

基于 NF- κ B/COX-2 通路探讨祛瘀温经汤治疗寒凝血瘀型原发性痛经的作用机制

李新梅,王 蓉,水蓉枝,张 怡,王新斌*

(甘肃中医药大学中西医结合学院,甘肃 兰州 730000)

【摘要】目的 基于核转录因子- κ B(NF- κ B)/环氧合酶-2(COX-2)通路探讨祛瘀温经汤对寒凝血瘀型原发性痛经大鼠干预作用及机制。**方法** 将 60 只雌性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、祛瘀温经汤低、中、高剂量组、少腹逐瘀颗粒组,药物干预后观察大鼠扭体反应、扭体反应潜伏期;检测血液流变学;苏木素-伊红(HE)染色观察子宫组织病理形态;酶联免疫吸附测定法(ELISA)法检测相关细胞因子水平;蛋白免疫印迹(Western Blot)法检测 NF- κ B、COX-2 表达;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测 NF- κ B、COX-2 mRNA 表达。**结果** 与空白组相比,模型组大鼠出现扭体反应,子宫组织大量炎症细胞浸润,IL-6、TNF- α 、PGE₂ 含量升高,PGE₂ 含量降低,NF- κ B、COX-2 表达及 mRNA 水平升高($P<0.05$);与模型组相比,治疗组大鼠扭体潜伏时间延长,扭体反应次数减少,子宫组织炎症浸润状态改善,IL-6、TNF- α 、PGE₂ 含量降低,PGE₂ 含量升高,NF- κ B、COX-2 表达及 mRNA 水平降低($P<0.05$)。**结论** 祛瘀温经汤可能通过调节 NF- κ B/COX-2 通路,抑制炎症相关蛋白表达,修复子宫病理损伤,有效缓解寒凝血瘀型原发性痛经大鼠疼痛症状。

【关键词】原发性痛经;祛瘀温经汤;核转录因子- κ B;环氧合酶-2

DOI:10.70976/j.1008-0805.SZGYGY-2025-0506

CSTR:32392.14.j.1008-0805.SZGYGY-2025-0506

【中图分类号】R271.11¹3;R285.5 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1008-0805(2025)05-0838-07

原发性痛经(primary dysmenorrhea,PD)是指伴随月经发生的周期性痉挛性下腹疼痛而无生殖器官器质性病变的疾病,通常在经行前后或经期发生小腹痉挛性疼痛,可伴有头痛嗜睡、乏力、乳房胀痛、小腹下坠、腰酸背痛等全身症状,以及食欲不振、恶心、呕吐和腹胀、腹泻等胃肠道症状^[1],严重者可出现昏厥甚至休克,疼痛一般持续 8~72h,在月经的第 1、2 天最为严重^[2]。PD 好发于月经初潮后 6 至 24 个月内,常见于青春期少女或尚未生育的年轻妇女^[3]。在世界范围内,PD 的发病率为 45%~95%,其中 2%~29% 的患者经历严重疼痛^[4]。目前子宫组织中前列腺素(prostaglandin,PG)分泌异常被认为是 PD 的主要触发因素,但其发病机制尚不明确^[5]。原发性痛经的治疗包括生活方式管理和药物治疗如非甾体类抗炎药、避孕药、 β 受体激动剂等,药物主要以止痛解痉对症治疗为目的,其优点是止痛快,但远期疗效差,仅治标不治本,易复发,且需反复服药,药物对机体亦有不良影响。

中医治疗痛经历史悠久且疗效突出,且疗效被越来越多的人认可。中医学认为 PD 病位在胞宫、冲任,在经络方面与冲、任二脉联系紧密,在脏腑方面又与肝、肾、脾三脏有密切的关系;其病机可分为“不通则

痛”和“不荣则痛”,即因气滞、寒凝等致使冲任气血不畅或因肝肾亏虚、气血虚弱等致使冲任胞宫失于濡养。研究发现,PD 实证居多且寒凝血瘀证者多见;祛瘀温经汤是根据《医林改错》所载的“少腹逐瘀汤”基础上加减所得,由当归、小茴香、乌药、肉桂、橘核、荔枝核、细辛、没药、白芍、白术、莪术、延胡索组成,全方共奏温经散寒、化瘀止痛之功,在临床上用以治疗寒凝血瘀型原发性痛经,疗效显著^[6]。陈丽珍等^[7]研究显示服用常规西药基础上联合少腹逐瘀汤,疼痛症状有效改善,治疗有效率明显提升。以上研究为祛瘀温经汤治疗原发性痛经提供了理论基础,然而其具体机制仍尚不明确。

越来越多的研究表明 NF- κ B/COX-2/PG 通路在 PD 中起致病作用,提示 NF- κ B/COX-2/PG 通路的治疗干预可对 PD 发挥保护作用^[8,9]。NF- κ B 是一种真核生物转录因子,在炎症反应、免疫应答等调节中起主导作用,是炎症反应关键的调控因子。COX-2 是环氧酶的一种亚型,正常组织细胞中几乎不表达,但在刺激因素作用下可大量合成而高表达与炎症及肿瘤的发生、发展和转移密切相关。同时,COX-2 为 PG 合成过程中的关键限速酶。已有研究揭示,正常情况

收稿日期:2024-08-02; 修订日期:2025-02-06

基金项目:2023 年甘肃省自然科学基金(23JRR1206);甘肃省高校教师创新基金项目(2023B-109)

作者简介:李新梅(1998-),女(汉族),甘肃民勤人,甘肃中医药大学在读硕士研究生,学士学位,主要从事中西医结合防治妇科疾病研究工作。

*通讯作者简介:王新斌(1970-),男(汉族),甘肃民勤人,甘肃中医药大学教授,博士学位,主要从事中西医结合防治妇科疾病研究工作。

下,组织中 COX-2 的含量较低,在月经期前 COX-2 的表达明显增加并同时催化花生四烯酸合成 PG,继而产生痉挛性疼痛,布洛芬等非甾类抗炎药可以抑制 COX-2 的活化,降低 PG 的水平,在 PD 中发挥有效的干预作用^[10]。研究发现有两个 NF- κ B 的位点序列存在于 COX-2 基因上,当这个位点序列被活化并发生突变可封闭其他基因位点对 COX-2 相关报告基因的诱导激活,由此可以提示 COX-2 的转录激活与 NF- κ B 基因位点密切相关,COX-2 的表达必须经由 NF- κ B 基因位点转录,COX-2 的转录激活受 NF- κ B 调控。因此,有研究表明^[11],在 PD 中存在 NF- κ B 的活化,并且 NF- κ B 过表达可激活下游靶基因 COX-2 表达上调。以上研究为祛瘀温经汤治疗原发性痛经的药效学机制研究提供了潜在线索,故本研究基于 NF- κ B/COX-2 信号通路,建立寒凝血瘀型原发性痛经大鼠模型,探讨祛瘀温经汤治疗寒凝血瘀型原发性痛经的作用机制,以期为临床治疗原发性痛经提供一定的依据。

1 材料与仪器

1.1 动物

选取 SPF 级雌性未孕 SD 大鼠 60 只(采购自甘肃中医药大学科研中心),体质量 180~220 g,实验动物生产合格证号:No. 62001000000673,使用许可证号:SYXK(甘)2020-0009。实验前于甘肃中医药大学 SPF 级动物实验中心适应性饲养 7d,温度 18~26℃,相对湿度 38%~46%,期间自由进食取水,定期更换垫料,观察大鼠无异常方可纳入实验。本实验经甘肃中医药大学动物实验伦理委员会批准(编号:2022-708)。

1.2 药物与试剂

祛瘀温经汤(当归 10g,肉桂 5g,橘核 10g,荔枝核 10g,藁本 10g,细辛 5g,延胡索 10g,没药 10g,小茴香 10g,乌药 10g,白芍 30g,白术 10g,均由甘肃中医药大学附属医院中药房提供)。少腹逐瘀颗粒(吉林敖东延边药业股份有限公司,批号:2102102),苯甲酸雌二醇注射液(杭州动物药品厂,批号:110202511),缩宫素注射液(杭州动物药品厂,批号:110202778),盐酸肾上腺素注射液(吉林省华牧动物保健品有限公司,批号:070011220),4%多聚甲醛(北京索莱宝公司,货号:20220524),HE 染色试剂盒(碧云天生物技术公司,货号:C0105),NF- κ B 抗体(ImmunoWay,货号:YM3111),COX-2 抗体(GeneteX,货号:GTK100656),IL-6 试剂盒、TNF- α 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号:JC33698、JC5698),PGF2 α 试剂盒、PGE₂ 试剂盒(睿信生物科技有限公司,批号:202209)。

1.3 实验仪器

Western blot 转膜仪、Western blot 电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司,批号:JY-ZY5、JY-SCZ2⁺),脱水机、包埋机、切片机(德国 LEICA 公司,批号:ASP300S、Arcadia H、RM2245),X 射线摄影暗匣(汕头永泰医疗器械有限公司,批号:11-14),实时定量 PCR 仪(西安天隆,批号:Gentier 96R),凝胶成像系统(北京六一仪器厂,批号:WD-9423B/C),高速低温台式离心机(德国 Eppendorf,批号:TGL-16)。

2 方法

2.1 分组与造模

适应性饲养 1 周后,采用随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、祛瘀温经汤低、中、高剂量组、少腹逐瘀颗粒组,每组 10 只,共 6 组。除空白组外,其余各组参照苯甲酸雌二醇+冰水浴+缩宫素法^[12-14]复制寒凝血瘀型原发性痛经大鼠模型:各干预组连续 14d 皮下注射苯甲酸雌二醇,第 1、14 日注射 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,第 2~13 日注射 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹,每日大鼠冰水浴 20min;第 13 日间隔 2h 皮下注射盐酸肾上腺素 2 次,剂量为 8 μ g·kg⁻¹·d⁻¹,第 2 次注射盐酸肾上腺素后将大鼠置于冰水浴中 5 min。末次注射苯甲酸雌二醇 40min 时注射缩宫素 20U·kg⁻¹·d⁻¹。空白组大鼠注射 0.9%氯化钠注射液 10ml·kg⁻¹·d⁻¹。以大鼠子宫收缩出现扭体反应为造模成功标准^[15]。

2.2 给药

参照《药理实验方法学》^[16],按人与大鼠体表面积折算等效剂量换算,大鼠的等效剂量相当于人的 6.3 倍,即:大鼠每日给药剂量(g·kg⁻¹·d⁻¹)=正常成人日服用量(g·kg⁻¹·d⁻¹)/60×6.3。造模第 3 日按照实验分组每日固定时间灌胃给药,少腹逐瘀颗粒组剂量为 1.58g·kg⁻¹·d⁻¹,祛瘀温经汤低、中、高剂量组剂量分别为 13.7、27.4、54.8g·kg⁻¹·d⁻¹,以 10ml·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,空白组和模型组给予等体积 0.9%生理盐水灌胃,连续 11d。

2.3 标本采集与指标检测

各干预组大鼠于末次给药 40min 时腹腔注射缩宫素 20U·kg⁻¹观察扭体反应;观察结束后麻醉大鼠,麻醉后心脏采血,用于分析检测血浆黏度及不同切变下全血黏度,并分离血清,用于 ELISA 测定。取子宫组织标本,部分常规固定、包埋、切片,HE 染色进行组织学观察;剩余子宫组织置于-80℃冰箱保存,用于 Western blot 法检测蛋白表达及 qRT-PCR 法检测蛋白 RNA 定量表达。

2.3.1 扭体反应测试

观察记录各组别大鼠注射缩宫素后扭体潜伏期(即第 1 次出现扭体反应时间)及 30min 内扭体反应次数。

2.3.2 血液流变学

扭体反应测试结束后心脏采血 5ml 储存于一次性 EDTA 抗凝管中,用血液黏度仪分析检测血浆黏度及低、中、高切变下的全血黏度。

2.3.3 HE 染色观察子宫组织病理形态学

子宫组织标本采用 4% 多聚甲醛固定 24h、石蜡包埋切片后进行 HE 染色观察子宫组织病理形态学。

2.3.4 ELISA 法检测心脏血清中 IL-6、TNF- α 、PGF2 α 、PGE $_2$ 含量

室温血液自然凝固 30min,离心 15min 后取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、TNF- α 、PGF2 α 、PGE $_2$ 含量。

2.3.5 Western blot 法检测子宫组织 NF- κ B、COX-2 蛋白含量

取 100mg 左右冷冻的组织样本提取蛋白样品,BCA 法测定蛋白浓度后进行蛋白变性、配胶、加样、电泳、切胶、转膜、封闭孵育抗体,ECL 法显影,用 X 射线摄影暗匣曝光并扫描条带,用 Image-J 图像分析软件测量分析条带的灰度值,并计算对应蛋白的相对表达量。

2.3.6 qRT-PCR 法检测 NF- κ B、COX-2 mRNA 表达水平

取 100mg 左右组织样本提取 RNA 后进行 RNA 纯度检测及定量,RNA 去 DNA 处理并合成 cDNA,将得到的 cDNA 产物加入到下一步的 Real-Time PCR 反应体系中,采用两步法于 PCR 仪进行扩增。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物	序列(5'-3')	长度/bp
NF- κ B	上游 TGAAGCTCTGCCAGACCGAT	108
	下游 TTGTTGGTCTGGATGCGCTG	
COX-2	上游 GTCAGATTGCTGGCGTAGCA	96
	下游 TTGCTGGCTACCACTCAGAC	
GAPDH	上游 TGATGGGTGTGAACCAAGAG	152
	下游 AGTGATGGCATGGACTGTGG	

2.4 统计学分析

各项数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,建立数据库,采用 SPSS

Statistics 26.0 软件进行分析。当数据满足正态分布和方差齐性时,组间比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析,继以 LSD 检验;反之采用非参数检验。结果以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 表示差异具有显著统计学意义。

3 结果

3.1 祛瘀温经汤对大鼠扭体反应的影响

除空白组外,其余各组大鼠均出现扭体反应。与模型组相对比,各治疗组大鼠扭体潜伏时间明显延长,30min 内扭体反应次数显著减少($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 祛瘀温经汤对大鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	扭体次数	潜伏时间 /min
空白组	-	-	-
模型组	-	18.70 ± 2.41 [*]	6.63 ± 1.20 [*]
祛瘀温经汤低剂量组	13.7	14.30 ± 1.57 [#]	10.69 ± 0.92 [#]
祛瘀温经汤中剂量组	27.4	10.70 ± 1.49 [#]	14.62 ± 1.24 [#]
祛瘀温经汤高剂量组	54.8	7.60 ± 1.65 [#]	17.58 ± 0.85 [#]
少腹逐瘀颗粒组	1.58	12.00 ± 1.49 [#]	13.56 ± 1.67 [#]

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$

3.2 祛瘀温经汤对大鼠血液流变学的影响

与空白组大鼠相比,模型组大鼠血浆黏度和低、中、高切变全血黏度显著增高($P < 0.01$);与模型组大鼠相比,各治疗组大鼠血浆黏度均减低($P < 0.01$),祛瘀温经汤中、高剂量组及少腹逐瘀颗粒组能降低不同切变下全血黏度($P < 0.01$);模型组大鼠血浆黏度及不同切变下全血黏度显著增高,提示模型组大鼠血液呈瘀血状态,证实寒凝血瘀证 PD 大鼠模型复制成功,且少腹逐瘀颗粒组和祛瘀温经汤各组均可改善寒凝血瘀型 PD 大鼠血瘀状态。见表 3。

3.3 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织病理学变化的影响

与空白组相比,模型组大鼠子宫内膜水肿,可见大量上皮细胞空泡样变性、坏死,小动脉充血,子宫组织炎性细胞浸润;与模型组相比,各治疗组大鼠子宫内膜轻度水肿水肿、上皮细胞部分空泡变性,部分可见充血及少量炎性细胞浸润,均较模型组明显改善。见图 1。

表 3 祛瘀温经汤对大鼠血液流变学的影响($\bar{x} \pm s$)

mPa · s

组别	血浆黏度	全血黏度		
		低切(1 · s ⁻¹)	中切(5 · s ⁻¹)	高切(200 · s ⁻¹)
空白组	1.29 ± 0.05	19.59 ± 2.60	5.87 ± 0.81	4.06 ± 0.29
模型组	1.74 ± 0.09 [*]	29.52 ± 1.89 [*]	8.02 ± 1.00 [*]	6.02 ± 0.87 [*]
祛瘀温经汤低剂量组	1.63 ± 0.03 [#]	27.12 ± 1.79	7.01 ± 0.77	5.21 ± 0.77
祛瘀温经汤中剂量组	1.50 ± 0.09 [#]	25.70 ± 3.24 [#]	6.38 ± 0.97 [#]	4.69 ± 0.80 [#]
祛瘀温经汤高剂量组	1.37 ± 0.07 [#]	20.04 ± 2.19 [#]	5.70 ± 0.88 [#]	4.09 ± 0.75 [#]
少腹逐瘀颗粒组	1.48 ± 0.07 [#]	24.86 ± 2.29 [#]	6.21 ± 0.63 [#]	4.45 ± 0.94 [#]

与空白组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

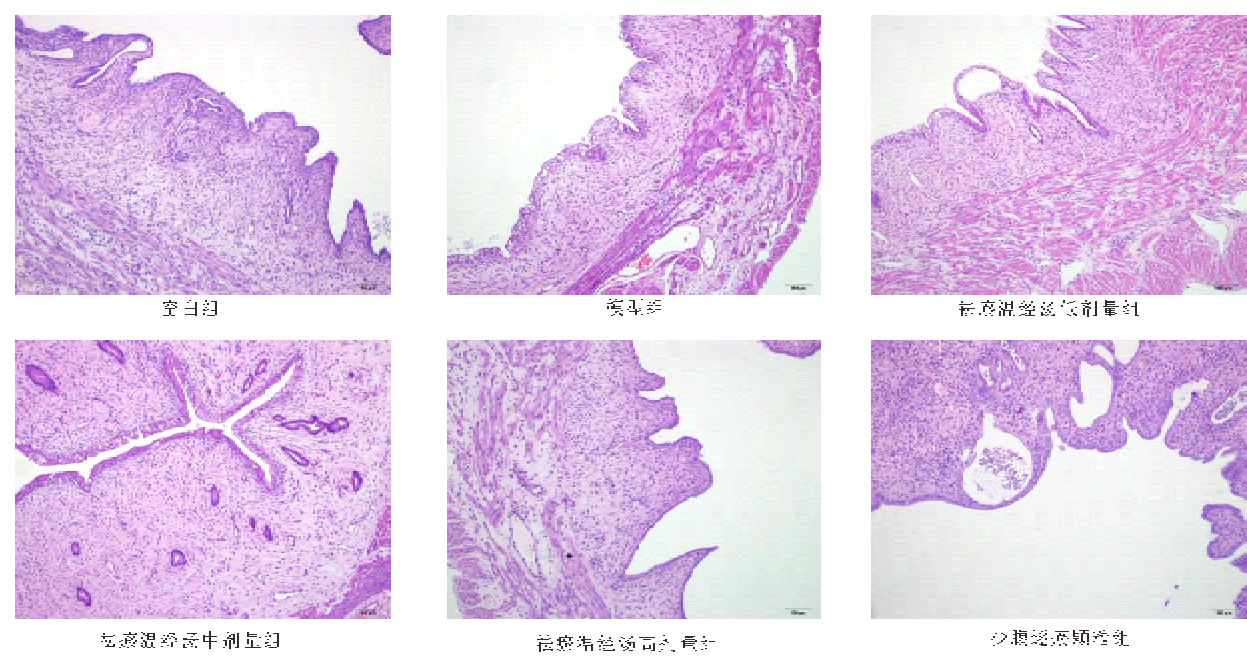


图 1 各组大鼠子宫组织病理形态学变化(HE 染色,10×10,100μm)

3.4 祛瘀温经汤对大鼠血清中 IL-6、TNF-α、PGF2α、PGE₂ 含量的影响

与空白组大鼠相比,模型组大鼠子宫组织 IL-6、TNF-α、PGF2α 含量显著增高,PGE₂ 含量显著降低($P<0.01$);与模型组大鼠相比,各治疗组大鼠 IL-6、

TNF-α 含量均降低($P<0.05$, $P<0.01$),祛瘀温经汤中、高剂量组及少腹逐瘀颗粒组能显著降低 PGF2α 含量($P<0.01$),各治疗组大鼠 PGE₂ 含量均显著升高($P<0.01$)。见表 4。

表 4 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织中 IL-6、TNF-α、PGF2α、PGE₂ 含量的影响($\bar{x}\pm s$) pg·ml⁻¹

组别	IL-6	TNF-α	PGF2α	PGE ₂
空白组	181.58±15.00	181.67±46.33	64.10±16.40	555.28±17.34
模型组	439.50±45.60 [*]	563.33±35.07 [*]	119.23±16.03 [*]	319.17±8.33 [*]
祛瘀温经汤低剂量组	404.92±26.59 [#]	490.00±50.37 [△]	108.97±11.08	377.50±8.33 [△]
祛瘀温经汤中剂量组	300.75±16.61 [△]	318.33±24.64 [△]	90.38±10.51 [△]	408.06±17.35 [△]
祛瘀温经汤高剂量组	238.25±27.00 [△]	211.67±38.82 [△]	71.15±18.79 [△]	544.17±8.33 [△]
少腹逐瘀颗粒组	247.00±30.32 [△]	221.67±15.42 [△]	80.77±10.99 [△]	421.94±20.97 [△]

与空白组比较,^{*} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[△] $P<0.01$

3.5 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织 NF-κB、COX-2 蛋白表达水平的影响

与空白组大鼠比较,模型组与各治疗组大鼠子宫组织中 NF-κB 表达水平均显著升高($P<0.01$);与模型组大鼠比较,祛瘀温经汤高剂量组及少腹逐瘀颗粒组大鼠子宫组织中 NF-κB 表达水平均显著降低($P<0.01$),余治疗组未见明显差异($P>0.05$);与空白组大鼠比较,模型组与各治疗组大鼠子宫组织中 COX-2 表达水平均显著升高($P<0.01$);与模型组大鼠比较,祛瘀温经汤中、高剂量组及少腹逐瘀颗粒组大鼠子宫组织中 COX2 表达水平均显著降低($P<0.01$),祛瘀温经汤低剂量组未见明显差异($P>0.05$)。见表 5。

表 5 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织中 NF-κB、COX-2 表达的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NF-κB	COX-2
空白组	-	0.22±0.03	0.12±0.02
模型组	-	0.82±0.06 [*]	0.31±0.03 [*]
祛瘀温经汤低剂量组	13.7	0.74±0.06	0.30±0.02
祛瘀温经汤中剂量组	27.4	0.71±0.04	0.23±0.04 [*]
祛瘀温经汤高剂量组	54.8	0.46±0.02 [#]	0.24±0.02 [*]
少腹逐瘀颗粒组	1.58	0.56±0.22 [#]	0.24±0.07 [*]

与空白组比较,^{*} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$

3.6 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织 NF-κB、COX-2 mRNA 表达水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠 NF-κB mRNA 转录

水平均升高($P < 0.05$);与模型组比较,祛瘀温经汤低剂量组未见明显差异($P > 0.05$),余各治疗组大鼠 NF- κ B mRNA 转录水平均显著降低($P < 0.01$);与空白组比较,模型组及各治疗组大鼠 COX-2 mRNA 转录水平均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠 COX-2 mRNA 转录水平均显著降低($P < 0.01$)。见图 2,表 6。

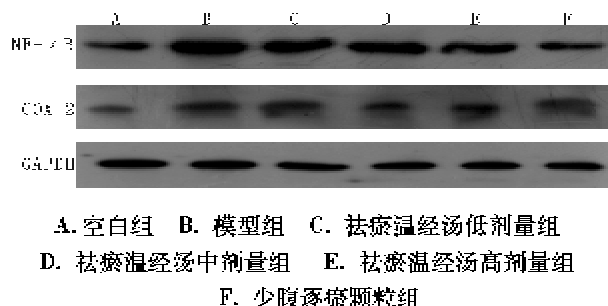


图 2 各组大鼠子宫组织 NF- κ B、COX-2 蛋白电泳条带图

表 6 祛瘀温经汤对大鼠子宫组织中

NF- κ B、COX-2 mRNA 转录水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	NF- κ B	COX-2
空白组	-	1.01 ± 0.15	1.00 ± 0.02
模型组	-	$2.05 \pm 0.04^*$	$2.41 \pm 0.07^*$
祛瘀温经汤低剂量组	13.7	1.83 ± 0.23	$1.98 \pm 0.13^\Delta$
祛瘀温经汤中剂量组	27.4	$1.60 \pm 0.03^\Delta$	$1.71 \pm 0.01^\Delta$
祛瘀温经汤高剂量组	54.8	$1.29 \pm 0.03^\Delta$	$1.38 \pm 0.02^\Delta$
少腹逐瘀颗粒组	1.58	$1.43 \pm 0.02^\Delta$	$1.56 \pm 0.09^\Delta$

与空白组比较, $^* P < 0.05$, $^\Delta P < 0.01$;与模型组比较, $^\Delta P < 0.01$

4 讨论

原发性痛经在青年女性中发病率高,据统计全世界痛经患病率为 20%~90%,中国女性群体痛经发病率为 33.1%,其中 13.55% 为严重受影响的工作者^[17]。因气候高寒且持续时间久,PD 在我国北方地区的发病率高于其他地区^[18];其主要以经期或经行前后小腹痉挛性疼痛为典型症状,伴或者不伴其他不适症状,严重者影响生活、工作学习;随着现代健康知识宣教工作大力开展及人们健康意识不断提高,临床就诊患者逐渐增多,因此,寻求理想治疗原发性痛经的方案已成为临床亟待解决的问题。目前 PD 病因复杂,发病机制尚不明确,PG 水平升高被认为是 PD 发生的主要原因,研究表明,与 PD 发生相关的主要有 PGF2a 和 PGE₂^[19],二者处于平衡稳态,共同调理子宫舒缩状态。研究发现,痛经患者子宫组织内 PGE₂ 和 PGF2a 的含量明显升高,且 PGF2a 的含量与疼痛程度成正相关,升高的 PGF2a 与其受体结合,诱导大量 Ca²⁺ 内流,激活 PKC 信号通路,从而使子宫平滑肌收缩以致缺血缺氧,产生酸性致痛产物,进而引起痛经^[20]。但原发性痛经发病的核心

在于各种因素致使子宫组织缺血和(或)缺氧,子宫平滑肌痉挛性收缩,从而产生疼痛。

中医学将痛经归属于“经行腹痛”“月经来腹痛”“经痛”范畴^[21]。祛瘀温经汤是由当归 10g,肉桂 5g,橘核 10g,荔枝核 10g,藁本 10g,细辛 5g,延胡索 10g,没药 10g,小茴香 10g,乌药 10g,白芍 30g,白术 10g 组成。方中延胡索、没药活血化瘀,行气止痛,二者共为君药;当归、白芍活血祛瘀、柔肝止痛,白术健脾益气,橘核、荔枝核行气散结,祛寒止痛,为臣药;佐以小茴香、乌药、肉桂以温经散寒,通达下焦;藁本、细辛则为使药,辛温走窜,达表入里,散肺与足少阴肾经风寒;诸药相配,全方共奏活血祛瘀,温经散寒之功^[22]。总结现代药理学研究成果可得出^[23-27],祛瘀温经汤组方的药物延胡索、没药可抑制 PGs 释放水平进而缓解 PD 疼痛症状;当归、白芍、白术、荔枝核、小茴香等有降低 IL-6、TNF α 等炎症因子水平、抗炎、舒张子宫平滑肌等作用。赵斯琦^[28]通过少腹逐瘀汤治疗寒凝血瘀型 PD 得出少腹逐瘀汤通过改善微循环状态,降低全血黏度、红细胞比容来发挥抗炎、镇痛、解痉、抗凝血等作用。鉴于 PD 青年女性发病率较高且西药疗效有限,有必要对 PD 患者进行中医药治疗。

研究表明,炎症反应在 PD 病理过程中发挥着重要作用,活化的巨噬细胞产生多种炎症细胞因子,如 IL-6 和 TNF α ,刺激 PGs 的合成和释放,导致 PD 患者子宫平滑肌过度收缩和缺血性损伤^[29,30]。IL-6 主要作用于子宫内膜,增强子宫内膜 PG 合成酶的活性,从而刺激内膜产生 PG,调节 PGF2 α /PGE₂ 比值,使子宫平滑肌收缩;同时,还能促进血小板活化和聚集,进而形成血栓,引发痛经^[31]。研究表明 TNF α 与神经性疼痛、炎性疼痛、癌痛等多种疼痛有直接关系^[32];可通过调控其他炎性介质扩大机体的炎症反应,其自身过度表达会导致血管内皮细胞损伤、局部微血栓形成,从而引起严重的炎症反应,加重或诱发痛经^[33,34]。鉴于此,抑制炎症可减少 PGs 的合成和释放,从而有效缓解疼痛。

本研究表明,与空白组相比,模型组大鼠出现扭体反应,血清炎症因子水平明显升高,子宫组织 HE 染色可见子宫内膜上皮细胞变性、凋亡,炎性细胞浸润;与模型组大鼠相比,祛瘀温经汤组和少腹逐瘀颗粒组 PD 大鼠扭体反应次数均明显减少,扭体潜伏时间延长,血清炎症水平减轻,子宫组织 HE 染色子宫内膜上皮细胞变性凋亡、炎性细胞浸润均有改善。

本研究结果显示,与对照组相比,模型组大鼠 IL-6、TNF- α 、PGF2 α 、NF- κ B、COX-2 蛋白及其 mRNA 表达均上升,PGE₂ 表达降低。治疗后,祛瘀温经汤组和少腹逐瘀颗粒组 PD 大鼠上述炎症因子、蛋白及其 mRNA 表达水平均有不同程度的恢复。鉴于此,说明寒凝血瘀型 PD 大鼠中存在 NF- κ B/COX-2 信号通

路失调,而祛瘀温经汤可能通过调节 NF- κ B/COX-2 信号通路,下调 IL-6、TNF- α 、PGE $_2$ α 、上调 PGE $_2$ 炎症相关蛋白表达,改善炎症症状;下调 NF- κ B、COX-2 蛋白及其 mRNA 表达,减少 PGs 的合成和释放等,改善子宫组织缺血缺氧状态,从而有效缓解 PD 大鼠疼痛症状。

综上,祛瘀温经汤对寒凝血瘀型痛经大鼠有治疗作用,其机制可能是通过调节 NF- κ B/COX-2 信号通路,降低血清炎症水平,抑制炎症相关蛋白表达,修复子宫病理损伤,调节子宫舒缩状态,改善子宫组织缺血缺氧状态,从而有效缓解大鼠疼痛症状,对原发性痛经的发病机制研究和治疗具有重要价值。

参考文献:

- [1] DE SANCTIS V, SOLIMAN A, BERNASCONI S, et al. Primary Dysmenorrhea in Adolescents: Prevalence, Impact and Recent Knowledge [J]. *Pediatric Endocrinology Reviews*, 2015, 13 (2): 512.
- [2] XU D H, WANG L, DENG L, et al. Intradermal acupuncture for primary dysmenorrhea: A protocol of systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [J]. *Medicine*, 2020, 99 (37): e22188.
- [3] ITANI R, SOUBRA L, KAROUT S, et al. Primary Dysmenorrhea: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment Updates [J]. *Korean journal of family medicine*, 2022, 43 (2): 101.
- [4] TU F, HELLMAN K. Primary Dysmenorrhea: Diagnosis and Therapy [J]. *Obstetrics & Gynecology*, 2021, 137 (4): 752.
- [5] FATEMEH H, FATEMEH H, BIJAN H, et al. Effect of Chlorella supplementation on systematic symptoms and serum levels of prostaglandins, inflammatory and oxidative markers in women with primary dysmenorrhea [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2018, 229: 185.
- [6] 王蓉,沈雪,张怡,等.温经祛瘀止痛法治疗寒凝血瘀型原发性痛经验案及其应用探析[J]. *中国民间疗法*, 2024, 32 (3): 74.
- [7] 陈丽珍.布洛芬缓释胶囊联合少腹逐瘀汤治疗子宫内腺异位症痛经的临床观察[J]. *基层医学论坛*, 2023, 27 (34): 119.
- [8] WU C M, CHEN P C, LI T M, et al. Si-Wu-tang extract stimulates bone formation through PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathways in osteoblasts [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13: 277.
- [9] CHEN Y, CAO Y, XIE Y, et al. Traditional Chinese medicine for the treatment of primary dysmenorrhea: how do Yuanhu painkillers effectively treat dysmenorrhea [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20 (12): 1095.
- [10] 吕静,孙伟兰,马兰,等.木香元胡胶囊联合布洛芬缓释胶囊治疗原发性痛经临床疗效观察[J]. *中国临床研究*, 2019, 11 (20): 129.
- [11] NAKANO R, KTANAKAL T, NAMBA S, et al. Non-Transcriptional and Translational Function of Canonical NF- κ B Signaling in Activating ERK1/2 in IL-1 β -Induced COX-2 Expression in Synovial Fibroblasts [J]. *Frontiers in immunology*, 2020, 11 (1): 579266.
- [12] 刘超.隔姜灸“神阙”“关元”对类寒凝滞型原发性痛经大鼠内分泌相关分子受体基因表达的影响[D].河北中医学院硕士学位论文, 2021.
- [13] 王悦,乌方吉-18 味丸对原发性痛经寒凝血瘀型大鼠 PGE $_2$ α 和 6-keto-PGF 1α 含量的影响[D].内蒙古医科大学硕士学位论文, 2021.
- [14] 中华中医药学会中药实验药理专业委员会.痛经动物模型制备规范(草案)[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24 (19): 20.
- [15] 嵇波,张露芬,朱江,等.痛经模型建立和评价方法的思考[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24 (6): 711.
- [16] 魏伟,吴希美,李元建.药理学实验方法学,第四版[M].北京:人民卫生出版社, 2012: 1316.
- [17] 李映明,刘杨春,周从容.耳穴贴压治疗女性痛经疗效观察[J]. *内蒙古中医药*, 2018, 37 (8): 94.
- [18] 杜红艳,郭志明,赛桂珍.温经散瘀散穴位贴敷治疗原发性痛经(寒凝血瘀证)的临床研究[J]. *中国中医急症*, 2018, 27 (1): 60.
- [19] 周芳.前列腺素及其受体在月经发生中对子宫内膜脱落作用机制的研究[D].北京协和医学院博士学位论文, 2019.
- [20] 张巧娜.振腹推拿对原发性痛经模型大鼠子宫 PGE $_2$ 、PGF 2α 及其受体表达的影响[D].北京中医药大学硕士学位论文, 2018.
- [21] 许栋涵,罗业浩,方刚,等.痛经病因病机古文献研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25 (4): 77.
- [22] 王蓉,沈雪,张怡,等.温经祛瘀止痛法治疗寒凝血瘀型原发性痛经验案及其应用探析[J]. *中国民间疗法*, 2024, 32 (3): 74.
- [23] 范会冉,罗云云,杨莹,等.产脐鲜切加工、传统加工延胡索对痛经小鼠治疗作用的比较[J]. *中成药*, 2018, 40 (6): 1370.
- [24] 张昊东,袁红莉,叶梦怡.没药药性与功效应用的本草文献研究[J]. *山西中医*, 2020, 36 (3): 49.
- [25] 赵丽,康幼雯,李雅丹.当归芍药散配合布洛芬治疗原发性痛经的疗效及对血清疼痛介质和子宫动脉血流动力学的影响[J]. *中国药物与临床*, 2023, 23 (2): 109.
- [26] 左军,张金龙,胡晓阳.白术化学成分及现代药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23 (10): 6.
- [27] 邓志军,刘若轩,李阿荣,等.基于 NF- κ B 信号通路研究荔枝核有效部位群对雌激素受损大鼠炎症反应的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2018, 29 (4): 454.
- [28] 赵斯琦.少腹逐瘀汤加减治疗原发性痛经临床效果的 Meta 分析[D].黑龙江中医药大学硕士学位论文, 2022.
- [29] ARCIKOWSKA Z, RAJKOWSKA - LABON E, GRZYBOWSKA ME, et al. Inflammatory markers in dysmenorrhea and therapeutic options [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17 (4): 1191.
- [30] KANNAN P, CHEUNG K K, LAU B W. Does aerobic exercise induced - analgesia occur through hormone and inflammatory cytokine-mediated mechanisms in primary dysmenorrhea [J]. *Med Hypotheses*, 2019, 123: 50.
- [31] 彭祥宇,张丽娟.慢性盆腔炎患者不同中医证型与细胞免疫学指标、血清炎症指标相关性分析[J]. *河南中医*, 2022, 42 (6): 887.
- [32] SASWATI B, WEI X, AARON D, et al. TNF α -induced altered miRNA expression links to NF- κ B signaling pathway in endometriosis [J]. *Research square*, 2023, 46 (6): 2055.
- [33] 冯悦明,张华艳,李佳,等.消痛止痛汤联合耳穴压豆对气滞血瘀型子宫内腺异位症痛经患者炎症因子和 PGE $_2$ 、PGF 2α 的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23 (24): 4669.
- [34] 邹胜男,孙可卡,王鑫.针药联合治疗 EMs 痛经对血清 TNF- α 、IL-6、TGF- β 水平的影响[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34 (6): 1403.

Investigating the mechanism of Quyu Wenjing Decoction in alleviating primary dysmenorrhea with cold coagulation and blood stasis via the NF- κ B/COX-2 pathway

LI Xin-mei, WANG Rong, SHUI Rong-zhi, ZHANG Yi, WANG Xin-bin*

(School of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract; Objective To investigate the therapeutic effects and underlying mechanism of Quyu Wenjing Decoction (QYWJD) on primary dysmenorrhea (PD) with cold coagulation and blood stasis in rats based on the nuclear factor- κ B (NF- κ B)/cyclooxygenase-2 (COX-2) signaling pathway. **Methods** Sixty female Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to the following groups: the blank group, model group, the QYWJD low-, medium-, and high-dose groups, and the Shaofu Zhuyu Granule (SFZYG) group. After the drug intervention, the writhing response and its latency were observed. Hemorheological parameters were measured, and hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe uterine tissue pathology. Cytokine levels were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), while NF- κ B and COX-2 protein expression levels were assessed by Western blot (WB). The mRNA expression levels of NF- κ B and COX-2 were detected via real-time PCR. **Results** Compared with the blank group, rats in the model group exhibited significant writhing responses, increased infiltration of inflammatory cells in uterine tissue, elevated levels of IL-6, TNF- α , and PGE $_2$, reduced PGE2 levels, and upregulated NF- κ B and COX-2 protein and mRNA expression ($P < 0.05$). Compared with the model group, the QYWJD-treated groups demonstrated prolonged latency of writhing response, fewer writhing episodes, reduced inflammatory cell infiltration in the uterine tissues, decreased IL-6, TNF- α , and PGE $_2$ levels, increased PGE2 levels, and reduced NF- κ B and COX-2 and mRNA expression ($P < 0.05$). **Conclusion** QYWJD may alleviate PD with cold coagulation and blood stasis by modulating the NF- κ B/COX-2 pathway, inhibiting the expression of inflammation-related proteins, and repairing the uterine tissue damage.

Key words: Primary dysmenorrhea; Quyu Wenjing Decoction; NF- κ B; COX-2

(责任编辑:程文锋)