

基于 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路探讨二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠学习记忆能力的影响

雷芳¹, 黄睿瑜², 陈彦灵¹, 刘武超男¹, 阳晶晶¹, 张盟舸², 沈帆顺³, 邓奕辉^{2*}

(1. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中医学院, 湖南长沙 410208; 3. 湖南春光九汇现代中药有限公司, 湖南长沙 410329)

摘要: **目的** 探讨二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠学习记忆能力的影响。**方法** 60只雌性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、戊酸雌二醇组(0.09 mg/kg)和二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组(1.903 5、3.807、7.614 g/kg), 每组10只, 采用不完全去势法制备围绝经期综合征模型, 连续给药1个月并记录体质量。Morris水迷宫实验检测大鼠学习记忆能力; ELISA法检测血清性激素E₂、FSH、LH、GnRH和炎症因子IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平; HE染色观察海马组织病理形态; 尼氏染色观察海马神经元数量; Western blot检测海马组织NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达; RT-qPCR法检测海马组织NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组大鼠体质量降低($P<0.01$), 学习记忆能力改善, 血清E₂水平升高($P<0.01$), 血清FSH、LH、GnRH、IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低($P<0.01$), 海马CA₁区神经元和尼氏小体数量增加, 海马组织Caspase-1、IL-1 β 蛋白和NLRP3、Caspase-1 mRNA表达降低($P<0.05$, $P<0.01$); 二仙二至甘麦大枣汤高剂量组和戊酸雌二醇组海马组织NLRP3蛋白表达降低($P<0.01$)。**结论** 二仙二至甘麦大枣汤能改善围绝经期综合征大鼠的学习记忆能力, 可能与抑制NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路、减少炎症因子释放、减轻海马神经元损伤有关。

关键词: 二仙二至甘麦大枣汤; 围绝经期综合征; NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路; 学习记忆; 神经炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1656-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.033

围绝经期综合征是指女性在绝经前后雌激素波动或减少, 导致出现潮热、阴道干燥、抑郁和焦虑、认知功能下降、睡眠障碍、骨质疏松等症状和体征^[1]。据调查, 我国农村、城市妇女围绝经期患病率分别为56.35%、43.47%, 其严重程度随绝经期进展而增加^[2], 卵巢功能衰退, 雌激素减少, 导致学习记忆能力减弱^[3]。

最新证据表明, 围绝经期是促炎性的, 伴有相关的全身、中枢神经系统炎症^[4]。研究显示, NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 3, NLRP3)/胱天蛋白酶-1(cysteiny l aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)/白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)信号通路是炎症反应介导的经典通路, 抑制该通路可改善阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)大鼠学习记忆能力^[5]; NLRP3炎症小体信号通路参与围绝经期抑郁症, 而白杨素通过调节NLRP3

炎症小体信号通路, 对海马神经元具有保护作用, 从而改善围绝经期综合征模型大鼠的抑郁行为^[6]。二仙二至甘麦大枣汤是邓奕辉教授根据多年治疗围绝经期综合征经验制成, 具有补肾阴阳、养心安神功效。因此, 本研究采用不完全去势法构建围绝经期综合征大鼠模型, 通过NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路来探讨二仙二至甘麦大枣汤改善其学习记忆能力的机制。

1 材料

1.1 动物 60只SPF级雌性SD大鼠, 6~8周龄, 体质量200~220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(湘)2021-0002], 饲养于湖南中医药大学实验中心[实验动物使用许可证号SYXK(湘)2024-0014], 自由进食饮水, 温度22~25℃, 相对湿度50%~55%。本研究经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审批通过(伦理批号SLBH-202412310001)。

收稿日期: 2025-07-30

基金项目: 湖南省科技创新团队项目(2020RC4050); 湖南中医药大学研究生科研创新项目(CX20240750)

作者简介: 雷芳(1999—), 女, 硕士, 从事中西医结合防治内分泌代谢疾病研究。E-mail: 2493102336@qq.com

*通信作者: 邓奕辉(1970—), 女, 博士, 教授, 从事中医药防治脑血管疾病、内分泌代谢疾病研究。E-mail: 644138330@qq.com

1.2 药物 二仙二至甘麦大枣汤由仙茅 10 g、淫羊藿 10 g、巴戟天 10 g、当归 10 g、黄柏 5 g、知母 5 g、女贞子 10 g、墨旱莲 10 g、浮小麦 15 g、甘草 10 g、大枣 10 g、龙骨 10 g、牡蛎 10 g (批号 92240221、92230908、92230406、92231103、92231136、92240318、92240211、92230314、92230108、92231104、92231123、81240110、81230510) 组成, 其配方颗粒和超微饮片均由湖南春光九汇现代中药有限公司提供, 经湖南春光九汇现代中药有限公司杨灿药师鉴定为正品; 戊酸雌二醇片 (国药准字 J20171038, 批号 769A, 1 mg/片) 购自广州拜耳医药保健有限公司。

1.3 试剂 氨苄青霉素钠 (USP 级, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 A105483); 促黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、促卵泡生长激素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、雌二醇 (estradiol, E₂)、白细胞介素-18 (interleukin-18, IL-18)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-1 β ELISA 试剂盒 (江苏晶美生物科技有限公司, 批号 JM-02207R1、JM-01972R1、JM-01927R1、JM-06126001、JM-01601R1、JM-01587R1、JM-01454R1); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG、NLRP3 抗体、 β -actin 抗体 (英国 Abcam plc 公司, 批号 ab205718、ab8227、ab263899); Caspase-1、IL-1 β 抗体 (美国 Affinity Biosciences 公司, 批号 AF5418、AF5103)。

1.4 仪器 Power pac Basic 电泳仪、Mini Protean Tetra 垂直电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); 5424R 低温冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); LabMaze 动物行为分析系统 (北京众实迪创科技发展有限公司); 荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 分组及造模 大鼠适应性喂养 1 周后, 按体重随机分为假手术组、模型组、戊酸雌二醇组及二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。参照《围绝经期综合征动物模型制备规范 (草案)》^[7], 假手术组仅切除卵巢周围的脂肪组织而保留卵巢, 其余组切除左侧整个卵巢及右侧 80% 卵巢, 术后每天腹腔注射氨苄青霉素钠 (每只每天 50 000 U、0.3 mL), 连续 3 d, 用于防感染。

2.2 阴道涂片 术后第 6 天起, 每天上午 9:00 进行阴道涂片, 双人配合进行采样, 一人用左手固

定大鼠腹部, 右手抓住尾巴向上提起, 使其暴露阴道口, 另一人先用生理盐水将医用消毒棉签浸湿, 再缓慢插入大鼠阴道口内 0.5 cm, 旋转 2~3 圈。在载玻片中央滴上一滴生理盐水, 然后将棉签均匀涂在载玻片上, 待其自然风干后采用快速革兰染色法^[8]涂片, 每天 1 次, 连续 5 d, 最终筛选出每组 8 只造模成功者。

2.3 给药 将配方颗粒和超微饮片传统饮片进行剂量换算后, 再根据《中药药理研究方法学》^[9]中等效剂量换算公式得出二仙二至甘麦大枣汤给药剂量, 即中剂量组, 其低、中、高剂量组给药剂量分别为 1.903 5、3.807、7.614 g/kg, 戊酸雌二醇组给药剂量为 0.09 mg/kg, 假手术组和模型组给予等体积生理盐水, 灌胃给药体积 10 mL/kg, 每天 1 次, 持续 30 d。

2.4 Morris 水迷宫实验 给药结束后进行为期 5 d 的实验, 每天 1 次, 将水迷宫池划分为 4 个象限, 在第 IV 象限放置一个直径 10 cm 的平台, 水面需高于平台 2 cm。实验分为定位航行试验和空间探索试验 2 个阶段, 前 4 d 为定位航行试验, 将大鼠依次从各个象限面向水池壁放入水中, 若在 60 s 内未找到平台则引导其至平台停留 15 s; 第 5 d 为空间探索实验, 撤出平台, 将大鼠从第 II 象限放入水中, 记录 60 s 内在原平台象限的持续时间和进入次数。

2.5 样本采集 Morris 水迷宫实验结束后, 大鼠腹腔注射 4% 戊巴比妥钠麻醉, 剪开腹腔, 腹主动脉取血, 每组随机选取 3 只, 进行心脏灌注后于冰盒上快速断头取全脑, 放入 4% 多聚甲醛中固定 48 h; 其余取海马组织, 放到 -80 °C 冰箱中。

2.6 ELISA 法检测血清性激素、炎症因子水平 按照 ELISA 试剂盒说明书, 检测 E₂、FSH、LH、GnRH、IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平。

2.7 HE 染色观察海马组织病理形态 海马组织用多聚甲醛固定 48 h, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋切片, 进行苏木素-伊红 (HE) 染色, 封片后在光学显微镜下观察。

2.8 尼氏染色观察海马神经元数量 取海马组织切片, 放入二甲苯、乙醇中脱蜡, 再放入尼氏染色溶液中染色 20 min, 纯水冲洗 5 min, 二甲苯透明, 中性树脂胶封片, 在显微镜下观察。

2.9 Western blot 法检测海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达 加入 RIPA 细胞裂解液超声裂解细胞, 提取总蛋白, 测定蛋白浓度, 计算上样体

积,蛋白变性后 SDS 聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,电转膜,5%脱脂奶封闭,TBST洗膜,分别加入 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 、 β -actin 一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,稀释倍数分别为 1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000,TBST洗膜后加入辣根过氧化物酶标记二抗(1:10 000),室温孵育,采用 ECL 发光液和化学发光系统进行成像,以 β -actin 蛋白为内参,ImageJ 软件对条带灰度值进行分析。

2.10 RT-qPCR 法检测海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达 取 50 mg 新鲜冻存海马组织,采用 Trizol 法提取总 RNA,测定其浓度后提取 1 μ g,采用反转录试剂盒进行逆转录反应,条件为 37 $^{\circ}$ C,15 min;85 $^{\circ}$ C,5 s;保持 4 $^{\circ}$ C,再采用 qPCR 试剂盒进行扩增反应,条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,45 个循环(94 $^{\circ}$ C,5 s;60 $^{\circ}$ C,30 s)。以 β -actin 为内参,根据 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算目的基因相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

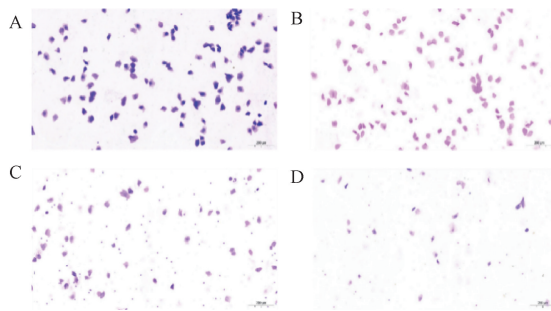
基因	引物序列(5'→3')
NLRP3	正向 CTCTCGACCCCGACTGTAA
	反向 AGAGATCCCAGCAGGACTGT
Caspase-1	正向 TGAAAGAATTTGCTGCCTGCC
	反向 GCTTGCGCACTTCAATGTGTT
IL-1 β	正向 CACCTCTCAAGCAGACACAG
	反向 GGGTTCATGGTGAAGTCAAC
β -actin	正向 GAAGATCAAGATCATTGCTCC
	反向 TACTCTGCTTGTGTATCCA

2.11 统计学分析 通过 SPSS 27.0 软件进行处理,符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,不符合者以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,若满足正态性、方差齐组内比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 法,若方差不齐组间两两比较采用 Dunnett's T3 法;若不满足正态性组间比较采用 Kruskal-Wallis H 非参数检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠动情周期观察 大鼠完整的动情周期分为 4 个阶段:动情前期、动情期、动情后期和动情间期,一般持续 4~5 d^[10]。假手术组呈现规律的动情周期;模型组大鼠动情周期紊乱,长期处于动情前期或者动情间期,提示造模成功。动情前期,以大量有核上皮细胞为主,细胞核为紫蓝色,细胞质为淡粉色,偶尔可见角化细胞;动情期,大量不规则、像落叶堆积成片状的无核角化细胞,细胞呈现淡粉色,密度大,充满整个视野;动情后期,核

上皮细胞、无核角化细胞和白细胞均可见,比例相当;动情间期,以大量白细胞为主,呈圆形或者椭圆形,细胞数较少,可见少量有核上皮细胞^[11],见图 1。



注:A为动情前期,B为动情期,C为动情后期,D为动情间期。

图 1 大鼠动情周期(快速革兰染色,×200)

3.2 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠体质量的影响 与假手术组比较,模型组大鼠体质量增加($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠体质量降低($P<0.01$),见表 2。

表 2 各组大鼠体质量比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	体质量/g
假手术组	286.25 \pm 18.96
模型组	340.88 \pm 26.59 ^{##}
戊酸雌二醇组	300.75 \pm 10.24 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	304.50 \pm 12.27 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	301.25 \pm 12.54 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	294.63 \pm 16.37 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$ 。

3.3 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠学习记忆能力的影响 在定向航行试验中,与假手术组比较,模型组大鼠连续 4 d 逃避潜伏期延长($P<0.01$);与模型组比较,第 1 天二仙二至甘麦大枣汤高剂量组大鼠逃避潜伏期缩短($P<0.01$),第 2 天戊酸雌二醇组和二仙二至甘麦大枣汤高剂量组大鼠逃避潜伏期缩短($P<0.05$),第 3、4 天各给药组大鼠逃避潜伏期缩短($P<0.05, P<0.01$),见表 3、图 2。

在空间探索试验中,与假手术组比较,模型组大鼠原平台象限持续时间缩短($P<0.01$),进入次数减少($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠原平台象限持续时间延长($P<0.05, P<0.01$),进入次数增加($P<0.05, P<0.01$),见表 4。

3.4 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠血清性激素水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清 E₂ 水平降低($P<0.01$),FSH、LH、GnRH 水平升高($P<0.01$);与模型组比较,各给

表3 各组大鼠逃避潜伏期比较 (s, $\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	第1天	第2天	第3天	第4天
假手术组	21.15±6.20	16.60±7.61	11.46±2.46	11.66±5.51
模型组	39.36±12.45 ^{###}	36.75±9.53 ^{###}	36.57±12.51 ^{###}	31.07±10.99 ^{###}
戊酸雌二醇组	29.86±7.59	24.04±10.01*	22.26±9.59**	15.30±7.11**
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	35.26±6.28	31.54±4.15	25.55±5.05*	20.12±8.90*
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	38.61±8.95	31.53±11.84	20.85±8.88**	10.10±5.18**
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	25.04±6.42**	22.91±12.88*	15.36±8.32**	12.22±5.24**

注:与假手术组比较,^{###} $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

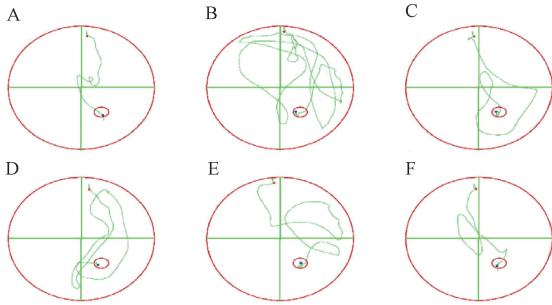


图2 各组大鼠定向航线试验轨迹
注:A为假手术组,B为模型组,C为戊酸雌二醇组,D~F分别为二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组。

图2 各组大鼠定向航线试验轨迹

表4 各组大鼠原平台象限持续时间、进入次数比较 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	原平台象限持续时间/s	原平台象限进入次数/次
假手术组	21.93±5.95	10.83±1.94
模型组	10.14±2.29 ^{###}	4.50±1.38 ^{###}
戊酸雌二醇组	17.23±1.82**	7.50±1.05**
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	14.55±0.91*	6.50±1.05*
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	15.14±2.42*	7.50±1.64**
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	21.29±5.37**	9.83±2.14**

注:与假手术组比较,^{###} $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

药组大鼠血清 E₂ 水平升高 ($P<0.01$), FSH、LH、

GnRH 水平降低 ($P<0.01$), 见表5。

表5 各组大鼠血清性激素水平比较 ($\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	E ₂ /(ng·L ⁻¹)	FSH/(IU·L ⁻¹)	LH/(ng·L ⁻¹)	GnRH/(ng·L ⁻¹)
假手术组	97.66±7.90	25.98±0.98	42.83±1.83	51.12±1.73
模型组	76.10±4.84 ^{###}	35.18±1.21 ^{###}	51.18±1.89 ^{###}	62.76±2.70 ^{###}
戊酸雌二醇组	94.65±3.52**	27.20±1.08**	44.57±2.29**	54.08±2.75**
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	89.05±3.94**	31.48±1.22**	47.44±1.86**	59.26±2.76**
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	88.53±4.52**	30.22±1.41**	45.90±2.51**	57.04±2.33**
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	95.71±3.36**	29.02±1.10**	45.23±2.52**	53.98±2.05**

注:与假手术组比较,^{###} $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

3.5 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠血清炎症因子水平的影响
与假手术组比较,模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平升高 ($P<0.01$);

与模型组比较,各给药组大鼠血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低 ($P<0.01$), 见表6。

表6 各组大鼠血清炎症因子水平比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=8)

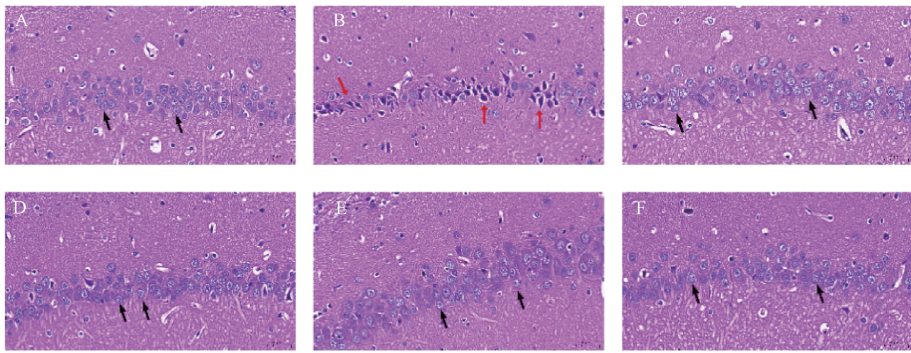
组别	IL-1 β	IL-18	TNF- α
假手术组	66.09±8.79	229.60±43.30	195.30±27.54
模型组	146.10±11.86 ^{###}	621.19±42.17 ^{###}	476.61±45.57 ^{###}
戊酸雌二醇组	82.43±8.20**	307.66±47.33**	249.61±26.24**
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	126.75±7.85**	515.25±22.99**	397.36±41.39**
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	109.81±11.50**	489.75±37.65**	353.19±24.43**
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	98.20±4.81**	395.78±33.08**	290.66±32.72**

注:与假手术组比较,^{###} $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

3.6 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠海马 CA₁ 区病理学的影响
假手术组大鼠海马 CA₁ 区神经元数量多,排列紧密,形态结构完整,轮廓清晰;与假手术组比较,模型组大鼠海马 CA₁ 区神经元数量减少,排列疏松紊乱,细胞核深染固缩,轮廓模糊,结构明显异常;与模型组比较,各

给药组大鼠海马 CA₁ 区神经元数量增加,排列紊乱程度减轻,细胞核深染固缩改善,轮廓清晰,结构恢复,见图3。

3.7 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期大鼠海马 CA₁ 区神经元数量的影响
假手术组大鼠海马 CA₁ 区神经元数量多,排列紧密,形态结构完整;与假

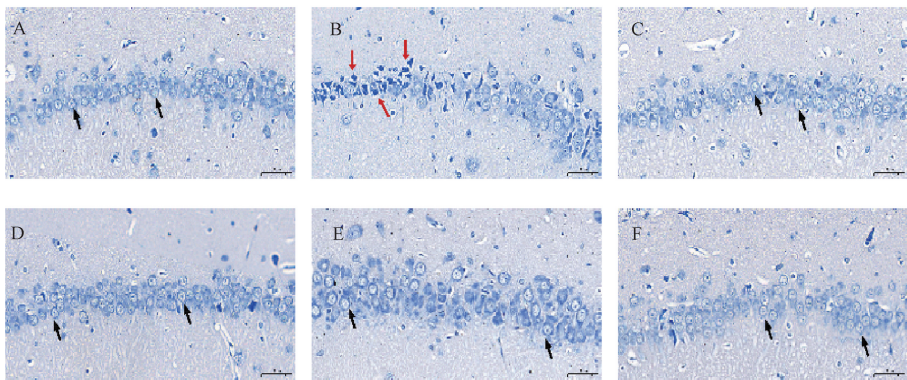


注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为戊酸雌二醇组，D~F 分别为二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组。黑色箭头表示细胞形态结构完整，红色箭头表示细胞结构损伤。标尺 50 μm 。

图3 各组大鼠海马 CA₁ 区病理变化 (HE 染色, $\times 200$)

手术组比较，模型组大鼠海马 CA₁ 区神经元和尼氏小体数量减少，排列紊乱；与模型组比较，各给

药组大鼠海马 CA₁ 区神经元、尼氏小体数量增加，排列紊乱程度减轻，见图 4。

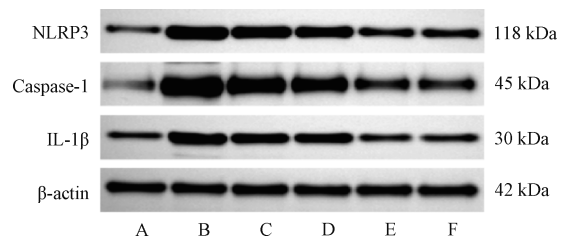


注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为戊酸雌二醇组，D~F 分别为二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组。黑色箭头表示细胞形态结构完整，红色箭头表示细胞结构损伤。标尺 50 μm 。

图4 各组大鼠海马 CA₁ 区神经元变化 (尼氏染色, $\times 200$)

3.8 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，二仙二至甘麦大枣汤低、中剂量组大鼠海马组织 NLRP3 蛋白表达无明显变化 ($P > 0.05$)，二仙二至甘麦大枣汤高剂量组和戊酸雌二醇组大鼠海马组织 NLRP3 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)，各给药组大鼠海马组织 Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 5、表 7。

3.9 二仙二至甘麦大枣汤对围绝经期综合征大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)，而 IL-1 β mRNA 表



注：A 为假手术组，B 为模型组，C~E 分别为二仙二至甘麦大枣汤低、中、高剂量组，F 为戊酸雌二醇组。

图5 各组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白条带

达无明显变化 ($P > 0.05$)，见表 8。

4 讨论

围绝经期综合征的症状错综复杂，临床上以肾阴阳两虚者较多见^[12]。《围绝经期综合征病证结合诊疗指南》指出，治疗肾阴阳两虚证的代表方为二仙汤合二至丸加减^[13]，二仙汤方中淫羊藿、仙茅与巴戟天补助肾阳；知母、黄柏滋补肾阴，清泻

表7 各组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	NLRP3/ β -actin	Caspase-1/ β -actin	IL-1 β / β -actin
假手术组	1.00 \pm 0.23	1.00 \pm 0.22	1.00 \pm 0.07
模型组	2.96 \pm 0.60 ^{##}	4.64 \pm 0.82 ^{##}	2.61 \pm 0.24 ^{##}
戊酸雌二醇组	1.41 \pm 0.30 ^{**}	2.17 \pm 0.35 [*]	1.32 \pm 0.15 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	2.43 \pm 0.59	3.56 \pm 0.40 [*]	1.98 \pm 0.04 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	2.20 \pm 0.61	3.06 \pm 0.40 ^{**}	1.85 \pm 0.10 ^{**}
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	1.43 \pm 0.32 ^{**}	2.00 \pm 0.32 ^{**}	1.32 \pm 0.22 ^{**}

注：与假手术组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

表8 各组大鼠海马组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达比较 [$\bar{x}\pm s$, $M(P_{25}, P_{75})$, $n=3$]

组别	Caspase-1/ β -actin	NLRP3/ β -actin	IL-1 β / β -actin
假手术组	1.00 \pm 0.02	1.00 \pm 0.01	0.99(0.98,1.01)
模型组	4.85 \pm 0.29 ^{##}	2.89 \pm 0.08 ^{##}	2.43(2.38,2.43) ^{##}
戊酸雌二醇组	1.90 \pm 0.24 ^{**}	1.38 \pm 0.12 ^{**}	1.23(1.17,1.27)
二仙二至甘麦大枣汤低剂量组	3.11 \pm 0.23 ^{**}	2.45 \pm 0.11 ^{**}	1.75(1.67,1.79)
二仙二至甘麦大枣汤中剂量组	3.00 \pm 0.17 ^{**}	2.14 \pm 0.10 ^{**}	1.61(1.55,1.67)
二仙二至甘麦大枣汤高剂量组	2.05 \pm 0.14 ^{**}	1.41 \pm 0.14 ^{**}	1.33(1.18,1.35)

注：与假手术组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

相火；当归则可补血和血、和调冲任^[14]，而二至丸方中女贞子补肾滋阴、养肝明目，墨旱莲养阴益精、凉血止血^[15]。围绝经期综合征患者大多有焦虑抑郁、失眠多梦、烦躁易怒等精神方面症状，在临床辩证论治的过程中常加入甘麦大枣汤，方中小麦安神除烦、养心健脾、和胃；甘草中入心脾，在补益心脾之余还可缓肝之急；大枣补脾和胃，补气安中^[16]；龙骨、牡蛎镇静安神、潜阳滋阴。二仙二至甘麦大枣汤是针对围绝经期女性肾阴阳两虚兼有心神失养的病机而创制的，三者合而为一，发挥补肾阴阳、养心安神功效，临床治疗围绝经期综合征疗效显著，能有效缓解患者焦虑、抑郁、失眠症状，抑制 FSH、LH 释放，不良反应少^[17-18]。

现代医学普遍认为，卵巢功能的衰退、性激素水平的降低是导致围绝经期综合征的主要原因。雌激素含量降低时由于负反馈调节的存在，FSH、LH、GnRH 水平升高，引起内分泌紊乱^[19]，还会引起脂肪重新分布和学习记忆能力下降^[20]。本研究中模型组大鼠出现体质量增加、性激素紊乱和学习记忆能力受损的现象，而二仙二至甘麦大枣汤能使其体质量降低、性激素水平恢复到相对正常水平，学习记忆能力改善。HE 染色和尼氏染色结果表明，二仙二至甘麦大枣汤可以减轻海马神经元损伤情况，具有保护神经元的作用。本研究结果显

示，2 种药物展现出不同的疗效，戊酸雌二醇在快速提升性激素水平、降低炎症因子方面表现出显著优势，而二仙二至甘麦大枣汤高剂量组在降低体质量、改善学习记忆能力、调控 NLRP3 炎症小体通路关键分子方面呈现出与戊酸雌二醇相当甚至更优的趋势。

研究表明，卵巢切除术诱导的雌激素缺乏可激活 NLRP3 炎症小体信号通路，从而引起不同器官和组织的病理紊乱^[21]；低水平雌激素环境可激活 NLRP3 炎症小体介导围绝经期综合征小鼠抑郁、焦虑发生^[22]，还能诱导海马神经炎症损伤，导致围绝经期轻度认知障碍^[23]。NLRP3 炎症小体是由 NLRP3 蛋白、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和胱天蛋白酶-1 前体蛋白共同组成的一种大分子蛋白复合物^[24]，一旦被激活就会募集 ASC，进而激活 Caspase-1，被活化的 Caspase-1 会促进炎症因子 IL-1 β 、IL-18 成熟和释放，诱导炎症反应和神经元死亡^[25]，其介导的神经炎症可能是导致围绝经期综合征大鼠学习记忆下降的机制^[26]。本研究发现，二仙二至甘麦大枣汤可降低海马 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白、mRNA 表达，以及炎症因子 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平。

综上所述，二仙二至甘麦大枣汤能改善围绝经

期综合征大鼠学习记忆能力,可能与抑制 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路、减少炎症因子释放、减轻海马神经元损伤有关。

参考文献:

[1] Santoro N, Roeca C, Peters B A, *et al.* The menopause transition: signs, symptoms, and management options[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(1): 1-15.

[2] An J X, Li L F. Urban-rural differences in epidemiology and risk factors of menopause syndrome in middle-aged Chinese women[J]. *Menopause*, 2023, 30(3): 306-316.

[3] Maki P M, Jaff N G. Menopause and brain fog: how to counsel and treat midlife women[J]. *Menopause*, 2024, 31(7): 647-649.

[4] Mccarthy M, Raval A P. The peri-menopause in a woman's life: a systemic inflammatory phase that enables later neurodegenerative disease[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 317.

[5] 许良葵, 黄海潮, 冯 冰, 等. 麻黄-桂枝通过 NF- κ B/NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 通路对阿尔茨海默病大鼠的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2025, 34(7): 889-897; 903.

[6] 杨 琴, 任昊阳, 朱寒雨, 等. 白杨素通过抑制 NLRP3 炎性小体信号通路对围绝经期抑郁症模型大鼠产生保护作用[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(7): 1006-1011.

[7] 苗明三, 田 硕, 辛卫云, 等. 围绝经期综合征动物模型制备规范(草案) [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 996-1000.

[8] 张 蕾, 张若乾, 秦秀云, 等. 快速革兰氏染色法对大、小鼠动情周期的鉴别[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(3): 45-50; 74.

[9] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[10] Pantier L K, Li J, Christian C A. Estrous cycle monitoring in mice with rapid data visualization and analysis[J]. *Bio Protoc*, 2019, 9(17): e3354.

[11] Sano K, Matsuda S, Tohyama S, *et al.* Deep learning-based classification of the mouse estrous cycle stages[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11714.

[12] 王晓轶, 黄立师, 杨东见, 等. 围绝经期综合征相关症状及中医证型分布规律研究[J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(1): 35-38; 45.

[13] 倪 青, 卜祥伟, 庞 晴. 更年期综合征(围绝经期综合征) 病证结合诊疗指南[J]. 世界中医药, 2025, 20(10):

1633-1643.

[14] 余楷杰, 巩子汉, 杨婧雯, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨二仙汤及其温肾拆方治疗抑郁症的可行性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(16): 211-223.

[15] 陈朝阳, 冉俊宁, 姚 婷, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨二至丸治疗更年期综合征的作用机制[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(6): 1491-1495.

[16] 杨雪静, 许二平, 尚立芝. 甘麦大枣汤及其合方治疗抑郁症研究新进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(24): 55-60.

[17] 李 静, 黑向书. 二仙二至合甘麦大枣汤加减治疗女性更年期抑郁焦虑症的临床疗效研究[J]. 中华养生保健, 2025, 43(6): 37-40.

[18] 陆勇刚. 二仙二至合甘麦大枣汤加减治疗女性更年期失眠临床观察及安全性分析[J]. 光明中医, 2021, 36(4): 576-578.

[19] 柳 琳, 刘松林, 张智华, 等. 柴胡四物汤对围绝经期综合征模型大鼠外周性激素水平及下丘脑弓状核区 kisspeptin-GnRH 通路相关蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2024, 35(7): 1620-1623.

[20] Taxier L R, Gross K S, Frick K M. Oestradiol as a neuromodulator of learning and memory[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(10): 535-550.

[21] Dong W L, Peng Q W, Liu Z X, *et al.* Estrogen plays an important role by influencing the NLRP3 inflammasome[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115554.

[22] Wang Y J, Xu Y J, Sheng H, *et al.* Exercise amelioration of depression-like behavior in OVX mice is associated with suppression of NLRP3 inflammasome activation in hippocampus[J]. *Behav Brain Res*, 2016, 307: 18-24.

[23] Li X L, Lin Z H, Chen S R, *et al.* Tiaogeng decoction improves mild cognitive impairment in menopausal APP/PS1 mice through the ERs/NF- κ B/AQP1 signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2025, 138: 156391.

[24] Ren W X, Sun Y, Zhao L, *et al.* NLRP3 inflammasome and its role in autoimmune diseases: a promising therapeutic target[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116679.

[25] Tao S, Fan W, Liu J, *et al.* NLRP3 inflammasome: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2023, 96(4): 1383-1398.

[26] Au A, Feher A, Mcphee L, *et al.* Estrogens, inflammation and cognition[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2016, 40: 87-100.