

本文引用:施书梅,姜培培,王晓燕,黄爱红.二陈汤对PCOS大鼠卵巢中NF- κ B和NLRP3介导炎症反应的调控作用[J].湖南中医药大学学报,2023,43(6):968-973.

二陈汤对PCOS大鼠卵巢中NF- κ B和NLRP3介导炎症反应的调控作用

施书梅¹,姜培培^{2*},王晓燕¹,黄爱红¹

1.海安市中医院妇产科,江苏 南通 226600;2.海安市中医院脑病科,江苏 南通 226600

〔摘要〕 目的 研究二陈汤对多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)大鼠卵巢中核因子- κ B(factor- κ B, NF- κ B)和NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)介导炎症反应的调控作用及意义。方法 将成年雌性SD大鼠随机分成空白对照组、PCOS组、二陈汤组、二甲双胍组。空白对照组给予普通饲料喂养,PCOS组、二陈汤组和二甲双胍组均采用来曲唑灌胃联合高脂饲料喂养的方式进行PCOS造模;空白对照组和PCOS组进行生理盐水灌胃,二陈汤组进行二陈汤灌胃,二甲双胍组进行二甲双胍灌胃,共30 d。采用HE染色检测卵巢组织形态学变化;采用试剂盒检测血清黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、雌二醇(estradiol, E2)、睾酮(testosterone, T)、抗米勒管激素(anti mullerian hormone, AMH)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平;计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);采用Western blot检测卵巢组织中TLR4、NF- κ B、NLRP3、ASC、Caspase-1的表达水平。结果 PCOS组大鼠卵巢组织中可见大量囊状扩张卵泡和闭锁卵泡,未见优势卵泡,黄体减少;血清LH、T、AMH、TC、TG、FBG、FINS、CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,LH-FSH、HOMA-IR水平,卵巢组织中TLR4、NF- κ B、NLRP3、ASC、Caspase-1的表达水平高于空白对照组($P<0.05$),血清FSH、E2水平低于空白对照组($P<0.05$)。二陈汤组和二甲双胍组卵巢组织中可见各级卵泡、黄体增多;血清LH、T、AMH、TC、TG、FBG、FINS、CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平,LH-FSH、HOMA-IR水平,卵巢组织中TLR4、NF- κ B、NLRP3、ASC、Caspase-1的表达水平低于PCOS组,血清FSH、E2水平高于PCOS组($P<0.05$)。结论 二陈汤可显著改善PCOS大鼠的卵巢形态学特征、内分泌紊乱并减轻炎症状态,抑制卵巢组织中NF- κ B和NLRP3介导的炎症反应可能是相关的分子机制。

〔关键词〕 多囊卵巢综合征;二陈汤;胰岛素抵抗;炎症反应;核因子- κ B;NOD样受体蛋白3

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.06.002

Regulation of Erchen Decoction on NF- κ B and NLRP3 mediated inflammatory response in ovaries of rats with polycystic ovary syndrome

SHI Shumei¹, JIANG Peipei^{2*}, WANG Xiaoyan¹, HUANG Aihong¹

1. Department of Gynecology and Obstetrics, Hai'an Hospital of Chinese Medicine, Nantong, Jiangsu 226600, China;

2. Department of Encephalopathy, Hai'an Hospital of Chinese Medicine, Nantong, Jiangsu 226600, China

〔Abstract〕 **Objective** To study the regulation of Erchen Decoction on nuclear factor- κ B (NF- κ B) and NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) mediated inflammatory response in ovaries of rats with polycystic ovary syndrome (PCOS), and to discuss the

〔收稿日期〕 2022-11-21

〔基金项目〕 南通市卫生健康委员会科研项目(QB2020015)。

〔第一作者〕 施书梅,女,硕士研究生,主治中医师,研究方向:中医妇科。

〔通信作者〕 *姜培培,男,硕士研究生,主治中医师,研究方向:中医内科, E-mail: 767968873@qq.com。

significance. **Methods** Adult female SD rats were randomly divided into blank group, PCOS group, Erchen Decoction group, and metformin group. Blank group was given normal feeding while PCOS group, Erchen Decoction group, and metformin group were all given letrozole by gavage combined with high-fat diet to establish PCOS model. After modeling, blank group and PCOS group were given normal saline by gavage, while Erchen Decoction group and metformin group were given corresponding drugs by gavage respectively for a total of 30 days. The ovarian histomorphological changes were detected by hematoxylin and eosin (HE) staining, while the levels of serum luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), testosterone (T), anti mullerian hormone (AMH), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), C-reactive protein (CRP), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were determined by kits. Then the insulin resistance index (HOMA-IR) was measured. And the expression levels of toll-like receptor 4 (TLR4), NF- κ B, NLRP3, ASC, and cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1) in ovarian tissue were measured by Western blot. **Results** In rats of PCOS group, there were a large number of expanded follicles and atresia follicles but no dominant follicles, and the corpus lutea decreased. The levels of serum LH, T, AMH, TC, TG, FBG, FINS, CRP, IL-1 β , IL-6, and levels of TNF- α , LH/FSH ratio, and HOMA-IR were higher than those of rats in blank group, so were the expression levels of TLR4, NF- κ B, NLRP3, ASC, Caspase-1 in rat ovarian tissue ($P<0.05$), while the levels of serum FSH and E2 were lower than those of rats in blank group ($P<0.05$). There were follicles at all levels and the corpus lutea increased in rat ovarian tissue in Erchen Decoction group and metformin group. In these two groups, the levels of serum LH, T, AMH, TC, TG, FBG, FINS, CRP, IL-1 β , IL-6, and levels of TNF- α , LH/FSH ratio, and HOMA-IR were lower than those of rats in PCOS group, so were the expression levels of TLR4, NF- κ B, NLRP3, ASC, and Caspase-1 in rat ovarian tissue, while the levels of serum FSH and E2 were higher than those of rats in PCOS group ($P<0.05$). **Conclusion** Erchen Decoction can significantly improve the ovarian morphological features and relieve endocrine disorders in rats with PCOS. Meanwhile, it can reduce inflammation and inhibit NF- κ B and NLRP3 mediated inflammatory response in the ovarian tissue.

[**Keywords**] polycystic ovary syndrome; Erchen Decoction; insulin resistance; inflammatory response; nuclear factor- κ B; NOD-like receptor protein 3

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种以月经紊乱、稀发排卵或无排卵、高雄激素血症、胰岛素抵抗、肥胖、糖脂代谢紊乱为主要特征的生殖代谢功能异常疾病^[1-2]。近些年,关于 PCOS 的分子生物学研究认为慢性微炎症的持续激活是与疾病发生发展密切相关的分子机制之一,卵巢组织中核因子- κ B (factor- κ B, NF- κ B) 以及 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 介导的炎症反应不仅与卵巢多囊样改变及排卵障碍有关,还参与全身胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱的发生^[3-4]。因此,针对 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应进行干预是纠正 PCOS 相关生殖代谢功能异常的有效靶点。中医学认为,PCOS 属于“月经不调”“闭经”“癥瘕”范畴,“痰湿不孕”是疾病的重要病机^[5],出自《太平惠民和剂局方》的二陈汤能够针对 PCOS 的“痰湿不孕”发挥燥湿化痰作用,相关动物实验证实二陈汤对 PCOS 大鼠的卵巢多囊样改变、胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱具有改善作用^[6-7],但相关的分子机制并不清楚。为深入认识二陈汤治疗 PCOS 的分子机制,本研究将通过动物实验观察二陈汤对 PCOS 大鼠卵巢中 NF- κ B 和 NLRP3 介导炎症反应的调控

作用及意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 8 周龄、SPF 级 SD 雌性大鼠,体重 200~220 g,使用许可:SYXK(苏)2016-0050。动物实验遵循 3R 原则,取得医院伦理委员会批准(批准日期 2020-11-20)。

1.1.2 实验药物 参照文献[6-7]制备二陈汤,汤剂组成为半夏 12 g、陈皮 9 g、茯苓 15 g、甘草 6 g,由医院药剂科提供,混合浓缩成生药含量为 0.88 g/mL 的水煎剂;来曲唑片和盐酸二甲双胍片分别购买于江苏恒瑞医药股份有限公司和中美上海施贵宝制药有限公司。

1.1.3 实验试剂 HE 染色试剂盒(批号 M027,上海歌凡生物公司);酶联免疫吸附法测定试剂盒(上海西唐生物科技有限公司);生化检测配套试剂(批号 969706,美国 Beckman 公司);小鼠来源抗大鼠 Toll 样受体 4 (TLR4) (批号 ab13556)、NF- κ B (批号 ab220803)、NLRP3 (批号 ab263899)、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) (批号 ab283684)、胱天蛋白酶-1

(Caspase-1)(批号 ab207802)—抗(美国 Abcam 公司)。

1.1.4 实验仪器 E100 型光学显微镜(日本 Nikon 公司);AU5800 型生化分析仪(美国 Beckman 公司);EPS300 型凝胶电泳仪、Tanon4800 型凝胶化学发光系统(上海天能公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组、PCOS 造模及药物治疗 实验前先对大鼠进行适应性喂养、持续 1 周,而后将大鼠分为空白对照组 10 只和模型大鼠 30 只。空白对照组给予 $10\text{ mL}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 生理盐水灌胃及普通饲料喂养;其余各组给予来曲唑 $1\text{ mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 灌胃联合高脂饲料喂养,连续 21 d。大鼠进行阴道涂片,连续观察 4 d,显微镜下观察阴道涂片,出现阴道上皮持续角化判断为 PCOS 造模成功。造模成功的大鼠分为 PCOS 组、二陈汤组、二甲双胍组,每组各 10 只。

造模成功后进行给药。空白对照组和 PCOS 组给予 $10\text{ mL}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 蒸馏水灌胃,连续 30 d;参照文献[7]确定二陈汤组的给药剂量,给予生药含量 0.88 g/mL 的二陈汤 $10\text{ mL}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 灌胃,连续 30 d;二甲双胍组给予盐酸二甲双胍片 $0.1\text{ g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 溶于 10 mL/kg 蒸馏水中灌胃,连续 30 d。末次给药后禁食不禁水过夜,次日空腹进行标本采集。

1.2.2 ELISA 检测血清指标 腹腔注射戊巴比妥钠(0.04 g/kg)麻醉,经心脏采血 $2\sim 3\text{ mL}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 3500 r/min (半径 10 cm)离心 15 min ,采用生化分析仪检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS),采用 ELISA 检测黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、雌二醇(estradiol, E2)、睾酮(testosterone, T)、抗米勒管激素(anti mullerian hormone, AMH)、C 反应蛋白(C reaction protein, CRP)、白细胞介素- 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的水平,计算 LH/FSH 比

值,按照稳态模型计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=FBG $\times$ FINS/22.5^[6]。

1.2.3 HE 染色检测卵巢组织形态学 麻醉状态下取大鼠的左侧卵巢组织,在 4%多聚甲醛中固定 24 h,石蜡包埋并制作病理切片,进行 HE 染色及中性树胶封片,观察卵巢组织在 HE 染色下的形态学变化,拍照记录。

1.2.4 Western blot 检测卵巢组织中的蛋白表达 麻醉状态下取大鼠的右侧卵巢组织,在液氮中冷冻后放入低温冰箱;检测时取 30 mg 卵巢组织,加入裂解液进行研磨,研磨液在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\text{ }000\text{ r/min}$ (半径 10 cm)离心 15 min ,取上清液检测蛋白浓度。将蛋白加入聚丙烯酰胺凝胶中,电泳后转膜至硝酸纤维素膜后封闭,放入 TLR4、NF- κ B、NLRP3、ASC、Caspase-1、 β -actin 一抗中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;次日复温后洗膜 3 次,加入 1:2000 稀释的山羊抗小鼠二抗,室温孵育 1 h。最后洗膜 3 次并进行化学发光,用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度值分析,以 β -actin 为内参、计算目标蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学处理,实验数据均为符合正态分布且方差齐的计量资料,以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用 SNK- q 法进行两两比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二陈汤对 PCOS 大鼠卵巢组织形态学的影响

各组大鼠卵巢组织的 HE 染色见图 1,空白对照组大鼠卵巢组织中可见各个发育阶段的卵泡及正常的成熟卵泡、黄体;PCOS 组大鼠卵巢组织中未见优势卵泡,却可见大量囊状扩张卵泡和闭锁卵泡,并且黄体数量明显减少;二陈汤组和二甲双胍组大鼠卵巢组织中可见各个发育阶段的卵泡及正常的成熟卵泡,囊状扩张卵泡减少,并且黄体数量增多。

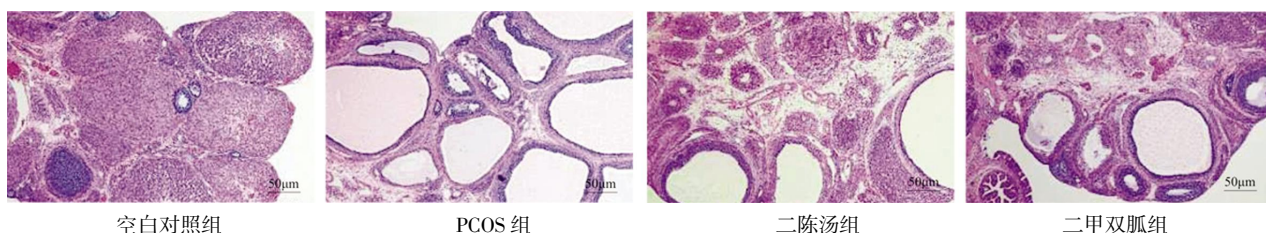


图 1 各组大鼠卵巢组织的 HE 染色图($\times 400$)

2.2 二陈汤对 PCOS 大鼠血清性激素水平的影响

PCOS 组大鼠的血清 LH、LH/FSH、T、AMH 水平高于空白对照组,FSH、E2 水平低于空白对照组($P<0.05$);二陈汤组、二甲双胍组大鼠的血清 LH、LH/FSH、T、AMH 水平低于 PCOS 组,FSH、E2 水平高于 PCOS 组($P<0.05$)。详见表 1。

2.3 二陈汤对 PCOS 大鼠血清糖脂代谢指标的影响

PCOS 组大鼠的血清 TC、TG、FBG、FINS 水平及 HOMA-IR 水平高于空白对照组($P<0.05$);二陈汤组、

二甲双胍组大鼠的血清 TC、TG、FBG、FINS 水平及 HOMA-IR 水平低于 PCOS 组($P<0.05$)。详见表 2。

2.4 二陈汤对 PCOS 大鼠血清 CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平的影响

PCOS 组大鼠的血清 CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平高于空白对照组($P<0.05$);二陈汤组、二甲双胍组大鼠的血清 CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平低于 PCOS 组($P<0.05$)。详见表 3。

表 1 各组大鼠血清性激素水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	LH/(U/L)	FSH/(U/L)	LH/FSH	T/(ng/L)	E2/(pmol/L)	AMH/(μ g/L)
空白对照组	10	26.51 $\pm$ 2.24	8.45 $\pm$ 0.71	3.14 $\pm$ 0.24	139.42 $\pm$ 11.84	51.09 $\pm$ 3.85	1.88 $\pm$ 0.14
PCOS 组	10	43.85 $\pm$ 3.41*	5.44 $\pm$ 0.49*	8.06 $\pm$ 0.65*	242.75 $\pm$ 18.46*	24.58 $\pm$ 2.25*	3.52 $\pm$ 0.28*
二陈汤组	10	32.52 $\pm$ 2.84 [#]	7.29 $\pm$ 0.62 [#]	4.46 $\pm$ 0.36 [#]	179.24 $\pm$ 13.42 [#]	38.67 $\pm$ 2.94 [#]	2.41 $\pm$ 0.22 [#]
二甲双胍组	10	34.12 $\pm$ 2.91 [#]	7.08 $\pm$ 0.74 [#]	4.82 $\pm$ 0.34 [#]	184.41 $\pm$ 14.58 [#]	36.58 $\pm$ 2.42 [#]	2.55 $\pm$ 0.27 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与 PCOS 组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠血清糖脂代谢指标的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TC	TG	FBG	FINS	HOMA-IR
空白对照组	10	1.44 $\pm$ 0.12	1.22 $\pm$ 0.10	4.14 $\pm$ 0.29	29.31 $\pm$ 2.44	5.39 $\pm$ 0.34
PCOS 组	10	2.39 $\pm$ 0.25*	2.31 $\pm$ 0.19*	5.02 $\pm$ 0.34*	48.52 $\pm$ 3.52*	10.83 $\pm$ 0.89*
二陈汤组	10	1.68 $\pm$ 0.15 [#]	1.51 $\pm$ 0.15 [#]	4.49 $\pm$ 0.29 [#]	33.32 $\pm$ 2.91 [#]	6.65 $\pm$ 0.48 [#]
二甲双胍组	10	1.61 $\pm$ 0.12 [#]	1.64 $\pm$ 0.12 [#]	4.23 $\pm$ 0.31 [#]	30.12 $\pm$ 2.84 [#]	5.66 $\pm$ 0.49 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与 PCOS 组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清 CRP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平的比较

组别	<i>n</i>	CRP/(mg/L)	IL-1 β /(ng/L)	IL-6/(ng/L)	TNF- α /(ng/L)
空白对照组	10	0.73 $\pm$ 0.06	6.48 $\pm$ 0.45	12.45 $\pm$ 1.09	14.23 $\pm$ 1.12
PCOS 组	10	1.62 $\pm$ 0.12*	13.75 $\pm$ 1.03*	24.77 $\pm$ 2.15*	33.72 $\pm$ 2.94*
二陈汤组	10	0.96 $\pm$ 0.08 [#]	8.31 $\pm$ 0.67 [#]	15.72 $\pm$ 1.24 [#]	18.94 $\pm$ 1.44 [#]
二甲双胍组	10	1.02 $\pm$ 0.09 [#]	9.14 $\pm$ 0.72 [#]	17.14 $\pm$ 1.51 [#]	20.41 $\pm$ 1.87 [#]

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与 PCOS 组比较,[#] $P<0.05$ 。

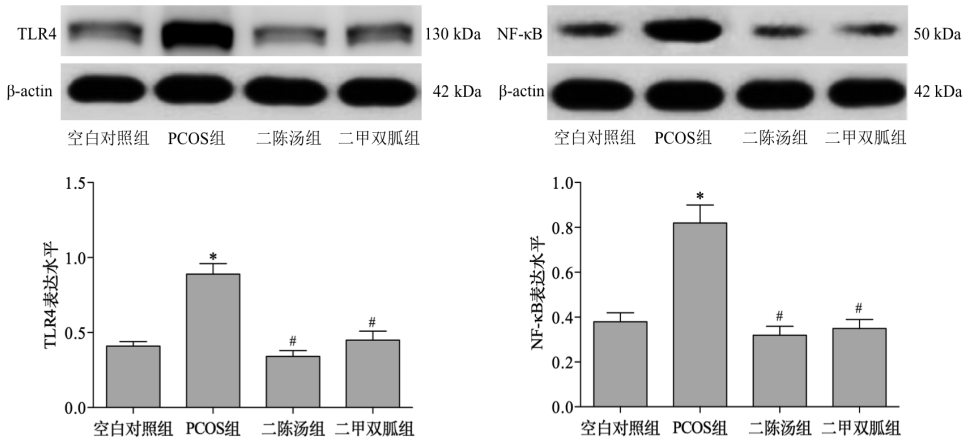


图 2 各组大鼠卵巢组织中 TLR4、NF- κ B 表达水平的比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与 PCOS 组比较,[#] $P<0.05$ 。

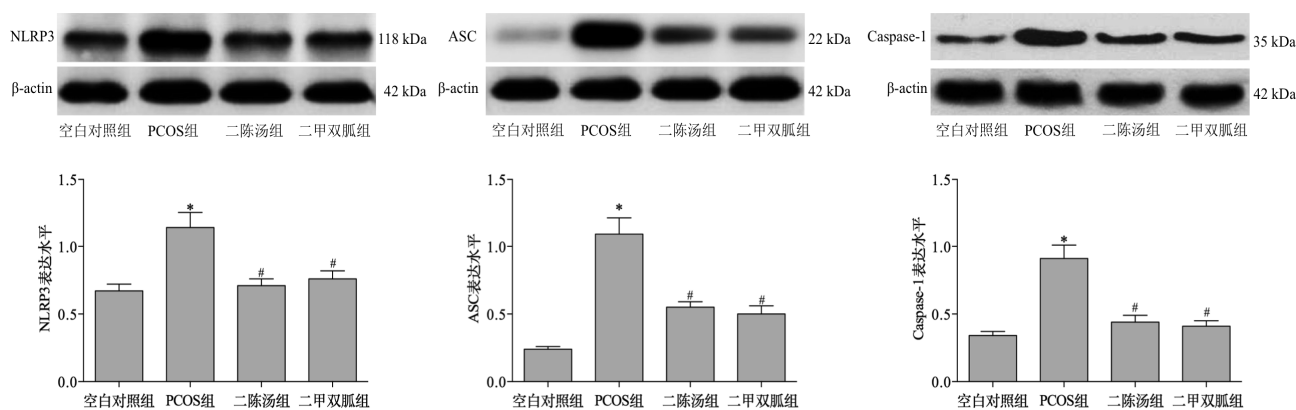


图3 各组大鼠卵巢组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平的比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$;与 PCOS 组比较,# $P<0.05$ 。

2.5 二陈汤对 PCOS 大鼠卵巢组织中 TLR4、NF- κ B 表达水平的影响

PCOS 组大鼠卵巢组织中 TLR4、NF- κ B 的表达水平高于空白对照组($P<0.05$);二陈汤组和二甲双胍组大鼠卵巢组织中 TLR4、NF- κ B 的表达水平低于 PCOS 组($P<0.05$)。详见图 2。

2.6 二陈汤对 PCOS 大鼠卵巢组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平的影响

PCOS 组大鼠卵巢组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 的表达水平高于空白对照组($P<0.05$);二陈汤组和二甲双胍组大鼠卵巢组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 的表达水平低于 PCOS 组($P<0.05$)。详见图 3。

3 讨论

现代生物医学研究认为,卵巢组织中持续慢性炎症反应的激活在 PCOS 的生殖内分泌功能紊乱中起到重要作用^[7-8]。卵巢组织中炎症细胞因子的释放一方面直接损伤颗粒细胞、不利于卵泡发育,进而导致稀发排卵或无排卵;另一方面刺激雄激素产生,进而加重排卵障碍,也造成全身高雄激素表现。同时,炎症反应的激活还会影响胰岛素信号转导、降低胰岛素敏感性,进而导致胰岛素抵抗和代偿性的高胰岛素血症。

来曲唑给药联合高脂饲料喂养是建立 PCOS 模型动物的常用方法,该造模方法能够模拟 PCOS 的排卵障碍、胰岛素抵抗、糖脂代谢异常等生殖内分泌功能紊乱特征,与 PCOS 的临床表现具有高度一致性^[9-10]。本研究进行 PCOS 造模后在卵巢组织中未观察到优势卵泡,且观察到大量囊状扩张卵泡和闭锁

卵泡,同时黄体数量明显减少,符合 PCOS 的组织学特征;血清中性激素 LH、LH/FSH、T、AMH 水平升高,FSH、E2 水平降低,符合 PCOS 高雄激素的特征;糖脂代谢指标 TC、TG、FBG、FINS、HOMA-IR 升高,符合 PCOS 胰岛素抵抗及糖脂代谢紊乱的特征。以上结果与既往 PCOS 相关基础研究的结果相似^[9-10],表明本研究中来曲唑给药联合高脂饲料喂养的 PCOS 模型制备成功。

中医学认为 PCOS 多为痰湿证,脾虚痰湿、壅塞胞宫是 PCOS 子宫病变的关键病机。现代中医学认为长期脾虚痰湿参与微炎症反应、胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱的发生发展^[11-12]。二陈汤的功效为健脾益气、燥湿化痰,能够针对 PCOS 的中医病机发挥治疗作用;该方中半夏为君药,起燥湿化痰的作用;陈皮为臣药,起理气和中的作用;茯苓为佐药,起健脾利水的作用;甘草为使药,起调和诸药的作用^[13-14]。已有相关动物实验证实,二陈汤对 PCOS 大鼠的生殖内分泌功能紊乱具有改善作用^[6,15]。本研究中来曲唑给药联合高脂饲料喂养的 PCOS 大鼠接受二陈汤治疗后血清中的各项性激素指标及糖脂代谢指标均明显改善,提示二陈汤显著改善 PCOS 的生殖内分泌功能紊乱,与既往其他学者的研究结果相似^[6,15];同时本研究还观察到二陈汤治疗后 PCOS 大鼠卵巢组织中囊状扩张卵泡减少、可见各个发育阶段的卵泡及正常的成熟卵泡、黄体数量增多,为二陈汤发挥 PCOS 的治疗价值提供了直接的组织学依据。

在上述研究结果的基础上,本研究对二陈汤治疗 PCOS 的分子机制进行了探索。卵巢组织中持续慢性炎症反应的激活与 PCOS 的发生发展密切相关,炎症反应的激活、炎症细胞因子的释放会影响卵

巢内分泌功能、导致多种性激素水平改变,也影响胰岛素信号转导,引起胰岛素抵抗及糖脂代谢紊乱。NF- κ B 和 NLRP3 在 PCOS 卵巢组织的炎症反应激活中起关键作用。NF- κ B 是 TLR4 下游的核转录因子,对多种炎症细胞因子的表达具有促进作用;NLRP3 与 ASC、Caspase-1 共同组成炎症小体,对促炎因子 IL-1 β 的成熟和释放具有促进作用,IL-1 β 可进一步刺激多种炎症细胞因子的释放。已有研究证实,PCOS 卵巢组织中 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应过度激活,抑制两者介导的炎症反应可显著改善 PCOS 的生殖内分泌功能紊乱^[16-17]。

现代药理学研究证实,二陈汤具有抑制炎症反应的作用,且这一作用与抑制 NF- κ B 和 NLRP3 的表达有关^[18-20]。基于此,本研究以 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应为切入点初步探索二陈汤治疗 PCOS 的相关分子机制。PCOS 大鼠接受二陈汤治疗后,血清多种炎症因子含量均明显降低,提示二陈汤抑制 PCOS 大鼠的炎症反应;卵巢组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3、ASC、Caspase-1 的表达水平明显降低,表明二陈汤对 PCOS 大鼠卵巢组织中 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应具有抑制作用,进而提示二陈汤改善 PCOS 的生殖内分泌功能紊乱的作用与其抑制 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应有关。

综上所述,二陈汤治疗 PCOS 大鼠,显著改善卵巢组织中多囊改变及卵泡发育异常、排卵障碍的组织学特征,同时改善性激素水平和糖脂代谢;进一步对分子机制进行探索,二陈汤治疗 PCOS 的相关分子机制可能是抑制卵巢组织中 NF- κ B 和 NLRP3 介导的炎症反应。

参考文献

[1] ZENG X, XIE Y J, LIU Y T, et al. Polycystic ovarian syndrome: Correlation between hyperandrogenism, insulin resistance and obesity[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2020, 502: 214-221.

[2] GLUECK C J, GOLDENBERG N. Characteristics of obesity in polycystic ovary syndrome: Etiology, treatment, and genetics[J]. *Metabolism*, 2019, 92: 108-120.

[3] ZHOU F, LI C, ZHANG S Y. NLRP3 inflammasome: A new therapeutic target for high-risk reproductive disorders?[J]. *Chinese Medical Journal*, 2020, 134(1): 20-27.

[4] HE Z L, WANG Y L, ZHUAN L, et al. MIF-mediated NF- κ B signaling pathway regulates the pathogenesis of polycystic ovary syndrome in rats[J]. *Cytokine*, 2021, 146: 155632.

[5] 朱美文,岳德永,曹作增,等. 加味芎归二陈汤联合西药治疗痰

湿型多囊卵巢综合征疗效及对患者糖脂代谢和血清性激素水平的影响[J]. *陕西中医*, 2022, 43(4): 442-445.

[6] 丛培玮,张丽娜,王 丹,等. 二陈汤对痰湿型多囊卵巢综合征大鼠内分泌及糖脂代谢的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(8): 58-61, 后插 6.

[7] 丛培玮,张丽娜,赵丹玉,等. 二陈汤通过增强自噬改善痰湿型 PCOS 大鼠子宫葡萄糖转运功能的研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(8): 1270-1274.

[8] DABRAVOLSKI S A, NIKIFOROV N G, EID A H, et al. Mitochondrial dysfunction and chronic inflammation in polycystic ovary syndrome[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(8): 3923.

[9] ROSTAMTABAR M, ESMAEILZADEH S, TOURANI M, et al. Pathophysiological roles of chronic low-grade inflammation mediators in polycystic ovary syndrome[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(2): 824-838.

[10] BEGUM N, MANIPRIYA K, VEERESH B. Role of high-fat diet on letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2022, 917: 174746.

[11] WANG M X, YIN Q, XU X. A rat model of polycystic ovary syndrome with insulin resistance induced by letrozole combined with high fat diet[J]. *Medical Science Monitor*, 2020, 26: e922136.

[12] 晋 娜,徐文秀,李长香,等. 从标本论治多囊卵巢综合征经验[J]. *环球中医药*, 2021, 14(4): 700-703.

[13] 征 征,刘艳霞,鲁秋丹,等. 518 例多囊卵巢综合征患者的中医证素证候特点及相关性分析[J]. *中医药学报*, 2021, 49(11): 68-72.

[14] 蔡孟成,金永生,俞超芹,等. 二陈汤对肥胖型多囊卵巢综合征和肥胖型不孕的“异病同治”研究[J]. *药学实践杂志*, 2022, 40(1): 20-27, 52.

[15] 龚文婧,邵 超,黄胜男. 基于网络药理学探讨加味二陈汤治疗多囊卵巢综合征作用机制[J]. *河南中医*, 2022, 42(4): 553-562.

[16] 陈锦明,王维斌,张 萍,等. 二陈汤对多囊卵巢综合征大鼠卵巢组织 IRS-1/IRS-2 的调节作用[J]. *福建中医药*, 2021, 52(5): 50-52.

[17] 孙文萍,赵得雄,王槁华,等. TXNIP/NLRP3 信号通路在 PCOS-IR 大鼠卵巢慢性炎症中的作用机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(11): 1300-1305.

[18] SHAO Y Y, CHANG Z P, CHENG Y, et al. Shaoyao-Gancao Decoction alleviated hyperandrogenism in a letrozole-induced rat model of polycystic ovary syndrome by inhibition of NF- κ B activation[J]. *Bioscience Reports*, 2019, 39(1): BSR20181877.

[19] 尚立芝,季 书,王国强,等. 二陈汤加味通过抑制 NLRP3 通路对慢性阻塞性肺疾病的防治作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(23): 56-64.

[20] 尚立芝,季 书,王国强,等. 二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病大鼠 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(23): 65-72.