 ± 0.56
	3 months after treatment	13.42 ± 2.32	47.51 ± 5.26	7.68 ± 1.37	2.36 ± 0.49
	t	12.893	11.711	-7.734	12.003
	P	0.000	0.000	0.000	0.000
Study group($n=71$)	Before treatment	19.21 ± 2.15	57.24 ± 6.29	6.09 ± 1.67	3.43 ± 0.54
	3 months after treatment	$8.99 \pm 1.26^*$	$38.23 \pm 5.18^*$	$9.27 \pm 0.83^*$	$1.43 \pm 0.42^*$
	t	34.557	19.658	-14.368	24.634
	P	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with the control group at 3 months after treatment, $*P<0.05$.

2.2 两组空腹血糖、FINS、HOMA-IR 对比

两组治疗前 FPG、FINS、HOMA-IR 组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。两组治疗 3 个月后 FPG、FINS、HOMA-IR 下

降 ($P<0.05$)。研究组治疗 3 个月后 FPG、FINS、HOMA-IR 低于对照组 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组空腹血糖、FINS、HOMA-IR 对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of fasting plasma glucose, FINS, HOMA-IR in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Time points	FPG (mmol/L)	FINS (mIU/L)	HOMA-IR
Control group (n=71)	Before treatment	6.25± 0.34	22.81± 3.23	6.34± 0.39
	3 months after treatment	5.56± 0.26	17.64± 3.05	4.36± 0.25
	t	13.584	9.806	36.015
	P	0.000	0.000	0.000
Study group (n=71)	Before treatment	6.22± 0.38	22.67± 2.64	6.27± 0.41
	3 months after treatment	5.19± 0.29*	14.78± 2.85*	3.41± 0.23*
	t	18.156	17.113	51.262
	P	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with the control group at 3 months after treatment, * $P<0.05$.

2.3 两组血清 P-mTOR 及 mTOR 水平对比

两组治疗前血清 P-mTOR 及 mTOR 水平组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。两组治疗 3 个月后血清 P-mTOR 及

mTOR 水平下降 ($P<0.05$)。研究组治疗 3 个月后血清 P-mTOR 及 mTOR 水平低于对照组 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组血清 P-mTOR 及 mTOR 水平对比 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum P-mTOR and mTOR levels in the two groups (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Time points	P-mTOR	mTOR
Control group (n=71)	Before treatment	68.97± 6.34	0.72± 0.09
	3 months after treatment	60.64± 6.19	0.58± 0.07
	t	7.921	10.346
	P	0.000	0.000
Study group (n=71)	Before treatment	69.14± 7.13	0.73± 0.11
	3 months after treatment	52.17± 8.10*	0.51± 0.08*
	t	13.251	13.629
	P	0.000	0.000

Note: Compared with the control group at 3 months after treatment, * $P<0.05$.

3 讨论

PCOS 病因复杂且尚未完全阐明,涉及促性腺激素分泌异常、下丘脑-垂体同步失调、颗粒细胞及卵母细胞功能障碍等多种内分泌代谢紊乱过程^[10,11]。近年来,P-mTOR/mTOR 信号通路与 PCOS 发病机制的关系已成为研究热点之一^[12]。相关文献显示,PCOS 患者的血清中 LH、E₂、FSH、T 等性激素水平异常变化^[13,14]。血清中过量 LH、E₂、T 水平以及低水平的 FSH 会刺激卵巢卵泡膜细胞,导致雄激素水平升高,阻碍卵泡发育、成熟,导致无法产生优势卵泡,从而造成稀发排卵或无排卵,引起不孕^[15,16]。相关资料显示,mTOR 可调控 LH 的分泌,且高水平的 LH 也可间接激活 PI3K/Akt/mTOR 通路,刺激卵泡膜细胞产生过量的雄激素^[17]。此外,有研究证实^[18],PCOS 患者体内

P-mTOR 水平异常可导致 T 水平异常分泌,二者共同参与了 PCOS 的发病过程。同时也有研究证实^[19],mTOR 通路作为细胞内胰岛素信号传导通路,在糖代谢方面也发挥着不可替代的作用。在 PCOS 患者中,FPG、FINS 水平的增加,HOMA-IR 也随之异常变化^[20],会激活代谢组织中的 mTOR 磷酸化为 P-mTOR,P-mTOR 发挥级联反应,激活下游效应蛋白,使胰岛素受体磷酸化,导致胰岛素与胰岛素受体结合减少,反馈性地减弱 IRS-PIK-Akt 通路的胰岛素信号下传^[21]。故本次研究基于 P-mTOR/mTOR 通路研究来曲唑片联合益母草颗粒对 PCOS 患者的作用及其机制。

来曲唑片是临床上用于治疗 PCOS 的药物,其可通过抑制芳香化酶,减少雄激素向雌激素转化,提高卵泡刺激素受体的敏感性,消除雌激素对性腺轴的负反馈调节,促进卵泡发育及

排出^[22]。益母草颗粒由益母草提取制备而成,益母草含有益母草碱等大量活性物质,功效主要为利尿消肿、活血调经、清热解毒^[23]。现代药理学研究表明,益母草可促进血液流动,抑制血小板聚集,改善微循环^[24]。

研究表明^[25],PCOS 患者的下丘脑-垂体-卵巢轴调节功能异常,促性腺激素释放激素的合成、分泌的生理脉冲频率异常增加,而高频率状态下的生理脉冲频率使得促性腺激素释放激素分泌对 LH、E₂、FSH、T 的合成产生一定的影响。有研究证实^[26],胰岛素抵抗是 PCOS 患者的基础病理特征,该病患者的 FPG 和 FINS 水平明显升高。本次研究结果显示,研究组的性激素水平、空腹血糖、FINS 以及 HOMA-IR 改善效果优于对照组,提示益母草颗粒、来曲唑片联合治疗有助于控制 PCOS 患者的性激素水平,并降低 FPG 和 FINS 水平,促进 HOMA-IR 改善。分析原因为当高雄激素水平受到抑制,且益母草颗粒渐进性促排卵,与来曲唑片联合应用可以避免不断刺激子宫内膜,促进卵巢功能恢复,恢复性激素水平的分泌有关^[26]。相关报道证实^[27],PCOS 体内 mTOR 异常磷酸化与 T 及 HOMA-IR 的变化呈明显正相关,推测三者可能参与了 PCOS 的发生、发展。本研究结果显示,来曲唑片联合益母草颗粒可有效改善 PCOS 患者的 P-mTOR/mTOR 水平,提示来曲唑片联合益母草颗粒可能通过调节 P-mTOR/mTOR 通路来实现调控性激素和血糖相关指标水平。

综上所述,来曲唑片联合益母草颗粒可有效改善 PCOS 患者的性激素、血糖相关指标、FINS 水平以及 HOMA-IR,考虑其具体的机制可能与调节 P-mTOR/mTOR 通路有关。

参考文献(References)

- [1] Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14 (5): 270-284
- [2] Jin P, Xie Y. Treatment strategies for women with polycystic ovary syndrome[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 34(4): 272-277
- [3] Franik S, Le QK, Kremer JA, et al. Aromatase inhibitors (letrozole) for ovulation induction in infertile women with polycystic ovary syndrome[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 9(9): CD010287
- [4] 孙艳华, 邵莹. 益母草颗粒联合炔雌醇环丙孕酮对多囊卵巢综合征伴不孕患者性激素水平及排卵率的影响 [J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(18): 3041-3043
- [5] Cheng Y, Kim J, Li XX, et al. Promotion of ovarian follicle growth following mTOR activation: synergistic effects of AKT stimulators [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117769
- [6] Battaglion S, Benjamin D, Wälchli M, et al. mTOR substrate phosphorylation in growth control[J]. *Cell*, 2022, 185(11): 1814-1836
- [7] 马智, 胡俊, 邓煜, 等. 白藜芦醇调节 Akt/mTOR 通路对大鼠多囊卵巢综合征颗粒细胞自噬的影响机制研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2021, 46(4): 388-393
- [8] 钟毅征, 林静, 谢蓬蓬, 等. 针刺通过 lncRNA MEG3 调控 AKT/mTOR 自噬途径治疗大鼠多囊卵巢综合征的作用机制[J]. *山西医科大学学报*, 2022, 53(4): 448-454
- [9] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(1): 2-6
- [10] Sadeghi HM, Adeli I, Calina D, et al. Polycystic Ovary Syndrome: A Comprehensive Review of Pathogenesis, Management, and Drug Repurposing[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 583
- [11] Collée J, Mawet M, Tebache L, et al. Polycystic ovarian syndrome and infertility: overview and insights of the putative treatments [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(10): 869-874
- [12] 张颖颖. P-mTOR 及 mTOR 在多囊卵巢综合征的表达及意义[D]. 河南: 新乡医学院, 2021
- [13] 贾均城, 孙静, 李秀芳, 等. 多囊卵巢综合征孕妇孕早期血清抗苗勒氏管激素、性激素水平及不良结局 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(8): 1926-1928
- [14] Dewailly D, Robin G, Peigne M, et al. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(6): 709-724
- [15] 王芳, 李秀娟, 尹宝枝, 等. 多囊卵巢综合征不孕患者血清 HSP70、FSH、LH 水平及与脂代谢关系 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30 (7): 1617-1620
- [16] 彭丽敏, 韩丽荣, 焦玉梅. 多囊卵巢综合征不孕患者肠道菌群与血清性激素及脂肪因子关系 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(7): 1612-1616
- [17] Palaniappan M, Menon KM. Luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin-mediated activation of mTORC1 signaling is required for androgen synthesis by theca-interstitial cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(10): 1732-1742
- [18] 马璠璠, 管海云, 王璐, 等. 多囊卵巢综合征患者颗粒细胞 mTOR 通路改变与生殖内分泌异常的相关性 [J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2020, 40(4): 287-293
- [19] Cai X, Li H, Wang M, et al. mTOR participates in the formation, maintenance, and function of memory CD8T cells regulated by glycometabolism[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 65(204): 115197
- [20] 薄晓莉, 潘静, 朱爱丽, 等. 多囊卵巢综合征患者 HOMA-IR 与 T 及 SHBG 水平的相关性研究 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13 (8): 1369-1371, 1376
- [21] Liu J, Wu DC, Qu LH, et al. The role of mTOR in ovarian Neoplasms, polycystic ovary syndrome, and ovarian aging [J]. *Clin Anat*, 2018, 31(6): 891-898
- [22] Tsiami AP, Goulis DG, Sotiriadis AI, et al. Higher ovulation rate with letrozole as compared with clomiphene citrate in infertile women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hormones (Athens)*, 2021, 20(3): 449-461
- [23] 王滨, 孙莹, 黄萍, 等. 益母草的药理作用研究及其在妇产科疾病中的临床应用进展[J]. *河北中医*, 2021, 43(11): 1933-1936
- [24] 张雪, 宋玉琴, 杨雨婷, 等. 益母草活血化瘀化学成分与药理作用研究进展[J]. *药物评价研究*, 2015, 38(2): 214-217
- [25] Harada M. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome revisited: Current understanding and perspectives regarding future research[J]. *Reprod Med Biol*, 2022, 21(1): e12487
- [26] 赵子涵, 于潇, 刘鹏飞, 等. 多囊卵巢综合征不孕患者性激素水平与免疫失衡及胰岛素抵抗指数的关系研究[J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22(19): 3680-3683, 3693
- [27] 张颖颖, 王慧玲, 杨君. 多囊卵巢综合征患者血清磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白表达及临床意义[J]. *新乡医学院学报*, 2022, 39(1): 25-28, 33