

姜黄素对钛颗粒诱导的小鼠气囊植骨模型溶骨的保护作用

刘子歌^{1,2}, 张 晨¹, 宋国瑞¹, 李 燕³, 郭凤英³, 刘心蕊², 陈德胜^{4*}

(1. 宁夏医科大学临床医学院, 宁夏 银川 750004; 2. 生育力保持教育部重点实验室宁夏生殖与遗传重点实验室, 宁夏 银川 750004; 3. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏 银川 750004; 4. 宁夏回族自治区人民医院骨科, 宁夏 银川 750004)

摘要:目的 探讨姜黄素对钛颗粒诱导的小鼠气囊植骨模型溶骨的保护作用。方法 取 30 只雌性适龄 BALB/c 小鼠制备气囊植骨模型, 将其随机分为空白组、模型组、姜黄素组, 每组 10 只。造模结束后, 观察骨片与气囊组织形态, TRAP 染色检测破骨细胞数目, RT-qPCR 法检测小鼠破骨细胞中 *TRAP*、*NFATc1*、*OPG*、*RANKL* mRNA 表达, ELISA 法检测小鼠植入颅骨中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、*OPG*、*RANKL* 水平, 检测各组小鼠血清中 ALT、AST、Cre、BUN 活性。结果 与模型组比较, 姜黄素组小鼠植入骨片破坏缓解, 破骨细胞数量减少 ($P < 0.05$), 破骨细胞活跃减弱, 颅骨组织中 *TRAP*、*NFATc1*、*RANKL* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), *OPG* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$); 空白组与姜黄素组小鼠血清中 ALT、AST、Cre、BUN 活性比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 姜黄素可通过抑制 RANKL 信号通路来减轻钛颗粒诱导的小鼠气囊植骨模型的炎症骨溶解。

关键词: 姜黄素; 骨溶解; 钛颗粒; 无菌性松动; 气囊植骨模型; RANKL

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2295-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.041

人工关节置换术是治疗终末期关节疾病最成功的手术之一。然而, 假体周围骨溶解和随后出现的无菌性松动是人工关节置换术失败的主要原因^[1]。目前, 翻修手术是治疗无菌性松动的唯一有效方法。近年来, 与无菌性松动相关的研究主要集中在药物于分子水平上调节破骨细胞前体细胞向成熟破骨细胞分化和炎症反应的机制^[2]。假体周围骨溶解的发病机制涉及促炎细胞因子的产生、破骨细胞的激活和磨粒刺激后的骨丢失。核转录因子 κ B (NF- κ B) 信号通路是磨粒诱导骨溶解的潜在重要治疗靶点之一^[3]。

姜黄素是从姜黄的根中分离出来的一种生物相容性较好的多酚化合物。研究发现, 它可以防止卵巢切除术引起的骨质流失并增强骨骼^[4]。姜黄素可能通过抑制促炎性介质肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白介素 1 β (IL-1 β) 来减轻炎症反应, 并通过抑制 NF- κ B 信号转导通路活化来调节细胞免疫应答^[5]。基于此, 姜黄素被认为是预防假体周围骨溶解和人工关节无菌性松动的潜在候选药物。然而, 在颗粒诱导的骨溶解过程中, 姜黄素的抗骨吸收能力是否与 RANKL/骨保护素 (OPG) 信号系统相关也尚不清楚。本研究采用小鼠气囊植骨模型, 研究姜黄素对钛颗粒诱导的骨溶解作用的影响及其相关的细胞信号转导途径。

1 材料

1.1 动物 8~10 周龄雌性 SPF 级 BALB/c 小鼠, 体质量

(22 $\pm$ 3) g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SYXK (京) 2015-0027, 饲养于宁夏医科大学实验动物中心, 实验动物伦理委员会审查编号 2015-019。

1.2 试剂与药物 姜黄素 (美国 MCE 公司, 纯度 96.31%, 批号 09276)。纳米级钛颗粒 (美国 Alfa Aesar 公司, 批号 7440-32-6); 内毒素检测试剂盒 (厦门萤试剂生物科技股份有限公司, 货号 EC80545); 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、肌酐 (Cre)、尿素氮 (BUN) 诊断试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 货号 C00921、C01021、C01121、C01321); TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、*OPG*、*RANKL* ELISA 试剂盒 (北京博奥森生物技术有限公司, 货号 bsk12002、bsk12015、bsk12004、bsk11028、bsk12048); 抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 染色试剂盒、DMSO、实验用玉米油 (美国 Sigma 公司, 货号 CS0740、D2650、C8267); Prime Script RT reagent Kit Perfect Real Time RNA 反转录试剂盒、Ultra SYBR One Step RNA PCR Kit 荧光定量 PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 货号 RR014A、638315)。

1.3 仪器 EG1150 型组织包埋机、RM2265 型全自动轮转切片机等病理设备 (德国 Leica 公司); H-7650 型透射电子显微镜 (日本日立公司); IX71 型光学显微镜 (日本

收稿日期: 2020-08-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82060408)

作者简介: 刘子歌 (1993—), 男, 博士生, 从事骨生物学与生物信息学研究。E-mail: bunnyrabbit_lzg@outlook.com

* 通信作者: 陈德胜 (1972—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事人工关节置换术后的临床与基础研究。E-mail: chales_cds@

163.com

Olympus 公司)。

2 方法

2.1 姜黄素、钛颗粒的制备 采用 5% DMSO 将姜黄素配制成质量浓度为 5 mg/mL 的溶液, 玉米油定容至 25 mg/kg, 现配现用。通过投射电子显微镜观察纳米级钛颗粒, 确定 99% 的颗粒直径小于 10 μm (图 1), 用 70% 乙醇浸泡灭菌 48 h, 无菌磷酸盐缓冲盐 (PBS) 洗涤 3 次, 去除颗粒中附着的内毒素, 严格按照内毒素检测试剂盒说明书进行检测, 结果为小于 0.05 EU/mL, 确认用于实验的钛颗粒中无内毒素, 将钛颗粒悬浮在质量浓度为 1 mg/mL 的无菌 PBS 中备用。

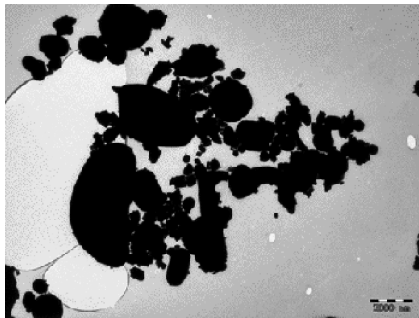


图 1 透射电镜下钛颗粒的大小与形状 ($\times 1\ 200$)

2.2 建模、分组与给药 参考文献 [6-7] 报道, 建立小鼠气囊植骨模型。麻醉小鼠后在其背部注射 2 mL 无菌空气形成气囊, 每天向气囊中注射 0.5 mL 无菌空气, 连续 6 d, 第 7 天气囊形成; 另选小鼠处死, 取出其颅骨骨片, 剔除多余的软组织。切开气囊, 植入小鼠颅骨骨片, 缝合切口。将 30 只小鼠随机分为空白组 (PBS)、模型组 (PBS 混悬钛颗粒)、姜黄素组 (25 mg/kg 姜黄素混悬钛颗粒), 每组 10 只。造模成功后第 2 天, 模型组和姜黄素组小鼠气囊注射 0.1 mg/mL 钛颗粒悬浮液 0.1 mL, 空白组小鼠气囊注射等体积 PBS; 姜黄素组小鼠腹腔注射 25 mg/kg 姜黄素, 空白组和模型组小鼠腹腔注射等体积 PBS, 每天 1 次, 连续 14 d。14 d 后将小鼠脱颈处死, 收集具有完整颅骨植入物及气囊组织, 用于后续形态学与分子生物学分析。

2.3 小鼠组织学形态观察 将收集好的组织进行蜡块包埋, 切成 5 μm 薄片, 对植入小鼠颅骨骨片进行 HE 和 TRAP 染色, 显微镜检查染色切片的图像, 并截取有代表性的图片。参考文献 [8] 报道, 光镜下确定气囊的厚度和植入骨片被腐蚀的面积, 研究骨吸收程度, 骨吸收处附近紫色颗粒的数量为 TRAP 阳性细胞。将收集到的组织用 2% 戊二醛和 1% 锇酸先后固定, 石蜡包埋切片后, 收集到镀有 Formvar 膜的铜网上, 5% 乙酸铀酰染色 4 min, 柠檬酸铅染色 2 min, 在透射电子显微镜下观察切片, 所有切片采用双盲法由 2 位实验员独立阅片, 并进行最终结果评定。

2.4 RT-qPCR 法检测小鼠颅骨组织中 *TRAP*、*NFATc1*、*OPG*、*RANKL* mRNA 表达 取小鼠气囊组织 70 mg, 使用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 逆转录酶和 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA, 使用 SYBR GREEN 试剂盒, 提取 1 μL cDNA 进

行聚合酶链反应, 检测各组小鼠颅骨组织中 *TRAP*、*NFATc1*、*OPG*、*RANKL* mRNA 表达, 以 β -actin 为内参基因, 计算各目的基因相对表达量, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列
<i>TRAP</i>	正向 5'-CTACCTGTGTGGACATGACCA-3'
	反向 5'-GCACATAGCCCACACCGTTC-3'
<i>NFATc1</i>	正向 5'-CCAATGAGCCAGGGGATTAG-3'
	反向 5'-GCAGGAGAGGAAAGGTCGTG-3'
<i>OPG</i>	正向 5'-CACAGTGAGGAGGAAGACATT-3'
	反向 5'-GAGAAGAACCCATCTGGACAT-3'
<i>RANKL</i>	正向 5'-CAGCATCGCTCTGTTCTCTGA-3'
	反向 5'-CTGCGTTTTTCATGGAGTCTCA-3'
β -actin	正向 5'-AGGGTGTGATGGTGGGAATG-3'
	反向 5'-GCTGGGCTGTTGAAGGTCTC-3'

2.5 ELISA 法检测小鼠植入颅骨组织中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 、*OPG*、*RANKL* 水平 在无菌条件下解剖并收集小鼠植入颅骨 (每组 3 只), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 下, 用含 1% 青霉素和链霉素的 DMEM 培养基培养 24 h, 800 r/min 离心 5 min, 收集培养液, 采用 ELISA 试剂盒检测小鼠植入颅骨培养上清液中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 、*OPG*、*RANKL* 水平。

2.6 小鼠肝肾功能检测 实验结束时采集各组小鼠血液, 3 000 r/min 离心 15 min, 得上层血清, 采用诊断试剂盒检测血清中 ALT、AST、Cre、BUN 活性。

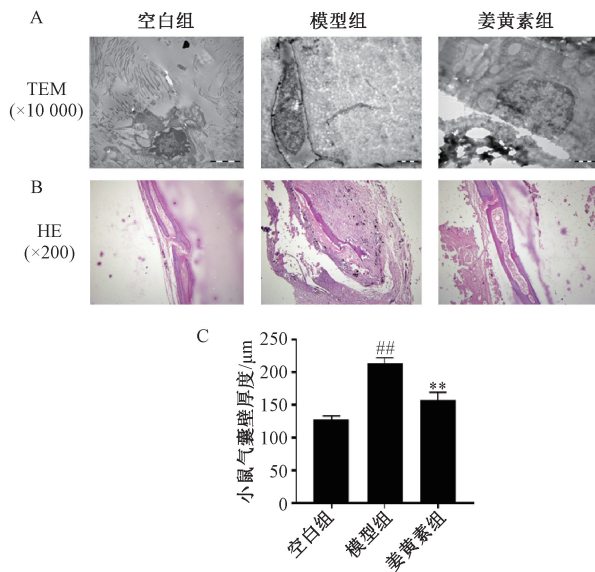
2.7 统计学分析 通过 SPSS 23.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间两两比较采用 Student-*t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 姜黄素对小鼠钛颗粒诱导的骨溶解的影响 模型组小鼠破骨细胞膜皱褶似伪足状, 细胞核扩大, 细胞质丰富, 其中含有大量粗糙的内质网核线粒体, 溶酶体数量增加, 在骨组织表面可以观察到溶骨性变化; 姜黄素组小鼠由钛颗粒引起的骨丢失减少, 破骨细胞质内溶体核线粒体的数量减少, 破骨活跃程度降低。与空白组比较, 模型组小鼠植入颅骨的气囊袋组织增厚, 气囊袋组织中观察到大量的巨噬细胞, 淋巴细胞和其他炎症细胞, 炎症反应强烈, 且在骨膜界面区域有糜烂点; 与模型组比较, 姜黄素组小鼠颅骨植入袋的厚度减少 ($P < 0.01$), 见图 2, 提示姜黄素在体内对磨损颗粒诱导的骨吸收具有保护作用。

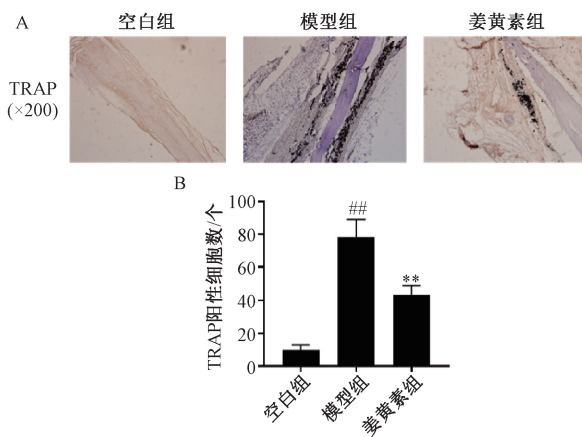
3.2 姜黄素对小鼠钛颗粒诱导破骨细胞形成的影响 模型组小鼠颅骨组织破坏严重, 在侵蚀坑处可见紧密排列的紫色颗粒, 见图 3A。每 1 个高倍镜视野下, 模型组小鼠颅骨组织 TRAP 染色阳性细胞数为 (78.17 ± 9.72) 个; 与模型组比较, 姜黄素组小鼠颅骨组织 TRAP 阳性细胞数量减少 ($P < 0.01$), 为 (43.33 ± 5.22) 个, 见图 3B。

3.3 姜黄素对小鼠破骨细胞中 *TRAP*、*NFATc1*、*OPG*、*RANKL* mRNA 表达的影响 与空白组比较, 模型组小鼠破骨细胞中 *TRAP*、*NFATc1*、*RANKL* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$), *OPG* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较,



注：A 为电镜下观察颅骨组织结构，B 为颅骨组织 HE 染色，C 为气囊壁厚度统计。与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 2 姜黄素对小鼠钛颗粒诱导的骨溶解的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



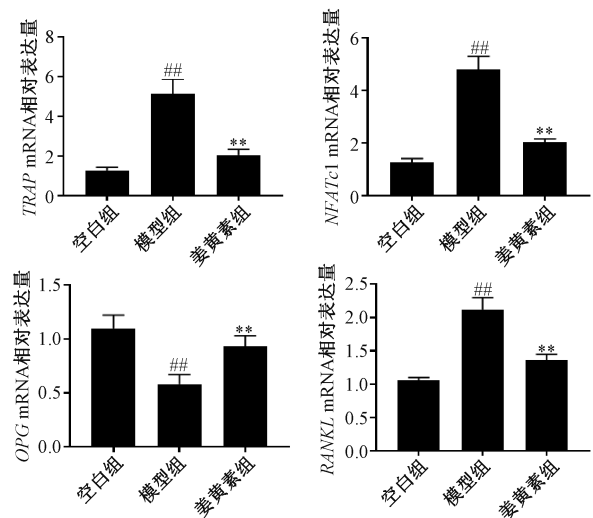
注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 3 姜黄素对小鼠钛颗粒诱导破骨细胞形成的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

姜黄素组小鼠破骨细胞中 *TRAP*、*NFATc1*、*RANKL* mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，*OPG* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，见图 4。

3.4 姜黄素对小鼠植入颅骨中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 、*RANKL* 水平的影响 与空白组比较，对照组小鼠植入颅骨中钛颗粒 *OPG* 水平降低 ($P<0.01$)， $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 、*RANKL* 水平及 *RANKL*/*OPG* 比值升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，姜黄素组小鼠植入颅骨中钛颗粒 *OPG* 水平升高 ($P<0.01$)， $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 、*RANKL* 水平及 *RANKL*/*OPG* 比值降低 ($P<0.01$)，见图 5，提示姜黄素可以逆转钛颗粒刺激后 *RANKL*/*OPG* 比值的失衡。

3.5 各组小鼠肝肾功能检测 与空白组比较，姜黄素组小



注：与空白组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 4 姜黄素对小鼠破骨细胞中 *TRAP*、*NFATc1*、*OPG*、*RANKL* mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

鼠血清中 ALT、AST、Cre、BUN 活性无明显变化 ($P>0.05$)，见表 2。

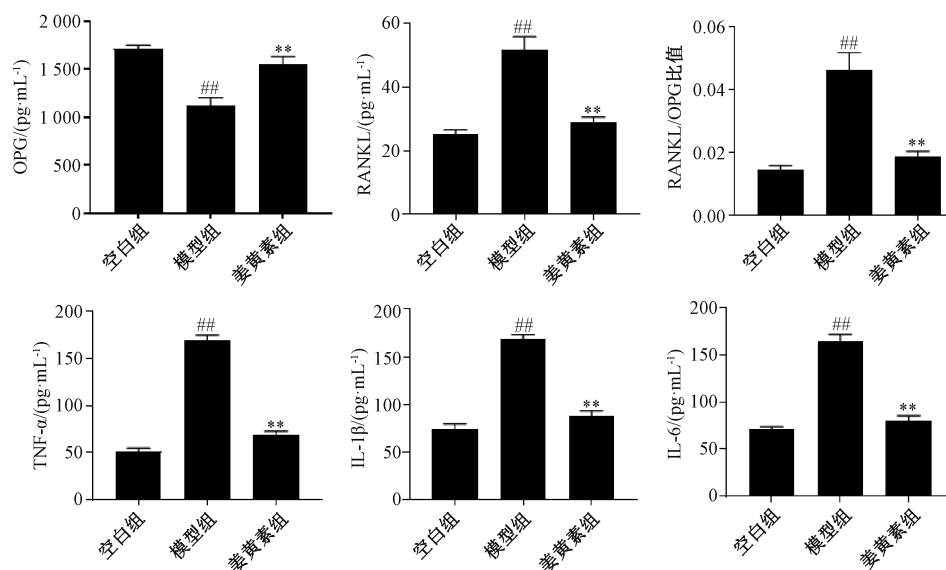
表 2 各组小鼠肝肾功能水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	肝功能		肾功能	
	ALT/ ($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	AST/ ($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cre/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	BUN/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
空白组	21.98 $\pm$ 3.43	17.56 $\pm$ 2.83	35.62 $\pm$ 2.84	5.72 $\pm$ 1.22
姜黄素组	21.06 $\pm$ 3.75	16.97 $\pm$ 2.53	34.52 $\pm$ 2.53	5.35 $\pm$ 1.02

4 讨论

姜黄素是从香料姜黄中提取的主要活性成分，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、抗感染等作用^[9-11]。人工关节无菌性松动由假体来源的磨损颗粒的激活、巨噬细胞的募集和破骨细胞局部炎症反应启动，从而导致骨吸收^[12]。研究发现，姜黄素通过调节巨噬细胞极化来抑制钛颗粒引起的炎症^[13-14]。活化的破骨细胞对于骨吸收至关重要^[15]。因此，研究姜黄素减轻磨粒诱导的破骨细胞生成的效果与机制对治疗骨溶解性疾病具有重要意义。本研究证实钛颗粒的刺激下会导致骨丢失，并且在小鼠颅骨组织中检测出破骨细胞，在姜黄素的干预下能有效降低 *TRAP* 阳性破骨细胞。提示，姜黄素在预防与破骨细胞相关的磨损颗粒诱导的骨溶解方面起到积极作用。

RANKL 对破骨细胞的激活、分化和成熟有十分重要的功能，而 *OPG* 是 *RANKL* 的天然拮抗受体，可以下调破骨细胞特异性基因表达和破骨细胞生成。研究表明，患者滑膜或关节滑液中 *RANKL* 和 *OPG* 表达的比值对假体周围骨溶解的发生至关重要^[16-17]。本研究认为，姜黄素是通过抑制 *RANKL*/*RANK* 信号通路，从而抑制破骨细胞的形成和治疗磨损颗粒诱导的骨溶解。磨损颗粒的吞噬作用引起炎症反应和促炎细胞因子的释放，从而促进破骨细胞活化和随后的骨吸收^[18]。此外，姜黄素对胶原诱导的关节炎也具有抗炎活性^[19]。本研究证实，姜黄素可以抑制界面膜上的



注：与空白组比较，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

图 5 姜黄素对小鼠植入颅骨中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、RANKL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

主要细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的产生。因此，本研究认为姜黄素对促炎细胞因子的抑制作用有可能减轻磨损颗粒引起的慢性炎症。

Hussan 等^[20]发现，高剂量姜黄素通过增加成骨细胞数对去卵巢大鼠骨丢失起到保护作用，与本研究对姜黄素的骨保护效应结果一致。然而，在 Hussan 的研究中，姜黄素被给予 2 个月的灌胃治疗，而在本研究中，姜黄素只被腹腔注射了 2 周。因此，需要进一步的研究来探索给药剂量、给药时间和给药途径。

综上所述，姜黄素可通过抑制 RANKL 信号通路来减轻钛颗粒诱导的小鼠气囊植骨模型的炎症骨溶解，可能成为防治人工关节无菌性松动的候选化合物。

参考文献：

- [1] Banke I J, Stade N, Proding P M, et al. Antimicrobial peptides in human synovial membrane as (low-grade) periprosthetic joint infection biomarkers[J]. *Eur J Med Res*, 2020, 25(1): 33.
- [2] Alotaibi H F, Perni S, Prokopovich P. Nanoparticle-based model of anti-inflammatory drug releasing LbL coatings for uncemented prosthesis aseptic loosening prevention[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14(1): 7309-7322.
- [3] Yan B, Zhou H, Chu J P, et al. Suppression of puerarin on polymethylmethacrylate-induced lesion of peri-implant by inhibiting NF- κ B activation *in vitro* and *in vivo*[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(6): 152372.
- [4] Ahn J, Jeong J, Lee H, et al. Poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles potentiate the protective effect of curcumin against bone loss in ovariectomized rats[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2017, 13(6): 688-698; 11.
- [5] Kelany M E, Hakami T M, Omar A H. Curcumin improves the metabolic syndrome in high-fructose-diet-fed rats; role of

TNF- α , NF- κ B, and oxidative stress [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017, 95(2): 140-150.

- [6] Chen D, Li Y, Guo F, et al. Protective effect of p38 MAPK inhibitor on wear debris-induced inflammatory osteolysis through downregulating RANK/RANKL in a mouse model [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(1): 40-52.
- [7] 张聪聪, 金若敏. HPLC 法测定大鼠血浆中姜黄素的含量及其药理学研究[J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(15): 1829-1832.
- [8] Kauter M D, Zimmermann C, Bachmann H, et al. Biochemical markers of particle induced osteolysis in C57BL/6 mice[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48(11): 1641-1646.
- [9] 石 颖, 李淑萍. 姜黄素临床治疗研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(6): 175-178.
- [10] Fadus M C, Lau C, Bikhchandani J, et al. Curcumin: an age-old anti-inflammatory and anti-neoplastic agent [J]. *J Tradit Complement Med*, 2016, 7(3): 339-346.
- [11] 张闰哲, 徐 露, 姚庆华. 姜黄素联合 5-氟尿嘧啶对结肠癌 SW620 细胞体外抑制的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(4): 1021-1025.
- [12] 蒋昇源, 李 丹, 姜建浩, 等. 钴铬颗粒刺激制备小鼠膝关节假体无菌性松动模型的研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2020, 34(5): 615-620.
- [13] Yang C, Zhu K C, Yuan X W, et al. Curcumin has immunomodulatory effects on RANKL-stimulated osteoclastogenesis *in vitro* and titanium nanoparticle-induced bone loss *in vivo* [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 1553-1567.
- [14] Khanizadeh F, Rahmani A, Asadollahi K, et al. Combination therapy of curcumin and alendronate modulates bone turnover markers and enhances bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis [J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2018, 62(4): 438-445.
- [15] 周 琳, 杨明理, 曾春平, 等. 盐酸二甲双胍抑制破骨细

- 胞分化的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(5): 650-654.
- [16] Pilichou A, Papassotiriou I, Michalakakou K, et al. High levels of synovial fluid osteoprotegerin (OPG) and increased serum ratio of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) to OPG correlate with disease severity in patients with primary knee osteoarthritis[J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(9): 746-749.
- [17] 王 南, 唐 琴, 姬芳玲, 等. 天山雪莲细胞培养物对 RANKL 诱导破骨细胞的影响[J]. 中成药, 2016, 38(1): 1-6.
- [18] Wu C L, Liu X Q, Sun R X, et al. Targeting anion exchange of osteoclast, a new strategy for preventing wear particles induced-osteolysis[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1291.
- [19] Huang G, Xu Z Z, Huang Y, et al. Curcumin protects against collagen-induced arthritis via suppression of BAFF production[J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(3): 550-557.
- [20] Hussan F, Ibraheem N G, Kamarudin T A, et al. Curcumin protects against ovariectomy-induced bone changes in rat model [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 174916.

壮药金母颗粒对盆腔炎性疾病后遗症大鼠的抗炎作用

蒋雅娴^{1,2}, 王志萍^{1,2*}, 陈 俊^{1*}, 黎 芳^{1,2}, 李晓霞^{1,2}, 苏佳昇^{1,2}

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530001; 2. 广西高校中药制剂共性技术研发重点实验室, 广西南宁 530001)

摘要:目的 探讨壮药金母颗粒对盆腔炎性疾病后遗症大鼠的抗炎作用。方法 将 70 只 SD 雌性大鼠随机分为空白组、模型组、花红颗粒组、醋酸地塞米松组、壮药金母颗粒高、中、低剂量组, 通过金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的混合菌液加机械损伤法建立盆腔炎性疾病后遗症大鼠模型。给药 14 d 后, 各组大鼠取血并解剖, 子宫组织行 HE 染色并进行评分, 采用 ELISA 法检测血清中 IL-1 β 、IL-10 水平, RT-qPCR 法及 Western blot 法检测大鼠子宫匀浆中 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 mRNA 及蛋白表达。结果 与空白组比较, 模型组大鼠子宫组织病理评分、血清 IL-1 β 水平和 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 mRNA 及蛋白表达升高 ($P<0.01$), IL-10 水平降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 壮药金母颗粒高剂量组大鼠子宫组织病理评分降低 ($P<0.05$), 血清 IL-10 水平升高 ($P<0.05$), 壮药金母颗粒各剂量组大鼠血清 IL-1 β 水平和子宫组织 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 mRNA 及蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 壮药金母颗粒对盆腔炎性疾病后遗症大鼠具有抗炎作用, 其机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的表达有关。

关键词: 壮药金母颗粒; 盆腔炎性疾病后遗症; 抗炎; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)07-2299-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.07.042

盆腔炎性疾病后遗症是指女性上生殖道的一组感染性疾病, 常为急性盆腔炎没有得到彻底治疗而引发的疾病^[1], 症状为白带异常、腹痛, 其主要病理机制为炎症反应。IL-10 主要抑制炎症反应, 促进组织的修复和再生, 具有减轻炎症细胞过度活化状态的作用^[2]。TLR4 通路在介导炎症反应过程中起关键作用, TLR 可能是细菌感染与炎症形成的桥梁, 细菌性病原体与 TLR4 结合, 激活 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路调控下游炎症介质, 参与盆腔炎大鼠炎症进程^[3]。研究发现, 抑制 TLR4 通路可获得较好的

抗炎效果^[4], 如 TLR4 抑制剂能改善慢性盆腔炎大鼠病理形态学^[5]。

在壮医临床实践中, “咪花肠”疾病中月经病、白带病的症状与盆腔炎性疾病后遗症相同。壮药金母颗粒由金刚刺、火炭母、土茯苓、虎杖、白背叶根、大血藤、苦参、梨头草、黄柏组成, 治疗白带病效果好。其原方(妇雅净颗粒)能够干预盆腔炎性疾病后遗症大鼠 NF- κ B 信号通路, 起到改善盆腔炎性疾病后遗症的作用^[6], 但对于壮药金母颗粒的抗炎作用未见报道。本研究通过检测壮药金母

收稿日期: 2020-10-19

基金项目: 广西科技重大专项项目(桂科 AA18126003)

作者简介: 蒋雅娴, 硕士, 研究方向为中药、民族药新剂型、新制剂的研制与开发。Tel: 18276192086, E-mail: 1427471516@qq.com

*通信作者: 王志萍, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药、民族药新剂型、新制剂的研制与开发。Tel: 13878818902, E-mail: 318007460@qq.com

陈 俊, 博士, 高级实验师, 研究方向为中药药效筛选与机制。Tel: (0771) 2279423, E-mail: Junch_2005@163.com