

# 清热利湿健脾方对溃疡性结肠炎模型大鼠的保护作用

吴增艳<sup>1,2\*</sup>, 陈亮<sup>3</sup>(1.杭州市余杭区第五人民医院中药房, 杭州 311100; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 3.浙江中医药大学动物实验中心, 杭州 310053)

中图分类号 R285;R332 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)35-3275-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.35.04

**摘要** 目的:研究清热利湿健脾方对溃疡性结肠炎模型大鼠的保护作用。方法:于大鼠肛门内灌注三硝基苯磺酸(100 mg/kg)以复制溃疡性结肠炎模型。75只Wistar大鼠随机均分为正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、柳氮磺胺吡啶(0.27 g/kg)组与清热利湿健脾方高、低剂量(15.00、7.50 g/kg)组,灌胃给药,每天1次,连续20 d。观察大鼠活动以评定疾病活动指数(DAI),检测大鼠血清与结肠中白细胞介素(IL)-6、IL-10含量与超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠DAI升高,IL-6含量增加,IL-10含量减少,SOD活性减弱,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,清热利湿健脾方高、低剂量组大鼠DAI降低,IL-6含量减少,IL-10含量增加,SOD活性增强,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:清热利湿健脾方通过降低炎症因子,增加抑炎因子含量和增强SOD活性起到对溃疡性结肠炎模型大鼠的保护作用。

**关键词** 清热利湿健脾方;溃疡性结肠炎;大鼠;白细胞介素6;白细胞介素10;超氧化物歧化酶

## Protective Effects of Qingre Lishi Jianpi Decoction on Ulcerative Colitis Model Rats

WU Zeng-yan<sup>1,2</sup>, CHEN Liang<sup>3</sup>(1.TCM Pharmacy, Hangzhou Yuhang District Fifth People's Hospital, Hangzhou 311100, China; 2.College of Pharmacy, Zhejiang University of TCM, Hangzhou 310053, China; 3.Laboratory Animal Center, Zhejiang University of TCM, Hangzhou 310053, China;)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the protective effect of Qingre lishi jianpi decoction on ulcerative colitis rats. METHODS: The ulcerative colitis rat model was induced by the pump of TNBS (100 mg/kg) via anus. 75 SD rats were randomly divided into normal control group (constant volume of normal saline), model group (constant volume of normal saline), salazosulfapyridine group (0.27 g/kg), Qingre lishi jianpi decoction high-dose and low-dose groups (15.00, 7.50 g/kg). They were given relevant medicines intragastrically once a day for consecutive 20 days. The disease activity index (DAI) was evaluated by observing the activity of rats. The levels of IL-6 and IL-10, SOD activity were detected. RESULTS: Compared normal control group, DAI and IL-6 content were increased while IL-10 content and SOD activity were decreased in model group; there was statistical significance ( $P<0.05$ ); compared with model group, DAI and IL-6 content were decreased while IL-10 content and SOD activity were increased in Qingre lishi jianpi decoction high-dose and low-dose groups group ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: Qingre lishi jianpi can protect against ulcerative colitis model rats by reducing inflammatory factor and increasing the content of anti-inflammatory factor and SOD activity.

**KEYWORDS** Qingre lishi jianpi decoction; Ulcerative colitis; Rat; IL-6; IL-10; SOD

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是以直肠、结肠黏膜和黏膜下层的炎症和溃疡为病理特征的结肠炎。UC是病因不明的结肠和/或直肠慢性炎症反复发作,临床表现为腹痛、

腹泻、里急后重和黏液脓血便,病理表现为结肠黏膜慢性炎症和/或溃疡形成,目前尚无满意疗法<sup>[1-3]</sup>。UC属祖国医学的泄泻、久痢或肠澼范畴,湿热侵体,病位在大肠、脾和胃。中医认

dant enzymes activity and Bax, Bcl-2 expression[J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 46(2): 167.

[5] 曹慧,郭秀珍.灵芝多糖对2型糖尿病大鼠模型的治疗作用[J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(12): 2 256.

[6] 吴锋,孟国梁,杨丽云,等.灵芝多糖预防大鼠动脉粥样硬化的实验研究[J]. *南通大学学报医学版*, 2008, 28(4): 251.

[7] Zhou ZY, Tang YP, Xiang J, et al. Neuroprotective effects of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccha-

rides on cerebral ischemic injury in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(1): 154.

[8] 王斌,袁甜,张译文,等.仿刺参肠多糖提取物对小鼠实体瘤的抑制作用[J]. *大连海洋大学学报*, 2012, 27(3): 195.

[9] 张纯清,单铁英,杨书良,等.枸杞多糖对诱导树突状细胞成熟和增强T细胞增殖的影响[J]. *重庆医学*, 2010, 39(16): 2 117.

[10] 苏立,周颢,李正芳,等.肝癌细胞疫苗对荷瘤小鼠脾淋巴细胞IFN- $\gamma$ 生成及肿瘤浸润淋巴细胞的影响[J]. *重庆医学*, 2012, 41(27): 2 846.

(收稿日期:2013-10-05 修回日期:2013-12-30)

\* 主管中药师,硕士研究生。研究方向:临床药学。E-mail: wuzengyanww11@126.com

为湿热蕴结是UC的发病病理;湿邪黏腻,形态不定,致脾运失职,因此脾气虚弱是发病根本<sup>[4]</sup>。本课题组根据多年临床经验,依照该病机制研制出清热利湿健脾方,临床获得了满意的效果。清热利湿健脾方由黄连、厚朴、苍术和白术等8味药材组成,方中的黄连、黄芩、黄柏、蒲公英可清热泄火,解毒消散,其中黄芩、黄连和黄柏可清三焦湿热、降逆开结;苍术、白术、党参健脾祛湿,兼清里热、促邪外出,白术配厚朴可理气、降逆、止痛。全方共奏清热利湿、健脾疏肝之功效,对UC可标本兼治<sup>[5]</sup>。

研究显示,抗炎细胞因子与促炎细胞因子的平衡被打破导致免疫异常,发生UC。白细胞介素(IL)-6是典型的促炎因子,其水平与炎症分级、病变范围和严重程度呈正相关<sup>[6-7]</sup>;IL-10是典型的抗炎因子,UC患者接受IL-10灌肠可明显改善肠黏膜炎症<sup>[8-9]</sup>。除炎症因子外,超氧化物歧化酶(SOD)在UC中的作用也不容忽视。SOD无法清除体内的氧自由基,氧自由基经脂质过氧化反应产生大量可破坏细胞膜、损伤结肠组织细胞的丙二醛<sup>[10]</sup>。基于上述机制,本研究以大鼠UC模型考察清热利湿健脾方对其IL-6、IL-10与SOD水平的影响,为清热利湿健脾方的临床应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

MP120-1型电子分析天平(上海第二天平仪器厂);电热恒温培养箱(泰斯特仪器有限公司);3-30K型高速冷冻离心机(德国Sigma公司)。

### 1.2 药材

清热利湿健脾方中所有药材[黄连(批号:120501)、黄芩(批号:120301)、黄柏(批号:120401)、蒲公英(批号:120301)、厚朴(批号:120301)、黄柏(批号:120101)、苍术(批号:120101)、白术(批号:120301)]均购于浙江省中药材总公司。

### 1.3 药品与试剂

柳氮磺吡啶片(上海三维制药有限公司,批号:120101);IL-6、IL-10、SOD测试盒(美国RB公司)。

### 1.4 动物

Wistar大鼠,♀♂兼用,体质量180~220g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物使用许可证号:SCXK(沪)2012-002]。

## 2 方法

### 2.1 清热利湿健脾方的制备

黄连10g,黄芩10g,黄柏6g,蒲公英10g,厚朴10g,黄柏10g,苍术15g,白术15g,加水煎煮,制备为浸膏,贮藏,备用。

### 2.2 复制模型<sup>[11]</sup>与分组、给药

复制模型前禁食不禁水24h,ip戊巴比妥钠全麻,取长约12cm、直径2.0mm硅胶管插入大鼠肛门约8cm,以100mg/kg的剂量自硅胶管缓慢灌注三硝基苯磺酸乙醇溶液,每天1次,连续11d以复制UC模型。75只Wistar大鼠随机均分为5组,即正常对照(等容生理盐水)组、模型(等容生理盐水)组、柳氮磺胺吡啶(0.27g/kg)组与清热利湿健脾方高、低剂量(15.00、7.50g/kg)组。ig给药,每天1次,连续20d。

### 2.3 症状、体征观察及评分

观察并记录大鼠的体质量、粪便性状、大便隐血、便血、进食、饮水和一般活动等变化情况,并据此进行疾病活动指数(Disease activity index,DAI)评分。体质量下降评分分为:0分

(体质量不变)、1分(下降1~5g)、2分(下降>5~10g)、3分(下降>10~15g)、4分(>15g);大便性状和隐血变化评分为:0分(正常)、1分(软便,无隐血)、2分(软便,隐血阳性)、3分(腹泻,隐血阳性)、4分(显性出血)。DAI=(体质量下降评分+大便性状和隐血变化评分)/2。

### 2.4 指标的检测

实验结束后麻醉大鼠,采腹主动脉血5ml,离心取血清。同时取距离肛门9cm处新鲜结肠标本,匀浆研磨。大鼠血清和结肠组织IL-6、IL-10、SOD水平检测按试剂盒说明书进行。

### 2.5 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS15.0软件处理并分析实验数据。多组间单因素比较前先分析其正态性,后以LSD法进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 清热利湿健脾方对模型大鼠DAI评分的影响

正常对照组大鼠无明显改变,模型组大鼠体毛无光泽凌乱、活动减少伴饮食减少、排便硬,症状随着实验时间延长而逐渐加重,症状严重的大鼠肛门附近可见脓血便。清热利湿健脾方高、低剂量组大鼠伴有不同程度的体质量下降、大便性状和隐血变化。清热利湿健脾方对模型大鼠DAI评分的影响见表1。

表1 清热利湿健脾方对模型大鼠DAI评分的影响( $\bar{x} \pm s, n=15$ )  
Tab 1 Effects of Qingre lishi jianpi decoction on DAI score of model rats( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	DAI
正常对照组	0
模型组	7.6±1.2*
清热利湿健脾方高剂量组	4.6±0.9 <sup>#</sup>
清热利湿健脾方低剂量组	5.7±1.0 <sup>#</sup>
柳氮磺胺吡啶组	4.9±0.8 <sup>#</sup>

与正常对照组比较:\* $P < 0.05$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

vs. control group:\* $P < 0.05$ ;vs. model group:<sup>#</sup> $P < 0.05$

### 3.2 清热利湿健脾方对模型大鼠血清IL-6、IL-10与SOD水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清IL-6含量增加,IL-10含量减少,SOD活性减弱,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,清热利湿健脾方高、低剂量组大鼠血清IL-6含量减少,IL-10含量增加,SOD活性增强,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。清热利湿健脾方对模型大鼠血清IL-6、IL-10与SOD水平的影响见表2。

表2 清热利湿健脾方对模型大鼠血清IL-6、IL-10与SOD水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=15$ )  
Tab 2 Effects of Qingre lishi jianpi decoction on the levels of IL-6、IL-10 and SOD in model rats( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

组别	IL-6,pg/ml	IL-10,pg/ml	SOD,U/ml
正常对照组	6.4±1.2	15.6±4.9	184.6±56.9
模型组	46.9±12.6*	6.7±1.7*	96.9±68.1*
清热利湿健脾方高剂量组	25.6±7.7 <sup>#</sup>	10.8±3.3 <sup>#</sup>	135.6±69.7 <sup>#</sup>
清热利湿健脾方低剂量组	29.7±10.4 <sup>#</sup>	9.7±5.2 <sup>#</sup>	122.4±81.4 <sup>#</sup>
柳氮磺胺吡啶组	21.9±10.1 <sup>#</sup>	10.5±4.9 <sup>#</sup>	134.6±69.8 <sup>#</sup>

与正常对照组比较:\* $P < 0.05$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

vs. control group:\* $P < 0.05$ ;vs. model group:<sup>#</sup> $P < 0.05$

### 3.3 清热利湿健脾方对模型大鼠结肠组织IL-6、IL-10与

## SOD水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠结肠组织IL-6含量增加,IL-10含量减少,SOD活性减弱,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,清热利湿健脾方高、低剂量组大鼠结肠组织IL-6含量减少,IL-10含量增加,SOD活性增强,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。清热利湿健脾方对模型大鼠结肠组织IL-6、IL-10与SOD水平的影响见表3。

表3 清热利湿健脾方对模型大鼠结肠组织IL-6、IL-10与SOD水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Tab 3 Effects of Qingre lishi jianpi decoction on the levels of IL-6, IL-10 and SOD in model rats ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	IL-6, ng/mg	IL-10, ng/mg	SOD, U/mg
正常对照组	15.6±4.7	34.6±10.1	168.6±42.6
模型组	62.5±20.1 <sup>*</sup>	13.4±7.8 <sup>*</sup>	76.5±10.3 <sup>*</sup>
清热利湿健脾方高剂量组	34.2±12.7 <sup>#</sup>	21.6±8.7 <sup>#</sup>	126.4±35.9 <sup>#</sup>
清热利湿健脾方低剂量组	39.7±16.4 <sup>#</sup>	18.8±5.5 <sup>#</sup>	110.3±28.7 <sup>#</sup>
柳氮磺胺吡啶组	34.7±13.8 <sup>#</sup>	20.4±9.7 <sup>#</sup>	134.5±41.3 <sup>#</sup>

与正常对照组比较:<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较:<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

vs. control group: <sup>\*</sup> $P<0.05$ ; vs. model group: <sup>#</sup> $P<0.05$

## 4 讨论

本研究中,与正常对照大鼠比较,UC模型大鼠的DAI评分和血清、结肠组织的IL-6明显增加,IL-10含量减少,SOD活性减弱,提示UC大鼠促炎细胞因子水平升高,抑炎因子分泌相对不足,清除氧自由基能力下降,使肠道产生过强的炎症反应,引起肠道炎症损伤。给予清热解湿健脾方可明显减少模型大鼠血清、结肠IL-6含量,增加IL-10含量,增强SOD活性,与文献结果相似<sup>[11-13]</sup>。方中的黄连、黄芩和黄柏作为清热解湿药,不仅可减轻生物膜脂质过氧化损害,保护生物膜与细胞器,防止炎症级联反应,增强机体特异性和非特异性免疫应答,而且可抑制致病菌和内毒素,降低内毒素诱导细胞因子的效能,从多方面调节人体免疫系统<sup>[14-15]</sup>。本方可明显抑制促炎细胞因子的分泌,减少炎症递质的释放,减轻炎症反应对机体造成的损伤<sup>[16-17]</sup>。虽然中医认为UC存在几种证型,但不同证型间的IL-6等炎症因子水平无明显变化<sup>[12]</sup>,因此采用UC大鼠模型考察清热利湿健脾方具有一定的参考价值。本方中采用黄连、黄芩和黄柏,三药皆味苦使寒,容易损伤中阳,导致气化失调,故用药不宜过量,时间不宜过长。对于伴抑郁者,可将厚朴替换为佛手与陈皮,避免伤脾气,但湿性重浊、黏腻缠绵,不能立即见效。服药时间较长者,须随患者发病和服药时间长短以及机体状态随证加减,必要时给予心理辅导。

综上,清热利湿健脾方的作用机制可能与增强UC模型大鼠血清、结肠SOD活性,减轻氧自由基和脂质过氧化作用,降低血清、结肠中促炎因子IL-6和提高抗炎因子IL-10水平有关。

## 参考文献

[1] 曹秀红,张学彦,张晓娜.白介素在溃疡性结肠炎发病机制中的研究进展[J].世界华人消化杂志,2011,19(30):3143.  
[2] 范治国.溃疡性结肠炎的药物治疗研究进展[J].中国药

房,2013,24(46):4387.

[3] 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.  
[4] 王德运,刘冬梅,宋滕.中药清热利湿健脾法治疗溃疡性结肠炎活动期的系统评价[J].辽宁中医杂志,2013,40(12):2525.  
[5] 张森.清热利湿健脾方合三联疗法治疗Hp感染性消化性溃疡33例[J].国医论坛,2014,29(1):53.  
[6] Allocca M, Jovani M, Fiorino G, et al. Anti-IL-6 treatment for inflammatory bowel diseases: next cytokine, next target[J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(12):1508.  
[7] Abdallah H, Hussein I, Freund JN, et al. Enteropathogenic e. coli sustains iodoacetamide-induced ulcerative colitis-like colitis in rats: modulation of IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, COX-2, and apoptosis [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2012, 26(3):515.  
[8] Lv H, Jiang Y, Li J, et al. Association between polymorphisms in the promoter region of interleukin-10 and susceptibility to inflammatory bowel disease[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(3):1299.  
[9] Galatola M, Miele E, Strisciuglio C, et al. Synergistic effect of interleukin-10-receptor variants in a case of early-onset ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(46):8659.  
[10] 安丽婷,霍丽娟,师永盛.美沙拉嗪颗粒联合双歧三联活菌胶囊对溃疡性结肠炎患者血清SOD、MDA的影响[J].山西医科大学学报,2011,53(5):416.  
[11] 田秀峰.健脾清热利湿方保留灌肠联合西药治疗溃疡性结肠炎30例临床观察[J].齐齐哈尔医学院学报,2009,30(20):2496.  
[12] 杨立春,吴芳.不同中医证型溃疡性结肠炎患者IL-6、IL-8水平的研究[J].新疆中医药,2012,30(3):11.  
[13] Hu Y, Hu Z, Wang S, et al. Protective effects of Huang-Li-an-Jie-Du-Tang and its component group on collagen-induced arthritis in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3):1137.  
[14] 黄海燕.加味黄连解毒汤治疗多器官功能障碍综合征的临床观察[D].广州:广州中医药大学,2006.  
[15] 冯高飞,杨钦河,张玉佩,等.黄连素配合高脂饮食控制对NAFLD大鼠肝组织PPAR $\alpha$  mRNA及蛋白表达的影响[J].中药材,2012,35(4):629.  
[16] 李姿慧.健脾化湿法对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白3、4表达的影响及机制研究[D].北京:北京中医药大学,2012.  
[17] 耿玲,李洪文,李辉.中药对溃疡性结肠炎治疗作用的研究进展[J].中药材,2012,35(5):827.

(收稿日期:2014-05-12 修回日期:2014-07-29)