

- fibroblasts in vitro; therapeutic implication for excessive scarring [J]. J Trauma, 2003,54(6):1212-1224.
- [5] 平键, 成扬, 徐列明. 姜黄素通过激活过氧化物酶体增殖子活化受体 γ 诱导肝星状细胞凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2007,23(10):1295-1299.
- [6] 黄艳, 黄成, 李俊. 肝纤维化病程中 Kupffer 细胞分泌的细胞因子对肝星状细胞活化增殖凋亡的调控 [J]. 中国药理学通报, 2010,26(1):9-13.
- [7] Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury [J]. Semin Liver Dis, 2001, 21 (3):427-436.
- [8] Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells; new insights and prospects for therapy [J]. J Gastroenterol Hepatol, 1999,14(7):618-633.
- [9] Bataller R, Brenner DA. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis [J]. Semin Liver Dis, 2001,21(3):437-451.
- [10] Novo E, Marra F, Zamara E, et al. Overexpression of Bcl-2 by activated human hepatic stellate cells: resistance to apoptosis as a mechanism of progressive hepatic fibrogenesis in humans [J]. Gut, 2006,55(8):1174-1182.

(收稿日期:2012-06-20)

(本文编辑:刘群)

椒梅连理汤抗慢性溃疡性结肠炎的实验研究

周春和 高玉华 高社光 王玲玲 宋立峰 申炜 郭兴芳 李志斌 刘娜

【摘要】 目的 观察椒梅连理汤抗实验性溃疡性结肠炎的作用,探讨其治疗作用可能的免疫学机制。**方法** 将43只SD大鼠随机分为4组:正常组10只,模型组、柳氮磺胺吡啶组(SASP组)、椒梅连理汤组(中药组)各11只。采用三硝基苯磺酸法制备大鼠溃疡性结肠炎模型,分别予以相应药物1ml/100g灌胃,每天1次,连续4周。检测大鼠血清及结肠黏膜中白介素1 β (IL-1 β)、白介素4(IL-4)、白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的含量。**结果** 模型组大鼠肠黏膜出现充血、水肿、增生和溃疡,SASP组和中药组较模型组明显好转。与正常组比较,模型组大鼠IL-1 β 、IL-6、TNF- α 明显升高($P < 0.05$),IL-4明显下降($P < 0.05$),SASP组、中药组和模型组比较,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 降低($P < 0.05$),IL-4升高($P < 0.05$)。SASP组和中药组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 椒梅连理汤能有效对抗实验性溃疡性结肠炎,与SASP相当,通过调节IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-4含量可能是其治疗机制之一。

【关键词】 椒梅连理汤; 溃疡性结肠炎; 白介素-1 β ; 白介素-4; 白介素-6; 肿瘤坏死因子 α ; 大鼠

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.08.002

Experiments on Jiaomei Lianli Decoction in the treatment of chronic ulcerative colitis ZHOU Chun-he, GAO Yu-hua, GAO She-guang, et al. Department of Anorectal Surgery, Traditional Chinese Medicine Hospital of Handan, Handan 056001, China

Corresponding author: SONG Li-feng, E-mail: hdsf2008@163.com

【Abstract】 Objective To observe the anti-ulcerative colitis effects of Jiaomei Lianli Decoction, and to discuss the possible immunological mechanisms of the treatment effect. **Methods** 43 SD rats were randomly divided into four groups, normal group ($n = 10$), model group ($n = 11$), salicylazosulfapyridine group (SASP group) ($n = 11$), Jiaomei Lianli Decoction group (TCM group) ($n = 11$). The rat ulcerative

作者单位:056001 河北省邯郸市中医院肛肠科(周春和、宋立峰、申炜、郭兴芳、李志斌),老年病科(高社光、王玲玲、刘娜);邯郸市传染病医院(高玉华)

作者简介:周春和(1958-),本科,副主任中医师。研究方向:中医治疗慢性溃疡性结肠炎研究。E-mail:hdsf2008@163.com

通讯作者:宋立峰(1975-),本科,副主任中医师。研究方向:中医肛肠疾病临床研究。E-mail:hdsf2008@163.com

文献标引格式:

周春和,高玉华,高社光,等. 椒梅连理汤抗慢性溃疡性结肠炎的实验研究[J]. 环球中医药, 2012, 5(8):565-568.

colitis model was established by using 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). Corresponding drugs were respectively administered by gastric infusion to the groups for 1 ml/100 g one day for four weeks. Content of IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF alpha in serum and colonic mucosa were detected. **Results** There were congestion, edema, proliferation and ulcers in colonic mucosa of model rat, while the conditionS of SASP group and TCM group were improved obviously. Compared with normal group, contents of IL-1 β , IL-6, TNF alpha of model group were increased significantly ($P < 0.05$), content of IL-4 declined obviously ($P < 0.05$). Compared with model group, contents of IL-1 β , IL-6, TNF alpha of SASP group and TCM group declined significantly ($P < 0.05$), content of IL-4 increased obviously ($P < 0.05$). There were no significant differences between SASP group and TCM group ($P > 0.05$). **Conclusion** Jiaomei Lianli Decoction demonstrated effective anti-ulcerative colitis by adjusting the content of IL-1 β , IL-6, TNF alpha and IL-4, which may be one of the treatment mechanisms, and the effects were similar to SASP.

【Key words】 Jiaomei Lianli Decoction; Ulcerative colitis; Interleukin-1 β ; Interleukin-4; Interleukin-6; Tumor necrosis factor alpha; Rats

溃疡性结肠炎是一种原因不明的反复发作的慢性非特异炎症性肠道疾病。目前普遍认为其发病与免疫功能紊乱有关^[1-3],因此具有免疫调节作用的细胞因子在其发病过程中起着不可忽视的作用。笔者采用椒梅连理汤治疗该病,疗效显著。为进一步研究该方发生作用的机理,制作溃疡性结肠炎大鼠模型,以椒梅连理汤作为处理因素,观察其对模型大鼠细胞因子的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

SPF级SD大鼠43只,体重(220 \pm 20)g,适应性饲养3天后按体重顺序编码,用随机数字表法将其分为4组:正常组10只,模型组、柳氮磺胺吡啶组(SASP组)、椒梅连理汤组(中药组)各11只。

1.2 试剂与器材

5%三硝基苯磺酸(TNBS)溶液由美国Sigma公司生产。水合氯醛为国产分析纯。无水乙醇。白介素1 β (IL-1 β),白介素4(IL-4),白介素6(IL-6)试剂盒,大鼠TNF- α 酶联免疫双抗体夹心(ABC-ELISA)试剂盒,由北京普尔伟业生物科技有限公司提供。日立高速冷冻离心机。奥林巴斯双目光学显微镜。

1.3 造模方法

正常组不造模,其余3组于造模前禁食48小时,以10%水合氯醛腹腔注射麻醉。将大鼠尾部抬高,约呈40°角,将5%三硝基苯磺酸(TNBS)与无水乙醇以2:1的体积混合,将一外径2.0mm输液管缓慢从大鼠肛门插入约8cm,缓慢灌注以上混合液0.6ml,捏紧肛门放置5分钟,等待大鼠自然苏醒。造模结束后第2天各造模组随机处死1只大鼠,肉

眼观察其结肠情况,并取8cm肠段做HE染色,光镜下观察,确定造模成功。

1.4 药物及给药方法

造模后3天开始给药,连续4周。椒梅连理汤组(中药组)予中药灌胃,由邯郸市中医院中药房提供。椒梅连理汤组成:川花椒6g、乌梅15g、川黄连15g、党参12g、麸炒白术15g、干姜6g、炙甘草10g。加10倍量水煎煮,浓缩,按成人用量的8倍量,灌胃容积为1ml/100g体重,每天1次。

柳氮磺胺组(SASP组)予柳氮磺胺混悬液灌胃。柳氮磺胺吡啶片由上海三维制药有限公司提供,国药准字H31020450。将其研磨成细粉,使用时用蒸馏水配成混悬液,按0.267g/kg,灌胃容积为1ml/100g体重(相当于成人用量的8倍),每天1次。

正常组及模型组给予蒸馏水,按1ml/100g体重灌胃,每天1次。

1.5 观察指标

所有动物均饲养4周,观察记录大鼠粪便、毛发、精神等一般状况。取材前禁食水12小时,10%水合氯醛麻醉,开腹,腹主动脉取血,静置2小时,3000rpm离心10分钟,取血清备用。肉眼观察大鼠结肠形态,肛门以上8cm剪取病变最明显处结肠段,取组织100mg加入生理盐水1ml,研磨制作成匀浆,于4℃3000rpm离心取上清液备用。放射免疫分析法测定各组血清及组织匀浆IL-1 β 、IL-4、IL-6含量,ELISA法测定TNF- α 含量。

1.6 统计学处理

所有数据输入Excel表格,导入SPSS 17.0进行分析,符合正态分布,方差齐性,数据用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-way

ANOVA), 组间比较采用 LSD 法。P<0.05 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般状况

模型组动物精神萎靡, 活动减少, 毛发干枯无光泽, 颜色发黄, 进食减少, 排稀便, 部分带有脓液或黏液血便, 肛周污秽。SASP 组和中药组大鼠在第 1 周同模型组, 第 2~3 周逐渐好转, 第 4 周时精神好转, 活动较多, 毛发比较光亮, 粪便基本恢复正常。

2.2 大鼠结肠黏膜损伤大体情况

肉眼观察模型组结肠黏膜充血、水肿, 黏膜表面有脓血黏液。可见局部糜烂, 或局部有椭圆形浅表溃疡, 溃疡间黏膜水肿而增厚, 某些病变区域颜色黑褐。SASP 组和中药组较模型组充血水肿不明显, 结肠黏膜颜色与正常组相似, 未见明显溃疡。

2.3 对大鼠血清 IL-1 β 、IL-4、IL-6 及 TNF- α 的影响

模型组血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量较正常组显著升高 (P<0.05), 中药组及 SASP 组血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量则显著低于模型组 (P<0.05), 2 组间比较差异无统计学意义 (P>0.05)。模型组 IL-4 含量较正常组降低 (P<0.05), 中药组及 SASP 组含量高于模型组 (P<0.05), 2 组间比较差异无统计学意义 (P>0.05)。结果见表 1。

2.4 对大鼠结肠黏膜组织中 IL-1 β 、IL-4、IL-6 及 TNF- α 的影响

模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量较正常组升高 (P<0.05); 中药组及 SASP 组含量低于模型组 (P<0.05), 2 组间比较差异无统计学意义 (P>0.05)。

模型组 IL-4 低于正常组 (P<0.05), 中药组及 SASP 组含量较模型组升高 (P<0.05), 2 组间比较差异无统计学意义 (P>0.05)。结果见表 2。

3 讨论

溃疡性结肠炎发病机制之一可能是由于肠黏膜通透性增加, 导致肠腔内特异性抗原进入黏膜下肌层, 引起的结肠损伤。基于以上理论, 采用 TNBS 和乙醇混合造模, 乙醇破坏肠黏膜屏障, 辅助 TNBS 进入肠黏膜而致炎。本研究显示造模后动物出现排稀便、脓液和黏液血便等, 病理检查示结肠溃疡、肠壁充血水肿、炎性细胞渗出等, 与溃疡性结肠炎患者临床表现和病理变化类似。因此笔者认为采用该方法造模成功。

IL-1 主要有 IL- α 和 IL- β 两种形式, 其中 IL- β 主要为分泌型的。它的分泌可介导溃疡性结肠炎的早期的炎症反应。它能够促进炎症活性, 刺激其他细胞因子和炎症介质产生, 增加单核-巨噬细胞等的抗原提呈能力, 促进 B 细胞的增殖和分化, 介导免疫球蛋白的分泌, 激活补体和杀伤细胞等的活性, 增强细胞免疫和体液免疫。IL-6 是由活化的 T 细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子, 也是一种促炎症因子, 它与其他细胞因子一起, 可通过诱导 T 细胞活性, 促进炎症的发生, 参与了溃疡性结肠炎的发病与迁延。其升高程度与局部炎症程度相一致。IL-4 主要由活化的巨噬细胞和淋巴细胞分泌, 有研究表明 IL-4 可以抑制单核巨噬细胞产生 IL- β 和 TNF- α , 具有抑制炎症的作用, 可以缓解炎症。正常人黏膜的淋巴细胞比外周血淋巴细胞分泌更多的 IL-4, 也表明其对于维持肠道的免疫功能起着重要

表 1 椒梅连理汤对溃疡性结肠炎大鼠血清 IL-1 β 、IL-4、IL-6、TNF- α 的影响

组别	n	IL-1 β (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
正常组	10	273.65 \pm 18.89	576.54 \pm 98.67	50.63 \pm 10.28	15.80 \pm 2.82
模型组	10	841.53 \pm 85.78	193.64 \pm 38.65	90.05 \pm 17.67	29.43 \pm 6.79
SASP 组	10	546.76 \pm 67.46	225.73 \pm 49.17	65.47 \pm 14.35	20.43 \pm 5.22
中药组	10	587.48 \pm 70.26	362.13 \pm 48.34	68.45 \pm 15.46	19.96 \pm 4.87

表 2 椒梅连理汤对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜组织中 IL-1 β 、IL-4、IL-6、TNF- α 的影响

组别	n	IL-1 β (pg/mg)	IL-4 (pg/mg)	IL-6 (pg/g)	TNF- α (pg/mg)
正常组	10	67.23 \pm 6.43	115.34 \pm 14.32	7.43 \pm 1.03	61.58 \pm 15.32
模型组	10	96.48 \pm 7.42	35.42 \pm 6.98	20.54 \pm 3.42	112.76 \pm 24.65
SASP 组	10	71.17 \pm 6.39	47.53 \pm 10.03	11.46 \pm 2.86	76.48 \pm 15.73
中药组	10	72.38 \pm 6.58	42.26 \pm 10.65	12.58 \pm 2.56	68.46 \pm 14.79

文献标引格式:

周春和, 高玉华, 高社光, 等. 椒梅连理汤抗慢性溃疡性结肠炎的实验研究[J]. 环球中医药, 2012, 5(8): 565-568.

的作用^[1-2]。TNF- α 是公认的能介导溃疡性结肠炎发病的细胞因子之一,与 T 淋巴细胞及其他一些细胞因子构成复杂的免疫调节网络。它主要通过使中性粒细胞聚集、内皮粘附分子上调、凝血酶原效应等参与 UC 的发病,还可通过激活转录因子核因子 κ B 通路,上调 IL-6 等促炎介质的表达,促进炎症的发生与迁延^[3]。

本研究显示模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平较正常组明显升高,IL-4 水平较正常组降低,说明模型大鼠存在炎症细胞因子(促炎因子与抗炎因子)的失衡,经治疗后,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低,IL-4 水平升高,差异有统计学意义,说明中药和 SASP 均能调整炎症因子水平,纠正其失衡状态,从而改善肠道炎症,起到抗炎,修复溃疡损伤的作用,两者作用相当。李楠等^[4]研究也有相类似的结果,复方血竭能抑制溃疡性结肠炎大鼠 IL-1 β 、IL-6 水平,上调 IL-4 和 IL-10 水平。

溃疡性结肠炎发病有因情志不畅,或饮食不节致邪滞于肠,气血壅滞,肠道传导失司,脂络受伤,腐败化为脓血或素体阴盛,外感寒湿,内伤饮食,迁延日久,脾虚湿盛、寒热夹杂之证^[5]。常因过劳、受冷或饮食不节而加重。治疗寒热并调为主,并健脾祛湿。本研究自拟椒梅连理汤治疗,方中川花椒、

乌梅、黄连助阳益肾,调节寒热;党参可以益气健脾,麸炒白术可以燥湿健脾,干姜温中散寒,炙甘草和中缓急,以达到温运脾湿、调和寒热的作用。诸药合用,对溃疡性结肠炎有较好的疗效。

本研究结果提示椒梅连理汤能有效对抗实验性溃疡性结肠炎,与 SASP 相当,通过调节 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-4 含量,调整炎症因子,纠正机体异常免疫功能,消除炎症,促进组织修复,可能是其治疗机制之一。

参 考 文 献

- [1] 口锁堂,吴焕突,施仁达. 白介素与溃疡性结肠炎[J]. 世界华人消化杂志,2006,18(4):405-411.
- [2] 张素珍,张德纯. 溃疡性结肠炎发病的免疫学机制[J]. 国际检验学杂志,2006,27(5):419-421.
- [3] 施嫣红. 溃疡性结肠炎的免疫学研究进展[J]. 疾病控制杂志,2006,10(3):302-304.
- [4] 李楠,王雪明,翟俊山,等. 复方血竭对溃疡性结肠炎大鼠模型结肠组织细胞因子的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):377-379.
- [5] 朱洁梅,李春婷. 中药内治溃疡性结肠炎浅议[J]. 环球中医药,2011,4(1):43-45.

(收稿日期: 2012-06-21)

(本文编辑: 刘群)

· 信息之窗 ·

《环球中医药》2012 年征稿启事

《环球中医药》杂志是由中华人民共和国卫生部主管,中华国际医学交流基金会主办,国内外公开发行的中医药学术期刊,本刊为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),美国《化学文摘》收录期刊。

欢迎广大中医药学界同仁积极投稿。

1 本刊在重点反映科研成果与临床进展的同时,重视学术思考与海内外信息交流。主要栏目有:述评、论著、理论探讨、综述、临床经验、学术论坛等;特色栏目有:中医病案析评、海外中医、争鸣、中医文化、名医心鉴等。

2 “论著”、“综述”等以 4000~5000 字为宜,“临床经验”等栏目须 2000 字以上。重大科研创新与理论突破稿件不受字数限制。“论著”、“理论探讨”与“综述”栏目文章须有英文题名、中英文摘要和中英文关键词。

3 请作者以电子邮件方式投稿,发送至 hqzyy@163.com。本刊 1 周左右手工发回含稿号的收稿回执,4~12 周左右回复稿件处理情况。如未及时收到稿号回执和稿件处理情况请电话或邮件查询。

4 本刊 2012 年来稿免收审稿费。

编辑部地址:北京市东城区东四西大街 46 号综合楼 203 室

邮编:100711 电话:010-65133322 转 5203