

黄芩-白芍药对改善小鼠溃疡性结肠炎的作用及机制研究[△]

刘 岩^{1*},李连泰²,计小清¹,赵印涛¹,辛思源¹,邓秀敏¹,张梦娇¹,张英俊¹(1.承德医学院中医学院,河北承德 067000;2.承德医学院附属医院中医骨伤科,河北承德 067000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0356-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.16

摘要 目的:研究黄芩-白芍药对改善小鼠溃疡性结肠炎(UC)的作用及机制。方法:将70只小鼠随机分为空白组、模型组、黄芩组(1.5 g/kg)、白芍组(1.5 g/kg)和黄芩-白芍(2:1、1:1、1:2, *m/m*)组(黄芩和白芍总量为1.5 g/kg),每组10只。除空白组外,其余各组小鼠均复制UC模型。造模结束后次日,各给药组小鼠均按0.2 mL/10 g灌胃相应药液(以生药计质量浓度均为75 mg/mL),空白组和模型组小鼠灌胃等体积生理盐水,每日1次,连续7 d。给药结束后,对小鼠疾病活动指数进行评分,测定各组小鼠血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、D-乳酸(D-LA)及二胺氧化酶(DAO)水平,测量小鼠结肠长度并计算肠质量指数,测定结肠组织中髓过氧化物酶(MPO)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)水平。结果:与空白组比较,模型组小鼠疾病活动指数评分以及血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、D-LA、DAO水平和结肠组织中MPO、NO、MDA水平显著升高,结肠长度、肠质量指数和结肠组织中SOD水平显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,黄芩组小鼠疾病活动指数评分和血清中TNF- α 、IL-1 β 、DAO水平以及结肠组织中MDA水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);白芍组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 水平和结肠组织中MDA水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);黄芩-白芍(2:1)组小鼠除结肠长度外的其余各指标均显著改善($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);黄芩-白芍(1:1)组小鼠除血清中IL-6水平和结肠组织中SOD水平外的其余各指标均显著改善($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);黄芩-白芍(1:2)组小鼠除血清中NO水平外的其余各指标均显著改善($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:黄芩-白芍药对可通过降低促炎因子的表达,增加机体抗氧化作用,降低肠道黏膜通透性,从而改善小鼠的UC症状,且以黄芩-白芍(2:1)组效果最佳。

关键词 黄芩;白芍;配比;溃疡性结肠炎;作用机制;小鼠

- [9] KAWAGISHI H, KATSUMI R, SAZAWA T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*[J]. *Phytochemistry*, 1988, 9(21): 2111-2119.
- [10] HU XY, DOU DQ, PEI YP, et al. Chemical constituents of roots of *Ranunculus ternatus* Thunb[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2006, 15(2): 127-129.
- [11] JATURAPAT A, ISAKA M, HYWEL-JONES NL, et al. Bioxanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620[J]. *J Antibiot*, 2001, 54(1): 29-35.
- [12] 何海清,钟娟,周金燕,等.角毛壳菌CH-1产生的抗真菌活性化合物的纯化和鉴定[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(4): 592-597.
- [13] 尚志钧. *神农本草经校注*[M].北京:学苑出版社,2008: 167.
- [14] CHOI JN, KIM J, LEE MY, et al. Metabolomics revealed novel isoflavones and optimal cultivation time of *Cordyceps militaris* fermentation[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(7): 4258-4267.
- [15] KIM JH, PARK DK, LEE CH, et al. A new isoflavone glycoside 7-O-beta-D-glucoside 4'-O-methylate, isolated from *Cordyceps militaris* grown on germinated soybeans extract, inhibits EGF-induced mucus hypersecretion in the human lung mucocoepermoid cells[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(12): 1807-1812.
- [16] KIM SB, AHN B, KIM M, et al. Effect of *Cordyceps militaris* extract and active constituents on metabolic parameters of obesity induced by high-fat diet in C58BL/6J mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 478-484.
- [17] 燕心慧,齐秋月,汪世华,等.蛹虫草子实体活性成分的分 离鉴定[J]. *菌物学报*, 2016, 35(5): 605-610.
- [18] 李聆莉,李红玉,王帆,等.1株南海红树林底泥来源抗真菌抗生素链霉菌 *Streptomyces antibioticus* No.H41-51 发酵物的化学成分研究[J]. *中国海洋药物*, 2016, 35(4): 23-29.
- [19] TAKEI T, YOSHIDA M, OHNISHI-KAMEYAMA M, et al. Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from *Sarcodon asparatus* (Berk.) S.Ito[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(1): 212-215.
- [20] 麻兵继,文春南,吴婷婷,等.麦角甾醇过氧化物的抑菌活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2012, 33(7): 42-44.

[△] 基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(No.2014200);河北省高等教育教学改革研究与实践项目(No.2016GJJG155);承德医学院博士基金项目(No.201301)

* 讲师,博士。研究方向:方剂配伍规律。电话:0314-2291160。
E-mail: liuyan912@126.com

(收稿日期:2017-10-10 修回日期:2017-12-10)
(编辑:林 静)

Study on the Effects and Mechanism of Couplet Medicines of *Scutellaria baicalensis*-*Paeonia lactiflora* on Improving Ulcerative Colitis in Mice

LIU Yan¹, LI Liantai², JI Xiaoqing¹, ZHAO Yintao¹, XIN Siyuan¹, DENG Xiumin¹, ZHANG Mengjiao¹, ZHANG Yingjun¹(1.College of TCM, Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China; 2.Dept. of Orthopaedics and Traumatology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects and mechanism of couplet medicines of *Scutellaria baicalensis*-*Paeonia lactiflora* on improving ulcerative colitis (UC) in mice. METHODS: A total of 70 mice were randomly divided into blank group, model group, *S. baicalensis* group (1.5 g/kg), *P. lactiflora* group (1.5 g/kg), *S. baicalensis*-*P. lactiflora* (2:1, 1:1, 1:2, m/m) groups (total amount of 1.5 g/kg), with 10 mice in each group. Except for blank group, UC model of mice was induced in each group. The next day after modeling, treatment groups were given relevant medicine liquid 0.2 mL/10 g (75 mg/mL, calculated by crude drug mass concentration), while blank group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. After administration, disease activity indexes (DAI) of rats were scored, and the serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, D-LA and myeloperoxidase (DAO) were determined. The length of the colon was measured and the intestinal mass index was calculated in mice. The activities of medullary peroxide (MPO) and SOD, the levels of NO and MDA were determined in colon tissue. RESULTS: Compared with blank group, DAI score, serum levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, D-LA and DAO, the levels of MPO, NO and MDA in colon were increased significantly in model group, while the length of colon, intestinal mass index and SOD level of colon tissue were decreased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with model group, DAI score, serum levels of TNF- α , IL-1 β and DAO, the level of MDA in colon were decreased significantly in *S. baicalensis* group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The serum levels of TNF- α and IL-1 β , the level of MDA in colon were decreased significantly in *P. lactiflora* group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Above indexes of *S. baicalensis*-*P. lactiflora* (2:1) group were improved significantly except for the length of colon ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Above indexes of *S. baicalensis*-*P. lactiflora* (1:1) group were improved significantly except for serum level of IL-6 and the level of SOD in colon ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Above indexes of *S. baicalensis*-*P. lactiflora* (1:2) group were improved significantly except for serum level of NO ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: The couplet medicines of *S. baicalensis*-*P. lactiflora* can reduce the expression of proinflammatory factors, enhancing antioxidant activity of the body and decrease intestinal mucosal permeability so as to improve UC symptom of mice; and the effect of *S. baicalensis*-*P. lactiflora* (2:1) group is the best.

KEYWORDS *Scutellaria baicalensis*; *Paeonia lactiflora*; Compatibility proportion; Ulcerative colitis; Effect mechanism; Mice

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种严重的慢性炎症性肠道疾病,主要累及结肠黏膜和黏膜下层,其病因及发病机制尚未明确,到目前为止,仍缺乏较为满意的治疗方法^[1]。《伤寒论》中的黄芩汤用黄芩、芍药、甘草、大枣配伍,治疗太阳与少阳合病及症见身热、口苦、腹痛下利者。黄芩、芍药作为方中治疗湿热下利的主要配伍结构,后世医家常在此基础上加减化裁,用于治疗下痢、泄泻等病证^[3]。从疾病的临床表现来看,UC属于下痢、泄泻等病证的范畴。在临床上,应用黄芩、芍药配伍组成的方剂治疗UC也确有较好的疗效^[4-5],但其作用机制尚不明确。因此,本研究采用4%葡聚糖硫酸钠(DSS)建立UC小鼠模型,观察不同配比黄芩-芍药对UC模型小鼠的抗炎、抗氧化作用,并探讨其治疗UC的作用机制,为含黄芩-芍药药对治疗UC提供参考。

1 材料

1.1 仪器

JD200-3 电子天平(沈阳龙腾电子有限公司); LDZ5-2 低速自动平衡离心机(北京医用离心机厂); 722 分光光度计(上海欣茂仪器有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

黄芩(批号:150106)、芍药(批号:150502)均购自北京同仁堂承德店,由河北民族师范学院生物系董建新教授鉴定均为真品;DSS(美国MP Bio公司);肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,批号:20151104、20151012、20151207);D-乳酸(D-LA)、二胺氧化酶(DAO)ELISA检测试剂盒(南京君科生物科技有限公司,批号:20151006、20151024);超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、一氧化氮(NO)检测试剂盒(南京建成科技有限公司,批号:20151012、20150922、20151108、20151009);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF级健康KM小鼠70只,6周龄,体质量(23 \pm 2)g,♀♂各半,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2012-0001。小鼠购入后饲养于(22 \pm 2)℃的动物房中,饲养期间自由饮食,适应性饲养7d后开始实验。

2 方法

2.1 水煎液制备

黄芩水煎液:取黄芩 150 g,用 10 倍体积水浸泡 30 min,加热煮沸,文火煎 30 min,趁热滤取药液;取药渣再加 8 倍量水,煮沸续煎 30 min,合并两次滤液,浓缩至生药量为 75 mg/mL 的药液。白芍水煎液:取白芍 150 g,药液制备条件同黄芩,浓缩至生药量为 75 mg/mL 的药液。黄芩-白芍配伍水煎液:分别按 2:1(黄芩 100 g、白芍 50 g)、1:1(黄芩 75 g、白芍 75 g)、1:2(黄芩 50 g、白芍 100 g)的比例称取药材,按前述方法制备并浓缩成生药量为 75 mg/mL 的药液。所制药液均于 4 ℃ 冰箱冷藏,备用。

2.2 分组、造模与给药

将 70 只小鼠随机分为空白组、模型组、黄芩组、白芍组和黄芩-白芍(2:1、1:1、1:2, *m/m*)组,每组 10 只。空白组小鼠给予日常饮用水,其余各组小鼠均以 4% DSS 溶液代替日常饮用水,连续 7 d,以复制小鼠 UC 模型^[6]。造模结束后次日开始给药,空白组和模型组小鼠按 0.2 mL/10 g 灌胃生理盐水,其余各给药组小鼠均按 0.2 mL/10 g 灌胃生药量为 75 mg/mL 的相应药液(依据临床用药上限确定剂量),每日 1 次,连续 7 d。

2.3 一般情况和疾病活动指数评分

每日称小鼠体质量,观察其大便性状和便血情况,并按以下标准对其疾病活动指数进行评分^[7]:0 分,体质量减少 < 1%,便血呈阴性,无腹泻;1 分,体质量减少 1%~5%,便血呈弱阳性,粪便松散;2 分,体质量减少 5%~10%,便血呈阳性,半成形稀便;3 分,体质量减少 10%~20%,便血呈强阳性,不成形稀便;4 分,体质量减少 > 20%,肉眼可见血便,水样泻。

2.4 标本制备及指标检测

末次给药后,各组小鼠禁食 24 h,第 2 天均摘眼球取血,然后将血样以离心半径为 16 cm、3 000 r/min 离心 15 min,分离血清并置于 -20 ℃ 冰箱中冷冻保存;采用 ELISA 法测定血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、D-LA、DAO 水平,具体操作按照试剂盒说明书进行。取血后处死小鼠,迅速取出肛门至盲肠末端的结肠及直肠段,沿肠系膜纵轴剪开,用生理盐水洗净,滤纸吸干,肉眼观察各组小鼠结肠组织的大体改变,并测定结肠的长度和湿质量,按公式计算肠质量指数:肠质量指数(%) = 结肠长度(m)/结肠湿质量(g) × 100%。空白组小鼠取一段结肠黏膜,其余各组小鼠均取炎症改变最明显处的结肠黏膜,湿质量均为 200 mg,冰浴下制成 10% 组织匀浆后,采用低温离心机以离心半径为 16 cm、4 000 r/min 离心 15 min,取上清液分装于 EP 管中, -20 ℃ 保存;采用 ELISA 法检测结肠组织中 MPO、NO、MDA、SOD 水平,具体操作按相应试剂盒说明书进行。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态分布和方差齐性检验后,采用单因素方差分析和 LSD 检验进行组间比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠一般情况和疾病活动指数评分

造模第 5~6 天,造模小鼠出现腹泻、食量减少、体毛无光泽等症状;造模第 6~7 天,造模小鼠出现不同程度肉眼血便、活动减少、体质量下降等症状。给药 7 d 后,模型组小鼠的疾病活动指数较空白组显著升高($P < 0.01$);各给药组小鼠腹泻、体质量下降等情况均有所缓解,除白芍组的其余各给药组小鼠的疾病活动指数较模型组均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且以黄芩-白芍(2:1)组效果最优,结果见表 1。

表 1 各组小鼠疾病活动指数评分结果($\bar{x} \pm s, n=10$, 分)

Tab 1 DAI score of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$, score)

组别	疾病活动指数评分
空白组	0
模型组	2.27 ± 0.20**
黄芩组	1.64 ± 0.16 [#]
白芍组	1.85 ± 0.16
黄芩-白芍(2:1)组	1.09 ± 0.34 ^{##}
黄芩-白芍(1:1)组	1.22 ± 0.14 ^{##}
黄芩-白芍(1:2)组	1.13 ± 0.11 ^{##}

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

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

0.01

3.2 结肠长度和肠质量指数

与空白组比较,模型组小鼠结肠显著缩短($P < 0.01$),肠质量指数显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,黄芩-白芍(1:1、1:2)组小鼠结肠显著增长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),黄芩-白芍各组小鼠肠质量指数均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其中以黄芩-白芍(1:1)组改善最为明显,结果见表 2。

表 2 各组小鼠结肠长度和肠质量指数测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Determination of the length of colon and intestinal mass index in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	结肠长度,cm	肠质量指数,%
空白组	9.12 ± 0.75	35.08 ± 2.59
模型组	6.83 ± 1.00**	23.65 ± 2.09**
黄芩组	7.25 ± 0.38	28.14 ± 1.50
白芍组	7.68 ± 0.75	27.66 ± 2.55
黄芩-白芍(2:1)组	8.19 ± 0.21	30.53 ± 3.10 [#]
黄芩-白芍(1:1)组	8.96 ± 0.34 ^{##}	32.78 ± 3.20 ^{##}
黄芩-白芍(1:2)组	8.31 ± 0.23 [#]	31.96 ± 1.48 [#]

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

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

0.01

3.3 血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平

与空白组比较,模型组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),黄芩-白芍(2:1、1:2)组小鼠血清中 IL-6 水平显著降低($P < 0.05$),其中以黄芩-白芍(2:1)组变化最为明显,结果见表 3。

表3 各组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{ng/mL}$)

Tab 3 Serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in mice of each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{ng/mL}$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6
空白组	32.16 \pm 2.72	45.25 \pm 7.42	22.08 \pm 5.77
模型组	98.25 \pm 13.08**	110.87 \pm 15.37**	50.03 \pm 7.11*
黄芩组	58.62 \pm 12.19 ^{##}	70.82 \pm 5.91 ^{##}	35.72 \pm 8.09
白芍组	62.86 \pm 8.29 ^{##}	64.84 \pm 6.84 ^{##}	37.68 \pm 10.86
黄芩-白芍(2:1)组	47.61 \pm 10.76 ^{##}	57.21 \pm 5.95 ^{##}	30.58 \pm 7.89 [#]
黄芩-白芍(1:1)组	50.38 \pm 7.61 ^{##}	78.14 \pm 2.63 [#]	36.14 \pm 7.27
黄芩-白芍(1:2)组	55.59 \pm 7.91 ^{##}	60.11 \pm 14.30 ^{##}	29.87 \pm 6.89 [#]

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

Note: vs. blank group,* $P<0.05$,** $P<0.01$;vs. model group,* $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

3.4 血清中D-LA和DAO水平

与空白组比较,模型组小鼠血清中D-LA、DAO水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,黄芩-白芍各组小鼠血清中D-LA、DAO水平及黄芩组小鼠血清中DAO水平均显著降低($P<0.01$),且以黄芩-白芍(2:1)组变化最为明显,结果见表4。

表4 各组小鼠血清中D-LA和DAO水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 Serum levels of D-LA and DAO of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	D-LA,ng/mL	DAO,U/mL
空白组	1.68 \pm 0.06	1.32 \pm 0.23
模型组	3.25 \pm 0.20**	4.05 \pm 0.30**
黄芩组	2.75 \pm 0.28	3.14 \pm 0.51 [#]
白芍组	2.81 \pm 0.25	3.32 \pm 0.28
黄芩-白芍(2:1)组	1.94 \pm 0.10 ^{##}	2.16 \pm 0.25 ^{##}
黄芩-白芍(1:1)组	2.31 \pm 0.27 ^{##}	2.32 \pm 0.44 ^{##}
黄芩-白芍(1:2)组	2.26 \pm 0.18 ^{##}	2.47 \pm 0.37 ^{##}

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

Note: vs. blank group,* $P<0.01$;vs. model group,* $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

3.5 结肠组织中MPO和NO水平

与空白组比较,模型组小鼠结肠组织中MPO、NO水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,白芍组和黄芩-白芍各组小鼠结肠组织中MPO水平以及黄芩-白芍(2:1、1:1)组小鼠结肠组织中NO水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);其中以黄芩-白芍(2:1、1:1)组变化较为明显,结果见表5。

3.6 结肠组织中SOD和MDA水平

与空白组比较,模型组小鼠结肠组织中SOD水平显著降低、MDA水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,黄芩-白芍(2:1)组小鼠结肠组织中SOD水平显著升高($P<0.05$),各给药组小鼠MDA水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且以黄芩-白芍(1:1、2:1)组变化较为明显,结果见表6。

4 讨论

UC是在环境因素及肠道微生物的作用下,以遗传

表5 各组小鼠结肠组织中MPO、NO水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 5 Levels of MPO and NO in colon tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	MPO,U/g	NO, μ mol/g
空白组	0.63 \pm 0.10	135.19 \pm 18.98
模型组	3.12 \pm 0.37**	197.28 \pm 19.71**
黄芩组	2.58 \pm 0.62	172.36 \pm 8.39
白芍组	2.16 \pm 0.21 [#]	177.14 \pm 10.45
黄芩-白芍(2:1)组	1.85 \pm 0.25 ^{##}	152.90 \pm 7.11 [#]
黄芩-白芍(1:1)组	1.13 \pm 0.20 ^{##}	160.82 \pm 10.82 [#]
黄芩-白芍(1:2)组	1.74 \pm 0.25 ^{##}	169.25 \pm 18.29

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

Note: vs. blank group,** $P<0.01$;vs. model group,* $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

表6 各组小鼠结肠组织中SOD、MDA水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 6 Levels of SOD and MDA in colon tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	SOD,U/g	MDA,nmol/g
空白组	29.58 \pm 5.06	10.12 \pm 1.58
模型组	13.67 \pm 3.78**	41.38 \pm 4.78**
黄芩组	19.75 \pm 3.06	26.47 \pm 7.74 [#]
白芍组	20.54 \pm 3.18	28.56 \pm 5.03 [#]
黄芩-白芍(2:1)组	25.71 \pm 8.08 [#]	17.64 \pm 3.13 ^{##}
黄芩-白芍(1:1)组	22.38 \pm 3.37	20.31 \pm 2.56 ^{##}
黄芩-白芍(1:2)组	23.19 \pm 3.10	22.69 \pm 3.80 ^{##}

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

Note: vs. blank group,* $P<0.01$;vs. model group,* $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

易感性为基础,因肠道的免疫异常而导致的一种直肠和结肠慢性非特异性炎症病变^[8]。UC的病因及发病机制尚未完全明确,一般认为与遗传、免疫、感染等因素相关,UC发生的主要病理基础是肠道大量炎症细胞浸润并释放炎症因子,引起肠上皮细胞的坏死、脱落,使肠道黏膜通透性增加,从而导致肠道黏膜屏障功能的降低^[9]。TNF- α 由单核巨噬细胞系鼠产生,是能介导UC发病的促炎因子,能促使中性粒细胞浸润肠道病变部位,并引起相应病理变化,最终导致UC形成^[10]。IL-1 β 能促进黏附分子表达,引起炎症蛋白和炎症介质释放,并进入肠道病变部位,进而引起肠道炎症反应和局部组织的损伤,IL-1 β 分泌增加将直接介导UC早期的炎症反应^[11]。IL-6是一种免疫调节因子,主要通过激活转录激活因子3(STAT3)信号通路在UC的发病及随后的与UC相关的结肠癌肿瘤中发挥重要作用^[12]。在UC的发展过程中,具有免疫调节作用的细胞因子起到重要作用,其中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等促炎因子的过度表达是导致肠道黏膜的炎症反应和溃疡发生的主要原因^[13]。中性粒细胞中的MPO能使过氧化氢(H₂O₂)生成氧化物,并诱导中性粒细胞及巨噬细胞自身的致炎反应,使得肠道炎症进一步加重^[10]。诱生型一氧化氮合酶(iNOS)诱导产生大量的NO,UC患者病变结肠黏膜中NO含量的升高与炎症程度呈正相关^[14]。因此,MPO和NO水平是评价

UC 炎症程度的关键指标。

氧自由基通过脂质过氧化反应产生炎症因子,而这些物质在UC炎症反应中发挥及其重要的作用。氧自由基作用于细胞中的脂类物质,发生脂质过氧化反应,产生的分解产物MDA为脂质过氧化的最终产物,MDA含量的高低反映了机体受自由基损伤的严重程度^[15]。SOD是过氧化物歧化酶,可抑制脂质过氧化反应,清除氧自由基,稳定细胞膜,SOD活性的高低反映了机体清除氧自由基的能力^[16]。DAO是肠道黏膜上皮细胞中的细胞内酶,当肠道黏膜上皮细胞损伤时,DAO被释放入血,因而血清中DAO水平升高可间接反映肠道黏膜上皮细胞损伤的程度^[17]。D-LA是细菌发酵的代谢产物,其可通过受损黏膜入血,导致血清中D-LA水平升高。因此,血清中D-LA水平高低可间接反映肠道黏膜通透性的变化^[18]。

UC以腹痛、腹泻、黏液血便、里急后重为主要临床表现,病变主要累及直肠和远端结肠的黏膜层及黏膜下层,且病程迁延不愈^[19],属中医“休息痢”“久痢”“肠癖”等病范畴,中医药治疗本病手段多样,疗效确切,具有毒副作用小的优势。黄芩苦寒,燥肠胃湿热;白芍酸苦微寒,泻木中之火。黄芩、白芍配伍,从肝论治,黄芩苦寒又得到白芍敛阴和营,一清一敛,清热止痢、缓急止痛^[3]。因此,本研究观察黄芩、白芍及其不同配比对UC小鼠的抗炎、抗氧化作用,探讨其治疗UC的作用机制。

本研究结果显示,造模小鼠出现了体质量下降、腹泻和便血等典型UC症状,模型组小鼠疾病活动指数评分也显著高于空白组,且模型组小鼠结肠长度较空白组明显缩短,表明造模后小鼠肠道受到损伤,提示造模成功。各给药组小鼠结肠长度均不同程度增长,且肠质量指数有所升高,提示黄芩、白芍单用及以不同比例配伍使用均对UC小鼠有一定治疗作用,各配比组效果优于黄芩、白芍组,且以黄芩-白芍(2:1)组效果最佳。黄芩-白芍药对可明显降低UC模型小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平及结肠组织中MPO、NO水平,提示其可能是通过降低炎症因子水平、减少炎症细胞浸润,从而使结肠炎症得以改善。并且,黄芩-白芍药对还可显著降低UC模型小鼠结肠组织中MDA水平和血清中D-LA及DAO水平,升高结肠组织中SOD水平,提示其可能是通过减少氧自由基生成、抑制脂质过氧化反应、改善道黏膜屏障及减轻肠道上皮细胞的损,最终达到治疗UC的效果。

综上所述,黄芩-白芍药对可通过降低血清中促炎因子的表达,增加机体抗氧化作用,降低肠道黏膜通透性,恢复肠道黏膜功能,从而发挥其对UC小鼠的治疗作用,且各配比组效果均优于黄芩、白芍单用组,并以黄芩-白芍(2:1)组效果最佳,但其具体的配伍比例和更深入的作用机制则有待进一步研究。

参考文献

[1] 朱向东,梅晓云,王燕,等.痛泻要方对溃疡性结肠炎大鼠

结肠黏膜PPAR- γ 基因和蛋白表达的影响[J].中华中医药杂志,2013,28(4):941-945.

- [2] LAKATOS PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases : up or down?[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(38):6102-6108.
- [3] 刘舟.黄芩配伍运用的文献研究[D].成都:成都中医药大学,2005.
- [4] 赵坤,宋攀,张其奇,等.黄芩汤治疗溃疡性结肠炎疗效的Meta分析[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(4):213-217.
- [5] 王声勇,朱燕莉,张海,等.黄芩汤颗粒剂对克罗恩病的免疫调节作用研究以及临床疗效分析[J].中国中西医结合消化杂志,2016,24(4):314-316.
- [6] 张顺,杜涛,蒋小华,等.缺氧诱导因子-2 α 在小鼠DSS结肠炎中的作用及其机制研究[J].胃肠病学,2017,22(2):91-95.
- [7] KIHARA N, DE LA FUENTE SG, FUJINO K, et al. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats[J]. *Gut*, 2003, 52(5):713-719.
- [8] 孙春霞,霍永利,郭喜军,等.化浊解毒愈溃方对溃疡性结肠炎大鼠黏膜损伤的修复作用[J].中国药房,2017,28(10):1329-1332.
- [9] NEURATH MF. Cytokines in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(5):329-342.
- [10] 徐香琴,黄松,杜先华,等.白屈菜红碱对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(21):171-174.
- [11] 卢健,马骥,王丽娜,等.四逆散对实验性溃疡性结肠炎大鼠IL-1 β 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(1):103-105.
- [12] LI Y, DE HAAR C, CHEN M, et al. Disease-related expression of the IL-6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis[J]. *Gut*, 2010, 59(2):227-235.
- [13] 卢艺涛,高静,姚桂琴.溃疡性结肠炎患者相关细胞因子的实验性研究[J].现代预防医学,2005,32(7):735-736.
- [14] 金惠铭.病理生理学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2000:150-151.
- [15] 周燕红,于皆平,何小飞.大鼠溃疡性结肠炎超氧化物歧化酶和丙二醛的变化[J].咸宁学院学报(医学版),2003,17(6):391-393.
- [16] 何爱明,王乙林,林世明.乌梅水煎物对实验性溃疡性结肠炎小鼠的作用[J].药学实践杂志,2012,30(5):357-360.
- [17] 王平,兰梅.乳糖联合双歧菌治疗肝硬化疗效及对血清二胺氧化酶和内毒素的影响[J].上海预防医学,2014,26(4):219-221.
- [18] 王小英,程爱国.肠道黏膜屏障功能及其检测方法研究进展[J].华北煤炭医学院学报,2009,11(5):653-654.
- [19] 郑彩华,郭光业.溃结爽口服配合灌肠治疗溃疡性结肠炎临床研究[J].河北中医药学报,2012,27(3):13-14.

(收稿日期:2017-08-22 修回日期:2017-12-13)

(编辑:林静)