

# 妇科千金片对慢性盆腔炎大鼠血清炎性细胞因子表达的影响

李鑫<sup>1</sup>, 郭建生<sup>1,2</sup>, 师振予<sup>1,2\*</sup>, 聂晶<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学中药现代化研究重点实验室, 长沙 410208;

2. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

**【摘要】 目的:**研究妇科千金片对慢性盆腔炎大鼠血清炎性细胞因子表达的影响。**方法:**采用金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及解脲脲原体混合菌接种法建立慢性盆腔炎模型。模型成功后,随机分成妇科千金片低、中、高(0.52, 1.04, 2.08 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组,中药妇炎康对照组(妇炎康 0.41 g·kg<sup>-1</sup>),假手术组,模型组和空白组 7 组。治疗 21 d 后,取外周血及子宫组织,采用 ELASA 法检测血清白介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白介素 10(IL-10)表达情况,并取子宫组织观察病理学改变。**结果:**肉眼观察:与模型组比较,妇科千金片低、中、高剂量组子宫肿胀、充血现象明显减轻,结构较清晰。光镜下观察:妇科千金片低、中、高剂量能抑制大鼠子宫内膜炎症细胞增生,促进其病变上皮细胞增生修复,减轻浆膜充血水肿。与正常组比较,模型组血清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  明显升高( $P < 0.01$ ),血清 IL-10 明显降低( $P < 0.01$ )。与模型组比较,妇科千金片高、中剂量血清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  均明显降低( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),血清 IL-10 明显升高( $P < 0.01$ );低剂量血清 IL-1 $\beta$  和 IL-10 分别降低或升高( $P < 0.05$ )。**结论:**妇科千金片可促进受损组织与细胞的形态结构及其生理功能的恢复。其作用机制可能与减少促炎症因子 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  的释放,促进抗炎症因子 IL-10 表达,调节 Th1/Th2 平衡有关。

**【关键词】** 妇科千金片; 慢性盆腔炎; 炎性因子

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2013)10-0225-04

**【doi】** 10.11653/syfy2013100225

**【收稿日期】** 20121105(015)

**【基金项目】** 湖南省高校创新平台开放基金(10K045)

**【第一作者】** 李鑫, 硕士, 从事中药新药开发与研究, Tel:13187080466, E-mail:lixin20082005@163.com

**【通讯作者】** \* 师振予, 博士, 讲师, 从事中药分子药理学研究, E-mail:helenszy@hotmail.com

## 【参考文献】

- [1] Quan G, Choi J Y, Lee D S, et al. TGF- $\beta_1$  up-regulates transglutaminase two and fibronectin in dermal fibroblasts: a possible mechanism for the stabilization of tissue inflammation [J]. Arch Dermatol Res, 2005, 297(2):84.
- [2] 杜刚军, 张硕, 林海红, 等. 灯盏花素对博来霉素诱导小鼠肺纤维化的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(2):160.
- [3] 任亮, 张印坡, 徐华, 等. 灯盏花素对小鼠顺铂肾损害的防治作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1):142.
- [4] 赵锦欢, 张丽梅, 李洋. 灯盏花素对糖尿病肾病的防治作用简介[J]. 中国药业, 2010, 19(12):86.
- [5] 任亮, 马菲, 李晓莉, 等. 灯盏花素增强马利兰抑制 HL-60 细胞作用的实验研究[J]. 中国药房, 2010, 21(7):1749.
- [6] 李淑雯, 吴清和, 黄萍, 等. 缩泉丸对肾虚多尿大鼠肾素-血管紧张素-醛固酮系统的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11):108.
- [7] 杨海, 张岩, 陈必成, 等. 灯盏花素对单侧输尿管大鼠肾间质纤维化的保护作用[J]. 解放军医学杂志, 2009, 34(10):1206.
- [8] 彭海东, 涂晋文, 田俊, 等. 灯盏花素对大鼠脑缺血再灌注后血管活性物质的影响[J]. 中国药房, 2006, 15(2):172.
- [9] 董敬远, 任亮, 陶志敏, 等. 灯盏花素对梗阻性肾病实验大鼠肾间质及血管活性物质的影响[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(2)109.

【责任编辑】 聂淑琴

# Effect of Fuke Qianjin Tablets on Inflammatory Cytokines in Blood Serum in Rats with Chronic Pelvic Inflammatory Disease

LI Xin<sup>1</sup>, GUO Jian-sheng<sup>1,2</sup>, SHI Zhen-yu<sup>1,2\*</sup>, NIE Jing<sup>1</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Key Lab of Modernization of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Schools of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Fuke Qianjin tablets on inflammatory cytokines in blood serum in rats. With chronic pelvic inflammatory disease. **Method:** The rat chronic pelvic inflammation model was established by mixed bacteria of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *M. urealyticum*. The rats were randomly divided into 7 groups. Fuke Qianjin tablets in high, middle and low dosage were used to treat chronic pelvic inflammation model rat for 21 days. The content of blood serum interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-10 (IL-10) in chronic pelvic inflammation model rat was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Pathologic change of uterus was measured by a microscope. **Result:** Visual inspection: the Fuke Qianjin tablets in high, middle and low dosage uterine swelling, hyperemia significantly reduced, the structures were clear. Light microscopic inspection: The Fuke Qianjin tablets in high, middle and low dosage can suppression of inflammatory cells in the rat endometrial hyperplasia, to promote its lesion repair of epithelial cell proliferation alleviates seasonal congestion and edema. Serum expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  in model group were markedly higher than those in normal control group ( $P < 0.01$ ). Serum expressions of IL-10 in model group were markedly lower than those in normal control group ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, the serum expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  were significantly lower in Fuke Qianjin tablets high and middle groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Serum expressions of IL-10 were markedly higher in Fuke Qianjin tablets high and middle groups ( $P < 0.01$ ). The serum expressions of IL-1 $\beta$  and IL-10 in Fuke Qianjin tablets low group were higher and lower than those in model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Fuke Qianjin tablets promote the recovery of morphology and physiological function of damaged tissues and cells. Its mechanism may be associated with reduced promoting inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  release to promote the anti-inflammatory cytokine IL-10 expression, regulation of Th1/Th2 balance related.

**[Key words]** Fuke Qianjin tablets; chronic pelvic inflammatory disease; inflammatory cytokines

妇科千金片作为国家基本药物妇科炎症类唯一入选中成药,因其确切的疗效,广泛用于盆腔炎,尤其是慢性盆腔炎的临床治疗<sup>[1-2]</sup>。然目前对妇科千金片的研究多局限于临床疗效观察或药效学的验证,对其具体作用机制尚无深入研究。在前期研究中发现,妇科千金片对急性盆腔炎大鼠子宫组织炎症有明显改善作用,作用机制与下调促炎症因子白介素 2 (IL-2),白介素 6 (IL-6) 的表达<sup>[3-4]</sup>,促进免疫球蛋白 (IgA, IgG, IgM) 产生,提高机体免疫力有关<sup>[5-6]</sup>。据此,本研究拟建立大鼠慢性盆腔炎模型,进一步探讨其治疗慢性盆腔炎免疫学作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,雌性,SPF 级,体质量(200  $\pm$  20)g,由长沙斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(湘)2009-0004。

**1.2 药物** 妇科千金片,由株洲千金药业股份有限公司提供,批号 20110901。妇炎康片,由湖南湘泉制药有限公司提供,批号 111105。

**1.3 菌株** 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, 菌种号 44152),大肠杆菌 (*Escherichia coli*, 菌种号 26002),解脲脲原体 (*M. urealyticum*, 菌种号 52011),由湖南中医药大学免疫与微生物教研室伍参荣教授惠赠。

**1.4 仪器与试剂** RT-6000 酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司),组织匀浆机(金坛市天竟实验仪器厂),Motic B5 显微成像系统(麦克奥迪实业集团公司),白介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ , 批号 2012070849)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , 批号 2012070621)、白介素 10 (IL-10, 批号 2012070835) 试剂盒均由武汉博士德生物工程有限公司提供。

## 2 方法

**2.1 慢性盆腔炎模型的建立** 参考文献[7-8]方法,并加以改进,用注射器分别抽取等体积的密度为 $1 \times 10^9$  CFU的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和解脲脲原体菌液,注入无菌培养皿中,混合均匀。将医用明胶片剪成 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 大小,置于注有混合菌液的培养皿中,与混合菌液充分接触。待明胶充分饱和后,左手持鼠尾,将大鼠倒立,右手夹含混合菌液的明胶经阴道塞至宫腔内,左右各1块,并保持鼠倒立 $1 \sim 2 \text{ min}$ 。隔天1次,连续4次。假手术组塞入不含菌液的明胶片。

**2.2 分组及给药** 将成功建立的模型组大鼠按体质量随机分为7组,每组10只。妇科千金片组低、中、高剂量分别按 $0.52, 1.04, 2.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ ig}$ 给予相应浓度的药液,妇炎康组按 $0.41 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予妇炎康药液,模型组、空白对照组及假手术组分别给予等容积蒸馏水,ig给药,1次/d,连续21 d。

**2.3 血清中 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 含量测定** 末次给药结束后,禁食不禁水12 h,次日清晨,腹主动脉采血, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,离心10 min,取血清,采用ELASA法分别检测血清中 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 的含量。

**2.4 大鼠子宫组织病理学观察** 取血后,解剖大鼠,观察子宫形态是否正常,取大鼠双侧子宫,用4%多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋,切片,HE染色,光镜观察子宫组织病理学改变。

**2.5 统计学分析** 采用SPSS 17.0 统计分析软件进行数据处理,各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,首先进行方差齐性检验,若呈正态分布,则采用单因素方差分析,若呈非正态分布,则采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对血清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 的影响** 空白组与假手术组无明显差异,与模型组存在非常显著性差异( $P < 0.01$ ),提示造模成功;经治疗后,妇科千金片高、中、低剂量 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  与模型组比较含量降低( $P < 0.01, P < 0.05$ ),IL-10 与模型组比较含量降低( $P < 0.01, P < 0.05$ )。见表1。

**3.2 对子宫组织的影响** 肉眼观察:正常对照组、假手术组大鼠子宫正常,无明显充血及水肿,结构清晰,浆膜无明显充血及水肿,与盆腔周围组织无粘连。模型组大鼠子宫明显肿胀、充血,多数宫腔迂曲扩张,末端球状膨大,切面管壁变薄,管腔内可见清亮液体。给予妇科千金片治疗后,子宫肿胀、充血现

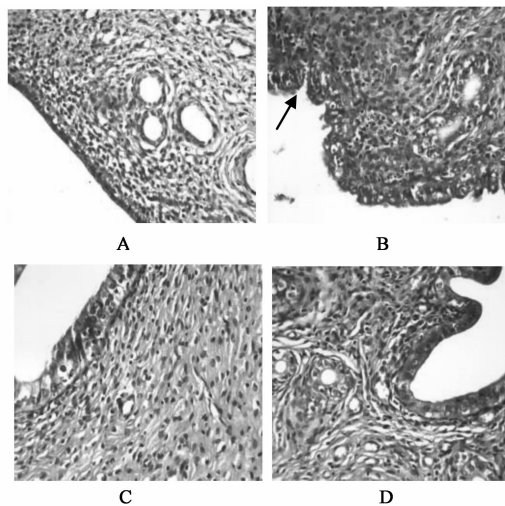
表1 妇科千金片对慢性盆腔炎大鼠血清 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-10
空白	-	149.11 $\pm$ 8.84 <sup>2)</sup>	100.57 $\pm$ 3.57 <sup>2)</sup>	74.48 $\pm$ 6.71 <sup>2)</sup>
假手术	-	152.34 $\pm$ 7.19 <sup>3)</sup>	99.54 $\pm$ 4.07 <sup>2)</sup>	73.35 $\pm$ 2.55 <sup>2)</sup>
模型	-	212.47 $\pm$ 6.91	148.22 $\pm$ 7.25	67.25 $\pm$ 6.01
妇科千金片	0.52	205.69 $\pm$ 7.56 <sup>1)</sup>	144.45 $\pm$ 6.61	71.67 $\pm$ 4.48 <sup>1)</sup>
	1.04	204.04 $\pm$ 6.06 <sup>1)</sup>	141.51 $\pm$ 6.66 <sup>1)</sup>	72.40 $\pm$ 3.23 <sup>1)</sup>
	2.08	179.39 $\pm$ 6.80 <sup>2)</sup>	120.63 $\pm$ 5.15 <sup>2)</sup>	74.41 $\pm$ 4.57 <sup>2)</sup>
妇炎康	0.41	204.99 $\pm$ 8.29 <sup>1)</sup>	142.45 $\pm$ 7.15 <sup>1)</sup>	71.46 $\pm$ 3.97 <sup>1)</sup>

注:与模型组相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

象明显减轻。

光镜显示:模型组子宫内膜上皮细胞可见变性坏死,大量淋巴、浆细胞及少量中性粒细胞浸润,内膜充血水肿。妇科千金片低、中、高剂量组均能抑制大鼠子宫内膜炎症细胞增生,促进其病变上皮细胞增生修复,减轻浆膜充血水肿。



A. 空白组; B. 模型组; C. 妇科千金片 $1.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;  
D. 妇科千金片 $2.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图1 妇科千金片对慢性盆腔炎大鼠  
子宫内膜病理改变的影响(HE,  $\times 400$ )

## 4 讨论

当前实验研究多以机械刺激加细菌感染致炎模型为主,在造模过程中涉及打开腹腔操作,实际操作过程中难免出现腹腔感染,为了避免感染,有学者在术后运用抗生素以予预防。抗生素在预防感染过程中,难免将造模细菌一起杀死,从而影响造模效果。慢性盆腔炎患者以急性盆腔炎治疗不彻底,病程迁延所致多见,主要病理变化是免疫病理损伤。根据其病理病因,结合当前模型的特点,笔者对慢性盆腔炎模型进行了改进,既避免了抗生素对实验的干扰,又因反复施予菌液,使宫腔内保持高细菌环境,对宫

腔持续刺激,模拟人类急性盆腔炎治疗不彻底,病程迁延致慢性盆腔炎症状。模型动物病理检验显示:子宫内膜上皮细胞可见变性坏死,部分伴有内膜上皮脱落现象,大量淋巴、单核细胞浸润,内膜充血、水肿。炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  表达均显著升高,IL-10 表达明显降低,提示慢性盆腔炎模型复制成功。

现代医学研究发现部分慢性盆腔炎在慢性发展过程中已经无病原体的存在,慢性阶段的病理改变是继细菌感染后刺激机体所发生的免疫反应所致<sup>[9]</sup>,与细胞因子、炎症介质等因素的异常改变有关。炎症因子主要分为前炎症因子和抑炎症因子两类,分别由 Th1 细胞和 Th2 细胞分泌。IL-1 $\beta$  是前炎症网链中的一级细胞因子<sup>[10]</sup>,主要由 Th1 细胞产生。IL-10 是体内主要的抗炎细胞因子之一,主要由 Th2 细胞分泌。Th1/Th2 细胞处于动态平衡以维持正常的细胞免疫和体液免疫功能,Th1/Th2 细胞平衡异常均可导致疾病的产生<sup>[7]</sup>。据文献报道,慢性盆腔炎模型大鼠血清 IL-1 $\beta$  水平显著升高,IL-10 水平显著降低<sup>[11]</sup>。本研究发现模型组大鼠血清 IL-1 $\beta$  水平显著升高( $P < 0.01$ ),大鼠血清 IL-10 水平显著降低( $P < 0.01$ ),与文献报道一致,提示机体促炎与抑炎反应平衡遭到破坏,前炎症因子分泌和释放亢进,同时抗炎因子分泌和释放减少,促使炎症反应继续发展,机体组织损伤进一步加重。经妇科千金片治疗后,大鼠血清 IL-1 $\beta$  水平显著降低( $P < 0.05$ ),大鼠血清 IL-10 水平显著升高( $P < 0.05$ ),提示妇科千金片可能通过提高细胞免疫反应,抑制体液免疫反应,协调 Th1/Th2 细胞,使机体免疫功能恢复正常。

TNF- $\alpha$  是一种促炎症因子和免疫调节因子<sup>[12]</sup>,在炎症反应中起核心作用,是启动炎症的重要细胞因子。TNF- $\alpha$  在炎症的初始阶段可有助于机体免疫系统的抗感染作用,但持续升高则导致一些列病理生理改变。模型组大鼠血 TNF- $\alpha$  浓度较空白对照组亦明显增高( $P < 0.01$ ),与文献报道一致<sup>[13]</sup>,说明 TNF- $\alpha$  在盆腔炎炎症形成和发展过程中发挥重要作用。TNF- $\alpha$  可以提高中性粒细胞的吞噬作用,增强超氧阴离子的产生。刺激中性粒细胞的释放作用和分泌过氧化酶,还能刺激内皮细胞产生多种黏附分子 ICAM-1 等,使中性粒细胞、淋巴细胞黏附到内皮细胞上,诱导血管内皮细胞产生炎症介质,引起局部的炎症反应,对子宫组织造成炎性病理性损伤。经妇科千金片治疗后血中 TNF- $\alpha$  显著降低,提示妇

科千金片治疗盆腔炎的机制可能是其具有抗免疫及抗炎性细胞因子作用,从而抑制外周血单核细胞和巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$ ,使外周血 TNF- $\alpha$  降低,降低其对单核细胞、淋巴细胞的趋化作用而减轻炎细胞对组织的浸润而实现临床疗效的。

综上所述,妇科千金片能有效抑制慢性盆腔炎大鼠前炎症细胞因子的大量释放,并促进抗炎细胞因子的释放,这种“此消彼长”的调节作用使前炎症细胞因子和抗炎细胞因子的平衡关系重新建立,结果是控制了炎症发展,抑制了炎症过程,使得炎症向着消退的方向发展,促进疾病治愈。

#### [参考文献]

- [1] 杨雪霞. 妇科千金片联合克林霉素治疗慢性盆腔炎的疗效观察[J]. 临床合理用药, 2012, 5(10): 83.
- [2] 许琴儿. 塞克硝唑联合妇科千金片治疗慢性盆腔炎的疗效观察[J]. 海峡药学, 2012, 24(5): 108.
- [3] 袁建菱, 郭建生, 伍参荣, 等. 妇科千金片对急性盆腔炎模型大鼠血清 IgA、IgG、IgM 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(9): 87.
- [4] 师振予, 郭建生, 袁建菱, 等. 妇科千金片对急性盆腔炎模型大鼠外周血细胞及盆腔组织病理改变的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 199.
- [5] 师振予, 郭建生, 左之文, 等. 妇科千金片对急性盆腔炎大鼠子宫、卵巢 NF- $\kappa$ B、IL-6 mRNA 的影响[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(12): 1771.
- [6] 鲁耀邦, 屈金艳, 郭建生, 等. 妇科千金片对急性盆腔炎大鼠子宫、卵巢 TNF- $\alpha$ 、IL-2 mRNA 转录水平的影响[J]. 中成药, 2012, 34(1): 29.
- [7] 朱叶, 任守忠, 尹德辉. 妇科千金片对慢性盆腔炎大鼠血清炎症细胞因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 214.
- [8] 刘志为, 李晋芳. 妇炎康丸治疗慢性盆腔炎的实验研究[J]. 海峡药学, 2008, 20(3): 40.
- [9] 张三元, 闻莉. 大肠杆菌所致大鼠慢性盆腔炎动物模型的建立[J]. 医学研究通讯, 2001, 30(2): 11.
- [10] 赵巴根那, 董华, 董清平. 纳米中药对急性痛风性关节炎 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 影响的实验研究[J]. 中医药信息, 2012, 29(1): 117.
- [11] 宗惠, 刘瑞芬. 盆腔炎颗粒对慢性盆腔炎大鼠血清炎症细胞因子及趋化因子的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(12): 2648.
- [12] 王振亮, 姚乃礼. 石藤胶囊对佐剂性关节炎大鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 195.
- [13] 张樱山, 李文雅, 赵辉. 红花如意丸治疗大鼠慢性盆腔炎的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 180.

[责任编辑 聂淑琴]