

红花黄色素下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路改善大鼠多囊卵巢综合征

李 研, 李 文, 余晓辉

邯郸市中心医院 妇二科, 河北 邯郸 056001

摘 要: **目的** 探讨红花黄色素对大鼠多囊卵巢综合征及 Toll 受体 4/核转录因子- κ B/NOD 样蛋白受体 3 (TLR4/NF- κ B/NLRP3) 信号通路的影响。**方法** 实验设置对照组、模型组、红花黄色素组、红花黄色素+TLR4 抑制剂 (TAK242) 组和红花黄色素+TLR4 激动剂脂多糖 (LPS) 组, 每组 8 只大鼠。除对照组外, 其他组大鼠均通过连续 21 d ig 来曲唑的方法制备多囊卵巢综合征动物模型。各组分别 ip 给药 28 d 后, 测定大鼠空腹血糖和空腹胰岛素水平, 计算胰岛素抵抗指数; ELISA 法测定血清性激素和炎症因子水平; HE 染色观察卵巢和子宫内膜组织病理形态, 计数卵巢组织囊性扩张卵泡数、黄体数和子宫内膜组织腺体数, 测量子宫内膜厚度; Western blotting 检测卵巢和子宫内膜组织 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路蛋白表达。**结果** 与模型组相比, 红花黄色素组空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数、睾酮 (T)、促黄体生成素 (LH)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL) -1 β 、IL-18 水平和 LH/FSH 明显降低, 雌二醇 (E₂)、促卵泡生成素 (FSH) 水平明显升高 ($P<0.05$); 卵巢和子宫内膜组织病理学形态结构改变明显改善, 卵巢组织囊性扩张卵泡数明显降低, 卵巢组织黄体数、子宫内膜组织腺体数及子宫内膜厚度均明显升高 ($P<0.05$); 卵巢和子宫内膜组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF- κ B/NF- κ B 比值明显降低 ($P<0.05$)。与模型组相比, 红花黄色素+TAK242 组可进一步下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路, 明显增强红花黄色素对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗、性激素、炎症因子、卵巢和子宫内膜组织病理改变的调控作用; 而红花黄色素+LPS 组则上调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路, 明显减弱红花黄色素上述作用 ($P<0.05$)。**结论** 红花黄色素能够抑制多囊卵巢综合征大鼠炎症反应, 改善卵巢功能和子宫内膜容受性, 作用机制可能与下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。

关键词: 红花黄色素; 多囊卵巢综合征; 卵巢功能; 子宫内膜容受性; Toll 受体 4/核转录因子- κ B/NOD 样蛋白受体 3 信号通路

中图分类号: R287.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2025)04-0836-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.04.003

Effect of safflower yellow on polycystic ovary syndrome in rats by regulating the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

LI Yan, LI Wen, YU Xiaohui

Department of Second Gynecology, Handan Central Hospital, Handan 056001 China

Abstract: Objective To investigate the effect of safflower yellow on polycystic ovary syndrome in rats and the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway. **Methods** The experimental setup included control group, model group, safflower yellow group, safflower yellow + TLR4 inhibitor (TAK242) group, and safflower yellow + TLR4 agonist (LPS) group, with 8 rats in each group. Except for the control group, the rats in other groups were prepared with polycystic ovary syndrome model by continuously oral gavage with letrozole for 21 d. After intraperitoneal injection for 28 d, the fasting blood glucose and fasting insulin levels were measured, and the homeasis model assessment of insulin resistance was calculated. The level of sex hormones and inflammatory factors in serum were detected by ELISA method. The tissues pathological morphology of ovarian and endometrial were observed by HE staining, the number of cystic follicles, corpus luteum in ovarian tissue and the number of glands in endometrium were counted, the endometrial thickness was measured. The expression of TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway related proteins in ovarian and endometrial tissues were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the level of fasting blood glucose, fasting insulin, insulin resistance index, T, LH, TNF- α , IL-1 β , IL-18, and LH/FSH in safflower yellow group were significant decreased, while the level of E₂, and FSH were significant

收稿日期: 2025-02-05

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划 (20220559)

作者简介: 李 研, 女, 副主任医师, 从事妇科疾病诊疗及科研工作。E-mail: xiaoluoli1229@163.com

increased ($P < 0.05$). The pathological changes in ovarian and endometrial tissues were significantly improved, the number of cystic follicles in ovarian was significantly decreased, the number of corpus luteum in ovarian was significantly increased, the number of glands in endometrium and the endometrial thickness were significantly increased ($P < 0.05$). The expression level of TLR4, NF- κ B, p-NF- κ B, NLRP3 proteins and the ratio of p-NF- κ B/NF- κ B in ovarian and endometrial tissues were significantly decreased ($P < 0.05$). Safflower yellow + TAK242 group could further downregulate the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway, significantly enhancing the regulatory effect of safflower yellow on insulin resistance, sex hormones, inflammatory factors, ovarian and endometrial tissue pathological changes in polycystic ovary syndrome rats, safflower yellow + LPS upregulated the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway and thus significantly weakened the aforementioned effects of safflower yellow ($P < 0.05$). **Conclusion** Safflower yellow could suppress the inflammatory response in polycystic ovary syndrome rats, improve ovarian function and uterine receptivity, which mechanism may be related to the down-regulation of TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway.

Key words: safflower yellow; polycystic ovary syndrome; ovarian function; uterine receptivity; TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

多囊卵巢综合征又称 Stein-Leventhal 综合征, 其发病受遗传和环境等多方面因素影响, 以月经不调、排卵障碍、高雄激素血症、胰岛素抵抗、肥胖等为主要临床表现, 是导致育龄期女性不孕的主要病因之一。多囊卵巢综合征患者远期心理障碍、心脑血管疾病、2 型糖尿病、子宫内膜癌、卵巢癌等患病风险明显增加。据统计, 多囊卵巢综合征影响着全球 5%~10% 育龄期女性, 我国发病率约 5.6%, 并且其发病率随着人口老龄化而逐渐升高, 已经成为困扰女性生命健康的世界性难题^[1-2]。目前, 主要采取口服避孕药、孕激素、双胍类降糖药、糖皮质激素等进行对症治疗, 但不良反应广泛且易出现依赖性, 患者预后并不理想^[3]。因此, 急需寻找更加安全有效的多囊卵巢综合征新型治疗方案。

多囊卵巢综合征发病机制错综复杂, 慢性低度炎症被认为是多囊卵巢综合征发生发展的主要驱动因素, 动物实验和临床研究均证实抑制炎症可减轻多囊卵巢综合征^[4-6]。Toll 受体 4/核转录因子- κ B/NOD 样蛋白受体 3 (TLR4/NF- κ B/NLRP3) 信号通路调控多种炎症介质和细胞因子表达, 在机体炎症反应过程中发挥着关键调控作用。有研究发现, 抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路及其介导的炎症反应能够有效减轻多囊卵巢综合征^[7]。

红花黄色素是由红花中提取的一种查耳酮类化合物, 是中药红花的主要有效成分之一^[8], 具有抗炎、抗氧化等多种药理作用^[9-11]。目前临床上红花黄色素主要用于心血瘀阻所致胸痛、胸闷、气短等症的治疗。随着药理学研究的深入, 发现红花黄色素对 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路具有抑制作用^[12-14]。本研究旨在探讨红花黄色素对大鼠 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路的影响, 以期红花黄色素用于治疗多囊卵巢综合征提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

7 周龄雌性 SD 大鼠 40 只由河北省实验动物中心提供清洁级, 实验动物批准号 SCXK (冀) 2022-001, 体质量 180~210 g, 在通风良好、(25±2) °C、湿度 45%~65%、光照黑暗 12 h/12 h 的控制环境中饲养。本实验获得本院伦理委员会批准, 批准号 HDZXLL (K) 2023-019。

1.2 主要试剂

红花黄色素 (质量分数≥98%, 黄褐色粉末, 主要成分为红花黄色素 A 和红花黄色素 B, 易溶于水和稀乙醇, 对光、热稳定) 购自云南通海杨氏天然产物公司 (批号 YSCMY20240318); 来曲唑片 (规格 0.25 g, 批号 20230416) 购自连云港杰瑞药业公司; TLR4 抑制剂 (TAK242)、TLR4 激动剂脂多糖 (LPS) 和胰岛素、雌二醇 (E₂)、睾酮 (T)、促卵泡生成素 (FSH)、促黄体生成素 (LH)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-18 ELISA 法检测试剂盒 (货号 IR0580、IL2020、SEKR-0033、SEKR-0107、SEKSM-0003、SEKR-0090、SEKR-0091、SEKR-0009、SEKR-0002、SEKR-0054) 购自北京索莱宝公司; 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒、RIPA 裂解液 (C0105M、P0013B) 购自上海碧云天公司; TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3、GAPDH 抗体 (货号 19811-1、10745-1、80379-2、27458-1、10494-1) 购自武汉三鹰公司; IgG 二抗、ECL 超敏发光液 (货号 bs-0295G、C05-07004) 购自北京博奥森公司。

1.3 主要仪器

EZ-7 型血糖仪 (北京华益精点公司); LP511 型全波长酶标仪 (长春乐谱公司); EG1150 型组织包埋机、RM2235 型组织切片机、DM500 型光学显微

镜(德国 Leica 公司); 5804 型高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司); Tetra 型电泳仪、MPT 型电转仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 分组与处理

将 40 只大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、红花黄色素组、红花黄色素+TAK242 组和红花黄色素+LPS 组, 每组 8 只大鼠。对照组除外的其他组采用连续 21 d ig 来曲唑 1 mg/kg 制备多囊卵巢综合征动物模型, 第 16 天开始显微镜下观察阴道涂片发现上皮细胞持续角化, 则认为造模成功^[15]。红花黄色素组 ip 10 mg/kg 红花黄色素(根据大鼠与人剂量换算公式计算所得), 红花黄色素+TAK242 组 ip 10 mg/kg 红花黄色素和 10 mg/kg TAK242^[16], 红花黄色素+LPS 组 ip 10 mg/kg 红花黄色素和 1 mg/kg LPS^[17], 对照组和模型组 ip 0.9% 氯化钠溶液, 1 次/d, 连续给药 28 d。

1.5 检测空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数

末次给药后禁食 12 h, 采集尾静脉血通过血糖仪检测空腹血糖水平, 麻醉后由腹主动脉采血, 2 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 按试剂盒说明通过酶标仪测定血清中胰岛素水平。

胰岛素抵抗指数 = (空腹血糖水平 × 空腹胰岛素水平) / 22.5

1.6 ELISA 法测定血清性激素和炎症因子水平

取 1.6 项下制备的大鼠血清, 按 ELISA 试剂盒说明通过酶标仪测定血清中性激素 E₂、T、FSH、LH 和炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平, 并计算 LH/FSH。

1.7 HE 染色观察卵巢和子宫内膜组织病理形态

将左侧卵巢和部分子宫用 10% 中性甲醛溶液固定 5 d, 梯度乙醇脱水和二甲苯透明处理后石蜡包埋、4 μm 连续切片, 按试剂盒说明行 HE 染色后, 通过光学显微镜观察卵巢和子宫内膜形态结构。在 400 倍显微镜下, 计数 5 个视野内成熟卵泡数、黄体数和子宫内膜组织腺体数, 应用 Image Pro Plus 软件测定子宫内膜厚度。

1.8 Western blotting 法检测卵巢和子宫内膜组织 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达

取右侧卵巢和剩余部分子宫组织, 分别加入 4 °C RIPA 裂解液后剪碎匀浆, 4 °C 静置裂解 15 min 后 12 000 r/min 离心 20 min 分离上清液, 二喹啉甲酸法测定总蛋白浓度后, 50 μg 蛋白量上样, 电泳分离、转 PVDF 膜、封闭处理后, 加 TLR4 (1 : 1 000)、NF-κB (1 : 1 000)、p-NF-κB (1 : 1 000)、

NLRP3 (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 2 000) 4 °C 过夜, 洗膜后加 IgG (1 : 4 000) 室温 1 h, 洗膜后加 ECL 显色, 运用 Image Pro Plus 软件计算蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参进行半定量分析。

1.9 统计学处理

应用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时两两比较采用 LSD-*t* 检验, 方差不齐时两两比较采用 Dunnett's *T*3 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠空腹血糖、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数比较

与模型组比较, 红花黄色素组空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数明显降低 ($P < 0.05$)。与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数明显降低 ($P < 0.05$); 而红花黄色素+LPS 组空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数明显升高 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 各组大鼠血清 E₂、T、FSH、LH 水平和 LH/FSH 比较

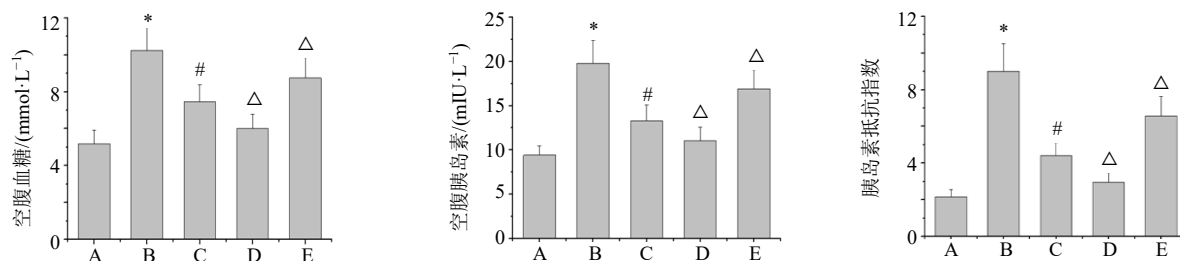
与模型组比较, 红花黄色素组 E₂、FSH 水平明显升高, T、LH 水平和 LH/FSH 明显降低 ($P < 0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组 E₂、FSH 水平明显升高, T、LH 水平和 LH/FSH 明显降低 ($P < 0.05$), 而红花黄色素+LPS 组 E₂、FSH 水平明显降低, T、LH 水平和 LH/FSH 明显升高 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 各组大鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平比较

与模型组比较, 红花黄色素组 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平明显降低 ($P < 0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平明显降低 ($P < 0.05$), 而红花黄色素+LPS 组 TNF-α、IL-1β、IL-18 水平明显升高 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 各组大鼠卵巢组织病理改变比较

对照组大鼠卵巢组织形态结构正常, 初级卵泡、次级卵泡等各级卵泡及黄体较多, 卵泡颗粒细胞丰富、分层清晰, 说明卵泡生长活跃、发育良好。模型组囊性扩张卵泡较多, 初级卵泡、次级卵泡等各级正常发育的卵泡和黄体减少, 卵泡颗粒细胞减少。给药组上述卵巢组织病变不同程度减轻, 其中红花黄色素+TAK242 组效果优于其他组, 见图 4。

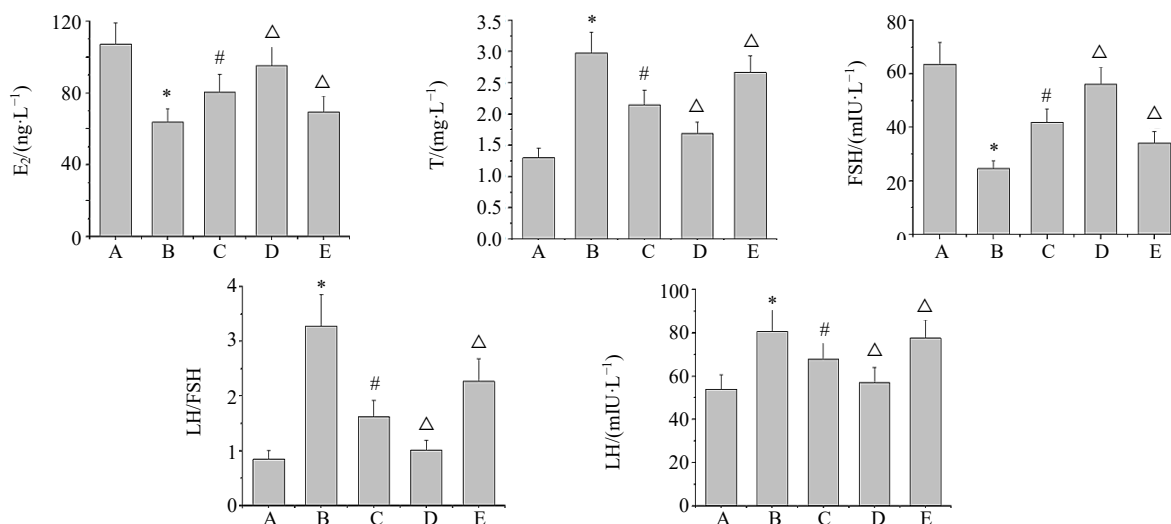


A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与红花黄色素组比较: $\Delta P < 0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs safflower yellow group.

图1 各组大鼠空腹血糖、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Comparison of fasting blood glucose, fasting insulin, insulin resistance index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

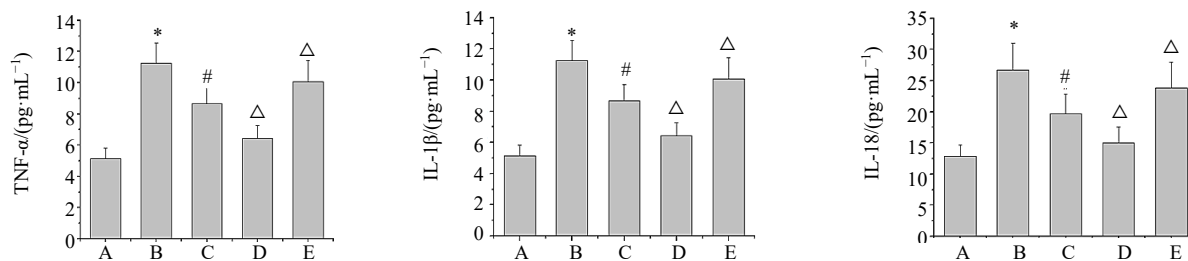


A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与红花黄色素组比较: $\Delta P < 0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs safflower yellow group.

图2 各组大鼠血清 E₂、T、FSH、LH 水平和 LH/FSH 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Comparison of the level of E₂, T, FSH, LH in serum and the LH/FSH of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与红花黄色素组比较: $\Delta P < 0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs safflower yellow group.

图3 各组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Comparison of the level of TNF- α , IL-1 β , IL-18 in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

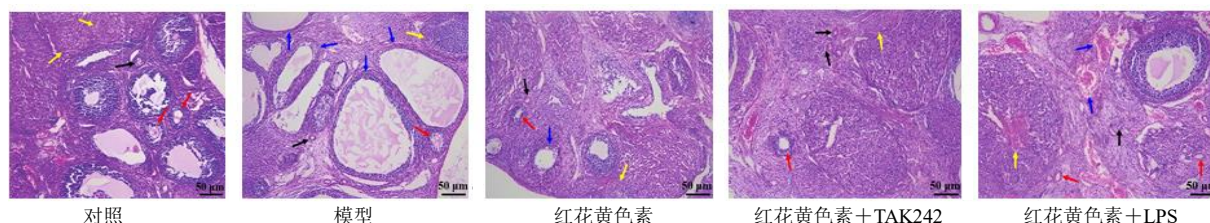
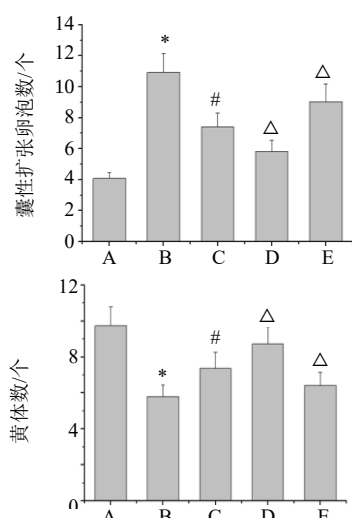


图 4 各组大鼠卵巢组织病理改变比较 (HE, ×200)

Fig. 4 Comparison of pathological changes of ovarian tissues of rats in each group (HE, ×200)

与模型组比较, 红花黄色素组囊性扩张卵泡数明显减少, 黄体数明显增多 ($P < 0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组囊性扩张卵泡数明显减少, 黄体数明显增多 ($P < 0.05$), 而红花黄色素+LPS 组囊性扩张卵泡数明显增多, 黄体数明显减少 ($P < 0.05$), 见图 5。



A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与红花黄色素组比较: Δ $P < 0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; Δ $P < 0.05$ vs safflower yellow group.

图 5 各组大鼠卵巢组织囊性扩张卵泡数、黄体数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 5 Comparison of the number of cystic expanded follicles and corpus luteum in ovarian tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

2.5 各组大鼠子宫内膜组织病理改变比较

对照组大鼠子宫内膜组织形态结构正常, 腺体丰富, 腺体腔柱状上皮细胞排列紧密整齐。模型组子宫内膜厚度变薄, 腺体数减少, 腺体腔柱状上皮细胞排列疏松紊乱, 间质水肿。与模型组比较, 各给药组上述子宫内膜组织病变不同程度减轻, 其中红花黄色素+TAK242 组效果优于其他组, 见图 6。

与模型组比较, 红花黄色素组子宫内膜腺体数、子宫内膜厚度明显升高 ($P < 0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组子宫内膜腺体数、子宫内膜厚度明显升高, 而红花黄色素+LPS 组子宫内膜腺体数、子宫内膜厚度明显降低 ($P < 0.05$), 见图 7。

2.6 各组大鼠卵巢组织 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达比较

与模型组比较, 红花黄色素组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB 比值明显降低 ($P < 0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB 比值明显降低 ($P < 0.05$), 而红花黄色素+LPS 组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB 比值明显升高 ($P < 0.05$), 见图 8。

2.7 各组大鼠子宫内膜组织 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达比较

与模型组比较, 红花黄色素组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB

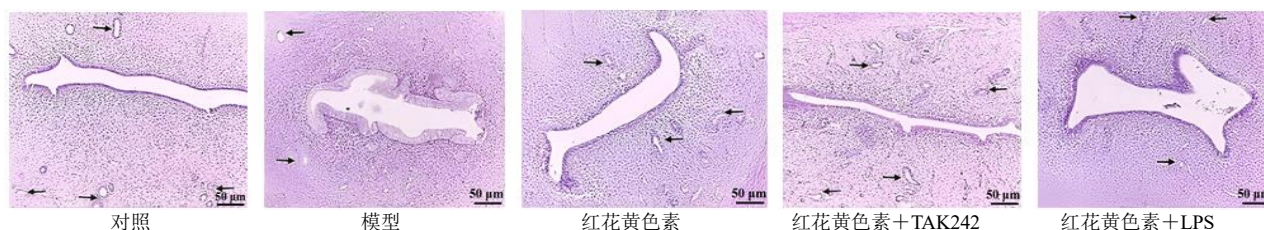
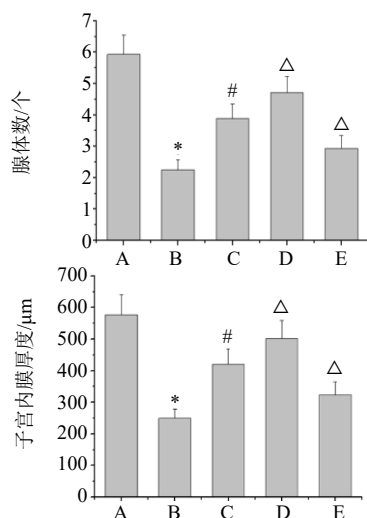


图 6 各组大鼠子宫内膜组织病理改变比较 (HE, ×200)

Fig. 6 Comparison of pathological changes of endometrial tissue of rats in each group (HE, ×200)

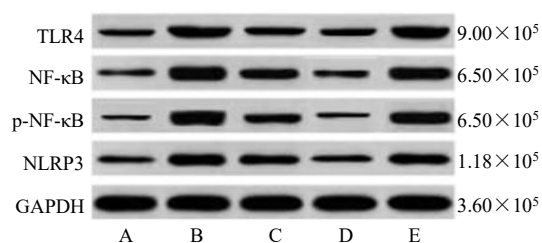


A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: # $P<0.05$; 与红花黄色素组比较: $\Delta P<0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs model group; $\Delta P<0.05$ vs safflower yellow group.

图7 各组大鼠子宫内膜组织腺体数、子宫内膜厚度比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig. 7 Comparison of the glandular number and endometrial thickness in endometrial tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)



A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: # $P<0.05$; 与红花黄色素组比较: $\Delta P<0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs model group; $\Delta P<0.05$ vs safflower yellow group.

图8 各组大鼠卵巢组织 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达及 p-NF-κB/NF-κB 比值比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

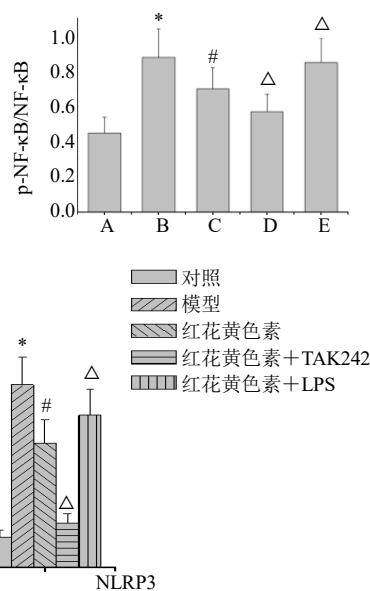
Fig. 8 Comparison of the expression of TLR4, NF-κB, p-NF-κB, NLRP3 and the ratio of p-NF-κB/NF-κB in ovarian tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

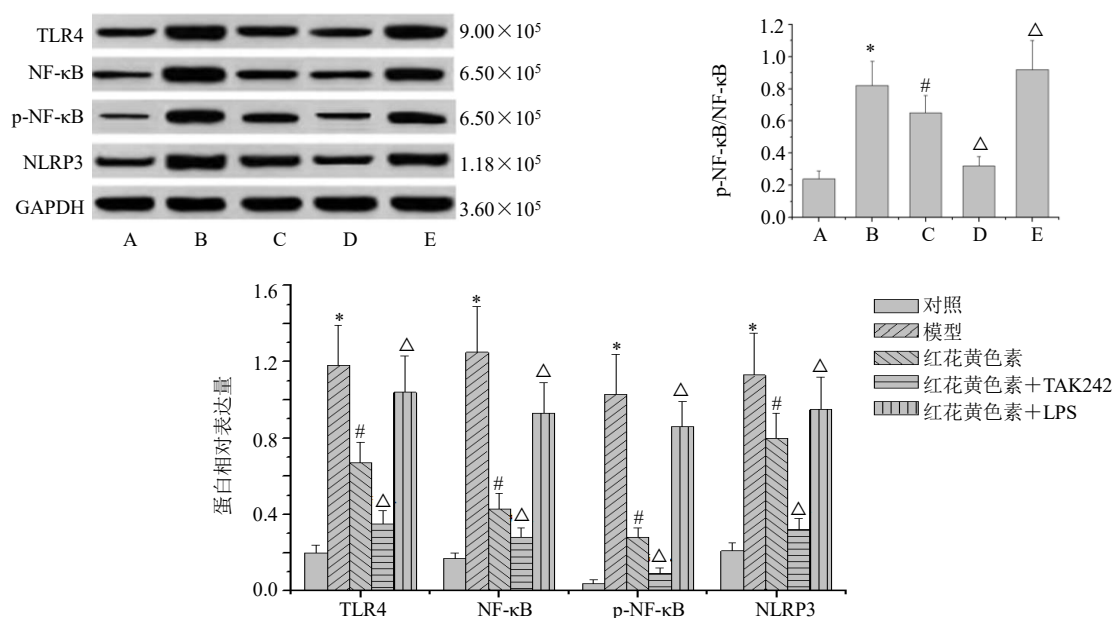
比值明显降低 ($P<0.05$); 与红花黄色素组比较, 红花黄色素+TAK242 组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB 比值明显降低 ($P<0.05$); 而红花黄色素+LPS 组 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达水平及 p-NF-κB/NF-κB 比值明显升高 ($P<0.05$), 见图 9。

3 讨论

近年来, 中医中药治疗多囊卵巢综合征的基础和临床研究日益增多, 普遍展现出疗效确切、不良反应少、复发率低等优势。中医无多囊卵巢综合征病名, 根据临床表现多囊卵巢综合征应属于“不孕症”“月经过少”“月经后期”“癥瘕”等中医学范畴, 病机在于肝气郁滞、气滞血瘀、痰湿内阻所致胞宫脉络阻滞, 当以“疏肝解郁、活血化瘀、化痰利湿通络”整体辨证施治^[18]。中药红花为菊科植物红花的干燥花, 归心、肝经, 具有活血通经、散瘀止痛之功效, 常用于经闭痛经、恶露不行、癥瘕痞块等妇科疾病的治疗, 而作为红花主要活性成分之一的红花黄色素或许具备治疗多囊卵巢综合征的潜力。

多囊卵巢综合征动物模型制备方法主要有雄激素法、雌激素法、芳香化酶抑制剂法、胰岛素联合人绒毛膜促性腺激素法等, 其中芳香化酶抑制剂





A-对照, B-模型, C-红花黄色素, D-红花黄色素+TAK242, E-红花黄色素+LPS; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与红花黄色素组比较: Δ $P < 0.05$ 。

A-control, B-model, C-safflower yellow, D-safflower yellow + TAK242, E-safflower yellow + LPS; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; Δ $P < 0.05$ vs safflower yellow group.

图 9 各组大鼠子宫内膜组织 TLR4、NF-κB、p-NF-κB、NLRP3 蛋白表达及 p-NF-κB/NF-κB 比值比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 9 Comparison of the expression of TLR4, NF-κB, p-NF-κB, NLRP3 and the ratio of p-NF-κB/NF-κB in endometrial tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

法制备的多囊卵巢综合征动物模型除生殖功能异常外,还表现出胰岛素抵抗、高脂血症、肥胖等症,与人类多囊卵巢综合征病症更为接近^[19]。来曲唑为人工合成的一种芳香化酶抑制剂,本研究采用来曲唑诱导制备多囊卵巢综合征大鼠模型并给予红花黄色素进行治疗,结果显示红花黄色素能够有效降低多囊卵巢综合征大鼠空腹血糖、空腹胰岛素和胰岛素抵抗指数,说明红花黄色素具有改善多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗的作用。高雄性激素血症是多囊卵巢综合征典型特征之一,以血清 T 水平升高为主要表现,也是导致卵巢多囊性改变的重要原因^[20]。哺乳动物卵子发育成熟及排卵过程受多种性激素调节,其中 FSH、LH 参与调控卵泡发育和分化过程,二者正常分泌则促进卵泡健康发育与排出。Zhou 等^[21]报道多囊卵巢综合征患者 FSH 异常降低和 LH 水平异常升高,FSH 分泌量不足将导致卵巢颗粒细胞 P450 芳香化酶合成受阻,抑制 P450 芳香化酶依赖的 T 向 E₂ 转化的过程,进而加重高雄性激素血症;此外,LH 升高可导致卵巢间质细胞和卵泡膜细胞过度增殖,并诱导雄性激素分泌。并且,已证实 LH/FSH 升高为多囊卵巢综合征主要致病原因之一^[22]。本研究结果显示红花黄色素能够有

效提高多囊卵巢综合征大鼠血清 E₂、FSH 水平,降低 T、LH 水平和 LH/FSH 比值,减轻卵巢组织和子宫内膜组织病变,降低卵巢囊性扩张性卵泡数并提高黄体数,提高子宫内膜组织腺体数和子宫内膜厚度,说明红花黄色素具有改善多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能和子宫内膜容受性的作用。

随着现代病理生理学研究的深入,发现糖脂代谢紊乱、高雄性激素血症等可导致多囊卵巢综合征患者 TNF-α、IL-1β、IL-18 等促炎因子含量升高,引发慢性低度炎症,进而导致性激素分泌紊乱和卵泡发育异常^[23]。所以,慢性低度炎症被认为是驱动多囊卵巢综合征不断进展的关键因素。TLR4 属于跨膜识别受体,能够通过识别 LPS 等病原分子而激活机体免疫应答反应。TLR4 可诱导 NF-κB 磷酸化并促进 p-NF-κB 核转位,继而促使 NLRP3 炎症小体表达和活化后释放 TNF-α、IL-1β、IL-18 等促炎因子,引发或加重机体炎症反应^[24]。Yu 等^[7]报道通过药物抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路能够有效减轻多囊卵巢综合征大鼠炎症反应,改善其生殖功能。陈思文等^[25]体外细胞实验发现通过药物抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路及其介导的炎症反应,能够减轻多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞损伤。本

研究结果显示红花黄色素能够有效降低多囊卵巢综合征大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 等促炎因子水平,下调卵巢组织和子宫内膜组织 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3 蛋白表达和 p-NF- κ B/NF- κ B 比值,说明红花黄色素具有抑制多囊卵巢综合征大鼠炎症反应的作用,这可能与下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。

为了进一步验证 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路在红花黄色素治疗大鼠多囊卵巢综合征中的作用,本实验设置了红花黄色素+TLR4 抑制剂 TAK242 组和红花黄色素+TLR4 激动剂 LPS 组。结果显示,与红花黄色素组相比,红花黄色素+TAK242 可进一步下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路,明显增强红花黄色素对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗、性激素、炎症因子、卵巢和子宫内膜组织病理改变的调控作用;红花黄色素+LPS 则上调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路,明显减弱红花黄色素上述作用。从而在正反 2 个方向进一步佐证了红花黄色素对大鼠多囊卵巢综合征的治疗作用与其下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。

红花黄色素能够抑制多囊卵巢综合征大鼠炎症反应,改善卵巢功能和子宫内膜容受性,作用机制可能与下调 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。本研究结果为红花黄色素用作多囊卵巢综合征治疗药物提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gao Y, Liu H B, Qiao L C, *et al.* Study of burden in polycystic ovary syndrome at global, regional, and national levels from 1990 to 2019 [J]. *Healthcare*, 2023, 11(4): 562.
- [2] 中国中西医结合学会妇产科专业委员会. 多囊卵巢综合征中西医结合诊治指南 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44(1): 5-18.
- [3] 朱真仪, 孙贇. 多囊卵巢综合征非生育要求的药物治疗 [J]. *世界临床药物*, 2020, 41(8): 581-586.
- [4] 孙博洋, 韩世愈. 慢性低度炎症与多囊卵巢综合征关系的研究进展 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2022, 30(1): 161-164.
- [5] 徐琴, 王静, 黄武. 山楂叶黄酮调节 p38 MAPK/STAT3 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠炎症反应的影响 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2022, 30(12): 2121-2126.
- [6] 林群, 徐丽霞, 陈青华, 等. 多囊卵巢综合征患者血清炎症因子及性激素水平的变化及二甲地黄汤的作用 [J]. *中国现代医生*, 2022, 60(16): 124-127.
- [7] Yu S J, Hou C, Zhang X R, *et al.* Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor ameliorates inflammatory response in polycystic ovary syndrome via inhibiting TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 707: 149782.
- [8] Tang X H, Ren C X, Hu J, *et al.* Cloning, expression and activity analyses of chalcone synthase genes in *Carthamus tinctorius* [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(2): 291-297.
- [9] Liang W L, Zhang M Q, Gao J H, *et al.* Safflower yellow injection alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by reducing oxidative and endoplasmic reticulum stress [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(8): 1058.
- [10] 刘俊, 周有利, 潘云红, 等. 红花黄色素注射液对不稳定型心绞痛患者部分氧化应激和炎症因子水平的影响 [J]. *贵州医科大学学报*, 2020, 45(7): 792-796.
- [11] 张雅筠, 程玉钊, 李伟泽, 等. 红花黄色素纳米柔性脂质体的制备研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(20): 6909-6917.
- [12] 李伟慷, 崔清卓, 郑玉光, 等. 基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 通路的羟基红花黄色素 A 抑制血管紧张素 II 诱导的血管外膜成纤维细胞迁移研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(5): 1478-1486.
- [13] 包海蓝, 特日格乐, 其木格. 红花黄色素对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺功能的改善作用 [J]. *中国药房*, 2021, 32(13): 1578-1582.
- [14] 赵雯, 张勇, 张波, 等. 红花黄色素调节 NF- κ B/NLRP3 信号通路对心肌梗死大鼠心肌细胞焦亡和炎症损伤的影响 [J]. *河北医学*, 2023, 29(1): 25-31.
- [15] 马丽亚, 杜婧雯, 张童, 等. 金匮肾气丸对多囊卵巢综合征模型大鼠的改善作用及机制研究 [J]. *中国药房*, 2022, 33(23): 2869-2873.
- [16] 梁爽爽, 朱莎, 刘妮英, 等. 加味芍药甘草汤基于 Toll 样受体 4/核因子 κ B 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠妊娠结局及免疫机制的影响 [J]. *河北中医*, 2024, 46(3): 433-438.
- [17] 王守燕, 李洁. 丹皮酚抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路对子痫前期大鼠的治疗作用及机制研究 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024, 32(1): 15-21.
- [18] 沈文娟, 金宝, 李浦媛, 等. 中医药治疗多囊卵巢综合征高雄激素血症研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(4): 694-697.
- [19] 刘芳, 徐琳. 多囊卵巢综合征动物模型研究进展 [J]. *青岛大学学报: 医学版*, 2024, 60(5): 787-790.
- [20] Wu L M, Wang Y X, Zhan Y, *et al.* Dulaglutide, a long-acting GLP-1 receptor agonist, can improve hyperandrogenemia and ovarian function in DHEA-induced PCOS rats [J]. *Peptides*, 2021, 145: 170624.

- [21] Zhou L, Ni Z X, Cheng W, *et al.* Characteristic gut microbiota and predicted metabolic functions in women with PCOS [J]. *Endocr Connect*, 2020, 9(1): 63-73.
- [22] Saadia Z. Follicle stimulating hormone (LH:FSH) ratio in polycystic ovary syndrome (PCOS)- obese vs non-obese women [J]. *Med Arch*, 2020, 74(4): 289-293.
- [23] 曲慧颖, 桂文武. 多囊卵巢综合征女性体内的慢性低度炎症 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2024, 43(1): 48-52.
- [24] 吴苏豫, 王海涛, 张杨, 等. 基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路探究白芍总苷对自身免疫性甲状腺炎大鼠炎症损伤的影响 [J]. 中国药理学通报, 2024, 40(8): 1495-1500.
- [25] 陈思文, 胡卫华, 严永旭, 等. 紫杉醇调控 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞生物学行为的影响 [J]. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)学报, 2024, 45(12): 705-709.

〔责任编辑 高源〕