

- [23] Rangarajan S, Bone N B, Zmijewska A A, et al. Metformin reverses established lung fibrosis in a bleomycin model[J]. *Nat Med*, 2018, 24: 1121-1127.
- [24] Wu H, Sun W, Zeng Z, et al. Baihe Gujin Decoction attenuates idiopathic pulmonary fibrosis via regulating proline metabolism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 49: 119934.
- [25] Wang X C, Song K, Tu B, et al. New aspects of the epigenetic regulation of EMT related to pulmonary fibrosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 956: 175959.
- [26] Huang C, Liang C, Tong J, et al. Soluble E-cadherin participates in BLM-induced pulmonary fibrosis by promoting EMT and lung fibroblast migration[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(1): 435-443.
- [27] He H, Ji X, Cao L, et al. Medicine targeting epithelial-mesenchymal transition to treat airway remodeling and pulmonary fibrosis progression[J]. *Can Respir J*, 2023, 2023: 3291957.
- [28] Li Q, Deng M S, Wang R T, et al. PD-L1 upregulation promotes drug-induced pulmonary fibrosis by inhibiting vimentin degradation[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 187: 106636.

基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠的改善作用

窦桢媛¹, 施正梅¹, 罗菊¹, 韦佳¹, 李婷^{2*}, 刘衡^{1*}

(1. 大理大学药学院, 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南大理 671000; 2. 滇西应用技术大学健康科技学院, 云南大理 671000)

摘要: **目的** 探讨绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠的改善作用。**方法** 将大鼠随机分为正常组、模型组、保妇康栓组 (14.13 mg/kg) 和绿花白千层高、中、低剂量组 (34、17、8.5 mg/kg 绿花白千层精油栓剂), 通过宫颈穹窿腔注入 20% 苯酚胶浆建立大鼠宫颈炎模型, 造模结束后给予栓剂干预 7 d。给药结束后第 2 天处死大鼠, 取血清和宫颈组织, HE 染色观察宫颈组织病理改变; 采用试剂盒检测血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性; ELISA 法检测血清前列腺素 E2 (PGE2) 及宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平; 免疫组织化学法和 Western blot 法检测宫颈组织 Toll 样受体 4 (TLR4)、髓样分化因子 88 (MyD88)、核转录因子- κ B (NF- κ B) p50 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 绿花白千层精油栓能在一定程度上减轻大鼠外阴红肿症状, 减少分泌物分泌; 减轻宫颈组织炎症细胞浸润面积; 降低血清 PGE2 水平 ($P < 0.01$), 升高血清 SOD 活性 ($P < 0.05$), 降低宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 下调宫颈组织 TLR4、MyD88 及 NF- κ B p50 蛋白表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 绿花白千层精油栓能减轻大鼠宫颈炎反应, 其作用与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路活化有关。

关键词: 绿花白千层; 精油; 栓剂; 宫颈炎; 炎症反应; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0983-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.039

宫颈炎是常见的妇科炎症, 多由外部损伤、个人卫生等原因导致, 临床表现为宫颈和阴道分泌物增多、腹痛及经间期出血等^[1]。据 WHO 数据显示, 1990 年至 2019 年间, 我国宫颈癌发病率增长了 169.80%^[2]。目前常用的抗生素疗法易导致耐药性和过敏反应^[3-4]。因此, 开发有效且不良反应小的治疗方案十分重要。

绿花白千层 *Melaieuca viridiflora* Sol. ex Gaertn. 是桃金娘科千层木属常绿乔木, 主要生长在我国东南部和西南部热带亚热带地区^[5]。研究显示, 其精油具有抗炎、抑菌和抗氧化等活性^[6-8]。研究表明, 绿花白千层精油能显著抑制宫颈炎大鼠促炎因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6) 表达, 展现出良好的治疗潜力^[9-10]。但其具体的分子作用机制尚待阐明。

收稿日期: 2025-06-20

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202305AC160034); 滇西应用技术大学引进人才科研启动项目 (2023RCKY0004)

作者简介: 窦桢媛 (1999—), 女, 硕士, 研究方向为中药药理学。E-mail: 1346231665@qq.com

*通信作者: 李婷 (1980—), 女, 博士, 副教授, 从事云南高原植物芳香疗法研究。E-mail: dlhlylt@163.com

刘衡 (1989—), 男 (回族), 博士, 副研究员, 从事芳香植物功效物质基础研究。E-mail: lheng125@126.com

栓剂作为妇科局部给药的常用剂型,能延长药物滞留时间并提高局部药物浓度,体温下融化后可促进药物释放并覆盖宫颈及阴道黏膜,增强疗效。基于此,本研究拟制备绿花白千层精油栓剂,并应用于宫颈炎大鼠模型,探讨该精油栓剂调控炎症信号通路及促进黏膜修复的潜在机制,以期为妇科炎症的临床治疗提供理论依据和实验支持。

1 材料

1.1 动物 36只SPF级雌性未孕SD大鼠,体重(200±20)g,购自成都达硕实验动物有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(川)2020-0030],饲养在大理大学实验动物中心[实验动物使用许可证号SYXK(滇)2024-0001],动物实验经动物伦理委员会审批通过(动物伦理编号2024-P2-162)。

1.2 药物 绿花白千层精油(纯度98%,云南欧益生物科技有限公司,批号20190623),参考文献[9]报道的方法制备空白栓剂和绿花白千层精油栓剂,绿花白千层低、中、高剂量组栓剂含药量分别为1.7、3.4、6.8mg/粒,栓剂规格0.2g/粒。保妇康栓(海南碧凯药业有限公司,批号20211219),规格1.74g/粒,每粒栓含药量3.0mg,临床治疗宫颈炎用量为1粒/次,每天1次,转换为大鼠给药剂量为14.13mg/kg。

1.3 试剂 DAB显色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号DA1010);前列腺素E₂(PGE₂)、TNF- α 、IL-6酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号LOT20221014A、LOT20220906A、LOT20220906A);RIPA裂解液、5 \times 蛋白上样缓冲液(还原性)、5 \times 蛋白上样缓冲液(非还原性)、BCA蛋白定量检测试剂盒(武汉博尔夫生物科技有限公司,货号BF0003、BF0007、BF0029、BF0026);HRP标记山羊抗兔(美国Jackson ImmunoResearch公司,批号111-035-003);HRP标记山羊抗小鼠(武汉三鹰生物技术有限公司,批号SA00001-1);SOD检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号20221021);TLR4抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号19811-1-AP);MyD88、p-NF- κ B p50抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号AF5195、AF3219); β -actin抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号AC026)。95%乙醇(云南杨林工业开发区油滇药业有限公司,批号20211023);苯酚(上海阿拉丁生化科技股份有限

公司,批号B2216471);单、双硬脂酸甘油酯、混合脂肪酸甘油酯(成都泸天化科森有限责任公司,批号均为141004);甘油(浙江遂昌惠康药业有限公司,批号20141230);羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、无水乙醇、二甲苯、3%双氧水(国药集团化学试剂有限公司,批号F20110509、100092683、10023418、10011218)。

1.4 仪器 201型奥地利安图斯酶标仪(奥地利安图斯公司);Leica RM2016型手动切片机(上海徠卡仪器有限公司);JB-L5型生物组织包埋机、JB-L5型冷冻台、JK-6型生物组织摊烤片机(武汉俊杰电子有限公司);EPSON Perfection V39型扫描仪(日本精工爱普生公司);80211ES05型垂直电泳槽、80834ES05型转印套装[翌圣生物科技(上海)有限公司];KZ-II型研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 造模试剂制备 参考文献[7]报道的方法,取4mL预热的苯酚(50 $^{\circ}$ C)与1gCMC-Na、6mL甘油混合,50 $^{\circ}$ C水浴搅拌均匀,加入9mL蒸馏水,配制成20%苯酚胶浆,4 $^{\circ}$ C保存,使用前恢复至室温。

2.2 宫颈炎大鼠模型建立 取36只标准体质量的雌性未孕SD大鼠,随机选取6只作为正常组,剩余大鼠异氟烷浅麻,宫颈穹窿腔注入20%苯酚胶浆(室温),随后保持头低尾高位5min完成建模。每3d注射1次,每次0.2mL,连续3次;之后每天注射1次,每次注射0.1mL,继续注射3d,造模周期为12d。

2.3 分组及给药 造模结束后,根据“中药阴道用制剂毒性试验方法”的评价标准,评估大鼠外阴红斑、水肿及阴道分泌物的炎症反应程度^[11],评分标准见表1~2。按照炎症程度分组后,根据造模后大鼠的炎症程度,剔除极轻度和重度炎症大鼠后,将剩余轻度、中度炎症大鼠随机分为模型组、保妇康栓组和绿花白千层高、中、低剂量组。除正常组、模型组给予空白栓剂外,其余各组大鼠给予相应含药栓剂,每天1粒,连续给药7d。给药期间,密切观察并记录大鼠一般生理状态,包括毛发光泽度与疏密程度、自主摄食量与饮水量变化、日常行为活动(如运动协调性、探索行为及应激反应)等指标;分别在给药第1、4、7天,测定大鼠外阴炎症评分。

表1 宫颈炎大鼠外阴炎症评分标准

分值/分	红斑	水肿	分泌物
0	无肉眼可见红斑	无组织间隙液体积聚	无分泌物
1	表皮层轻微充血	局限在刺激点5 mm 范围内	微量分泌物
2	真皮层弥散性充血	累及整个处理区域(直径≤10 mm)	少量分泌物
3	皮下血管明显扩张伴色泽加深	隆起高度≥1 mm,伴轮廓变形	中等程度分泌物
4	紫绀样改变伴皮肤皱缩	重度水肿(凸出>1 mm,并有暴露范围)	大量分泌物(大范围弄湿阴道周围)

表2 宫颈炎大鼠外阴炎症反应分级标准

总分值/分	分级
0~3	正常(极轻度炎症)
4~6	轻度炎症
7~9	中度炎症
10~12	重度炎症

2.4 取材 末次给药后,大鼠禁食不禁水 24 h,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠进行麻醉,腹主动脉采血,全血冰浴静置,4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min,分离得到血清。采血后剖取完整的宫颈组织,置于生理盐水中快速清洗,以去除表面杂质,滤纸吸去表面水分后称定质量,并拍照。切取一半宫颈组织浸泡在 10% 福尔马林中;另一半取部分进行冰浴匀浆,然后 4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min,取上层匀浆液;剩余部分于-80 ℃保存。

2.5 检测指标

2.5.1 血清 PGE2 水平、SOD 活性及宫颈组织

TNF-α、IL-6 水平 按照相应试剂盒说明书,取血清及宫颈组织匀浆液,依次加入相应试剂后孵育,显色,通过酶标仪测定并记录光密度(OD)值,计算血清 PGE2 水平、SOD 活性及宫颈组织 TNF-α、IL-6 水平。

2.5.2 宫颈组织病理学 取出于 10% 福尔马林中固定的宫颈组织,制备石蜡切片,HE 染色观察组织病理学变化及黏膜、黏膜下间质变化,并参考文献[12]报道的方法对炎症程度进行评价,评价标准见表 3。综合宫颈总体病理改变程度分为 4 级,正常:6 项指标中浅层组织观察到少量炎症细胞浸润;轻度:6 项指标中有 2 项以上呈现“+”;中度:6 项指标中有 2 项及以上呈现“+”,且有 2 项指标达到“++”;重度:6 项中有 1 项呈现“+++”,同时伴有 2 项“++”及 3 项“+”,或 3 项指标均为“+++”。

表3 宫颈组织炎症程度评价标准

评价指标	评价标准	级别
鳞状上皮层增厚情况	局部超过 2~3 层略有增厚	+
	明显增厚	++
	广泛增厚并使黏膜凹凸不平	+++
柱状上皮鳞化趋势	出现鳞化趋势	+
	明显鳞化	++
	鳞化区域广泛甚至达宫腔	+++
柱状上皮替代鳞状上皮情况	极少区域鳞状上皮出现糜烂,而被邻近柱状上皮增生替代	+
	柱状上皮增生明显替代鳞状上皮	++
	鳞状上皮大片脱落由柱状上皮替代	+++
糜烂情况	极少区域糜烂突破基底膜	+
	明显黏膜上皮变性坏死	++
	黏膜溃疡伴有感染	+++
炎细胞浸润	黏膜及黏膜下浅层有少量炎细胞浸润	+
	黏膜及黏膜下间质内均有中等量炎性细胞浸润	++
	黏膜下及间质内深层均见大量广泛炎细胞浸润	+++
间质成纤维细胞增生	间质内成纤维细胞略增生	+
	成纤维细胞增生明显并伴有少量胶原纤维束	++
	成纤维细胞增生明显并伴有大量胶原纤维束	+++

2.5.3 宫颈组织 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路相关蛋白表达

2.5.3.1 免疫组化法 宫颈组织石蜡切片经脱蜡处理后,采用 pH 6.0 柠檬酸缓冲液进行微波抗原

修复,随后采用 3% H₂O₂ 室温避光孵育 25 min 以消除内源性过氧化物酶活性,PBS 冲洗后分别滴加 TLR4、MyD88 及 NF-κB 一抗(适当稀释)孵育过夜,次日滴加 HRP 标记的二抗室温孵育 50 min,

DAB显色,于显微镜下观察到阳性信号(棕黄色)出现时,水洗终止反应。切片经苏木精复染后,依次经梯度乙醇(70%、80%、95%、100%)脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。于光学显微镜下($\times 200$)系统观察,每张切片随机选取5个非重叠视野,采用Image J软件(Version 1.53)进行图像分析,测定目标蛋白的积分光密度(integrated optical density, IOD)值,以量化蛋白表达。

2.5.3.2 Western blot法 取于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存的宫颈组织,采用蛋白提取试剂盒提取蛋白,12 000 r/min离心15 min,取上层清液,用BCA法测定蛋白浓度。蛋白样本经上样、电泳、转膜、封闭、洗膜后,分别孵育一抗、二抗,ECL法显影,在化学发光成像仪内进行曝光成像,最后对条带灰度值进行分析。

2.6 统计学分析 通过SPSS 26.0软件进行处理,符合正态分布的计量资料以平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,方差齐时多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD法;2组间比较采用 t 检验;不符合正态分布的等级资料比较采用非参数秩

和检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠一般状态的影响 在造模期间,与正常组比较,造模组大鼠进食量减少,并伴有竖毛和喜扎堆倾向,同时宫颈口可见明显红肿及不同程度的分泌物。药物干预后,各给药组大鼠一般状态及宫颈炎相关症状均较模型组有不同程度改善。其中,绿花白千层精油栓高剂量组在干预第3天外阴红肿开始减轻,分泌物逐渐减少;至第7天时,外阴红肿基本消退,分泌物明显减少,外阴外观基本恢复正常,红肿及分泌物均基本消失。

3.2 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠外阴炎症程度的影响 造模后,模型组外阴炎症评分较正常组升高($P<0.01$),且各造模组间外阴炎症评分无统计学差异($P>0.05$),说明造模成功。给药7 d后,模型组炎症评分仍高于正常组($P<0.01$);保妇康栓组和绿花白千层精油各剂量组评分较模型组均降低($P<0.05$),说明含药栓剂能明显改善大鼠外阴的炎症状态,见表4。

表4 各组大鼠外阴炎症评分比较(分, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	第1天	第4天	第7天
正常组	0	0	0
模型组	7.00 \pm 0.89**	5.50 \pm 1.52**	5.83 \pm 1.72**
保妇康栓组	6.83 \pm 0.41**	3.67 \pm 1.03##	2.17 \pm 0.75##
绿花白千层高剂量组	7.50 \pm 1.64**	3.50 \pm 0.55##	1.83 \pm 0.41##
绿花白千层中剂量组	6.67 \pm 0.82**	4.00 \pm 0.63##	2.17 \pm 0.75##
绿花白千层低剂量组	6.50 \pm 0.84**	4.33 \pm 0.82#	2.33 \pm 0.82##

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.3 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠脏器指数的影响 正常组大鼠阴道组织未见明显红斑、水肿,阴道内分泌物清亮透明;与正常组比较,模型组肝脏指数降低($P<0.05$),宫颈指数升高($P<0.01$),且阴道黏膜组织红肿、黏膜不平滑;与模

型组比较,各给药组大鼠肝脏和肾脏无明显变化($P>0.05$),宫颈指数均降低($P<0.05$, $P<0.01$),大鼠阴道组织红肿症状也得到不同程度改善,见表5、图1。

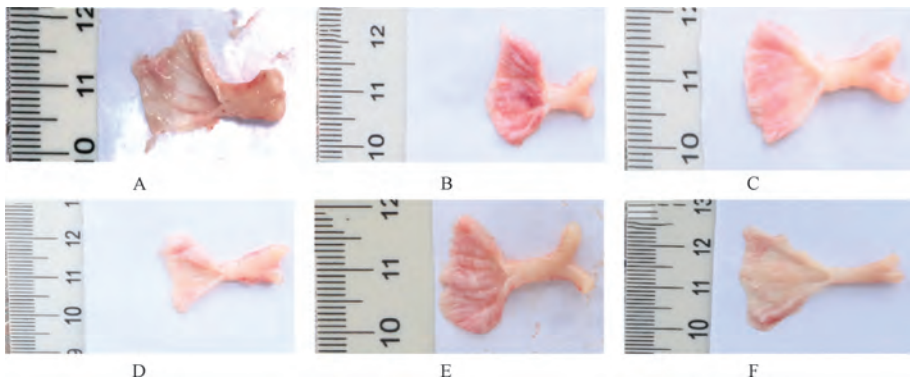
表5 各组大鼠肝脏、肾脏、宫颈指数比较(mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	肝脏指数	肾脏指数	宫颈指数
正常组	30.64 \pm 2.49	7.13 \pm 0.52	1.23 \pm 0.24
模型组	27.18 \pm 1.25*	6.95 \pm 0.45	1.67 \pm 0.16**
保妇康栓组	26.98 \pm 1.25**	7.02 \pm 0.40	1.37 \pm 0.17##
绿花白千层高剂量组	28.52 \pm 3.74	6.79 \pm 0.62	1.41 \pm 0.15#
绿花白千层中剂量组	27.49 \pm 1.89*	6.94 \pm 0.37	1.42 \pm 0.20#
绿花白千层低剂量组	27.17 \pm 1.35*	6.78 \pm 0.88	1.42 \pm 0.16#

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3.4 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠血清PGE2水平和SOD活性的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清PGE2水平升高($P<0.01$),SOD活性降低($P<0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠血清

PGE2水平均降低($P<0.01$),保妇康栓组和绿花白千层高剂量组大鼠血清SOD活性升高($P<0.05$),见表6。



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为保妇康栓组，D~F 分别为绿花白千层高、中、低剂量组。

图 1 各组大鼠宫颈组织剖面图

表 6 各组大鼠血清 PGE2 水平和 SOD 活性比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	PGE2/(pg·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
正常组	204.97±68.34	2 576.81±624.81
模型组	415.08±56.54**	1 959.95±660.13*
保妇康栓组	193.86±63.76 ^{##}	2 690.86±419.54 [#]
绿花白千层高剂量组	189.65±16.56 ^{##}	2 699.59±226.15 [#]
绿花白千层中剂量组	268.14±59.76 ^{##▲}	2 451.84±372.87
绿花白千层低剂量组	314.55±50.16 ^{##▲▲}	2 020.19±628.16 [▲]

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与保妇康栓组比较，[▲] $P<0.05$ ，^{▲▲} $P<0.01$ 。

3.5 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平的影响 与正常组比较，模型组大鼠宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，绿花白千层精油栓高剂量组和保妇康栓组大鼠宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P<0.01$)，见表 7。

表 7 各组大鼠宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	TNF- α	IL-6
正常组	143.15±20.93	61.29±13.35
模型组	232.37±39.20**	105.98±18.35**
保妇康栓组	180.15±26.73 ^{##}	72.65±16.66 ^{##}
绿花白千层高剂量组	160.79±42.11 ^{##}	80.06±11.53 ^{##}
绿花白千层中剂量组	201.85±35.34	85.14±16.95 [#]
绿花白千层低剂量组	203.79±20.50	91.94±10.89 [▲]

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与保妇康栓组比较，[▲] $P<0.05$ 。

3.6 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠宫颈组织病理学的影响 如图 2 所示，正常组宫颈组织有完整的鳞状上皮细胞，无明显炎症细胞浸润和增殖的间质成纤维细胞；与正常组比较，模型组大鼠宫颈组织黏膜表皮层模糊不清，鳞状上皮细胞变形、脱落或坏死，且鳞柱状上皮细胞界限不清晰，炎性细胞浸润黏膜下层，毛细血管充血严重，间质成纤维细

胞增生并有少量胶原纤维束 ($P<0.01$)；与模型组比较，保妇康栓组大鼠宫颈组织炎症细胞浸润面积减小，同样出现水肿 ($P<0.05$)；绿花白千层精油栓各剂量组大鼠宫颈组织炎症细胞浸润面积减小，毛细血管轻度充血，无水肿发生，有少量组织存在间质成纤维细胞增生情况 ($P<0.05$)。具体病理评级结果见表 8。

表 8 各组大鼠宫颈组织病理评级结果 ($n=6$)

组别	宫颈组织病理形态(例数)				P 值(秩和检验)
	无	轻度	中度	重度	
正常组	6	0	0	0	—
模型组	0	0	5	1	0.000
保妇康栓组	0	6	0	0	0.031
绿花白千层高剂量组	4	2	0	0	0.000
绿花白千层中剂量组	2	4	0	0	0.002
绿花白千层低剂量组	0	6	0	0	0.031

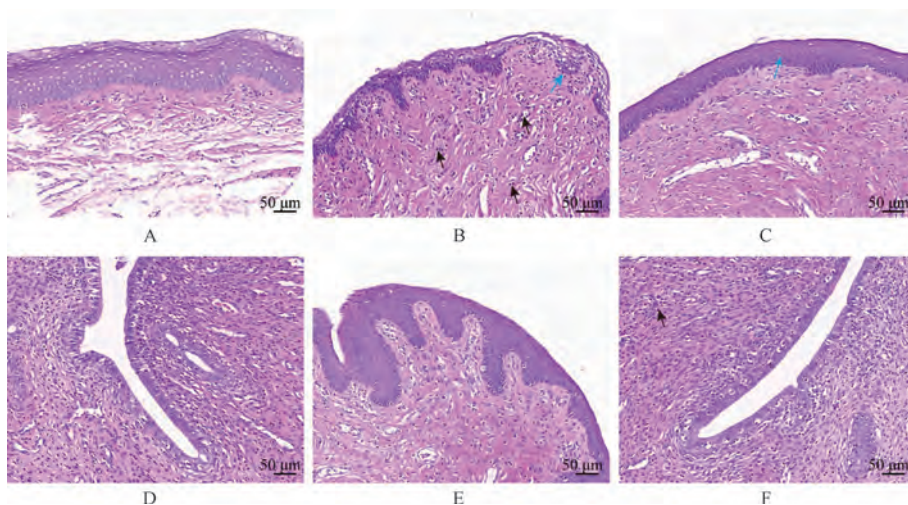
注：模型组 P 值为与正常组比较；保妇康栓组和绿花白千层高、中、低剂量组 P 值为与模型组比较。

3.7 绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、NF- κ B 蛋白表达的影响 免疫组化与 Western blot 结果均显示，与正常组比较，模型组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、NF- κ B p50、p-NF- κ B p50 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，绿花白千层精油栓各剂量组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、NF- κ B p50、p-NF- κ B p50 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 3~4、表 9~10。

表 9 各组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、NF- κ B p50 蛋白表达比较 (免疫组化, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

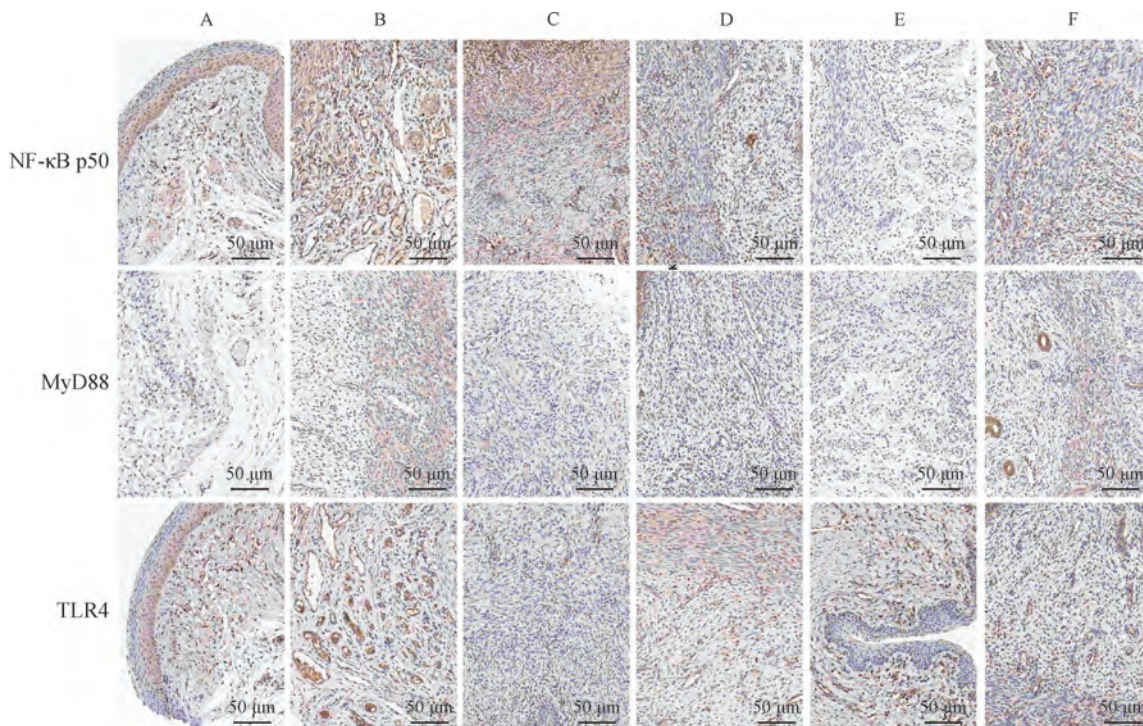
组别	TLR4	MyD88	NF- κ B p50
正常组	0.38±0.01	0.37±0.01	0.40±0.00
模型组	0.47±0.04**	0.41±0.01**	0.44±0.02**
保妇康栓组	0.42±0.02 [#]	0.38±0.00 ^{##}	0.40±0.02 ^{##}
绿花白千层高剂量组	0.36±0.02 ^{##▲}	0.34±0.02 ^{##▲▲}	0.35±0.01 ^{##▲▲}
绿花白千层中剂量组	0.39±0.02 ^{##}	0.36±0.00 ^{##▲}	0.37±0.01 ^{##▲}
绿花白千层低剂量组	0.39±0.00 ^{##}	0.37±0.01 ^{##}	0.39±0.01 ^{##}

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与保妇康栓组比较，[▲] $P<0.05$ ，^{▲▲} $P<0.01$ 。



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为保妇康栓组，D~F 分别为绿花白千层高、中、低剂量组。蓝色箭头指示鳞状上皮细胞变形、脱落或坏死；黑色箭头指示炎性细胞浸润。

图 2 各组大鼠宫颈组织 HE 染色图 (×200)



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为保妇康栓组，D~F 分别为绿花白千层高、中、低剂量组。

图 3 各组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、NF-κB p50 蛋白免疫组化图 (×200)

表 10 各组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、p-NF-κB p50 蛋白表达比较 (Western blot, $\bar{x} \pm s$, n=6)

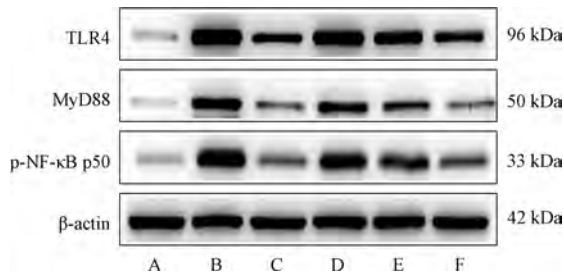
组别	TLR4	MyD88	p-NF-κB p50
正常组	0.03±0.01	0.04±0.01	0.02±0.00
模型组	1.28±0.11**	1.06±0.02**	0.76±0.02**
保妇康栓组	0.54±0.14###	0.10±0.01###	0.05±0.02###
绿花白千层高剂量组	0.41±0.12###	0.12±0.02###	0.06±0.00###
绿花白千层中剂量组	0.92±0.02###▲▲	0.24±0.05###▲▲	0.14±0.02###▲▲
绿花白千层低剂量组	1.12±0.06▲▲	0.63±0.09###▲▲	0.44±0.01###▲▲

注：与正常组比较，** P<0.01；与模型组比较，### P<0.01；与保妇康栓组比较，▲▲ P<0.01。

4 讨论

宫颈炎是妇科常见疾病之一，其发生发展与局

部炎症介质释放、氧化应激水平升高及免疫调节失衡密切相关。中医药在防治宫颈炎方面显示出独特



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为保妇康栓组，D~F 分别为绿花白千层低、中、高剂量组。

图4 各组大鼠宫颈组织 TLR4、MyD88、p-NF-κB p50 蛋白条带图

优势。绿花白千层是一种具有抗炎、抗菌活性的芳香植物，其精油在改善宫颈炎相关症状及调控炎症信号通路中表现出良好潜力。本研究通过建立苯酚胶浆诱导的大鼠宫颈炎模型，探讨绿花白千层精油栓剂的治疗作用及其潜在机制。

有研究发现，绿花白千层精油能显著改善模型大鼠外阴红肿及分泌物增多等临床症状，并伴随血清 PGE2 水平的下降与 SOD 活性的升高。PGE2 作为炎症早期关键介质，通过扩张血管、增加通透性介导组织水肿与疼痛反应^[13-14]。本研究结果显示，模型组大鼠 PGE2 水平升高，与宫颈组织局部红肿及分泌物增多表现一致。绿花白千层精油栓干预后，各剂量组 PGE2 水平均降低，提示该栓剂可干扰 PGE2 合成，减轻炎症早期的血管反应与组织水肿。SOD 是生物体内核心抗氧化酶，通过催化超氧阴离子 (O_2^-) 转化为 H_2O_2 和 O_2 ，有效清除活性氧 (ROS)，减轻氧化应激对细胞的损伤^[15]。本研究结果显示，模型组大鼠 SOD 活性降低，反映其抗氧化防御系统在炎症状态下受损。经绿花白千层精油栓干预后，各剂量组 SOD 活性升高，提示该栓剂可能通过增强抗氧化酶系统功能，抑制脂质过氧化与 ROS 积累，从而缓解氧化应激介导的细胞损伤与炎症级联反应。

在炎症因子调控方面，TNF- α 不仅直接造成组织损伤，还可通过激活核转录因子- κ B (NF- κ B) 促进 IL-6 等炎症因子表达，形成炎症级联放大效应。IL-6 在持续炎症中发挥关键作用，其过度表达可能会加重阴道黏膜及邻近组织病理损伤^[16]。本研究结果显示，模型组大鼠宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平均升高，并伴随宫颈黏膜结构的破坏与炎性细胞浸润；而绿花白千层精油栓干预后，TNF- α 、IL-6 水平均被抑制。

TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路是调控炎症反

应的核心通路，其激活可促进促炎细胞因子释放^[17-20]。本研究结果显示，宫颈炎模型组中 TLR4、MyD88、NF- κ B p50 及其磷酸化蛋白 (p-NF- κ B p50) 表达均上调，表明该通路被激活，活化的 NF- κ B 进入细胞核，促进 TNF- α 、IL-6 与 PGE2 等炎症介质的转录与释放。绿花白千层精油干预后，TLR4 与 MyD88 表达降低，NF- κ B 磷酸化及核转位被阻断，下游炎症因子表达随之下降，提示该栓剂的抗炎机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路活化有关。

课题组前期研究发现，绿花白千层精油富含桉树油醇、4-萜烯醇和 α -萜品醇等成分，这 3 种成分占总油体约 70%，其中含量桉树醇 > 4-萜烯醇 > α -萜品醇^[10]。有研究报道称，桉树油醇和 α -萜品醇等具有抗炎作用，同时也具有抑菌活性^[21]。因此，本研究推测上述成分可能为绿花白千层精油治疗宫颈炎的增效物质，但还需要进一步深入研究证明，后续研究本课题组也可考虑将其制备成其他类型制剂，提升绿花白千层精油的应用价值。

参考文献：

- [1] Ibrahim Khalil A, Zhang L, Muwonge R, et al. Efficacy and safety of therapeutic HPV vaccines to treat CIN 2/CIN 3 lesions: a systematic review and meta-analysis of phase II/III clinical trials[J]. *BMJ Open*, 2023, 13(10): e069616.
- [2] Wu S, Jiao J, Yue X, et al. Cervical cancer incidence, mortality, and burden in China: a time-trend analysis and comparison with England and India based on the global burden of disease study 2019[J]. *Front Public Health*, 2024, 12: 1358433.
- [3] 杨丽珠, 沈玲, 洪敏. 宫颈癌根治术前置双J管患者伴发泌尿系统感染的危险因素及干预对策[J]. *中国妇幼保健*, 2024, 39(15): 2906-2909.
- [4] Bhattacharjee R, Dey T, Kumar L, et al. Cellular landscaping of cisplatin resistance in cervical cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113345.
- [5] 王梦如, 王雨佳, 陈金虎, 等. 3种茶树精油的 GC-MS 分析及体外抑菌研究[J]. *食品科技*, 2020, 45(4): 291-296.
- [6] Siddique S, Parveen Z, Firdaus-E-Bareen, et al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three *Melaleuca* species of Pakistani flora[J]. *Arab J Chem*, 2017: S1878535217300412.
- [7] Zhang J, Wu H, Jiang D, et al. The antifungal activity of essential oil from *Melaleuca leucadendra* (L.) L. grown in China and its synergistic effects with conventional antibiotics against *Candida* [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 33(17): 2545-2548.
- [8] Rahman M A, Sultana A, Khan M F, et al. Tea tree oil, a vibrant source of neuroprotection via neuroinflammation inhibition: a critical insight into repurposing *Melaleuca*

- alternifolia* by unfolding its characteristics[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24(7): 554-573.
- [9] 李婷, 李丽娟, 彭一桓, 等. 绿花白千层精油化学成分及宫颈炎活性研究[J]. *中南药学*, 2023, 21(11): 2880-2886.
- [10] 刘胜帅, 薛楠楠, 段银祥, 等. 绿花白千层叶油的 GC-MS 分析及其体外抑菌、抗炎活性研究[J]. *中国药学杂志*, 2019, 54(16): 1292-1298.
- [11] 王雨佳, 王梦如, 赵健铤, 等. 美廉净凝胶对宫颈炎的药效学探究[J]. *中成药*, 2021, 43(2): 484-488.
- [12] 李军茂. 复方杏香兔耳风抗宫颈炎的药效物质基础及作用机制研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [13] 王立阳. 加味二号活络膏对大鼠急性软组织损伤疗效观察及损伤组织 TNF- α 、IL-1 β 、PGE-2 的影响研究[D]. 成都: 成都体育学院, 2022.
- [14] Yang D, Xu K, Xu X, et al. Revisiting prostaglandin E2: a promising therapeutic target for osteoarthritis[J]. *Clin Immunol*, 2024, 260: 109904.
- [15] Zheng M, Liu Y, Zhang G, et al. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(9): 1675.
- [16] 刘智明, 王晓琳, 周建红, 等. 解毒活血方调控 NF- κ B/NLRP3/Caspase-1 促进大鼠胸主动脉损伤血管再内皮化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(23): 56-63.
- [17] Zhang Y, Liang X, Bao X, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: current research and prospective[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 235: 114291.
- [18] Wang Y, Sadike D, Huang B, et al. Regulatory T cells alleviate myelin loss and cognitive dysfunction by regulating neuroinflammation and microglial pyroptosis via TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in LPC-induced demyelination[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 41.
- [19] Kim H J, Kim H, Lee J H, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging[J]. *Immun Ageing*, 2023, 20(1): 67.
- [20] Wei X, Zhang F, Cheng D, et al. Free heme induces neuroinflammation and cognitive impairment by microglial activation via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 16.
- [21] Abderrahmen M, Ahmed Reda B, Adriana Cristina U, et al. 1, 8- Cineol (eucalyptol) disrupts membrane integrity and induces oxidative stress in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(7): 1388.

鞍叶羊蹄甲抗神经痛有效部位对巨噬细胞极化的作用

李可欣^{1,2}, 刘汉福^{1*}, 孙河¹, 姜北¹, 王金达^{2*}, 沈磊^{1,2*}

(1. 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室, 云南大理 671000; 2. 大理大学药学院, 云南大理 671000)

摘要: 目的 研究鞍叶羊蹄甲抗神经痛有效部位(乙醇提取物正丁醇萃取部位, nbEEBb)对巨噬细胞极化的影响。方法 体内制备小鼠坐骨神经部分结扎模型, 分为假手术组、模型组和 nbEEBb 高、低剂量组(1、0.5 g/kg), 测定机械痛阈值, HE 染色和电镜观察神经组织损伤; 免疫组化和 Western blot 法检测坐骨神经中巨噬细胞极化(F4/80、CD86、CD206)。体外诱导巨噬细胞极化, ELISA 法检测炎症因子(NO、iNOS、TNF- α 和 IL-6)水平, RT-qPCR 法检测 *Arg-1* mRNA 表达。结果 体内实验结果显示, nbEEBb 可升高神经痛小鼠机械痛阈值, 减轻坐骨神经损伤, 减少坐骨神经中 F4/80 标记的巨噬细胞数量并抑制巨噬细胞极化为 CD86 标记的 M1 型和 CD206 标记的 M2 型。体外实验结果显示, nbEEBb 可抑制 LPS 诱导巨噬细胞极化为 M1 型后释放的 NO、iNOS、TNF- α 和 IL-6 水平, 但上调了 IL-4 诱导巨噬细胞极化为 M2 型后细胞内 *Arg-1* mRNA 表达。结论 nbEEBb 可能通过影响巨噬细胞极化来减轻神经痛中的外周痛觉敏化, 其在体内能减少巨噬细胞浸润入外周神经, 并抑制其极化为 M1 型和 M2 型; 在体外能抑制巨噬细胞极化为 M1 型, 促进其极化为 M2 型。

关键词: 鞍叶羊蹄甲; 神经痛; 坐骨神经部分结扎; 外周痛觉敏化; 巨噬细胞极化

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0990-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.040

收稿日期: 2025-06-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(82460726); 云南省教育厅科学研究基金项目(2024J0838)

作者简介: 李可欣(2002—), 女, 研究方向为药理学。E-mail: kexin310520@163.com

共同第一作者: 刘汉福(1997—), 女, 硕士, 研究方向为药理学。E-mail: 1119836438@qq.com

* 通信作者: 沈磊(1981—), 男, 博士, 教授, 研究方向为药理学。E-mail: shenlei@dali.edu.cn

王金达(1982—), 女, 硕士, 工程师, 研究方向为药理学。E-mail: wangjinda1982@126.com