

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.08.011

槲皮素对宫颈炎大鼠阴道微生态、局部细胞因子及 PI3K、Akt 蛋白的影响*

许 涵,王 静[△],孙丽妍,康 聪

哈励逊国际和平医院妇科,河北衡水 053000

摘 要:目的 探讨槲皮素对宫颈炎大鼠阴道微生态、局部细胞因子及磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)蛋白的作用机制,为宫颈炎相关用药提供参考依据。**方法** 60 只大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、西药组、槲皮素低剂量、槲皮素中剂量及槲皮素高剂量组,每组 10 只。除正常组外,其余大鼠均建立宫颈炎大鼠模型,槲皮素低、中、高剂量组大鼠阴道分别注入浓度为 35、55、80 $\mu\text{mol/L}$ 的槲皮素,西药组大鼠注入阴道 0.081 g/kg 的抗宫颈炎片研磨冲剂,正常组、模型组大鼠阴道注入等量的生理盐水。采用全自动阴道微生态检测仪检测阴道微生态的 pH 值、分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)及乳酸杆菌,采用全自动血细胞计数分析法检测白细胞、中性粒细胞计数,酶联免疫吸附试验检测血清白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-8 水平,苏木精-伊红(HE)染色法观察大鼠宫颈组织情况,采用免疫印迹法检测 PI3K、Akt 蛋白表达水平。**结果** 各组 pH 值、乳酸杆菌异常比例、SIgA 水平、白细胞计数、中性粒细胞计数,IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平及 PI3K、Akt 蛋白表达水平比较结果显示,正常组<槲皮素高剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素低剂量组<模型组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组 pH 值、乳酸杆菌异常比例、SIgA 水平、白细胞计数、中性粒细胞计数及血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平,以及 PI3K、Akt 蛋白表达水平高于正常组,低于槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,槲皮素高剂量组、槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、西药组宫颈评分高于治疗前,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,各组宫颈评分比较结果显示,模型组<槲皮素低剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素高剂量组<正常组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组宫颈评分高于模型组、槲皮素低剂量组、槲皮素中剂量组,低于正常组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。低、中、高槲皮素组及西药组随着增加药物浓度,宫颈组织炎症细胞的浸润范围及数量减少。**结论** 槲皮素可通过平衡阴道 pH 值,降低 SIgA 及乳酸杆菌水平,维持阴道微生态环境,减少促炎性细胞因子从而改善宫颈炎症状,可能与抑制 PI3K、Akt 蛋白表达相关。

关键词:槲皮素; 宫颈炎; 阴道微生态; 细胞因子; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 蛋白激酶 B

中图法分类号:R711.74;R33

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)08-1061-07

Effects of quercetin on vaginal microecology, local cytokines, PI3K and Akt in cervicitis rats*

XU Han, WANG Jing[△], SUN Lian, KANG Cong

Department of Gynecology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of quercetin on vaginal microecology, local cytokines, phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and protein kinase B (AKT) proteins in cervicitis rats, and to provide a reference for the related medication of Cervicitis. **Methods** According to random number table method, 60 rats were divided into normal group, model group, western medicine group, quercetin low-dose, quercetin medium-dose and quercetin high-dose groups, with 10 rats in each group. Except the normal group, the other rats were established with cervical inflammation model. The quercetin low-dose, medium-dose, high-dose groups rats were injected with quercetin with vaginal concentration of 35, 55 and 80 $\mu\text{mol/L}$ respectively, and the western medicine group rats were injected with anti-cervicitis tablet grinding powder of 0.081 g/kg. Rats in normal group and model group were injected into the vagina with an equal amount of normal saline. The pH value, secreted immunoglobulin A (SIgA) and lactobacillus of vaginal microecology were detected by automatic vaginal microecology detector. The white blood cells neutrophils were classified by automatic blood count analysis, and the levels of serum interleukin (IL)-1 β , IL-6 and IL-8 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay.

* 基金项目:河北省卫生健康委员会医学科学研究基金项目(20211763)。

作者简介:许涵,女,主管护师,主要从事妇产科相关方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail:350934517@qq.com。

The cervical tissue of rats was observed by hematoxylin-eosin staining. The expressions of PI3K and Akt were detected by western blot. **Results** The comparison of pH value, abnormal proportion of lactobacillus, SIgA level, white blood cell count, neutrophil count, serum IL-1 β , IL-6, IL-8 levels, and PI3K and Akt expression levels among groups showed that normal group < quercetin high-dose group < quercetin medium-dose group < quercetin low-dose group < model group, and comparison between any two groups, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The pH value, abnormal proportion of lactobacillus, SIgA level, white blood cell count, neutrophil count, serum IL-1 β , IL-6 and IL-8 levels and the expression levels of PI3K and Akt protein in western medicine group were higher than those in normal group, but lower than those in medium-dose quercetin group, low-dose quercetin group and model group, with statistical significance ($P < 0.05$). After treatment, the cervical scores of quercetin high-dose group, quercetin medium-dose group, quercetin low-dose group and western medicine group were higher than those before treatment, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the results of cervical score comparison among all groups showed that model group < quercetin low-dose group < quercetin medium-dose group < quercetin high-dose group < normal group, and the differences between any two groups were statistically significant ($P < 0.05$). The cervical score of western medicine group was higher than that of model group, quercetin low-dose group and quercetin medium-dose group, but lower than that of normal group, with statistical significance ($P < 0.05$). The infiltrating range and number of inflammatory cells of cervical tissue decreased with the increase of drug concentration in low, medium and high quercetin groups and western medicine groups. **Conclusion** Quercetin can maintain vaginal microecological environment by balancing vaginal pH, SIgA and lactobacillus levels, reduce inflammatory cytokines, and thus improve cervical inflammation, which may be related to inhibiting the expression of PI3K and Akt.

Key words: quercetin; cervicitis; vaginal microbiota; cytokines; phosphoinositide 3-kinase; protein kinase B

宫颈炎是 20~40 岁育龄女性的常见病和多发病,阴道、宫颈黏膜及宫颈部都会受到影响,镜下可见宫颈腺上皮、鳞状上皮增生。阴道微生态是在内分泌、免疫系统及阴道微生物相互作用下,维持动态平衡的微生态系统。相关研究表明,宫颈炎的发生与机体炎症细胞因子的异常表达及胶原蛋白的沉积密切相关^[1]。有研究发现,白细胞介素(IL)及分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)对宫颈炎患者的治疗及恢复具有重要意义^[2]。磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)和蛋白激酶 B(Akt)表达异常可能会导致炎症发生^[3]。槲皮素是一种黄酮类化合物,具有抗氧化、清除自由基及调控下游信号通路的作用^[4]。有研究认为,槲皮素可抑制炎症反应^[5],因此本研究探讨了槲皮素对宫颈炎大鼠阴道微生态、局部细胞因子及 PI3K、Akt 蛋白的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 购买 60 只雌性未孕 SPF 级 SD 大鼠[凯学生物科技(上海)有限公司,许可证号:SCXK(沪)2019-15],鼠龄 3 个月,平均体质量为(230 $\pm$ 20)g。在(24 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度为 50%~80%的环境下饲养,12 h 昼夜交替,正常摄食。实验于本院动物实验室完成,实验严格遵守《实验动物管理条例》规定。

1.2 主要仪器与试剂 LTS-V80 全自动阴道微生态

检测仪购自珠海丽拓生物科技有限公司,LXJ-2A 型落地式离心机购自长沙市科伟仪器厂,UNION 免疫分析仪购自深圳亚辉龙生物科技有限公司;BC-5000 型全自动血细胞计数仪购自深圳桥生医疗器械科技有限公司。隐血试剂盒购自安徽深蓝医疗科技股份有限公司;苯酚胶浆参照文献[6]方法配制,室温保存;IL-1 β 、IL-6、IL-8 放射免疫分析试剂盒均购自上海信裕生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大鼠分组及宫颈炎模型建立 60 只大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、西药组、槲皮素低剂量组、槲皮素中剂量组及槲皮素高剂量组,每组 10 只。常规饲养大鼠第 3 天,除正常组外,给模型组、西药组、槲皮素低剂量组、槲皮素中剂量组及槲皮素高剂量组大鼠阴道推入 0.2 mL 苯酚胶浆构造模型,并用医用灭菌棉将阴道堵塞,1 次/3 d,共 5 次,直至大鼠宫颈口出现红肿,有脓性物质流出,提示宫颈炎模型构建成功。

1.3.2 注射药物 建模成功后,根据文献[7]计算给药剂量。在槲皮素低、中、高剂量组大鼠距阴道 1.5 cm 处分别注入浓度为 35、55、80 μ mol/L 的槲皮素(美国 Signal Chemical 公司,含量为 98%,相对分子质量为 302)。西药组大鼠阴道注入 0.081 g/kg 抗宫

颈炎片研磨冲剂(江西海尔思药业股份有限公司,国药准字 Z36020278),模型组、正常组大鼠阴道注入等量生理盐水。各组均 1 次/d,连续注射 7 d。

1.3.3 检测大鼠白细胞、中性粒细胞计数及血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平 末次灌胃后,抽取各组大鼠腹腔动脉血 3 mL,取 30 μ g 匀浆离心,15 min 后分离上清液,采用全自动血细胞计数仪检测白细胞、中性粒细胞计数,采用酶联免疫吸附试验测定血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平。

1.3.4 检测大鼠阴道微生态 pH 值、SIgA 水平及乳酸杆菌异常情况 对大鼠末次灌胃后次日清晨提取的 100 μ L 阴道后穹窿分泌物标本进行稀释处理,采用全自动阴道微生态检测仪进行分析。对稀释后的标本进行瑞氏吉姆萨染色后,在油镜下仔细观察乳酸杆菌异常改变^[8]。严格参照说明书,进行阴道 pH 值检测,当 pH 值 $\geq$ 4.5 表明阴道微生态已失衡。完成上述检测后,在之前采集的 100 μ L 阴道后穹窿分泌物标本中加入 SIgA 放射免疫分析试剂,按照说明书的步骤进行操作,检测 SIgA 水平。

1.3.5 大鼠宫颈组织病理学及 PI3K、AKT 蛋白表达 颈部脱臼处死大鼠,取大鼠适量宫颈组织经石蜡包埋、切片后进行苏木精-伊红(HE)染色,通过光镜放大 200 倍观察宫颈组织变化。采用自制百分制评分表记录各组大鼠宫颈情况,得分越高,说明宫颈状态越好, $\geq$ 80 分表示宫颈组织正常,无明显炎症细胞或炎症细胞较少,60~<80 表示宫颈黏膜上皮细胞存在轻微变性,炎症细胞减少,<60 分表示宫颈黏膜上皮细胞变性,黏膜及其下固有层充血水肿及炎症细胞

浸润。使用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取宫颈组织总蛋白,用二喹啉甲酸法(BCA)试剂盒定量后,将 25 μ g 的蛋白质进行 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,并通过半干转移将其转移到聚偏氟乙烯膜上。在室温下,用 5%脱脂牛奶封闭膜 1 h,置于 4 $^{\circ}$ C 环境中,与一抗 PI3K(1:500)、Akt(1:500)和 GAPDH(1:1 000)孵育过夜,再将膜置于过氧化物酶抗兔免疫球蛋白(Ig)G 二抗(1:2 500)中,放在 37 $^{\circ}$ C 环境中孵育 1 h。用化学发光试剂显影 5 min 后,将蛋白条带暴露在 ECL 成像系统上,凝胶成像系统拍照,以 GAPDH 为内参计算各条带灰度值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠阴道微生态 pH 值、SIgA 及乳酸杆菌异常情况比较 各组 pH 值、乳酸杆菌异常比例、SIgA 水平比较结果显示,正常组<槲皮素高剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素低剂量组<模型组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组与槲皮素高剂量组大鼠阴道微生态 pH 值、SIgA 水平及乳酸杆菌异常比例比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。西药组 pH 值、乳酸杆菌异常比例、SIgA 水平高于正常组,低于槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠阴道微生态 pH 值、SIgA 及乳酸杆菌异常情况比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

组别	<i>n</i>	pH 值	乳酸杆菌异常	SIgA(μ g/mL)
正常组	10	4.12 $\pm$ 0.16	1(10)	12.19 $\pm$ 6.43
模型组	10	4.96 $\pm$ 0.28 ^a	9(90) ^a	32.17 $\pm$ 9.71 ^a
槲皮素低剂量组	10	4.75 $\pm$ 0.13 ^{ab}	7(70) ^{ab}	27.21 $\pm$ 7.35 ^{ab}
槲皮素中剂量组	10	4.58 $\pm$ 0.21 ^{abc}	6(60) ^{abc}	23.46 $\pm$ 7.24 ^{abc}
槲皮素高剂量组	10	4.27 $\pm$ 0.22 ^{abcd}	4(40) ^{abcd}	19.38 $\pm$ 7.49 ^{abcd}
西药组	10	4.26 $\pm$ 0.26 ^{abcd}	4(40) ^{abcd}	19.41 $\pm$ 7.44 ^{abcd}
<i>F</i> / χ^2		22.840	17.415	8.213
<i>P</i>		<0.001	0.003	<0.001

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与槲皮素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与槲皮素中剂量组比较,^d $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠白细胞、中性粒细胞计数比较 各组白细胞、中性粒细胞计数比较结果显示,正常组<槲皮素高剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素低剂量组<模型组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组与槲皮素高剂量组白细胞、中性粒细胞计数比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

西药组白细胞、中性粒细胞计数高于正常组,低于槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平比较 各组血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平比较结果显示,正常组<槲皮素高剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素低

剂量组<模型组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组与槲皮素高剂量组血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。西药组血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平高于正常组,低于槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 治疗前后各组大鼠宫颈评分比较 治疗后,槲皮素高剂量组、槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、西药组宫颈评分高于治疗前,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,各组宫颈评分比较结果显示,模型组<槲皮素低剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素高剂量组<正常组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组宫颈评分高于模型组、槲皮素低剂量组、槲皮素中剂量组,低于正常组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.5 各组大鼠宫颈组织学检查结果 各组宫颈组织学检查结果显示,正常组大鼠宫颈状态完好,无结构异常,上皮细胞整齐排列;模型组大鼠的宫颈组织细胞间分泌物增多,变性坏死细胞分布广泛,炎症细胞浸润严重;低、中、高槲皮素组及西药组炎症细胞的浸润范围及数量随着药物浓度增加而减少,高剂量槲皮素组减少最多。见图 1。

表 3 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、IL-8 水平比较($\bar{x}\pm s$,pg/nL)

组别	<i>n</i>	IL-1 β	IL-6	IL-8
正常组	10	110.85 $\pm$ 23.14	61.26 $\pm$ 15.34	62.29 $\pm$ 13.37
模型组	10	142.52 $\pm$ 18.23 ^a	97.46 $\pm$ 11.16 ^a	99.41 $\pm$ 12.19 ^a
槲皮素低剂量组	10	135.61 $\pm$ 17.45 ^{ab}	94.31 $\pm$ 12.32 ^{ab}	92.39 $\pm$ 12.14 ^{ab}
槲皮素中剂量组	10	128.59 $\pm$ 12.72 ^{abc}	90.24 $\pm$ 11.27 ^{abc}	87.36 $\pm$ 11.23 ^{abc}
槲皮素高剂量组	10	123.47 $\pm$ 16.64 ^{abcd}	84.53 $\pm$ 13.28 ^{abcd}	82.32 $\pm$ 12.21 ^{abcd}
西药组	10	122.53 $\pm$ 18.21 ^{abcd}	85.49 $\pm$ 13.11 ^{abcd}	82.43 $\pm$ 13.18 ^{abcd}
<i>F</i>		3.771	10.110	10.330
<i>P</i>		0.005	<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与槲皮素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与槲皮素中剂量组比较,^d $P<0.05$ 。

表 4 治疗前后各组大鼠宫颈评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	治疗前	治疗后
正常组	10	97.28 $\pm$ 0.41	97.28 $\pm$ 0.41
模型组	10	40.21 $\pm$ 0.23	40.28 $\pm$ 0.21 ^a
槲皮素低剂量组	10	40.27 $\pm$ 0.29	69.19 $\pm$ 0.45 ^{abc}
槲皮素中剂量组	10	40.35 $\pm$ 0.20	75.70 $\pm$ 0.43 ^{abce}
槲皮素高剂量组	10	40.29 $\pm$ 0.28	82.30 $\pm$ 0.41 ^{abcde}
西药组	10	40.30 $\pm$ 0.21	82.22 $\pm$ 0.47 ^{abcde}
<i>F</i>		383.900	391.300
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与槲皮素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与槲皮素中剂量组比较,^d $P<0.05$;与同组治疗前比较,^e $P<0.05$ 。

2.6 各组大鼠 PI3K、Akt 蛋白表达水平比较 各组 PI3K、Akt 蛋白表达水平比较结果显示,正常组<槲皮素高剂量组<槲皮素中剂量组<槲皮素低剂量组<模型组,任意 2 组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组与槲皮素高剂量 PI3K、Akt 蛋白表达水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。西药组 PI3K、Akt 蛋白表达水平高于正常组,低于槲皮素中剂量组、槲皮素低剂量组、模型组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 5、图 2。

表 2 各组大鼠白细胞、中性粒细胞计数比较($\bar{x}\pm s$, $\times 10^9$ /L)

组别	<i>n</i>	白细胞计数	中性粒细胞计数
正常组	10	7.45 $\pm$ 3.12	2.82 $\pm$ 0.41
模型组	10	16.65 $\pm$ 2.81 ^a	14.26 $\pm$ 1.23 ^a
槲皮素低剂量组	10	14.28 $\pm$ 2.46 ^{ab}	10.15 $\pm$ 1.67 ^{ab}
槲皮素中剂量组	10	12.52 $\pm$ 2.38 ^{abc}	7.22 $\pm$ 1.42 ^{abc}
槲皮素高剂量组	10	10.63 $\pm$ 2.37 ^{abcd}	5.36 $\pm$ 1.25 ^{abcd}
西药组	10	10.59 $\pm$ 2.42 ^{abcd}	5.24 $\pm$ 1.31 ^{abcd}
<i>F</i>		15.190	103.000
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与槲皮素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与槲皮素中剂量组比较,^d $P<0.05$ 。

表 5 各组大鼠 PI3K、Akt 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PI3K 蛋白	Akt 蛋白
正常组	10	0.44 $\pm$ 0.05	0.84 $\pm$ 0.14
模型组	10	1.10 $\pm$ 0.21 ^a	2.33 $\pm$ 0.30 ^a
槲皮素低剂量组	10	0.83 $\pm$ 0.13 ^{ab}	1.91 $\pm$ 0.27 ^{ab}
槲皮素中剂量组	10	0.71 $\pm$ 0.10 ^{abc}	1.60 $\pm$ 0.22 ^{abc}
槲皮素高剂量组	10	0.65 $\pm$ 0.08 ^{abcd}	1.47 $\pm$ 0.18 ^{abcd}
西药组	10	0.64 $\pm$ 0.11 ^{abcd}	1.50 $\pm$ 0.20 ^{abcd}
<i>F</i>		32.070	48.790
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与槲皮素低剂量组比较,^c $P<0.05$;与槲皮素中剂量组比较,^d $P<0.05$ 。

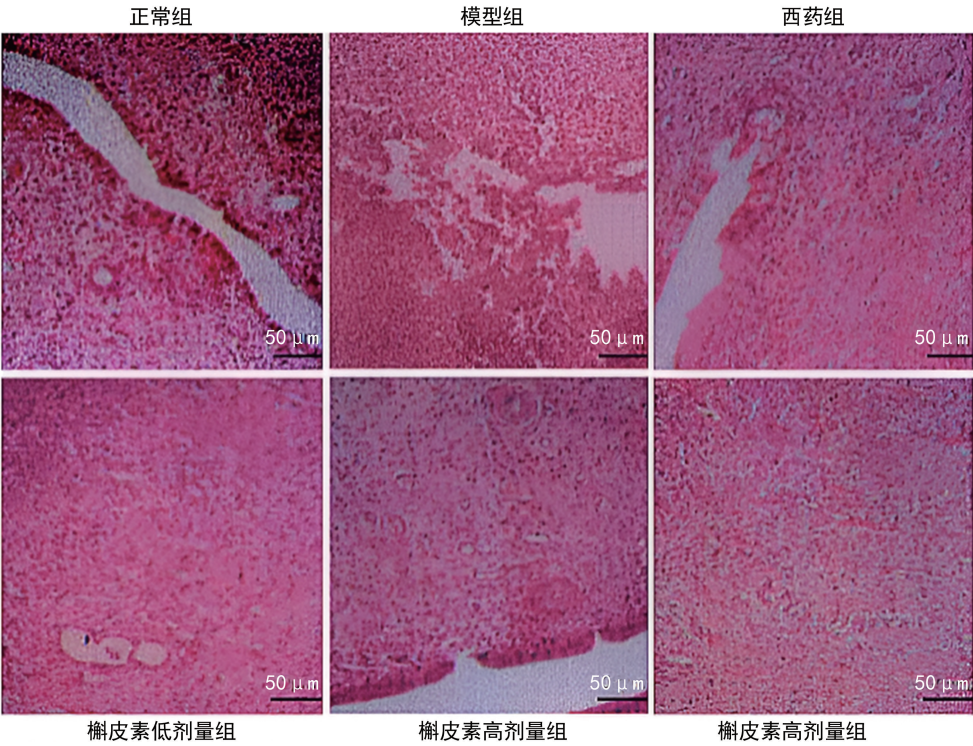


图 1 各组大鼠宫颈组织学检查结果(200×,HE 染色)

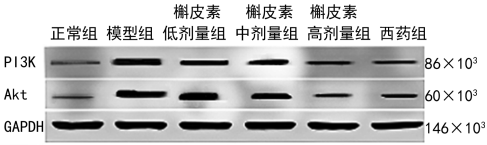


图 2 免疫印迹法测定各组大鼠 PI3K、Akt 蛋白表达

3 讨 论

当前,约 50%的已婚女性都患有慢性宫颈炎,该病病程较长,易反复,严重影响患者的工作、生活和学习^[9]。临床常用抗菌药物治疗,虽可在一定程度上消灭病原微生物,但也影响正常细胞的功能,易产生不良反应^[10]。槲皮素妇科外治法首见于张仲景《金匱要略·妇人杂病脉证并治篇》^[11-12],借助槲皮素起到解毒消肿、清热抗炎、灭病杀菌的作用,根据患者的体质及疾病产生的原因从根本上治疗慢性妇科炎症^[13]。本研究将槲皮素应用于宫颈炎模型大鼠的治疗中,探讨在治疗宫颈炎方面,槲皮素作为一种新型药物的可能性。临床已有槲皮素对机体多种细胞保护作用的应用研究,例如孙玉兰等^[14]研究发现,槲皮素改善宫颈炎宫颈组织充血水肿状态,减轻炎症细胞浸润,治疗效果明显。1 项临床研究证实,槲皮素能通过下调 HeLa 细胞中核苷酸结合寡化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)炎症小体表达,促进癌细胞凋亡,对改善宫颈癌患者预后具有积极意义^[15]。

正常情况下阴道呈弱酸性,这一酸性环境主要由乳酸杆菌维持。乳酸杆菌能够将阴道上皮糖原转化为乳酸,一方面为自身生长提供适宜环境,另一方面有效抑制厌氧菌等致病杂菌的生长繁殖,保障阴道微

生态的稳定,抵御病原体入侵,防止宫颈病变的发生^[16]。在阴道正常菌群的代谢过程中,会产生 SIgA 水解酶,它能够裂解 SIgA,从而维持阴道内 SIgA 水平的相对稳定。SIgA 是阴道黏膜免疫的重要组成部分,在抵御病原体方面发挥着关键作用。然而,一旦阴道微生态平衡被打破,菌群比例失调,细菌代谢产物随之改变,SIgA 水解酶的产生和活性受到影响,导致 SIgA 降解减少。这会刺激阴道免疫系统,引发免疫应答,促使 SIgA 合成增加,进而使局部 SIgA 水平升高。本研究结果显示,各组大鼠经槲皮素干预后,槲皮素能够有效控制阴道 pH 值及 SIgA 水平,恢复阴道乳酸杆菌比例,减轻宫颈炎症。机体炎症发生时,大量自由基产生,攻击细胞造成损伤,补充槲皮素后,它不仅能促进药物吸收,还能通过抗氧化反应减少自由基,降低炎症因子水平。宫颈炎排出物中有大量灰白色脓液,阴道水肿、宫颈充血、炎症反应发生后细胞因子 IL-1 β 及 IL-6 被激活,细胞变性、坏死及细胞脱落现象严重,白细胞计数升高,进一步加重炎症反应,免疫功能受到抑制。本研究结果表明,经槲皮素干预后,宫颈炎大鼠白细胞、中性粒细胞计数均明显降低。研究证实,槲皮素可通过抑制炎症因子释放,控制 pH 值及 SIgA 水平,从而有效抑制身体炎症^[17]。相关研究报道,槲皮素的抗炎效果有利于维持阴道 pH 值正常范围,促使 SIgA 在阴道黏膜免疫中呈低水平,保护阴道生态环境^[18]。本研究宫颈组织切片结果可以看出,槲皮素干预后宫颈组织形态损伤减轻,阴道及宫颈充血水肿状态改善,也证实了槲皮素对宫颈形态改善的积极影响。槲皮素具有抗氧化、抗

炎及免疫调节等作用,能减少促炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 的产生,改善宫颈炎症^[4,19]。有学者认为槲皮素可以通过阻断细胞系 TXNIP 的胞内穿梭,抑制果糖诱导的 NLRP3 炎症活化,减少白细胞计数,从而达到快速消炎的效果^[20]。

PI3K 能与多种细胞内靶蛋白结合,形成信号级联复合物,通过磷酸化作用激活 Akt,进而调控细胞的增殖、存活、代谢等多种生物学过程,当机体发生炎症反应时,PI3K 呈高表达^[21]。本研究发现,对大鼠进行不同剂量槲皮素干预后,PI3K、Akt 蛋白表达水平明显下降,这表明槲皮素能够有效抑制大鼠 PI3K/Akt 信号通路的活化,从而减少炎症因子的分泌,缓解宫颈炎反应。槲皮素可与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用,精准控制 PI3K/Akt 信号通路被各种理化因素和细胞因子激活的过程。在这一过程中,会产生磷酸肌醇二磷酸(PIP2),它作为细胞内第 2 信使发挥功能,改变 Akt 的蛋白结构,抑制 Akt 活化,最终达到抑制宫颈炎发展的作用^[22]。有研究结果表明,PI3K/Akt 信号通路因子主要通过影响下游多种效应分子发挥作用,且在多种肿瘤发生早期显著增多^[23]。

本研究存在一定不足,如观察时间较短,样本量不足,未进行更多组别的实验,可能对结果产生一定影响,故今后应加强合作,扩大样本量充实实验内容,为宫颈炎的研究提供实验依据。综上所述,槲皮素可能通过抑制 IL-1 β 、IL-6、IL-8 等局部细胞因子水平,减轻炎症反应从而恢复宫颈炎大鼠阴道微生态环境,呈现剂量依赖性,可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路激活相关。本文探讨了槲皮素对宫颈炎大鼠阴道微生态、局部细胞因子及 PI3K、Akt 蛋白的作用机制,防止长期使用抗菌药物造成的耐药性和阴道内菌群失调,也避免了物理疗法和手术方法对机体的损害,因此槲皮素的使用对治疗宫颈炎有着显著的临床应用价值。

随着对槲皮素在宫颈炎治疗中作用的研究不断深入,笔者对其改善阴道微生态、调节局部细胞因子及作用于 PI3K、Akt 蛋白的机制有了初步的认识。未来的研究有望在以下几个方面取得更深入的成果:首先,进一步明确槲皮素在不同阶段和不同类型宫颈炎中的具体疗效和最佳使用剂量,通过大规模、多中心的临床试验,为临床应用提供更精准的指导。其次,深入探讨槲皮素与其他治疗手段的联合应用效果。例如,与传统药物、物理治疗或者新兴的生物疗法结合,是否能够产生协同作用,提高宫颈炎的治愈率,降低复发率。再者,对于槲皮素影响阴道微生态的作用机制,还有待从微生物群落的整体结构和功能层面进行更全面的解析。此外,在细胞因子和蛋白通路方面,研究应聚焦于槲皮素如何通过调节 PI3K、

Akt 蛋白等信号通路,实现对宫颈炎病理过程的精准干预,揭示疾病的发病机制,为开发新的治疗靶点和药物提供重要的理论依据,为宫颈炎患者带来更安全、有效的治疗方案,显著提升患者的生活质量,为妇科疾病的防治工作做出重要贡献。

参考文献

- [1] SALMANOV A G, ARTYOMENKO V, KOCTJUK I M, et al. Cervicitis as a cause of preterm birth in women [J]. *Wiad Lek*, 2022, 75(11 pt 2): 2715-2721.
- [2] 张燕, 卢美萍. 白细胞介素及其相关基因多态性与儿童支气管哮喘相关性的研究进展[J]. *中国妇幼保健*, 2023, 38(2): 385-388.
- [3] 王文亮, 李红, 徐甘霖, 等. PI3K/Akt-miR-126 通路在儿童支气管哮喘缓解期的作用与中医证型关系[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(5): 5-8.
- [4] DI PETRILLO A, ORRÙ G, FAIS A, et al. Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: a comprehensive review[J]. *Phytother Res*, 2022, 36(1): 266-278.
- [5] 王龙飞, 高玉海, 谢高倩, 等. 槲皮素改善骨质疏松的作用机制研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(3): 714-718.
- [6] 孙兰, 李家春, 宗绍波, 等. 参蒲盆炎颗粒对苯酚胶浆诱导子宫内膜炎大鼠核因子- κ B 信号通路的影响[J]. *世界中医药*, 2020, 15(13): 1926-1929.
- [7] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [8] 马灵云, 张汝倩, 赵君, 等. HR-HPV 感染对宫颈阴道微生态、miR-21、CDK5 表达的影响[J]. *临床误诊误治*, 2023, 36(10): 112-116.
- [9] DE LORENZO-PINTO A, ORTEGA-NAVARRO C, TORR-OBASANZ B, et al. Appropriateness of empirical antibiotic therapy for cervicitis and urethritis prescribed in the emergency department[J]. *Hosp Pharm*, 2023, 58(1): 106-110.
- [10] 彭飞平, 周芳, 邝国超, 等. 左氧氟沙星联合阿奇霉素在急性宫颈炎患者中的应用[J]. *海南医学*, 2021, 32(13): 1684-1687.
- [11] 谢建, 林洁. 从温经汤谈张仲景对妇科疾病的诊疗思路[J]. *湖南中医杂志*, 2021, 37(6): 110-111.
- [12] 杨娇娇, 徐光星. 《金匱要略·妇人杂病脉证并治》第八条浅析[J]. *浙江中医药大学学报*, 2016, 40(8): 585-588.
- [13] JIN T, ZHANG Y, BOTCHWAY B O A, et al. Quercetin activates the Sestrin2/AMPK/SIRT1 axis to improve amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114515.
- [14] 孙玉兰, 顾云鹏, 王宏达, 等. 槲皮素对宫颈炎模型大鼠治疗效果的初步实验研究[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(2): 222-225.
- [15] 唐阳芳, 王稳莹, 陈蕊, 等. NLRP3 炎症小体在槲皮素诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡中的作用[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(1): 5-9.

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2025. 08. 012

miR-29 对糖尿病中内皮细胞线粒体自噬的影响及其机制研究^{*}

申永慧¹, 刘俊红¹, 刘翠霞², 曹淑丽¹, 王群超¹, 连 娜¹

1. 邯郸市眼科医院内科, 河北邯郸 056000; 2. 邯郸市医疗保障局, 河北邯郸 056000

摘 要: **目的** 探讨 miR-29 对糖尿病小鼠内皮细胞线粒体自噬及胰岛素抵抗的影响及其作用机制。**方法** 选取 16 只雄性非糖尿病小鼠作为对照组, 另选取 32 只鼠龄匹配的雄性糖尿病小鼠构建糖尿病模型, 将造模成功的小鼠随机分为模型组和 miR-29 agomir 组, 检测小鼠血清空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白(HDL-C)、空腹胰岛素(FINS)水平及稳态模型评估胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、定量胰岛素敏感性检查指数(QUICKI)。在高糖诱导的人脐静脉内皮细胞(HU-VECs)中建立糖尿病模型, 将增长率为 80% 的细胞分为 NC 组、HG 组、二甲基亚砷(DMSO)组、HG+miR-29 agomir 组、羧基氰化物间氯苯胂(CCCP)组、CCCp+miR-29 agomir 组, 分别采取不同的方式培养。通过苏木精-伊红(HE)、阿尔辛蓝(AB)、弹性纤维以及 Masson 和网状纤维染色研究 db/db 小鼠胸主动脉的病理变化。蛋白质印迹法检测 db/db 小鼠胸主动脉, 以及高糖和 CCCP 诱导的 HUVECs 中 BCL2 相关的 X(BAX)、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Beclin1、Parkin 和 PTEN 诱导的激酶 1(Pink1)蛋白的表达水平。细胞划痕试验和 Mito-Tracker Red CMXRos 染色分别检测 HUVECs 的迁移情况和线粒体活性。**结果** 模型组和 miR-29 agomir 组血清 TC、TG、LDL-C、FBG、FINS 水平及 HOMA-IR、QUICKI 高于对照组, 且模型组高于 miR-29 agomir 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。模型组和 miR-29 agomir 组血清 HDL-C 水平低于对照组, 且模型组低于 miR-29 agomir 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HE 染色结果显示, 与对照组相比, 模型组动脉壁明显增厚, 动脉中膜和外膜间隙加宽, 浸润细胞显著增加。AB 染色结果显示, 与对照组相比, 模型组和 miR-29 agomir 组小鼠的动脉中膜和外膜间隙中可见蓝色酸性黏液。Masson 染色结果显示, 与对照组相比, 模型组的胶原纤维明显较厚, 细胞排列混乱且分布不均。弹性纤维染色结果显示, 与对照组相比, 模型组的动脉中膜和外膜间隙变宽, 并失去了原来的不均匀形状。网状纤维染色结果显示, 与对照组相比, 模型组和 miR-29 agomir 组小鼠的网状纤维色增强并紊乱。模型组和 miR-29 agomir 组小鼠的胸主动脉 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 蛋白表达水平高于对照组, 且模型组高于 miR-29 agomir 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。模型组和 miR-29 agomir 组小鼠的胸主动脉 Bcl-2 蛋白表达水平低于对照组, 且模型组低于 miR-29 agomir 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HG 组 HUVECs 的伤口距离长于 NC 组, HG+miR-29 agomir 组伤口距离短于 NC 组和 HG 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HG 组 HUVECs 的线粒体活性弱于 NC 组, HG+miR-29 agomir 组 HUVECs 的线粒体活性强于 HG 组, 弱于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HG 组 HUVECs 中 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 表达水平高于 NC 组, HUVECs 中 Bcl-2 表达水平低于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。HG+miR-29 agomir 组 HUVECs 中 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 表达水平低于 HG 组和 NC 组, HUVECs 中 Bcl-2 表达水平高于 HG 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。CCCp 组 HUVECs 的伤口距离长于 NC 组, 线粒体活性弱于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。CCCp+miR-29 agomir 组 HUVECs 的伤口距离短于 NC 组和 CCCP 组, 线粒体活性强于 CCCP 组, 弱于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。CCCp 组 HUVECs 中 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 蛋白表达水平高于 NC 组, Bcl-2 蛋白表达水平低于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。CCCp+miR-29 agomir 组 HUVECs 中 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 蛋白表达水平低于 CCCP 组, Bcl-2 表达水平高于 CCCP 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。CCCp+miR-29 agomir 组 HUVECs 中 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 蛋白表达水平低于 NC 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** miR-29 agomir 显著改善 db/db 小鼠的高脂血症、高血糖、高胰岛素血症和胰岛素抵抗。此外, 根据组织病理学分析, 它显著减轻了糖尿病诱导的血管内皮功能障碍。在 db/db 小鼠胸主动脉中, 高糖和 CCCP 诱导的 HUVECs 中, miR-29 agomir 显著增加 Bcl-2 的表达, 减少 BAX、Beclin1、Parkin 和 Pink1 的表达, 从而保护内皮细胞免受凋亡和线粒体自噬。此外, miR-29 agomir 具有显著增强高糖和 CCCP 诱导的 HU-VECs 的迁移、线粒体活性的作用。miR-29 通过下调内皮细胞的凋亡和抑制线粒体自噬来改善糖尿病诱导的内皮和线粒体功能障碍, 提示 miR-29 可能是糖尿病胰岛素抵抗中的潜在治疗靶点。

关键词: 微小 RNA-29; 内皮细胞; 线粒体自噬; 胰岛素抵抗

^{*} 基金项目: 2022 年度河北省医学科学研究课题计划(20220479)。

作者简介: 申永慧, 女, 主治医师, 主要从事内科方向的研究。