DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.04.023

从 KLF4 调控 TLR2/MyD88/NF－κB 通路探讨妇炎舒胶囊对盆腔炎性疾病后遗症大鼠抗炎作用机制

黄利,季晓黎,王妍,尹小兰,魏绍斌
(成都中医药大学附属医院,四川 成都 610075)

摘要:目的 观察妇炎舒胶囊对盆腔炎性疾病后遗症(Sequelae of pelvic inflammatory disease,SPID)模型大鼠抗炎疗效及对SPID大鼠子宫组织Krüppel样因子4(Krüppel－like factor 4,KLF4)、Toll样受体2(Toll－like receptor 2,TLR2)、髓样分化因子88(Myeloid differentiation factor 88,MyD88)、核转录因子－κB(Nuclear factor－kappa B,NF－κB)的影响。方法 采用混合菌液注射配合机械损伤法建立大鼠SPID模型,随机数字表法将36只大鼠分为空白组、模型组、康妇炎胶囊组(KFY组)、妇炎舒胶囊高剂量组(FYS高剂量组)、妇炎舒胶囊中剂量组(FYS中剂量组)、妇炎舒胶囊低剂量组(FYS低剂量组)。各组以相应药物混悬液灌胃21 d。病理切片HE染色观察子宫组织形态并评分,RT－PCR法测定TLR2、MyD88、KLF4 mRNA表达,免疫组化法观察NF－κB的表达,Western Blot法测定各组大鼠子宫组织中TLR2、MyD88、KLF4蛋白相对表达含量。分析KLF4与TLR2/MyD88/NF－κB通路关键因子的相关性。结果 与模型组比较,KFY组、FYS中、高剂量组子宫组织炎症评分显著降低($P<0.05$)。KFY组、FYS高剂量组KLF4蛋白显著升高($P<0.01$)。KFY组、FYS高剂量组TLR2蛋白和mRNA显著降低($P<0.05$)。KFY组、FYS高剂量组MyD88 mRNA显著降低($P<0.05$),KFY组、FYS高、中剂量组MyD88蛋白显著降低($P<0.05$)。KFY组、FYS中、高剂量组NF－κB蛋白表达显著降低($P<0.05$)。KLF4蛋白表达水平与TLR2蛋白、MyD88蛋白、NF－κB蛋白表达均呈显著负相关($P<0.05$)。结论 妇炎舒胶囊可通过上调KLF4表达,抑制TLR2/MyD88/NF－κB通路发挥抗炎作用。

关键词:妇炎舒胶囊;盆腔炎性疾病后遗症;Krüppel样因子4;髓样分化因子88;核转录因子－κB
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)04-0105-06

Study on Mechanism of Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊) by Regulating TLR2/MyD88/NF－κB Pathway Through KLF4

HUANG Li,JI Xiaoli,WANG Yan,YIN Xiaolan,WEI Shaobin
(Hospital of Chengdu University of Traditional Chineese Medicine,Chengdu 610075,Sichuan,China)

Abstract:*Objective* To observe the anti－inflammatory effect of Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊,FYS) on sequelae of pelvic inflammatory disease(SPID) model rats on Krüppel－like factor 4(KLF4),Toll－like receptor 2(TLR2),nuclear factor－kappa B(NF－κB) and myeloid differentiation factor 88(MyD88). *Methods* Thirty－six rats were randomly divided into blank group,model group,Kangfuyan Capsule(康妇炎胶囊) group(KFY group),FYS high－dose group,FYS medium－dose group,FYS low－dose group. The SPID animal model was established by the method of mixed bacterial liquid injection and mechanical injury. The blank group was treated with distilled water by gavage,and the other groups were given the corresponding drug suspension by gavage for 21 days. HE staining was used to observe the morphology of uterine tissue and score the pathological sections. The mRNA expressions of TLR2,MyD88 and KLF4 were determined by RT－PCR,the expression of NF－κB was observed by immunohistochemistry method,and the relative protein expressions of TLR2,MyD88 and KLF4 in uterine tissues of each group were determined by Western Blot. The correlation between KLF4 and key factors of TLR2/MyD88/NF－κB pathway was analyzed. *Result* Compared with those in the model group,the scores of uterine tissue inflammation in KFY group,FYS medium－ and high－dose groups were significantly decreased($P<0.05$). KLF4 protein in KFY group and FYS high－dose group was significantly increased($P<0.01$). The protein and mRNA of TLR2 in KFY group and FYS high－dose group were significantly decreased($P<0.05$). MyD88 protein in KFY group,FYS high－ and medium－dose groups was significantly decreased($P<0.05$),and MyD88 mRNA in KFY group and FYS high－dose group was significantly decreased($P<0.05$). The expressions of NF－κB

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82174431);四川省自然科学基金项目(青年科学基金B类2026NSFSC1869);四川省科技厅科技计划项目(2023NSFC0619)

作者简介:黄利(1991－),女,四川遂宁人,主治医师,博士,研究方向:中医药防治妇科慢性盆腔炎症、痛症的临床与基础。
通讯作者:魏绍斌(1957－),女,四川成都人,教授、主任医师,博士研究生导师,学士,研究方向:中医药防治妇科慢性盆腔炎症、痛症的临床与基础。E-mail:wsb2012gcp@163.com。

protein in KFY group, FYS medium - and high - dose groups were significantly decreased ($P<0.05$). The expression of KLF4 protein was negatively correlated with the expressions of TLR2 protein, MyD88 protein and NF - κB protein ($P<0.05$). *Conclusion* FYS can inhibit the TLR2/MyD88/NF - κB pathway by up - regulating KLF4 expression.

Keywords: Fuyanshu Capsule(妇炎舒胶囊); sequelae of pelvic inflammatory disease; KLF4; MyD88; NF - κB

盆腔炎性疾病(Pelvic inflammatory disease, PID)是指女性上生殖道及周围组织的一组常见感染性疾病,若未得到及时有效的治疗可能发展为盆腔炎性疾病后遗症,包括慢性盆腔痛、PID反复发作、不孕症和异位妊娠。PID发病率因地区社会经济情况、卫生条件不同,发病率报道在2% ~12%之间[1],据美国《2013—2016年全国健康与营养调查》和《2015—2017年全国家庭成长调查》报告,18~44岁女性自我报告的PID病史分别为4.1%(95% CI[3.2%,5.1%])和3.6%(95% CI[2.9%,4.5%]),2019年全球有105万育龄妇女患有PID(95% UI[77万,143万])[2]。但针对盆腔炎性疾病后遗症(Sequelae of pelvic inflammatory disease, SPID)的流行病学资料统计尚无确切数据。文献报道约25%的PID患者出现症状复发,40%可表现为持续慢性盆腔疼痛,20%的PID女性合并不孕症,1%的人合并异位妊娠,因此SPID严重影响生育年龄妇女的生殖健康和生活质量[3]。SPID是中医药治疗妇科疾病的优势病种之一,在中医辨证论治理论指导下,合理选择使用中成药,可明显缓解慢性盆腔疼痛,改善盆腔组织粘连,减小盆腔炎性包块,减少PID反复发作[4-5]。妇炎舒胶囊是临床治疗SPID湿热瘀结证的常用中成药之一,已上市近20年,临床应用疗效确切,但效应机制尚不明确。TLRs是一种跨膜信号转导蛋白,为机体免疫反应的关键分子之一,具有连接固有免疫和特异性免疫的重要作用。Toll样受体2(Toll - like receptor 2, TLR2)介导的是髓样分化因子88(Myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖型信号传导途径,该信号通路激活后通过促进炎性细胞因子[包括白细胞介素(Interleukin, IL) - 6、肿瘤坏死因子 - α(Tumor necrosis factor - α, TNF - α)、IL - 1β等]的产生,参与免疫和炎症反应[6]。最新研究表明Krüppel样因子4(Krüppel - like factor 4, KLF4)参与了机体炎症反应的调控,但在不同疾病中,KLF4对炎症的正向调控或负向调控作用不完全一致[7-8]。本研究以妇炎舒胶囊为研究对象,观察妇炎舒胶囊对SPID模型大鼠子宫组织炎症性病理改变的影响,探索妇炎舒胶囊抗炎作用机制。

1 材料

1.1 *动物* 36只SPF级、健康成熟8周龄未孕SD雌性大鼠,体质量(220 ± 20) g,由成都达硕生物科技有限公司提供[合格证号:SCXK(川)2015 - 030],研究符合动物管理条例,实验动物处理遵守实验动物伦理原则。

1.2 *药品与试剂* 妇炎舒胶囊(陕西东科制药有限责任公司生产,国药准字Z20025727,批号:180507);康妇炎胶囊(山东步长神州制药有限公司生产,国药准字Z20055634,批号:180408);Anti - KLF4 antibody, Rabbit monoclonal(abcam,批号:ab106629);Anti - TLR2 antibody, Mouse monoclonal(abcam,批号:ab134368);Anti - NF - κB antibody, Rabbit Polyclonal Antibody(abcam,批号:ab16502);Anti - MyD88 antibody, Rabbit monoclonal(abcam,批号:ab131071);金黄色葡萄球菌(菌种号:ATCC25923)、大肠杆菌(菌种号:ATCC 98082)。

1.3 *主要仪器* 实时荧光定量RT - PCR(Thermo Fisher Scientific公司);旋涡混合器XH - B(江苏康健医疗用品有限公司);垂直电泳槽JY - SCZ4 +(北京君意东方电泳设备有限公司);电泳仪JY200C(北京君意东方电泳设备有限公司);化学发光凝胶成像仪5200(上海天能科技有限公司);全功能酶标仪MK3(Thermo Fisher Scientific公司);数码三目摄像显微镜BA400Digital(Motic);图像分析软件Image - Pro Plus 6.0(Media Cybernetics)。

2 方法

2.1 *SPID模型建立及给药* 采用混合菌液注射配合机械损伤法建立SPID动物模型。混合菌液按大肠杆菌与金黄色葡萄球2∶1混合配制成浓度6×10^7个·mL^{-1},空白组将菌液换成无菌生理盐水,操作结束后常规饲养14 d。采用随机数字表法将36只大鼠随机分为空白组、模型组、康妇炎胶囊组(KFY组)、妇炎舒胶囊高剂量组(FYS高剂量组)、妇炎舒胶囊中剂量组(FYS中剂量组)、妇炎舒胶囊低剂量组(FYS低剂量组)。FYS高、中、低剂量组分别以2.36、4.73、9.45 g·kg^{-1}·d^{-1}药物混悬液灌胃(分别为临床剂量的3、6、12倍)。KFY组以2.83 g·kg^{-1}·d^{-1}药物混悬液灌胃(为临床剂量6倍)。空白组以等量蒸馏水灌胃。各组灌胃21 d后进行标本采集。

2.2 *取材及标本处理* 采集标本前禁食、禁水12 h,于次日早上8∶00称重,注射过量戊巴比妥钠处死后立即无菌法净台上开腹取子宫组织。一侧子宫组织于10%中性甲醛中固定,用于病理切片检测;另一侧组织装于冷冻管中,用液氮速冻,保存于-70 ℃备用。

2.3 *HE染色* 使用全自动脱水机脱水已固定的子宫组织标本,各组均于近宫颈分叉处上端截取相同长度的子宫组织,进行包埋和切片(横切)后依次进行脱蜡、HE染色、脱水、二甲苯透明、中性树胶封固等步骤。使用显微镜下观察病理切片。按照子宫组织形态学评分标准进行评分。

2.4 *Western blot检测TLR2、MyD88、KLF4蛋白的表达* 大鼠子宫标本剪碎冰上裂解,离心取上清,用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白积分光密度值(IOD)/内参积分光密度值(IOD)。

2.5 *免疫组化检测NF - κB蛋白表达* 采用Media Cybernetics公司的Image - Pro Plus 6.0图像分析系统定量分析,以每个样本3张显微图像平均光密度(Mean density, MD)的均值代表NF - κB蛋白相对表达量。

2.6 *RT - PCR检测子宫组织TLR2、MyD88、KLF4 mRNA的表达* 提取子宫组织总RNA,建立反转录体系,置于PCR仪上反应,逆转录形成cDNA。PCR结果采用Thermo Scientific PikoReal软件分析实验过程的样本的循环阈值(Threshold cycle, CT)值,并使用$2^{-\Delta\Delta}$CT计算基因的相对表达水平。见表1。

2.7 *数据处理与分析* 采用SPSS 25.0、GraphPad Prism 7.0统计软件进行统计分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示,多样本均数间比较采用单因素方差分析(one - way ANOVA),方差齐则采用

LSD 检验，方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验，检验结果以 $P<0.05$ 时认为其组间差异有统计学意义。

表 1 引物及碱基序列

引物名称	上游碱基序列	下游碱基序列
β-actin	GAAGATCAAGATCATTGCTCC	TACTCCTGCTTGCTGATCCA
KLF4	CCTTCAACCTGGCGGACATCAATGAC	CTGAGGCTGCTGTGGCGGAATGTAT
MyD88	TGTCGTCGCATGGTGGTGGTTGTT	AGTCGCTTCTGTTGGACACCTGGAGA
TLR2	ACTGGAGACTCTGGAAGCAGGTGACA	TCAACAGGAGAAGGGCACAGCAGTC

3 结果

3.1 妇炎舒胶囊对 SPID 大鼠子宫组织病理评分的影响 与空白组比较，模型组子宫炎症评分显著升高（$P<0.01$）。与模型组比较，KFY 组评分显著降低（$P<0.01$），FYS 中、高剂量组评分降低（$P<0.05$）。FYS 各剂量组与 KFY 组评分比较差异均无统计学意义（$P>0.05$）。见表 2。

表 2 各组大鼠子宫组织炎症评分（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	评分/（分）
空白组	6	0.670 ± 0.820
模型组	6	2.830 ± 1.170**
KFY 组	6	1.000 ± 0.890△△
FYS 低剂量组	6	2.000 ± 1.100
FYS 中剂量组	6	1.670 ± 0.520△
FYS 高剂量组	6	1.500 ± 1.050△

注：**与空白组比较，$P<0.01$；△与模型组比较，$P<0.05$；△△与模型组比较，$P<0.01$。

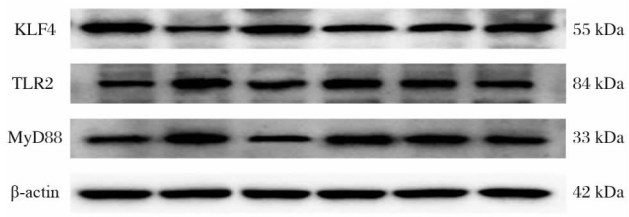
3.2 妇炎舒胶囊对 SPID 大鼠子宫组织 KLF4、TLR2、MyD88 蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组 KLF4 蛋白表达显著降低（$P<0.01$），TLR2、MyD88 蛋白表达显著升高（$P<0.01$）。与模型组比较，KFY 组、FYS 高剂量组 KLF4 表达显著升高（$P<0.01$），KFY 组、FYS 高剂量组 TLR2、MyD88 蛋白表达显著降低（$P<0.01$）。FYS 中剂量组 MyD88 表达降低（$P<0.05$）。与 KFY 组比较，FYS 中、高剂量组 KLF4、MyD88 表达差异均无统计学意义，KFY 组与 FYS 高剂量组 TLR2 表达比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。组内比较提示 FYS 低剂量组与高剂量组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3、图 1。

表 3 各组大鼠子宫 TLR2、MyD88、KLF4 蛋白相对表达量（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	KLF4	TLR2	MyD88
空白组	6	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组	6	0.522 ± 0.074**	2.079 ± 0.295**	1.953 ± 0.237**
KFY 组	6	0.890 ± 0.095△△	1.247 ± 0.132△△	1.086 ± 0.110△△
FYS 低剂量组	6	0.599 ± 0.080##&	1.863 ± 0.289#&	1.767 ± 0.212#&&
FYS 中剂量组	6	0.708 ± 0.095	1.614 ± 0.156#	1.701 ± 0.198△&&
FYS 高剂量组	6	0.836 ± 0.089△△	1.219 ± 0.197△△	1.226 ± 0.196△△

注：**与空白组比较，$P<0.01$；△与模型组比较，$P<0.05$；△△与模型组比较，$P<0.01$；#与 KFY 组比较，$P<0.05$；##与 KFY 组比较，$P<0.01$；& 与高剂量组比较，$P<0.05$；&& 与高剂量组比较，$P<0.01$。

3.3 妇炎舒胶囊对 SPID 大鼠子宫组织 KLF4、TLR2、MyD88 mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组 KLF4 mRNA 表达显著降低（$P<0.05$），TLR2、MyD88 mRNA 表达显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，KFY 组、FYS 低、中、高剂量组 KLF4 mRNA 有升高趋势差异无统计学意义（$P>0.05$），KFY 组、FYS 高剂量组 TLR2、MyD88mRNA 表达降低（$P<0.05$）。见表 4。



注：条带从左至右依次为：空白组，模型组，KFY 组，FYS 低、中、高剂量组。

图 1 各组大鼠子宫组织 TLR2、MyD88、KLF4 蛋白印迹的代表条带

表 4 各组大鼠子宫 KLF4、TLR2、MyD88 mRNA 相对表达变化（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	KLF4	TLR2	MyD88
空白组	6	1.027 ± 0.262	1.193 ± 0.721	1.018 ± 0.212
模型组	6	0.495 ± 0.173*	5.313 ± 1.507**	3.383 ± 0.941*
KFY 组	6	0.880 ± 0.212	1.728 ± 1.589△	1.273 ± 0.695△
FYS 低剂量组	6	0.580 ± 0.104	5.097 ± 4.777	3.065 ± 2.190
FYS 中剂量组	6	0.610 ± 0.079	4.092 ± 3.654	1.592 ± 0.166
FYS 高剂量组	6	0.832 ± 0.194	1.108 ± 0.709△△	1.190 ± 0.231△

注：*与空白组比较，$P<0.05$；**与空白组比较，$P<0.01$；△与模型组比较，$P<0.05$；△△与模型组比较，$P<0.01$。

3.4 妇炎舒胶囊对 SPID 大鼠子宫组织 NF-κB 蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组 NF-κB 蛋白表达升高（$P<0.05$）。与模型组比较，KFY 组、FYS 中、高剂量组显著降低（$P<0.05$）。KFY 组与 FYS 中、高剂量组比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。FYS 低、中剂量组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$），中、高剂量组比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表 5、插页Ⅵ图 2。

表 5 各组大鼠子宫 NF-κB 平均光密度变化（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	OD
空白组	6	0.194 ± 0.006
模型组	6	0.204 ± 0.008*
KFY 组	6	0.192 ± 0.008△
FYS 低剂量组	6	0.203 ± 0.010#&
FYS 中剂量组	6	0.193 ± 0.008△
FYS 高剂量组	6	0.194 ± 0.008△

注：*与空白组比较，$P<0.05$；△与模型组比较，$P<0.05$；#与 KFY 组比较，$P<0.05$；& 与中剂量组比较，$P<0.05$。

3.5 KLF4 与 TLRs/MyD88 通路关键因子表达的相关性 本研究进一步分析了 SPID 大鼠子宫 KLF4 蛋白与 TLRs/MyD88 信号通路关键因子水平变化是否有关联，统计结果显示，KLF4 蛋白表达水平与 TLR2 蛋白、NF-κB、MyD88 蛋白均呈负相关，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 6。

表 6 KLF4 蛋白信号通路关键因子相关性分析

指标	相关系数（r）	Sig.（双尾）
TLR2	-0.796	0.000**
MyD88	-0.839	0.000**
NF-κB	-0.366	0.028*

注：*$P<0.05$；**$P<0.01$。

4 讨论

盆腔炎性疾病后遗症发病率较高，病程长、反复难愈，严重影响育龄期女性生活质量，中药汤剂或中成药口服配合中医特色疗法治疗 SPID 具有明显的优势和特色[5]。SPID 基本病机

是瘀血阻滞胞宫,“湿热瘀结”证为SPID最常见的证型得到现代医家共识[9-10]。SPID患者发病多处于性活跃期,育龄期女性情绪易郁、气机壅滞,或有不洁性生活史、宫腔操作手术史,离经之血成瘀为患,“血不利则为水”血瘀则气滞水停、津聚湿阻,湿瘀二邪互为因果,水湿内聚又可困阻气机,郁而化热,湿、热、瘀三者交结难解,反复进退致病情缠绵。湿热与瘀血相搏结,脉络阻滞,不通则痛;湿邪下注冲任,损伤任带,任脉不固,带脉失约,表现为带下过多;湿、热、瘀阻滞经络,发为输卵管积水、炎性包块等,两精不能相合而不孕。瘀血阻滞,血不归经,或湿热郁久化热,热扰冲任,则出现月经过多、经期延长、淋漓不净等证候。在SPID病程中,湿、热、瘀互为因果,导致SPID临床表现的多样性与病情的反复性。针对SPID“湿热瘀结”的病机证候特点,清热除湿、活血化瘀是基本治法,只有通过清湿化瘀才能解除湿热瘀结胶着的病理特点,阻断因果交织的恶性循环。

妇炎舒胶囊主要由忍冬藤、大血藤、大青叶、蒲公英、赤芍、丹参、虎杖、酒大黄、炒川楝子、醋延胡索、甘草组成。忍冬藤,甘寒,清热、解毒、通络。忍冬藤主要成分有机酸类、挥发油类、黄酮类、三萜类,具有广谱抗菌、抗病毒、抗炎、免疫调节、抗氧化等药理作用[11]。大血藤,苦平,清热解毒、活血止痛,归肝、大肠经,大血藤苦降开泄,长于消散胞宫瘀滞。《草木便方》记载大血藤:“入血分,破瘀生新”。两药合用以祛除壅滞于胞宫的瘀热,共奏清热解毒,化瘀止痛之功,作为方中的君药。大血藤主要化学成分绿原酸对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、鲍曼不动杆菌均有抑制作用[12-14]。大血藤中的酚类成分、忍冬藤中的绿原酸成分可抑制p38 MAPK信号通路,降低组织IL-6、IL-1β、TNF-α水平发挥抗炎作用[15-16]。蒲公英苦寒,既能清解火热毒邪,又能泄降滞气,是清热解毒、消痈散结之佳品。赤芍,苦寒入肝经血分,有活血散瘀止痛之功,擅治肝郁血滞之腹痛、胁痛。《本草求真》云:“凡腹痛坚积,血瘕疝痹,经闭目赤,因于积热而成者,用此则能凉血逐瘀”。丹参性微寒而缓,功善活血祛瘀止痛,能通行血脉,祛瘀生新而不伤正,广泛应用于各种瘀血病证。虎杖微苦,微寒,归肝、胆、肺经,具清热解毒,散瘀止痛的功效。川楝子苦、寒,入肝经,清肝火,泄郁热,行气止痛,另有导湿热下行之功。延胡索辛、苦、温,具有活血行气止痛之功。以上六味药同为方中的臣药。配以大青叶清热解毒为方中佐助药。大黄苦,寒,归脾、胃、大肠、肝、心包经,《神农本草经》谓大黄“下瘀血,血闭,寒热,破癥瘕积聚”,大黄可下瘀血,清瘀热,可引诸药直达下;甘草清热解毒,护胃安中,调和诸药,共为方中使药。诸药合用,共奏清热解毒除湿、活血化瘀止痛之功。

KLF4最初从胃肠道中分离出来,它在调控细胞增殖、生长、分化、凋亡等生命活动发挥重要作用。KLF4可调控巨噬细胞极化过程,它通过抑制巨噬细胞M1型极化,促进M2型极化,进而影响了炎症性疾病的进展[17-21]。ZAHLTEN J等[22]研究表明细菌感染过程以细菌DNA-TLR9-Src依赖的方式诱导了KLF4表达上调,KLF4过表达抑制IL-8介导的炎症反应。KLF4参与NF-κB介导的炎症反应[23],在硫酸右旋糖酐钠(Dextran sulfate sodium salt,DSS)诱导的结肠炎症、脊柱结核、肺炎球菌肺炎可抑制炎症反应[24-27],但KLF4是否为中医药干预SPID的作用靶点目前尚未见文献报道。根据本实验检测的KLF4的结果,康妇炎胶囊组、妇炎舒各剂量组KLF4 mRNA表达均有升高趋势,康妇炎胶囊组、妇炎舒高剂量组KLF4蛋白显著升高,妇炎舒低剂量组、妇炎舒中剂量组KLF4蛋白有升高趋势,推测妇炎舒胶囊可能通过上调KLF4的表达发挥抗炎作用。

TLRs/MyD88信号通路是机体防御疾病的重要通路之一,此信号通路的激活可促进多种炎症因子和细胞因子释放,形成级联反应导致炎症进一步放大[28-30]。本实验结果显示,妇炎舒胶囊干预后,高剂量组TLR2 mRNA及蛋白表达明显降低,低、中剂量组有降低趋势,提示妇炎舒胶囊可通过下调TLR2表达水平发挥抗炎作用。妇炎舒胶囊各组间比较的结果显示,妇炎舒低剂量组与妇炎舒高剂量组有显著差异,妇炎舒中高剂量组比较差异无统计学意义,提示妇炎舒胶囊中、高剂量调控作用>低剂量。

MyD88作为TLRs通路的一种重要接头蛋白,参与了除TLR3外所有TLRs介导的信号转导[30-31]。魏绍斌团队的临床研究结果显示[32-33],SPID患者血清MyD88水平较健康组显著升高,本研究亦显示模型组MyD88水平显著升高,与其结果相符。各治疗组MyD88表达的结果显示,康妇炎胶囊组、妇炎舒高剂量组MyD88 mRNA表达降低,妇炎舒低、中剂量组MyD88 mRNA有降低趋势;康妇炎胶囊组、妇炎舒中、高剂量组MyD88蛋白表达显著降低,妇炎舒低剂量组MyD88蛋白有降低趋势,提示妇炎舒胶囊各剂量组均可调控MyD88的表达。组内比较提示妇炎舒低剂量与妇炎舒中高剂量组比较均有显著差异,推测妇炎舒中、高剂量对MyD88的调控作用强度>低剂量。

炎症介质一方面激活TLRs/MyD88/NF-κB信号通路,诱导巨噬细胞产生TNF-α、IL-2、IL-6、IL-12炎性细胞因子[34],另一方面通过正反馈机制进一步促进NF-κB表达,诱导释放其他促炎细胞因子,形成级联反应,进一步放大炎症信号[35]。本实验检测的NF-κB的结果显示,康妇炎胶囊组、妇炎舒中、高剂量组NF-κB蛋白表达降低,妇炎舒低剂量组有降低趋势,提示妇炎舒胶囊可通过下调NF-κB表达水平发挥抗炎作用。妇炎舒不同剂量组间比较提示,妇炎舒低剂量组与妇炎舒中剂量比较有显著差异,妇炎舒中高剂量对于NF-κB作用强度大于低剂量。

综上,妇炎舒胶囊抗炎作用机制可能与上调KLF4表达,下调TLR2/MyD88/NF-κB信号通路表达有关。

参考文献

[1] BRUNHAM R C, GOTTLIEB S L, PAAVONEN J. Pelvic inflammatory disease[J]. N Engl J Med, 2015, 372(21): 2039-2048.

[2] HE D, WANG T, REN W. Global burden of pelvic inflammatory disease and ectopic pregnancy from 1990 to 2019[J]. BMC Public Health, 2023, 23(1): 1894.

[3] TRENT M, BASS D, NESS R B, et al. Recurrent PID, subsequent STI, and reproductive health outcomes: findings from the PID evaluation and clinical health (PEACH) study[J]. Sex Transm Dis, 2011, 38(9): 879-881.

[4] 魏绍斌. 中医药防治盆腔炎性疾病及其后遗症的思路、方法及长期管理策略[J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(9):

1204 - 1212.
[5] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗盆腔炎性疾病后遗症临床应用指南(2020年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(3): 286 - 299.
[6] 罗兵, 李涛, 徐元宏. Toll样受体的信号转导及抗感染免疫研究进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(2): 165 - 169.
[7] ZHAO K Y, LIU J H, SUN T, et al. The miR - 25802/KLF4/NF - κB signaling axis regulates microglia - mediated neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. Brain Behav Immun, 2024, 118: 31 - 48.
[8] CAO Y W, XIONG J L, GUAN X P, et al. Paeoniflorin suppresses kidney inflammation by regulating macrophage polarization *via* KLF4 - mediated mitophagy [J]. Phytomedicine, 2023, 116: 154901.
[9] 李伟莉, 詹丽. 慢性盆腔炎中医证型分布规律研究[J]. 中医药临床杂志, 2010, 22(6): 482 - 484.
[10] 郭婧, 滕秀香, 胡晶, 等. 924例慢性盆腔炎患者中医证型分布与影响因素分析[J]. 北京中医药, 2019, 38(7): 707 - 710.
[11] 郝梦超, 姚甜, 刘二奴, 等. 忍冬中的活性成分及其药理活性研究现状[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2): 195 - 213.
[12] 赵媛媛, 杨倩茹, 郝江波, 等. 金银花与忍冬藤及叶药理作用差异的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13): 2422 - 2427.
[13] 张怡敏. 十种常用中药单味、复方制剂对多重耐药鲍曼不动杆菌[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2016.
[14] 王宇歆, 李惠芬, 周静, 等. 大血藤、牡丹皮、赤芍有效组分间对肠道致病菌体外抑菌的协同作用[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2008, 14(4): 410 - 413.
[15] 赵光瑞, 石芸, 高珣, 等. 藤本类中药"通络"传统认识与共性机制研究现状[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2517 - 2525.
[16] LOU L X, ZHOU J W, LIU Y J, et al. Chlorogenic acid induces apoptosis to inhibit inflammatory proliferation of IL - 6 - induced fibroblast - like synoviocytes through modulating the activation of JAK/STAT and NF - κB signaling pathways[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(5): 2054 - 2060.
[17] CHENG P, XIE X D, HU L C, et al. Hypoxia endothelial cells - derived exosomes facilitate diabetic wound healing through improving endothelial cell function and promoting M2 macrophages polarization [J]. Bioact Mater, 2023, 33: 157 - 173.
[18] KANNO T, KATANO T, SHIMURA T, et al. Krüppel - like factor - 4 - mediated macrophage polarization and phenotypic transitions drive intestinal fibrosis in THP - 1 monocyte models *in vitro* [J]. Medicina (Kaunas), 2024, 60(5): 713.
[19] WANG K Z, XIONG J, LU Y W, et al. SENP1 - KLF4 signalling regulates LPS - induced macrophage M1 polarization[J]. FEBS J, 2023, 290(1): 209 - 224.
[20] LIAO X D, SHARMA N, KAPADIA F, et al. Krüppel - like factor 4 regulates macrophage polarization[J]. J Clin Invest, 2011, 121(7): 2736 - 2749.
[21] SZANTO A, BALINT B L, NAGY Z S, et al. *STAT*6 transcription factor is a facilitator of the nuclear receptor PPARγ - regulated gene expression in macrophages and dendritic cells [J]. Immunity, 2010, 33(5): 699 - 712.
[22] ZAHLTEN J, HERTA T, KABUS C, et al. Role of pneumococcal autolysin for KLF4 expression and chemokine secretion in lung epithelium[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 53(4): 544 - 554.
[23] TETREAULT M P, WANG M L, YANG Y Z, et al. Klf4 overexpression activates epithelial cytokines and inflammation - mediated esophageal squamous cell cancer in mice [J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 2124 - 2134.
[24] GHALEB A M, LAROUI H, MERLIN D, et al. Genetic deletion of Klf4 in the mouse intestinal epithelium ameliorates dextran sodium sulfate - induced colitis by modulating the NF - κB pathway inflammatory response [J]. Inflamm Bowel Dis, 2014, 20(5): 811 - 820.
[25] CHEN W B, ZHUO M H, LU X Q, et al. SRC - 3 protects intestine from DSS - induced colitis by inhibiting inflammation and promoting goblet cell differentiation through enhancement of KLF4 expression[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(14): 2051 - 2064.
[26] 王骞, 牛宁奎, 王自立, 等. KLF4调控的TLR - 2/p38MAPK/NF - κB信号通路在脊柱结核发病机制中的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24(7): 636 - 642.
[27] ZAHLTEN J, STEINICKE R, BERTRAMS W, et al. TLR9 - and Src - dependent expression of Krueppel - like factor 4 controls interleukin - 10 expression in pneumonia[J]. Eur Respir J, 2013, 41(2): 384 - 391.
[28] EISENBARTH S C, FLAVELL R A. Innate instruction of adaptive immunity revisited: the inflammasome[J]. EMBO Mol Med, 2009, 1(2): 92 - 98.
[29] WU T T, CHEN T L, CHEN R M. Lipopolysaccharide triggers macrophage activation of inflammatory cytokine expression, chemotaxis, phagocytosis, and oxidative ability *via* a toll - like receptor 4 - dependent pathway: validated by RNA interference[J]. Toxicol Lett, 2009, 191(2 - 3): 195 - 202.
[30] SIQUEIRA I M, DE CASTRO R J A, LEONHARDT L C M, et al. Modulation of the immune response by *Fonsecaea pedrosoi* morphotypes in the course of experimental chromoblastomycosis and their role on inflammatory response chronicity[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(3): e0005461.
[31] GHASEMI N, AMJADI F, SALEHI E, et al. Expression of Toll - like receptors 7 - 10 in human fallopian tubes[J]. Iran J Reprod Med, 2014, 12(6): 389 - 394.
[32] 唐英. 从MyD88正向调控TNF - α、IL - 6探讨益气清湿化瘀法治疗PID反复发作的疗效及机制 [D]. 成都:成都中医药大学,2017.
[33] 尹小兰, 罗梅, 周丽, 等. 基于TLRs/MyD88通路探讨益气清湿化瘀法治疗气虚血瘀夹湿证盆腔炎性疾病反复发作疗效及机制[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3846 - 3850.
[34] LENG C H, CHEN H W, CHANG L S, et al. A recombinant lipoprotein containing an unsaturated fatty acid activates NF - kappaB through the *TLR*2 signaling pathway and induces a differential gene profile from a synthetic lipopeptide[J]. Mol Immunol, 2010, 47(11 - 12): 2015 - 2021.
[35] LI X, HUANG Q, ONG C N, et al. Chrysin sensitizes tumor necrosis factor - α - induced apoptosis in human tumor cells *via* suppression of nuclear factor - kappaB[J]. Cancer Lett, 2010, 293(1): 109 - 116.

从 KLF4 调控 TLR2/MyD88/NF－κB 通路探讨妇炎舒胶囊对 SPID 大鼠抗炎作用机制

（正文见 105－109 页）

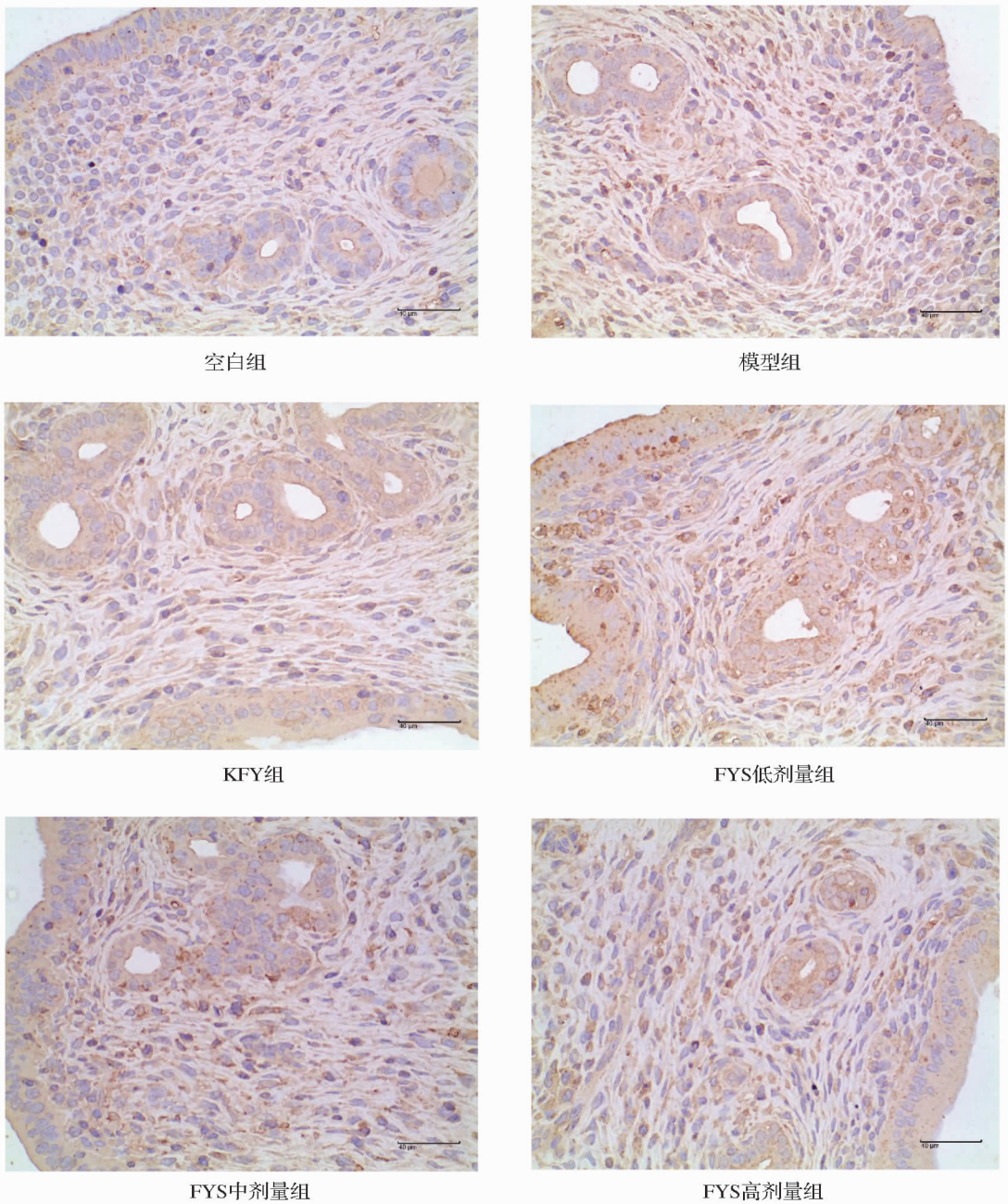


图 2　各组大鼠子宫组织 NF－κB 表达（免疫组化，×400）