

· 经典名方 ·

参苓白术散对溃疡性结肠炎小鼠 NLPR3, NLPR6 蛋白及相关炎症因子表达的影响

张嘉骏¹, 施家希², 黄娟¹, 施旭光^{1*}, 刘翠英³, 王奇⁴

(1. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006;

2. 广州中医药大学 第一临床医学院, 广州 510006;

3. 佛山市中医院, 广东 佛山 528000; 4. 广州中医药大学 临床药理研究所, 广州 510405)

[摘要] 目的:探讨参苓白术散对 3% 葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)小鼠的治疗作用及相关的作用机制。方法:60 只雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠随机分为正常组,模型组,柳氮磺吡啶组(0.52 g·kg⁻¹),参苓白术散高、中、低(31.2,15.6,7.8 g·kg⁻¹)剂量组。除正常组外小鼠饮用 3% 葡聚糖硫酸钠蒸馏水 1 周造成 UC 模型。造模结束后每日给药 1 次,正常组和模型组按 20 mL·kg⁻¹给予 0.9% 生理盐水,共 14 d。每日观察小鼠体质量、粪便性状及隐血情况并计成疾病活动指数(DAI)评分。给药结束后取血收集血清,取小鼠结肠称质量测量长度并制作病理切片。酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清白细胞介素-18(IL-18),IL-1 β 含量;苏木素-伊红(HE)及阿利新蓝-过碘酸雪夫氏(AB/PAS)染色观察结肠病理情况;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3(NLPR3),NLPR6 蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组小鼠 DAI 评分显著升高($P < 0.01$),结肠质量增加、长度变短($P < 0.01$);结肠黏膜病理受损严重;血清中 IL-1 β 含量明显增高($P < 0.05$);NLPR3 蛋白表达升高,NLPR6 表达降低($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较,SASP 组与高剂量组 DAI 评分降低($P < 0.05$),结肠质量、长度、病理情况均改善;血清中 IL-1 β 含量降低($P < 0.05$);NLPR3 蛋白表达降低($P < 0.01$),NLPR6 蛋白表达上调($P < 0.05, P < 0.01$)。结论:参苓白术散有治疗 DSS 诱导 UC 小鼠的作用,其作用机制可能与其调节 NLPR3, NLPR6 蛋白及相关炎症因子,从而减轻肠道炎症反应,缓解肠黏膜损伤有关。

[关键词] 溃疡性结肠炎;参苓白术散;炎症;结肠核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3(NLPR3);NLPR6;白细胞介素-18(IL-18);IL-1 β

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)04-0036-06

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.20190401

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181101.1708.019.html>

[网络出版时间] 2018-11-06 09:51

Effect of Shenling Baizhu San on Expressions of NLPR3, NLPR6 Protein and Related Inflammatory Factors in Mice with Ulcerative Colitis

ZHANG Jia-jun¹, SHI Jia-xi², HUANG Juan¹, SHI Xu-guang^{1*}, LIU Cui-ying³, WANG Qi⁴

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. First College of Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine,

Guangzhou 510006, China; 3. Foshan Chinese Hospital, Foshan 528000, China;

4. Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect and related mechanism of Shenling Baizhu San on 3% dextran sulfate sodium (DSS) -induced ulcerative colitis (UC) mice. **Method:** Sixty male SPF

[收稿日期] 20180716(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673870);佛山市医学类科技攻关项目(2015AB0033)

[第一作者] 张嘉骏,在读硕士,从事调理脾胃方药的临床和实验研究,E-mail:zjhero@qq.com

[通信作者] *施旭光,教授,从事调理脾胃方药的临床和实验研究,E-mail:sxg6902@126.com

C57BL/6 mice were randomly divided into control group, salazosulfapyridine (SASP, $0.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and low, medium and high-dose (31.2 , 15.6 , $7.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Shenling Baizhu San groups. Except for the control group, mice in the other groups were given distilled water containing 3% dextran sulfate sodium salt for a week to establish UC models. The drug was administered once a day for 14 days. The normal group and the model group were administered with 0.9% physiological saline at $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. The mice's body weight, fecal traits, and occult blood were observed daily, and the disease activity index (DAI) was scored. After the end of the administration, the blood was collected, mice colons were collected, weighed and measured for length, and pathological sections were prepared. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit was used to detect the serum levels of interleukin-18 (IL-18) and IL-1 β in mice; htoxylin eosin (HE) and alixin blue/schiff periodic acid shiff (AB/PAS) staining were used to observe the pathological changes of colon tissues; Western blot was used to detect the colon tissue of mice nucleotide binding oligomerization domain-like receptor 3 (NLPR3), NLPR6 protein expression levels. **Result:** Compared with the normal group, the DAI score of the model group was increased ($P < 0.01$), the colon weight was increased, and the length was shortened ($P < 0.01$); the pathological damage of the colonic mucosa was severe; the serum IL-1 β content increased ($P < 0.05$); NLRP3 protein expression increased, while NLRP6 expression decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the DAI scores of the SASP group and the high-dose group were decreased ($P < 0.05$), the colon weight, length, and pathological conditions were improved; the serum IL-1 β concentration was decreased ($P < 0.05$); NLRP3 protein expression decreased ($P < 0.01$), and NLRP6 expression was up-regulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Shenling Baizhu San has the effect in treating DSS-induced UC mice, which may be related to the regulation of NLRP3, NLRP6 protein and related inflammatory factors, so as to reduce intestinal inflammation and alleviate intestinal mucosal damage.

[**Key words**] ulcerative colitis; Shenling Baizhu San; inflammation; nucleotide binding oligomerization domain-like receptor 3 (NLPR3); NLPR6; interleukin-18 (IL-18); IL-1 β

溃疡性结肠炎(UC)是一种以腹痛腹泻伴黏液脓血便、以及其他非特异性全身症状为临床特征的疾病。病变以结直肠多见,严重者可累及其他肠段^[1]。UC的发病机制是多因素的,一般认为与遗传易感性、免疫应答失调及上皮屏障缺陷等有关^[2]。复杂的黏膜屏障是保护健康肠道的第一道防线。结肠的慢性炎症是UC的主要临床表现。当肠道存在慢性炎症时,肠黏膜屏障功能障碍,大量炎症因子活化,肠黏膜通透性增大,杯状细胞功能受损,黏液层变薄,抑菌作用减弱^[3-4]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体(NLRs)家族是一类庞大的主要参与机体固有免疫的炎症蛋白家族,在炎症相关疾病中起着关键作用。肠道NLRP6蛋白能通过调控白细胞介素-18(IL-18)的平衡调控炎症反应和黏蛋白的分泌^[5-6];NLRP3蛋白有促炎反应作用,被激活会导致IL-1 β ,IL-18等细胞因子的释放,促进炎症的发生发展^[7-8]。

参苓白术散出自于《太平惠民和剂局方》,主治脾虚湿盛所致的腹痛、泄泻、乏力等。临床上炎症性肠病辨证属脾虚湿盛者,常用参苓白术散与奥沙拉秦、美沙拉秦合用,疗效显著^[9]。参苓白术散在UC

小鼠中有抗炎、抗氧化、促进黏膜修复和调节肠道菌群紊乱等作用^[10-11]。本实验通过建立UC小鼠模型,以NLPR3,NLPR6蛋白和相关炎症因子为切入点,探讨参苓白术散治疗UC的效应机制是否与抑制肠道炎症反应有关,为临床应用健脾方药治疗UC提供科学依据。

1 材料

1.1 动物及饲料 雄性C57BL/6小鼠,SPF级,60只,体质量18~22g,购于广州中医药大学实验动物中心,许可证号SYXK(粤)2013-0034。饲养于广州中医药大学第一附属医院动物房,伦理委员会编号TCMF1-2017012。

1.2 药物 参苓白术散由红参15g,山药15g,茯苓15g,白术15g,莲子肉9g,桔梗9g,炙甘草9g,大枣9g,缩砂仁6g组成。购于广州中医药大学第一附属医院中药房,经广州中医药大学中药学院黄海波教授鉴定符合2015年版《中国药典》标准,可用于实验研究。柳氮磺吡啶肠溶片(山西同达药业有限公司,批号160104,国药准字H14022874)。

1.3 试剂 葡聚糖硫酸钠(DSS,美国Sigma-Aldrich公司,批号D4911);阿利新蓝-过碘酸雪夫氏

(AB/PAS)染色试剂盒,苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京 Solarbio 生物科技有限公司,批号均为 20170920);膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号 501105);蛋白 Marker,ECL 发光液(美国 Thermo Fisher 公司,批号分别为 00619965,SF249876);山羊抗兔 NLRP3 抗体(美国 Abcam 公司,批号 ab214185);山羊抗兔 NLRP6 抗体(美国 Abgent 生物科技有限公司,批号 SA160420DC);山羊抗兔 β -肌动蛋白(β -actin)抗体,山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(美国 Cell Singalling Technology 公司,批号分别为 8H10D10,26);小鼠 IL-1 β ,IL-18 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉华美生物科技有限公司,批号分别为 K25018121,H11017557)。

1.4 仪器 DMi8 + DFC7000T 型光学显微镜(德国 Leica 公司);CS-15R 型冷冻离心机(美国 Beckman 公司);Mini Protean 3 Cell 型电泳仪,Trans-Blot Turbo 型转膜仪,1653312 型玻璃均浆器,680 型多功能酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 60 只小鼠随机分为正常组、模型组、柳氮磺吡啶组、参苓白术散低、中、高剂量组,每组 10 只。除正常组外小鼠饮用 3% DSS 溶液 1 周造成 UC 模型^[12-13]。按体表面积法计算给药剂量,参苓白术散高、中、低剂量组分别按 31.2,15.6,7.8 g·kg⁻¹剂量给予中药浓煎液,正常组和模型组小鼠按 20 mL·kg⁻¹给予 0.9% 生理盐水;阳性药组按 0.52 g·kg⁻¹给予柳氮磺吡啶片剂水溶液;灌胃每日 1 次,共 14 d。动物饲养期间自由饮食及饮水。

2.2 标本采集 小鼠麻醉后摘眼球取血,采血后处死动物取整段结肠测量长度并称质量。在结肠病变处截取 1 cm 投入 4% 多聚甲醛溶液固定,剩余结肠组织冻存管分装,-80 °C 冰箱保存。

2.3 指标检测

2.3.1 观察小鼠一般情况及体质量变化 每日观察小鼠体质量变化、活动情况及粪便形状和隐血。并根据以下评分量表进行疾病活动指数(DAI)评分。DAI 评分标准见表 1。

2.3.2 结肠长度、质量测定 取材时准确测量结肠自然长度及质量。

2.3.3 结肠组织病理学观察 结肠组织多聚甲醛固定后乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,包埋后中性树脂封片。常规 HE 及 AB/PAS 染色。HE 染色用于观察小鼠结肠形态和病理损伤;AB/PAS

表 1 DAI 评分量表

Table 1 Rating scale of DAI

计分/分	体质量降低/%	大便性状	大便出血
0	0	正常	正常
1	1~5	松散	隐血阳性(+)
2	5~10	松散	隐血阳性(++)
3	10~15	稀便	肉眼血便(+++)
4	≥15	水样稀便	严重血便(+++)

注:三项计分累加为最终评分结果。

染色用于观察结肠黏膜中杯状细胞形态和数量。

2.3.4 ELISA 检测 IL-18,IL-1 β 含量 取血后室温静置 1 h,再于离心机上 4 °C 条件下 3 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液。根据 ELISA 试剂盒说明书检测血清 IL-1 β ,IL-18 水平。

2.3.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织 NLRP3,NLRP6 蛋白表达水平 取组织样本 100 mg,剪碎后加裂解液匀浆至充分裂解;BCA 法进行蛋白定量算出上样量;上样后即开始电泳(浓缩胶电压为 80 V,跑至分离胶时调为 120 V,条带跑至底部时即停止);随后开始电转(300 mA,按 1 kDa/1 min 确定转膜时间);电转结束后,PVDF 膜置于 5% BSA 溶液,摇床上室温封闭 90 min;TBST 洗膜后置于一抗稀释液(1:4 000)4 °C 摇床孵育过夜。次日,TBST 洗 3 次置于二抗稀释液(1:4 000)4 °C 摇床孵育 1 h;TBST 再洗 3 次,最后显影。显影结果用 Quantity One 软件进行灰度值分析。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理,所有数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。若数据满足正态性和方差齐性,各组间比较采用单因素方差分析。各组间的两两比较采用 LSD 检验方法,方差不齐则采用 Dunnett's T3 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 UC 小鼠一般情况及 DAI 评分的影响 造模前各组小鼠体质量基本相当,活动灵敏,大便正常,隐血试验阴性或弱阳性。造模开始后,造模组小鼠精神萎靡、体质量逐渐减轻,大便隐血或便血,并随着造模时间增加逐渐加重。给药后,各组小鼠饮食饮水逐渐恢复正常,体质量逐渐增长,大部分小鼠大便逐渐恢复成颗粒便,无肉眼便血,少数大便隐血。与模型组比较,柳氮磺吡啶组和参苓白术散高剂量组的 DAI 评分下降较明显($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 参苓白术散对 UC 小鼠 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Shenlin Baizhu San (SLBZS) on DAI score in UC mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	DAI/分
正常	10	-	0.20 ± 0.63
模型	7	-	2.86 ± 1.95 ¹⁾
柳氮磺吡啶	7	0.52	1.14 ± 1.57 ²⁾
参苓白术散	8	7.8	2.00 ± 1.51
	7	15.6	2.14 ± 1.86
	8	31.2	1.25 ± 1.06 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾P < 0.01;与模型组比较²⁾P < 0.05。

3.2 对 UC 小鼠结肠长度和质量的影响 与正常组比较,模型组小鼠的单位结肠长度整体上显著缩短(P < 0.01),单位结肠质量显著增高(P < 0.01)。与模型组比较,各给药组小鼠单位结肠长度和质量有改善趋势,但无统计学意义。见表 3。

表 3 参苓白术散对 UC 小鼠单位结肠长度和质量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of SLBZS on colon length and quality of UC mice ($\bar{x} \pm s$)

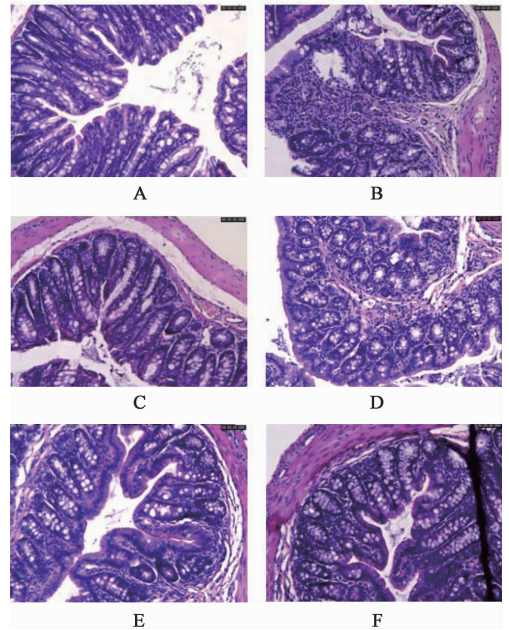
组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	结肠长度/cm·g ⁻¹	结肠质量/g·cm ⁻¹
正常	10	-	35.68 ± 4.12	0.028 ± 0.003
模型	7	-	27.21 ± 4.33 ¹⁾	0.038 ± 0.007 ¹⁾
柳氮磺吡啶	7	0.52	30.21 ± 5.17	0.034 ± 0.003
参苓白术散	8	7.8	29.05 ± 6.05	0.036 ± 0.007
	7	15.6	29.55 ± 5.12	0.035 ± 0.006
	8	31.2	30.86 ± 5.56	0.033 ± 0.006

注:与正常组比较¹⁾P < 0.01。

3.3 对 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响 HE 染色显示,正常组小鼠的结肠壁各层结构完整,黏膜微绒毛排列整齐,上皮细胞排列规则,隐窝结构正常。模型组小鼠结肠的黏膜层大量受损脱落,细胞排列紊乱,部分隐窝消失,腺体分布不规则,固有层和黏膜下层稀疏,大量嗜酸性粒细胞浸润。柳氮磺吡啶组小鼠结肠壁各层结构基本整齐,上皮细胞排列稍紊乱但无脱落,小部分隐窝扩张,黏膜下层炎细胞浸润减少。参苓白术散中、高剂量组黏膜层完整,小部分隐窝扩张,有中性粒细胞浸润,较之模型组明显改善。见图 1。

AB/PAS 染色显示,正常组小鼠结肠黏膜的杯状细胞密集分布于隐窝两侧,形态饱满有规则。而模型组小鼠结肠黏膜杯状细胞团块状分布,数量

明显减少。柳氮磺吡啶组的小鼠结肠杯状细胞分布趋于正常,形态稍有不规则,数量明显增加。参苓白术散低、中剂量组的杯状细胞散在分布于边缘,数量较少,与模型组差异不太,而高剂量组的杯状细胞沿着腺体分布,比较密集,数量增多,较之模型组明显改善。见图 2。



A. 正常组;B. 模型组;C. 柳氮磺吡啶组;D. 参苓白术散低剂量组;E. 参苓白术散中剂量组;F. 参苓白术散高剂量组(图 2,3 同)

图 1 参苓白术散对 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响(HE, ×200)
Fig.1 Effect of SLBZS on pathological changes of colon tissue in mice with ulcerative colitis (HE, ×200)

3.4 对 UC 小鼠血清 IL-1β 和 IL-18 含量的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清中的 IL-1β 含量明显增高(P < 0.05)。与模型组比较,柳氮磺吡啶和参苓白术高剂量散均能降低血清中 IL-1β 含量(P < 0.05)。见表 4。而与模型组比较,各给药组小鼠结肠 IL-18 含量基本相近,未出现差异。见表 5。

表 4 参苓白术散对 UC 小鼠血清中 IL-1β 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of SLBZS on expression of IL-1β in serum of UC mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	IL-1β/ng·L ⁻¹
正常	8	-	45.59 ± 13.50
模型	7	-	63.78 ± 14.37 ¹⁾
柳氮磺吡啶	7	0.52	47.04 ± 12.67 ²⁾
参苓白术散	8	7.8	61.49 ± 15.72
	7	15.6	56.81 ± 18.81
	8	31.2	48.76 ± 10.05 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾P < 0.05;与模型组比较²⁾P < 0.05。

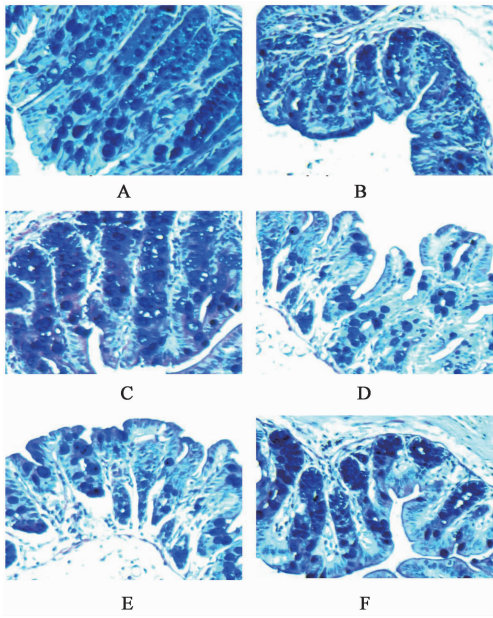


图 2 参苓白术散对 UC 小鼠结肠黏膜杯状细胞的影响(AB/PAS, ×400)

Fig. 2 Effect of SLBZS on colonic goblet cells in mice with ulcerative colitis (AB/PAS, ×400)

表 5 参苓白术散对 UC 小鼠结肠组织 IL-18 的表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of SLBZS on expression of IL-18 in serum of UC mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/g·kg ⁻¹	IL-18/ng·L ⁻¹
正常	8	-	484.57 ± 143.82
模型	6	-	426.81 ± 131.45
柳氮磺吡啶	6	0.52	494.16 ± 207.47
参苓白术散	6	7.8	392.05 ± 132.57
	6	15.6	356.87 ± 161.26
	6	31.2	477.63 ± 130.92

3.5 对 UC 小鼠结肠组织 NLRP3, NLRP6 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织 NLRP3 蛋白表达升高而 NLRP6 蛋白表达降至极低 ($P < 0.01$)。与模型组比,柳氮磺吡啶组和高剂量参苓白术散组 NLRP3 蛋白表达明显减少 ($P < 0.05, P < 0.01$);而 NLRP6 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$);中、低剂量参苓白术散组 NLRP6 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$)。见图 3,表 6。

4 讨论

研究表明促炎与抗炎细胞因子失调与肠道炎症的发生进展情况密切相关^[14-15]。NLR 受体家族在促炎细胞因子的合成与分泌中发挥着重要作用。NLRP3 蛋白激活后能促进 NLRP3 炎症小体的组装,之后炎症小体促进大量有活性的 IL-1 β 和 IL-18 释

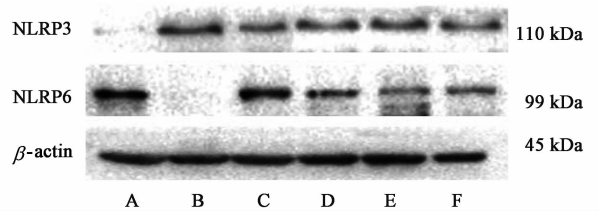


图 3 小鼠结肠组织 NLRP3, NLRP6 蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of NLRP3 and NLRP6 protein expression in mice

表 6 参苓白术散对 UC 小鼠 NLRP3, NLRP6 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 6 Effect of SLBZS on NLRP3 and NLRP6 protein expression in colon tissue of UC mice($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NLRP3/ β -actin	NLRP6/ β -actin
正常	-	0.68 ± 0.08	0.81 ± 0.15
模型	-	1.08 ± 0.02 ¹⁾	0.32 ± 0.07 ¹⁾
柳氮磺吡啶	0.52	0.62 ± 0.20 ³⁾	0.77 ± 0.21 ³⁾
参苓白术散	7.8	0.77 ± 0.14 ²⁾	0.65 ± 0.12 ²⁾
	15.6	0.74 ± 0.18 ²⁾	0.63 ± 0.14 ²⁾
	31.2	0.59 ± 0.20 ³⁾	0.68 ± 0.15 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

放,其中 IL-1 β 通过产热、激活淋巴细胞和促进急性蛋白的合成等作用引起全身性或局部性损伤,IL-18 导致其他次要促炎因子、趋化因子、黏附分子及一氧化氮的合成^[16-17]。同样作为 NLR 受体家族,NLRP6 高表达于肠上皮细胞,对维持肠道内外环境的稳态和健康的肠道微生物群发挥着重要的作用,当感受到病原体相关分子模式(PAMP)或损伤相关分子模式(DAMP)即可激活,在局部产生 IL-18;此外,还能调节杯状细胞内黏液囊泡的分泌,影响黏液层的厚度和黏附力^[5]。

实验研究发现参苓白术散对脾虚湿困型 UC 大鼠也有较明显的疗效^[18]。本实验中,DSS 所致的小鼠体质量降低、精神萎靡、腹泻便血、饮食锐减等症,符合脾虚证的表现,属于参苓白术散的主证范围。比较于模型组,各给药组小鼠体质量逐渐恢复,状态逐渐好转;结肠病理情况有不同程度的改善;结肠杯状细胞分布趋于正常,数量明显增加。其中参苓白术散高剂量组小鼠结肠组织 NLRP3 蛋白表达下降,而 NLRP6 蛋白表达较模型组明显上调,IL-1 β 的合成与释放减少,效果明显。说明参苓白术散高剂量能使肠道 NLRP3 蛋白表达下降而减少 NLRP3

炎症小体的形成,使得全身性或局部性的 IL-1 β 的合成及释放减少;同时上调 NLRP6 的表达,促进杯状细胞的生长,保证黏液层正常的分布及功能正常的发挥,也给其他屏障功能发挥提供基础。而各组小鼠结肠 IL-18 的含量相近,未出现差异,这可能与 NLRP6 的调节相关。

综上所述,参苓白术散能够促进 UC 小鼠恢复,改善其肠道病理损伤。其治疗作用可能是通过调节 NLRP3, NLRP6 蛋白及相关炎症因子的表达来缓解肠道炎症反应,恢复肠黏膜功能有关。为临床应用健脾方药治疗 UC 提供了一定的理论依据。

[参考文献]

[1] 梁洁,周林,沙素梅,等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州)溃疡性结肠炎诊断部分解读[J]. 胃肠病学, 2012, 17(12): 712-720.

[2] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2017, 389(10080): 1756-1770.

[3] Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, et al. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(5): 1165-1179.

[4] 齐雪阳,张勤生,张春燕. 芍药汤加减保留灌肠联合美沙拉嗪肠溶片治疗大肠湿热证溃疡性结肠炎[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(19): 149-153.

[5] Eran E, Till S, Andrew L K, et al. NLRP6 inflammasome is a regulator of colonic microbial ecology and risk for colitis[J]. Cell, 2011, 145(5): 745-757.

[6] Wlodarska M, Thaiss C A, Nowarski R, et al. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion[J]. Cell, 2014, 156(5): 1045-1059.

[7] Dupaul-Chicoine J, Yeretsian G, Doiron K, et al. Control of intestinal homeostasis, colitis, and colitis-associated colorectal cancer by the inflammatory caspases[J]. Immunity, 2010, 32(3): 367-378.

[8] Zaki M H, Boyd K L, Vogel P, et al. The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity

and mortality during experimental colitis[J]. Immunity, 2010, 32(3): 379-391.

[9] 文艺,翁湘涛,胡月,等. 参苓白术散方联合西药治疗溃疡性结肠炎的系统评价和 Meta 分析[J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(2): 274-281.

[10] 董开忠,高永盛,秦宁恩加,等. 参苓白术散对抗生素引起肠道菌群失调小鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1): 154-157.

[11] 刘玉晖,胡婕,易文凤,等. 参苓白术散治疗炎症性肠病与肠上皮细胞紧密连接的关系探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 130-133.

[12] 刘蕾蕾,施丽婕. 葡聚糖硫酸钠致溃疡性结肠炎动物模型研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2015, 31(1): 207-209.

[13] Lombardi Valter R M, Etcheverría I, Carrera I, et al. Prevention of chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) in mice treated with FR91 [J]. J Biomed Biotechnol, 2010, 114(3): 385-391.

[14] HE J, LIANG J, ZHU S, et al. Protective effect of taurohyodeoxycholic acid from Pulvis Fellis Suis on trinitrobenzene sulfonic acid induced ulcerative colitis in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 670(1): 229-235.

[15] 桑婷婷,郭铨洁,郭丹丹,等. 中医药通过调节肠道菌群抑制肥胖和炎症相关疾病的进展研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(16): 3235-3242.

[16] SHEN H H, YANG Y X, MENG X, et al. NLRP3: a promising therapeutic target for autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2018, 17(7): 694-702.

[17] Perera A P, Kunde D, Eri R. NLRP3 inhibitors as potential therapeutic agents for treatment of inflammatory bowel disease [J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(16): 2321-2327.

[18] 丁凌辉,贾育新,成映霞,等. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠 IL-13, IL-23 及 COX-2, CREB 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(11): 67-72.

[责任编辑 周冰冰]