

妇炎舒胶囊对 SPID 模型大鼠 TLR9/MyD88 信号通路的影响

黄利¹ 魏绍斌¹ 季晓黎¹ 王妍¹ 杨成成¹ 李茂雅²

(1. 成都中医药大学附属医院 四川 成都 610075; 2. 成都中医药大学 四川 成都 610072)

摘要:目的 观察妇炎舒胶囊对盆腔炎性疾病后遗症(sequelae of PID, SPID)模型大鼠抗炎疗效及对 TLR9/MyD88 信号通路的影响。方法 36 只大鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、康妇炎胶囊组(KFY 组)、妇炎舒胶囊高剂量组(FYS 高剂量组)、妇炎舒胶囊中剂量组(FYS 中剂量组)、妇炎舒胶囊低剂量组(FYS 低剂量组)。采用混合菌液注射配合机械损伤法建立 SPID 动物模型 操作结束后常规饲养 14 d。空白组以蒸馏水灌胃,其余各组以相应药物混悬液灌胃 21 d。病理切片 HE 染色观察子宫组织形态变化,ELISA 法检测子宫组织 IL-6、IL-1 β 的表达水平,Western Blot 检测子宫组织 TLR9、MyD88 蛋白的表达,RT-PCR 检测子宫组织 TLR9、MyD88 mRNA 的表达。结果 与模型组比较,FYS 高剂量组 IL-6、IL-1 β 显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),FYS 低、中剂量组有降低趋势($P > 0.05$)。FYS 高剂量组 TLR9、MyD88 蛋白表达显著降低($P < 0.01$),FYS 高剂量组 MyD88 mRNA 显著降低($P < 0.05$),FYS 低、中剂量组 TLR9 mRNA、MyD88 mRNA 有降低趋势($P > 0.05$)。结论 妇炎舒可能通过调控 TLR9/MyD88 信号通路关键因子 TLR9、MyD88、IL-6、IL-1 β 表达发挥抗炎作用。

关键词: 妇炎舒胶囊; 盆腔炎性疾病后遗症; TLR9/MyD88 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-7717(2022)04-0135-05

Effect of Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊) on TLR9/MyD88 Signal Pathway in SPID Model Rats

HUANG Li¹, WEI Shaobin¹, JI Xiaoli¹, WANG Yan¹, YANG Chengcheng¹, LI Maoya²

(1. Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan, China)

Abstract: Objective To observe the anti-inflammatory effect of Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊, FYS) on SPID model rats on TLR9/MyD88 signaling pathway. Methods Thirty-six rats were randomly divided into blank group, model group, Kangfuyan Capsule group(KFY group), FYS high-dose group and FYS medium-dose group and FYS low-dose group. The SPID animal model was established by the method of mixed bacterial liquid injection and mechanical injury. After the operation, the animals were kept for 14 days. The blank group was given distilled water by gavage and the other groups were given the corresponding drug suspension by gavage for 21 days. Pathological sections were stained with HE staining to observe the morphological changes of uterine tissue. ELISA method was used to detect the expression levels of uterine tissue IL-6 and IL-1 β . Western blot was used to detect the expressions of TLR9 and MyD88 protein and RT-PCR was used to detect the expressions of TLR9 and MyD88 mRNA in uterine tissue. Result Compared with the model group, the FYS high-dose group's levels of IL-6 and IL-1 β were significantly reduced($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and the FYS low and medium dose groups had a decreasing trend($P > 0.05$). The expressions of TLR9 and MyD88 proteins in FYS high-dose group was significantly reduced($P < 0.01$). MyD88 mRNA in FYS high-dose group was significantly reduced($P < 0.05$), and TLR9 mRNA and MyD88 mRNA in FYS low and medium dose groups showed a decreasing trend($P > 0.05$). Conclusion FYS had an anti-inflammatory effect by regulating the expressions of key factors TLR9, MyD88, IL-6 and IL-1 β in the TLR9/MyD88 signaling pathway.

Keywords: Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊); sequelae of pelvic inflammatory disease; TLR9/MyD88 signal pathway

盆腔炎性疾病(pelvic inflammatory disease, PID)是女性上生殖道及周围组织的常见感染性疾病,包括子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢脓肿和盆腔腹膜炎。PID 发病与社会经济情况、卫生条件等有关,国内外的发病率报道在 2%~12%^[1-2]。

基金项目: 中国中药协会标准化项目(SATCM-2015-BZ402); 成都中医药大学附属医院基金(H2019004)

作者简介: 黄利(1991-),女,四川遂宁人,医师,博士,研究方向: 中医药防治妇科痛症、炎症性疾病的实验研究。

通讯作者: 魏绍斌(1957-),女,四川成都人,教授、主任医师,博士研究生导师,学士,研究方向: 中医药防治妇科痛症、炎症性疾病的临床与实验研究。E-mail: wsb2012gep@163.com。

若 PID 未得到及时有效的治疗,可能发展为盆腔炎性疾病后遗症(sequelae of PID, SPID),主要包括慢性盆腔痛、PID 反复发作、不孕症和异位妊娠。SPID 是育龄期妇女的常见病、多发病,针对 SPID 的流行病学资料统计尚无确切数据。国内文献报道约 25% 的 PID 患者出现症状复发,40% 可表现为持续慢性盆腔疼痛,20% 的 PID 女性合并不孕症,1% 合并异位妊娠。研究数据显示,SPID 患者不孕的发病风险约为正常育龄期女性的 2 倍,而慢性盆腔疼痛的发病风险则为正常育龄期女性的 4 倍以上^[3]。异位妊娠增加病理性损伤,病原体持续或反复性感染等多种因素相互作用可能是导致 SPID 病情反复难愈的主要原因。PID 反复发作、慢性盆腔痛、不孕症和异位妊娠发生

率与PID急性发作次数呈正相关,故该病严重影响了生育年龄妇女的生殖健康和生活质量。

妇炎舒胶囊为国家医保乙类品种,功效清热凉血、活血止痛,在PID及SPID的疗效已得到相关临床研究的证实^[4-7],但其机制尚不明确。Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)是一种跨膜信号转导蛋白,为机体免疫反应的关键分子之一^[8],具有连接固有免疫和特异性免疫的重要作用,在病毒感染、细菌感染、真菌感染、自身免疫性疾病中发挥作用^[9]。TLR9介导的是髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖型信号传导途径,该信号通路激活后通过促进炎症细胞因子(包括IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等)产生,参与免疫和炎症反应。本研究以妇炎舒胶囊为研究对象,观察妇炎舒胶囊对SPID模型大鼠子宫组织炎症性病理改变的影响,探讨其TLRs/MyD88信号通路的影响,探索妇炎舒胶囊抗炎作用机制。

1 材料

1.1 动物 36只SPF级、健康成熟8周龄未孕SD雌性大鼠,体质量(220 \pm 20)g,由成都达硕生物科技有限公司提供[合格证号:SCXK(川)2015-030],大鼠自由摄食和饮水,通风及其它条件均符合动物管理条例,适应性喂养1周后进行实验,实验动物处理遵守实验动物伦理原则。

1.2 药品与试剂 妇炎舒胶囊(FYS,陕西东科制药有限责任公司生产,国药准字Z20025727,批号:180507),康妇炎胶囊(KFY,山东步长神州制药有限公司生产,国药准字Z20055634,批号:180408)。苏木素染液(武汉赛维尔生物技术有限公司生产,批号:G1005-1);伊红染液(武汉赛维尔生物技术有限公司,批号:G1001);Anti-TLR9 antibody, Mouse monoclonal [abcam-艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:ab134368]; Anti-MyD88 antibody, Rabbit monoclonal [abcam-艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:ab131071]; Rat IL-1 β ELISAKIT(上海茁彩生物科技有限公司,批号:ZC36931); Rat IL-6 ELISA KIT(上海茁彩生物科技有限公司,批号:ZC36404)。金黄色葡萄球菌(菌种号:ATCC25923)、大肠杆菌(菌种号:ATCC 98082)。

1.3 主要仪器 实时荧光定量RT-PCR仪PIKORed 96(Thermo Fisher Scientific公司);低温离心机C2500(湖南湘仪实验仪器厂);热循环仪TCA0096(Thermo Fisher Scientific公司);旋涡混合器XH-B(江苏康健医疗用品有限公司);垂直电泳槽JY-SCZ4+(北京君意东方电泳设备有限公司);电泳仪JY200C(北京君意东方电泳设备有限公司);水平脱色摇床TY-80A(江苏科析仪器有限公司);化学发光凝胶成像仪5200(上海天能科技有限公司);多功能酶标仪MK3(Thermo Fisher Scientific公司);超低温冰箱DW-86L386(海尔集团);高速低温离心机H2050R(湘仪集团);数码三目摄像显微镜BA400Digital(Motic);图像分析软件Image-Pro Plus 6.0(Media Cybernetics)。

2 方法

2.1 SPID模型建立及给药 适应性喂养结束后,采用随机数字表法将36只大鼠随机分为空白组、模型组、康妇炎胶囊组(KFY组)、妇炎舒胶囊高剂量组(FYS高剂量组)、妇炎舒胶囊中剂量组(FYS中剂量组)、妇炎舒胶囊低剂量组(FYS低剂量组)。采用混合菌液注射配合机械损伤法建立SPID动物模型。以10%水合氯醛(0.35 mL/100 g)进行腹腔注射麻醉,麻醉成功后以仰卧位固定大鼠四肢及头部于鼠板上;腹部剪毛,

常规消毒;取腹中线入路,组织剪剪开腹部长约1 cm,暴露大鼠“Y字形”子宫;从大鼠“Y字形”子宫分叉处进针,朝卵巢方向分别用注射器抽拉4次,损伤两侧子宫内膜组织并向每侧宫腔内注入0.1 mL混合菌液(6×10^7 个/mL,按大肠杆菌与金黄色葡萄球菌2:1混合备用),操作完成后使用眼科镊夹闭针孔。术毕,将子宫回纳至腹腔,缝合关闭切口,再次消毒切口。操作结束后常规饲养14 d。空白组将菌液换成无菌生理盐水,余操作步骤同上。FYS高、中、低剂量组分别以2.36、4.73、9.45 g \cdot kg $^{-1} \cdot$ d $^{-1}$ 药物混悬液灌胃(分别为临床剂量的3倍、6倍、12倍)。KFY组以2.83 g \cdot kg $^{-1} \cdot$ d $^{-1}$ 药物混悬液灌胃(为临床剂量6倍)。空白组以等量蒸馏水灌胃。各组均灌胃21 d后进行标本采集。

2.2 取材及标本处理 采集标本前禁食、禁水12 h,于次日8:00 am称重,注射过量戊巴比妥钠处死后立即无菌洗净台上开腹取子宫组织。一侧子宫组织于10%中性甲醛固定,用于病理切片检测;另一侧组织装于冷冻管中,用液氮速冻,保存于-70 $^{\circ}$ C备用。

2.3 HE染色 使用全自动脱水机脱水已固定的子宫组织标本,各组均于近宫颈分叉处上端截取相同长度的子宫组织,进行包埋和切片(横切)后依次进行脱蜡、HE染色、脱水、二甲苯透明、中性树胶封固等步骤。使用显微镜下观察病理切片。

2.4 ELISA法检测子宫组织白细胞介素-6(IL-6)、IL-1 β 的表达水平 取一定量子宫组织,以1:10的比例加入PBS研磨,离心,取上清。严格按照ELISA试剂盒说明书检测子宫组织IL-6、IL-1 β 的表达水平。

2.5 Western Blot检测TLR9、MyD88蛋白的表达 取大鼠子宫标本,加入RIPA裂解液,剪碎组织,冰上裂解10 min,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心10 min,取上清,用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。各组取50 μ L,按4:1比例加入5 \times Loading buffer蛋白变性,按每孔40 μ g蛋白进行上样电泳, PVDF转膜, TBST Buffer稀释的5%脱脂牛奶封闭2 h,一抗孵育(一抗浓度:TLR9 1:350; MyD88 1:5000; β -actin 1:100 000),摇床上轻摇,4 $^{\circ}$ C孵育过夜;TBST洗3次,二抗孵育(稀释浓度:1:5000)中,摇床上轻摇,室温孵育2~3 h, TBST洗3次。ECL发光液进行显影,用凝胶图像分析成像系统进行扫描分析,结果以目的蛋白相对表达量表示。目的蛋白相对表达量=目的蛋白积分光密度值(IOD)/内参积分光密度值(IOD)。

2.6 RT-PCR检测子宫组织TLR9、MyD88 mRNA的表达 提取子宫组织总RNA,严格按照试剂盒说明书建立反转录体系,置于PCR仪上反应,逆转录形成cDNA。反应参数:预变性95 $^{\circ}$ C反应30 s,变性95 $^{\circ}$ C反应5 s,退火55 $^{\circ}$ C反应30 s,45个循环,充分延伸,采集荧光72 $^{\circ}$ C反应30 s。本研究MyD88、TLR9引物为上海生工生物工程技术有限公司设计合成,引物的纯化采用ULTRAPAGE方式。PCR结果采用Thermo Scientific PikoReal软件分析实验过程的样本的CT(Threshold cycle)值,并使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算基因的相对表达水平。

表1 引物及碱基序列

引物名称	上游碱基序列	下游碱基序列
β -actin	GAAGATCAAGATCATTGCTCC	TACTCTCTGCTGTGATGCA
TLR9	GTTCTGCGCGTGACCAACCTGAAG	CACCGTTCGGCTGAAGTCCAGATAC
MyD88	TGCTCTCGATGGTGGTGTGTT	AGTCGCTCTGTGGACACCTGGAGA

2.7 数据处理与分析 采用SPSS 25.0、GraphPad Prism 7.0统计软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本均数间比

较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),方差齐则采用LSD检验,方差不齐则采用Tamhane's T2检验,检验结果以 $P < 0.05$ 时认为其组间差异有统计学意义。

3 结果

3.1 妇炎舒胶囊对SPID大鼠子宫组织病理形态的影响 空白组大鼠子宫内膜、肌层和外膜结构较清晰,子宫内膜上皮细胞矮柱状,排列较规则,子宫腺结构正常。模型组大鼠子宫腔壁变薄,黏膜固有层减少,上皮细胞不同程度变性坏死,子宫腺上皮坏死,腺腔内多量坏死细胞残片及炎细胞浸润,固有层轻微水肿,内有多量炎细胞浸润,部分累及肌层。KFY组大鼠子宫内膜上皮细胞轻度变性坏死,固有层内少量炎细胞浸润。FYS低剂量组大鼠子宫腔壁变薄,黏膜固有层减少,上皮细胞轻度变性坏死,固有层内不等量炎细胞浸润。FYS中剂量组大鼠子宫腔壁变薄,黏膜固有层减少,固有层轻微水肿,内有不平等量炎细胞浸润。FYS高剂量组大鼠子宫内膜少量上皮细胞变性坏死,固有层轻微水肿,内有少量炎细胞浸润。插图IV见图1。

3.2 妇炎舒胶囊对SPID大鼠子宫组织炎性细胞因子的影响 与空白组比较,模型组IL-6、IL-1 β 表达显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,FYS高剂量组IL-6、IL-1 β 显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),FYS低、中剂量组有降低趋势($P > 0.05$)。KFY组与FYS各剂量组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),FYS各剂量组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 各组大鼠子宫IL-6、IL-1 β 浓度($\bar{x} \pm s$)

单位:pg/mL

组别	例数	IL-6 浓度	IL-1 β 浓度
空白组	6	39.790 \pm 3.086	10.443 \pm 0.649
模型组	6	45.850 \pm 1.699**	11.927 \pm 0.839**
KFY组	6	43.218 \pm 3.104	10.722 \pm 0.370 Δ
FYS低剂量组	6	43.710 \pm 2.527	11.185 \pm 1.146
FYS中剂量组	6	43.222 \pm 2.201	11.065 \pm 0.769
FYS高剂量组	6	41.510 \pm 2.520 $\Delta\Delta$	10.807 \pm 0.746 Δ

注:**与空白组比较 $P < 0.01$; Δ 与模型组比较 $P < 0.05$; $\Delta\Delta$ 与模型组比较 $P < 0.01$ 。

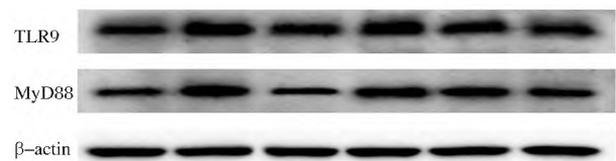
3.3 妇炎舒胶囊对SPID大鼠子宫组织TLR9、MyD88蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组TLR9蛋白、MyD88蛋白表达显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,FYS高剂量组表达显著降低($P < 0.01$),KFY组与FYS中、高剂量组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 大鼠子宫TLR9、MyD88蛋白相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR9	MyD88
空白组	6	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000
模型组	6	1.847 \pm 0.257**	1.953 \pm 0.237**
KFY组	6	1.248 \pm 0.120 Δ	1.086 \pm 0.110 $\Delta\Delta$
FYS低剂量组	6	1.618 \pm 0.240	1.767 \pm 0.212 $\#\&\&$
FYS中剂量组	6	1.461 \pm 0.235	1.701 \pm 0.198 $\Delta\&\&$
FYS高剂量组	6	1.162 \pm 0.181 $\Delta\Delta$	1.226 \pm 0.196 $\Delta\Delta$

注:**与空白组比较 $P < 0.01$; Δ 与模型组比较 $P < 0.05$; $\Delta\Delta$ 与模型组比较 $P < 0.01$; $\#$ 与KFY组比较 $P < 0.05$; $\&\&$ 与高剂量组比较 $P < 0.01$ 。

3.4 妇炎舒胶囊对SPID大鼠子宫组织TLR9、MyD88 mRNA表达的影响 与空白组相比,模型组TLR9 mRNA、MyD88 mRNA表达显著升高($P < 0.05$)。FYS高剂量组MyD88 mRNA显



注:条带从左至右依次为:空白组、模型组、KFY组、FYS低、中、高剂量组;TLR9分子量约120 kDa,MyD88分子量约33 kDa, β -actin分子量约42 kDa。

图2 各组大鼠子宫组织TLR9、MyD88蛋白印迹的代表条带 著降低($P < 0.05$),FYS低、中剂量组TLR9 mRNA、MyD88 mRNA有降低趋势($P > 0.05$)。KFY组与FYS各剂量组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表4 各组大鼠子宫TLR9、MyD88 mRNA相对表达变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR9 $2^{-\Delta\Delta CT}$ (基因表达值)	MyD88 $2^{-\Delta\Delta CT}$ (基因表达值)
空白组	6	1.018 \pm 0.209	1.018 \pm 0.212
模型组	6	3.403 \pm 1.095*	3.383 \pm 0.941*
KFY组	6	1.112 \pm 0.561 Δ	1.273 \pm 0.695 Δ
FYS低剂量组	6	3.278 \pm 2.088	3.065 \pm 2.190
FYS中剂量组	6	2.313 \pm 2.085	1.592 \pm 0.166
FYS高剂量组	6	1.307 \pm 0.205	1.190 \pm 0.231 Δ

注:*与空白组比较 $P < 0.05$; Δ 与模型组比较 $P < 0.05$ 。

4 讨论

SPID发病率高,病程长、迁延难愈,中药口服配合中医特色疗法能明显减轻盆腔疼痛,改善盆腔粘连,消散盆腔炎症包块,减少PID反复发作,具有独特的优势^[10]。中医古籍中无SPID的病名,但其症状散见于“经病疼痛”“带下病”“妇人腹痛”“瘕瘕”“不孕”等病证中,SPID发病多与外感或内生湿热,蕴结胞宫胞脉,气血运行受阻,湿热与瘀血互结有关,“湿热瘀结”证为SPID最常见的证型^[11-12],应以清热除湿、活血化瘀为基本治法。妇炎舒胶囊中忍冬藤、大血藤清热解毒,化瘀止痛,共为君药;臣以蒲公英、赤芍、丹参、虎杖清热祛瘀活血止痛,川楝子、延胡索行气止痛,促进胞宫气机运行,佐以大青叶清热解毒,制大黄助祛除下焦的瘀血阻滞,引诸药直达下焦;甘草清热解毒,护胃安中,调和诸药,共为使药。全方共奏清热解毒除湿、活血化瘀止痛之功。

TLRs/MyD88信号通路是机体防御疾病的重要通路之一,此信号通路的激活可促进多种炎症因子和细胞因子释放,形成级联反应导致炎症进一步放大^[13]。体外研究表明,LPS通过作用TLR2、TLR4,上调子宫内膜基质细胞炎症因子(IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α)的释放;动物研究提示,SPID大鼠子宫TLR2、TLR4、MyD88、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65表达明显升高,推测TLR2、TLR4、MyD88及NF- κ B可能参与了SPID发病过程^[15]。越来越多的研究表明TLR9参与感染性疾病的发生发展,如结核分枝杆菌感染小鼠TLR9的表达较正常小鼠明显上调^[16-17];临床研究发现,TLR9基因影响沙眼衣原体感染女性患者的临床过程^[18]。TLR9在胰腺炎患者显著升高,且可作为诊断病情、判定炎症的严重程度的标志物^[19]。此外,TLR9水平上调可能与H. pylori感染有关^[20]。然而,TLR9在SPID中的作用暂无文献报道。本研究结果显示,SPID模型大鼠子宫TLR9表达上调,提示TLR9参与SPID局部炎症反应。妇炎舒胶囊高剂量组TLR9蛋白表达显著降低,低、中剂量组TLR9蛋白与mRNA均有降低趋势,且妇炎舒各剂量组与康妇炎胶囊比较、妇炎舒各剂量组间比较均无显著差异,提示各剂量组

炎舒胶囊均可下调 TLR9 表达水平,各剂量的调控作用力度与康妇炎胶囊相当。

MyD88 作为 TLRs 通路的一种重要接头蛋白,它参与了除 TLR3 外所有 TLRs 介导的信号转导^[21-22]。魏绍斌团队的临床研究结果显示^[23-24],SPID 患者血清 MyD88 水平较健康组显著升高,本研究亦显示模型组 MyD88 水平显著升高;妇科炎症高剂量组 MyD88 mRNA 表达降低,妇科炎症中、高剂量组 MyD88 蛋白表达显著降低,提示妇科炎症舒胶囊可调控 MyD88 的表达,且有一定量效关系。

IL-6 是机体炎症反应的主要指标之一。细菌感染机体后,细菌内毒素刺激巨噬细胞分泌 IL-6,过表达的 IL-6 促进 T 细胞和 B 细胞增殖分化,激活补体,导致剧烈免疫反应,造成组织损伤^[25]。IL-1 β 是触发炎症反应和免疫反应的重要细胞因子,可启动多种细胞因子的级联反应,且在 endothelial 血管形成、成纤维细胞增殖方面均有促进作用。作为一种慢性炎症性疾病,SPID 模型动物及患者体内均存在明显炎症反应^[26-27],表现为血清 IL-1 β 、IL-6 等水平明显升高,联合其他指标可协助用于 SPID 的诊断^[28]。本实验妇科炎症舒胶囊高剂量组干预后,大鼠子宫 IL-6、IL-1 β 表达显著降低,提示妇科炎症舒胶囊通过减少 IL-6 和 IL-1 β 分泌发挥了较好的抗炎作用,这也与病理检查的结果相一致。综上,妇科炎症舒胶囊可改善 SPID 模型大鼠子宫组织炎症性病理改变,其抗炎作用机制可能与下调 TLRs/MyD88 信号通路关键因子 TLR9、MyD88、IL-6、IL-1 β 表达有关。

参考文献

[1] ROBERT C BRUNHAM, SAMI L GOTTLIEB, et al. Pelvic inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21): 2039-2048.

[2] WORKOWSKI KA, BOLAN GA, CENTERS FOR DISEASE C, et al. Sexually transmitted diseases treatment guidelines [J]. *MMWR Recomm Rep*, 2015, 64(3): 135-137.

[3] MARIA TRENT, DEBRA BASS, ROBERTA B NESS, et al. Recurrent PID, subsequent STI, and reproductive health outcomes: findings from the PID evaluation and clinical health (PEACH) study [J]. *Sex Transm Dis*, 2011, 38(9): 879-881.

[4] 张晋峰,王军霞,李小栓,等. 妇科炎症舒胶囊治疗湿热瘀结型慢性盆腔炎的有效性和安全性评价 [J]. *西部中医药*, 2015, 28(12): 8-11.

[5] 陈静. 妇科炎症舒胶囊联合抗菌药物治疗盆腔炎性疾病湿热瘀结证的临床观察及对患者血清中 IL-10 和 IL-1 β 的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[6] 刘荀. 湿热瘀结型盆腔炎患者应用妇科炎症舒胶囊对中医证候及外周血中 TNF- α 、IFN- γ 影响的临床研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[7] 冯晓玲, 蒋莎, 陈静, 等. 妇科炎症舒胶囊联合抗生素治疗对盆腔炎患者炎症因子的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(12): 2637-2643.

[8] 罗兵, 李涛, 徐元宏. Toll 样受体的信号转导及抗感染免疫研究进展 [J]. *免疫学杂志*, 2011, 27(2): 165-169.

[9] 王晓莉, 何振娟. Toll 样受体 9 与感染性疾病 [J]. *安徽医学*, 2014, 35(12): 1771-1774.

[10] 魏绍斌, 金哲, 魏丽惠, 等. 中成药治疗盆腔炎性疾病后遗症临床指南(2020年) [J]. *中国中西医结合杂志*, 2021, 41(3): 286-299.

[11] 李伟莉, 詹丽. 慢性盆腔炎中医证型分布规律研究 [J]. *中医药临床杂志*, 2010, 22(6): 482-484.

[12] 郭婧, 滕秀香, 胡晶, 等. 924 例慢性盆腔炎患者中医证型分布与影响因素分析 [J]. *北京中医药*, 2019, 38(7): 707-710.

[13] ISAQUE MEDEIROS SIQUEIRA, RAFFAEL JÚNIO ARAÚJO DE

CASTRO, LUIZA CHAVES DE MIRANDA LEONHARDT, et al. Modulation of the immune response by *Fonsecaea pedrosoi* morphotypes in the course of experimental chromoblastomycosis and their role on inflammatory response chronicity [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11(3): 5461.

[14] ALI A, DAR RR, AHMAD SF, et al. Curcumin inhibits lipopolysaccharide and lipoteichoic acid-induced expression of proinflammatory cytokines and production of PGE 2 in the primary human endometrial stromal cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(12): 10015-10021.

[15] 王磊. 从 HMGB-1 与 TLR2/4-NF- κ B 信号通路的相关性探讨甲连盆腔炎对盆腔炎炎后遗症模型大鼠的作用机制 [D]. 泸州: 西南医科大学, 2020.

[16] T K MEANS, D T GOLENBOCK, M J FENTON. Structure and function of Toll-like receptor proteins [J]. *Life Sci*, 2000, 68(3): 241-258.

[17] ANDRE BAFICA, CHARLES A SCANGA, CARL G FENG, et al. TLR9 regulates Th1 responses and cooperates with TLR2 in mediating optimal resistance to *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *J Exp Med*, 2005, 202(12): 1715-1724.

[18] STEPHAN P VERWEIJ, OUAFAE KARIMI, JOLEIN PLEIJSTER, et al. TLR2, TLR4 and TLR9 genotypes and haplotypes in the susceptibility to and clinical course of *Chlamydia trachomatis* infections in Dutch women [J]. *Pathog Dis*, 2016, 74(1): 107.

[19] DEMIRTAS E, KORKMAZ I, CEBECIOGLU K, et al. Serum TLR9 and NF- κ B Biochemical Markers in Patients with Acute Pancreatitis on Admission [J]. *Emerg Med Int*, 2020, 2020: 1264714.

[20] MANOELA DIAS SUSI, DE MATOS LOURENÇO CAROLINE, LUCAS TREVIZANI RASMUSSEN, et al. Toll-like receptor 9 polymorphisms and *Helicobacter pylori* influence gene expression and risk of gastric carcinogenesis in the Brazilian population [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2019, 11(11): 998-1010.

[21] GHASEMI N, AMJADI F, SALEHI E, et al. Expression of Toll-like receptors 7-10 in human fallopian tubes [J]. *Iran J Reprod Med*, 2014, 12(6): 389-394.

[22] SIQUEIRA I M, DE CASTRO RJA, LEONHARDT LCM, et al. Modulation of the immune response by *Fonsecaea pedrosoi* morphotypes in the course of experimental chromoblastomycosis and their role on inflammatory response chronicity [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11(3): 5461.

[23] 唐英. 从 MyD88 正向调控 TNF- α 、IL-6 探讨益气清湿化痰法治疗 PID 反复发作的疗效及机制 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.

[24] 尹小兰, 罗梅, 周丽, 等. 基于 TLRs/MyD88 通路探讨益气清湿化痰法治疗气虚血瘀夹湿证盆腔炎性疾病反复发作疗效及机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(8): 3846-3850.

[25] FUKUI SHOICHI, IWAMOTO NAOKI, TAKATANI AYUKO, et al. M1 and M2 Monocytes in Rheumatoid Arthritis: A Contribution of Imbalance of M1/M2 Monocytes to Osteoclastogenesis [J]. *Frontiers in Immunology*, 2017(8): 1958.

[26] ZOU W, GONG L, ZHOU F, et al. Anti-inflammatory effect of traditional Chinese medicine preparation Penyanling on pelvic inflammatory disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021(266): 113405.

[27] WEI A, FENG H, JIA X M, et al. Ozone therapy ameliorates inflammation and endometrial injury in rats with pelvic inflammatory disease [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018(107): 1418-1425.

[28] 熊英, 马宏莲. 血清 IL-6、IL-8 与宫颈 sIgA 联合检测对女性慢性盆腔炎的诊断价值研究 [J]. *转化医学杂志*, 2019, 8(4): 218-221.

胡桃醌对口腔鳞癌 Tac8113 细胞增殖与凋亡的作用及机制探究

(正文见 107 - 111 页)

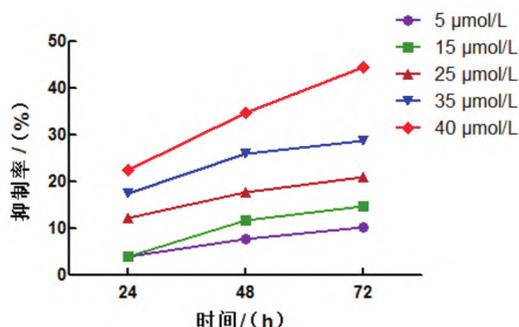


图1 胡桃醌不同浓度和时间下口腔鳞癌 Tac8113 细胞抑制率

妇炎舒胶囊对 SPID 模型大鼠 TLR9/MyD88 信号通路的影响

(正文见 135 - 138 页)

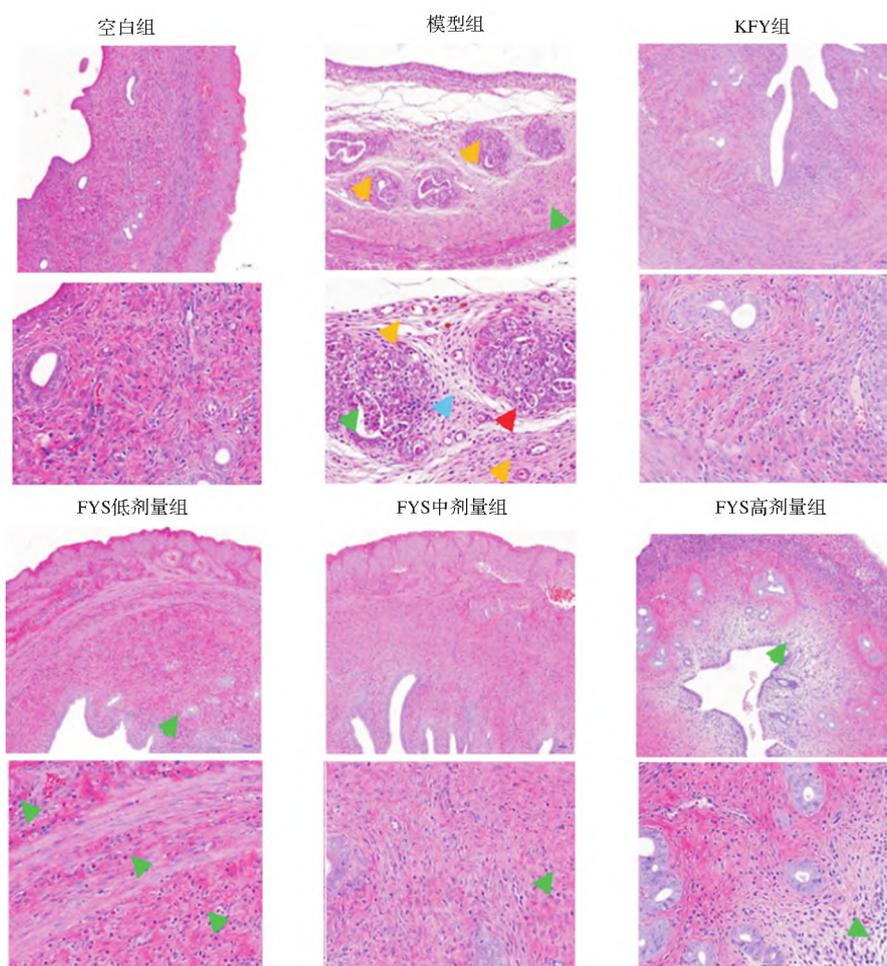


图1 各组大鼠子宫组织病理切片观察(HE, 100倍/400倍)