

康复新液对噻唑酮诱导溃疡性结肠炎大鼠治疗作用及机制初探

杜雯雯¹, 刘衡¹, 张汉超¹, 李贵轲^{1,2}, 张成桂¹,
耿福能^{1,2}, 巫秀美¹, 吴俊珠^{1*}

(1. 大理大学 药学与化学学院, 云南省昆虫生物医药研发重点实验室,
药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 中国西南药用昆虫及蛛形类资源开发利用协同
创新中心, 云南 大理 671000; 2. 四川好医生药业集团, 成都 610000)

[摘要] **目的:**研究康复新液对噻唑酮(oxazolone, OXZ)诱导溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠的治疗效果,并初步探讨其机制。**方法:**将 SD 大鼠分为正常组、模型组、美沙拉嗪组和康复新低、中、高剂量组,后 5 组以 OXZ 溶液灌肠诱导 UC 模型。造模后第 1 天开始各组灌肠给药,每天 1 次,连续给药 7 d。每天进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分,造模后第 8 天处死大鼠,进行结肠黏膜损伤指数(colonmucosa damage index, CMDI)评分和病理组织学评分(histopathological score, HS);采用酶联免疫吸附测定方法检测血清中白细胞介素-4(IL-4)含量和结肠黏膜中 IL-13 含量。**结果:**模型组大鼠的 DAI 评分,结肠指数, CMDI 评分, HS 和结肠黏膜中 IL-13 含量均显著高于正常组($P < 0.05$, $P < 0.01$),而模型组大鼠血清中 IL-4 含量显著低于正常组($P < 0.01$)。与模型组比较,康复新高剂量能显著降低大鼠 DAI 评分, CMDI 评分, HS 和结肠黏膜中 IL-13 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$),而血清中 IL-4 含量显著升高($P < 0.01$)。**结论:**康复新液能够有效地缓解噻唑酮诱导的溃疡性结肠炎。

[关键词] 噻唑酮; 溃疡性结肠炎; 康复新液; 机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)04-0126-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017040126

Therapeutic Effect and Mechanism of Kangfuxin Liquid on Oxazolone-induced Ulcerative Colitis in Rats

DU Wen-wen¹, LIU Heng¹, ZHANG Han-chao¹, LI Gui-ke^{1,2}, ZHANG Cheng-gui¹,
GENG Fu-neng^{1,2}, WU Xiu-mei¹, WU Jun-zhu^{1*}

(1. College of Pharmacy and Chemistry, Yunnan Provincial Key Laboratory of
Entomological Biopharmaceutical R&D, Dali University National-Local Joint Engineering
Research Center of Entomocetotics, Chinese Southwest 2011 Collaborative Innovation Center for Entomocetotics,
Dali University, Dali 671000, China; 2. Good Doctor Pharmaceutical Group, Chengdu 610000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutic effect of Kangfuxin liquid on oxazolone-induced ulcerative colitis (UC) in rats, and explore its mechanism of action. **Method:** SD rats were randomly divided into normal group, model group, mesalazine group, and Kangfuxin low dose, middle dose, and high dose groups. In the latter five groups, ulcerative colitis was induced by intrarectal administration of oxazolone. Rats in each group were intrarectally administered with drugs for 7 days, once a day. The disease activity index (DAI) was recorded every day and the rats were sacrificed at the 8th day to evaluate the colonmucosa damage index (CMDI) and the

[收稿日期] 20160513(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360679);云南省昆虫生物医药研发重点实验室项目(2015DG030)

[第一作者] 杜雯雯,在读硕士,从事药物新剂型与新制剂研究, Tel: 18313001157, E-mail: duwenwen111@163.com

[通讯作者] * 吴俊珠,副教授,硕士生导师,从事药物新剂型与新制剂研究, Tel: 13708663891, E-mail: jzhwu1976@aliyun.com

histopathological score (HS). The contents of interleukin (IL) -4 in serum and IL-13 in colonic mucosa were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Result:** The DAI score, colon index, CMDI score, HS and IL-13 content in colonic mucosa in model group were significantly higher than those in normal group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The content of IL-4 in serum of model group was significantly lower than that in normal group ($P < 0.01$). As compared with the model group, DAI score, CMDI score, HS and IL-13 content in colonic mucosa were significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$) while the IL-4 content in serum was significantly increased in high dose Kangfuxin group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Kangfuxin liquid may effectively relieve the symptoms of oxazolone-induced ulcerative colitis.

[**Key words**] oxazolone; ulcerative colitis; Kangfuxin liquid; mechanism

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)主要累及直肠、结肠黏膜和黏膜下层,属非特异性炎症性肠病,临床主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便等^[1]。UC 治愈难,易反复,且发病率呈上升趋势^[2-3],20 ~ 30 岁人群发病率较高^[4]。临床上对于 UC 的病因及发病机制尚未有明确的定位,研究显示 UC 的发病与基因^[5]、免疫调节^[6]、感染^[7]及环境^[8]等因素有关。临床上治疗 UC 主要以 5-氨基水杨酸类药物和糖皮质激素类药物为主^[9],但是这些药物受自身副作用限制无法长期用于治疗。康复新液的有效部位为美洲大蠊干燥虫体提取物,临床通过保留灌肠的方式对 UC 进行治疗,具有明显疗效^[10-11]。噁唑酮(oxazolone, OXZ)为一种半抗原^[12],已证实其可诱发动物身体各个部位接触性过敏反应^[13]。OXZ 诱导 UC 可能是一种白细胞介素-4(IL-4)介导的 Th2 型炎症,其组织学特征和炎症分布均类似于人类 UC^[14-16],康复新液灌肠可明显减轻 OXZ 导致的 Balb/C 小鼠结肠炎炎症^[17]。炎症小鼠肠壁脆弱,灌肠给药损伤较大,肉眼评价组织损伤准确度不高,本研究采用市售康复新液对 OXZ 诱导的 SD 大鼠 UC 模型进行治疗作用评价和作用机制的初步探讨,进一步为康复新液用于临床治疗 UC 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 健康 SPF 级 SD 大鼠,体重 180 ~ 220 g,雌雄各半,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物合格证号 SCXK(湘)2011-0003,实验单位使用许可证号 SYXK(滇)2011-0004。本研究所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

1.2 药物及试剂 OXZ(深圳市丽晶生化科技有限公司,批号 20141130),美沙拉嗪缓释颗粒剂(爱的发制药公司,批号 13744),康复新液(四川好医生攀西药业有限责任公司,批号 150327),生理盐水(NS,贵州天地药业有限责任公司,批号 A15021061),异

氟烷(山东科源制药有限公司,批号 131101),水合氯醛(上海国药集团化学试剂有限公司,批号 20150203),大鼠 IL-4 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(欣博盛生物科技有限公司,批号 R150929-002a),无水乙醇及甲醛溶液(天津市福晨化学试剂厂,批号分别为 20150402,20150320),大鼠 IL-13 ELISA 试剂盒及隐血试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20151215,20150424)。

1.3 仪器 201 型酶标仪(奥地利安图斯公司),BI-2000 型医学图像分析系统(成都泰盟科技有限公司),AL204-IC 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),HWS24 型恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司),HC-3018R 型高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司),先行者 CP214 型电子天平(奥豪斯仪器有限公司),FD8-4a 型冷冻干燥机(美国西蒙电气公司)。

2 方法

2.1 药物的配制及模型复制 使用冷冻干燥机将康复新液干燥成黏稠状浸膏,用 NS 配成 $167\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高剂量溶液;再将高剂量溶液依次用 NS 等倍稀释成康复新中、低剂量溶液。取 70 只 SD 大鼠,随机选取其中 10 只为正常组,剩余 60 只大鼠根据 Heller 等^[15]描述的方法并加以改进,复制 OXZ 诱导 UC 模型。大鼠背部皮肤剃毛($2\text{ cm}\times 2\text{ cm}$),标号,剃毛处滴加 3% OXZ(溶于无水乙醇)0.2 mL,连续滴 7 d,第 7 天禁食不禁水 24 h,第 8 天用适量异氟醚麻醉大鼠,然后将直径 2 mm 的聚乙烯管插入大肠约 8 cm,按 $1.0\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌入 1.0% OXZ(溶解于 50% 乙醇),注入后大鼠倒置 1 min,防止倒流,成功制作 OXZ 诱导 UC 大鼠模型。待清醒后正常喂养。

2.2 分组及给药方式 造模后第 1 天,将大鼠参考 Hamamoto 等^[18]标准进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分分层,剔除极轻度炎症模型

大鼠(以 0~3 分极轻度炎症,4~6 分轻度炎症,7~9 分中度炎症,10~12 分重度炎症分层),其余大鼠按炎症严重程度分层后再随机分为 5 组,分别给予生理盐水(模型组)、美沙拉嗪溶液(美沙拉嗪组)和康复新低、中、高剂量溶液(康复新低、中、高剂量组)。另外,正常组经灌肠给予相同剂量的生理盐水。各组于造模后第 1 天开始给药,连续 7 d,并记录 DAI。

2.3 指标检测 末次给药后第 2 天,用 10% 水合氯醛溶液(3.0 mL·kg⁻¹)麻醉大鼠,腹主动脉取血,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,-80 ℃冻存,备用。取胸腺、肝脏、脾脏等脏器,称质量,计算脏器指数^[19](脏器指数=各脏器质量/体重)。取结肠称湿重^[20],大体观察肠壁,分离结肠,沿肠系膜缘剪开肠腔,生理盐水冲洗粪便,采集结肠照片,参照 Ekström 等^[21]标准和 Luk 等^[22]标准进行结肠黏膜损伤指数(colonmucosa damage index,CMDI)评分,切取病变严重结肠组织 0.15 g,按 1:9 生理盐水匀浆,3 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,-80 ℃冻存,备用。剩余结肠制作标本,40 g·L⁻¹甲醛固定,做病理切片,并参照 Ekström 等^[21]标准进行病理组织学评分(histopathological score,HS)。

2.4 统计学分析 采用统计软件 SPSS 17.0 进行检验,各组实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的数据采用方差检验,不符合正态分布的数据,采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学差异。

3 结果

3.1 模型复制情况 60 只大鼠造模后,大鼠第 1 天 DAI 评分情况按极轻度炎症、轻度炎症、中度炎症、重度炎症可分为 4,6,39,11 只。以 DAI 评分为依据,将轻度、中度、重度炎症者纳入实验,可纳入实

验的模型大鼠占建模大鼠的比例 93.3%,再随机选取轻度、中度、重度炎症大鼠 5,35,10 只,随机分为 5 组,分别为模型组、美沙拉嗪组和康复新低、中、高剂量组,各组均包括轻度、中度、重度炎症大鼠为 1,7,2 只。前期实验,以本实验相同方法造模,造模后观察 15 d,并于造模后每天解剖部分大鼠,肉眼观察结肠并留样送检,肉眼观察结果造模后第 1 天到第 7 天病变部位有明显充血、水肿、溃疡灶,并且造模后第 2 天到第 4 天最为严重,造模后第 8 天开始大鼠结肠病变部位红肿有所减轻,且溃疡面积明显减小,造模后第 15 天大鼠结肠病变部位有轻微红肿,并无明显溃疡灶,故本实验选取 7 d 为实验周期。

3.2 对 UC 大鼠 DAI 分值的影响 正常组大鼠反应灵活,正常进食,无腹泻及血便,大便呈球形或条形,未出现异常情况,7 d 后体重增加。模型组、美沙拉嗪组和康复新低、中、高剂量组大鼠造模后第 1 天出现不同程度的厌食、懒动、体重下降、大便隐血或血便,并且各造模组大鼠造模后第 1 天 DAI 评分组间无统计学意义,说明各造模组大鼠炎症程度具有一致性。各造模组大鼠造模后第 1 天 DAI 评分与正常组比较均有显著性差异($P < 0.01$)。模型组大鼠造模后第 1 天开始出现血便、体重下降和腹泻,在第 2 天到第 3 天时达高峰,体重下降明显,第 5 天粪便开始逐渐转为松散并且体重有回升的趋势。各造模组大鼠 DAI 评分随时间均有降低趋势;造模后第 7 天模型组大鼠 DAI 评分明显高于正常组($P < 0.01$)。经美沙拉嗪和康复新治疗后大鼠症状恢复较快,美沙拉嗪组和康复新高剂量组 DAI 评分明显低于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$),美沙拉嗪组和康复新各剂量组组间比较,差异无统计学意义,不同时间 DAI 分值详见表 1。

表 1 康复新对大鼠 DAI 分值的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of Kangfuxin on DAI scores in rats($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
正常	-	1.90 ± 0.57	2.10 ± 0.74	2.10 ± 0.88	2.00 ± 0.67	2.00 ± 0.47	1.90 ± 0.74	2.40 ± 0.97
模型	-	8.30 ± 0.95 ²⁾	8.40 ± 1.17 ²⁾	7.30 ± 1.57 ²⁾	5.70 ± 2.16 ²⁾	4.90 ± 2.23 ²⁾	4.90 ± 1.79 ²⁾	5.40 ± 1.51 ²⁾
美沙拉嗪	0.40	7.90 ± 0.57	6.50 ± 1.08 ³⁾	5.30 ± 1.95 ⁴⁾	4.90 ± 2.42	4.20 ± 2.20	3.50 ± 1.58	3.20 ± 1.32 ⁴⁾
康复新	0.625	8.50 ± 1.18	6.40 ± 2.17 ³⁾	6.00 ± 1.83	6.10 ± 2.13	4.10 ± 1.91	4.80 ± 2.10	3.90 ± 1.37
	1.25	8.60 ± 1.07	7.80 ± 2.57	6.50 ± 1.96	4.70 ± 1.89	3.90 ± 1.79	4.30 ± 1.34	4.20 ± 1.48
	2.50	7.30 ± 2.00	6.40 ± 1.78	6.20 ± 1.55	6.10 ± 1.66	4.20 ± 1.48	3.60 ± 0.97	3.50 ± 1.08 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与美沙拉嗪组比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.3 对大鼠脏器指数的影响 各组胸腺指数、脾脏指数和肝脏指数均无统计学意义,模型组大鼠结肠指数明显高于正常组,差异具有明显的统计学意义

($P < 0.05$);与模型组比较,美沙拉嗪组和康复新低、中、高剂量组大鼠结肠指数无明显差异,但是有降低的趋势。见表 2。

表 2 康复新对大鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Kangfuxin on organ index in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)						mg·g ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	胸腺指数	脾脏指数	肝脏指数	结肠指数	
正常	—	26.54 ± 0.90	2.52 ± 0.66	1.06 ± 0.42	5.31 ± 0.24	
模型	—	29.27 ± 3.10	3.10 ± 0.56	0.85 ± 0.36	7.36 ± 2.00 ¹⁾	
美沙拉嗪	0.40	27.25 ± 3.12	2.23 ± 0.41	1.08 ± 0.39	6.92 ± 1.22	
康复新	0.625	25.94 ± 3.30	2.30 ± 0.50	0.81 ± 0.25	7.21 ± 1.73	
	1.25	29.37 ± 5.33	2.91 ± 1.18	0.84 ± 0.43	6.93 ± 1.42	
	2.50	29.81 ± 6.32	2.89 ± 1.11	0.85 ± 0.26	6.43 ± 1.18	

3.4 对大鼠结肠长、长宽比及 CMDI 评分的影响

大鼠造模后,结肠充血、水肿、溃疡面积、结肠厚度增加等均能使结肠长度缩短。与正常组比较,模型组大鼠结肠长度明显缩短($P < 0.01$),结肠长宽比明显减小($P < 0.01$),CMDI 评分明显升高($P < 0.01$);美沙拉嗪和康复新低、中、高剂量能减小 OXZ 引起的大鼠结肠缩短,其中,康复新中剂量效果显著($P < 0.05$)。与正常组比较,康复新高剂量组无明显差异,其余各组大鼠结肠长宽比均显著缩小($P < 0.01$)。正常组肉眼观察结肠黏膜无明显水

肿、糜烂和溃疡形成,模型组大鼠肠壁可见明显的充血和水肿,沿肠系膜纵向剖开可见肠壁黏膜有散在的溃疡点和糜烂,病变主要累及远端结肠,以直肠病变最严重。美沙拉嗪组和康复新低、中、高剂量组大鼠肠黏膜病变较模型组明显好转。与正常组比较,模型组 CMDI 评分明显增高($P < 0.01$);美沙拉嗪组和康复新各剂量组 CMDI 评分均有不同程度的降低($P < 0.05, P < 0.01$),且康复新各剂量组与美沙拉嗪组比较,差异无统计学意义。见表 3。

表 3 康复新对大鼠结肠的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	结肠长度/cm	长宽比/cm·cm ⁻¹	CMDI 评分/分
正常	—	19.61 ± 1.49	24.96 ± 2.84	1.40 ± 0.52
模型	—	15.61 ± 1.91 ²⁾	14.47 ± 5.46 ²⁾	3.20 ± 0.79 ²⁾
美沙拉嗪	0.40	17.47 ± 1.55	17.99 ± 4.69	1.90 ± 0.88 ⁴⁾
康复新	0.625	17.62 ± 1.25	16.66 ± 3.85	2.50 ± 0.97 ³⁾
	1.25	17.96 ± 1.59 ³⁾	17.55 ± 3.65	2.20 ± 0.79 ⁴⁾
	2.50	17.64 ± 1.72	19.90 ± 5.14	1.80 ± 0.63 ⁴⁾

3.5 对大鼠血清 IL-4 及结肠 IL-13 含量的影响

与正常组比较,模型组大鼠血清 IL-4 含量显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,美沙拉嗪组和康复新高剂量组大鼠血清 IL-4 含量均显著升高($P < 0.01$);康复新各剂量组与美沙拉嗪组比较,其中康复新低、中剂量组大鼠血清 IL-4 含量均有显著显著性差异($P < 0.01$),而康复新高剂量组无明显差异。与正常组比较,模型组大鼠结肠 IL-13 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,美沙拉嗪组和康复新各剂量组大鼠结肠 IL-13 含量均显著降低($P < 0.01$)。见表 4。

3.6 对大鼠结肠组织 HS 的影响 正常组结肠黏膜无水肿、糜烂、溃疡形成,各模型组大鼠结肠黏膜可见不同程度的糜烂、溃疡以及黏膜和黏膜下层炎性细胞浸润。模型组 HS(6.50 ± 0.85)显著

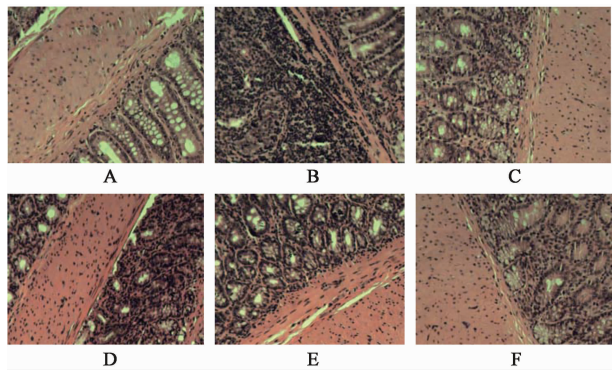
表 4 康复新对大鼠血清 IL-4 及结肠 IL-13 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Kangfuxin on level of IL-4 serum and level of IL-13 colonic mucosal in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	血清 IL-4/ng·L ⁻¹	结肠 IL-13/ng·g ⁻¹
正常	—	26.16 ± 2.09	54.72 ± 13.87
模型	—	14.12 ± 4.62 ²⁾	76.07 ± 8.25 ²⁾
美沙拉嗪	0.40	31.76 ± 8.92 ⁴⁾	48.49 ± 5.31 ⁴⁾
康复新	0.625	20.15 ± 7.09 ⁶⁾	38.37 ± 6.83 ⁴⁾
	1.25	15.48 ± 9.11 ⁶⁾	51.55 ± 8.19 ⁴⁾
	2.50	26.92 ± 4.07 ⁴⁾	47.68 ± 12.13 ⁴⁾

高于正常组(1.40 ± 1.08)($P < 0.01$),美沙拉嗪组和康复新各剂量组 HS 均有不同程度的降低($P < 0.01$),且康复新高剂量组与美沙拉嗪组效果相当,无显著性差异。见表 5 和图 1。

表 5 康复新对大鼠结肠组织 HS 分值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	上皮细胞评分	炎细胞浸润评分	总分
正常	—	0.80 ± 0.79	0.60 ± 0.52	1.40 ± 1.08
模型	—	$3.40 \pm 0.70^{2)}$	$3.10 \pm 0.57^{2)}$	$6.50 \pm 0.85^{2)}$
美沙拉嗪	0.40	$1.10 \pm 0.32^{4)}$	$1.30 \pm 0.48^{4)}$	$2.40 \pm 0.52^{4)}$
康复新	0.625	$2.50 \pm 0.53^{4, 6)}$	$2.50 \pm 0.71^{3, 6)}$	$5.00 \pm 0.94^{4, 6)}$
	1.25	$1.90 \pm 0.74^{4, 6)}$	$1.80 \pm 0.79^{4)}$	$3.70 \pm 1.49^{4, 6)}$
	2.50	$1.60 \pm 0.52^{4)}$	$1.00 \pm 0.67^{4)}$	$2.60 \pm 1.08^{4)}$



A. 正常组;B. 模型组;C. 美沙拉嗪组;D. 康复新低剂量组;E. 康复新中剂量组;F. 康复新高剂量组

图 1 康复新对大鼠结肠病理组织的影响 (HE, $\times 100$)

Fig. 1 Effect of Kangfuxin on rat colon pathological tissue (HE, $\times 100$)

4 讨论

本研究采用 OXZ 溶液灌肠复制 UC 大鼠模型,大鼠在造模后出现腹泻、血便、体重下降等症状,结肠黏膜肉眼可见肠黏膜糜烂和溃疡形成,镜下可见模型组大鼠结肠大量炎性细胞浸润,病变局限于黏膜层和黏膜下层。模型组 HS 显著高于正常组;与模型组比较,阳性药物美沙拉嗪组和康复新各剂量组 HS 均有不同程度的降低,结果提示康复新可改善结肠病理组织变化,与苗政等^[17]的研究结果一致。免疫调节异常在 UC 的发病中占有重要地位^[23],细胞因子是介导和调节免疫应答及炎症反应过程中的重要信号传递分子^[24],Th1/Th2 平衡失调可直接导致 UC 的发生^[25]。Th1 细胞主要分泌 IL-2 及 INF- γ ,主要介导细胞免疫;Th2 细胞主要分泌 IL-4,IL-5,IL-10 和 IL-13,主要介导体液免疫。Th1 和 Th2 细胞通过其所产生的细胞因子相互抑制,维持细胞免疫和体液免疫之间的平衡,免疫抑制失衡是发病的重要原因。OXZ 诱导 UC 可能是一种 IL-4 介导的 Th2 型炎症^[15-16,26-27]。IL-4 是一种抗炎因子,主要由活化的巨噬细胞和淋巴细胞分泌,在维持肠道免疫、抑制和消除肠道炎症反应中发挥着非常重要的作用。

IL-4 水平下调使炎症介质出现增多,进而形成溃疡^[28-29],本实验结果与其一致,模型组血清 IL-4 含量显著低于正常组,美沙拉嗪组和康复新高剂量组血清 IL-4 含量较模型组显著升高。IL-13 在 UC 发病中的作用重大,被认为是关键性细胞因子,UC 患者结肠黏膜中 IL-13 含量高于正常组^[25]。IL-13 受体 $\alpha 2$ 的嵌合型蛋白 (IL-13R $\alpha 2$ -IgG1) 可以高亲和力和结合 IL-13,使 IL-13 不发挥生物学作用,可明显减轻小鼠结肠炎症的程度^[30]。因此,IL-13 可能是发病机制之一。在实验中,模型组结肠 IL-13 含量显著高于正常组,康复新高剂量组结肠 IL-13 含量较模型组显著降低,这可能是大鼠结肠炎症得以缓解的重要原因。由于 UC 的发病中各种细胞因子,如 IL-4,IL-13,IL-10,TNF- α ,EGF 等相互作用,共同影响炎症的发生和发展,各细胞因子对 OXZ 诱导 UC 的作用仍需进一步研究。

本研究提示康复新液对大鼠 UC 炎症有缓解作用,可促进 UC 肠黏膜修复、抑制机体炎症、恢复免疫调节平衡和改善结肠组织病理变化等作用,其机制可能与上调 IL-4 表达水平和下调 IL-13 水平有关。

[参考文献]

[1] 黎人铨,张俊,张杰伟,等. 中药内服加灌肠治疗活动期溃疡性结肠炎 33 例[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):233-234.

[2] 钱家鸣,杨红. 中国炎症性肠病研究的历史回顾现状和展望[J]. 中国实用内科杂志,2015,35(9):727-730.

[3] Joseph D, Adam S. Ulcerative colitis epidemiology, diagnosis, and management [J]. Mayo Clin Proc, 2014,89(11):1553-1563.

[4] 李爱平,董媛媛,王天杰,等. 溃疡性结肠炎采用中西医结合治疗的研究进展[J]. 中国医药指南,2014,12(32):60-61.

[5] Plevy S, Silverberg M S, Lockton S, et al. Combined serological, genetic, and inflammatory markers differentiate Non-IBD, crohn's disease, and ulcerative

colitis patients [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19 (6): 1139-1148.

[6] Scioli M G, Stasi M A, Passeri D, et al. Propionyl-L-carnitine is efficacious in ulcerative colitis through its action on the immune function and microvasculature [J]. Clin Transl Gastroenterol, 2014, 5(3): e55.

[7] 郑丽红,王海强. 中医药治疗溃疡性结肠炎思路探索[J]. 光明中医,2014,29(7):1568-1569.

[8] Legaki E, Gazouli M. Influence of environmental factors in the development of inflammatory bowel diseases [J]. World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2016, 7(1): 112-125.

[9] 潘燕,欧阳钦. 八味锡类散对小鼠恶唑酮结肠炎的治疗作用及其机制[J]. 中西医结合学报,2010,8 (6):568-574.

[10] 韩柯,胡丽庆. 益生菌联合康复新液治疗活动期轻中度溃疡性结肠炎的疗效及安全性分析[J]. 中国生化药物杂志,2014,34(4):98-105.

[11] 明荷,谢寒,何可. 康复新液联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的疗效对患者炎性因子和氧化应激水平的影响[J]. 世界华人消化杂志,2015, 23 (24): 684-688.

[12] 陈玮,陆允敏,陈维雄. 白细胞介素-4、13 在恶唑酮诱导的小鼠实验性结肠炎中的变化[J]. 上海医学, 2007,30(10):774-776.

[13] 胡刚正. 抗原的接触方式及相互作用影响实验性结肠炎的发病[D]. 沈阳:中国医科大学,2004.

[14] 时松,黄振,罗熠. 白芨多糖对小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 中国药科大学学报,2012,43(6): 535-540.

[15] Heller F, Fuss I J, Nieuwenhuis E E, et al. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells [J]. Immunity,2002,17:629-638.

[16] Boirivant B M, Fuss I J, CHU A, et al. Oxazolone colitis a murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4 [J]. J Exp Med,1998,188(10):1929-1939.

[17] 苗政,钱家鸣,李景南,等. 康复新液对小鼠噻唑酮结肠炎的疗效及其机制初探[J]. 胃肠病学,2012, 17(8):457-461.

[18] Hamamoto N, Maemura K, Hirata I, et al. Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice by intracolonicallly administered antibodies against adhesion molecules (endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) [J]. Clin Exp Immunol,1999, 117(1/3):462-468.

[19] 柯昌毅,赵春景. 白及多糖对溃疡性结肠炎的作用研究[J]. 中国药房,2011,22(23):2132-2134.

[20] 张海强,李爱玲,乔刚,等. 阿泰宁对噻唑酮诱导的大鼠结肠炎模型的治疗作用[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(27):3036-3042.

[21] Ekström G M. Oxazolone-induced colitis in rats: effects of budesonide, cyclosporin A, and 5-aminosalicylic acid [J]. Scand J Gastroenterol,1998, 33(2):174-179.

[22] Luk H H, Ko J K S, Fung H S, et al. Delineation of the protective action of zinc sulfate on ulcerative colitis in rats[J]. Eur J Pharmacol,2002,443:197-204.

[23] 陈玉杰. 蒲公英水提物对大鼠溃疡性结肠炎的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012, 18 (8): 205-208.

[24] 娄莹莹,李佃贵,赵亚萍,等. 化浊解毒消痢方及拆方对溃疡性结肠炎大鼠 Th1/Th2 平衡的研究[J]. 中药药理与临床,2015,31(4): 187-189.

[25] 王坤,宣秀敏,王莲,等. 溃疡性结肠炎模型大鼠炎性细胞因子及钙卫蛋白的表达及其相关性分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2014, 30 (3): 278-283.

[26] Fuss I J, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis [J]. J Clin Invest, 2004, 113 (10): 1490-1497.

[27] Kim T W, Park H J, Choi E Y, et al. Overexpression of CIITA in T cells aggravates Th2-mediated colitis in mice [J]. J Korean Med Sci,2006,21(5):877-882.

[28] 于丰彦,黄绍刚,张海燕,等. 黄芩苷对溃疡性结肠炎患者细胞因子表达的影响[J]. 广州中医药大学学报,2014,31(6):864-872.

[29] 何显,王文智,苏心爱,等. 中药灌肠对溃疡性结肠炎患者 Th1/Th2 免疫调节的影响[J]. 四川中医, 2015,33(4):64-66.

[30] 李国栋. IL-13 及 IL-13Rα2-FC 在小鼠 oxazolone 结肠炎中的作用[D]. 成都:四川大学,2006.

[责任编辑 周冰冰]