

# 健脾化痰方调控 HMGB1/RAGE 通路改善大鼠多囊卵巢综合征的机制研究<sup>Δ</sup>

徐 静\*, 向 英<sup>#</sup>(湖北省中医院光谷院区妇产科/中医肝肾研究及应用湖北省重点实验室, 武汉 430070)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)08-1009-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.08.07



**摘要** 目的 探究健脾化痰方(JPHTF)调控高迁移率族蛋白B1(HMGB1)/晚期糖基化终末产物受体(RAGE)信号通路对多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠的影响。方法 将大鼠随机分为正常(Con)组、PCOS组、JPHTF低剂量(JPHTF-L, 5.54 g/kg)组、JPHTF高剂量(JPHTF-H, 11.07 g/kg)组、JPHTF-H+重组HMGB1蛋白(JPHTF 11.07 g/kg+rHMGB1 8 μg/kg)组和二甲双胍(0.27 g/kg)组,每组12只。除Con组大鼠以1%羧甲基纤维素钠溶液灌胃,同时喂食普通饲料外,其余大鼠通过高脂饮食联合来曲唑制备PCOS模型。造模成功后,各给药组大鼠灌胃/尾静脉注射相应药物,每日1次,连续4周。干预结束24 h后,称量大鼠体重,计算卵巢系数,检测空腹血糖(FBG)和血清中空腹胰岛素(FINS)、促卵泡素(FSH)、黄体生成素(LH)、睾酮(T)、雌二醇(E<sub>2</sub>)水平,计算胰岛素抵抗稳态模型评估指数,以及检测卵巢组织中肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素18(IL-18)、IL-1β水平和HMGB1、RAGE、磷酸化核因子κB(p-NF-κB)和NF-κB蛋白表达水平,观察卵巢组织形态及囊性卵泡和黄体数量。结果 与PCOS组比较,JPHTF-L组、JPHTF-H组和二甲双胍组大鼠卵巢组织多囊性病变均有不同程度改善;体重,卵巢系数,FBG,囊性卵泡数量,血清中FINS、HOMA-IR、T、LH、LH/FSH水平,卵巢组织中TNF-α、IL-18、IL-1β水平和HMGB1、RAGE蛋白表达水平以及NF-κB蛋白磷酸化水平均显著降低;黄体数量和血清中E<sub>2</sub>、FSH水平均显著升高(P<0.05)。与JPHTF-H组比较,JPHTF-H+rHMGB1组大鼠上述指标变化均显著逆转(P<0.05)。结论 JPHTF可通过抑制HMGB1/RAGE信号通路来降低PCOS大鼠炎症反应,减轻卵巢损伤,调节激素平衡,改善胰岛素抵抗和卵泡发育。

**关键词** 健脾化痰方;多囊卵巢综合征;HMGB1/RAGE信号通路;胰岛素抵抗;卵泡发育;炎症反应

## Mechanism of Jianpi huatan formula improving polycystic ovary syndrome in rats by regulating the HMGB1/RAGE signaling pathway

XU Jing, XIANG Ying (Dept. of Obstetrics and Gynecology, Guanggu Branch, Hubei Provincial Hospital of TCM/Hubei Provincial Key Laboratory of Research and Application of TCM for Liver and Kidney Diseases, Wuhan 430070, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To explore the effects of the Jianpi huatan formula (JPHTF) on polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats by regulating the high mobility group box 1 protein (HMGB1)/receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathway. **METHODS** The rats were randomly divided into the normal (Con) group, the PCOS group, the JPHTF-L group (5.54 g/kg), the JPHTF-H group (11.07 g/kg), the JPHTF-H+rHMGB1 group (11.07 g/kg of JPHTF+8 μg/kg of rHMGB1), and metformin group (0.27 g/kg), with 12 rats in each group. Except for the rats of Con group, which were given 1% sodium carboxymethyl cellulose intragastrically and fed with normal chow, the remaining rats were induced to develop PCOS models by using a high-fat diet combined with letrozole. After successful modeling, rats in each drug group were administered the corresponding drugs by gavage or tail vein injection once a day for 4 consecutive weeks. 24 h after the intervention, body weight and ovarian coefficient were detected. The levels of fasting blood glucose (FBG), serum levels of fasting insulin (FINS), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), testosterone (T) and estradiol (E<sub>2</sub>) were detected. The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated. The levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-18 (IL-18) and IL-1β and the protein expressions of HMGB1, RAGE, phosphorylated nuclear factor-κB (p-NF-κB) and NF-κB in the ovarian tissues of rats were detected. The morphology of ovarian tissue was observed, and the numbers of cystic follicles and corpora lutea were counted. **RESULTS** Compared with PCOS group, polycystic changes of ovarian tissue in rats showed varying degrees of improvement in the JPHTF-L group, JPHTF-H group, and metformin group; body weight, ovarian coefficient, FBG, the number of cystic follicles, serum levels of FINS, HOMA-IR, T, LH, LH/FSH, the levels of TNF-α, IL-18 and IL-1β and protein expressions of HMGB1 and

<sup>Δ</sup> 基金项目 湖北省自然科学基金项目(No.2023AFD180)

\* 第一作者 主治医师, 硕士。研究方向: 中医妇科。E-mail: 196435986@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者 主任医师, 硕士。研究方向: 中医妇科。E-mail: delhv8@163.com

RAGE in ovarian tissue as well as phosphorylation level of NF- $\kappa$ B protein all significantly decreased; the number of corpora lutea and the serum levels of  $E_2$  and FSH significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with JPHTF-H group, above indexes of rats were reversed significantly in JPHTF-H+rHMGB1 group ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSIONS** JPHTF can reduce the inflammatory response in PCOS rats, mitigate ovarian injury, regulate hormone balance, and improve insulin resistance and follicular development by inhibiting the HMGB1/RAGE signaling pathway.

**KEYWORDS** Jianpi huatan formula; polycystic ovary syndrome; HMGB1/RAGE signaling pathway; insulin resistance; follicular development; inflammatory responses

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是育龄女性中最常见的内分泌代谢性疾病, 其全球患病率高达 6%~21%, 已成为影响女性生命健康的重大公共卫生问题<sup>[1]</sup>。PCOS 以排卵功能障碍、高雄激素血症、卵巢多囊样形态改变为主要临床特征, 且超过 75% 的 PCOS 患者存在胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)<sup>[2]</sup>。目前临床治疗 PCOS 主要采用激素治疗、饮食控制, 或使用二甲双胍改善激素平衡并促进排卵, 但长期使用激素和二甲双胍可致内分泌紊乱、胃肠道不适等副作用。因此, 深入探讨 PCOS 的分子机制并开发新的治疗药物显得尤为重要。

健脾化痰方 (JPHTF) 是基于中医“脾为生痰之源”理论, 结合长期临床经验总结而成的经验方。该方由柴胡、茯苓、黄芪等 13 味中药组成, 具有健脾益气、燥湿化痰的功效, 可调节脾胃运化功能, 清除体内痰湿邪气, 临床广泛应用于脾胃虚弱、痰湿内停所致的多种慢性疾病<sup>[3]</sup>。临床和基础研究证实, JPHTF 对 PCOS 具有一定改善作用<sup>[4-5]</sup>, 但其作用机制尚未阐明。PCOS 状态下, 高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) 异常释放与晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 高表达形成正反馈, 通过诱发 IR、放大炎症、损伤颗粒细胞与卵泡发育, 共同驱动疾病发生发展<sup>[6-7]</sup>。由此, 笔者推测靶向抑制 HMGB1/RAGE 通路可作为 PCOS 治疗的重要机制。为此, 本文以 HMGB1/RAGE 信号通路为切入点, 探究 JPHTF 对 PCOS 大鼠 IR、卵泡发育障碍及炎症反应的影响, 旨在为阐明 JPHTF 改善 PCOS 的作用机制以及临床治疗 PCOS 提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 SUGL-001 型血糖仪 [易购安 (北京) 科技有限公司]、TQ96-X2 型酶标仪 [信钰仪器 (北京) 有限公司]、YJSX211-CCD 型光学显微镜 (云南远锦光学仪器有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

柴胡、茯苓、黄芪、枳壳、苍术、川芎、浙贝母、法半夏、当归、陈皮、石菖蒲、黄连、甘草饮片 (批号分别为 20250601、20250528、20250603、20250525、20250602、

20250530、20250605、20250522、20250604、20250526、20250529、20250527、20250606) 均由我院中药房提供, 经湖北省中医院主任药师陈树和鉴定均为真品; 高脂饲料购自南京昇合溯源生物工程有限公司; 来曲唑对照品 (纯度  $\geq 99.79\%$ )、羧甲基纤维素钠对照品 (纯度  $\geq 99.96\%$ )、二甲双胍及重组 HMGB1 蛋白 (rHMGB1) 均购自美国 MCE 公司 (批号分别为 HY-14248、HY-Y0703、HY-B0627、HY-P73104); 空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、促卵泡素 (follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、睾酮 (testosterone, T)、雌二醇 (estradiol,  $E_2$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 及 IL-1 $\beta$  的酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒和苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒、全蛋白提取试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司 (批号分别为 SEKR-0033、SEKR-0051、SEKR-4399、SESM-0073、SEKR-0107、SEKR-0009、SEKR-0054、SEKR-0002、G1120、BC3710); 兔抗鼠 HMGB1、RAGE、磷酸化核因子  $\kappa$ B (phosphorylated nuclear factor- $\kappa$ B, p-NF- $\kappa$ B)、NF- $\kappa$ B、 $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 一抗以及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗均购自英国 Abcam 公司 (批号分别为 ab18256、ab37647、ab76302、ab109458、ab6276、ab133470)。

### 1.3 实验动物

本研究选用 72 只健康 SPF 级雌性 SD 大鼠, 体重 200~220 g, 均由武汉市万千佳兴生物科技有限公司提供, 实验动物生产许可证号: SCXK (鄂) 2021-0011。大鼠饲养于标准屏障环境 [温度 (22  $\pm$  2)  $^{\circ}$ C、相对湿度 (60  $\pm$  5)%、12 h 明暗交替照明周期] 中, 自由摄食、饮水。本实验方案经武汉市万千佳兴生物科技有限公司实验动物伦理委员会审查批准, 符合动物伦理要求 (批号: 202503162)。

## 2 方法

### 2.1 JPHTF 药液制备

按 JPHTF 的组方分别称取柴胡 10 g、茯苓 15 g、黄芪 15 g、枳壳 110 g、苍术 10 g、川芎 5 g、浙贝母 10 g、法半夏 10 g、当归 10 g、陈皮 10 g、石菖蒲 10 g、黄连 5 g、甘草 3 g, 混合后加入蒸馏水 800 mL, 浸泡 30 min 后, 先以武火煮沸, 再改用文火煎煮 30 min, 滤出煎液; 药渣再加

入蒸馏水 600 mL,按相同方法煮沸后用文火煎煮 20 min,滤出煎液;合并两次煎液,浓缩至生药含量为 1.11 g/mL,置于 4 °C 冷藏保存。

## 2.2 来曲唑药液制备

称取羧甲基纤维素钠对照品 1.0 g,加入蒸馏水搅拌至完全溶解,定容至 100 mL,配制成 1% 羧甲基纤维素钠溶液。取来曲唑对照品 25 mg,混悬于 100 mL 上述溶液中,充分混匀,配制成质量浓度为 0.25 mg/mL 的来曲唑药液。

## 2.3 分组、建模与给药

将大鼠按随机数字表法分为正常(Con)组、PCOS 组、JPHTF 低剂量(JPHTF-L)组、JPHTF 高剂量(JPHTF-H)组、JPHTF-H+rHMGB1 组和二甲双胍组,每组 12 只。除 Con 组外,其余各组大鼠均建立 PCOS 模型:采用来曲唑药液(4 mL/kg)灌胃,同时喂食高脂饲料(脂肪 45%、碳水化合物 35%、蛋白质 20%),连续造模 21 d<sup>[8]</sup>。于造模第 10 天开始进行阴道涂片观察,并采用 0.1% 亚甲基蓝染色液对阴道涂片进行染色,连续 10 d 观察到大鼠阴道上皮持续白细胞增多,无规律性动情周期或动情周期紊乱或失去动情周期,则为造模成功。Con 组大鼠灌胃 1% 羧甲基纤维素钠溶液,同时喂食普通饲料,于造模大鼠同期(造模第 10 天)进行阴道涂片观察,选取连续 4 d 的阴道涂片进行染色镜检。

造模成功后,JPHTF-L 组和 JPHTF-H 组大鼠分别灌胃 5.54、11.07 g/kg<sup>[9]</sup> 的 JPHTF 药液;JPHTF-H+rHMGB1 组大鼠灌胃 11.07 g/kg 的 JPHTF 药液,同时尾静脉注射 8 μg/kg 的 rHMGB1<sup>[7]</sup>;二甲双胍组大鼠灌胃 0.27 g/kg 的二甲双胍<sup>[9]</sup>;Con 组和 PCOS 组同法给予生理盐水,每日 1 次,连续干预 4 周。干预期间,Con 组大鼠全程喂食普通饲料,其余各组大鼠均持续喂食高脂饲料。

## 2.4 样本采集

干预结束 24 h 后,称量全部大鼠体重,然后连续 5 d 对大鼠进行阴道涂片观察,以监测各组大鼠动情周期变化,选择动情间期进行取样。采用尾尖取血,直接用血糖仪检测全部大鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG);然后麻醉大鼠,取腹动脉血 3 mL,待测。取血结束后,采用颈椎脱臼法处死所有大鼠,开腹取完整卵巢组织,待检。

## 2.5 卵巢系数测定

取“2.4”项下各组大鼠卵巢组织,除去表面脂肪,称量卵巢湿重,计算卵巢系数:卵巢系数=双侧卵巢湿重之和(mg)/体重(g)。

## 2.6 血清中激素水平及卵巢组织中炎症因子水平检测

取“2.4”项下各组大鼠血液,以 3 500 r/min 离心 10 min 后分离血清,按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作,检测血清中 FINS、FSH、LH、T、E<sub>2</sub> 水平,并计算 LH/FSH 比值和胰岛素抵抗稳态模型评估指数(homeostasis model

assessment of insulin resistance, HOMA-IR):  $HOMA-IR = FBG(\text{mmol/L}) \times FINS(\text{mU/L}) / 22.5$ <sup>[5]</sup>。另每组随机选取“2.4”项下 6 只大鼠的卵巢组织,制备成匀浆液,以 4 000 r/min 离心 10 min 后收集上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作,检测卵巢组织中 TNF-α、IL-18 和 IL-1β 水平。

## 2.7 卵巢组织形态观察

取“2.4”项下各组剩余 6 只大鼠的卵巢组织,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,随后经磷酸盐缓冲液漂洗、梯度乙醇脱水、二甲苯透明及浸蜡处理,最后进行石蜡包埋、切片(厚度 5 μm)并进行 HE 染色,于光学显微镜下观察卵巢组织形态,并统计视野内囊性卵泡和黄体数量,取 5 个视野的平均值。囊性卵泡表现为:卵泡腔异常扩张,直径显著大于同期正常卵泡,颗粒细胞层变薄、排列紊乱甚至脱落,无明显卵母细胞或仅存退化卵母细胞结构;黄体表现为:由排卵后的卵泡壁塌陷分化形成,可见体积较大、胞质丰富的黄体细胞,伴有毛细血管增生及结缔组织填充。

## 2.8 卵巢组织中 HMGB1/RAGE 通路相关蛋白表达检测

取“2.6”项下各组大鼠的卵巢组织,加入 RIPA 裂解液,研磨匀浆后于 4 °C 下以 12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液并测定蛋白浓度,随后于 95 °C 水浴中变性 5 min。取变性蛋白,电泳分离后转膜,用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入 HMGB1、RAGE、p-NF-κB、NF-κB、β-actin 一抗(稀释比例均为 1:1 500),于 4 °C 孵育过夜;洗膜后加入相应二抗(稀释比例为 1:4 000),室温孵育 2 h;采用 ECL 化学发光法显影,使用 Image-Pro Plus 软件分析条带的灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β-actin)的灰度值比值作为目的蛋白的表达水平,以 p-NF-κB 与 NF-κB 的比值作为 NF-κB 蛋白的磷酸化水平。

## 2.9 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0.1 软件对数据进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,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。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 大鼠动情周期变化

通过对大鼠阴道涂片进行连续 10 d 的动态观察发现,Con 组大鼠呈现规律的动情周期变化,其阴道上皮细胞形态随动情阶段不同而发生典型演变:动情前期以有核上皮细胞为主,动情期转变为大量无核角质化上皮细胞,动情后期可见有核上皮细胞、角质化上皮细胞及白细胞,动情间期则以白细胞为主。PCOS 大鼠的阴道涂片持续呈现动情间期或动情后期的细胞学特征,未见正常的动情阶段演进,表明大鼠的动情周期完全紊乱。结果见图 1。

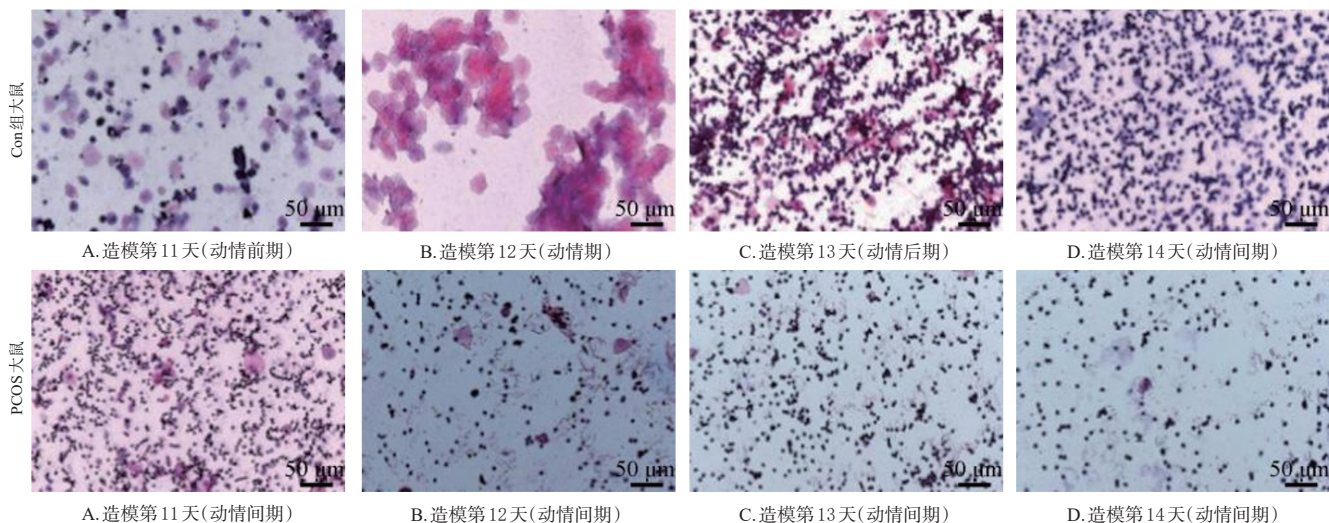


图1 大鼠动情周期变化的显微图

### 3.2 JPHTF对大鼠体重、FBG和卵巢系数的影响

与Con组比较,PCOS组大鼠体重、FBG和卵巢系数均显著升高( $P<0.05$ );与PCOS组比较,JPHTF-L组、JPHTF-H组和二甲双胍组大鼠上述指标均显著降低( $P<0.05$ ),其中JPHTF-H组的变化比JPHTF-L组更显著( $P<0.05$ );与JPHTF-H组比较,JPHTF-H+rHMGB1组大鼠上述指标均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 各组大鼠体重、FBG和卵巢系数比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	体重/g	FBG/(mmol/L)	卵巢系数/(mg/g)
Con组	309.23±16.54	5.08±0.62	0.68±0.07
PCOS组	372.61±19.83 <sup>a</sup>	12.75±1.41 <sup>a</sup>	1.12±0.10 <sup>a</sup>
JPHTF-L组	351.26±17.42 <sup>b</sup>	10.56±1.27 <sup>b</sup>	0.98±0.07 <sup>b</sup>
JPHTF-H组	328.39±17.35 <sup>bc</sup>	7.94±1.03 <sup>bc</sup>	0.83±0.09 <sup>bc</sup>
JPHTF-H+rHMGB1组	357.84±18.69 <sup>d</sup>	11.42±1.36 <sup>d</sup>	1.04±0.08 <sup>d</sup>
二甲双胍组	330.75±18.21 <sup>b</sup>	8.17±0.95 <sup>b</sup>	0.81±0.07 <sup>b</sup>

a: 与Con组比较,  $P<0.05$ ; b: 与PCOS组比较,  $P<0.05$ ; c: 与JPHTF-L组比较,  $P<0.05$ ; d: 与JPHTF-H组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.3 JPHTF对大鼠血清激素水平的影响

与Con组比较,PCOS组大鼠血清中FINS、LH、T水平和LH/FSH、HOMA-IR均显著升高,FSH、 $E_2$ 水平均显著降低( $P<0.05$ );与PCOS组比较,JPHTF-L组、JPHTF-H组和二甲双胍组大鼠血清中FINS、LH、T水平和LH/FSH、HOMA-IR均显著降低,FSH、 $E_2$ 水平均显著升高( $P<0.05$ ),其中JPHTF-H组的变化比JPHTF-L组更显著( $P<0.05$ );与JPHTF-H组比较,JPHTF-H+rHMGB1组大鼠血清中FINS、LH、T水平和LH/FSH、HOMA-IR均显著升高,FSH、 $E_2$ 水平显著降低( $P<0.05$ )。结果见表2。

### 3.4 JPHTF对大鼠卵巢组织炎症因子水平的影响

与Con组比较,PCOS组大鼠卵巢组织中TNF- $\alpha$ 、IL-18和IL-1 $\beta$ 水平均显著升高( $P<0.05$ );与PCOS组比

表2 各组大鼠血清中激素水平比较( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	FINS/(mIU/L)	FSH/(IU/L)	LH/(IU/L)	T/( $\mu$ g/L)	$E_2$ /(ng/L)	LH/FSH	HOMA-IR
Con组	8.73±0.91	9.43±1.15	19.51±1.06	0.62±0.04	56.39±2.48	2.07±0.16	1.97±0.23
PCOS组	23.84±2.65 <sup>a</sup>	5.21±0.46 <sup>a</sup>	33.48±2.17 <sup>a</sup>	1.29±0.11 <sup>a</sup>	41.62±2.15 <sup>a</sup>	6.43±0.51 <sup>a</sup>	13.51±1.46 <sup>a</sup>
JPHTF-L组	18.43±2.06 <sup>b</sup>	6.35±0.52 <sup>b</sup>	28.73±1.92 <sup>b</sup>	1.06±0.08 <sup>b</sup>	46.73±2.31 <sup>b</sup>	4.52±0.34 <sup>b</sup>	8.65±0.92 <sup>b</sup>
JPHTF-H组	12.86±1.57 <sup>bc</sup>	7.97±0.68 <sup>bc</sup>	23.64±1.51 <sup>bc</sup>	0.82±0.05 <sup>bc</sup>	51.86±2.59 <sup>bc</sup>	2.97±0.23 <sup>bc</sup>	4.54±0.61 <sup>bc</sup>
JPHTF-H+rHMGB1组	20.15±2.31 <sup>d</sup>	5.92±0.49 <sup>d</sup>	29.86±2.03 <sup>d</sup>	1.12±0.10 <sup>d</sup>	45.94±2.46 <sup>d</sup>	5.04±0.42 <sup>d</sup>	10.23±1.92 <sup>d</sup>
二甲双胍组	13.29±1.48 <sup>b</sup>	8.02±0.73 <sup>b</sup>	24.10±1.89 <sup>b</sup>	0.84±0.06 <sup>b</sup>	51.47±2.62 <sup>b</sup>	3.00±0.26 <sup>b</sup>	4.83±0.67 <sup>b</sup>

a: 与Con组比较,  $P<0.05$ ; b: 与PCOS组比较,  $P<0.05$ ; c: 与JPHTF-L组比较,  $P<0.05$ ; d: 与JPHTF-H组比较,  $P<0.05$ 。

较,JPHTF-L组、JPHTF-H组和二甲双胍组大鼠上述指标均显著降低( $P<0.05$ ),其中JPHTF-H组的变化比JPHTF-L组更显著( $P<0.05$ );与JPHTF-H组比较,JPHTF-H+rHMGB1组大鼠上述指标均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表3。

表3 各组大鼠卵巢组织中炎症因子水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6, ng/L$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-18	IL-1 $\beta$
Con组	39.65±5.41	35.82±4.67	27.56±3.84
PCOS组	148.59±15.73 <sup>a</sup>	117.67±13.54 <sup>a</sup>	94.23±10.62 <sup>a</sup>
JPHTF-L组	107.72±5.58 <sup>b</sup>	86.43±9.28 <sup>b</sup>	67.72±8.13 <sup>b</sup>
JPHTF-H组	71.48±9.32 <sup>bc</sup>	58.39±7.16 <sup>bc</sup>	45.81±6.09 <sup>bc</sup>
JPHTF-H+rHMGB1组	113.87±12.69 <sup>d</sup>	91.24±8.43 <sup>d</sup>	82.47±9.75 <sup>d</sup>
二甲双胍组	74.26±7.21 <sup>b</sup>	56.71±7.39 <sup>b</sup>	43.68±5.27 <sup>b</sup>

a: 与Con组比较,  $P<0.05$ ; b: 与PCOS组比较,  $P<0.05$ ; c: 与JPHTF-L组比较,  $P<0.05$ ; d: 与JPHTF-H组比较,  $P<0.05$ 。

### 3.5 JPHTF对大鼠卵巢组织形态变化的影响

Con组大鼠卵巢组织结构完整,颗粒细胞排列整齐有序。与Con组比较,PCOS组大鼠卵巢组织呈现典型多囊性病变,闭锁卵泡显著增多,成熟卵泡减少,颗粒细胞层变薄,细胞排列紊乱无序,囊性卵泡数量显著增加,黄体数量显著减少( $P<0.05$ );与PCOS组比较,JPHTF-L组、JPHTF-H组和二甲双胍组大鼠卵巢组织的多囊性病变均有不同程度改善,囊性卵泡数量均显著减少,黄体数量均显著增加( $P<0.05$ ),其中JPHTF-H组的改善

情况比 JPHTF-L 组更明显 ( $P < 0.05$ ); 与 JPHTF-H 组比较, JPHTF-H+rHMGB1 组大鼠卵巢组织的多囊性病变明显加重, 囊性卵泡数量显著增加, 黄体数量显著减少 ( $P < 0.05$ )。结果见图 2 和表 4。

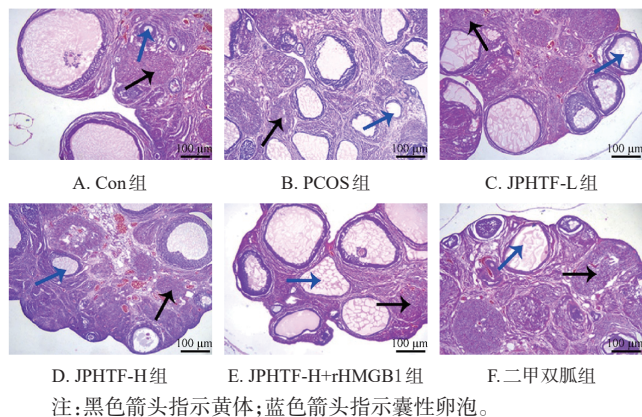


图 2 各组大鼠卵巢组织形态的 HE 染色图

表 4 各组大鼠卵巢组织中囊性卵泡和黄体数量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6, \text{个}$ )

组别	囊性卵泡数量	黄体数量
Con 组	3.80 ± 0.24	14.60 ± 1.07
PCOS 组	16.50 ± 1.37 <sup>a</sup>	5.90 ± 0.43 <sup>a</sup>
JPHTF-L 组	12.20 ± 1.03 <sup>b</sup>	8.40 ± 0.62 <sup>b</sup>
JPHTF-H 组	7.90 ± 0.82 <sup>bc</sup>	11.50 ± 0.94 <sup>bc</sup>
JPHTF-H+rHMGB1 组	13.60 ± 1.15 <sup>d</sup>	7.70 ± 0.68 <sup>d</sup>
二甲双胍组	7.80 ± 0.91 <sup>b</sup>	11.30 ± 0.85 <sup>b</sup>

a: 与 Con 组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与 PCOS 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 JPHTF-L 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与 JPHTF-H 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3.6 JPHTF 对大鼠卵巢组织中 HMGB1/RAGE 通路相关蛋白表达的影响

与 Con 组比较, PCOS 组大鼠卵巢组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达水平和 NF- $\kappa$ B 蛋白磷酸化水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 PCOS 组比较, JPHTF-L 组、JPHTF-H 组和二甲双胍组大鼠上述指标均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 其中 JPHTF-H 组的变化比 JPHTF-L 组更显著 ( $P < 0.05$ ); 与 JPHTF-H 组比较, JPHTF-H+rHMGB1 组大鼠上述指标均显著升高 ( $P < 0.05$ )。结果见图 3 和表 5。

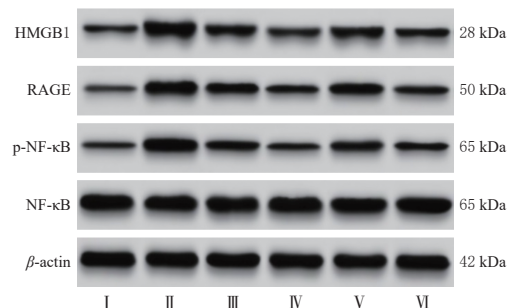


图 3 各组大鼠卵巢组织中 HMGB1/RAGE 通路相关蛋白表达的电泳图

I: Con 组; II: PCOS 组; III: JPHTF-L 组; IV: JPHTF-H 组; V: JPHTF-H+rHMGB1 组; VI: 二甲双胍组。

表 5 各组大鼠卵巢组织中 HMGB1/RAGE 通路相关蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	HMGB1	RAGE	p-NF- $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B
Con 组	0.35 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.24 ± 0.03
PCOS 组	1.18 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.11 <sup>a</sup>
JPHTF-L 组	0.89 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.63 ± 0.08 <sup>b</sup>
JPHTF-H 组	0.56 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.51 ± 0.07 <sup>bc</sup>	0.40 ± 0.06 <sup>bc</sup>
JPHTF-H+rHMGB1 组	0.92 ± 0.12 <sup>d</sup>	0.82 ± 0.10 <sup>d</sup>	0.67 ± 0.09 <sup>d</sup>
二甲双胍组	0.58 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.53 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.06 <sup>b</sup>

a: 与 Con 组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与 PCOS 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 JPHTF-L 组比较,  $P < 0.05$ ; d: 与 JPHTF-H 组比较,  $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

PCOS 是一种常见的内分泌代谢疾病, 临床以多毛、稀发排卵和多囊性卵巢形态改变为主要特征<sup>[10-11]</sup>, 常伴随肥胖、IR 等代谢异常, 并可显著增加 2 型糖尿病、血脂异常、非酒精性脂肪肝及心血管疾病等多种并发症的发生风险<sup>[12]</sup>。IR 及其引发的高胰岛素血症是 PCOS 的重要病理因素, 高胰岛素水平可刺激卵巢产生过量雄激素, 导致排卵障碍; 同时, IR 可直接引发糖脂代谢紊乱, 导致血糖升高、体重增加<sup>[13]</sup>。中医将 PCOS 归属于“月经后期”“闭经”“不孕”“癥瘕”等范畴, 其核心病机为“脾虚痰湿”<sup>[14]</sup>, 临床治疗以“健脾益气、燥湿化痰”为根本法则。JPHTF 具有健脾化痰、除湿调经、行气活血之功效, 契合 PCOS 病机<sup>[4]</sup>。林安盈等<sup>[15]</sup>研究表明, JPHTF 可降低 PCOS-IR 大鼠体重和 HOMA-IR, 改善糖脂代谢紊乱、性激素水平和卵巢组织多囊样病变。刘金玲<sup>[16]</sup>研究发现, JPHTF 可降低脾虚痰湿型 PCOS 大鼠血脂水平和 HOMA-IR, 改善性激素水平, 缓解相关临床症状。本研究结果亦显示, JPHTF 干预后可显著降低 PCOS 大鼠体重、FBG、FINS 和 HOMA-IR 以及血清中 LH、T、LH/FSH 水平, 提高血清中 FSH、E<sub>2</sub> 水平, 调节激素平衡, 改善 IR, 减轻卵巢损伤。

HMGB1/RAGE 信号通路是机体重要的炎症信号转导通路, 受损或应激细胞可释放 HMGB1 至胞外, 与细胞膜上的特异性受体 RAGE 结合后, 激活下游 NF- $\kappa$ B 等关键炎症信号转导路径, 不仅可促进 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-18 等促炎因子的转录与释放, 还可通过上调趋化因子表达, 募集单核巨噬细胞等免疫细胞在局部组织浸润, 放大炎症级联反应, 促进组织炎性损伤<sup>[17]</sup>。本研究结果显示, PCOS 组大鼠卵巢组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达水平、NF- $\kappa$ B 蛋白磷酸化水平和炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-18、IL-1 $\beta$  水平均较 Con 组显著升高; JPHTF 干预后可显著降低上述指标水平, 由此推测, 抑制 HMGB1/RAGE 信号通路可能是 JPHTF 发挥 PCOS 治疗作用的内在机制。为验证该推测, 本研究设置回复实验, 结果显示, rHMGB1

可显著逆转 JPHTF 对 PCOS 大鼠的改善作用,提示 JPHTF 可通过抑制 HMGB1/RAGE 信号通路来改善 PCOS。

综上所述,JPHTF 可通过抑制 HMGB1/RAGE 信号通路来降低 PCOS 大鼠炎症反应,减轻卵巢损伤,调节激素平衡,改善 IR 和卵泡发育。然而,JPHTF 成分复杂,在大鼠体内可能还调控其他通路,后续还需进一步探究。

### 参考文献

- [1] LIU Z, WANG R H, WANG K H. Formononetin ameliorates polycystic ovary syndrome through suppressing NLRP3 inflammasome[J]. *Mol Med*, 2025, 31(1):27.
- [2] WANG J, HUANG Z, CAO Z Y, et al. Loureirin B reduces insulin resistance and chronic inflammation in a rat model of polycystic ovary syndrome by upregulating GPR120 and activating the LKB1/AMPK signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20):11146.
- [3] 林安盈,杨璐瑜,杨正望,等. 健脾化痰方通过调控 PPAR 信号通路改善 PCOS-IR 大鼠的机制研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(12):2157-2163.
- [4] 戴月,贺冰,杨思婕,等. 健脾化痰方治疗脾虚痰湿证多囊卵巢综合征患者调节性 T 细胞和 Th17 细胞的影响及模型化评价[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2025, 30(9):1153-1164.
- [5] 杨璐瑜,林安盈,杨正望,等. 健脾化痰方通过调控 FOXO1/PDK4 信号通路干预 PCOS-IR 大鼠脂代谢的作用机制研究[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(4):451-460.
- [6] 何俊见,刘洪祥,霍佳宁,等. 高迁移率族蛋白-1 和晚期糖基化终末产物受体在卵巢综合征大鼠模型中的表达[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2019, 11(6):20-23.
- [7] 潘静,热汗古丽·库尔班,吐松古·艾买尔,等. LncRNA LUCAT1 调控 miR-375/HMGB1 轴对多囊卵巢综合征大鼠胰岛素抵抗的机制研究[J]. *现代生物医学进展*, 2024, 24(8):1439-1443.
- [8] 巫园园,朱惠卿,刘春明,等. 花红颗粒调节 PI3K/Akt 通路对多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗大鼠的作用机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(9):1149-1155.
- [9] 董双千,汤怡倩,徐浩田,等. 启宫丸对多囊卵巢综合征-胰岛素抵抗大鼠 AdipoR/AMPK 信号通路的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(2):584-589.
- [10] YUAN X, YANG J S, SUN D L, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D inhibits hepatic diacylglycerol accumulation and ameliorates metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome rat models[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1077014.
- [11] ZHAO F Z, CUI W, FANG C M, et al. Chiglitazar ameliorates dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovary syndrome in rats[J]. *J Ovarian Res*, 2024, 17(1):229.
- [12] KHOSROWPOUR Z, FAHIMI S, JAFARI F, et al. Beneficial effects of *Teucrium polium* hydroalcoholic extract on letrozole-induced polycystic ovary syndrome in rat model[J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2023, 66(2):107-117.
- [13] LI M H, GAO S, KANG M C, et al. Quercitrin alleviates lipid metabolism disorder in polycystic ovary syndrome-insulin resistance by upregulating PM20D1 in the PI3K/Akt pathway[J]. *Phytomedicine*, 2023, 117:154908.
- [14] 李岚,杨正望,余曦明. 健脾化痰方对脾虚痰湿证多囊卵巢综合征胰岛素抵抗患者子宫内膜容受性、抗苗勒管激素的影响[J]. *中国性科学*, 2023, 32(4):103-107.
- [15] 林安盈,杨璐瑜,孔倩,等. 健脾化痰方通过 PI3K/AKT/mTOR 和 PI3K/AKT/GLUT4 通路干预 PCOS-IR 大鼠的作用机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(10):2362-2365.
- [16] 刘金玲. 健脾化痰方治疗脾虚痰湿型 PCOS 的临床观察[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2023.
- [17] SINGH H, AGRAWAL D K. Therapeutic potential of targeting the HMGB1/RAGE axis in inflammatory diseases[J]. *Molecules*, 2022, 27(21):7311-7320.

(收稿日期:2025-11-25 修回日期:2026-04-08)

(编辑:邹丽娟)