

# 五色梅对大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用

彭树灵<sup>1\*</sup>, 谭燕萍<sup>2</sup>, 黄志远<sup>1</sup>, 张继平<sup>1</sup>

(1. 佛山市第二人民医院, 广东 佛山 528000; 2. 佛山市禅城区朝阳医院, 广东 佛山 528000)

**[摘要]** **目的:**探讨五色梅(WSM)对大鼠实验性溃疡性结肠炎(UC)的治疗作用及其作用机制。**方法:**48只大鼠完全随机分为正常对照组、模型组、柳氮磺胺吡啶(SASP, 0.3 g·kg<sup>-1</sup>)组、WSM高、中、低剂量组(12, 6, 3 g·kg<sup>-1</sup>);采用2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)复制大鼠溃疡性结肠炎模型;连续给药10 d后,观察UC大鼠结肠黏膜损伤指数(CMDI)、组织病理学评分(HS)、血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-10 (IL-10)水平的变化。**结果:**模型组CMDI, HS显著高于正常对照组( $P < 0.01$ );WSM高、中剂量组及SASP组CMDI, HS均显著低于模型组( $P < 0.05, P < 0.01$ ),而WSM各剂量组与SASP组间无显著性差异;与正常对照组比较,模型组大鼠血清TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 水平显著升高( $P < 0.01$ ), IL-4, IL-10水平显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,WSM不同剂量组及SASP组血清TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 水平均显著降低( $P < 0.05, P < 0.01$ );IL-4, IL-10水平显著升高( $P < 0.01$ )。**结论:**五色梅有效治疗大鼠溃疡性结肠炎,其机制可能通过调节促炎因子及抗炎因子的平衡而实现。

**[关键词]** 五色梅; 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(2015)02-0161-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020161

**Effect of *Lantana camara* on Ulcerative Colitis Rats** PENG Shu-ling<sup>1\*</sup>, TAN Yan-ping<sup>2</sup>, HUANG Zhi-yuan<sup>1</sup>, ZHANG Ji-ping<sup>1</sup> (1. Foshan Second People's Hospital, Foshan 528000, China; 2. Foshan Chancheng Chaoyang Hospital, Foshan 528000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of *Lantana camara* on ulcerative colitis rats. **Method:** Forty-eight rats were randomly divided into 6 groups: normal group, model group, salazosulfapyridine (SASP, 0.3 g·kg<sup>-1</sup>) group, *L. camara* low, middle and high dose groups (12, 6, 3 g·kg<sup>-1</sup>). Ulcerative colitis model was copied by 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). After 10 days' treatment, the changes of colonic mucosal damage index (CMDI), histopathological score (HS), serum levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-4 (IL-4) and interleukin-10 (IL-10) were observed. **Result:** Compared with normal group, the CMDI and HS of model group were significantly increased ( $P < 0.01$ ); compared with model group, the CMDI and HS of middle-and high-dose *L. camara* groups and SASP group decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); there was no significant difference in CMDI and HS among *L. camara* groups and SASP group. Compared to normal group, the serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels of model group increased significantly ( $P < 0.01$ ), while the IL-4 and IL-10 levels decreased significantly ( $P < 0.01$ ). The serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels level of treatment groups decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, while the IL-4 and IL-10 levels increased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with SASP group, the serum TNF- $\alpha$  level of low-dose *L. camara* group increased significantly ( $P < 0.01$ ); the serum IL-1 $\beta$  level of high and middle dose *L. camara* groups decreased significantly ( $P < 0.01$ ), while the serum IL-10 level of these two groups increased significantly ( $P < 0.05$ ); the IL-4 level of low-dose *L. camara* group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** *L. camara* treated UC rats effectively, probably by regulating the balance of pro-and anti-inflammatory cytokines.

**[Key words]** *Lantana camara*; ulcerative colitis; cytokine

**[收稿日期]** 20140724(001)

**[基金项目]** 佛山市科技局医学类攻关项目(201308048)

**[通讯作者]** \* 彭树灵, 医学博士, 副主任医师, 从事中西医结合消化病的临床与基础研究, E-mail: pengshuling666@163.com

溃疡性结肠炎(UC)属慢性非特异性结肠炎症,病程迁延,易复发,是现代难治之病。中医认为,UC属泄泻、肠僻、滞下、痢疾、肠风、脏毒等范畴,其基本病理因素有湿热、气滞、血瘀、痰浊等,基本病机为湿热蕴肠,气滞络瘀。五色梅性味苦寒,具有泻火解毒、利湿消肿、祛风止痒、行气止痛、活血止血等功效,恰中UC的中医基本病机,但用该中草药治疗溃疡性结肠炎的研究未见文献报道。本课题首次探讨五色梅对大鼠实验性溃疡性结肠炎的治疗作用及对UC大鼠血清免疫因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-4(IL-4)与白细胞介素-10(IL-10)水平的影响,为五色梅开发利用提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级Wistar大鼠48只,体重180~220g,雌雄各半。由南方医科大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(粤)2011-0015。

**1.2 药品与试剂** 五色梅药材采自广东省台山市海宴镇,经佛山市第二人民医院张继平研究员鉴定为马鞭草科马樱丹属植物五色梅 *Lantana camara* 的根;柳氮磺胺吡啶(SASP,上海三维制药有限公司,批号20120620),2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS,美国Sigma公司,批号109K5008),大鼠TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ELISA试剂盒(武汉博士德公司,批号20130615,20130706),IL-4,IL-10 ELISA试剂盒(上海基免生物科技有限公司,批号20130712,20130808)。

**1.3 仪器** ELX800型通用酶标仪(美国BioTek公司),Avanti J-26XP型离心机(美国Beckman公司),UWB-10P型恒温水浴箱(常州诺基仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 分组与造模** 大鼠适应性喂养1周后,按完全随机化原则分为6组:正常组、模型组、柳氮磺胺吡啶(SASP)组、五色梅高、中、低剂量组,每组8只。参照文献[1]采用TNBS造模法制备大鼠UC模型。各组大鼠禁食不禁水24h,乙醚麻醉,以直径2mm的乳胶管经肛门轻轻插入深约8cm,用注射器往模型组、SASP组及WSM高、中、低剂量组大鼠的肠腔内注入25g·L<sup>-1</sup>的TNBS 50%乙醇溶液,2mL·kg<sup>-1</sup>;注完后将大鼠的尾部提起,倒置30s后平放,待其自然清醒,术后常规饲养;正常组肠腔内注入等量生理盐水。

**2.2 药液制备** ①五色梅供试液:将五色梅根干品打成粗粉,常规煎煮2次,过滤,合并2次水煎液,常规浓缩至1.2g·mL<sup>-1</sup>,置于4℃冰箱保存备用;给

药时用37℃水浴,原质量浓度作为高剂量给药,稀释至0.6,0.3g·mL<sup>-1</sup>作为中、低剂量给药。②SASP对照液:将SASP片刮去肠溶衣后研成细粉,临用时以蒸馏水制成30g·L<sup>-1</sup>的混悬液。

**2.3 给药** 造模2d后,SASP组按0.3g·kg<sup>-1</sup>剂量ig给予SASP混悬液,10mL·kg<sup>-1</sup>,WSM高、中、低剂量组分别按12.0,6.0,3.0g·kg<sup>-1</sup>剂量ig 10mL·kg<sup>-1</sup>,均连续给药10d;正常对照组和模型组ig给予等体积生理盐水,连续给药10d。

## 2.4 指标观测

**2.4.1 血清促炎因子及抗炎因子的测定** 末次给药后,大鼠禁食不禁水12h,按1.0g·kg<sup>-1</sup>的剂量ip 20%乌拉坦麻醉,开腹腹腔静脉取血约5mL,置无菌试管中静置2h,以4000r·min<sup>-1</sup>离心10min,分离血清,于-20℃冰箱保存,用ELISA法测定TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ,IL-4,IL-10水平。

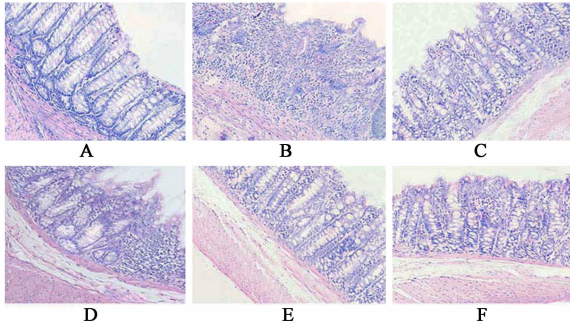
**2.4.2 结肠组织大体与病理观察及评分** 大鼠取血后分离结肠,沿肠系膜缘剪开肠腔,生理盐水冲净后,平铺于玻璃板上,进行大体观察及结肠黏膜损伤指数(CMDI)评分,指标包括粘连、局部充血、溃疡及炎症,按无、轻、重分别记0,1,2分;溃疡或炎症大于2cm,病变范围每增加1cm,记分加1分。取距肛门约8cm的结肠病变组织,10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,连续切片,一部分常规HE染色,对结肠黏膜损伤进行镜下病理观察及评分(HS),指标包括溃疡、炎症、肉芽肿、纤维化及病变深度,前4项按无、轻、重分别记0,1,2分;后1项按黏膜下层1分、肌层2分、浆膜层3分。

**2.5 数理统计** 所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用SPSS 13.0进行统计分析。多组比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 结肠组织大体观察及病理学变化** 大体观察:正常组大鼠结肠黏膜表面光滑,无充血,无肿胀,无糜烂与溃疡;模型组结肠肠壁增厚,黏膜弥漫性充血、水肿,广泛糜烂,多处面积较大的溃疡;SASP组结肠黏膜轻度充血、水肿,轻度糜烂,少许溃疡。五色梅高、中剂量组结肠黏膜轻度充血、水肿,少许糜烂,溃疡明显减少。五色梅低剂量组结肠黏膜轻度充血、水肿,多个溃疡点。镜下病理学观察:正常组大鼠结肠黏膜上皮完整,黏膜下血管清晰,腺体及杯状细胞排列整齐,未见炎性细胞浸润,无溃疡形成;模型组大鼠结肠黏膜上皮缺损,黏膜及黏膜下层大量炎性细胞浸润,腺体排列紊乱,部分坏死、消失,杯

状细胞减少;五色梅高、中剂量组及 SASP 组大鼠结肠黏膜上皮大部分增生修复,腺体增生,排列较整齐,杯状细胞增多,血管增生,少量淋巴细胞及中性粒细胞浸润。五色梅低剂量组大鼠结肠黏膜上皮有较大的缺损,部分腺体增生,杯状细胞增多,黏膜下层可见较多炎性细胞浸润。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. SASP 300 mg·kg<sup>-1</sup>组;D. 五色梅 3.0 g·kg<sup>-1</sup>组;E. 五色梅 6.0 g·kg<sup>-1</sup>组;F. 五色梅 12.0 g·kg<sup>-1</sup>组

图 1 大鼠结肠组织病理切片(HE 染色,×200)

Fig.1 Histopathological photograph of colon in rats(HE,×200)

**3.2 大鼠 CMDI 与 HS 的变化** 与正常组比较,模型组大鼠 CMDI, HS 显著增加 ( $P < 0.01$ );与

表 2 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  及 IL-4, IL-10 水平( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4 and IL-10 in rats( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$ /μg·L <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /ng·L <sup>-1</sup>	IL-4 /ng·L <sup>-1</sup>	IL-10 /ng·L <sup>-1</sup>
正常	-	1.21 ± 0.14	220.19 ± 17.25	277.91 ± 37.64	54.51 ± 10.41
模型	-	1.91 ± 0.15 <sup>2)</sup>	719.17 ± 101.68 <sup>2)</sup>	98.38 ± 14.97 <sup>2)</sup>	18.94 ± 2.68 <sup>2)</sup>
五色梅	12.0	1.31 ± 0.16 <sup>4)</sup>	432.07 ± 52.34 <sup>2,4,6)</sup>	211.76 ± 54.32 <sup>2,4)</sup>	62.24 ± 7.86 <sup>4,6)</sup>
	6.0	1.27 ± 0.11 <sup>4)</sup>	416.97 ± 48.22 <sup>2,4,6)</sup>	230.49 ± 50.57 <sup>1,4)</sup>	66.46 ± 12.59 <sup>1,4,6)</sup>
	3.0	1.57 ± 0.25 <sup>2,4,6)</sup>	575.66 ± 54.86 <sup>2,3)</sup>	167.58 ± 55.12 <sup>2,4,5)</sup>	43.85 ± 7.85 <sup>1,4)</sup>
SASP	0.3	1.27 ± 0.15 <sup>4)</sup>	567.68 ± 48.83 <sup>2,3)</sup>	218.73 ± 42.05 <sup>1,4)</sup>	49.63 ± 10.50 <sup>4)</sup>

#### 4 讨论

溃疡性结肠炎(UC)病因及发病机制尚未完全明了,可能与遗传因素、免疫功能、感染、环境及心理等因素有关。其中免疫反应异常在 UC 发病中起到重要作用,细胞因子参与 UC 的免疫反应和炎症过程<sup>[2]</sup>。TNF- $\alpha$  为促炎因子,主要由单核细胞和巨噬细胞产生,可激活中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞,增强其吞噬功能,并能刺激其他细胞因子(IL-1, IL-8, IFN 等)释放,从而促使炎症发生,导致组织损伤。IL-1 $\beta$  是一种具有炎症介导活性和免疫调节作用的细胞因子,被公认为与 UC 有关。它由 UC 结肠黏膜固有层活化的单核巨噬细胞释放,激活树突样

模型组比较,五色梅低、中、高剂量组及 SASP 组的 CMDI, HS 均显著降低( $P < 0.05, P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 各组大鼠 CMDI 与 HS 评分( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 CMDI and HS scores of rats( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量	CMDI 评分	HS 评分
	/g·kg <sup>-1</sup>	/分	/分
正常	-	0	0
模型	-	3.63 ± 1.19 <sup>2)</sup>	5.13 ± 1.13 <sup>2)</sup>
五色梅	12.0	1.75 ± 0.89 <sup>3)</sup>	2.88 ± 0.64 <sup>4)</sup>
	6.0	1.63 ± 0.52 <sup>3)</sup>	2.50 ± 0.93 <sup>4)</sup>
	3.0	2.13 ± 0.83	3.63 ± 1.06
SASP	0.3	1.88 ± 0.64 <sup>3)</sup>	2.75 ± 0.71 <sup>4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ ;与 SASP 组比较<sup>5)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>6)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.3 大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10 水平的变化** 与正常组比较,模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  水平显著升高( $P < 0.01$ ),而血清 IL-4, IL-10 水平显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,五色梅高、中、低剂量组及 SASP 组血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  水平均显著降低( $P < 0.05, P < 0.01$ );而血清 IL-4, IL-10 水平显著升高( $P < 0.01$ )。见表 2。

细胞吞噬、消化外来抗原,释放抗原片段并呈递至 T 淋巴细胞,介导 UC 免疫反应;它还可增加其他炎症因子的分泌,引起一系列肠道炎症反应,导致 UC 形成。研究表明,IL-1 $\beta$  水平与 UC 病情严重程度呈正相关<sup>[3]</sup>。IL-4 具有较强的抑制炎症的特性,主要由激活的淋巴细胞合成,抑制单核巨噬细胞产生促炎因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ ,还能抑制氧自由基及 PGE<sub>2</sub>, IL-8 等细胞因子的产生,以维持肠道正常的免疫功能。临床研究发现,UC 活动期患者血清 IL-4 水平显著低于静止期,表明 IL-4 可反映 UC 病情的进展<sup>[4-5]</sup>。IL-10 为细胞因子合成抑制因子,通过抑制激活的单核细胞、巨噬细胞、粒细胞及 T 细胞等细

胞的活性,降低促炎因子(IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ 等)水平,发挥广泛的免疫抑制作用;IL-10作为黏膜免疫中重要的细胞因子调节剂,有利于肠道黏膜内环境的稳定。IL-10水平下降,对肠道黏膜的免疫保护作用降低,促使UC的发生与发展<sup>[2]</sup>。

SASP属5-ASA制剂,是治疗UC的主要药物,它对结肠局部黏膜发挥非特异性抗炎作用,对于轻中度UC治疗效果较好,但需长期坚持服药且不良反应明显,如恶心呕吐、腹痛、发热、皮疹、粒细胞缺乏症、嗜中性细胞减少、男性不育症、叶酸缺乏、自身免疫性溶血、肝肾毒性与胰腺炎等,而中药在治疗UC中发挥了重要作用。近年来,西方国家的UC患者也逐渐选择中草药制剂治疗<sup>[6]</sup>。

五色梅性味苦寒,具有泻火解毒、利湿消肿、祛风止痒、行气止痛、活血止血等功效,可用于治疗痢疾、风湿痹痛、脚气、淋巴结核、高热不退和毒蛇咬伤等<sup>[7]</sup>。目前,有临床医生以五色梅根作为主药治疗类风湿性关节炎,取得良好效果;也有以五色梅根替代免疫抑制剂治疗难治性肾病综合征,疗效令人满意,并缩短了激素的诱导缓解时间,避免或降低了激素与免疫抑制剂的不良反应<sup>[8]</sup>。已有研究表明<sup>[9]</sup>,五色梅根的三萜类物质具有抗炎、镇痛的药理作用。

本研究首次探讨五色梅对UC的治疗作用,丰富了五色梅的药用价值研究。实验结果显示,高、中剂量五色梅可显著改善TNBS所致大鼠溃疡性结肠炎的结肠黏膜损伤程度,表明五色梅对UC大鼠具有良好的治疗效果。结果还发现,五色梅可显著降低UC大鼠血清TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 水平,提高血清IL-4, IL-10水平。而TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 为介导UC发生的促炎因子,IL-4, IL-10是对肠道黏膜有免疫保护作用

的抗炎因子,因此,五色梅治疗UC的机制可能通过降低血清促炎因子及提高抗炎因子水平,使这两种因子达到某种程度的平衡而实现,其更深入的机制有待进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 吴小庚,王爱磊,张学明,等. 实验性溃疡性结肠炎大鼠模型的建立[J]. 河北医药, 2011, 33(4):493-495.
- [2] 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):3143-3148.
- [3] Ashwood P, Harvey R, Verjee T. Functional interactions between mucosal IL-1, IL-1ra and TGF- $\beta$  1 in ulcerative colitis[J]. *Inflamm Res*, 2004, 53(2):53-59.
- [4] 赵晓军,王志红,韩英. 白细胞介素4、干扰素 $\gamma$ 、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 在溃疡性结肠炎患者结肠黏膜中的表达及意义[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(13):3029-3031.
- [5] 庞艳华,郑长青,王铁淳,等. IL-4和IL-13在溃疡性结肠炎中的表达[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2005, 14(4):410-412.
- [6] Gilardi D, Fiorino G, Genua M, et al. Complementary and alternative medicine in inflammatory bowel diseases: what is the future in the field of herbal medicine? [J]. *Expert Rev Gastroent Hepatol*, 2014, 8(7):835-846.
- [7] 苟亚峰,廖应林,孙世伟,等. 马缨丹化学成分及生物活性研究进展[J]. 热带农业工程, 2009, 33(5):37-40.
- [8] 刘学员,贺小年,杨卫. 五色梅根治疗难治性肾病综合征[J]. 临床荟萃, 1998, 13(24):1139-1140.
- [9] 莫云雁,李安,黄祖良. 五色梅根三萜类物质镇痛和抗炎的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(8):477-478.

[责任编辑 聂淑琴]