

# 龙胆泻肝汤对 PCOS 模型大鼠的影响

李俊波<sup>1</sup>, 邓芳<sup>1</sup>, 李霄汉<sup>1</sup>, 许丽绵<sup>1,2\*</sup>

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

**[摘要]** **目的:**研究龙胆泻肝汤对多囊卵巢综合征(PCOS)模型大鼠药效观察及机制,为龙胆泻肝汤临床PCOS的应用提供初步实验依据。**方法:**将SD大鼠50只,随机分为2组,即正常组10只、模型制备组40只,采用胰岛素(INS)联合人绒毛膜促性腺激素(HCG)法复制大鼠PCOS模型,造模成功的大鼠分为模型组、达英-35(0.21 g·kg<sup>-1</sup>)及龙胆泻肝汤高、低剂量组(29.6,7.4 g·kg<sup>-1</sup>),除正常组外,其余各组连续灌胃给药15 d;动物处理后测量卵巢质量及体积大小,检测各组大鼠血清中促黄体生成素(LH)/卵泡刺激素(FSH),睾酮(T),空腹血糖,空腹胰岛素(INS)激素水平及炎症因子白细胞介素-2(IL-2),IL-4,IL-6,IL-10水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)分析各组卵巢组织中JAK2,STAT3,p-STAT3和IL-6蛋白的表达量。**结果:**与正常组比较,模型组卵巢质量及体积明显升高,血清LH/FSH,T,空腹血糖及INS均明显升高,IL-2,IL-6,IL-10水平明显升高,JAK2,STAT3和IL-6蛋白的表达量明显升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,龙胆泻肝汤高、低剂量组明显降低卵巢质量及体积,血清LH/FSH,T,空腹血糖及INS,IL-2,IL-6,IL-10水平,升高JAK2,STAT3蛋白的表达量,降低p-STAT3和IL-6蛋白的表达量( $P < 0.05$ )。**结论:**龙胆泻肝汤对PCOS大鼠具有明显疗效,主要通过降低激素水平和抑制炎症反应;且其机制可能与JAK2/STAT3通路相关。

**[关键词]** 龙胆泻肝汤;多囊卵巢综合征(PCOS);激素水平;炎症因子;JAK2/STAT3通路

**[中图分类号]** R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)07-0131-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180725

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180110.1657.016.html>

**[网络出版时间]** 2018-01-12 9:29

## Effect and Mechanism of Longdan Xiegan Tang on Polycystic Ovarian Syndrome Model Rats

LI Jun-bo<sup>1</sup>, DENG Fang<sup>1</sup>, LI Xiao-han<sup>1</sup>, XU Li-mian<sup>1,2\*</sup>

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510405, China;

2. First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the therapeutic effect and mechanism of Longdan Xiegan Tang on polycystic ovary syndrome (PCOS) model and provide a preliminary experimental basis for the application of PCOS. **Method:** Totally 50 SD rats were randomly divided into normal group ( $n = 10$ ) and modeling group ( $n = 40$ ). PCOS models were established by using insulin (INS) and human chorionic gonadotropin (HCG). The successfully modeled rats were then divided into model group, Daying-35 group (0.21 g·kg<sup>-1</sup>), Longdan Xiegan Tang high-dose group (29.6 g·kg<sup>-1</sup>) and low-dose group (7.4 g·kg<sup>-1</sup>). After continuous intragastric administration of 15 d, we analyzed the ovarian weight and volume. The levels of luteinizing hormone (LH) / follicle stimulating hormone (FSH), testosterone (T), fasting blood glucose, fasting insulin (INS) and levels of inflammatory cytokines interleukin (IL) -2, IL-4, IL-6 and IL-10; Western blot was used to analyze protein expression of JAK2, STAT3, p-STAT3 and IL-6 in ovarian tissues. **Result:** As compared with the normal group,

**[收稿日期]** 20171118(011)

**[基金项目]** 广东省科技厅项目(2013A032500016)

**[第一作者]** 李俊波,在读博士,主治中医师,从事中医药治疗不孕不育研究,Tel:13657913793,E-mail:104430595@qq.com

**[通信作者]** \*许丽绵,博士生导师,教授,从事中医药治疗不孕不育研究,Tel:13602706486,E-mail:xulimian66@163.com

ovarian weight and volume were significantly increased; LH/FSH, T, fasting blood glucose and INS levels in serum were significantly increased; IL-2, IL-6 and IL-10 levels were significantly increased; and JAK2, STAT3 and IL-6 protein expression levels were also up-regulated in model group ( $P < 0.05$ ). As compared with the model group, high dose and low dose Longdan Xiegan Tang significantly decreased ovarian weight and volume, LH/FSH, T, fasting blood glucose and INS levels in serum as well as IL-2, IL-6 and IL-10 levels, increased JAK2, STAT3 protein expression and reduced p-STAT3 and IL-6 protein expression ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Longdan Xiegan Tang has obvious curative effect on PCOS rats by decreasing hormone level and inhibiting inflammatory reaction and the mechanism may be related to JAK2/STAT3 pathway.

**[Key words]** Longdan Xiegan Tang; polycystic ovary syndrome (PCOS); hormones; inflammatory cytokines; JAK2/STAT3 pathway

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是一种育龄期妇女常见生殖内分泌紊乱性疾病, 可引发 5% ~ 10% 青春期及育龄妇女不孕不育。PCOS 以持续性无排卵或稀发排卵、高雄激素和多囊卵巢形态为主要特征为主要临床症状, 高雄激素血症是其最重要的内分泌特征, 也是早期预示 PCOS 的独立危险因素<sup>[1]</sup>。PCOS 发病机制复杂, 仍尚未明确阐明, 且该疾病具有高度异质性的临床表现。目前, 广泛认识 PCOS 发病的重要病理基础为胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)<sup>[2]</sup>。此外, Kelly 等<sup>[3]</sup>提出的慢性炎症存在于 PCOS 患者中, 炎症学说已成为国内外当前研究 PCOS 的热点之一。近年来, 多项研究已证实 PCOS 具有明显慢性炎症的病理特征<sup>[4]</sup>, 白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6), C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 等被认为是 PCOS 及 IR 的风险因子<sup>[5]</sup>。PCOS 的中医证型分型为肾虚、痰湿、血瘀为主, 陶莉莉<sup>[6]</sup>发现肝经郁火为 PCOS 的症状特征; 中医临床的疏肝泻火是治疗肝经郁火证 PCOS 的有效疗法。本实验建立 PCOS 高雄激素血症大鼠模型, 以疏肝泻火经方龙胆泻肝汤治疗模型大鼠, 明确龙胆泻肝汤的治疗效果, 通过比较性激素水平、炎性因子水平的变化及可能相关信号通路, 来探讨疏肝泻火方治疗 PCOS 的基础依据及为龙胆泻肝汤的临床应用提供参考。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 6 周龄 SD 雌性大鼠, 体质量 180 ~ 220 g, 广东省医学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (粤) 2013-0002, 实验动物伦理号 TCMF<sub>1</sub>-2016033。实验期间自由摄食、饮水, 室温 18 ~ 24 °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 每日昼夜 12 h 循环。所有动物操作均在 SPF 级环境中进行。

**1.2 药物及试剂** 精蛋白生物成人胰岛素注射液 (诺和灵 N 笔芯) (丹麦诺和诺德, 批号

J20160055); 绒促性素 (丽珠集团, 批号 H44020674); 达英-35 (拜耳公司, 批号 J20140114); 龙胆泻肝汤 (龙胆草 15 g, 黄芩 10 g, 栀子 15 g, 泽泻 15 g, 车前子 15 g, 当归 10 g, 地黄 15 g, 柴胡 10 g, 牡丹皮 15 g, 夏枯草 20 g) 所有药材均由广州中医药大学第一附属医院许丽绵教授鉴定为正品, 符合 2015 版《中国药典》规定, 由广州中医药大学第一附属医院提供煎煮并浓缩成含总生药量 (复方) 0.74 g·mL<sup>-1</sup> 药液和总生药量 2.96 g·mL<sup>-1</sup> 的药液, 置于 -80 °C 冰箱储存备用。卵泡刺激素 (FSH), 促黄体生成素 (LH), 睾酮 (T), 空腹胰岛素 (INS) 试剂盒 (上海晨易生物科技有限公司, 批号分别为 CK-E30597R, CK-E30623R, CK-E30610R, CK-E30620R); 葡萄糖测定 (葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法) 试剂盒, KISS, LEP (上海荣盛生物药业有限公司, 批号分别为 20170302147, CK-E95370R, CK-E3492R); 白细胞介素-2 (IL-2), IL-4, IL-6, IL-10 酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒 (美国 Thermo 公司, 批号分别为 KRC0021, BMS628, BMS625, KRC0101); 大鼠一抗 JAK2, STAT3, p-STAT3, IL-6, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 及兔克隆二抗 (英国 Abcam 公司, 批号分别为 Ab39636, Ab119352, Ab76315, Ab45394, Ab9484); PageRuler Prestained Protein Ladder (美国 Thermo 公司, 批号 26616)。

**1.3 仪器** VICTOR X5 型多功能酶标仪 (美国 Perkin Elmer 公司), LD4-2 型低速离心机 (北京医用离心机厂), TGL-18R 型冷冻高速离心机 (珠海黑马医学公司), RV8V 型旋转蒸发器 (德国 IKA 公司), SmartSpec plus 型核酸蛋白测定仪及 Mini 型蛋白电泳系统 (小型全套蛋白电泳系统) (美国 Bio-Rad 公司), -80 °C 超低温冰箱 (美国 Thermo 公司), PA1phaImager HP 型凝胶成像分析系统 (美国 Alpha Innotech 公司), Q Plus 型超级纯水仪 (美国 Millipore

公司)TS-1型脱色摇床(海门其林贝尔公司),AX-II型X射线摄影暗匣(127 mm × 178 mm)(广东粤华医疗器械厂),JJ100型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂),ST3100型pH计(奥豪斯仪器(常州)公司)。

## 2 方法

**2.1 大鼠PCOS模型建立及评价** 选择规律发情周期的雌性SD大鼠50只,按体质量随机分为2组,分别为正常组10只,模型制备组40只。PCOS模型方法参照文献[7-9],模型制备组大鼠每日皮下注射1次人胰岛素,第1~10天注射剂量由0.5 U递增至6.0 U,第11~22天持续剂量6.0 U;同时第11~22天皮下注射绒促性素3.0 U,每日2次。模型制备周期共计22 d,实验分独立2批次进行复制PCOS模型。PCOS模型大鼠评价:阴道脱落物可见大量白细胞和少量角化细胞、无规律动情周期变化、无排卵、且血清雄激素提示模型组明显高于正常组,即判定模型复制成功。

**2.2 分组及治疗方法** 将造模成功的大鼠按体质量随机分成模型组、达英-35组、龙胆泻肝汤高、低剂量组,正常组10只,实验共设5组。每日清晨灌胃给药1次,达英-35( $0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每片含醋酸环丙孕酮2 mg和炔雌醇0.035 mg)及龙胆泻肝汤高( $29.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),低剂量组( $7.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),正常组及模型组给予相同体积生理盐水,给药连续15 d,相当于给药3个动情周期。

**2.3 标本采集** 于第15天灌胃后禁食和禁水12 h,10%水合氯醛麻醉后腹主动脉取血,静置 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,分离血清后 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温保存,用于测定激素水平及炎症因子分析。摘取双侧卵巢,除去表层脂肪组织,分离卵巢记录卵巢质量

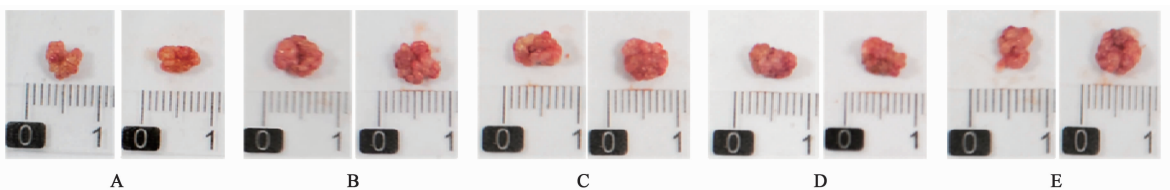
及体积。左侧卵巢组织用4%多聚甲醛固定,右侧卵巢放入液氮中, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

**2.4 指标检测及方法** 治疗一般指标的评价:①动物卵巢的基本形态;②动物卵巢质量和体积的测量;③动物治疗体质量的变化。基础内分泌指标:①T,FSH,LH及LH/FSH;②血清INS和空腹血糖(FPG)水平,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及胰岛素敏感指数(ISI)。炎症水平指标:①促炎因子IL-2和IL-6;②抑炎因子IL-4和IL-10。所有激素水平及炎症因子测试均依据试剂盒操作进行。大鼠卵巢组织中IAK2,STAT3,p-STAT3和IL-6的表达水平,依据蛋白质免疫印迹(Western blot)标准步骤提取蛋白和进行分离、转膜、封闭、孵育抗体及显色。

**2.5 统计学分析** 采用SPSS 20.0软件统计处理,多组间比较采用单因素方差分析,所有数据均由 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有作图均采用Graphpad prism 5软件,研究结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对PCOS模型大鼠的治疗作用** 经注射INS和绒促性素造模后,可见模型组较正常组卵巢明显变大、包膜增厚和扩张的囊泡。龙胆泻肝汤治疗后高、低剂量组较模型组均可见卵巢体积及囊泡减少,其中左卵巢变化较右卵巢变化明显。见图1。龙胆泻肝汤给药高、低组卵巢质量和卵巢体积大小明显低于模型组卵巢质量和体积( $P < 0.05$ )。见表1。造模后PCOS动物体质量较正常组明显升高,龙胆泻肝汤组给药后可降低PCOS动物体质量( $P < 0.05$ )。见表2。综上,说明龙胆泻肝汤对PCOS动物模型具有基本的治疗作用。



A. 正常组;B. 模型组;C. 达英-35组;D. 龙胆泻肝汤 $29.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;E. 龙胆泻肝汤 $7.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图2同)

图1 龙胆泻肝汤对PCOS大鼠卵巢形态影响

Fig.1 Effects of Longdan Xiegan Tang on ovary morphology in PCOS model rats

**3.2 对PCOS模型大鼠的性激素水平的影响** 高雄激素血症为PCOS临床典型病理表现,实验中模型组大鼠性激素T,LH,FSH水平与正常组比较明显升高( $P < 0.05$ ),说明建立了高雄激素PCOS大鼠模型。与模型组比较,龙胆泻肝汤高、低剂量组T,

LH,FSH水平表达降低,其中龙胆泻肝汤高剂量组T,LH及FSH水平差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),而龙胆泻肝汤低剂量组T,LH均降低但无明显差异。龙胆泻肝汤各剂量组LH/FSH表达均降低,且高剂量组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表 1 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠卵巢质量和体积大小的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 Effect of Longdan Xiegan Tang on ovary weight and volume in PCOS model rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	卵巢质量/mg	体积/mm <sup>3</sup>
正常	-	51.2 ± 10.5	81.0 ± 27.0
模型	-	67.5 ± 15.8 <sup>1)</sup>	115.5 ± 49.4 <sup>1)</sup>
达英-35	0.21	58.8 ± 9.9 <sup>2)</sup>	98.6 ± 34.4 <sup>2)</sup>
龙胆泻肝汤	7.4	59.1 ± 16.9 <sup>2)</sup>	96.9 ± 33.9 <sup>2)</sup>
	29.6	59.5 ± 14.3 <sup>2)</sup>	89.8 ± 36.1 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$  (表2~6)。

### 3.3 对 PCOS 模型大鼠 FPG, INS, HOMA-IR 和 ISI 的影响

模型组大鼠 FPG, INS, HOMA-IR 水平,与

正常组比较明显升高, ISI 水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,龙胆泻肝汤各剂量组明显降低 FPG, INS, HOMA-IR 水平,明显升高 ISI 水平 ( $P < 0.05$ ),高剂量效果最为显著。见表 4。

### 3.4 对 PCOS 模型大鼠的促炎因子和抑炎因子的影响

模型组大鼠 IL-2 与 IL-6 水平与正常组比较明显升高, IL-10 水平明显降低 ( $P < 0.05$ ),证实炎症是 PCOS 模型大鼠的生理变化之一。与模型组比较,龙胆泻肝汤各剂量组促炎因子 IL-2, IL-6 水平均降低,而抑炎因子 IL-4, IL-10 水平升高,但龙胆泻肝汤各剂量 IL-4 升高水平组各值差异无统计学意义, IL-2, IL-6 和 IL-10 均存在明显差异 ( $P < 0.05$ ),高剂量效果最为显著。实验得出龙胆泻肝汤各剂量组可以降低炎症反应对 FOCS 产生影响。见表 5。

表 2 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 2 Effect of Longdan Xiegan Tang on weight in PCOS model rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	1 d	4 d	7 d	11 d	14 d
正常	-	218.9 ± 5.7	227.1 ± 6.6	235.1 ± 7.8	243.1 ± 8.5	250.2 ± 10.5 <sup>2)</sup>
模型	-	243.4 ± 14.8 <sup>1)</sup>	240.0 ± 16.7	243.3 ± 13.9	255.7 ± 14.9	261.4 ± 15.9
达英-35	0.21	242.5 ± 18.9 <sup>1)</sup>	239.6 ± 14.2	243.1 ± 17.2	244.1 ± 19.8	249.3 ± 22.5 <sup>2)</sup>
龙胆泻肝汤	7.4	242.5 ± 18.9 <sup>1)</sup>	239.6 ± 14.2	243.1 ± 17.2	244.1 ± 19.8	249.3 ± 22.5 <sup>2)</sup>
	29.6	245.5 ± 17.5 <sup>1)</sup>	245.1 ± 16.5	243.2 ± 15.5	245.6 ± 15.2	248.5 ± 18.6 <sup>2)</sup>

表 3 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠性激素水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 3 Effect of Longdan Xiegan Tang on hormone level in PCOS rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	T/nmol·L <sup>-1</sup>	LH/mU·L <sup>-1</sup>	FSH/U·L <sup>-1</sup>	LH/FSH
正常	-	1.3 ± 0.09	6.9 ± 0.28	4.8 ± 0.29	1.4 ± 0.07
模型	-	2.7 ± 0.10 <sup>1)</sup>	14.8 ± 0.42 <sup>1)</sup>	6.7 ± 0.34 <sup>1)</sup>	2.2 ± 0.11 <sup>1)</sup>
达英-35	0.21	1.5 ± 0.06 <sup>2)</sup>	8.5 ± 0.30 <sup>2)</sup>	6.1 ± 0.14	1.7 ± 0.06 <sup>2)</sup>
龙胆泻肝汤	7.4	1.5 ± 0.08 <sup>2)</sup>	8.8 ± 0.20 <sup>2)</sup>	5.2 ± 0.17 <sup>2)</sup>	1.7 ± 0.06 <sup>2)</sup>
	29.6	2.4 ± 0.11	12.5 ± 0.39	5.1 ± 0.26 <sup>2)</sup>	2.0 ± 0.08

表 4 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠 FPG, 空腹 INS 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 4 Effect of Longdan Xiegan Tang on FPG, INS in PCOS rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FPG/nmol·L <sup>-1</sup>	INS/mU·L <sup>-1</sup>	HOMA-IR	ISI
正常	-	3.2 ± 0.11	21.7 ± 0.80	3.2 ± 0.17	0.014 1 ± 0.000 7
模型	-	5.9 ± 0.18 <sup>1)</sup>	31.0 ± 0.82 <sup>1)</sup>	8.1 ± 0.39 <sup>1)</sup>	0.005 4 ± 0.000 2 <sup>1)</sup>
达英-35	0.21	3.6 ± 0.22 <sup>2)</sup>	23.5 ± 0.68 <sup>2)</sup>	3.8 ± 0.21 <sup>2)</sup>	0.011 6 ± 0.000 6 <sup>2)</sup>
龙胆泻肝汤	7.4	3.7 ± 0.15 <sup>2)</sup>	23.4 ± 0.88 <sup>2)</sup>	3.8 ± 0.26 <sup>2)</sup>	0.011 5 ± 0.000 7 <sup>2)</sup>
	29.6	4.0 ± 0.19 <sup>2)</sup>	26.9 ± 0.71 <sup>2)</sup>	4.8 ± 0.23 <sup>2)</sup>	0.009 2 ± 0.000 4 <sup>2)</sup>

### 3.5 对 PCOS 模型大鼠的卵巢组织的 JAK2/STAT3 通路和 IL-6 蛋白的影响

与正常组比较,模型组 JAK2, STAT3 及 IL-6 蛋白表达均升高 ( $P < 0.05$ );

与模型组比较龙胆泻肝汤各剂量组 p-STAT3 及 IL-6 蛋白表达均降低 ( $P < 0.05$ )。说明 JAK2/STAT3 通路参与了龙胆泻肝汤的治疗作用,同时降低了 IL-6

表 5 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠 IL-2, IL-4, IL-6 和 IL-10 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10
正常	-	123.7 ± 21.9	53.3 ± 23.0	50.7 ± 5.3	190.5 ± 8.6
模型	-	233.8 ± 30.3 <sup>1)</sup>	56.9 ± 14.1	1 068.8 ± 122.6 <sup>1)</sup>	87.1 ± 16.2 <sup>1)</sup>
达英-35	0.21	125.0 ± 17.4 <sup>2)</sup>	65.7 ± 14.4	697.7 ± 31.5 <sup>2)</sup>	166.7 ± 13.4 <sup>2)</sup>
龙胆泻肝汤	7.4	128.7 ± 20.1 <sup>2)</sup>	62.1 ± 18.6	710.0 ± 54.7 <sup>2)</sup>	158.5 ± 10.2 <sup>2)</sup>
	29.6	173.1 ± 10.6 <sup>2)</sup>	60.0 ± 13.9	897.7 ± 54.52 <sup>2)</sup>	124.7 ± 9.8 <sup>2)</sup>

为特征的炎症反应。见图 2 和表 6。

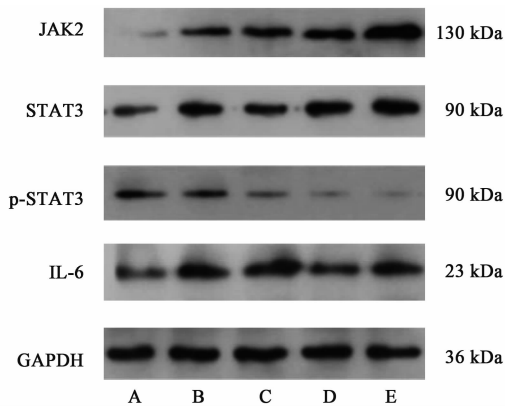


图 2 各组大鼠卵巢组织中 JAK2, STAT3, p-STAT3 和 IL-6 蛋白表达的影响

Fig. 2 Expression of JAK2, STAT3, p-STAT3 and IL-6 in each group rats

表 6 龙胆泻肝汤对 PCOS 大鼠卵巢组织中 JAK2, STAT3, p-STAT3 和 IL-6 蛋白相对表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Effect of Longdan Xiegan Tang on relative protein levels of JAK2, STAT3, p-STAT3 and IL-6 expression in ovary of PCOS rats ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	JAK2/GAPDH	STAT3/GAPDH	p-STAT3/GAPDH	IL-6/GAPDH
正常	-	0.13 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.53 ± 0.08	0.24 ± 0.07
模型	-	0.71 ± 0.06 <sup>1)</sup>	0.72 ± 0.12 <sup>1)</sup>	0.48 ± 0.07	0.54 ± 0.07 <sup>1)</sup>
达英-35	0.21	0.75 ± 0.14	0.62 ± 0.08	0.36 ± 0.03 <sup>2)</sup>	0.59 ± 0.04
龙胆泻肝汤	7.4	0.87 ± 0.12 <sup>2)</sup>	0.92 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>2)</sup>	0.27 ± 0.05 <sup>2)</sup>
	29.6	1.14 ± 0.14 <sup>2)</sup>	1.06 ± 0.11 <sup>2)</sup>	0.09 ± 0.02 <sup>2)</sup>	0.32 ± 0.04 <sup>2)</sup>

表现,与中医肝经郁火表现较吻合,因此调治肝有特别重要的意义,针对肝经郁火型 PCOS 患者当疏泻肝火,清利湿热,方选龙胆泻肝汤加减治疗。近年来研究发现慢性低度炎症是 PCOS 发生的关键因素<sup>[10]</sup>。炎症直接促进多囊卵巢产生高水平雄激素,并且炎症因子水平在 PCOS 患者体内增高,有罹患心血管疾病的风险<sup>[11]</sup>。秦竹等<sup>[12]</sup>采取龙胆泻肝汤加减治疗肝经湿热型 PCOS 患者 83 例,通过口服龙胆泻肝汤随证加减,1 个月为 1 个疗程,治疗 2~4

#### 4 讨论

龙胆泻肝汤源于汪昂《医方集解》,为中医经典名方,其主要功效为“泻肝胆实火,清三焦湿热,尤以清下焦湿热见长”,因其疗效显著,被广泛应用于临床。由于关木通的肾毒性,本院进行了加减,由龙胆草、黄芩、栀子、泽泻、车前子、当归、地黄、柴胡、牡丹皮、夏枯草重组方,既保证了疗效特性同时可减少不良反应。疏肝泻火方为其治疗的理论基础,以及结合现代病机的炎症学说,本研究以龙胆泻肝汤“泻火”和抗炎作用为研究出发点,探讨其对 PCOS 模型大鼠的疗效和作用机制,为龙胆泻肝汤的开发和应用提供启示。

目前,PCOS 病因病机复杂,临床中有很大一部分 PCOS 患者表现出前额,双颊等面部痤疮,痤疮周围红肿,毛孔粗大,经前乳胀胁痛,舌苔黄腻等临床

个疗程观察疗效,临床治疗有效率达 100%,为临床治疗肝经湿热型 PCOS 提供了治疗思路。徐关丽等<sup>[13]</sup>发现龙胆苦苷能降低脓毒症小鼠血清中的 IL-6 的含量,并对脓毒症小鼠的急性肝损伤有保护作用,具有显著抗炎作用。另唐凯等<sup>[14]</sup>证实了龙胆泻肝汤能促进 IL-10 的表达和分泌,加速自身免疫性炎症的消退。

本实验结果显示,高雄激素的 PCOS 模型大鼠外周血中的雄激素水平表达量远高于正常卵巢大

鼠,说明该造模方法能够模拟 PCOS 机体生理变化。此外,LH 和 FSH 测定值均升高,且 LH/FSH $\geq$ 2,该比值与临床诊断标准也一致。本研究选用龙胆泻肝汤治疗 PCOS 高雄激素血症疗效肯定,能降低卵巢多囊化程度,并在性激素和炎症因子水平双重治疗 PCOS,另减低胰岛素抵抗和提高敏感性,实验结果说明了该方的多重效应协同优势特点。此外,为观察卵巢部位的作用和炎症信号通路变化,研究选取了卵巢组织的 JAK2/STAT3 信号蛋白和以 IL-6 为特征的炎症蛋白分析,发现龙胆泻肝汤激活了该通路同时抑制了炎症蛋白的表达。

综上所述,实验提示龙胆泻肝汤能够改善高雄激素状态和降低炎症的发生,达到 PCOS 治疗目的,且是多环节、多靶点的协同作用的过程,卵巢组织微环境分析证实炎症通路参与了疾病的调控机制。本研究可为探索龙胆泻肝汤干预治疗 PCOS 高雄激素血症等疑难病证提供研究方法依据和新的思路。

#### [参考文献]

[1] Robin G, Catteau-Jonard S, Young J, et al. Physiopathological link between polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia: myth or reality? [J]. *Gynecol Obstet Fertil*, 2011, 39(3): 141-145.

[2] Eshre/Asrm T. Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group "revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to PCOS" [J]. *Steril Fertil*, 2004, 1(81): 19-25.

[3] Kelly C C, Lyall H, Petrie J R, et al. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 6(86): 2453-2455.

[4] WU J, WU Y, ZHANG X, et al. Elevated serum thioredoxin-interacting protein in women with polycystic ovary syndrome is associated with insulin resistance

[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014, 80(4): 538-544.

[5] Insenser M, Montes-Nieto R, Murri M, et al. Proteomic and metabolomic approaches to the study of polycystic ovary syndrome [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 370(1/2): 65-77.

[6] 陶莉莉. 疏肝泻火法对 PCOS 高雄激素血症及高胰岛素血症的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2005.

[7] Poretsky L, Clemons J, Bogovich K, et al. Hyperinsulinemia and human chorionic gonadotropin synergistically promote the growth of ovarian follicular cysts in rats [J]. *Metabolism*, 1992, 41(8): 903-910.

[8] 李轶,梁晓燕,杨星,等. 胰岛素和绒毛膜促性腺激素建立高雄激素多囊卵巢大鼠模型[J]. *国外医学:计划生育·生殖健康分册*, 2008, 27(1): 54-57.

[9] 尤昭玲. 妇产科学实验动物学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:7.

[10] Escobar-Morreale H F, Luque-Ramirez M, Gonzalez F. Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: a systematic review and Meta analysis [J]. *Fertil Steril*, 2010, 95(3): 1048-1058.

[11] Buettner R, Ascher M, Gabela, E, et al. Olive oil attenuates the cholesterol-induced development of nonalcoholic steatohepatitis despite increased insulin resistance in a rodent model [J]. *Horm Metab Res*, 2013, 45(11): 795-801.

[12] 秦竹,郑美玲,卜德艳. 基于清热利湿法治疗 PCOS 临床配伍规律研究[J]. *现代中医药*, 2015, 35(5): 95-98.

[13] 徐美丽,陈露露,蔡江辉,等. 龙胆苦苷对脓毒症小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. *激光杂志*, 2013, 34(1): 96-97.

[14] 唐凯,郭大东,张莲,等. 龙胆泻肝汤对大鼠实验性自身免疫性葡萄膜炎的治疗作用[J]. *眼科新进展*, 2015, 35(4): 305-309.

[责任编辑 周冰冰]