

连理汤对 TNBS 诱导大鼠溃疡性结肠炎模型结肠
及外周血中炎症相关因子影响的拆方研究

刘丽梅,张秋海,柏冬,张玲,王瑞海,刘泓,李淑丽,丁家欣,岳广欣*
(中国中医科学院中医基础理论研究所方证中心,北京 100700)

〔摘要〕 目的:采用 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的大鼠溃疡性结肠炎(UC)模型,观察连理汤各拆方药组及其配伍对 UC 大鼠外周血及结肠组织中细胞因子等含量的影响。方法:将连理汤拆分成补脾益肠药(A 因素)、清热燥湿药(B 因素)、温中散寒药(C 因素),以含和不含该因素为 1,2 水平,采用正交设计表 $L_8(2^7)$ 设试验 1~7 组和 UC 组,增设柳氮磺吡啶组(SASP)与正常对照组。采用 Sprague Dawley 大鼠,前 9 组按 TNBS 乙醇灌肠法塑造 UC 模型,试验 1~7 组分别灌胃相应的拆方浸膏混悬液,剂量依次为 1.02,1.47,0.98,1.24,0.29,0.145,0.087 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,SASP 组灌服柳氮磺吡啶($0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),以 UC 大鼠外周血及结肠组织中细胞因子等含量作为考察指标,观察灌服连理汤拆方 14 d 后各组对其含量的影响。结果:UC 组大鼠结肠炎症环氧化酶-2(Cox-2)、白介素-1 α (IL-1 α)含量较正常对照组有显著升高($P<0.01$),金属蛋白酶类组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases 1,TIMP-1)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha,TNF- α)表达也有明显增强。补脾益肠药(A)在抑制结肠 Cox-2 方面影响显著($P<0.05$);各因素对结肠中 IL-1 α 含量的影响均不显著,但全方效果显著($P<0.01$);补脾益肠药和清热燥湿药配伍(即 $A\times B$ 交互作用)对降低结肠 TNF- α 含量影响显著($P<0.05$);温中散寒药(C)以及补脾益肠药和温中散寒药配伍(即 $A\times C$ 交互作用)对抑制 UC 大鼠结肠组织中 TIMP-1 含量有极显著影响($P<0.01$),清热燥湿药(B)以及清热燥湿药和温中散寒药配伍(即 $B\times C$ 交互作用)对该指标也有显著影响($P<0.05$)。UC 大鼠血清中 IL-1 α ,TNF- α 明显下降,拆方各因素均无显著作用;UC 大鼠血清 TIMP-1 明显升高,温中散寒药(C)对抑制 UC 模型大鼠外周血中 TIMP 含量有显著性影响($P<0.05$)。结论:补脾益肠药在连理汤的整体疗效中起主导作用,温中散寒药及其与温补药配伍也起重要作用。

〔关键词〕 连理汤;拆方;溃疡性结肠炎;细胞因子
〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2014)09-0152-06
〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfx.2014090152

Decomposition Study on Effects of Lianli Tang on Colon and Peripheral
Blood Inflammatory Factors in TNBS-induced Rat Model

LIU Li-mei, ZHANG Qiu-hai, BAI Dong, ZHANG Ling, WANG Rui-hai, LIU Hong,
LI Shu-li, DING Jia-xin, YUE Guang-xin*
(Formula-syndrome Research Center, Institute of Basic Theory Research of Traditional Chinese
Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

〔Abstract〕 Objective: To carry out decomposition study on effects of Lianli Tang on colon and peripheral blood inflammatory factors in TNBS-induced rat model. Method: Lianli Tang were divided into three groups, tonify the spleen drugs (Panax Ginseng, Poria cocos, Atractylodes macrocephala koidz, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; symbol as A), Warming the middle and dissipating cold drugs (Zingiberis Rhizoma; symbol as B), clearing heat and drying dampness drugs (Coptidis Rhizoma; symbol as C), as three factors to design the

〔收稿日期〕 20130819(015)
〔基金项目〕 中国中医科学院自主选题项目(Z02028)
〔第一作者〕 刘丽梅,研究员,从事中医方证基础研究,Tel:010-64014411-2592,E-mail:liulimeih@ sina.com
〔通讯作者〕 *岳广欣,博士,副研究员,从事中医方证相关基础研究,Tel:010-64014411-2517,E-mail:yuegx73@hotmail.com

experiment using orthogonal design table $L_8 (2^7)$, set up 1-7 group and UC group, then add sulfasalazine (SASP) and normal controls group (Control). Sprague Dawley rats were used to duplicate UC model by TNBS/ethanol solution through enema, 1-7 group was administrated respectively by Lianli Tang decompositions through intragastric treatment, which the corresponding doses is 1.02, 1.47, 0.98, 1.24, 0.29, 0.145, 0.087 g·kg⁻¹, SASP group rats were fed by sulfasalazine (0.4 g·kg⁻¹). Cytokines of peripheral blood and colon were observed after rats were treated for 14 days. **Result:** Cyclooxygenase-2 (Cox-2), interleukin-1 α (IL-1 α) of UC rats were increased significantly than control ($P < 0.01$), tumor necrosis factor- α (TNF- α) expression were also significantly enhanced, A of Lianli Tang significantly affect the effect of inhibiting colon Cox-2 ($P < 0.05$), each factors except the whole formula, have no effect in regulating colonic IL-1 α , A $\times$ B significantly affected the results ($P < 0.05$) in reducing colonic TNF- α , C, A $\times$ C ($P < 0.01$) and B, B $\times$ C ($P < 0.05$) in inhibiting colon tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) levels. Serum IL-1 α , TNF- α of UC rats decreased apparently, each decomposition factor had no effect on the result; serum TIMP-1 was obviously increased, decomposition C show effect on inhibiting TIMP-1 ($P < 0.05$). **Conclusion:** Tonify the spleen drugs played a major role in the overall effect of Lianli Tang, Warm the middle and dissipate cold drugs and its compatibility with tonify the spleen drugs also play an important role.

[**Key words**] Lianli Tang; decomposition; ulcerative colitis; cytokines

近年来,我国溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病率逐年增高,而且重症难治的病例逐渐增多,推测我国 UC 患病率为 11.6/10 万。根据本病临床表现特点,UC 可归属中医“休息痢”、“久痢”和“肠澼”等病范畴^[1],中医药治疗 UC 临床疗效较好,尤其在稳定病情、预防复发方面有明显的优势^[2]。前期工作中,选取了临床治疗中确有疗效的温方四神丸、清方白头翁汤和温清并用方连理汤进行方证相应的机制研究^[3-5],结果显示连理汤、四神丸对细胞因子、胃肠激素关键影响环节调节突出,提示了 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导 UC 大鼠模型的证候基础为寒热错杂,以寒为主。基于病证结合方证相应的原则,3 个治疗方剂中以温清并用的连理汤与此病机较为适宜。本次实验将连理汤拆成补脾益肠药、温中散寒药、清热燥湿药 3 个药组,进行正交设计试验,观察连理汤各药组及其配伍对 UC 大鼠外周血及结肠组织中细胞因子含量的影响。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 大鼠,SPF 级,体重 220 ~ 240 g,由中国食品药品检定研究院实验动物资源中心提供。许可证号 SCXK(京)2009-0017。

1.2 药物 连理汤组成:人参 9 g,干姜 9 g,白术(炒)9 g,茯苓 9 g,黄连 6 g,炙甘草 3 g。将其拆成 3 组:补脾益肠药组(A 因素:人参、白术、茯苓、炙甘草),清热燥湿药组(B 因素,黄连),温中散寒药组(C 因素,干姜)为 3 个因素,以含该药组和不含该药组分别为 1,2 水平,采用正交设计表 $L_8 (2^7)$ 安排实

验,见表 1。按正交表 7 个配方剂量水煎煮药材,浓缩、干燥,制备实验用药,以上用药由中国中医科学院中医基础理论研究所中医方证基础研究中心提供。柳氮磺吡啶肠溶片(Sulfasalazine,上海信谊嘉华药业有限公司生产)。上述药物使用前加入适量的纯净水,制成混悬液,放置于 4℃ 冰箱备用。

1.3 试剂 TNBS(Sigma, P2297),邻联二茴香胺(Sigma, D9143-5G),十六烷基三甲基溴化胺(Sigma, H9151-25G),戊巴比妥钠(Merck 公司),白介素-1 α (IL-1 α),金属蛋白酶组织抑制因子 1 (TIMP-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) [Fluorokine® Multianalyte Profiling (MAP) Kits R&D systems LUR000, LUR500, LUR580, LUR510],环氧合酶 2 (Cox-2) ELISA 试剂盒 (USCN life science, SEA699Ra)。

1.4 仪器 分析天平 (AR2130, USA, OHAUS),高速低温离心机 (3K15, Germany, Sigma),电动匀浆器 (Pro200, USA, PRO Scientific Inc)。悬液芯片检测系统 (Bio-Plex, USA, Bio-Rad),96 孔板真空抽滤装置 (WELVAC210, USA, PALL),96 孔真空过滤板 (MABVN0B, Germany, Millipore)。

2 方法

2.1 大鼠溃疡性结肠炎模型建立及分组处理

2.1.1 造模方法^[6] 所有大鼠造模前禁食不禁水 24 h,大鼠用戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)进行麻醉,将一直径 2.0 mm 长约 12 cm 的聚乙烯管,由肛门轻缓插入深约 8 cm 处,1 次性注入 TNBS 30% 乙醇溶液,30 min

表 1 连理汤拆方正交试验设计

No.	1 补脾益肠 药组(A)	2 清热燥湿 药组(B)	3 A × B	4 温中散寒 药组(C)	5 A × C	6 B × C	7 空白	组方
1	1	1	1	1	1	1	1	A + B + C = (人参 9 g、白术 9 g、茯苓 9 g、炙甘草 3 g) + (黄连 6 g) + (干姜 9 g)
2	1	1	1	2	2	2	2	A + B = (人参 9 g、白术 9 g、茯苓 9 g、炙甘草 3 g) + (黄连 6 g)
3	1	2	2	1	1	2	2	A + C = (人参 9 g、白术 9 g、茯苓 9 g、炙甘草 3 g) + (干姜 9 g)
4	1	2	2	2	2	1	1	A = (人参 9 g、白术 9 g、茯苓 9 g、炙甘草 3 g)
5	2	1	2	1	1	1	2	B + C = (黄连 6 g) + (干姜 9 g)
6	2	1	2	2	2	2	1	B = (黄连 6 g)
7	2	2	1	1	1	2	1	C = (干姜 9 g)
8	2	2	1	2	1	1	2	UC(模型组)

注:A × B,A × C,B × C 分别代表 A 与 B 的交互作用(即补脾益肠药组和清热燥湿药组配伍)、A 与 C 的交互作用(即补脾益肠药组和温中散寒药组配伍)、B 与 C 的交互作用(即清热燥湿药组和温中散寒药组配伍)。

粪便排出后,再按上述方法注入 TNBS 乙醇灌肠液 0.85 mL,保持肛门高位 5 min,正常对照组大鼠以等量生理盐水灌肠,其余过程均相同。

2.1.2 分组与给药 灌肠第 2 天,将有明显腹泻指征(肛门有稀溏大便或有脓血)的大鼠随机分为:TNBS 模型组(UC),1~7 方组(编号为试验 1,2,3,4,5,6,7)及柳氮磺嘧啶(SASP)组,生理盐水灌肠大鼠作为对照组(control),每组 12 只。当天 UC 和 control 组 ig 生理盐水,各拆方药组分别 ig 相应的药液,剂量依次为 1.02,1.47,0.98,1.24,0.29,0.145,0.087 g·kg⁻¹,SASP(0.4 g·kg⁻¹)组,ig 治疗 14 d。

2.2 取材及样品处理 各组给药 14 d 后禁食不禁水 24 h,大鼠用 1%戊巴比妥钠 60 mg·kg⁻¹深度麻醉,称重,剖腹,腹主动脉取血,置离心管中 3 500 r·min⁻¹,4 ℃,离心 15 min,取血清,-20 ℃保存。截取自结肠脾曲向下约 2 cm 结肠,剥离肠管外血管和脂肪,量取长度后称重,置冰上在体视显微镜下拍照,之后迅速用铝箔包裹,液氮速冻,-70 ℃保存。

2.3 Cox-2 的检测 用液氮研钵将冻存的肠组织标本研碎移至 1.5 mL 离心管中,称重,加入 9 倍体积的 0.01 mol·L⁻¹ PBS(含 1% TritonX-100 和 Roche 蛋白酶抑制剂),用微量电动匀浆器匀浆至无颗粒状物为止。-70 ℃速冻再融化,重复 1 次,10 000 × g 离心 5 min,取 0.5 mL 上清分装,-20 ℃保存;Cox-2 检测按试剂盒操作说明书进行。

2.4 结肠组织及血清中细胞因子检测 用 Pierce BCA Assay Kit 对冻存的结肠匀浆液进行蛋白定量;

在 96 孔真空过滤板中每孔加入 50 μL 微粒混合物(IL-1α,TIMP-1,TNF-α),然后取 50 μL 结肠组织匀浆液,用 PBS 稀释至 200 μL,每孔加入稀释后的结肠匀浆液 50 μL,室温孵育 3 h;洗液清洗 3 次后,每孔加 50 μL 已稀释生物素化的抗体混合物,室温孵育 1 h;再次清洗 3 次后,每孔加 50 μL 已稀释的 Streptavidin-PE,室温孵育 30 min;清洗后每孔加 100 μL 洗液,进行微粒的荧光检测;Bio-Rad Bio Plex 参数设置:50 events/bead,Flow rate:60 μL·min⁻¹;Bio Plex 系统根据对照品荧光值自动计算标准曲线及相应样品的含量。

将血清 4 倍稀释进行悬液芯片检测,步骤同上。

2.5 统计方法 数据表以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 SPSS 11.0 软件,对数据进行正态分布检验和方差齐性检验,若两项检验均符合,则采用单因素方差分析进行统计学处理,组间比较采用 LSD-*t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 连理汤不同拆方对结肠炎性介质的影响 炎症指标 Cox-2 正交试验 1~8 组结果分别是 1 662.48,1 598.37,1 587.23,1 571.49,1 686.83,1 704.16,1 692.62,1 712.57 ng·L⁻¹。方差分析表明(见表 2),补脾益肠药组对 Cox-2 有显著性影响(*P* < 0.05),各拆方对结果的影响程度依次为:A > A × C > A × B > B > B × C。

3.2 结肠组织中细胞因子的正交试验结果及方差分析 模型大鼠结肠 IL-1α 含量极显著升高(与

表 2 炎症指标 Cox-2 方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
A	17 729.39	1	17 729.39	72.68	<0.05
B	966.47	1	966.47	3.96	>0.05
A×B	1 691.58	1	1 691.59	6.93	>0.05
A×C	1 714.93	1	1 714.93	7.03	>0.05
B×C	325.00	1	325.00	1.33	>0.05
误差 e	488.16	2	244.08		

注: $F_{0.05}(1.2)=18.51$, $F_{0.01}(1.2)=98.50$ 。

表 3 连理汤拆方各组结肠组织炎症相关因子含量变化($\bar{x} \pm s$)

ng·g⁻¹

组别	药物	剂量/g·kg ⁻¹	n	IL-1α	TNF-α	TIMP-1
control	生理盐水 ⁵⁾	10	9	0.49±0.54	4.11±0.15	475.9±149.7
UC	生理盐水 ⁵⁾	10	12	2.42±2.62 ²⁾	4.49±0.69	602.1±147.1
试验 1	A+B+C	1.02	12	0.97±1.02 ³⁾	4.43±0.26	461.1±79.3
试验 2	A+B	1.47	12	1.62±2.17	4.52±0.49	478.8±172.9
试验 3	A+C	0.98	10	0.74±0.59 ³⁾	3.98±0.81	446.9±160.2 ³⁾
试验 4	A	1.24	12	0.60±0.51 ³⁾	3.86±0.84 ⁴⁾	515.2±240.6
试验 5	B+C	0.29	12	1.79±2.96	3.97±0.91	386.6±148.5 ⁴⁾
试验 6	B	0.145	9	0.79±0.46 ³⁾	3.90±0.83	486.2±136.7
试验 7	C	0.087	12	0.66±0.40 ³⁾	3.88±0.76	413.6±190.8 ⁴⁾
SASP	SASP	0.4	12	0.81±0.97	4.05±0.83	545.3±139.4

注:与 control 比较¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$;与 UC 比较³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$; ⁵⁾ 剂量单位 mL·kg⁻¹ (表 6 同)。

正交试验方差分析表明,3 个拆方组及其配伍对结肠中 IL-1α 含量影响均不显著,但全方效果显著;A×B 对结肠 TNF-α 含量影响显著 ($P<0.05$) (见表 4);C 和 A×C 对结肠组织中 TIMP-1 含量有极显著影响 ($P<0.01$),B 和 B×C 对该指标也有显著影响 ($P<0.05$),程度依次为:C>A×C>B×C>B>A×B (见表 5)。

表 4 结肠组织中 TNF-α 方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
A×B	0.32	1	0.32	6.84	<0.05
误差 e=G+A+B+D+E+F	0.28	6	0.05		

注: $F_{0.05}(1.6)=5.99$, $F_{0.01}(1.6)=13.7$ 。

表 5 结肠组织中 TIMP-1 方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
B	3 403.95	1	3 403.95	33.22	<0.05
A×B	1 820.46	1	1 820.46	17.77	>0.05
C	17 503.21	1	17 503.20	170.83	<0.01
A×C	5113.64	1	5 113.64	49.91	<0.01
B×C	2 435.32	1	2 435.32	23.77	<0.05
误差 e=G+A	204.92	2	102.46		

注: $F_{0.05}(1.2)=18.51$, $F_{0.01}(1.2)=98.50$ 。

Control 组比较 $P<0.01$),除试验 2,5 外均表现出显著的下调作用(与 UC 比较 $P<0.05$)。结肠 TNF-α 含量在 UC 组有明显的升高趋势,试验 4,下调作用较明显(与 UC 组比较, $P<0.05$)。UC 结肠组织 TIMP-1 含量组较 Control 有升高趋势,各治疗组显示出不同程度的调节作用,其中试验 3,5,7 与 UC 组比较有显著性 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$,见表 3)。

3.3 血清中细胞因子的正交试验结果及方差分析 UC大鼠血清 IL-1α 含量有明显下降趋势,试验 2~6 均显示出明显上调趋势,其中试验 2 与 UC 比较 $P<0.05$ 。UC 模型大鼠血清 TNF-α 含量呈现下降趋势,各中药治疗组对这种变化均无明显调节作用。UC 模型大鼠血清 TIMP-1 有一定程度升高,试验 1 与 UC 比较 $P<0.05$,如表 6 所示。

正交试验方差分析表明,3 个拆方组及其配伍对血清中 IL-1α,TNF-α 含量均没有显著影响。而 C 对 UC 模型大鼠外周血中 TIMP-1 含量有显著性影响 ($P<0.05$),影响程度依次为 C>A×C>A×B>A,见表 7。

4 讨论

UC 的病机特点是正虚邪恋,本虚标实,寒热错杂。正虚指脾气亏虚,脾阳不足,运化失司;湿热邪毒不净,内伏肠间是为邪恋。因此治疗 UC 常以健脾温中、化湿止泻为主,辅以清热燥湿之药,连理汤是治疗 UC 的代表方剂之一,其既有针对本虚的人参、白术、茯苓、炙甘草,又有针对标实的清热燥湿黄连,还有针对寒热错杂的干姜和黄连配伍。因此课题组将连理汤拆分为补脾益肠药(人参、白术、茯苓、炙甘草)、温中散寒药(干姜)、清热燥湿药(黄

表 6 连理汤拆方各组血清 IL-1α, TNF-α, TIMP-1 含量变化($\bar{x} \pm s$)

Group	药物	剂量/g·kg ⁻¹	n	IL-1α/μg·L ⁻¹	TNF-α/μg·L ⁻¹	TIMP-1/ng·L ⁻¹
Control	生理盐水 ⁵⁾	10	9	104. 9 ± 42. 7	1437. 7 ± 627. 3	8. 7 ± 2. 0
UC	生理盐水 ⁵⁾	10	12	74. 4 ± 35. 9	1 183. 5 ± 278. 5	10. 0 ± 2. 9
试验 1	A + B + C	1. 02	12	74. 7 ± 40. 6	1028. 7 ± 439. 5	7. 0 ± 2. 0 ³⁾
试验 2	A + B	1. 47	12	111. 6 ± 38. 8 ³⁾	1436. 0 ± 604. 0	10. 6 ± 4. 3
试验 3	A + C	0. 98	10	98. 9 ± 21. 7	1581. 7 ± 976. 4	8. 2 ± 3. 1
试验 4	A	1. 24	12	100. 1 ± 43. 6	1256. 0 ± 496. 8	7. 4 ± 2. 3
试验 5	B + C	0. 29	12	100. 1 ± 33. 0	1274. 0 ± 540. 5	9. 2 ± 3. 0
试验 6	B	0. 145	9	101. 2 ± 59. 0	1236. 6 ± 622. 7	11. 5 ± 5. 0
试验 7	C	0. 087	12	88. 6 ± 45. 9	1292. 0 ± 578. 0	8. 6 ± 3. 7
SASP	SASP	0. 40	12	83. 2 ± 32. 7	1686. 3 ± 561. 6 ³⁾	9. 5 ± 3. 6

表 7 血清中 TIMP-1 方差分析表

变异来源	SS	f	MS	F	P
A	6. 82	1	6. 82	2. 83	
A × B	9. 34	1	9. 34	3. 88	
C	50. 57	1	50. 57	21. 02	<0. 05
A × C	19. 62	1	19. 62	8. 15	
误差 e	7. 22	3	2. 41		

注: $F_{0.05}(1, 3) = 10. 1, F_{0.01}(1, 3) = 34. 1$ 。

连)3 个药组,作为 L₈(2⁷) 正交表的 3 个因素进行试验研究。

IL-1 被公认为是介导 UC 发病的细胞因子之一,其在 UC 炎症初始阶段介导了炎症的发生和发展。本研究 UC 模型大鼠 IL-1α 显著升高,但方差分析各拆方组均对结果无显著影响,说明对结肠 IL-1α 的调节是全方共同作用的结果;而对血清 IL-1α 来说,对结果影响较大的是补脾益肠药与清热燥湿药配伍。TNF-α 是被公认为介导 UC 炎症发展的细胞因子,而且与多种细胞因子如 IL-1, IL-6, IL-8 等有协同作用,诱导炎症介质产生^[7]。本研究对结肠 TNF-α 影响较大的是补脾益肠药与清热燥湿药配伍。众多炎症因子的调节都与基质金属蛋白酶(MMP_s)和金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP_s)的活化转录有关。UC 结肠黏膜细胞外基质(ECM)的降解和溃疡形成主要由间质细胞分泌的 MMPs 来完成^[8],UC 患者结肠黏膜 TIMP-1 在溃疡区和炎症区的表达较正常组织中的表达明显增加^[9]。本研究对结肠 TIMP-1 影响较大的是温中散寒药及其与补脾益肠药配伍,对血清 TIMP-1 影响较大的是温中散寒药。Cox-2 是炎症时 PGE₂ 生成增加的主要原因,过量的 PGE₂ 致血管扩张,通透性增加,黏膜充血水

肿,导致炎症反应,同时也使已存在的炎症反应扩大化和持久化。本研究在各药组及其配伍中,对结肠 Cox-2 结果影响较大的是补脾益肠药。

在 UC 发病机制中,众多医家认为脾气亏虚为发病之本,湿热邪毒为发病之标,瘀血阻络贯穿始终,内疡形成为局部病理变化^[3-4]。殷胜骏等^[10]、吴德智^[11] 分析探索 UC 临床和古今常用有效中药、复方,发现其病机以脾虚湿盛、寒热错杂为主,2010 年中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会制定的 UC 中西医结合诊疗指南(草案)^[10] 中,与脾虚有关的证型 3 个(共分 6 个证型),说明 UC 存在着脾虚得到业界的一致认同,补脾益肠法是治疗 UC 的核心方法。本课题通过正交试验的结果分析表明:①连理汤中补脾益肠药(A)在抑制结肠组织中的炎症 Cox-2 有极其重要的作用。②在抑制结肠组织中 TNF-α 和 TIMP-1 表达、阻断炎症的放大效应而达到减轻结肠黏膜炎症这个环节中,连理汤中补脾益肠药和清热燥湿药配伍(A × B)、温中散寒药(C)及其与补脾益肠药配伍(A × C)发挥着极其重要的作用,清热燥湿药(B)及清热燥湿药和温中散寒药配伍(B × C)也发挥着比较重要的作用。连理汤整方对结肠 IL-1α 的作用明显,各拆方的贡献没有差异。③连理汤通过抑制血清中 TIMP 含量以减轻结肠炎症的过程中,温中散寒药(C)发挥着比较重要的作用。综合各指标,从组方角度分析,3 药组配伍的整体效果最好,而补脾益肠药(A)在连理汤的整体疗效中起主导作用,其次温中散寒药(C)及其与补脾益肠配伍(A × C),再次是清热燥湿药(B)、清补(A × B)和温清(C × B)药配伍。

人参皂苷对糖基化终末产物条件下 视网膜 Müller 细胞活力的影响

姚红娥¹, 张梅^{1*}, 徐秒¹, 陈璐¹, 谢学军^{2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用
省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2. 成都中医药大学临床医学院, 成都 610075)

[摘要] 目的:探讨人参皂苷对糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)条件下视网膜 Müller 细胞活力的影响。**方法:**以改良酶消化法培养 SD 大鼠视网膜 Müller 细胞,将纯化培养的视网膜 Müller 细胞分别置于低剂量 AGEs(终质量浓度为 75 mg·L⁻¹)及高剂量 AGEs(终质量浓度为 150 mg·L⁻¹)下进行培养,并分别以人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁ 及人参皂苷提取物干预。在干预 24, 48, 72 h 后以酶联免疫吸附法测定各组细胞外液中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)的漏出量,以推测 Müller 细胞活力。**结果:**低 AGEs 组 24, 48 h 的 LDH 漏出量较正常对照组均无明显差异,但 72 h 的 LDH 漏出量较正常对照组增多($P < 0.05$);高 AGEs 组各时段 LDH 漏出量均较正常对照组以及低 AGEs 组增多($P < 0.05$);人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 及人参皂苷提取物均能减少低 AGEs 组 48, 72 h 的 LDH 漏出量($P < 0.05$),减少高 AGEs 组各时段的 LDH 漏出量($P < 0.05$)。**结论:**AGEs 能明显增加视网膜 Müller 细胞膜的通透性,降低细胞活力,并且与干预的时间、浓度有关;人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 及人参皂苷提取物能降低本实验中 AGEs 条件下 Müller 细胞膜的通透性、提高 Müller 细胞膜稳定性,增强细胞活力,尤其以人参皂苷提取物效果显著。

[关键词] 人参皂苷;糖基化终末产物;视网膜 Müller 细胞;乳酸脱氢酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0157-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014090157

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000058.html>

[网络出版时间] 2014-02-25 13:38

[收稿日期] 20130917(012)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072845)
[第一作者] 姚红娥,硕士研究生, Tel:13458519752, E-mail:yaohong@sina.cn
[通讯作者] * 张梅,博士,教授,从事中药及其复方物质基础及质量标准化研究工作, Tel:028-61800231, E-mail:zhangmei63@126.com
* 谢学军,博士,教授,从事中西医结合防治眼底病的基础与临床研究工作, Tel:028-87783541, E-mail:xxj8848@163.com

[参考文献]

[1] 张声生. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(6):891.

[2] 郑凯. 中医药治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 甘肃中医, 2008, 21(2):55.

[3] 夏永良. 李德新教授治疗慢性结肠炎经验[J]. 北京中医药大学学报:中医临床版, 2003, (2):35.

[4] 马贵同. 中医药治疗溃疡性结肠炎现状与疗效评价[J]. 江苏中医药, 2006(1):16.

[5] 张文明, 陈爱珠, 赵天平. 脾虚型溃疡性结肠炎患者症状观察与形态学研究[J]. 中医药学刊, 2005(8):1391.

[6] 谭丹, 田得禄, 王新月. 溃疡性结肠炎动物模型研究述要[J]. 中医药学刊, 2001, 19(4):310.

[7] 张晓峰. 细胞因子与溃疡性结肠炎[J]. 河北医学, 2001, 7(5):465.

[8] Wang Y D, Yan P Y. Expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(37):6050.

[9] 王伟, 王英德. 溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 MMP-1、TIMP-1 的表达[J]. 中华全科医学, 2010, (1):4.

[10] 殷胜骏, 韩涛, 薛新丽, 等. 溃疡性结肠炎临床用药聚类分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6):77.

[11] 吴德智, 管咏梅, 张妮, 等. 中药治疗溃疡性结肠炎古今用药统计分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14):320.

[12] 陈治水, 危北海, 张万岱, 等. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗指南(草案)[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011(1):61.

[责任编辑 聂淑琴]