

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.09.008

桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎大鼠粘连修复相关指标、免疫功能及肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-2的影响*

阿小英¹ 甘芳¹ 李琴² 朵红梅³ 李娟娟¹

(1 青海大学附属医院妇科 青海 西宁 810001; 2 青海大学附属医院产科 青海 西宁 810001;

3 青海省第四人民医院妇科 青海 西宁 810001)

摘要 目的:研究桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎(CPID)大鼠粘连修复相关指标、免疫功能及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-2(IL-2)的影响。**方法:**选择SD清洁级雌性大鼠60只,根据随机数字表法将其分成6组,每组10只,分别为对照组、假手术组、模型组、高剂量组(给药剂量为2.0 g/kg)、中剂量组(给药剂量为1.0 g/kg)、低剂量组(给药剂量为0.5 g/kg)。造模后,对照组和假手术组及模型组均予以蒸馏水灌胃,1次/d,剂量为1 mL/100 g,各剂量组均根据相应剂量的桂枝茯苓胶囊灌胃,1次/d。对比各组大鼠粘连修复相关指标[转化生长因子- β 1(TGF- β 1)和血管内皮生长因子(VEGF)],免疫指标[红细胞C3b受体花环率、免疫复合物花环率、免疫球蛋白A(IgA)、IgG、IgM],TNF- α 、IL-2水平及子宫内膜病变情况。**结果:**造模后,各剂量组、对照组和假手术组红细胞C3b受体花环率、IL-2、IgA、IgG和IgM水平均明显高于模型组,但各剂量组IgA、IgG和IgM水平仍低于对照组和假手术组(均 $P<0.05$);各剂量组、对照组和假手术组免疫复合物花环率、TNF- α 、病理综合评分、TGF- β 1和VEGF水平均明显低于模型组,但各剂量组病理综合评分、TGF- β 1和VEGF水平仍高于对照组和假手术组(均 $P<0.05$)。**结论:**桂枝茯苓胶囊治疗CPID可能与其抑制炎症水平、促进粘连修复、提升免疫功能有关。

关键词:桂枝茯苓胶囊;慢性盆腔炎;大鼠;子宫内膜病变;免疫功能;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-2

中图分类号:R-33;R711.33;R711.74 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)09-1639-05

Effects of Guizhi Fuling Capsule on Adhesion Repair Indexes, Immune Function, Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-2 in Rats with Chronic Pelvic Inflammation Disease*

A Xiao-ying¹, GAN Fang¹, LI Qin², DUO Hong-mei³, LI Juan-juan¹

(1 Department of Gynaecology, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining, Qinghai, 810001, China;

2 Department of Obstetrics, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining, Qinghai, 810001, China;

3 Department of Gynaecology, The Fourth People's Hospital of Qinghai Province, Xining, Qinghai, 810001, China)

ABSTRACT Objective: To study the effects of Guizhi Fuling capsule on the adhesion repair indexes, immune function, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-2 (IL-2) in rats with chronic pelvic inflammatory disease (CPID). **Methods:** 60 SD clean grade female rats were selected, and they were divided into 6 groups according to the random number table method, with 10 rats in each group, namely the control group, the sham operation group, the model group, the high dose group (the dose was 2.0 g/kg), the medium dose group (the dose was 1.0 g/kg) and the low dose group (the dose was 0.5 g/kg). After modeling, the control group, the sham operation group and the model group were all given distilled water gavage, 1 times/d, at the dose of 1 mL/100 g, and each dose group was gavage with the corresponding dose of Guizhi Fuling capsule 1 times/d. The adhesion repair indexes [transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) and vascular endothelial growth factor (VEGF)], immune indexes [red blood cells C3b receptor garland rate, immune complex garland rate, immunoglobulin A(IgA), IgG, IgM], TNF- α , IL-2 levels and endometrial lesions in each group were compared. **Results:** After modeling, red blood cells C3b receptor garland rate, IL-2, IgA, IgG and IgM levels in each dose group, the control group and the sham operation group were significantly higher than those in the model group, but the IgA, IgG and IgM levels in each dose group were still lower than those in the control group and sham operation group (all $P<0.05$). The immune complex garland rate, TNF- α , pathological composite score, TGF- β 1 and VEGF levels in each dose group, the control group and the sham operation group were significantly lower than those in the model group, but the pathological composite score, TGF- β 1 and VEGF levels in each dose group were still higher than those in the control group and the sham operation group (all $P<0.05$). **Conclusion:** The treatment of CPID with Guizhi Fuling capsule may be related to the inhibition of inflammation levels, the promotion of adhesion repair and the improvement of immune function.

* 基金项目:青海省科技厅基金项目(2018-ZJ-711)

作者简介:阿小英(1980-),女,本科,主治医师,研究方向:妇科疾病,E-mail: axiaoying1980@163.com

(收稿日期:2020-11-12 接受日期:2020-12-07)

Key words: Guizhi Fuling capsule; Chronic pelvic inflammation disease; Rats; Endometrial lesions; Immune function; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-2

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R711.33; R711.74 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)09-1639-05

前言

慢性盆腔炎 (chronic pelvic inflammatory disease, CPID) 作为临床妇科高发疾病类型, 是女性内生殖器官及其周围组织和盆腔腹膜等部位发生的慢性炎症^[1]。该病病因十分复杂, 部分患者是由于自身体质较差, 在其急性盆腔炎未得到及时彻底治疗情况下, 病情反复而导致, 但也有患者是由衣原体等微生物感染导致^[2]。CPID 不易根治, 其病情顽固易反复发作, 同时, 患者还存在月经紊乱以及腰腹部疼痛等症状, 严重者甚至引发不孕, 对患者健康及生活均造成严重不良影响^[3]。由于 CPID 与机体的炎症状态具有紧密的联系, 而免疫过程与炎症情况之间的关系又难以分割^[4], 而盆腔炎发病与纤维结缔组织增生及粘连有关, 因此其发病机制与体内促组织纤维化因子有密切关系^[5], 转化生长因子- β 1 (Transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 和血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 均是重要的粘连修复指标^[6], 因此, 本研究通过分析桂枝茯苓胶囊对 CPID 大鼠粘连修复相关指标、免疫功能及肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 的影响, 旨在为 CPID 的治疗提供数据支持, 现报道如下。

1 材料方法

1.1 实验动物与分组

选择 SD 清洁级雌性大鼠 (购自青海省药品检验检测院, 许可证号为 SYXK(青)2019-0001) 60 只, 体重为 200~230 g, 平均(214.98 $\pm$ 2.13)g。根据随机数字表法将其分成 6 组, 每组 10 只, 分别为对照组、假手术组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组。

1.2 研究方法

1.2.1 仪器试剂 (1) 苯酚: 购自国药集团化学试剂公司, 批号 T20060718; (2) TNF- α 和 IL-2 检测试剂盒均购自北京华英研究所; (3) MaxVisionTM 型免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂均购自深圳晶美工程公司; (4) Centrifuge5840 离心机及 r-911 放免计数器, 以及 MiniSee 图像采集系统等均购自中科大实业总公司; (5) FACS Aria 型流式细胞仪, 购自美国 Becton-Dickinson 公司。

1.2.2 模型制备与干预措施 采用混合菌联合机械损伤造模法进行造模, 先对大鼠开腹, 暴露出子宫, 使用 1 mL 注射器将 0.2 mL 比例为 2:1:1 的大肠杆菌和乙型溶血型链球菌以及金黄色葡萄球菌的混合液注入模型组、各剂量组大鼠的两侧子宫中 (在注射前先通过注射器将大鼠的子宫内组织进行机械性损伤), 使每侧宫腔均含 0.1 mL 混合液, 假手术组仅注射等量的蒸馏水。造模 15 d 后由病理学发现炎症细胞浸润记为造模成功。于造模 3 周之后为大鼠给药, 其中对照组和假手术组以及模型组均予以蒸馏水灌胃, 1 次/d, 剂量为 1 mL/100 g。低、中、

高剂量组分别以 0.5 g/kg、1.0 g/kg 及 2.0 g/kg 的剂量给予桂枝茯苓胶囊组灌胃处理, 1 次/d。

1.2.3 观察指标 对给药后第 15 d 的大鼠晨间禁食, 通过心脏取血法抽取 5 mL 的血液标本, 并开腹提取其子宫组织。(1) 取 2 mL 血液标本行 10 min 3000 r/min 的离心后, 分离血清, 采用免疫组化 S-P 法检测大鼠子宫组织中粘连修复相关指标 TGF- β 1 和 VEGF 水平。根据放射免疫分析法测定 IL-2 和 TNF- α 的水平, 另取 2 mL 的血液标本经肝素抗凝, 行 10 min 3000 r/min 的离心后, 取上清血浆, 采用酶联免疫吸附法测定大鼠血浆免疫球蛋白 A(IgA)、IgG 和 IgM 水平, 取剩余 1 mL 血样, 采用郭峰法检测红细胞 C3b 受体花环率以及免疫复合物花环率, 严格依照试剂盒的说明书步骤进行操作。(2) 子宫组织制成石蜡切片, 行 HE 染色, 在显微镜下观察大鼠子宫内膜有关上皮细胞的变性坏死以及间质炎症浸润和肌层增生情况, 对病变程度分别计分: 无病变计 0 分, 极轻度计 1 分, 轻度且病变范围 < 1/3 计 2 分, 中度且病变范围为 1/3~2/3 计 3 分, 重度且病变范围 > 2/3 计 4 分。炎性细胞浸润评分: 无浸润计 0 分, 极少量浸润计 1 分, 在黏膜固有层存在少量浸润计 2 分, 在肌层可见计 3 分, 全层可见计 4 分。将二者得分进行相加, 病理综合评分分值越高表示盆腔病变越严重。

1.3 统计学方法

采用 SPSS21.0 统计软件分析, 计数资料以率(%)表示, 行 χ^2 检验。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 行 t 检验, 多组间比较采用 F 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组粘连修复相关指标的比较

各剂量组、对照组和假手术组的 TGF- β 1 和 VEGF 水平均分别明显低于模型组, 各剂量组 TGF- β 1 和 VEGF 水平仍高于对照组和假手术组, 差异均有统计学意义 (均 P<0.05)。不同剂量的桂枝茯苓胶囊组 TGF- β 1、VEGF 水平比较, 差异均无统计学意义 (均 P>0.05), 见表 1。

2.2 各组大鼠 TNF- α 、IL-2 水平对比

各组大鼠的 TNF- α 、IL-2 水平整体比较, 差异均有统计学意义 (均 P<0.05)。其中 0.5 g/kg、1.0 g/kg 及 2.0 g/kg 桂枝茯苓胶囊组、对照组和假手术组的 TNF- α 水平均分别明显低于模型组, 而 IL-2 水平明显高于模型组, 差异均有统计学意义 (均 P<0.05)。不同剂量的桂枝茯苓胶囊组 TNF- α 、IL-2 水平比较, 差异均无统计学意义 (均 P>0.05), 见表 2。

2.3 各组大鼠免疫指标对比

各组大鼠免疫指标整体比较, 差异均有统计学意义 (均 P<0.05)。各剂量组、对照组和假手术组红细胞 C3b 受体花环率均明显高于模型组, 而免疫复合物花环率均明显低于模型组, 差异均有统计学意义 (均 P<0.05)。各剂量组、对照组和假手术组的 IgA、IgG 和 IgM 水平明显高于模型组, 但各剂量组

IgA、IgG 和 IgM 水平仍低于对照组和假手术组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。不同剂量组红细胞 C3b 受体花环率、免疫复合物花环率、IgA、IgG 和 IgM 水平比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 3。

表 1 各组粘连修复相关指标的比较($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of related indexes of adhesion repair in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	TGF- β 1 (ng/mL)	VEGF (pmol/mL)
Control group	10	42.84 $\pm$ 1.67*	15.48 $\pm$ 1.62*
Sham operation group	10	44.13 $\pm$ 1.52*	15.81 $\pm$ 1.34*
Model group	10	58.79 $\pm$ 2.16	56.43 $\pm$ 3.65
Low dose group	10	49.63 $\pm$ 2.18* [△] #	45.07 $\pm$ 3.60* [△] #
Medium dose group	10	48.34 $\pm$ 2.17* [△] #	45.69 $\pm$ 4.08* [△] #
High dose group	10	46.89 $\pm$ 2.09* [△] #	46.06 $\pm$ 3.37* [△] #
F		14.584	26.571
P		0.000	0.000

Note: compared with model group, * $P < 0.05$; compared with control group, [△] $P < 0.05$; compared with sham operation group, # $P < 0.05$.

表 2 各组大鼠 TNF- α 、IL-2 水平对比($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of TNF- α and IL-2 levels of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	TNF- α (ng/mL)	IL-2 (ng/mL)
Control group	10	1.36 $\pm$ 0.19*	5.12 $\pm$ 0.74*
Sham operation group	10	1.40 $\pm$ 0.41*	5.83 $\pm$ 1.17*
Model group	10	1.78 $\pm$ 0.22	3.94 $\pm$ 1.18
Low dose group	10	1.39 $\pm$ 0.40*	5.11 $\pm$ 0.92*
Medium dose group	10	1.37 $\pm$ 0.32*	5.24 $\pm$ 1.60*
High dose group	10	1.33 $\pm$ 0.38*	5.75 $\pm$ 0.58*
F	-	3.124	4.792
P	-	0.024	0.000

Note: compared with model group, * $P < 0.05$.

表 3 各组大鼠粘连修复相关指标及血浆 IgA、IgG 和 IgM 的对比($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of adhesion repair related indexes and plasma IgA, IgG and IgM of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Red blood cells C3b receptor garland rate(%)	Immune complex garland rate(%)	IgA (mg/kg)	IgG (mg/kg)	IgM (mg/kg)
Control group	10	6.53 $\pm$ 2.18*	6.72 $\pm$ 2.68*	63.59 $\pm$ 2.77*	53.41 $\pm$ 6.30*	15.60 $\pm$ 1.46*
Sham operation group	10	6.32 $\pm$ 1.84*	7.13 $\pm$ 2.34*	63.57 $\pm$ 2.81*	53.38 $\pm$ 6.22*	15.59 $\pm$ 1.49*
Model group	10	3.75 $\pm$ 1.21	9.26 $\pm$ 2.92	28.02 $\pm$ 4.93	22.03 $\pm$ 2.17	4.79 $\pm$ 1.88
Low dose group	10	5.77 $\pm$ 2.03*	7.54 $\pm$ 2.27*	47.39 $\pm$ 8.51* [△] #	41.99 $\pm$ 9.10* [△] #	8.94 $\pm$ 2.96* [△] #
Medium dose group	10	6.12 $\pm$ 2.25*	7.16 $\pm$ 2.31*	46.83 $\pm$ 5.62* [△] #	41.87 $\pm$ 8.57* [△] #	8.87 $\pm$ 2.25* [△] #
High dose group	10	6.43 $\pm$ 1.97*	6.87 $\pm$ 2.20*	46.57 $\pm$ 4.38*	39.80 $\pm$ 5.45* [△] #	8.61 $\pm$ 1.35* [△] #
F	-	3.691	5.231	10.238	9.108	12.321
P	-	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: compared with model group, * $P < 0.05$; compared with control group, [△] $P < 0.05$; compared with sham operation group, # $P < 0.05$.

2.4 各组大鼠的子宫内膜病变情况对比

各组大鼠的病理综合评分整体比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。各剂量组、对照组和假手术组的病理综合评分均分别明显低于模型组,但各剂量组病理综合评分仍高于对照组

和假手术组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。不同剂量的桂枝茯苓胶囊组病理综合评分相比,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 4。

表 4 各组大鼠的子宫内膜病变情况对比($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of endometrial lesions of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Pathological composite score(score)
Control group	10	0.23± 0.07*
Sham operation group	10	0.28± 0.09*
Model group	10	11.12± 3.32
Low dose group	10	6.70± 3.15* [△] #
Medium dose group	10	5.04± 2.47* [△] #
High dose group	10	6.61± 2.58* [△] #
F		7.251
P		0.000

Note: compared with model group, * $P < 0.05$; compared with control group, [△] $P < 0.05$; compared with sham operation group, # $P < 0.05$.

3 讨论

CPID 主要包括子宫内膜炎、输卵管炎以及盆腔腹膜炎等,该病如未得到有效根治,可能会引发系列后遗症,可能会反复性发作^[10-12]。CPID 的发病机制主要是机体的自然防御功能受到破坏,亦或是免疫功能减弱,以及外源性致病菌的侵入而引起。临床研究发现,抗生素类药物对于该病临床疗效不佳,但中医中药疗法可有效治疗该病引发的不孕以及慢性盆腔痛等情况^[13-15]。由于子宫内膜病变和红细胞免疫功能以及 TNF- α 和 IL-2 等指标均与机体的免疫或炎症水平密切相关,而桂枝茯苓胶囊属于理血剂,其存在活血、化瘀和消癥等功效,主治瘀血阻络导致的癥块和经闭,以及痛经和慢性盆腔炎等,本文通过分析桂枝茯苓胶囊对 CPID 大鼠炎症及免疫情况的影响,旨在更好地服务于临床治疗。

本文研究发现,给药后各剂量组大鼠的红细胞免疫功能均较模型组有改善,这提示应用桂枝茯苓胶囊能较好地提升大鼠的红细胞免疫功能。分析原因,可能与桂枝茯苓胶囊的活血化瘀等作用有关^[16]。红细胞膜上存在一种红细胞 C3b 受体(Red blood cell-C3b receptor, red blood cells-C3bR),其能够识别 C3b,对血液内抗原-抗体-补体类型复合物进行黏附并清除^[17-19]。在血瘀情况下,体内凝血酶会不断增加,同时,其循环免疫类复合物(CIC)含量也会因为血液循环以及微循环等障碍物增多而不断增多,导致红细胞上黏附过量 CIC 而难以清除,因此,red blood cells-ICR 会上升。此时红细胞膜的 CRI 空位含量降低,其活性随之下降,导致红细胞免疫能力降低。本研究中 CPID 大鼠模型 red blood cells-C3bR 降低,但 red blood cells-ICR 上升,证实其免疫能力降低。同时,也说明桂枝茯苓胶囊所具有的活血化瘀功能有助于促进血液循环情况,进而帮助提升对 CIC 的清除能力,提高红细胞自身对于 CRI 受体的表达以及活化,使得红细胞免疫能力获得提升。同时,本文发现,在给予不同剂量的桂枝茯苓胶囊灌胃处理后,炎症因子 IL-2 和 TNF- α 均较模型组改善,这提示应用桂枝茯苓胶囊能有效改善大鼠机体的炎症。临床上大部分 CPID 患者并不存在细菌性感染症状,但是其病情仍不断进展,考虑可能与免疫病理损伤有关^[20],同时这也可以作为该病慢性进展以及反复发作的重要原因,并且和患者细胞因子呈异常表达密切相关。临床研究证实,CPID 患者

TNF- α 以及 IL-2 两种指标异常表达程度较明显^[21,22]。其原因在于,当机体存在炎症反应时,IL-2 能够帮助降低自身免疫性抗体生成,进而降低自身免疫反应情况,以降低组织受损程度从而使炎症反应向愈合方向发展。本研究证实,CPID 大鼠发病后其 IL-2 水平不断下降,证实 CPID 发病时患者免疫能力呈较低水平,易受到致病菌侵袭。通常情况下,适量 TNF- α 可以增进机体免疫应答情况,帮助机体抵抗致病源入侵,进而防止炎症恶化^[23,24],但是过量 TNF- α 则会造成剧烈程度免疫反应,引发毒性反应。因此,TNF- α 对人体作用具有双向性,初期阶段水平适量时有利于免疫系统抵抗感染,但其水平不断上升则会引发相应病理生理性变化。

本文还发现,给药后病理综合评分降低,这提示了应用桂枝茯苓胶囊还可以改善 CPID 大鼠的病理状态,这是因为桂枝茯苓胶囊属于中成药,是具备活血化瘀功能的理血剂,临床通常将其用于治疗妇科瘀血阻络造成的慢性盆腔类炎症疾病^[25,26]。经桂枝茯苓胶囊药物治疗之后,CPID 大鼠子宫所存在的充血和肿胀等症状均有所减轻,并且其子宫内膜炎相关炎症细胞浸润程度也显著降低,证实桂枝茯苓胶囊对于 CPID 可起到明显治疗效果^[27,28]。此外本文还发现,给药后 CPID 大鼠的粘连修复及免疫蛋白指标均得以改善,这提示了应用桂枝茯苓胶囊能够优化 CPID 大鼠的子宫粘连修复状态及体液免疫功能。TGF- β 1 和 VEGF 均为临床常用的可评价组织或细胞内皮功能的重要监测指标,二者水平的表达往往与组织内皮的活跃代谢联系紧密。而 IgA、IgG 和 IgM 三者则为临床常用的体液免疫监测指标,可较好地反映机体的体液免疫功能。桂枝茯苓胶囊的应用,促进了黏膜病灶区的血液循环,加速了粘连修复的相关进程,同时也提升了病灶区的体液免疫状况^[29,30],因此对 CPID 大鼠的症状改善效果也较为明显。需要指出的是,本研究由于研究经费有限,实验选取的大鼠样本数量并不多,尚未发现桂枝茯苓胶囊对 CPID 大鼠的治疗效果与剂量有明显的关系,今后可从此方向上进一步深入研究。

综上所述,桂枝茯苓胶囊能够通过改善 CPID 大鼠炎症因子水平,促进粘连修复,提升免疫功能来治疗 CPID。

参考文献(References)

- [1] Hua F, Li H, Xiong J, et al. Moxibustion for treating chronic pelvic inflammatory disease: A protocol for systematic review and meta-analy-

- sis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(35): e21925
- [2] Cheok YY, Lee CYQ, Cheong HC, et al. Chronic Inflammatory Diseases at Secondary Sites Ensuing Urogenital or Pulmonary Chlamydia Infections[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(1): 127
- [3] Curry A, Williams T, Penny ML. Pelvic Inflammatory Disease: Diagnosis, Management, and Prevention[J]. *Am Fam Physician*, 2019, 100(6): 357-364
- [4] Khikmatova NI, Garib VF, Pakhomova JE, et al. Determination of anti-sperm IgE antibodies in women with infertility and chronic inflammatory pelvic diseases[J]. *Klin Lab Diagn*, 2020, 65(7): 435-438
- [5] Cheng Y, Yuan Y, Jin Y, et al. Acupuncture for chronic pelvic inflammatory disease: A systematic review protocol [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(13): e0225
- [6] Stewart LM, Stewart CJR, Spilsbury K, et al. Association between pelvic inflammatory disease, infertility, ectopic pregnancy and the development of ovarian serous borderline tumor, mucinous borderline tumor and low-grade serous carcinoma[J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 156(3): 611-615
- [7] Piao J, Lee EJ, Lee M. Association between pelvic inflammatory disease and risk of ovarian cancer: An updated meta-analysis[J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 157(2): 542-548
- [8] Jeon KI, Nehrke K, Huxlin KR. Semaphorin 3A potentiates the profibrotic effects of transforming growth factor-beta1 in the cornea[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(2): 333-339
- [9] Mantia CM, McDermott DF. Vascular endothelial growth factor and programmed death-1 pathway inhibitors in renal cell carcinoma[J]. *Ann Emerg Med*, 2016, 67(5): 602-609
- [10] 李艳, 张玮, 罗兰, 等. 金剛藤聯合婦科千金片對慢性盆腔炎患者血液流變學和炎症因子的影響 [J]. *現代生物醫學進展*, 2020, 20(11): 2072-2075, 2031
- [11] Brun JL, Castan B, de Barbeyrac B, et al. Pelvic inflammatory diseases: Updated French guidelines [J]. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2020, 49(5): 101714
- [12] Foti PV, Tonolini M, Costanzo V, et al. Cross-sectional imaging of acute gynaecologic disorders: CT and MRI findings with differential diagnosis-part II: uterine emergencies and pelvic inflammatory disease[J]. *Insights Imaging*, 2019, 10(1): 118
- [13] Wolff M, Balamuth F, Sampayo E, et al. Improving Adolescent Pelvic Inflammatory Disease Follow-up From the Emergency Department: Randomized Controlled Trial With Text Messages [J]. *Ann Emerg Med*, 2016, 67(5): 602-609
- [14] Wiringa AE, Ness RB, Darville T, et al. *Trichomonas vaginalis*, endometritis and sequelae among women with clinically suspected pelvic inflammatory disease [J]. *Sex Transm Infect*, 2020, 96(6): 436-438
- [15] 徐珊, 张小菜, 裴巧丽, 等. 通絡盆腔炎方口服聯合灌腸治療慢性盆腔炎療效及對血清 hs-CRP、補體 C3 的影響 [J]. *現代中西醫結合雜誌*, 2020, 29(29): 3271-3274
- [16] 陈泽, 郑庆莉. 探究莫西沙星联合桂枝茯苓胶囊对慢性盆腔炎患者血清 IL-4、IL-10 及 TGF-β1 的影响 [J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(3): 133-134
- [17] Turner TR, Lautner L, Hill A, et al. Evaluating the quality of red blood cell concentrates irradiated before or after cryopreservation[J]. *Transfusion*, 2020, 60(1): 26-29
- [18] Kariuki SN, Marin-Menendez A, Introini V, et al. Red blood cell tension protects against severe malaria in the Dantu blood group [J]. *Nature*, 2020, 585(7826): 579-583
- [19] Noubouossie DF, Henderson MW, Mooberry M, et al. Red blood cell microvesicles activate the contact system, leading to factor IX activation via 2 independent pathways[J]. *Blood*, 2020, 135(10): 755-765
- [20] Gondwe T, Ness R, Totten PA, et al. Novel bacterial vaginosis-associated organisms mediate the relationship between vaginal douching and pelvic inflammatory disease [J]. *Sex Transm Infect*, 2020, 96(6): 439-444
- [21] Siegenthaler F, Krause E, Mueller MD. Diagnostik und Therapie der Adnexitis (Pelvic Inflammatory Disease)[J]. *Ther Umsch*, 2020, 77(4): 164-170
- [22] 吴伟燕, 汪惠芳, 吕蓓, 等. 桂枝茯苓胶囊联合抗生素对慢性盆腔炎患者超敏 C 反应蛋白、白细胞介素 -2 及复发率的影响 [J]. *成都中医药大学学报*, 2015, 38(1): 65-68
- [23] Hosokawa Y, Hosokawa I, Shindo S, et al. L-29 Enhances CXCL10 Production in TNF-α-stimulated Human Oral Epithelial Cells[J]. *Immunol Invest*, 2017, 46(6): 615-624
- [24] Jiang LM, He J, Xi XY, et al. Effect of early restrictive fluid resuscitation on inflammatory and immune factors in patients with severe pelvic fracture[J]. *Chin J Traumatol*, 2019, 22(6): 311-315
- [25] 苏真真, 李娜, 曹亮, 等. 桂枝茯苓胶囊主要药理作用及临床应用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(6): 989-992
- [26] 孙兰, 李家春, 林楠, 等. 桂枝茯苓胶囊对子宫内膜炎大鼠的影响 [J]. *世界科学技术 - 中医药现代化*, 2014, 16(6): 1401-1405
- [27] 屈静岚. 桂枝茯苓丸联合少腹逐瘀胶囊治疗慢性盆腔炎的临床疗效分析 [J]. *陕西中医*, 2015, 36(10): 1286-1287
- [28] 任指引, 周江平, 袁秀琴, 等. 桂枝茯苓胶囊联合低频脉冲电治疗慢性盆腔炎疗效观察 [J]. *海南医学*, 2014, 25(12): 1840-1841
- [29] 俞丁丁, 费冬. 桂枝茯苓丸联合胚宝胶囊治疗慢性盆腔炎临床研究 [J]. *新中医*, 2019, 51(7): 63-65
- [30] 张永洁, 王路, 谷兰芝, 等. 康妇消炎栓联合桂枝茯苓胶囊配合护理治疗慢性盆腔炎疗效观察 [J]. *新中医*, 2019, 51(10): 273-275