

川芎嗪对多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能及 PPAR- γ /NF- κ B 通路的影响

周 知， 涂志华， 黎业娟， 陈 琳， 王安国， 阮海玲， 马 宁， 周 璟， 卢伟英*
(海南省妇女儿童医学中心生殖医学中心，海南 海口 570206)

摘要：目的 探究川芎嗪对多囊卵巢综合征（PCOS）大鼠卵巢功能的影响。方法 将大鼠分成空白组、模型组、阳性组（0.339 2 mg/kg 炔雌醇环丙孕酮片）和川芎嗪低、中、高剂量组（50、100、200 mg/kg），除空白组外，其余各组均建立大鼠 PCOS 模型。ELISA 法检测各组大鼠炎症因子白介素-6（IL-6）、白介素-1 β （IL-1 β ）、肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）水平和性激素雌二醇（E₂）、黄体生成素（LH）、卵泡刺激素（FSH）、睾酮（T）水平，HE 染色观察卵巢组织病理变化，Western blot 法检测卵巢组织 PPAR- γ /NF- κ B 通路相关蛋白表达。**结果** 与空白组比较，模型组大鼠卵巢体积增大，可见较多闭锁卵泡，颗粒细胞排列稀疏，少见黄体和白体，卵巢指数、血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、E₂、LH、T 水平及卵巢组织 p-NF- κ B p65 蛋白表达升高（ $P<0.05$ ），成熟卵泡数、黄体数、血清 FSH 水平及卵巢组织 PPAR- γ 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组大鼠卵巢体积减小，可见各级卵泡，黄体数目增多，颗粒细胞层数增多，卵巢指数、血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、E₂、LH、T 水平及卵巢组织 p-NF- κ B p65 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ），成熟卵泡数、黄体数、血清 FSH 水平及卵巢组织 PPAR- γ 蛋白表达升高（ $P<0.05$ ），并呈剂量依赖性（ $P<0.05$ ）。**结论** 川芎嗪可能是通过调控 PPAR γ /NF- κ B 通路对多囊卵巢综合征大鼠起到抗炎作用，以保护卵巢功能。

关键词：川芎嗪；多囊卵巢综合征；PPAR- γ /NF- κ B 通路；抗炎；卵巢功能

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2023)01-0251-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.047

多囊卵巢综合征（polycystic ovary syndrome, PCOS）是育龄妇女最常见的内分泌疾病之一，以排卵少、多囊卵巢形态、临床高雄激素血症为特征^[1]。患有多囊卵巢综合征的妇女一般表现为无排卵性不孕、胰岛素抵抗和病态肥胖^[2-3]。据报道，PCOS 患者体内炎症因子水平与雄激素水平密切相关^[4]，多数情况下存在胰岛素抵抗，代偿性高胰岛素血症通过刺激卵巢雄激素分泌和抑制肝性激素结合球蛋白的产生而导致雄激素过多，目前该病的发病机理尚不清楚，可能与遗传、环境、内部胚胎因素有关。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ （peroxisome proliferater-activated receptor, PPAR- γ ）是核激素受体超家族成员，具有抗炎、免疫调节等作用^[5]。核因子- κ B（nuclear factor- κ B, NF- κ B）是一种重要的转录因子，参与机体炎症、细胞凋亡等过程^[6]。《本草汇言》中曾记载川芎为“血中之气药”，川芎嗪是川芎的有效成分之一，近年研究报道称川芎嗪可抑制机体炎症反应，减轻机体损伤^[7]。临床上，采用含川芎在内的多种中药联合西药对多囊卵巢综合征进行治疗^[8]。但目前关于川芎嗪对于 PCOS 的治疗作用尚未见任何报道。

本研究采用来曲唑法建立 PCOS 大鼠模型，并基于 PPAR- γ /NF- κ B 信号通路探究川芎嗪的治疗效果和作用机理。

1 材料

1.1 动物 SD 雌性大鼠，体质量约 150 g，购自中营质检科技股份有限公司，实验动物使用许可证号 SYXK（豫）2018-0007，常规饲养，自由饮水进食，实验过程遵循 3R 原则。

1.2 试剂与药物 川芎嗪对照品（纯度 $\geq 98\%$ ，货号 ST8120），购自北京索莱宝科技有限公司；炔雌醇环丙孕酮片（批号 15101521），购自拜耳医药保健公司广州分公司。来曲唑（纯度 $>98\%$ ，货号 MB1137），购自大连美仑生物技术有限公司；白细胞介素 6（interleukin 6, IL-6）试剂盒（货号 SEKR-0007）、白细胞介素 1 β （interleukin 6, IL-1 β ）试剂盒（货号 SEKR-0002）、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）试剂盒（货号 SEKR-0009）、苏木素-伊红（HE）染色试剂盒（货号 G1120），均购自北京索莱宝生物技术有限公司；雌二醇（estradiol, E₂）试剂盒（货号 ab108667）、黄体生成素（luteinizing hormone, LH）

收稿日期：2021-05-17
基金项目：海南省重点研发计划项目（ZDYF2017086，ZDYF2019157，ZDYF2022SHFZ280）；海南省基础与应用基础研究计划（自然科学领域）高层次人才项目（2019RC389）
作者简介：周 知（1981—），女，博士，副主任医师，研究方向为生殖内分泌、医学遗传学。Tel：18689980366，E-mail：ztd681@163.com
* 通信作者：卢伟英（1965—），女，硕士，主任医师，研究方向为生殖医学、妇产科学。Tel：18689873617，E-mail：2490206511@qq.com

试剂盒（货号 ab243671）、卵泡刺激素（follicle stimulating hormone, FSH）试剂盒（货号 ab108678）、睾酮（testosterone, T）试剂盒（货号 ab108666），均购自英国 Abcam 公司；PPAR- γ 一抗（货号 95128）、p-NF- κ B p65 一抗（货号 3033S）、GADPH 一抗（货号 51332）、二抗（货号 7074），均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.3 仪器 电子天平购自德国赛多利斯公司；光学显微镜购自日本 Nikon 公司；酶标仪购自美国 Thermo Scientific 公司；电泳仪购自北京六一生物科技有限公司；凝胶成像系统购自美国 ProteinSimple 公司。

2 方法

2.1 模型建立 参考文献 [9] 报道建立大鼠 PCOS 模型，每只大鼠灌胃来曲唑 1 mg/kg [溶于 1% 羟甲基纤维素溶液（CMC）中]，空白组灌胃 1% CMC 溶液，每天 1 次，连续 21 d。造模第 15 天开始进行连续 1 周的阴道涂片，观察动情周期，阴道涂片观察到持续角化的阴道上皮细胞，则为造模成功。

2.2 分组及给药 将造模成功的 60 只大鼠随机分成模型组、阳性组（0.339 2 mg/kg 炔雌醇环丙孕酮片）^[10]和川芎嗪低、中、高剂量组（50、100、200 mg/kg），每组 12 只，另取 12 只大鼠作为空白组，各组大鼠灌胃给予相应药物（10 mL/kg），空白组和模型组灌胃给予等量生理盐水，每天 1 次，连续 21 d。

2.3 样本采集 末次灌胃 24 h 后，将大鼠麻醉，腹主动脉取血，离心后取血清，于 -80 ℃ 保存备用。分别摘取各组大鼠两侧卵巢，剥离周围脂肪和结缔组织，称定质量，计算卵巢指数^[11]，之后将一侧卵巢置于 10% 甲醛中固定，另一侧卵巢用液氮速冻后于 -80 ℃ 冰箱中保存。

2.4 ELISA 法检测血清炎症因子和性激素水平 按照相应试剂盒说明书检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、E₂、LH、FSH、T 水平。

2.5 HE 染色观察卵巢组织病理学变化 取出固定在甲醛中的卵巢组织，脱水透明，浸蜡包埋，切片，使用 HE 染色试剂盒进行染色，在光学显微镜下观察卵巢组织形态学变化，计数整张切片的成熟卵泡数和黄体数。

2.6 Western blot 法检测卵巢组织 PPAR- γ /NF- κ B 通路相关蛋白表达 取出冻存的卵巢组织，匀浆提取总蛋白，采用 BCA 法检测蛋白浓度。每组取 50 μ g 蛋白上样，进行 SDS-PAGE 电泳，转膜，加 PPAR- γ 、p-NF- κ B p65、GADPH 一抗（1：1 000）孵育过夜，洗膜后加二抗（1：2 000），化学法发光显色，分析蛋白表达。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，2 组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 川芎嗪对 PCOS 大鼠卵巢指数、成熟卵泡数、黄体数的影响 与空白组比较，模型组大鼠卵巢指数升高（*P*<

0.05），成熟卵泡数、黄体数减少（*P*<0.05）；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组大鼠卵巢指数降低（*P*<0.05），成熟卵泡数、黄体数增加（*P*<0.05），并呈剂量依赖性（*P*<0.05），其中川芎嗪高剂量组作用与阳性组相当（*P*>0.05），见表 1。

表 1 各组大鼠卵巢指数、成熟卵泡数、黄体数比较 ($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	卵巢指数/ (mg·g ⁻¹)	成熟卵泡数/个	黄体数/个
空白组	0.58±0.05	5.86±0.49	5.42±0.52
模型组	1.16±0.13 [*]	1.24±0.23 [*]	0.95±0.35 [*]
川芎嗪低剂量组	1.02±0.09 [#]	1.97±0.37 [#]	1.69±0.41 [#]
川芎嗪中剂量组	0.86±0.10 ^{#Δ}	3.03±0.54 ^{#Δ}	2.85±0.60 ^{#Δ}
川芎嗪高剂量组	0.75±0.06 ^{#Δ}	4.67±0.62 ^{#Δ}	4.37±0.57 ^{#Δ}
阳性组	0.70±0.08 ^{#Δ}	5.34±0.48 ^{#Δ}	4.82±0.39 ^{#Δ}

注：与空白组比较，^{*}*P*<0.05；与模型组比较，[#]*P*<0.05；与川芎嗪低剂量组比较， ^{Δ} *P*<0.05；与川芎嗪中剂量组比较， ^{Δ} *P*<0.05。

3.2 川芎嗪对 PCOS 大鼠血清炎症因子水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高（*P*<0.05）；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组大鼠血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平降低（*P*<0.05），并呈剂量依赖性（*P*<0.05），其中川芎嗪高剂量组作用与阳性组相当（*P*>0.05），见表 2。

表 2 各组大鼠血清炎症因子水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	IL-1 β / (pg·mL ⁻¹)	TNF- α / (pg·mL ⁻¹)
空白组	37.84±1.85	18.35±1.26	14.26±1.38
模型组	158.69±7.62 [*]	127.63±5.73 [*]	115.84±6.71 [*]
川芎嗪低剂量组	114.52±5.43 [#]	96.45±3.95 [#]	89.36±4.29 [#]
川芎嗪中剂量组	72.19±3.15 ^{#Δ}	55.27±4.17 ^{#Δ}	48.54±3.82 ^{#Δ}
川芎嗪高剂量组	43.76±4.28 ^{#Δ}	25.19±2.53 ^{#Δ}	18.27±2.25 ^{#Δ}
阳性组	40.35±3.36 ^{#Δ}	21.51±2.28 ^{#Δ}	16.49±1.97 ^{#Δ}

注：与空白组比较，^{*}*P*<0.05；与模型组比较，[#]*P*<0.05；与川芎嗪低剂量组比较， ^{Δ} *P*<0.05；与川芎嗪中剂量组比较， ^{Δ} *P*<0.05。

3.3 川芎嗪对 PCOS 大鼠血清性激素水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠 E₂、LH、T 水平升高（*P*<0.05），FSH 水平降低（*P*<0.05）；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组大鼠 E₂、LH、T 水平降低（*P*<0.05），FSH 水平升高（*P*<0.05），并呈剂量依赖性（*P*<0.05），其中川芎嗪高剂量组作用与阳性组相当（*P*>0.05），见表 3。

3.4 川芎嗪对 PCOS 大鼠卵巢组织形态学变化的影响 空白组大鼠卵巢组织肉眼观察表面色泽红润，显微镜下观察结构正常，无病变，可见多个黄体和各级卵泡，颗粒细胞形态完整，排列整齐；模型组大鼠卵巢组织肉眼观察表面较苍白，体积异常增大，囊状扩张卵泡增多，镜下可见卵巢内有数量较多的闭锁卵泡，少见黄体和白体，颗粒细胞排列稀疏；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组肉眼观察卵巢组织较红润，囊性卵泡减少，镜下观察可见各级卵泡，黄体数目增多，颗粒细胞层数增多，且随着川芎嗪的剂量增加，卵巢结构逐渐完整，趋向于空白组，见图 1。

表 3 各组大鼠血清性激素水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	LH/(mU·mL ⁻¹)	FSH/(ng·mL ⁻¹)	T/(ng·mL ⁻¹)
空白组	572.38±63.84	35.87±7.29	5.74±0.51	0.66±0.25
模型组	852.15±97.52 [*]	261.49±53.61 [*]	2.13±0.43 [*]	1.83±0.37 [*]
川芎嗪低剂量组	767.68±81.59 [#]	204.35±37.35 [#]	3.25±0.67 [#]	1.51±0.26 [#]
川芎嗪中剂量组	673.57±53.71 ^{#△}	157.69±29.83 ^{#△}	4.36±0.39 ^{#△}	1.16±0.19 ^{#△}
川芎嗪高剂量组	592.86±79.68 ^{#△▲}	48.47±8.46 ^{#△▲}	5.47±0.35 ^{#△▲}	0.80±0.17 ^{#△▲}
阳性组	583.21±49.32 ^{#△▲}	42.82±10.12 ^{#△▲}	5.56±0.96 ^{#△▲}	0.73±0.23 ^{#△▲}

注：与空白组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与川芎嗪低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与川芎嗪中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

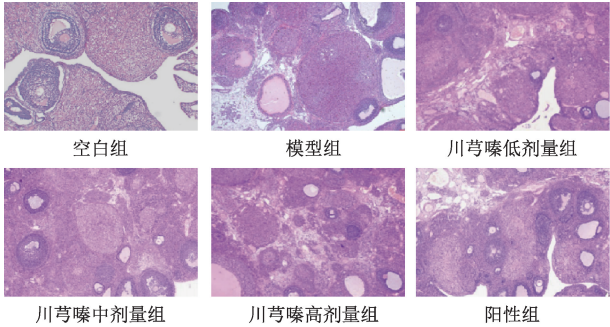
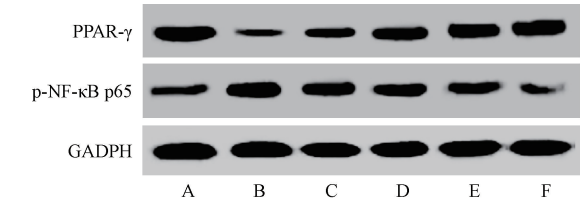


图 1 各组大鼠卵巢组织 HE 染色图 (×200)

3.5 川芎嗪对 PCOS 大鼠卵巢组织 PPAR- γ /NF- κ B 通路相关蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠卵巢组织 PPAR- γ 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，p-NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，川芎嗪各剂量组和阳性组大鼠卵巢组织 PPAR- γ 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，p-NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，并呈剂量依赖性 ($P<0.05$)，其中川芎嗪高剂量组作用与阳性组相当 ($P>0.05$)，见图 2、表 4。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为川芎嗪低剂量组，D 为川芎嗪中剂量组，E 为川芎嗪高剂量组，F 为阳性组。

图 2 各组大鼠卵巢组织 PPAR- γ 、p-NF- κ B p65 蛋白条带图

表 4 各组大鼠卵巢组织 PPAR- γ 、p-NF- κ B p65 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	PPAR- γ /GADPH	p-NF- κ B p65/GADPH
空白组	0.96±0.13	0.17±0.05
模型组	0.18±0.05 [*]	1.09±0.14 [*]
川芎嗪低剂量组	0.34±0.04 [#]	0.86±0.10 [#]
川芎嗪中剂量组	0.61±0.07 ^{#△}	0.53±0.07 ^{#△}
川芎嗪高剂量组	0.82±0.11 ^{#△▲}	0.26±0.04 ^{#△▲}
阳性组	0.87±0.09 ^{#△▲}	0.21±0.02 ^{#△▲}

注：与空白组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与川芎嗪低剂量组比较，[△] $P<0.05$ ；与川芎嗪中剂量组比较，[▲] $P<0.05$ 。

4 讨论

多囊卵巢综合征 (PCOS) 是女性常见的内分泌疾病，患有 PCOS 的女性通常 LH 水平升高、不孕风险增加、子宫内膜癌和一些代谢紊乱^[12]。PCOS 特征是卵巢雄激素产生增加和慢性无排卵，高雄激素血症可影响卵巢卵泡成熟的生理过程，抑制优势卵泡和排卵卵泡的发育^[13-14]。本研究采用来曲唑建立大鼠 PCOS 模型，其与人 PCOS 病症在形态学和内分泌方面相似^[8]。本研究发现，PCOS 大鼠卵巢组织表面苍白，体积异常增大，闭锁卵泡较多，颗粒细胞排列稀疏，少见黄体和白体，卵巢指数及成熟卵泡数和黄体数降低，揭示 PCOS 模型建立成功。

类固醇激素 (T、E₂、LH、FSH) 可在生育和生殖功能中起作用。LH 的异常产生会影响颗粒和内膜的功能^[15]；E₂ 作用于发育卵泡中的卵母细胞和颗粒细胞^[16]；T 在卵巢卵泡成熟的生理过程中起重要作用^[17]。本研究结果表明，PCOS 大鼠血清中 T、E₂ 和 LH 水平升高，而 FSH 水平降低，这些激素特征与 PCOS 患者的激素环境一致^[18-19]。

川芎嗪具有消炎、抗氧化等广泛药理作用^[20]。Jiang 等^[21]发现川芎嗪可改善急性肾损伤。在急性胰腺炎大鼠模型中，川芎嗪可通过抑制 NF- κ B 水平改善炎症反应^[22]，还可抑制纤维化肝脏中 IL-6、TNF- α 水平，减轻炎症反应^[23]。本研究发现川芎嗪可调节 PCOS 大鼠激素水平，改善卵巢功能，可抑制炎症因子水平，减轻炎症反应。

PPAR- γ 可通过调节 NF- κ B 水平，在炎症中起到关键作用^[24-25]。PPAR- γ 激动剂可抑制 NF- κ B 途径发挥抗炎活性^[26]，使用黄芪甲苷治疗抑郁症小鼠可增加 PPAR- γ 表达，并降低 NF- κ B 磷酸化，从而抑制神经炎症。本研究发现，PPAR- γ 蛋白表达较低，导致 p-NF- κ B p65 激活，可能增强 PCOS 大鼠的炎症反应。Michel 等^[27]研究发现，川芎嗪可通过抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 并激活 Nrf2 和 PPAR- γ 信号通路，改善大鼠急性肾损伤的炎症反应。本研究发现，川芎嗪治疗后，卵巢组织 PPAR- γ 蛋白表达升高，p-NF- κ B p65 蛋白表达降低，推测川芎嗪可能通过上调 PPAR- γ 蛋白表达，降低 NF- κ B 磷酸化水平，起到抗炎作用。

综上所述，在 PCOS 发病机制中，PPAR- γ /NF- κ B 通路介导的炎症反应扮演着重要角色，川芎嗪可减轻 PCOS 大鼠卵巢组织的炎症反应，改善卵巢功能，可能与上调 PPAR- γ 蛋白表达，降低 NF- κ B 磷酸化有关。然而川芎嗪的药理作用比较复杂，是否通过其他途径对 PCOS 大鼠有治疗作用，仍需进一步研究。

参考文献:

[1] Meier R K. Polycystic ovary syndrome[J]. *Nurs Clin North Am*, 2018, 53(3): 407-420.

[2] Escobar-Morreale H F. Polycystic ovary syndrome; definition, aetiology, diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(5): 270-284.

[3] Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2018, 182: 27-36.

[4] Zhang R J, Liu H W, Bai H, *et al.* Oxidative stress status in Chinese women with different clinical phenotypes of polycystic ovary syndrome[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2017, 86(1): 88-96.

[5] Lu P Y, Zhao Z M. Advances on PPAR γ research in the emerging era of precision medicine [J]. *Curr Drug Targets*, 2018, 19(6): 663-673.

[6] Choi M C, Jo J, Park J, *et al.* NF- κ B signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 734.

[7] 朱君瑶, 史忠亮, 郭力恒. 川芎嗪治疗脓毒症的机制研究进展综述[J]. 中国中医急症, 2019, 28(10): 1864-1867.

[8] 蒋涵娇, 严余明. 过期饮加减妇科应用举隅[J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(5): 362-363.

[9] Li C J, Chen L, Zhao Y, *et al.* Altered expression of miRNAs in the uterus from a letrozole-induced rat PCOS model [J]. *Gene*, 2017, 598: 20-26.

[10] 苗明三, 彭孟凡, 闫晓丽. 菟丝子总黄酮对多囊卵巢综合征大鼠模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(5): 143-150.

[11] 雷 娜, 任凤兰, 王娜梅. 杜仲总黄酮对多囊卵巢综合征模型大鼠相关激素水平的干预作用[J]. 中医学报, 2020, 35(8): 1727-1731.

[12] Ajmal N, Khan S Z, Shaikh R. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and genetic predisposition; A review article[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X*, 2019, 3: 100060.

[13] Gervásio C G, Bernuci M P, Silva-de-Sá M F, *et al.* The role of androgen hormones in early follicular development [J]. *ISRN Obstet Gynecol*, 2014, 2014: 818010.

[14] Shao Y Y, Chang Z P, Cheng Y, *et al.* Shaoyao-Gancao Decoction alleviated hyperandrogenism in a letrozole-induced rat model of polycystic ovary syndrome by inhibition of NF- κ B activation[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(1): BSR20181877.

[15] Baravalle C, Salvetti N R, Mira G A, *et al.* Microscopic characterization of follicular structures in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in the rat[J]. *Arch Med Res*, 2006, 37(7): 830-839.

[16] Tarumi W, Itoh M T, Suzuki N. Effects of 5 α -dihydrotestosterone and 17 β -estradiol on the mouse ovarian follicle development and oocyte maturation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99423.

[17] Chen M J, Chou C H, Chen S U, *et al.* The effect of androgens on ovarian follicle maturation: Dihydrotestosterone suppress FSH-stimulated granulosa cell proliferation by upregulating PPAR γ -dependent PTEN expression [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 18319.

[18] Krishnan A, Muthusami S. Hormonal alterations in PCOS and its influence on bone metabolism [J]. *J Endocrinol*, 2017, 232(2): R99-R113.

[19] Dumont A, Robin G, Catteau-Jonard S, *et al.* Role of anti-Müllerian hormone in pathophysiology, diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome; a review [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13: 137.

[20] Pan R H, Zhou M C, Zhong Y P, *et al.* The combination of *Astragalus membranaceus* extract and ligustrazine to improve the inflammation in rats with thrombolytic cerebral ischemia[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2019, 33: 2058738419869055.

[21] Jiang G S, Xin R, Yuan W D, *et al.* Ligustrazine ameliorates acute kidney injury through downregulation of NOD2 mediated inflammation[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(3): 731-742.

[22] Chen L Y, Chen Y J, Yun H, *et al.* Tetramethylpyrazine (TMP) protects rats against acute pancreatitis through NF- κ B pathway[J]. *Bioengineered*, 2019, 10(1): 172-181.

[23] Kong D S, Chen L P, Huang W F, *et al.* Combined therapy with ligustrazine and paeonol mitigates hepatic fibrosis through destroying mitochondrial integrity of stellate cell[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(4): 1255-1266.

[24] Kaur S, Nag A, Singh A K, *et al.* PPAR γ -targeting potential for radioprotection [J]. *Curr Drug Targets*, 2018, 19(15): 1818-1830.

[25] Li Z Y, Jia Y F, Feng Y, *et al.* Methane-rich saline protects against sepsis-induced liver damage by regulating the PPAR- γ /NF- κ B signaling pathway[J]. *Shock*, 2019, 52(6): e163-e172.

[26] Ju Z R, Su M Z, Li D D, *et al.* An algal metabolite-based PPAR- γ agonist displayed anti-inflammatory effect *via* inhibition of the NF- κ B pathway[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(6): 321.

[27] Michel H E, Menze E T. Tetramethylpyrazine guards against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats through inhibiting HMGB1/TLR4/NF- κ B and activating Nrf2 and PPAR- γ signaling pathways[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 857: 172422.