基础研究 DOI :10.13406/j.cnki.cyxb.001231

不同剂量戊酸雌二醇防治大鼠宫腔粘连的作用研究

王 显，何援利，蔡慧华，李慧娟，胡海燕，任旭雯，陈思萍，张冬梅
南方医科大学珠江医院妇产科，广州 510282）

［摘 要］目的：研究不同剂量的戊酸雌二醇（estradiol valerate，E_2V）对大鼠宫腔粘连（intrauterine adhesions，IUA）的防治效果。方法：将 48 只 8~10 周龄健康雌性 SD 大鼠随机分为 8 组：空白对照组、实验对照组、3 个雌激素预防组（低、中、高剂量）、3 个雌激素治疗组（低、中、高剂量）。收集各组大鼠子宫组织，HE 染色观察子宫内膜腺体，MASSON 染色观察子宫内膜纤维化程度，免疫组化法检测子宫内膜转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）、基质金属蛋白酶-9（matrix metalloproteinase-9，MMP-9）、雌激素受体-α（estrogen receptor-α，ER-α）的表达水平。结果：与实验对照组相比，3 个雌激素预防组大鼠的子宫内膜腺体计数增多（P 值均为 0.000）、纤维化面积降低（$P_{低雌A组}$=0.013，$P_{中雌A组}$=0.021，$P_{高雌A组}$=0.003），差异均有统计学意义，3 个雌激素治疗组大鼠的子宫内膜腺体计数（$P_{低雌B组}$=0.536，$P_{中雌B组}$=0.536，$P_{高雌B组}$=1.000）及纤维化面积（P 值均为 1.000）与实验对照组相比均无显著性差异；6 个雌激素组的子宫内膜 TGF-β1 表达水平均降低（P 值均为 0.000），其中中、高剂量组均低于低剂量组（P 值分别为 0.003 及 0.002），而中、高剂量 2 组相比无差异（P=0.842）；6 个雌激素组子宫内膜 MMP-9 表达水平均升高（P 值均为 0.000），中、高剂量组均高于低剂量组（P 值均为 0.000），而中、高剂量 2 组相比无差异（P=0.379）；6 个雌激素组子宫内膜 ER-α 表达水平均有升高（P 值均为 0.000），中、高剂量组均高于低剂量组（P 值均为 0.000），而中、高剂量 2 组相比无差异（P=0.513）。结论：在大鼠 IUA 建模早期应用雌激素，可显示较好疗效，但 ER-α 饱和后，其疗效不随剂量增加而增强；在建模完成后应用雌激素，治疗效果欠佳，考虑是否与单一治疗有关，如能增加其他治疗方法也许能增强疗效。

［关键词］宫腔粘连；纤维化；戊酸雌二醇；雌激素受体-α
［中图分类号］R711.4 ［文献标志码］A ［收稿日期］2016-11-01

Effects of different doses of estradiol valerate on intrauterine adhesion in rats

Wang Xian，He Yuanli，Cai Huihua，Li Huijuan，Hu Haiyan，Ren Xuwen，Chen Siping，Zhang Dongmei
(Department of Obstetrics and Gynecology，Zhujiang Hospital，Southern Medical University)

［Abstract］***Objective***：To evaluate the prevention and treatment effect of estrodiol valerate on rats intrauterine adhesion. ***Methods***：Forty-eight 8-10 weeks old female SD rats were randomized into 8 groups，6 rats per group：blank control group，experimental control group，three prevention estrogen groups（low dose，medium dose，high dose），three treatment estrogen groups（low dose，medium dose，high dose）. The uteri were collected. Number of endometrial glands was tested by HE staining；degree of endometrial fobrosis was evaluated by Masson staining，and the endometrial expressions of transforming growth factor-β1（TGF-β1），matrix metalloproteinase-9（MMP-9）and estrogen receptor-α（ER-α）were detected by immunohistochemistry. ***Results***：In three prevention estrogen groups，endometrial glands increased（the P values were all 0.000），endometrial fibrosis area ratio decreased（the P values were：$P_{low\ group\ A}$=0.013，$P_{medium\ group\ A}$=0.021，$P_{high\ group\ A}$=0.003 respectively），with statistically significant differences. In three treatment estrogen groups，endometrial glands（P values were：$P_{low\ group\ B}$=0.536，$P_{medium\ group\ B}$=0.536，$P_{high\ group\ B}$=1.000）and endometrial fibrosis area ratio（the P values were all 1.000）had no improvement compared with those of experimental control group. TGF-β1 expression level was much lower in 6 estrogen groups than in experimental control group（the P values were all 0.000）；lower in medium dose and high dose estrogen group than in of low dose estrogen group（the P values were 0.003 and 0.002 respectively）；there was no significant difference between high dose group and medium dose group（P=0.842）. MMP-9 expression level was much higher in 6 estrogen groups than in experimental control group（the P values were 0.000），higher in medium dose and high dose estrogen group than in low dose group（P=0.000，P=0.379）. ER-α expression level was much higher in 6 estrogen groups than in experimental control group（the P values were all 0.000），higher in medium dose and high dose estrogen group than in low dose group（the P values were 0.000），there was no significant difference between high dose group and medium dose group（P=0.513）. ***Conclusion***：Estrodiol valerate can prevent rat intrauterine adhesion. The prevention effect is not enhanced with the increase of the dose after the saturation of ER-α. Separate application of E_2V to treat IUA is helpless，comprehensive treatment like TCRA is needed.

［Key words］intrauterine adhesion；fibrosis；estradiol valerate；estrogen receptor-α

作者简介：王 显，Email：787516923@qq.com，
研究方向：主要从事妇科内分泌及妇科肿瘤的研究
通信作者：何援利，Email：heyuanli310@163.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81270658）。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170426.1128.016.html（2017-04-26）

宫腔粘连（intrauterine adhesions，IUA）是指由于创伤、感染、炎症反应等因素导致子宫内膜损伤后纤维化增生过度，进而导致子宫失去原有生理功能的一种纤维化性疾病。宫腔镜下宫腔粘连分离术（transcervical resection of adhesion，TCRA）是临床主要的治疗方法，但重度粘连分离术后的复发率高[1]，妊娠成功率则更低。因此各国学者尝试通过术后辅助治疗来改善 IUA 的疗效。TCRA 术后应用雌激素预防粘连复发、促进内膜修复这一举措在世界范围已成为共识[2-3]，但雌激素剂量的应用尚存在争议，部分临床试验显示，TCRA 术后服用大剂量雌激素对预防 IUA 的复发、术后月经恢复和提高妊娠率等均具有显著疗效[4-5]，但也有研究结果显示 TCRA 术后服用大剂量雌激素反而会加重 IUA 程度[6]。雌激素对机体有着多方面的重要的调节作用，其作用依赖于雌激素受体（estrogen receptors，ERs）的介导，而雌激素受体-α（estrogen receptor-α，ER-α）常见表达于子宫内膜组织中，因此本文选择 ER-α 作为观察雌激素作用的指标之一。宫腔粘连病理表现与纤维化疾病相同[7]，因此国内外众多研究者将宫腔粘连作为纤维化性疾病研究，与纤维化疾病相关的细胞因子众多，转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）、基质金属蛋白酶-9（matrix metalloproteinase-9，MMP-9）是纤维化疾病研究比较广泛的细胞因子，因此本课题选择该两者作为观察雌激素治疗大鼠宫腔粘连的效果评价辅助指标。

本研究采用本团队自创的机械和感染双重损伤法构建 SD 大鼠 IUA 模型[8-9]。再予以不同剂量的戊酸雌二醇（estradiol valerate，E_2V）在不同时期应用于 IUA 模型，通过观察子宫内膜纤维化面积比，子宫内膜腺体计数，子宫内膜TGF-β1、MMP-9 及ER-α 的表达，来评估雌激素对 IUA 的预防及治疗效果，为雌激素应用于临床 IUA 的治疗提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用 8~10 周龄成年雌性 SD 大鼠（大鼠购于南方医科大学动物实验中心），SPF 级，体质量 250~300 g。室温（23±2）℃，环境湿度控制在 45%~55%，光照时间 12 h，自由摄水，适应性饲养 7 d。

1.2 主要仪器及试剂

戊酸雌二醇购于德国拜耳公司；细菌脂多糖（LPS）购于美国 Sigma 公司；水合氯醛购于南方医科大学珠江医院；MASSON 染色试剂盒购于中国江苏凯基公司；TGF-β1 多克隆抗体购于美国 Bio-Rad 公司；MMP-9 多克隆抗体购于英国 Abcam 公司；多聚甲醛购于中国武汉博士德公司；显微镜为日本奥林巴斯公司。

1.3 实验分组

将 48 只 8~10 周龄成年雌性 SD 大鼠随机分为 8 个组，每组 6 只大鼠（大鼠为“Y”字型双子宫，每组共 12 个子宫）。

1.3.1 空白对照组 不构建 IUA 模型，不行 E_2V 灌胃处理，仅灌胃生理盐水作为对照。

1.3.2 实验对照组 构建大鼠 IUA 模型，造模后不行 E_2V灌胃处理，仅灌胃生理盐水作为对照。

1.3.3 3 个雌激素预防组（高、中、低剂量）分别为低雌 A 组、中雌 A 组、高雌 A 组 在行 IUA 造模当天开始行 E_2V 灌胃处理（宫腔粘连尚未形成时），灌胃剂量分别为 0.206、0.514、1.028 mg/（kg·d）。

1.3.4 3 个雌激素治疗组（高、中、低剂量）分别为低雌 B 组、中雌 B 组、高雌 B 组 在行 IUA 造模后第 9 天开始 E2V 灌胃处理（宫腔粘连形成后），灌胃剂量分别为 0.206、0.514、1.028 mg/（kg·d）。

1.4 构建大鼠宫腔粘连模型

造模方法采用刮宫加感染双重损伤法[8-9]，将 10 号医用无菌手术线浸泡于 6 mg/L 的脂多糖生理盐水中，4 ℃放置 24 h 备用。大鼠麻醉方法采用 10%水合氯醛 0.35 mL/100 g 大鼠腹腔注射，麻醉成功后，严格无菌操作，切开大鼠下腹部，暴露大鼠子宫，于宫颈上方约 5 mm 处作纵行切口，长度约 4 mm，采用自制大鼠宫腔刮勺经宫颈上方切口对大鼠行刮宫术，待宫腔四壁出现粗糙感时停止刮宫。将制作好的脂多糖棉线置入已行刮宫术的宫腔，在腹壁留一定长度的尾丝以便下一步取出棉线。生理盐水冲洗腹腔，缝合大鼠腹壁。24 h 后取出脂多糖棉线，9 d 后即可形成稳定的大鼠宫腔粘连模型。本课题组前期研究已经通过解剖及病理证实了宫腔粘连的模型成功。

1.5 雌激素的剂量换算

E_2V 的灌胃剂量按照动物实验等效剂量换算法换算[10]，以上低、中、高 3 种 E_2V 的灌胃剂量分别相当于 60 kg 成年女性的 E_2V 口服剂量 2、5、10 mg/d。临床应用 E_2V 的治疗时限一般为 2~3 个月经周期[7]，造模当日和造模后 9 d 分别给予 E_2V 灌胃的时间均选择持续 24 d，为大鼠生理周期的 4~6 个周期，保证 E_2V 作用时间足够。

1.6 实验流程

空白对照组、实验对照组和 3 个雌激素 A 组大鼠分别于实验第 24 天处死，收集双侧子宫组织；3 个雌激素 B 组于造模第 9 天开始灌胃，24 d 后（即实验第 33 天）处死，收集双侧子宫组织。进行 HE 染色观察子宫内膜腺体，MASSON 染色观察子宫内膜纤维化程度，免疫组化法检测子宫内膜 TGF-β1、MMP-9、ER-α 的表达水平。

1.7 统计分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析，所有实验数据均用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间整体比较采用单因素方差分析，各组间两两比较：符合方差齐性，则采用 LSD-t 法；若不符合方差齐性，则采用 Tamhane's $T3$ 检验。两组间的均值比较采用独立样本 t 检验。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 各组大鼠子宫内膜纤维化面积比结果

各组大鼠纤维化面积比结果比较采用单因素方差分析，各组纤维化面积比方差不齐（F=3.820，P=0.013）。采用 Welch 法检测（F=230.634，P=0.000）。各组间的多重比较采用 Dunnett's $T3$ 方法检验。

与空白对照组相比，经过 IUA 造模处理的各组大鼠子宫内膜纤维化面积比明显升高，差异具有显著性，各组比较的 P 值分别为：$P_{实验对照组}$=0.001，$P_{低雌\ A\ 组}$=0.000，$P_{中雌\ A\ 组}$=0.043，$P_{高雌\ A\ 组}$=0.006，$P_{低雌\ B\ 组}$=0.000，$P_{中雌\ B\ 组}$=0.039，$P_{高雌\ B\ 组}$=0.025。与实验对照组比较，3 个雌激素 A 组显著降低，各组比较的 P 值分别为：$P_{低雌\ A\ 组}$=0.013，$P_{中雌\ A\ 组}$=0.021，$P_{高雌\ A\ 组}$=0.003，3 个雌激素 B 组无显著性差异，各组比较的 P 值分别为 $P_{低雌\ B\ 组}$=1.000，$P_{中雌\ B\ 组}$=1.000，$P_{高雌\ B\ 组}$=1.000。3 个雌激素 A 组的组间比较，与低雌 A 组相比，中雌 A 组和高雌 A 组显著降低（P<0.05）；中雌 A 组与高雌 A 组相比差异无显著性，P=0.988。3 个雌激素 B 组的组间比较，差异无显著性，均为 P=1.000（表 1，图 1）。

表 1 各组大鼠子宫内膜腺体计数及纤维化面积比(n=12)

Tab.1 Number of endometrial glands and fibrotic percentage in each group(n=12)

分 组	纤维化面积比 (%)	腺体计数 (个)
空白对照组	24.22±0.02	8.67±0.58
实验对照组	95.19±0.03	1.67±0.58
低雌 A 组	62.37±0.02[a]	4.33±0.58[a]
中雌 A 组	42.07±0.01[ab]	6.33±0.58[ab]
高雌 A 组	44.49±0.02[ab]	5.67±0.58[ab]
低雌 B 组	92.96±0.03	1.33±0.58
中雌 B 组	90.92±0.06	2.00±1.00
高雌 B 组	93.49±0.06	1.67±0.58
合 计	68.21±0.27	3.96±2.67
F 值	230.634	53.586
P 值	0.000	0.000

注：[a]，与实验对照组相比，P<0.05；[b]，与低雌 A 组相比，P<0.05

2.2 各组大鼠子宫内膜腺体计数结果

各组大鼠子宫内膜腺体计数结果比较采用单因素方差分析，方差齐性（F=0.250，P=0.965）。整体比较各组腺体计数结果具有统计学差异（F=53.586，P=0.000）。

与空白对照组相比，经过 IUA 造模的各组子宫内膜腺体计数明显减少（P<0.05）。3 个雌激素 A 组明显高于实验对照组（P<0.05）；3 个雌激素 B 组与实验对照组相比无统计学差异（P 值分别为 0.536、0.536、1.000）。3 个雌激素 A 组的组间两两比较，中雌 A 组和高雌 A 组明显高于低雌 A 组（P<0.05）；中雌 A 组和高雌 A 组相比无统计学差异（P=0.224）。3 个雌激素 B 组的组间两两比较，中雌 B 组和高雌 B 组与低雌 B 组差异无统计学意义（P 值分别为 0.224、0.536），中雌 B 组和高雌 B 组比较亦无统计学差异（P=0.536），见表 1，图 2。

2.3 各组大鼠子宫内膜 TGF-β_1 表达结果

各组大鼠子宫内膜 TGF-β_1 表达水平采用单因素方差分析，方差不齐（F=6.594，P=0.001），采用 Welch 法检测（F=26.353，P=0.000）。采用 Dunnett's $T3$ 法进行各组间的两两比较。

与空白对照组相比，IUA 造模各实验组子宫内膜 TGF-β1 表达水平明显升高（P=0.000）。6 个雌激素组大鼠的表达水平较实验对照组明显降低（P=0.000）。3 个雌激素 A 组的组间比较，与低雌 A 组相比，中雌 A 组、高雌 A 组表达量明显降低（P 值分别为 0.003、0.002）；中雌 A 组与高雌A 组相比无统计学差异（P=0.842）；3 个雌激素 B 组的组间比较，中雌 B 组、高雌 B 组的表达水平较低雌 B 组明显降低（P 值分别为0.001、0.002），中雌 B 组与高雌 B 组相比无统计学差异（P=0.918）；灌胃相同剂量的 E_2V 实验组的组间比较，低雌 A 组与 B 组、中雌 A 组与 B 组、高雌 A 组与 B 组的表达水平无统计学差异（P 值分别为 0.747、0.984、0.778），见表 2。

2.4 各组大鼠子宫内膜 MMP-9 表达结果

各组大鼠子宫内膜 MMP-9 表达结果比较采用单因素方

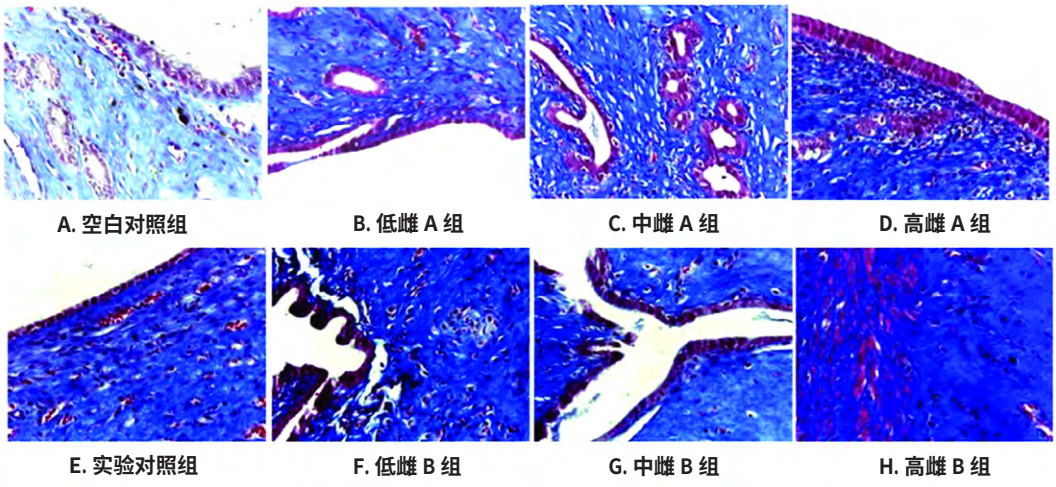


图 1 Masson 染色图片(400×)

Fig.1 Masson staining of each group(400×)

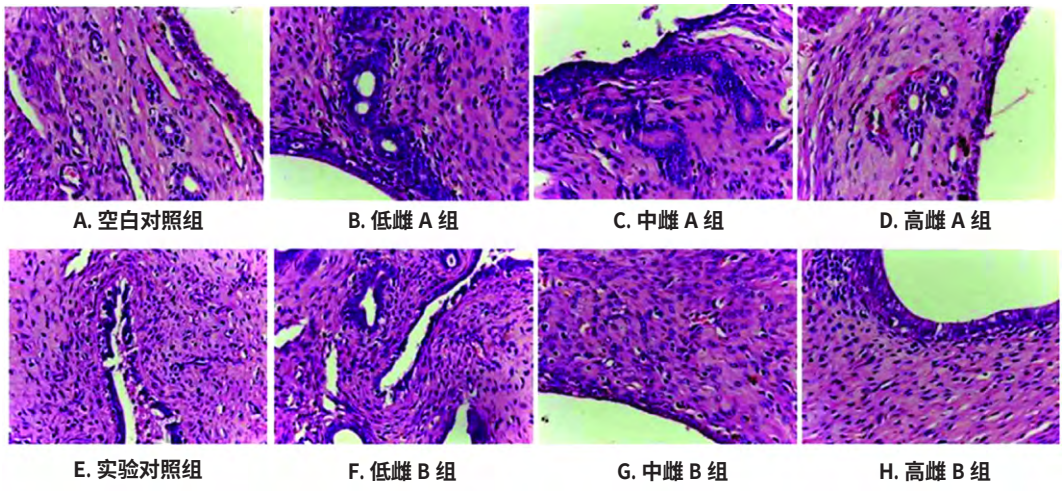


图 2　HE 染色图片(400×)

Fig.2　HE staining of each group(400×)

差分析，方差齐性（k=1.446，P=0.255）。整体比较各组间MMP-9 表达情况，具有统计学差异（k=92.510，P=0.000）。各组间两两比较采用 LSD-t 法分析。

空白对照组与实验对照组无统计学差异（P=0.672）；分别与空白对照组及实验对照组相比，6 个雌激素组子宫内膜 MMP-9 表达水平均明显升高，P 值均为 0.000。中雌 A 组、高雌 A 组明显高于低雌 A 组，P 值均为 0.000；中雌 A 组与高雌 A 组相比结果无统计学差异（P=0.379）；中雌 B 组和高雌 B 组明显高于低雌 B 组，P 值均为 0.000，中雌 B 组与高雌 B 组比较无统计学差异（P=0.550）。灌胃相同剂量的 E_2V 组间比较，低雌 A 组与 B 组、中雌 A 组与 B 组、高雌 A 组与 B 组均无统计学差异（P 值分别为 0.893、0.421、0.279），见表 2。

表 2　各组大鼠子宫内膜 TGF-β1、MMP-9、ER-α 表达水平结果(n=12)

Tab.2　Rats endometrial expression level of TGF-β1,MMP-9, ER-α in each group(n=12)

分 组	TGF-β	MMP-9	ER-α
空白对照组	0.023 7±0.002 9	0.022 0±0.009 3	0.251 5±0.019 0
实验对照组	0.101 8±0.018 9	0.020 0±0.003 2	0.023 3±0.009 3
低雌 A 组	0.068 4±0.006 2[a]	0.044 8±0.003 6[a]	0.089 3±0.002 3[a]
中雌 A 组	0.045 7±0.003 0[ab]	0.089 6±0.006 0[ab]	0.146 5±0.009 9[ab]
高雌 A 组	0.044 4±0.002 2[ab]	0.093 8±0.006 6[ab]	0.151 9±0.006 5[ab]
低雌 B 组	0.070 5±0.005 6[a]	0.045 4±0.003 6[a]	0.081 8±0.002 2[a]
中雌 B 组	0.045 6±0.004 0[ab]	0.085 8±0.005 3[ab]	0.139 2±0.005 9[ab]
高雌 B 组	0.046 3±0.005 0[ab]	0.008 6±0.005 4[ab]	0.144 3±0.011 7[ab]
合 计	0.055 8±0.023 6	0.061 3±0.030 5	0.128 5±0.064 3
F 值	26.353	92.510	138.359
P 值	0.000	0.000	0.000

注：a，与实验对照组相比，P<0.05；b：与低雌 A 组和（或）低雌 B 组相比，P<0.05

2.5　各组大鼠子宫内膜 ER-α 表达结果

各组大鼠子宫内膜 ER-α 的表达结果采用单因素方差分析，方差齐性（k=2.204，P=0.090）。整体比较各组大鼠子宫内膜 ER-α 表达水平，具有统计学差异（k=138.359，P=0.090）。各组间比较采用 LSD-t 法分析。

各造模组与空白对照组比较明显降低（P 值均为0.000）。6 个雌激素组与实验对照组比较明显升高（P 值均为 0.000）。中雌 A 组和高雌 A 组较低雌 A 组明显升高（P 值均为0.000），中雌 A 组和高雌 A 组比较无统计学差异（P=0.513）；中雌 B 组和高雌 B 组较低雌 B 组明显升高（P 值均为0.000），中雌 B 组和高雌 B 组间比较无统计学差异（P=0.536）；灌胃相同 E_2V 剂量的组间比较，低雌 A 组和 B 组、中雌 A 组和 B 组、高雌 A 组与 B 组均无统计学差异（P 值分别为 0.359、0.378、0.359），见表 2。

3　讨　论

ERs 是一组广泛表达于细胞内外的蛋白质，扩散到细胞核的雌激素与其结合后引发基因调控机制，调节下游基因的转录。现有的研究结果显示ER-α 对部分纤维化性疾病具有保护性作用，国外学者的研究显示 ER-α的表达与肝脏纤维化呈负相关，17β-E2 可通过 ER-α 的介导预防心肌纤维化[11]。目前关于 ER-α 在IUA 中的研究尚不深入，为数不多的国内研究结果也存在争议[12-13]。本研究中，经过 IUA 造模后的各实验组与空白对照组相比，ER-α 均明显下降。灌胃 E_2V 后 6 个实验组的子宫内膜 ER-α 表达水平均升高，其中灌胃中、高剂量较低剂

量的 ER-α表达水平高，但中、高剂量相比又无差异；相同剂量在不同时期用药的结果无显著差异。说明在大鼠 IUA 造模早期和成模后的不同时期应用雌激素，均有提高ER-α 的作用，但 ER-α 饱和后，其疗效不随剂量增加而增强，具体机制还有待后续的研究证实。

TGF-β1 是一种多效能生长因子，是最常见、研究最深入的促纤维化形成因子，研究显示雌激素可通过降解 Smad2/3 蛋白从而抑制 TGF-β1 信号通路发挥作用[14]。在肝纤维化、纤维性海绵体炎、糖尿病肾病的发生发展过程中，雌激素均通过抑制 TGF-β1信号通路而起到治疗作用。本研究中 3 个雌激素 A 组随着 E_2V 剂量的增加，子宫内膜 TGF-β1 表达水平明显降低，纤维化程度减轻，腺体计数增加，可能与雌激素通过抑制 TGF-β1 信号通路减轻了宫腔纤维化有关。3 个雌激素 B 组亦随着 E_2V 剂量的增加，TGF-β1 表达亦明显降低，但子宫内膜纤维化程度及腺体计数并未好转，考虑是否 IUA 成模后再仅单纯应用雌激素治疗则效果欠佳。

基质金属蛋白酶类（MMPs）家族是一组需要金属元素催化、分解细胞外基质的蛋白酶，可降解已形成的纤维化组织[15]。Yin 等[16]证实在孕期高雌状态下，MMP-2、MMP-9 高表达可起到抑制宫缩等作用。然而人工流产、产后刮宫等操作均伴随体内 E_2 的骤降，可能导致 MMP-2、MMP-9 急剧下降，在子宫内膜的修复中，降解纤维化的细胞因子缺乏，促纤维化的细胞因子占主导地位，从而使宫腔过度纤维化，瘢痕形成，导致 IUA 的发生。本实验中 3 个雌激素 A 组的大鼠子宫内膜 MMP-9 随着 E2V 剂量的增加，表达水平增高，子宫内膜纤维化面积比显著降低，腺体计数显著增加，说明造模同时应用E_2V 可减轻 IUA 程度。3 个雌激素 B 组，随 E_2V 剂量的增加，MMP-9 表达水平虽升高，但子宫内膜纤维化面积比、腺体计数并无改善，表明 IUA 成模后再仅应用 E_2V 治疗，治疗效果不太明显。

临床标准的宫腔粘连治疗方法是：宫腔粘连分离术+物理隔离宫腔，术后辅助应用雌激素制剂[7]，本研究由于大鼠宫腔小，无法进行宫腔粘连分离术，所以成模后的治疗无法完全模拟临床，其治疗作用欠佳的结果，考虑是否与仅仅单纯应用雌激素治疗有关，如增加其他方法综合治疗是否能增强疗效还有待今后的研究证实。

参 考 文 献

[1] Yu D，Wong YM，Cheong Y，et al. Asherman syndrome--one century later[J]. Fertil Steril，2008，89（4）：759-779.

[2] AAGL Advancing Minimally Invasive Gynecology Worldwide. AAGL practice report：practice guidelines for management of intrauterine synechiae[J]. J Minim Invasive Gynecol，2010，17（1）：1-7.

[3] Duan H. Expert consensus on the diagnosis and management of intrauterine adhesions in China[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi，2015，50（2）：881-887.

[4] 乔 琳. 大剂量雌激素联合 IUD、Interceed 治疗中重度宫腔粘连的临床效果观察[D]. 广州：南方医科大学，2013.

[5] Evans-Hoeker EA，Young SL. Endometrial receptivity and intrauterine adhesive disease[J]. Semin Reprod Med，2014，32（6）：392-401.

[6] 陈 芳，段 华，张 颖，等. 不同水平雌激素在宫腔粘连形成中的作用及相关机制[J]. 中华妇产科杂志，2010，45（2）：917-920.

[7] 中华医学会妇产科学分会. 宫腔粘连临床诊疗中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志，2015，50（2）：881-887.

[8] Liu F，Zhu ZJ，Li P，et al. Creation of a female rabbit model for intrauterine adhesions using mechanical and infectious injury[J]. J Surg Res，2013，183（1）：296-303.

[9] Li J，Du S，Sheng X，et al. MicroRNA-29b inhibits endometrial fibrosis by regulating the sp1-tgf-beta1/Smad-ctgf axis in a rat model[J]. Reprod Sci，2016，23（3）：386-394.

[10] 黄继汉，黄晓晖，陈志扬，等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学，2004，9（9）：1069-1072.

[11] Mahmoodzadeh S，Leber J，Zhang X，et al. Cardiomyocyte-specific estrogen receptor alpha increases angiogenesis，lymphangiogenesis and reduces fibrosis in the female mouse heart post-myocardial infarction[J]. J Cell Sci Ther，2014，5（1）：153.

[12] 管媚媚，刘畅浩，黄妙玲，等. 雌、孕激素受体表达与宫腔粘连分离术后雌孕激素治疗疗效的相关性研究[J]. 现代妇产科进展，2014，26（6）：445-447.

[13] 成九梅，靳 琳，夏恩兰，等. 雌孕激素受体及转化生长因子β1 在宫腔粘连发病机制中的作用[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2005，21（9）：539-541.

[14] Ito I，Hanyu A，Wayama M，et al. Estrogen inhibits transforming growth factor beta signaling by promoting Smad2/3 degradation[J]. J Biol Chem，2010，285（9）：14747-14755.

[15] 孙丽琴. 基质金属蛋白酶-9 在炎性反应中的作用[J]. 临床合理用药杂志，2012，5（9）：174-175.

[16] Yin Z，Sada AA，Reslan OM，et al. Increased MMPs expression and decreased contraction in the rat myometrium during pregnancy and in response to prolonged stretch and sex hormones[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab，2012，303（1）：E55-70.

责任编辑：方 济）