

溃结饮对 UC 大鼠血清 EGF 含量的影响

谭 丹, 王新月, 田德禄, 李澎涛, 金美花 (北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: 通过建立 TNBS/乙醇大鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型, 观察了溃结饮在 1 2 3 周时, 对血清表皮生长因子(Epidermal Growth Factor, EGF)含量的影响。结果发现: 溃结饮有提高 UC 大鼠血清 EGF 含量的作用, 且其作用优于柳氮磺吡啶($P < 0.05$)。提示, 通过增加 UC 大鼠血清 EGF 含量, 是溃结饮发挥治疗作用的途径之一。

关键词: 溃疡性结肠炎; 表皮生长因子; 溃结饮

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)04-0039-03

Effect of Kui Jieyin to Epidermal Growth Factor Content of Serum of Ulcerative Colitis Model in Rat

TAN Dan, WANG Xin-yue, TIAN De-lu

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

Abstract: to approach the treatment mechanism of Kui Yieyin to UC rat model. through using rat model of ulceration induced by TNBS, we observed the effect of Kui Jieyin to Epidermal Growth Factor(EGF) content of serum in 1-3 week treatment by Kui Jieyin. Kui Jieyin has the function of increasing UC rat's EGF content of serum($P < 0.05$) in week 2 and week 3. And the therapeutic result of Kui Jieyin was better than Sulfasalazine. to increasing EGF content is the one way of the treatment mechanisms of Kuijie Yin to UC.

Key words: ulcerative colitis; Epidermal Growth Factor; Kui Jin Yin

导师田德禄教授自拟方溃结饮治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 在临床上取得了良好疗效, 我们通过建立 TNBS/乙醇大鼠 UC 模型, 观察了溃结饮在治疗 1 2 3 周后对 UC 大鼠血清 EGF 含量的影响, 从而探讨其可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠二级, 雄性, 体重为 160~200 克。由北京维通利华实验技术有限公司提供, 动物合格证号: SCK11-00-0008。

1.2 药物 溃结饮: 由黄连(*Coptis Franch*)、黄芪(*Astragalus membranaceas Bge.*)、当归(*Angelica Sinensis Diels*)、苦参(*Sophora flavescens Ait*)等组成, 每瓶 100ml, 每毫升药液含生药量 1.82 克, 由北京中医药大学东直门医院制剂室生产。柳氮磺吡啶: 0.25g/片, 由海南红惠制药有限公司生产, 批号为: 国药准字(1998)XF-1546 号。

1.3 试剂及试剂盒 2, 4, 6-三硝基苯磺酸(TNBS): 购于北京化学试剂公司, 由 sigma 公司生产, 批号为 [2508-19-2]; 50% 乙醇; 30% 戊巴比妥钠; 表皮生长

因子(EGF) 放免试剂盒: 购于中国原子能科学研究所, 产品编号 IMK467

1.4 仪器 HERMLE 2360K 离心机, 日本 Bio-Rad 2550 型酶标仪。

2 方法

2.1 造模方法 将 SD 大鼠正常饲养一周后, 禁食 48h(不禁水)。用 3% 戊巴比妥钠腹腔麻醉(0.13ml/100g)后, 将一直径 2mm、长约 12cm 的橡胶管由大鼠肛门轻缓插入, 约深 7~8cm, 然后推入 TNBS/乙醇液(120mg/kg TNBS+ 50% 的乙醇 0.25ml)。

2.2 分组与给药 将 100 只大鼠随机分为四组: 正常组, 10 只, 每天以蒸馏水灌胃, 每次 1ml/100g, 每日一次, 共三周。模型组, 30 只, 于造模后第 2d 以蒸馏水灌胃, 每次 1ml/100g, 每日一次, 共三周。溃结饮组, 30 只, 于造模后第 2d 开始用溃结饮灌胃, 按 12.2g/kg/day 给药(相当于成人用药量的 8 倍), 每日一次, 共三周。

柳氮磺吡啶组, 30 只, 于造模后第 2d 始用柳氮磺吡啶灌胃, 先将片剂研细粉, 过 120 目筛, 用蒸馏水配成 5% 的混悬液按 0.4g/kg/day 给药(相当于成人用药量的 8 倍), 每日一次, 共三周。

2.3 取材 模型组、溃结饮组、柳氮磺吡啶组分别于造模后第 1 周、第 2 周、第 3 周各随机抽取 10 只大鼠,以 3% 戊巴比妥钠腹腔麻醉,颈动脉插管采血,静置 2h 后,以 3000rpm 转离心 10min,取上清,置于 -20℃ 冰箱保存备用。正常组于第 3 周时采血。每次采血前禁食 24h(不禁水)。

2.4 血清 EGF 含量测定方法: ①取圆底聚苯乙烯试管若干,进行顺序编号。②按下表加入试剂

	单位: ul				
	T 管	零管	NSB	标准管	血样管
零标准	-	50	50	-	-
标准品	-	-	-	50	-
血 样	-	-	-	-	200
NBS	-	-	200	-	-
¹²⁵ I-EGF	100	100	100	100	100
EGF 抗体	-	200	-	200	200
	37℃, 3~4 小时				
免疫分离剂	-	500	500	500	500

充分混均,室温放置 15min,3500rpm,离心 20min,吸弃上清液,测各管沉淀部分的放射性记数(cmp)。

③结果计算:采用 Log-logit 直线回归方法作图,样品值可根据其 B/Bo 在标曲线上查得。将由曲线查得的样品结果除以 4 即得血样中 EGF 的实际含量。

2.5 统计方法 实验数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 软件包进行 One-Way 方差分析和组间 t 检验。

3 结果

模型组与正常组比较:在第 1、2、3 周时,两组血清 EGF 含量无显著性差异($P > 0.05$)。说明在 UC 时,血清 EGF 含量无显著性改变。

溃结饮组、柳氮磺吡啶组与模型组比较:溃结饮组,在第 1 周时与模型组比较,血清 EGF 含量无显著性差异($P > 0.05$),在第 2、3 周时,血清 EGF 含量高于模型组,经统计学处理有显著性差异($P < 0.05$)。柳氮磺吡啶组,在第 1、2 周时与模型组比较,无显著性差异($P > 0.05$),在第 3 周时,血清 EGF 含量高于模型组($P < 0.05$)。说明溃结饮、柳氮磺吡啶均有提高 UC 大鼠血清 EGF 含量的作用,但在发挥其作用的时间上溃结饮早于柳氮磺吡啶。

溃结饮组与柳氮磺吡啶组比较:在第 1 周时,两

组血清 EGF 含量无显著性差异($P > 0.05$);在第 2、3 周时,溃结饮组血清 EGF 含量高于柳氮磺吡啶组,经统计学处理有显著性差异($P < 0.05$)。说明溃结饮在提高 UC 大鼠血清 EGF 含量作用上优于柳氮磺吡啶。见表 1,图 1。

表 1 溃结饮对 UC 大鼠血清 EGF 含量(ng/ml)的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	第 1 周	第 2 周	第 3 周
正常组	0.43 ± 0.02		
模型组	0.42 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.03
溃结饮组	0.43 ± 0.05	0.49 ± 0.03* Δ	0.51 ± 0.02* Δ
柳氮磺吡啶组	0.43 ± 0.08	0.44 ± 0.01	0.47 ± 0.03*

注: * 与模型组比较, Δ 与柳氮磺吡啶组比较, $P < 0.05$

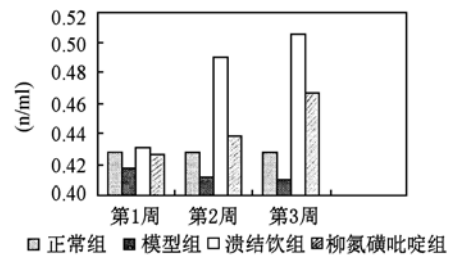


图 1 溃结饮对 UC 大鼠血清 EGF 含量(ng/ml)的影响

4 讨论

表皮生长因子(Epidermal Growth Factor, EGF),是由 53 个氨基酸残基组成,分子量为 6×10^3 的单链多肽。人体各组织中广泛存在 EGF,其主要合成部位在颌下腺。EGF 具有多种功能,例如促进多种上皮细胞、间质细胞的生长、增强肌醇磷脂代谢等,可增加粘膜 DNA, RNA 和蛋白质的含量,刺激组织的生长和修复,具有保护胃肠粘膜的作用。EGF 受体是 $Mr170 \times 10^3$ 的跨膜糖蛋白,其膜内具有酪氨酸蛋白激酶活性(TPK)。Luck^[1]等对小鼠 UC 模型用 EGF 体内注射方法治疗,结果发现结肠溃疡与炎症明显减轻。Procaccino^[2]等也发现 EGF 在 UC 中的保护作用:小鼠 UC 模型上分别预先 1h 于腹腔内注入 EGF 并随后治疗 1 周和于溃疡形成后给予 EGF 治疗 1 周,结果发现前一种方法于治疗 8h 和 48h 显微镜下的组织坏死较对照组减少 74% 和 54%,在 1 周时其显微镜下的溃疡和肌层髓过氧化物酶减少。而后一种方法治疗时,其组织破坏和髓过氧化物酶活性与对照组无明显差别。说明体内注射 EGF 可通过其粘膜的保护作用机制减轻 UC 粘膜的损伤和炎症。

本实验研究结果表明,在 UC 时,大鼠血清 EGF 含量与正常组比较无显著性改变;溃结饮能显著提高 UC 大鼠血清 EGF 含量,且其作用优于柳氮磺吡啶。