

# 板党多糖对溃疡性结肠炎大鼠的防治作用 及其分子机制研究

田先翔, 赵晓芳, 吴勇, 谭永霞, 胡俊杰, 郑国华\*

(湖北中医药大学药学院, 中药资源与中药复方教育部重点实验室, 武汉 430065)

**[摘要]** **目的:**观察板党多糖对 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导大鼠溃疡性结肠炎的防治作用并研究其机制。**方法:**SD 大鼠 60 只,分为 6 组,每组 10 只,分别为正常组,模型组,板党多糖低、中、高(0.25,0.50,1.00 g·kg<sup>-1</sup>)剂量组,固肠止泻丸组(1.08 g·kg<sup>-1</sup>)。各组按各剂量 ig 给药 5 d 后,以 TNBS 60 mg·kg<sup>-1</sup>灌肠造模,再继续 ig 给药 3 周,每天 1 次。造模后第 1,2,3 及 21 天进行疾病活动指数(DAI)评价,末次给药 30 min 后乙醚麻醉,断头处死大鼠。取大鼠的结肠组织先进行黏膜损伤指数评价(CMDI),然后一半组织进行组织病理学检查及评分,另一半采用实时荧光定量-聚合酶链式反应(qPCR)检测 Toll 样受体 4(TLR4),白细胞介素-6(IL-6),核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素-10(IL-10)的 mRNA 的表达。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠结肠充血水肿,溃疡症状明显,组织病理学检查结果显示炎性细胞浸润较严重,CMDI 评价及病理学组织评分明显升高,TLR4,IL-6,NF- $\kappa$ B,TNF- $\alpha$  mRNA 表达明显升高,IL-10 mRNA 表达明显降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,板党多糖组大鼠结肠充血水肿,溃疡症状得到改善,组织病理学检查结果显示炎性细胞浸润情况明显改善,CMDI 评价及病理学组织评分明显降低,对 TLR4,IL-6,NF- $\kappa$ B,TNF- $\alpha$  mRNA 表达具有下调作用,对 IL-10 mRNA 表达具有上调作用( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。**结论:**板党多糖对 TNBS 诱导的大鼠溃疡性结肠炎呈现出良好的预防性治疗作用,其机制可能与调节 TLR4,IL-6,NF- $\kappa$ B,TNF- $\alpha$ 及 IL-10 水平有关。

**[关键词]** 板党多糖; 溃疡性结肠炎; 2,4,6-三硝基苯磺酸; Toll 样受体 4; 白细胞介素-6; 核因子- $\kappa$ B; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-10

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0107-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016100107

## Preventive and Therapeutic Effect of Banqiao Codonopsis Radix Polysaccharide Against Ulcerative Colitis in Rats

TIAN Xian-xiang, ZHAO Xiao-fang, WU Yong, TAN Yong-xia, HU Jun-jie, ZHENG Guo-hua\*

(College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Medicine Resource and Compound Prescription, Ministry of Education, Wuhan 430065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the preventive and therapeutic effect of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced ulcerative colitis (UC) in rats and investigate its action mechanism. **Method:** Sixty Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into six groups with ten in each group: normal group, model group, Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide low-dose group (0.25 g·kg<sup>-1</sup>), middle-dose group (0.50 g·kg<sup>-1</sup>), high-dose group (1.00 g·kg<sup>-1</sup>) and Guchang Zhixie pills group (1.08 g·kg<sup>-1</sup>). After 5 days of intragastric administration in various groups, TNBS 60 mg·kg<sup>-1</sup> was applied in intragastric administration for modeling, once a day for 3 weeks continuously. Disease activity index (DAI) was

**[收稿日期]** 20150901(003)

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金项目(2006ABA064)

**[第一作者]** 田先翔,博士,副教授,硕士生导师,从事心血管药理学与新药研究,Tel:18671450626,E-mail:284633827@qq.com

**[通讯作者]** \* 郑国华,博士,教授,博士生导师,从事中药新制剂与新剂型的研究,Tel:13627108243,E-mail:zgh1227@sina.com

evaluated on 1st, 2nd, 3rd and 21st day after modeling. 30 min after the last administration, the rats were decapitated after anesthesia with ethyl ether and the colon tissues of the rats were collected consequently. After colon mucosa damage index (CMDI) evaluation, half of the colon tissues was used for histopathological examination and grading and the rest half of was used to detect mRNA expression levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), interleukin-6 (IL-6), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-10 (IL-10) by real-time quantitative PCR. **Result:** As compared with the normal group, the colon tissues had hyperemia, edema in rats of model group, with obvious ulcer symptoms; histopathological results indicated that inflammatory cell infiltration was severe; CMDI evaluation and pathological tissue scores were significantly increased; mRNA expression levels of TLR4, IL-6, NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  were significantly increased, while mRNA expression of mRNA expression was significantly reduced ( $P < 0.01$ ). As compared with the model group, hyperemia, edema and ulcer symptoms were improved in rats of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide group; histopathological results indicated that inflammatory cell infiltration was significantly improved; CMDI evaluation and pathological tissue scores were significantly decreased; the mRNA expression levels of TLR4, IL-6, NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  were down-regulated, while IL-10 mRNA expression level was up-regulated ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide showed a positive preventive therapeutic effect on TNBS-induced UC rats, and the mechanism may be associated with regulating levels of TLR4, IL-6, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  and IL-10.

[ **Key words** ] Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide; ulcerative colitis; 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid; Toll-like receptor 4; interleukin-6; nuclear factor- $\kappa$ B; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-10

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性结肠炎症, 病变以溃疡为主, 主要位于结肠的黏膜层, 多累及直肠和远端结肠, 为消化系统疾病中常见的难治性疾病。临床常用糖皮质激素和 5-氨基水杨酸类药物治疗溃疡性结肠炎, 但因其副作用较多, 限制了长期使用<sup>[1]</sup>。近年来研究发现, 中中医药因具有较好的增强免疫的作用, 作用温和持久, 副作用小, 能起到良好的预防及治疗作用, 因而越来越受到人们的关注。板党是湖北恩施板桥镇盛产的党参, 为道地药材, 笔者前期的研究发现板党多糖对 IEC-6 细胞有促进增殖、移行、分化的作用, 证实对溃疡性结肠炎的肠黏膜修复有较好的效果<sup>[2]</sup>。本研究采用 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 致溃疡性结肠炎大鼠模型, 观察板党多糖对实验性溃疡性结肠炎大鼠的预防性治疗效果并揭示其作用机制, 为临床用药提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 60 只, 体重 220 ~ 250 g, 由湖北省实验动物研究中心提供, 合格证号 SCXK (鄂) 2008-0005。

**1.2 药物及试剂** 党参多糖 (湖北中医药大学药剂研究室提供, 采用传统的水提醇沉法提取多糖, 石油醚脱脂, savage 法脱蛋白得精制多糖, 采用苯酚硫

酸法测得其多糖含量为 89.23%); TNBS (批号 SP229701, 美国 Sigma 公司), 固肠止泻丸 (批号 142202, 西安阿房宫药业有限公司), 便隐血 (OB) 试剂 (批号 2013091, 珠海贝索生物技术有限公司), Azfresh™ 总 RNA 小量/微量提取试剂盒 (批号 A06110014), AZpolaris™ cDNA Synthesis 试剂盒 (批号 A0610105), AZpolaris™ 实时荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) MasterMix (SYBR Green) (批号 A1127110), 均购自瑞典 Azanno 公司。

**1.3 仪器** TGL 型低温高速离心机 (长沙平凡仪器仪表有限公司), Nikon ECLIPSE E200 型光学显微镜 (日本尼康公司), DK-98-1 型电热恒温水浴锅 (天津市泰斯特仪器有限公司), TC-512 型普通 PCR 仪 (美国 Techne 公司), IQ2 型 qPCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司), SW-CJ-1FD 型洁净工作台 (苏净集团苏州安泰空气技术有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模药物的配制及使用方法**<sup>[3]</sup> 将 5% 的 TNBS 水溶液与无水乙醇按 2:1 配制成 TNBS/乙醇混合溶液, 按 1.8 mL·kg<sup>-1</sup> 即 60 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量灌肠, 诱导溃疡性结肠炎的形成。

**2.2 动物处理、造模及给药**<sup>[4]</sup> 60 只大鼠, 按体重随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为正常组 (等体积纯

净饮用水),模型组(等容积纯净饮用水),板党多糖低、中、高剂量(0.25,0.50,1.00 g·kg<sup>-1</sup>),固肠止泻丸组(1.08 g·kg<sup>-1</sup>)。适应性喂养后,造模前根据体重除正常组和模型组以等容积纯净饮用水 *ig* 外,其他各组分别给予相应药物。连续给药 5 d 后,所有大鼠禁食不禁水 36 h 后,乙醚麻醉,用 *ig* 针连接的注射器按体重吸取相应造模药物灌肠,正常组按体重吸取相应的生理盐水溶液灌肠。灌肠时应缓慢的边退针边推动注射器活塞进行灌肠,使 TNBS/乙醇能更加充分的与结肠黏膜接触,灌肠后使大鼠倒立,保持肛门高位 5 min,防止药物倒流。造模后,连续 3 d 监测疾病活动指数(disease activity index,DAI),DAI 是评判疾病活动情况和治疗效果的重要临床指标,DAI > 0.5 即代表疾病发生。模型成功后,各组

动物继续给予相应药物 *ig*,连续给药 3 周,每天 1 次,末次给药前 36 h,所有大鼠禁食不禁水。末次给药 30 min 后乙醚麻醉,取从肛门到距肛门 8 cm 之间的结肠组织,纵向剪开,用生理盐水洗净,其中一半结肠 10% 多聚甲醛固定,石蜡包埋切片并苏木素-伊红(HE)染色,进行组织学评级;另一半结肠组织 -80 °C 冻存,用于测定基因 mRNA 的表达。

### 2.3 检测指标

**2.3.1 大鼠的一般情况** 每天观察每组大鼠的精神状态、毛发光泽、活动状态、大便性状、体重、进食量的变化。

**2.3.2 DAI 评价** 造模后第 1,2,3 及 21 天依照表 1 进行 DAI 评价。DAI 为体重下降、大便性状和大便隐血三项指标得分的平均值。

表 1 DAI 计算评分

Table 1 Calculation table of DAI

观察指标	0 分	1 分	2 分	3 分	4 分
体重下降	不下降	下降 1% ~ 5%	下降 6% ~ 10%	下降 11% ~ 15%	下降 > 15%
大便性状	正常	-	半稀便	-	稀便
大便隐血	隐血阴性	-	隐血阳性	-	肉眼血便

注:正常大便为干而小粒状,半稀便为糊状但不粘肛门,稀便为液状而且黏肛门;大便隐血用大便隐血试纸检测按说明书检测。在 2 min 内观察颜色反应,显紫色为阳性。根据其颜色深浅判断阳性的强弱,在 2 min 内不显色为阴性。

**2.3.3 结肠黏膜损伤指数评价(CMDI)** 分离结肠后,沿肠系膜纵轴剪开,生理盐水将粪便及食物残渣洗净后,立即进行肉眼损伤评价,数据统计学处理,评分标准如下<sup>[5]</sup>:无损伤为 0;轻度充血,水肿,表面光滑,无糜烂或溃疡为 1 分;充血水肿,黏膜粗糙呈颗粒状,有糜烂或肠黏连为 2 分;高度充血水肿,黏膜表面有坏死及溃疡形成,溃疡最大纵径小于 1.0 cm,肠壁增厚或表面有坏死及炎症为 3 分;在 3 分基础上溃疡最大纵径大于 1.0 cm 或大鼠死亡为 4 分。

**2.3.4 病理组织学评分** 切片 5 个高倍视野的平均评分,镜下观察炎症浸润情况,并采用 Dieleman 等<sup>[6]</sup>的标准,根据溃疡、炎症、肉芽肿、上皮细胞异型增生、病变深度,按有无及轻中重程度分别计为 0,1,2,3,病变有无及深度达黏膜层、肌层、浆膜层分别计为 0,1,2,3,以上各项相加得总分。

**2.3.5 结肠部位白细胞介素-6(IL-6),Toll 样受体 4(TLR4),核因子-κB(NF-κB),肿瘤坏死因子-α(TNF-α)及白细胞介素-10(IL-10)mRNA 的表达** 结肠组织解冻,液氮碾磨后按照试剂盒操作说明用

过吸附柱的方法提取,反应条件:预变性 95 °C 2 min,变性 95 °C 10 s,退火 62 °C 30 s,延伸 72 °C 15 s,重复 40 个循环,并进行逆转录,实时荧光定量-聚合酶链式反应(qPCR)检测各基因 mRNA 的表达,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup>的方法计算基因表达量。引物序列,扩增产物长度及实验条件见表 2。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 19.0 软件处理实验数据,计量资料均用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析检测有效性,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠的一般情况状况观察** 造模第 1 周大鼠尿量明显增多,饮水增多,食量减少,体重下降,懒动,皮毛松散,排稀烂便;1 周后开始饮水量增多,体重逐渐上升,3 周后体重开始超过造模前,多数大鼠排便已成形,水明显减少。大鼠因麻醉死亡情况:中剂量 1 只,固肠止泻丸组 1 只,此原因死亡大鼠不参与实验结果分析。至实验结束前大鼠死亡情况为模型组、低剂量组及中剂量组各死亡 2 只,高剂量及固肠止泻丸组各死亡 1 只,正常组无死亡,死亡大鼠体型消瘦,腹大如鼓,经解剖后发现肠黏连,且结肠部位溃疡严

表 2 IL-6, TLR4, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-10 引物序列, 扩增产物长度及实验条件

Table 2 Primer sequence, length of amplification products and experimental conditions of IL-6, TLR4, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-10

基因	基因序列	产物长度 /bp
$\beta$ -actin	上游 5'-CGTTGACATCCGTAAAGACCTC-3'	110
	下游 5'-TAGGAGCCAGGGCAGTAATCT-3'	
IL-6	上游 5'-AGCCAGAGTCATTTCAGAGCAAT-3'	214
	下游 5'-CCGAGTAGACCTCATAGTGACCTTT-3'	
TLR4	上游 5'-TGACTCCATTCAAGCCCAA-3'	137
	下游 5'-CCAAGATCAACCGATGGAC-3'	
NF- $\kappa$ B	上游 5'-CACCAAAGACCCACCTCACC-3'	239
	下游 5'-CCGCATTCAAGTCATAGTCCC-3'	
TNF- $\alpha$	上游 5'-TCAGCCTCTTCTCATTCCTGC-3'	212
	下游 5'-CTCCTCCGCTTGGTGTTT-3'	
IL-10	上游 5'-GCTGTCATCGATTCTCCCT-3'	186
	下游 5'-AGTCCAGTAGATGCCGGTG-3'	

表 3 板党多糖对 UC 大鼠的 DAI 评价的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effects of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on DAI evaluation of UC rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 21 天
正常	-	10	0.12 $\pm$ 0.17	0.06 $\pm$ 0.13	0.06 $\pm$ 0.13	0
模型	-	8	2.50 $\pm$ 0.39 <sup>1)</sup>	2.89 $\pm$ 0.16 <sup>1)</sup>	2.92 $\pm$ 0.21 <sup>1)</sup>	0.17 $\pm$ 0.30 <sup>1)</sup>
板党多糖	0.25	8	2.39 $\pm$ 0.28	2.72 $\pm$ 0.34	2.69 $\pm$ 0.33	0 <sup>3)</sup>
	0.50	7	2.30 $\pm$ 0.43	2.70 $\pm$ 0.38	2.64 $\pm$ 0.43	0 <sup>3)</sup>
	1.00	9	2.31 $\pm$ 0.36	2.64 $\pm$ 0.36	2.67 $\pm$ 0.40	0 <sup>3)</sup>
固肠止泻丸	1.08	8	2.39 $\pm$ 0.36	2.97 $\pm$ 0.38	2.94 $\pm$ 0.36	0.18 $\pm$ 0.31

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



A. 正常组; B. 模型组; C. 板党多糖 0.25  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; D. 板党多糖 0.50  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; E. 板党多糖 1.00  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; F. 固肠止泻丸组(图 2 同)

图 1 板党多糖对 UC 大鼠结肠组织的影响

Fig. 1 Effects of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on colon tissue of UC rats

3.4 对 UC 大鼠结肠黏膜组织的影响 正常组黏膜上皮结构完整, 大肠腺体清晰, 杯状细胞形态正常, 无炎症细胞浸润。模型组黏膜层可见大量炎症细胞浸润, 腺体萎缩, 排列紊乱, 杯状细胞形态改变,

重, 系因溃疡性结肠炎疾病死亡, 此原因死亡大鼠只参与 CMDI 及病理学组织评分的统计学分析。

3.2 对 UC 大鼠的 DAI 评价的影响 造模后第 1 天, 各组 DAI 指数增大, 造模后第 2 天, 各组 DAI 评分继续增大, 第 3 天, 趋于平稳。与模型组比较, 各给药组虽然没有显著性差异, 但是其评分均低于模型组, 直至实验结束前, 模型组的 DAI 评分仍然高于正常组 ( $P < 0.01$ ), 而与模型组比较, 板党多糖组 DAI 评分明显降低 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

3.3 对 UC 大鼠结肠组织的影响 肉眼观察到正常组大鼠色泽淡红, 表面光滑, 黏膜皱襞清晰完整, 肠壁厚薄适中, 模型组大鼠见溃疡肉芽肿, 病灶肠壁变厚, 大部分大鼠有肠黏连, 治疗给药各组结肠亦可见水肿增厚、充血出血或黏膜粗糙呈颗粒状, 但较模型组有很大程度改善, 而且给药剂量越大, 改善越明显。见图 1。

可见溃疡面形成或黏膜大面积缺损, 甚至黏膜下层也被大量炎性细胞浸润。各给药组仍可见炎性细胞浸润, 但明显少于模型组, 虽然有些腺体结构不完整, 但是腺体及杯状细胞仍可见, 且杯状细胞数目也有所减少。见图 2。

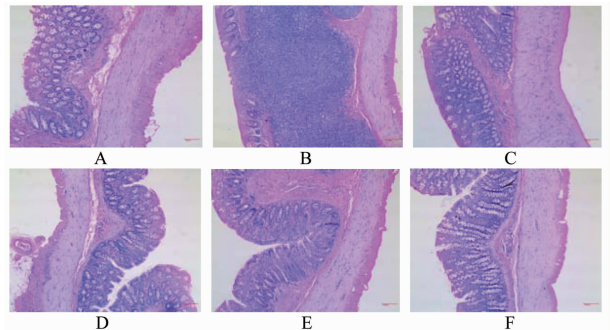


图 2 板党多糖对 UC 大鼠结肠黏膜组织的影响 (HE,  $\times 100$ )

Fig. 2 Effects of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on colorectal tissues of UC rats (HE,  $\times 100$ )

3.5 对 UC 大鼠的 CMDI 及组织学评分的影响 与

正常组比较,模型组 CMDI 指数和组织学评分明显升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,板党多糖高剂量组 CMDI 指数明显降低 ( $P < 0.01$ ),中剂量组及低剂量组虽然没有明显差异,但是与模型组比较,其仍然呈现出下降趋势,而病理学组织评分亦随着给药剂量的增加逐渐降低,且中剂量及高剂量显著性降低 ( $P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 板党多糖对 UC 大鼠的 CMDI 及组织学评分的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 4 Effects of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on CMDI and histological score of UC rats ( $\bar{x} \pm s$ ) 分

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	n	CMDI	病理组织学评分
正常	-	10	0.09 ± 0.30	0.8 ± 0.6
模型	-	10	3.55 ± 0.68 <sup>1)</sup>	7.9 ± 2.5 <sup>1)</sup>
板党多糖	0.25	10	3.17 ± 0.83	6.5 ± 3.2
	0.50	9	3.00 ± 0.77	4.9 ± 2.8 <sup>3)</sup>
	1.00	10	2.17 ± 0.94 <sup>3)</sup>	3.7 ± 2.1 <sup>3)</sup>
固肠止泻丸	1.08	9	3.55 ± 0.52	5.6 ± 2.5 <sup>2)</sup>

表 5 板党多糖对 UC 大鼠的结肠病变部位的 IL-6,TLR4,NF-κB,TNF-α,IL-10 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 5 Effects of Banqiao Codonopsis Radix polysaccharide on expression of IL-6,TLR4,NF-κB,TNF-α,IL-10 mRNA in colorectal tissues of UC rats ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6	TLR4	NF-κB	TNF-α	IL-10
正常	-	0.03 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.23 ± 0.10	0.11 ± 0.02	2.79 ± 0.53
模型	-	1.01 ± 0.13 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.15 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.16 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.13 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.13 <sup>1)</sup>
板党多糖	0.25	0.63 ± 0.16 <sup>3)</sup>	0.88 ± 0.23	0.54 ± 0.14 <sup>3)</sup>	0.85 ± 0.07 <sup>2)</sup>	1.28 ± 0.80
	0.50	0.53 ± 0.25 <sup>3)</sup>	0.64 ± 0.14 <sup>3)</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>3)</sup>	0.74 ± 0.11 <sup>3)</sup>	1.43 ± 0.49
	1.00	0.44 ± 0.20 <sup>3)</sup>	0.31 ± 0.14 <sup>3)</sup>	0.32 ± 0.09 <sup>3)</sup>	0.36 ± 0.11 <sup>3)</sup>	1.64 ± 0.17 <sup>2)</sup>
固肠止泻丸	1.08	0.12 ± 0.17 <sup>3)</sup>	0.62 ± 0.25 <sup>3)</sup>	0.37 ± 0.06 <sup>3)</sup>	0.49 ± 0.09 <sup>3)</sup>	1.25 ± 0.40

点<sup>[8]</sup>。而中药是中医学治疗疾病的重要组成部分,积极开展中药治疗 UC 的作用及机制研究具有重要意义和实用价值<sup>[9]</sup>。目前天然药物活性成分治疗溃疡性结肠炎的研究越来越受到世界各国的重视,因此,从中药中获取药物的抗病部位成为目前药物治疗研究中的一个重点和热点。板党多糖是采用水提醇沉法从板桥党参中得到的提取物,本实验结果显示板党多糖对 TNBS 诱导的 UC 具有良好的防治作用。

TNBS 作为半抗原,与肠组织蛋白结合形成完全抗原,导致肠黏膜免疫反应的发生,造成肠黏膜的损伤。TNBS/乙醇模型症状和组织学改变与人类 UC 类似,可模拟 UC 慢性复发性过程,可用来评估新的治疗方法对人类 UC 的治疗作用。该法简单易行,稳定可靠,病变可维持 8 周,成功率高,重复性

3.6 对 UC 大鼠的结肠病变部位的 IL-6,TLR4,NF-κB,TNF-α,IL-10 mRNA 表达的影响 与正常组比较,UC 模型组大鼠 IL-6,TLR4,NF-κB,TNF-α mRNA 的表达量均显著升高 ( $P < 0.01$ ),IL-10 mRNA 的表达量显著降低 ( $P < 0.01$ ),与模型组比较,板党多糖高、中剂量组能显著降低 UC 大鼠结肠组织中的 IL-6,TLR4,NF-κB,TNF-α mRNA 的表达 ( $P < 0.01$ ),高剂量还可使 IL-10 mRNA 的表达升高 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

#### 4 讨论

UC 病因未明,病程一般呈反复发作的慢性过程,目前国内国外现有的常规治疗包括 SASP,52 氨基水杨酸、皮质激素、免疫抑制剂等,药物不仅缺乏特异性,而且疗效并不是十分肯定,副作用较多<sup>[1,7]</sup>,因此,目前全球范围内都在寻找治疗 UC 疗效好副作用少的药物。中医学在此病的治疗方面独具特色,具有疗效稳定、无毒副作用、复发率低的特点

好<sup>[10-11]</sup>,适合用于新药的开发和疗效评价,故本实验亦采用 TNBS/乙醇制备溃疡性结肠炎的模型。实验中,根据体重,大便性状,大便隐血,DAI 指数,CMDI,组织学评级这些指标初步判断板党多糖能显著改善 TNBS/乙醇所致大鼠溃疡性结肠炎的临床症状。

TLR4 作为重要的炎性受体,引发信号转导能导致炎症介质的释放,在天然免疫防御中起重要作用,并最终激活获得性免疫系统。Lee 等<sup>[12]</sup>表明在 TNBS 诱导的小鼠 UC 中,三得利乳酸菌可以通过抑制 TLR4 关联的 NF-κB 的活化来抑制炎症介质(如 TNF-α,IL-6,IL-1)的表达。NF-κB 是 UC 炎症过程中最重要的调控因子,并能够促进炎症因子的转录,是治疗 UC 的关键靶位<sup>[13]</sup>。因此,通过抑制 TLR4 关联的 NF-κB 的活化,进而抑制炎症因子的释放,是治疗溃疡性结肠炎的关键。在本实验中 TNBS 诱

导的 UC 使大鼠结肠中 TLR4 上调,而板党多糖不仅能够显著抑制其上调,而且明显抑制了 NF- $\kappa$ B 的表达,且炎症因子 TNF- $\alpha$ , IL-6 的表达亦显著降低,提示板党多糖治疗 UC 可能是通过阻断 TLR4 关联的 NF- $\kappa$ B 信号传导途径,抑制 TNF- $\alpha$ , IL-6 表达水平的增加,进而改善 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎的宏观特征的。

IL-10 是重要的抑炎症细胞因子,相关研究发现溃疡性结肠炎活动期 IL-10 表达水平降低, TNF- $\alpha$  表达水平升高,且重度患者降低或升高显著超过轻度患者,说明 IL-10, TNF- $\alpha$  参与了 UC 的发病机制,并与病情相关<sup>[14]</sup>。在本实验中发现板党多糖可以明显促进溃疡性结肠炎大鼠的 IL-10 表达水平,并抑制 TNF- $\alpha$  表达水平的增加,提示板党多糖治疗 UC 的机制可能与 IL-10 及 TNF- $\alpha$  有关。

综上所述,本研究结果表明板党多糖能够显著降低 UC 大鼠的 TLR4, IL-6, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达,并上调 IL-10 的 mRNA 表达。提示其治疗 UC 的机制可能是通过抑制 TLR4-NF- $\kappa$ B 途径的活化,减少 IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达,并促进 IL-10 的抗炎作用,从而减轻炎症放大效应,而这可能是其治疗 UC 的一个重要机制。

#### [参考文献]

[1] 方向明. 溃疡性结肠炎的中西医治疗近况. 第二十五届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集[C]. 南昌:第二十五届全国中西医结合消化系统疾病学术会议,2013.

[2] 张骏. 板党多糖对 IEC\_6 细胞增殖分化机制的研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2012.

[3] 杨舒,王新月,景姗,等. 不同浓度三硝基苯磺酸和乙醇诱导的大鼠克罗恩病模型[J]. 中西医结合学报, 2011,9(11):1242-1247.

[4] Motavallian-Naeini A, Andalib S, Rabbani M, et al.

Validation and optimization of experimental colitis induction in rats using 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid[J]. Res Pharm Sci,2012,7(3):159-169

[5] Cromer W E, Ganta C V, Patel M, et al. VEGF-A isoform modulation in an preclinical TNBS model of ulcerative colitis: protective effects of a VEGF164b therapy[J]. J Transl Med, 2013, doi: 10.1186/1479-5876-11-207.

[6] Dieleman L A, Palmen M J, Akol H, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines [J]. Clin Exp Immunol, 1998, 114 (3): 385-391.

[7] 甘华田,欧阳钦,陈友琴,等. 溃疡性结肠炎患者肠黏膜  $\kappa$  基因结合核因子的活化及抗炎药物的作用[J]. 中华医学杂志,2002,82(6):384-388.

[8] 柳雯,王翼洲,车富强. 中医药治疗溃疡性结肠炎研究进展[J]. 安徽医药,2010,14(9):1096-1098.

[9] 徐艳娇,黄幼兰,吴涛,等. 中药治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 药品评价,2014,24(11):25-28,31.

[10] 朱磊,沈洪,刘丽,等. 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植 MSCs 向溃疡性结肠炎大鼠结肠迁移分化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(21):88-92.

[11] 李茹柳,迟莉,郭文峰. 造模因素对 TNBS 致大鼠溃疡性结肠炎模型的影响[J]. 中药药理与临床,2007,23(6):81-83.

[12] Lee J H, Lee B, Lee H S, et al. Lactobacillus suntoryeus inhibits pro-inflammatory cytokine expression and TLR-4-linked NF- $\kappa$ B activation in experimental colitis [J]. Int J Colorectal Dis, 2009, 24(2): 231-237.

[13] Atreya I, Atreya R, Neurath M F. NF- $\kappa$ B in inflammatory bowel disease [J]. J Intern Med, 2008, 263(6): 591-596.

[14] 贾长河,许泼实,康谊. 溃疡性结肠炎患者血清 IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$  的水平及临床意义 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2008, 22(8): 574-575, 578.

[责任编辑 周冰冰]