

葛根芩连结肠定位片对湿热内蕴型溃疡性结肠炎模型兔结肠组织PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达的影响^Δ

宋信莉^{1*}, 张石宇², 郭光伟¹, 刘文^{1#}, 章宏³(1.贵阳中医学院药学院, 贵阳 550002; 2.贵阳中医学院第一附属医院药剂科, 贵阳 550002; 3.贵州拜特制药有限公司, 贵阳 550002)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)16-2186-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.16.07

摘要 目的:观察葛根芩连结肠定位片(GGQLJC)对湿热内蕴型溃疡性结肠炎(UC)模型兔结肠组织过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR- γ)和核因子 κ B(NF- κ B p65)蛋白表达的影响。方法:将56只家兔随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、柳氮磺胺吡啶片(SASP)组(阳性对照, 0.300 g/kg)、葛根芩连片(GGQL)组(0.225 g/kg)和GGQLJC高、中、低剂量组(1.036、0.518、0.259 g/kg),每组8只。除正常组外,其余各组兔复制湿热内蕴型UC模型,于造模结束后次日ig给药,每天1次,连续14 d。对兔疾病活动度指数(DAI)、结肠黏膜损伤指数(CMDI)、组织学损伤(TDI)进行评分,测定结肠、脾、胸腺指数,并检测结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组兔DAI、CMDI和TDI评分以及结肠指数、脾指数、结肠组织中NF- κ B p65蛋白表达水平均显著升高($P < 0.01$),胸腺指数、结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组兔上述指标均显著改善($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与GGQL组比较,SASP组和GGQLJC高、中剂量组兔DAI和TDI评分、脾指数、结肠指数、结肠组织中NF- κ B p65蛋白表达水平以及SASP组和GGQLJC高剂量组兔CMDI评分均显著降低($P < 0.05$),SASP组和GGQLJC高、中剂量组兔结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:GGQLJC对湿热内蕴型UC模型兔有一定改善作用,且作用优于GGQL;其机制可能与上调结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达和下调NF- κ B p65蛋白表达有关。
关键词 葛根芩连结肠定位片;湿热内蕴型溃疡性结肠炎;过氧化物酶增殖物激活受体;核因子 κ B;家兔

- 细胞组织因子表达的影响[J].南方医科大学学报,2009,29(8):1743-1747.
- [9] 丁红香,王明山,王良兴.低O₂高CO₂肺动脉高压及川芎嗪保护的大鼠血浆抗凝血酶-III变化及意义[J].心肺血管病杂志,2000,19(2):138-140.
- [10] 成春英,孙勇,文志斌,等.川芎嗪抑制凝血酶诱导血管内皮细胞组织因子表达的机制[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(3):184-188.
- [11] 熊石龙,文志斌,何晓凡,等.川芎嗪抑制肿瘤坏死因子 α 诱导人脐静脉血管内皮细胞组织因子表达的机制研究[J].广东医学,2008,29(4):545-548.
- [12] Lu WJ, Xu C, Pei Z, et al. The tamoxifen metabolite norendoxifen is a potent and selective inhibitor of aromatase (CYP19) and a potential lead compound for novel therapeutic agents[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 133(1): 99-109.
- [13] Chikan NA, Bhavaniprasad V, Anbarasu K, et al. From natural products to drugs for epimutation computer-aided drug design[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(1): 164-175.
- [14] 刘磊,马英,王润玲,等.基于神经氨酸酶结构的流感病毒抑制剂的计算机辅助药物设计[J].天津医科大学学报,2013,19(3):192-195.
- [15] Tsai TY, Chang KW, Chen CY. iScreen: world's first cloud-computing web server for virtual screening and de novo drug design based on TCM database @Taiwan[J]. *J Comput Aided Mol Des*, 2011, 25(6):525-531.
- [16] Singh R, Balupuri A, Sobhia ME, et al. Development of 3D-pharmacophore model followed by successive virtual screening, molecular docking and ADME studies for the design of potent CCR2 antagonists for inflammation-driven diseases[J]. *Molecular Simulation*, 2013, 39(1): 49-58.
- [17] Gomes FV, Alves FH, Guimarães FS, et al. Cannabidiol administration into the bed nucleus of the stria terminalis alters cardiovascular responses induced by acute restraint stress through 5-HT_{1A} receptor[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2013, 23(9):1096-1104.
- [18] Lao YM, Jiang JG, Yan L, et al. Application of metabolic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(7):1128-1141.

^Δ基金项目:贵州省优秀青年科技人才培养对象专项项目(No.黔科合人字[2011]28号)

*副教授,硕士。研究方向:中药新技术与新制剂。电话:0851-8233005。E-mail:392347047@qq.com

#通信作者:教授,硕士,硕士生导师。研究方向:中药新技术与新制剂。电话:0851-8233005。E-mail:642771631@qq.com

(收稿日期:2016-08-04 修回日期:2016-12-18)

(编辑:刘萍)

Effects of Gegenqinlian Colon Positioning Tablet on Colon Tissue PPAR- γ , NF- κ B p65 Protein Expressions of Model Rabbits with Damp-heat Type Ulcerative Colitis

SONG Xinli¹, ZHANG Shiyu², GUO Guangwei¹, LIU Wen¹, ZHANG Hong³ (1.School of Pharmacy, Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 3.Guizhou Beit Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the effects of Gegenqinlian colon positioning tablet (GGQLJC) on colon tissue PPAR- γ , NF- κ B p65 protein expressions of model rabbits with damp-heat type ulcerative colitis (UC). METHODS: 56 rabbits were randomly divided into normal group (normal saline), model group (normal saline), sulfasalazine tablet (SASP) group (positive control, 0.300 g/kg), Gegenqinlian tablet (GGQL) group (0.225 g/kg) and GGQLJC high-dose, medium-dose, low-dose groups (1.036, 0.518, 0.259 g/kg), 8 in each group. Except for normal group, rabbits in other groups were cultured for damp-heat-type UC model, intragastrically administrated in the second day of last administration, once a day, for 14 d. Disease activity index (DAI), colonic mucosal damage index (CMDI), histological damage (TDI) were scored; colon, spleen and thymus indexes were determined; PPAR- γ , NF- κ B p65 protein expressions in colon tissue were detected. RESULTS: Compared with normal group, DAI, CMDI, TDI scores and spleen index, colon index, NF- κ B p65 protein level in colon tissue in model group were significantly increased ($P < 0.01$); thymus index, PPAR- γ protein level in colon tissue were significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with model group, above-mentioned indexes in each administration group were significantly improved ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with GGQL group, DAI and TDI scores, spleen index, colon index, NF- κ B p65 protein level in colon tissue in SASP group, GGQLJC high-dose, medium-dose groups were significantly decreased ($P < 0.05$); PPAR- γ protein level in colon tissue in SASP group, GGQLJC high-dose, medium-dose groups were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: GGQLJC has certain improvement effects on model rabbits with damp-heat type UC, which is superior to GGQL. The mechanism may be related to increasing PPAR- γ protein level and decreasing NF- κ B p65 protein level in colon tissue.

KEYWORDS Gegenqinlian colon positioning tablet; Damp-heat type ulcerative colitis; PPAR- γ ; NF- κ B p65; Rabbit

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种非特异性结肠和直肠炎症性慢性疾病,病因不明,是胃肠道较严重的疾病之一。该病的发生与遗传、环境、免疫及炎症介质等因素密切相关,其中免疫紊乱是关键环节^[1]。研究表明,过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR- γ)具有强大的抗炎及调节免疫的作用,其主要是通过抑制核因子 κ B(NF- κ B)介导的信号转导通路发挥抗炎作用。NF- κ B是一种具有多向性转录调节作用的核蛋白因子,最常见的存在形式是由p65与p50亚基组成的异二聚体,UC的发病与NF- κ B p65的表达密切相关^[2]。

葛根芩连片(简称为“GGQL”)源于张仲景《伤寒论》中的葛根芩连汤,具有解表清里的功效,多用于治疗太阳邪内陷所致热下利证,对湿热内蕴型UC疗效显著^[3]。但GGQL口服给药后药物容易在胃和小肠部位被吸收,真正达到结肠的药物不多,影响了其疗效。为了解决这一问题,本课题组前期进行了葛根芩连结肠定位片(简称为“GGQLJC”)的研究,该定位片在人工胃液中放置2 h、在人工肠液中放置4 h指标性成分均基本不释放;当其到达结肠后,指标性成分开始释放,在结肠12 h内的累积释放率达92%^[4],体现了定位释放的特点。本研究旨在探讨GGQLJC对湿热内蕴型UC家兔结肠黏膜PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达的影响,以探讨GGQLJC治疗湿热内蕴型UC的作用机制,同时比较其与传统GGQL的疗效差异。

1 材料

1.1 仪器

BX-51显微镜(日本Olympus公司);MK-4酶标仪(芬兰雷勃公司);IMS图象分析系统(上海哈灵生物技术有限公司);D5100数码相机(日本Nikon公司)。

1.2 药品与试剂

GGQLJC(贵阳中医学院自制,批号:20150211,规格:0.044 g/片);GGQL(太极集团四川绵阳制药有限公司,批号:150121501,规格:0.5 g/片);柳氮磺胺吡啶片(SASP,上海中西三维药业有限公司,批号:20150208,规格:0.25 g/片);兔NF- κ B p65一抗(美国Sigma公司,批号:SAB4504488);兔PPAR- γ 一抗(英国Amyjet Scientific公司,批号:ab68542);羊抗鼠/兔免疫球蛋白G(IgG)聚合物(福州迈新生物技术有限公司,批号:282840407JF);蜂蜜(贵州夜郎蜂业科技有限公司,批号:111455K2);白酒(52°,北京红星股份有限公司,批号:GB/T20832)。

1.3 动物

健康家兔56只,♀♂各半,体质量为2~2.5 kg,购自贵阳医学院实验动物中心[许可证号:SCXK(黔)2012-001]。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将56只兔随机分为7组,每组8只,分别为正常组、

模型组、GGQL组(0.225 g/kg)、SASP组(0.300 g/kg)^[5]和GGQLJC高、中、低剂量组(1.034、0.518、0.259 g/kg)^[6]。动物适应性喂养7 d后,除正常组外,其余6组兔均采用高脂高糖饮食加化学刺激法^[5]建立湿热内蕴型UC模型,并于造模结束后次日开始给药(药物均以生理盐水溶解),每天ig给药1次,连续14 d,期间正常饮食;正常组和模型组兔ig生理盐水。

2.2 一般情况观察

每天记录兔的饮食、体质量、大小便、毛色、精神等情况。

2.3 标本采集及检测

末次给药后家兔禁食不禁水1 d,空气栓塞处死并解剖,取脾、胸腺并称质量;取结肠并测定其总长度,并自距离肛门2 cm处向上取结肠8 cm,沿肠系膜纵向剪开肠腔,用生理盐水冲洗干净并吸干水分,称质量;肉眼观察结肠(生理盐水漂洗3次并吸干水分)大体形态,并对结肠黏膜损伤指数(CMDI)进行评分;剪取病变明显结肠段标本作病理切片,苏木精-伊红(HE)染色后观察病理变化,对组织学损伤(TDI)进行评分;采用免疫组化法检测结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达。

2.4 疾病活动情况观察

分别在给药第1、7、14天对兔进行疾病活动指数(DAI)评分,记录兔的体质量变化、大便性状、大便隐血情况,分别按0~4分的分值范围对体质量下降百分比、大便性状和大便隐血情况进行评分;DAI=(体质量下降百分比评分+大便性状评分+大便隐血评分)/3^[5-6]。

2.5 结肠指数、脾指数和胸腺指数测定

根据“2.3”项下数据,计算兔脏器(结肠、脾、胸腺)指数[脏器质量(mg)/体质量(g)]。

2.6 CMDI评分

参考文献[7-8]中方法进行CMDI评分。肉眼观察结肠黏膜变化:0分(黏膜无损伤),1分(黏膜充血、水肿,无溃疡),2分(黏膜充血、水肿、轻度糜烂,无溃疡),3分(黏膜充血、水肿、中度糜烂,有单个溃疡),4分(黏膜充血、水肿、高度糜烂,有多个溃疡),5分(黏膜充血、水肿、重度糜烂,有>1 cm的溃疡)。

2.7 TDI评分

参考文献[9]中方法进行TDI评分:0分(未见明显损伤),1分(肠绒毛结构无破坏),2分(中等水平淋巴细胞浸润、肠隐窝加深、肠壁增厚但未侵及肌层,无溃疡),3分(呈高水平淋巴细胞浸润、肠壁增厚且侵及肌层,无溃疡),4分(明显淋巴细胞浸润、肠隐窝加深变形、肠壁增厚且侵及肌层,伴溃疡)。

2.8 结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达测定

采用链霉亲和素-生物素复合物(SABC)法^[10]测定。切片脱蜡后滴加3%过氧化氢,放置15 min,然后将切片浸入枸橼酸盐缓冲液中冷却至室温,滴加5%牛血清白

蛋白封闭液封闭20 min,分别加入兔PPAR- γ 、NF- κ B p65一抗,4℃冷冻过夜;滴加羊抗鼠/兔IgG聚合物,于37℃培养箱中孵育20 min,然后滴加SABC,在37℃培养箱中孵育20 min,再加入二氨基联苯胺显色剂,苏木精轻度复染;经乙醇脱水、二甲苯透明,最后中性树胶封片,显微镜观察结果。PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达阳性为胞质呈棕黄色颗粒,颜色越深即表达越强;未出现棕黄色颗粒则为阴性。采用BI-2000图象分析系统,对每张切片随机选取5个视野测量阳性细胞平均积分光密度值(IOD),IOD值越大则表明蛋白表达越强。

2.9 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,当资料满足正态分布且方差齐时,采用单因素方差分析;如不满足上述条件则采用非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察结果

造模前,兔毛色洁白有光泽,反应灵敏,喜活动,大小便及粪便质地均正常。造模中,兔站立不稳、呼吸加快,随后出现嗜睡懒动的现象,后期出现大便黏滞不爽、腹泻等症状。造模后,兔出现黏液脓血便、稀便,肛周污秽,与正常组兔粪便差别明显;不喜活动,无食欲,倦怠。造模48 h内模型组死亡2只,GGQLJC低剂量组及GGQL组各死亡1只。连续给药10 d后,各给药组兔一般情况均有显著改善,黏液、脓血便等症状明显减少或消失,但整体状态与正常组仍有差距,其中GGQLJC高剂量组和SASP组兔恢复最好。

3.2 DAI评分结果

给药第1、7、14天后,与正常组比较,各组兔DAI评分均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。给药第7天后,与模型组比较,各给药组兔DAI评分均显著降低($P < 0.01$)。给药第14天后,与模型组比较,各给药组兔DAI评分均显著降低($P < 0.01$);与GGQL组比较,SASP组和GGQLJC高、中剂量组兔DAI评分显著降低($P < 0.05$),且GGQLJC高、中剂量组与SASP组降低程度相当($P > 0.05$),结果详见表1。

3.3 结肠指数、脾指数及胸腺指数测定结果

与正常组比较,各组兔结肠指数、脾指数显著升高($P < 0.01$),胸腺指数显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组兔结肠指数、脾指数均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),胸腺指数均显著升高($P < 0.05$);与GGQL组比较,SASP组和GGQLJC高、中剂量组兔结肠指数和脾指数显著降低($P < 0.05$),且GGQLJC高、中剂量组与SASP组降低程度相当($P > 0.05$),结果详见表2。

3.4 CMDI、TDI评分结果

与正常组比较,各组兔CMDI、TDI评分均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组兔CMDI、TDI评分均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与GGQL组比较,

表1 各组兔DAI评分结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Results of DAI scoring of rabbits in each group ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 给药第1天 | 给药第7天 | 给药第14天 |
|------------|---|---------------|----------------|-----------------------------|
| 正常组 | 8 | 0.042±0.118 | 0.042±0.118 | 0.042±0.118 |
| 模型组 | 6 | 2.611±0.574** | 2.944±0.743** | 2.954±0.743** |
| GGQL组 | 7 | 2.619±0.300** | 1.286±0.678*** | 0.667±0.509*** |
| SASP组 | 8 | 2.625±0.330** | 0.958±0.518*** | 0.375±0.425*** ^Δ |
| GGQLJC高剂量组 | 8 | 2.542±0.248** | 1.042±0.653*** | 0.458±0.396*** ^Δ |
| GGQLJC中剂量组 | 8 | 2.625±0.576** | 1.292±0.547*** | 0.583±0.427*** ^Δ |
| GGQLJC低剂量组 | 7 | 2.762±0.418** | 1.381±0.621*** | 0.581±0.378*** ^Δ |

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$;与GGQL组比较,^Δ $P<0.05$;与SASP组比较,^{*} $P<0.05$

Note: vs. normal group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; vs. model group,[#] $P<0.01$; vs. GGQL group,^Δ $P<0.05$; vs. SASP group,^{*} $P<0.05$

表2 各组兔结肠指数、脾指数及胸腺指数测定结果($\bar{x} \pm s, \text{mg/g}$)

Tab 2 Results of colon index, spleen index, thymus index of rabbits in each group ($\bar{x} \pm s, \text{mg/g}$)

| 组别 | n | 结肠指数 | 脾指数 | 胸腺指数 |
|------------|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常组 | 8 | 0.334±0.034 | 0.288±0.031 | 1.291±0.111 |
| 模型组 | 6 | 1.145±0.187** | 0.458±0.057** | 0.751±0.131** |
| GGQL组 | 7 | 0.587±0.111*** | 0.364±0.033*** | 0.929±0.170*** |
| SASP组 | 8 | 0.503±0.045*** ^Δ | 0.347±0.031*** ^Δ | 0.967±0.131*** ^Δ |
| GGQLJC高剂量组 | 8 | 0.539±0.086*** ^Δ | 0.345±0.051*** ^Δ | 0.962±0.164*** ^Δ |
| GGQLJC中剂量组 | 8 | 0.524±0.110*** ^Δ | 0.353±0.046*** ^Δ | 0.939±0.089*** ^Δ |
| GGQLJC低剂量组 | 7 | 0.642±0.118*** ^Δ | 0.367±0.024*** ^Δ | 0.958±0.122*** ^Δ |

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与GGQL组比较,^Δ $P<0.05$;与SASP组比较,^{*} $P<0.05$

Note: vs. normal group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; vs. model group,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$; vs. GGQL group,^Δ $P<0.05$; vs. SASP group,^{*} $P<0.05$

SASP组和GGQLJC高剂量组兔CMDI、TDI评分以及GGQLJC中剂量组兔TDI评分均显著降低($P<0.05$),且GGQLJC高剂量组与SASP组降低程度相当($P>0.05$),结果详见表3。

表3 各组兔CMDI、TDI评分结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Results of CMDI, TDI scoring of rabbits in each group ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CMDI | TDI |
|------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| 正常组 | 8 | 0.126±0.344 | 0.128±0.355 |
| 模型组 | 6 | 4.177±0.743** | 3.671±0.520** |
| GGQL组 | 7 | 3.020±0.567** | 2.432±0.978*** |
| SASP组 | 8 | 2.130±0.631*** | 1.630±0.519*** |
| GGQLJC高剂量组 | 8 | 2.248±0.457*** ^Δ | 1.753±0.717*** ^Δ |
| GGQLJC中剂量组 | 8 | 3.136±0.989*** | 2.111±0.758*** ^Δ |
| GGQLJC低剂量组 | 7 | 3.285±0.949*** ^Δ | 2.720±0.761*** ^Δ |

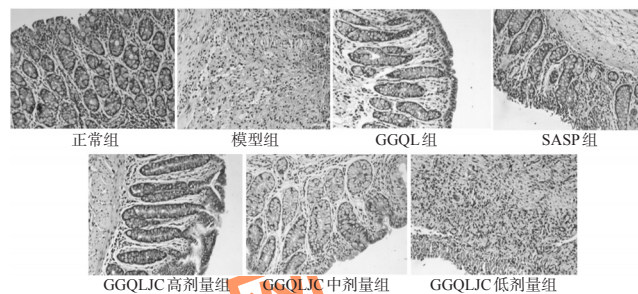
注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与GGQL组比较,^Δ $P<0.05$;与SASP组比较,^{*} $P<0.05$

Note: vs. normal group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; vs. model group,[#] $P<0.05$,[#] $P<0.01$; vs. GGQL group,^Δ $P<0.05$; vs. SASP group,^{*} $P<0.05$

3.5 结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达测定结果

与正常组比较,各组兔结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达减弱、NF- κ B p65蛋白表达增强($P<0.01$);与模型组比较,各给药组兔结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达增强、NF- κ B p65蛋白表达减弱($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与GGQL组比较,SASP组和GGQLJC高、中剂量组兔结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且GGQLJC高剂量组兔结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达以及GGQLJC中剂量组兔结肠组织中NF- κ B p65蛋白表达与SASP组改善程度相当($P>0.05$),免疫组化图详见图1、蛋白测定结果详见表4。

PPAR- γ 蛋白表达:



NF- κ B p65蛋白表达:

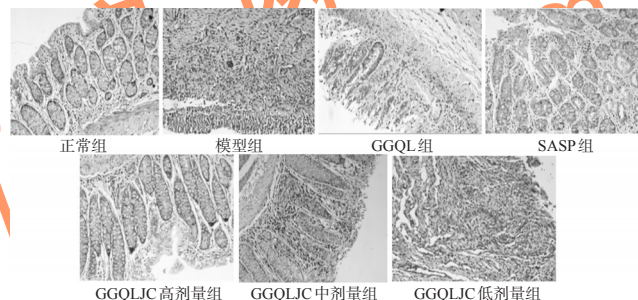


图1 各组兔结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达免疫组化图($\times 200$)

Fig 1 Immunohistochemistry pictures of PPAR- γ , NF- κ B p65 protein expression in colon tissue of rabbits in each group ($\times 200$)

4 讨论

中医认为,UC属于中医学“泄泻”“久痢”“肠癖”“腹痛”“肠风”“下血”等范畴^[1]。西医治疗UC多采用水杨酸制剂、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂等,取得了一定疗效,其中SASP是临床上公认的治疗UC的化学药,但SASP存在不良反应大、价格昂贵等问题。

在本研究中,笔者通过对兔一般情况进行观察,对DAI、CMDI、TDI进行评分,以及检测脏器(结肠、脾、胸腺)指数等,比较了SASP与不同剂量GGQLJC以及传统剂型GGQL治疗湿热内蕴型UC兔的作用强弱,并通过检测结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达探讨了其作用机制。结果,给药后能够缓解湿热内蕴型UC兔的一般症状,降低DAI、CMDI、TDI评分,降低结肠指数、脾指数,升高胸腺指数,其中以高剂量GGQLJC及SASP作用效果最优,且比传统GGQL效果更显著。GGQLJC还

健脾生血颗粒对围产期大鼠的毒性研究^Δ

赵刚^{1,2*}, 屈文³, 肖飞¹, 郭小娟¹, 杨艳霞¹, 张勇慧², 黄志军^{1#}(1.健民药业集团儿童药物研究院, 武汉 430052; 2.华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030; 3.湖北省食品药品安全评价中心, 武汉 430073)

中图分类号 R992 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)16-2190-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.16.08

摘要 目的:考察健脾生血颗粒对围产期大鼠的毒性作用。方法:将受孕大鼠按体质量随机分为阴性对照组和健脾生血颗粒低、中、高剂量组(0.77、2.31、6.93 g/kg),每组21只,从妊娠第15天开始至分娩后第21天止每天ig相应药物1次。观察健脾生血颗粒对母代大鼠一般毒性和生育能力的影响,对F1代仔鼠运动能力、学习记忆能力、生育能力以及对F2代仔鼠早期发育能力的影响。结果:对母代的毒性作用方面,健脾生血颗粒高剂量组母代大鼠妊娠天数较阴性对照组显著延长($P<0.05$),给药初期体质量显著降低($P<0.01$)。对子代的毒性作用方面,健脾生血颗粒高剂量组F1代仔鼠初生体质量较阴性对照组显著降低($P<0.05$),第4、5次发现水下平台时间较阴性对照组显著缩短($P<0.01$);对F1代仔鼠生育能力及F2代仔鼠早期发育能力均未见明显影响($P>0.05$)。健脾生血颗粒中、低剂量组子代大鼠各指标均未见受到明显影响。结论:健脾生血颗粒对母代及子代大鼠均未见毒性反应的剂量为2.31 g/kg。

关键词 健脾生血颗粒;围产期大鼠;毒性;仔鼠;生育能力;发育能力

能够上调模型兔结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达和下调NF- κ B p65蛋白表达。

表4 各组兔结肠组织中PPAR- γ 、NF- κ B p65蛋白表达测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Results of PPAR- γ , NF- κ B p65 protein expressions in colon tissue of rabbits in each group ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | PPAR- γ | NF- κ B p65 |
|-----------|---|-------------------------------|-------------------------------|
| 正常组 | 8 | 0.333 \pm 0.028 | 0.138 \pm 0.020 |
| 模型组 | 6 | 0.185 \pm 0.008** | 0.312 \pm 0.040** |
| GGQL组 | 7 | 0.268 \pm 0.025*** | 0.244 \pm 0.034** |
| SASP组 | 8 | 0.315 \pm 0.031*** Δ | 0.191 \pm 0.025*** Δ |
| GGQLC高剂量组 | 8 | 0.304 \pm 0.012*** Δ | 0.208 \pm 0.036*** Δ |
| GGQLC中剂量组 | 8 | 0.283 \pm 0.019*** Δ | 0.221 \pm 0.027*** Δ |
| GGQLC低剂量组 | 7 | 0.258 \pm 0.026*** Δ | 0.286 \pm 0.067*** Δ |

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.01$;与GGQL组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与SASP组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model group, * $P<0.05$, *** $P<0.01$; vs. GGQL group, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$; vs. SASP group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

综上,本研究结果证实了GGQLC能够上调兔结肠组织中PPAR- γ 蛋白表达、下调结肠组织中NF- κ B p65蛋白表达,这可能是其治疗UC的免疫学机制之一。

Δ 基金项目:武汉市汉阳区“汉阳英才计划”项目(No.A3-17)

* 高级工程师,博士。研究方向:药理学、毒理学。电话:027-84523889。E-mail:zhaogangna@126.com

通信作者:副教授,博士。研究方向:药理学。电话:027-84523889。E-mail:452354589@qq.com

参考文献

- [1] 张磊,赵党生.中医药治疗溃疡性结肠炎研究进展[J].甘肃中医学院学报,2012,29(6):77-79.
- [2] 张燕,欧阳钦,陈代云.PPAR- γ 在溃疡性结肠炎黏膜中的表达[J].中华消化内镜杂志,2002,19(2):81-83.
- [3] 徐蓓蕾,崔向微,孙素琴,等.葛根苓连汤及其药效组分红外光谱表征分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):142-145.
- [4] 施晓伟.葛根苓连结肠定位片的研制[D].贵阳:贵阳医学院,2014.
- [5] 张石宇.葛根苓连结肠定位片对湿热内蕴型溃疡性结肠炎家兔模型Th1/Th2细胞因子平衡的影响[J].时珍国医国药,2016,27(10):2387-2391.
- [6] 吴增艳,陈亮.清热利湿健脾方对溃疡性结肠炎模型大鼠的保护作用[J].中国药房,2014,25(35):3275-3277.
- [7] 张尚华,黎玉林.健肠饮治疗慢性溃疡性结肠炎42例[J].中医药导报,2002,8(3):115.
- [8] 徐慧先,富羽翔,刘艳平.肠宁胶囊治疗溃疡性结肠炎(虚实夹杂证)临床观察[J].中国中医药远程教育,2009,7(3):90.
- [9] 邹颖.黄芩汤对TNBS诱导的结肠炎大鼠Th1/Th2和Th17/Treg细胞平衡的影响[D].广州:南方医科大学,2012.
- [10] 朱向东.疏肝健脾法对溃疡性结肠炎结肠黏膜中PPAR- γ 相关因子基因和蛋白表达影响的研究[D].南京:南京中医药大学,2013.

(收稿日期:2016-08-07 修回日期:2017-03-12)

(编辑:林静)