

基于TLR4/NF- κ B信号通路探讨丹栀逍遥胶囊对慢性盆腔炎大鼠的影响

张婧, 陈翠翠*

(湖北文理学院附属襄阳市中心医院妇产科, 湖北 襄阳 441000)

摘要: **目的** 探讨丹栀逍遥胶囊对慢性盆腔炎大鼠的影响。**方法** 将72只雌性SD大鼠分假手术组、模型组、Tak-242组、丹栀逍遥胶囊低、高剂量组。假手术组、模型组给予生理盐水灌胃,丹栀逍遥胶囊各剂量组给予丹栀逍遥胶囊灌胃(283.50、378.00 mg/kg),Tak-242组腹腔注射Tak-242(1 mg/kg),每天1次,连续3周。采用Verco评分法评估子宫粘连程度;HE染色观察各组大鼠子宫组织病理形态变化;TUNEL染色观察各组大鼠子宫组织细胞凋亡情况;ELISA法检测各组大鼠血清炎症因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平;Western blot法检测各组大鼠子宫组织TLR4、NF- κ B蛋白表达。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠子宫粘连评分增加($P<0.05$);子宫组织细胞坏死脱落,腺体囊性扩张,炎性细胞增加;细胞凋亡率升高($P<0.05$);血清炎症因子水平升高($P<0.05$);TLR4、NF- κ B蛋白表达升高($P<0.05$)。与模型组比较,给药组大鼠子宫粘连程度评分降低($P<0.05$);子宫组织病理损伤减轻,炎性细胞减少;细胞凋亡率降低($P<0.05$);血清炎症因子水平降低($P<0.05$);TLR4、NF- κ B蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论** 丹栀逍遥胶囊能够减轻慢性盆腔炎大鼠子宫组织损伤程度,降低子宫粘连程度、炎症因子水平和子宫组织细胞凋亡率,这一作用与抑制TLR4/NF- κ B信号通路密切相关。

关键词: 丹栀逍遥胶囊;慢性盆腔炎;TLR4/NF- κ B信号通路;炎症;子宫

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)06-2057-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.040

慢性盆腔炎(chronic pelvic inflammatory disease, CPID)是由病原体感染女性上生殖道后引起的一组疾病,主要包括子宫内膜炎等^[1-2],该疾病可导致女性不孕、异位妊娠等严重后果^[3-5]。大量证据表明,模式识别受体Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)识别病原体后激活核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)通路进而促进炎症因子的产生是导致盆腔组织损伤持续发展的关键诱因^[6-7]。因此,TLR4/NF- κ B信号通路可能是治疗CPID的重要靶点。

丹栀逍遥胶囊主要成分包括柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、甘草、牡丹皮、栀子等,具有疏肝健脾、解郁清热、养血调经的功效,常用于治疗肝郁脾弱、血虚发热、两肋作痛、头晕目眩、月经不调等症状^[8]。临床实践表明,丹栀逍遥胶囊对于CPID具有一定疗效^[9],然而,丹栀逍遥胶囊对CPID的系统性作用及影响机制尚未明确。因此,本研究通过探究丹栀逍遥胶囊对CPID大鼠的影响

以及机制,以期CPID的研究及治疗提供新线索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 72只SPF级SD雌性大鼠,8周龄,体质量195~200 g,购自并饲养于武汉云克隆动物有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(鄂)2023-0021,实验动物使用许可证号SYXK(鄂)2023-0135],饲养环境温度23~26 $^{\circ}$ C,相对湿度50%~60%,12 h/12 h光照/黑暗周期,自由饮食与饮水。本研究经本院动物实验伦理委员会审批通过(伦理批号2024YKL-38109T)。

1.1.2 药物与试剂 丹栀逍遥胶囊(陕西方舟制药有限公司,批号Z20060255);Tak-242[北京维百奥(北京)生物科技有限公司,批号243984-11-4];金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、乙型溶血性链球菌[诺安基因科技(武汉)有限公司,批号20240255-11-5、202402365-12-7、20240151-11-9];

收稿日期: 2026-01-09

基金项目: 湖北省自然科学基金面上项目(2017CFB335)

作者简介: 张婧(1980—),女,硕士,副主任医师,从事盆底功能障碍性疾病、尿失禁、子宫腺肌病、子宫肌瘤相关疾病研究

*通信作者: 陈翠翠(1985—),女,住院医师,从事子宫内膜异位症与子宫腺肌病相关疾病研究。E-mail: 471692032@qq.com

TLR4、NF- κ B p65、 β -肌动蛋白 (β -actin) 单克隆抗体 (上海贝博生物科技有限公司, 货号 A23913、A18323、A41001); 抗体稀释液 (广州左克科技发展有限公司, 货号 KGC2103-40); 原位末端标记法试剂盒 [齐一生物科技 (上海) 有限公司, 货号 NG0411]; 动物组织蛋白裂解液 (上海源叶生物科技有限公司, 货号 R32670-25); 苏木素伊红染色试剂 (上海再康生物科技有限公司, 货号 ZK-0041115); 戊巴比妥钠 (美国 Sigma 公司, 货号 200-323-9); 蛋白酶抑制剂 (北京康瑞纳生物科技有限公司, 货号 A3188)。

1.1.3 仪器 NIKON E100 正置显微镜 (日本尼康公司); Azure Biosystems C150 凝胶成像系统 (美国 Azure 公司); StarLighter S96 迷你荧光酶标仪 (北京启衡星生物科技有限公司); DW-86L828ST 海尔变频双系统超低温冰箱 (青岛海尔生物医疗股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模及分组 72 只大鼠经过 1 周的适应性饲养后, 从中随机选择 18 只作为假手术组, 剩余 54 只参考文献 [6] 建立 CPID 模型, 首先使用戊巴比妥钠麻醉大鼠, 在下腹进行切口 (长度约 1 cm) 以暴露大鼠子宫组织, 于大鼠子宫组织分叉处通过注射器灭菌针头进行抽插以实现机械损伤 (每只大鼠均抽插 3 次), 随后注射 0.2 mL 混合菌液 (金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、乙型溶血性链球菌以 1:1:2 配比混合, 浓度为 3×10^{10} 个/mL)。假手术组大鼠仅进行解剖, 并注射 0.2 mL 无菌生理盐水。术后进行消毒切口缝合, 10 d 后从假手术组随机选择 6 只大鼠, 同时从造模组中随机选择 6 只大鼠, 进行模型验证^[10], 相较于假手术组, 造模组大鼠的子宫壁增厚, 正常组织被破坏, 慢性炎症细胞浸润即为成功建模的标志。

将建模成功的 48 只 CPID 大鼠按照随机数字表法分为模型组、Tak-242 组、丹栀逍遥胶囊低、高剂量组, 每组 12 只。假手术组与模型组大鼠给予生理盐水灌胃, 参考《药理实验方法学》及文献资料^[11], 分别给予丹栀逍遥胶囊低、高剂量组的大鼠灌胃丹栀逍遥胶囊 (283.50、378.00 mg/kg), Tak-242 组大鼠腹腔注射 Tak-242 (1 mg/kg), 每天 1 次, 连续给药 3 周。各组大鼠完成末次给药 24 h 后, 腹腔注射戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉, 迅速采集腹主动脉血, 最后通过异氟醚吸入法处死大鼠收集子宫组织, 进行后续实验。

1.2.2 大鼠子宫粘连评分分析 收集各组大鼠子宫组织后, 参照 Verco 评分规则分析各组大鼠的子宫组织子宫粘连评分, 0 分代表子宫无粘连情况; 1 分代表轻度膜状粘连; 2 分代表子宫角与肠管或膀胱粘连, 粘连致密; 3 分代表双侧宫角均与肠管和膀胱粘连, 粘连更致密, 子宫仍存在一定活动度; 4 分代表严重粘连, 子宫固定不动。

1.2.3 ELISA 法检测血清炎症因子水平 取各组大鼠腹主动脉血血样, 2 000 r/min 离心 10 min, 初步分离血细胞, 接着以 10 000 r/min 离心 10 min, 进一步提纯血清。使用白细胞介素-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) ELISA 试剂盒, 按照说明书操作, 进行样本加样、孵育、加入检测试剂, 最后用酶标仪测量吸光值, 并通过标准曲线计算出血清炎症因子的具体浓度。

1.2.4 HE 染色观察子宫组织病理变化 首先将子宫组织放入中性福尔马林固定液中固定 6 h, 自来水冲洗 12 h, 然后进行组织脱水, 将子宫组织包埋于石蜡中, 待石蜡凝固后将子宫组织切成 4 μ m 厚的子宫组织切片。切片经过梯度乙醇逐步复水, 依次用苏木精染核物质、伊红染胞浆及细胞外基质, 经脱水和二甲苯透明化处理, 中性树脂封片, 封片剂晾干后在显微镜下观察并记录拍照。

1.2.5 TUNEL 法检测子宫组织细胞凋亡情况 将各组大鼠的子宫组织石蜡切片经加热后浸入二甲苯中处理以脱蜡, 随后用梯度乙醇复水, 使用柠檬酸钠加热处理进行抗原修复, 用蛋白酶 K 处理切片 10 min。按照 TUNEL 试剂盒说明书准备反应体系并滴加到切片上孵育, 经细胞核复染后封片, 在显微镜下观察子宫组织凋亡细胞的分布。

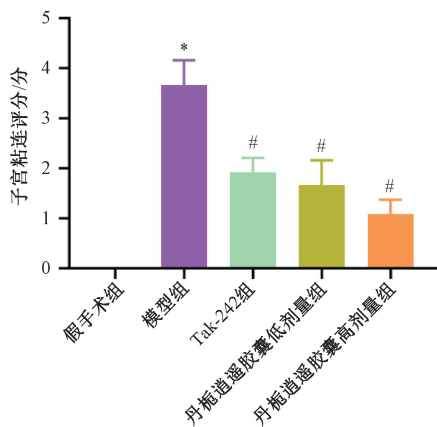
1.2.6 Western blot 法检测 TLR4/NF- κ B 通路蛋白表达 将新鲜子宫组织经液氮研磨后, 加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 冰上匀浆并离心取上清, 用 BCA 法测定蛋白浓度。制备蛋白混合液后, 将蛋白样品上样至 10% 浓度 SDS-PAGE 凝胶中进行电泳, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭后, 分别孵育一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜, TBST 漂洗后, 加二抗室温孵育 1 h, 漂洗后, 滴加化学发光液, 在 Azure Biosystems C150 凝胶成像系统显影, 以 β -actin 为内参, 计算目的蛋白的相对表达量。

1.3 统计学分析 通过 GraphPad Prism 10.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采

用单因素方差分析，多重比较采用 Tukey 显著性差异检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

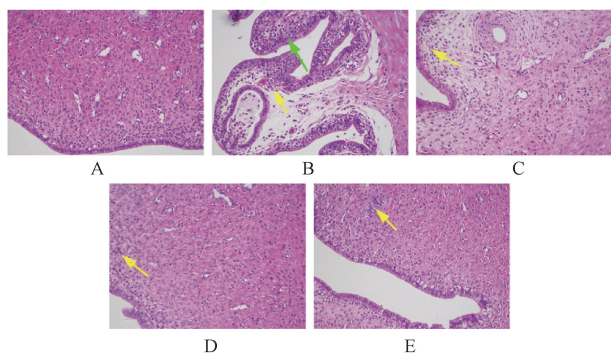
2.1 丹梔逍遥胶囊对 CPID 大鼠子宫粘连评分的影响 与假手术组比较，模型组大鼠子宫粘连评分增加 ($P < 0.05$)；与模型组比较，Tak-242 组与各剂量组大鼠子宫粘连评分降低 ($P < 0.05$)，见图 1。



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

图 1 各组大鼠子宫粘连评分比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

2.2 丹梔逍遥胶囊对 CPID 大鼠子宫病理组织结构的影响 假手术组大鼠子宫组织完整，结构清晰，未出现子宫组织损伤；模型组大鼠子宫组织细胞坏死脱落，腺体囊性扩张，炎性细胞数量增加；与模型组比较，Tak-242 组与各剂量组大鼠子宫组织损伤减轻，炎性细胞减少，见图 2。

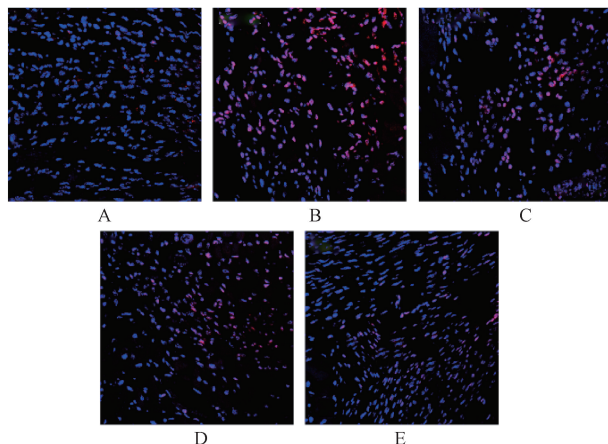


注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为 Tak-242 组，D 为丹梔逍遥胶囊低剂量组，E 为丹梔逍遥胶囊高剂量组。黄色箭头为炎性细胞，绿色箭头为子宫腺体。

图 2 各组大鼠子宫组织病理学变化 (HE 染色, $\times 200$)

2.3 丹梔逍遥胶囊对 CPID 大鼠子宫组织细胞凋亡的影响 与假手术组大鼠比较，模型组大鼠子宫组织细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，Tak-242 组与各剂量组大鼠子宫组织细胞凋亡率降

低 ($P < 0.05$)，见图 3、表 1。



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为 Tak-242 组，D 为丹梔逍遥胶囊低剂量组，E 为丹梔逍遥胶囊高剂量组。

图 3 各组大鼠子宫组织细胞凋亡情况 (TUNEL 染色, $\times 400$)

表 1 各组大鼠子宫组织细胞凋亡情况比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	细胞凋亡率/%
假手术组	1.28±0.09
模型组	66.19±5.37*
Tak-242 组	33.25±3.68#
丹梔逍遥胶囊低剂量组	30.52±6.33#
丹梔逍遥胶囊高剂量组	11.37±3.12#

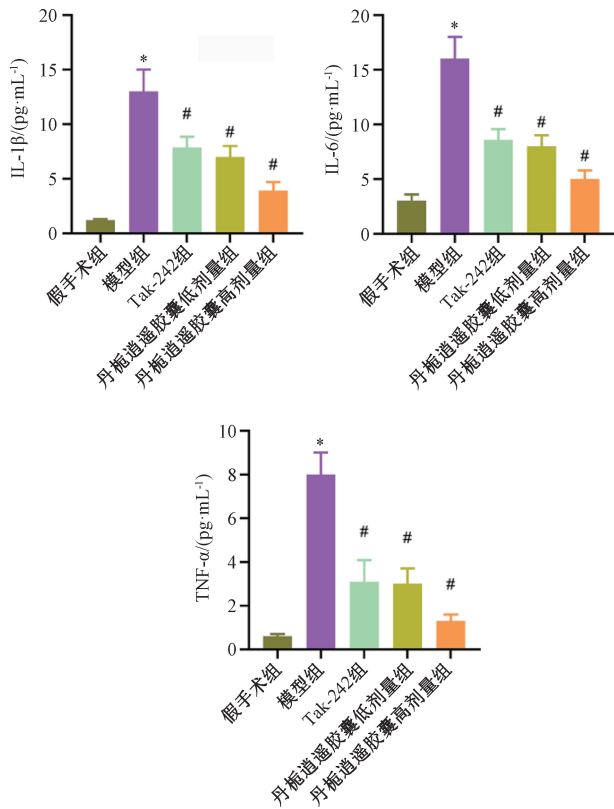
注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。

2.4 丹梔逍遥胶囊对 CPID 大鼠体内炎症因子水平的影响 与假手术组大鼠比较，模型组大鼠体内 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 水平增加 ($P < 0.05$)；与模型组比较，Tak-242 组与各剂量组大鼠体内 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$)，见图 4。

2.5 丹梔逍遥胶囊对 CPID 大鼠子宫组织 TLR4、NF- κ B 蛋白表达的影响 与假手术组大鼠比较，模型组大鼠子宫组织中 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，Tak-242 组与各剂量组大鼠子宫组织中 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)，见图 5。

3 讨论

CPID 通常由多种病原体感染引起，随着抗生素的广泛应用，病原体耐药性逐渐增加，最终导致 CPID 患者全身或局部用药治疗效果均不明显，且治疗后症状易反复^[2-3]。依据中医理论，CPID 多因气血失和、湿热瘀滞引发^[12]。丹梔逍遥胶囊是由柴胡、白芍等中药制成的复方制剂，具备疏肝解郁、健脾养血、清热凉血的功效，常用于改善肝郁化火引发的情绪不畅、胸胁胀痛、月经不调等症^[8]。部分临床实践表明，丹梔逍遥胶囊能够改



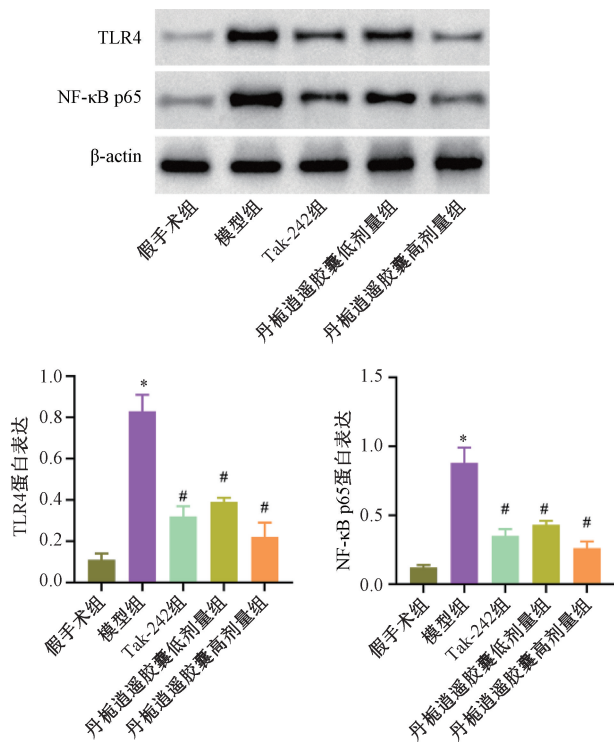
注：与假手术组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。

图4 各组大鼠体内炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

丹栀逍遥胶囊对 CPID 的系统性作用及影响机制尚未明确。本研究使用丹栀逍遥胶囊处理 CPID 大鼠后发现，大鼠子宫组织损伤程度、细胞凋亡率、血清炎症因子水平及子宫粘连评分降低，提示丹栀逍遥胶囊在 CPID 治疗中能够发挥关键作用。

TLR4/NF- κ B 通路是先天免疫系统中识别病原体相关分子并启动炎症反应的核心信号途径，在宿主防御、炎症调控以及多种疾病的发生发展中扮演着关键角色^[13]。TLR4 激活后，主要通过髓样分化因子 88 (mydoid differentiation factor88, MyD88) 依赖途径激活 NF- κ B，这是其促炎反应的主要通路。此外，TLR4 还可以通过另一个适配蛋白 TRIF 激活信号，主要介导干扰素调节因子 3 的激活和 I 型干扰素的产生，进而激活 NF- κ B 通路^[14-15]。在慢性炎症疾病中，TLR4/NF- κ B 通路的持续激活是类风湿关节炎、炎症性肠病、动脉粥样硬化、哮喘等多种慢性炎症疾病的关键病理机制。

近年来，大量研究表明，TLR4/NF- κ B 通路通过驱动的持续性炎症是 CPID 进展的核心机制^[6-7]。靶向该通路有望突破传统抗感染治疗的局限，为治疗 CPID 及后遗症提供新方向。在 CPID 中，TLR4 是识别盆腔感染病原体（如沙眼衣原体、淋球菌、厌氧菌）的关键受体。病原体成分激活 TLR4，通过 MyD88 依赖途径激活 NF- κ B。激活的 NF- κ B 上调促炎因子（TNF- α ，IL-1 β ，IL-6），招募炎性细胞浸润，放大盆腔局部炎症^[16-17]。持续 TLR4/NF- κ B 激活导致炎症因子长期分泌，破坏盆腔微环境，促进成纤维细胞活化、胶原沉积，最终引起输卵管粘连、阻塞^[18-20]，因此，TLR4 抑制剂被认为能够改善 CPID 的进展^[11]。与既往研究相似，本研究使用 TLR4 抑制剂（TAK-242）处理 CPID 大鼠后，大鼠子宫组织损伤程度与细胞凋亡率降低，同时血清炎症因子水平降低，子宫粘连评分降低，该结果再次证实了 TLR4/NF- κ B 通路在 CPID 进展中能够发挥重要作用。此外，进一步的研究结果显示，使用丹栀逍遥胶囊处理 CPID 大鼠后，大鼠体内 TLR4/NF- κ B 通路受到抑制。由此可见，丹栀逍遥胶囊能够发挥类似于 TLR4 抑制剂（TAK-242）的作用，其通过抑制 TLR4/NF- κ B 通路进而改善 CPID 大鼠的疾病进展。然而，本研究还观察到，高剂量丹栀逍遥胶囊对于 CPID 大鼠的改善作用高于单一使用 TLR4 抑制剂（TAK-242），推测丹栀逍遥胶囊对 CPID 的改善作用可能不仅仅是单一通过调节 TLR4/NF- κ B 通路实现的，因此，后续研究



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

图5 各组大鼠子宫组织 TLR4、NF- κ B 蛋白表达比较 ($n = 6$)

善 CPID 患者整体状况，且安全性较高^[9]。然而，

可进一步通过转录组学或蛋白组学等手段,系统解析其潜在的多靶点作用网络,以更全面揭示其治疗机制。

综上所述,本研究发现,丹梔逍遥胶囊能够减轻 CPID 大鼠子宫组织损伤程度,降低子宫粘连程度、炎症因子水平和子宫组织细胞凋亡率,并且这一作用与抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路密切相关。

参考文献:

[1] Shroff S. Infectious vaginitis, cervicitis, and pelvic inflammatory disease[J]. *Med Clin North Am*, 2023, 107(2): 299-315.

[2] Frock-Welnak D N, Tam J. Identification and treatment of acute pelvic inflammatory disease and associated sequelae[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2022, 49(3): 551-579.

[3] 王梦瑶, 罗 廷, 魏兆莲. 慢性盆腔炎中西医结合治疗进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(3): 584-588.

[4] 韩 莹, 郑 娟, 李丽森, 等. 少腹逐瘀汤治疗慢性盆腔炎的临床应用与机制研究进展[J]. *长春中医药大学学报*, 2025, 41(5): 570-574.

[5] 曾璐璐, 曾俏俏, 张晚晴, 等. 盆腔炎性疾病的发病机制及联合治疗研究进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2025, 52(3): 252-256; 279.

[6] 胡 雅, 陈艳敏, 王 斌, 等. 连翘提取物对慢性盆腔炎模型大鼠炎症反应及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *解剖科学进展*, 2024, 30(6): 621-624.

[7] 折慧芝, 刘 聪, 杜宇坤, 等. 基于 TLR4/NF- κ B 信号通路分析妇科千金胶囊联合头孢地尼治疗慢性盆腔炎的疗效及其机制[J]. *现代生物医学进展*, 2024, 24(7): 1312-1315.

[8] 臧钰荣, 张贺芳, 李 硕, 等. 丹梔逍遥胶囊对肝郁脾虚型甲状腺功能亢进症患者的临床疗效[J]. *中成药*, 2024, 46(10): 3306-3309.

[9] 黄汝芹. 丹梔逍遥胶囊治疗慢性盆腔炎的临床效果观

察[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2020, 7(34): 167-168.

[10] 王楚然, 高 慧, 徐文君, 等. 高氏盆炎方五号方对慢性盆腔炎大鼠抗炎、抗粘连的作用及机制研究[J]. *河北中医*, 2021, 43(1): 111-116; 161.

[11] 王春梅, 康 燕, 靳紫薇, 等. TLR4 抑制剂 Tak-242 对慢性盆腔炎大鼠炎症指标及病理形态学改变的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(5): 1053-1055.

[12] 黎月圆, 杨 森, 梁开勇, 等. 针灸治疗慢性盆腔炎的研究进展[J]. *中医学*, 2025, 14(6): 2736-2743.

[13] 潘钰晶, 谢小涛, 何笑凡, 等. 小檗碱对大鼠痤疮模型皮损及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2025, 39(8): 847-854.

[14] 谢兴文, 陈 欣, 刘建军, 等. HMGB1 介导 TLR4/NF- κ B 信号通路干预骨关节炎研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(10): 1519-1522; 1527.

[15] 汪 阳, 王凤荣. 中药调控 TLR4/NF- κ B 信号通路治疗心力衰竭的研究进展[J]. *中成药*, 2025, 47(5): 1553-1558.

[16] 李 颖, 张霄峰, 赵 敏, 等. 化癥宁坤汤对盆腔炎大鼠 TLR4/NF κ B/COX2 信号通路及炎症反应的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2022, 38(2): 165-170.

[17] 姚春娣, 朱澄漪, 温 玲, 等. 膈下逐瘀汤对慢性盆腔炎大鼠 TLR4/NF- κ B 信号的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(11): 2896-2902.

[18] Wang R, Li X Q, Wang M R, *et al.* Effect of Kangfuxiaomi suppository on pelvic inflammatory disease in rats[J]. *J Reprod Immunol*, 2023, 160(2): 104154.

[19] Yin X L, Wang Y, Li M Y, *et al.* Yi-Qi-Qing-Shi-Hua-Yu method improves uterine inflammation in rats with sequelae of pelvic inflammatory disease through the TLR4/NF- κ B signaling pathway and regulates intestinal flora[J]. *Tissue Cell*, 2025, 95(2): 102918.

[20] Kim S M, Piao J J, Bang S H, *et al.* Non-invasive radiofrequency hyperthermia attenuates HMGB1/TLR4/NF- κ B inflammatory axis in a chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome rat model[J]. *World J Mens Health*, 2024, 42(4): 855-864.