

DOI:10.16305/j.1007-1334.2016.11.025

复方蜥蜴散不同微粒组合剂干预大鼠溃疡性结肠炎模型 TLRs/MyD88 信号通路及下游炎症因子的实验研究

安婷婷¹, 朱西杰², 张 蕾³, 乔伊娜³

宁夏医科大学中医学院(宁夏 银川 750004)

【摘要】 目的 探讨复方蜥蜴散不同微粒组合剂干预大鼠溃疡性结肠炎(UC)模型 TLRs/MyD88 信号通路中肠组织髓样分化因子 88(MyD88)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 蛋白表达、下游炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量及其对 UC 的作用机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 84 只,随机分为 6 组,即正常对照组、模型组、柳氮磺吡啶片治疗组、蜥蜴散 80 目、100 目、80 + 100 目等量混合治疗组,分别编号 A ~ F 组。A 组予 0.9% NaCl 溶液灌肠处理,B ~ F 组均采用三硝基苯磺酸(TNBS)灌肠诱导制备 UC 模型。造模成功后,治疗组(C ~ F 组)分别给予对应药物灌胃治疗,A 组及 B 组给予 0.9% NaCl 溶液灌胃治疗,连续 14 d,频次相同。14 d 后麻醉全部大鼠,行腹主动脉取血,离心低温保存,取血后取结肠组织病变处包埋。采用 HE 染色观察大鼠结肠黏膜病理改变,采用免疫组化法检测 MyD88、TRAF6 蛋白的原位表达,采用酶联免疫吸附试验(ELISA 试验)检测血清 TNF- α 水平。**结果** 与正常对照组比较,其他组 MyD88、TRAF6 蛋白表达量及 TNF- α 水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);各治疗组与模型组比较,各项指标水平均下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);复方蜥蜴散各治疗组与柳氮磺吡啶片治疗组比较,复方蜥蜴散 80 + 100 目组治疗效果最佳,差异有统计学意义($P < 0.05$),蜥蜴散 80 目、100 目组与柳氮磺吡啶片治疗组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);复方蜥蜴散各治疗组间比较,80 + 100 目等量混合组各项指标水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 复方蜥蜴散不同微粒组合剂能抑制 TLRs/MyD88 信号通路下游信号传递分子 MyD88、TRAF6 蛋白表达及降低下游炎症因子 TNF- α 水平,提示其治疗溃疡性结肠炎的主要作用机制在于阻断溃疡性结肠炎的炎症反应,调节免疫,恢复肠道屏障,维持肠道稳态,促进肠黏膜修复。

【关键词】 复方蜥蜴散不同微粒组合剂;溃疡性结肠炎;TLRs/MyD88 信号通路;髓样分化因子 88;肿瘤坏死因子受体相关因子 6;肿瘤坏死因子- α

Experimental study on the effect of combined reagent of different particles of Compound Lizards Powder on TLRs/MyD88 signaling pathways and downstream inflammatory factors in rat model of ulcerative colitis

AN Ting-ting¹, ZHU Xi-jie², ZHANG Qiang³, QIAO Yi-na³

College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan, 750004

Abstract: Objective To investigate the effect of combined reagent of different particles of Compound Lizards Powder on the protein expression of myeloid differentiation factor 88 (MyD88) and tumor necrosis factor receptor-associated factor-6 (TRAF6) that in TLRs/MyD88 signaling pathway and the content of downstream inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rat model of ulcerative colitis (UC), and discuss its mechanisms on UC. **Methods** 84 male SD rats were randomly divided into six groups as the normal control group, model group, sulfasalazine tablets (SASP) treatment group, treatment groups of Compound Lizards Powder filtrated through 80 mesh, 100 mesh, 80 + 100 mesh equivalent mix respectively, 14 rats in each group. The control group was received the enema treatment with 0.9% NaCl solution, and the other groups were received the enema treatment with three nitrobenzene sulfonic acid (TNBS) to establish the UC model. After successful modeling, the control and model group were administered intragastrically with 0.9% NaCl solution and the other groups were administered intragastrically with the corresponding drugs, with a course of 14 days. After treatment for 14 days, all rats were anesthetized and the blood were collected from abdominal aorta and preserved at low temperature after centrifugation. The lesion of colon tissue were obtained and embedded. The pathological changes of colonic mucosa were observed by HE staining. The situ protein expressions of MyD88 and TRAF6 in colon tissues were determined by immunohistochemistry.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81160482)

[作者简介] 安婷婷,女,硕士生,主要从事中医药治疗消化系统疾病的临床及实验研究工作

[通讯作者] 朱西杰,主任医师,教授,硕士生导师。E-mail:zhuxijie2010@163.com

The level of serum TNF- α was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the normal control group, the protein expression of MyD88 and TRAF6 and the level of TNF- α in the other groups were increased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of all indicators in each treatment group were decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Comparison of SASP treatment group and treatment groups of Compound Lizards Powder, the treatment effects of the Compound Lizards Powder filtrated through 80 + 100 mesh equivalent mix were best, with statistically significant differences ($P < 0.05$). There were no statistically significant differences on the effects between the SASP treatment group and treatment group of Compound Lizards Powder filtrated through 80 mesh or 100 mesh ($P > 0.05$). Comparison of treatment groups of Compound Lizards Powder, the levels of all indicators were obviously decreased in the treatment group of Compound Lizards Powder filtrated through 80 + 100 mesh equivalent mix, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined reagent of different particles of Compound Lizards Powder could inhibit the protein expression of MyD88 and TRAF6 that in TLRs/MyD88 signaling pathway and decrease the level of downstream inflammatory TNF- α , which suggested that its main mechanism in the treatment of ulcerative colitis were blocking the inflammatory reaction, regulating immunity, restoring intestinal barrier, maintaining intestinal homeostasis and promoting intestinal mucosal repair.

Keywords: combined reagent of different particles of Compound Lizards Powder; ulcerative colitis; TLRs/MyD88 signaling pathways; myeloid differentiation factor 88; tumor necrosis factor receptor-associated factor-6; tumor necrosis factor- α

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种在多环节、多因素协同作用下的以直、结肠黏膜浅表性、非特异性炎症病变为主,伴有肠外多器官损害的疾病^[1-2],与克罗恩病 (Crohn) 并称为炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD)。由于本病病程迁延,病变范围广,易受饮食、感染、精神心理、药物等因素影响而反复发作,且肠道及与自身免疫相关的并发症发生率、死亡率、癌变率高^[3],被 WHO 列为现代难治病之一。现代医学认为,免疫紊乱是 UC 最基本的发病机制,治疗常着眼于控制活动性炎症和调节免疫紊乱,但疗效不理想。近年来,“Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs)”天然免疫成为研究感染和炎症反应的切入点^[4],通过抑制 TLRs/MyD88 信号通路的关键环节、关键分子阻断 UC 过激的免疫反应,有望从亚临床甚至亚病理阶段早期达到早期干预 UC 的目的。随着对 UC 细胞和分子发病机制的深入研究,髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor, MyD88)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor-6, TRAF6) 在肠道炎症 TLRs/MyD88 信号通路中的枢纽作用及维持肠道稳态机制逐渐被阐明^[5-8]。因此,调控此信号通路的关键转接分子进而阻断 UC 过激的炎症反应已成为治疗的重点。

本实验采用复方蜥蜴散不同微粒组合剂治疗 TNBS 诱导的大鼠溃疡性结肠炎模型,取 UC 模型大鼠结肠组织病变处,运用免疫组织化学法检测 TLRs/MyD88 信号通路中的下游信号传递因子 MyD88、TRAF6 蛋白的表达及运用酶联免疫吸附试验 (ELISA 法) 检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平,旨在进一步阐述该散剂控制炎症、调节免疫、恢复肠道屏障、维持肠道稳态、修复肠黏膜的分子生物学机制,从而达到早期防治 UC 癌变的目的。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 84 只,6~7 周龄,体质量 (220 $\pm$ 20) g,由宁夏医科大学实验动物中心提供。动物合格证号:SCXK(宁)2015-0001。

1.1.2 药物与试剂 复方蜥蜴散不同微粒组合剂 (由宁夏密点麻蜥、白及、地榆炭、炒藕节、仙鹤草、珍珠、半枝莲、三七、鹿角霜、黄芪、延胡索等组成,由宁夏医科大学中医消化病研究所提供),过 80 目、100 目筛网,蒸熟晾干,用三蒸水配制成浓度为 0.15 g/ml 的混悬液,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) (5%, 10 ml, 批号: X4947),成都西亚化工股份有限公司;柳氮磺吡啶肠溶片 (批号:09150308),上海信谊天平药业有限公司;兔抗大鼠多克隆抗体 MyD88 (货号:PB01518),武汉博士德生物技术公司;兔抗大鼠多克隆抗体 TRAF6 (货号:bs-1184R),北京博奥森生物技术有限公司;EDTA 抗原修复液 (pH 8.0)、PBS 缓冲液、超敏二步法免疫组化检测试剂、ZLI-9018 浓缩型 DAB 显色试剂盒,均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;大鼠 TNF- α 酶联免疫分析试剂盒,银川美信生物科技有限公司代购。

1.1.3 仪器 石蜡切片机 (LEICA RM2245),德国徕卡仪器有限公司;漂烘片机 (LEICA HI1220),德国徕卡仪器有限公司;脱蜡复染机 (LEICA ST5020),德国徕卡仪器有限公司;粘片机 (LEICA5030),德国徕卡仪器有限公司;微量移液器,德国艾本德股份公司;图像采集系统显微镜 (LEICA DM2000LED),德国徕卡仪器有限公司;水浴恒温箱 (HS-2),太仓市华利达实验设备有限公司;酶标仪 (BS-1101),南京德铁实验设备有限公司。

1.2 造模、分组及干预 84 只 SD 大鼠随机分为 6 组,即正常对照组、模型组、柳氮磺吡啶片治疗组、复方蜥蜴散 80 目、100 目、80 + 100 目等量混合治疗组,编号依次为 A~F 组,每组 14 只。除正常对照组灌肠药物用 0.85 ml 0.9% NaCl 溶液代替外,其他组均按照张涛等文献方法^[9],采用 TNBS (100 $\mu\text{g/g}$) 与 50% 乙

醇 0.25 ml 混合液灌肠法制备溃疡性结肠炎模型。造模 3 d 后, 各组随机抽取 1 只大鼠, 杀检, 结合相关文献^[10-12]报道 UC 模型制备成功标准, 证明模型符合溃疡性结肠炎的病理诊断。

造模成功后, A 组和 B 组大鼠每天给予 0.9% NaCl 溶液(10 μ l/g)灌胃, 连续 14 d, 1 次/d。C 组每天给予柳氮磺吡啶片悬浊液(浓度按 0.3 g/kg), 连续给药 14 d, 1 次/d。复方蜥蜴散各组分别给予相对对应药物治疗, 每只按浓度为 0.15 g/ml, 日剂量 10 μ l/g(相当于成人 1 d 用量)灌胃, 均连续用药 14 d, 所有大鼠第 15 d 处死。

1.3 观察指标及方法

1.3.1 一般情况 观察各组大鼠的精神活动状态、食欲、体质量、毛色、粪便性状、肛周皮毛有无被污染及存活情况。

1.3.2 HE 染色观测病理组织学情况 用剪刀迅速剪开肠系膜, 分离肛门以上 2 cm 至盲肠之间的全部结肠, 沿纵轴剖开肠管, 用 4 $^{\circ}$ C 冰箱预冷的 0.9% NaCl 溶液冲去肠管内残留物, 冲洗黏膜表面, 选取肠黏膜病变区, 分别取 3 条 10 mm $\times$ 5 mm 横切条状组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 梯度脱水, 石蜡包埋备用, 常规 HE 染色做病理组织学检验。

1.3.3 免疫组化法检测 MyD88、TRAF6 蛋白原位表达

邻近切片做免疫组化染色, PBS 代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照, MyD88、TRAF6 阳性判断以镜下细胞膜和(或)细胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性染色, 结果由两名病理医师判定。依据阳性细胞占比进行结果判定^[13]: 弱阳性, 阳性细胞 $\leq$ 25%; 中阳性, 阳性细胞 25% ~ 50%; 强阳性, 阳性细胞 $>$ 50%。采用图像采集系统显微镜随机选取 5 个视野拍照, 并用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定阳性区域图像的平均光密度值(OD 值)。MyD88 抗体稀释浓度为 1:500, TRAF6 抗体稀释浓度为 1:100。

1.3.4 ELISA 法检测血清 TNF- α 水平 实验第 14 d 灌胃治疗后, 全部大鼠禁食不禁水 24 h, 第 15 d 将大鼠固定在鼠解剖台上, 予 10% 水合氯醛溶液(0.3 ml/100 g 体质量腹腔注射)麻醉。麻醉生效后行腹主动脉取血, 取完后注入离心管中, 经 3 000 r/min, 低温离心 10 min, 取上清液于 EP 管放 -80 $^{\circ}$ C 超低温冰箱保存。运用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)检测 TNF- α 水平, 按照大鼠 TNF- α 酶联免疫分析试剂盒说明书严格进行实验。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件对所得数据进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多个样本均数间比较采用单因素方差分析, 多个样本均数间的多

重比较用 *LSD-t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 造模成功率为 97%。治疗过程中 B~E 组各死亡 2 只, F 组死亡 1 只。A 组大鼠精神状态良好, 反应灵敏, 两眼有神, 进食进水量良好, 被毛紧密色白有光泽, 粪便呈颗粒状; B 组大鼠多数精神萎靡, 形态消瘦, 被毛稀松毛色泛黄无光, 活动少而迟钝, 喜蜷缩, 进食进水量减少, 腹部稍膨隆, 稀便伴黏液脓血, 量多, 肛周污染严重; C 组大鼠精神好转, 形态消瘦, 进食进水量少, 毛色轻微泛黄无光泽, 粪便接近成形且排便量较 F 组稍多, 有轻微肛周污染; D 组及 E 组大鼠精神状态、毛色、进食进水量、排便量等较 B 组均有不同程度好转, D 组大鼠粪便接近成形, E 组大鼠粪便稀溏但无黏液脓血; F 组大鼠精神状态良好, 无蜷缩扎堆现象, 进食进水量增加, 被毛色白欠光泽, 体质量稍增加, 粪便呈颗粒状。

2.2 病理组织学情况 肉眼见: A 组大鼠结肠形态规则, 肠绒毛排列整齐而密集, 肠壁无皱缩、充血、水肿; B~F 组大鼠结肠均有不同程度的迂曲缩短, 肠腔狭窄, 结肠袋消失, 肠黏膜弥漫性充血水肿, 表面呈细颗粒状, 脆性增加等表现, 其中 F 组大鼠结肠形态与正常对照组接近, 肠黏膜充血水肿改善明显, 溃疡面愈合良好。

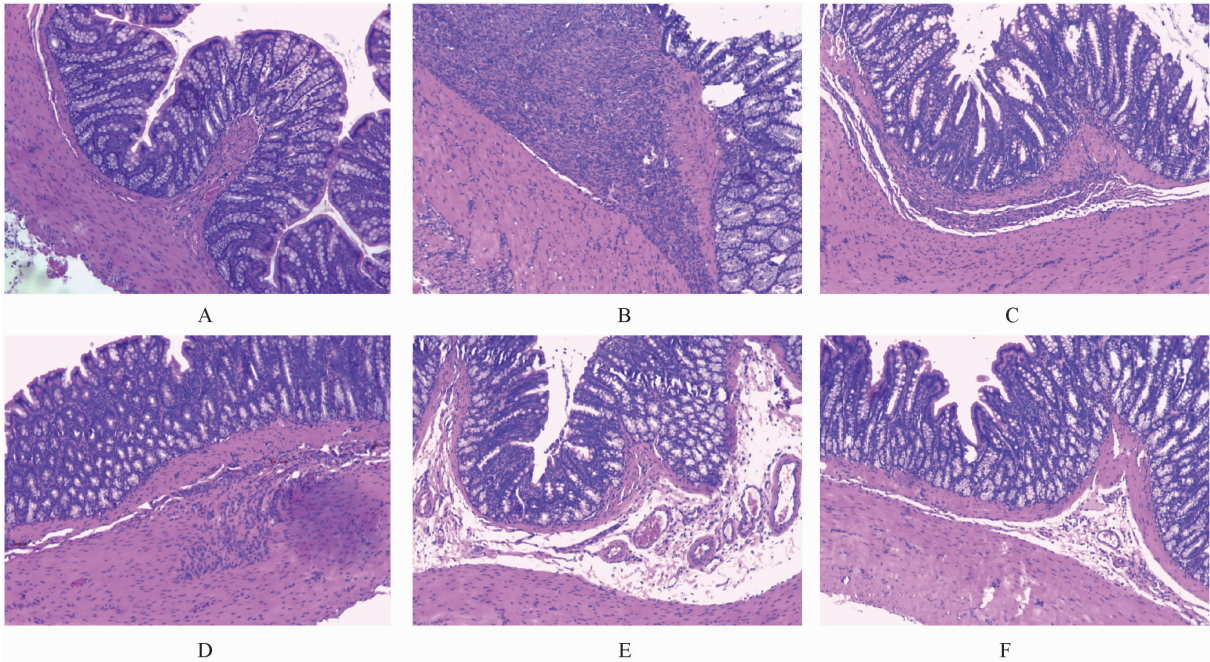
显微镜下可见: A 组大鼠结肠黏膜结构正常, 腺体排列紧密、整齐; B 组大鼠结肠结构紊乱, 黏膜层及黏膜下层见大量中性粒细胞、嗜酸性粒细胞等炎性细胞浸润, 隐窝结构消失, 腺体破坏, 杯状细胞减少; 各治疗组与 B 组相比, 病理结果均有不同程度的改善, 表现为轻中度慢性炎症, C 组大鼠结肠黏膜下层见少量嗜酸性粒细胞, 腺体排列整齐, D 组大鼠结肠黏膜层见少量炎性细胞浸润, 黏膜下层见散在炎性细胞浸润, E 组黏膜层及黏膜下层见散在炎性细胞, 黏膜下层还见肉芽组织增生, F 组仅在黏膜层见散在炎性细胞, 腺体排列较整齐。见图 1。

2.3 对 MyD88、TRAF6 表达的影响 免疫组化结果镜下观察均为细胞核和(或)细胞浆染色, 显棕黄色, 各组均有表达。A 组可见少量表达, B 组可见大量表达, 其他各治疗组表达均有不同程度的降低, F 组表达量最低, 结肠黏膜层仅见少量散在炎性细胞染色。见图 2、3。

各组与 A 组比较, B、C、D、E、F 组 MyD88、TRAF6 阳性表达 OD 值明显增高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 各治疗组与 B 组比较, OD 值明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 蜥蜴散各治疗组与 C 组比较,

D 组及 E 组 MyD88、TRAF6 阳性表达 OD 值与 C 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),F 组 MyD88、TRAF6 阳性表达 OD 值低于 C 组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明复方蜥蜴散 80 +100 目对实验性 UC 的治疗效果更好,具有明显的抗炎作用;而蜥蜴散各治疗组间比较,F 组与 D 组、F 组与 E 组比较,差异均有统

计学意义($P<0.05$),D 组与 E 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明复方蜥蜴散 80 +100 目比单独应用 80 目与 100 目治疗 UC 的抗炎、调节免疫、维持肠道稳态的作用更好,而复方蜥蜴散不同颗粒单独应用于 UC 的治疗效果无明显差异。见表 1。



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为柳氮磺吡啶片治疗组;D 为复方蜥蜴散 80 目组;E 为复方蜥蜴散 100 目组;F 为复方蜥蜴散 80 +100 目组

图 1 各组大鼠结肠病理情况(HE 染色,×100)

表 1 各组大鼠结肠 MyD88、TRAF6 蛋白表达的平均光密度值(OD 值)比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MyD88	TRAF6
正常对照组(A)	13	0.178 6 ±0.013 9	0.256 9 ±0.026 7
模型组(B)	11	0.354 4 ±0.029 6 *	0.489 1 ±0.039 0 *
柳氮磺吡啶片治疗组(C)	11	0.260 8 ±0.011 2 *#	0.414 3 ±0.030 6 *#
复方蜥蜴散 80 目组(D)	11	0.259 5 ±0.012 1 *#□	0.409 4 ±0.021 4 *#□
复方蜥蜴散 100 目组(E)	11	0.264 6 ±0.015 4 *#□	0.415 7 ±0.016 2 *#□
复方蜥蜴散 80 +100 目组(F)	12	0.219 9 ±0.017 4 *#△	0.356 3 ±0.030 1 *#△

注:与 A 组比较,* $P<0.05$;与 B 组比较,# $P<0.05$;与 C 组比较,△ $P<0.05$;与 F 组比较,□ $P<0.05$

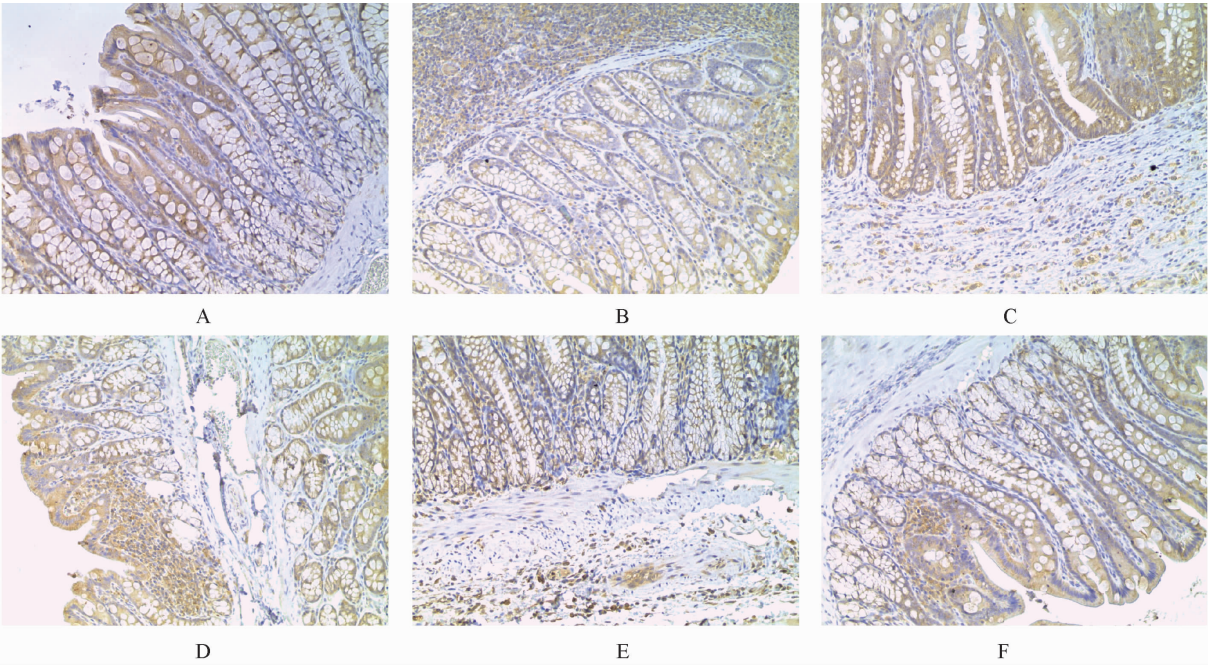
2.4 对 TNF-α 水平的影响 各组与 A 组比较,TNF-α 含量显著升高且有统计学意义($P<0.05$),说明 B ~ F 组大鼠均有炎症性损伤;各治疗组与 B 组比较,TNF-α 含量明显降低,有统计学意义($P<0.05$),说明各治疗组药物均有抑制促炎因子 TNF-α 分泌的作用;蜥蜴散各治疗组与 C 组比较,80 目、100 目组 TNF-α 含量与 C 组相比差异均无统计学意义($P>0.05$),说明二者抑制促炎因子 TNF-α 分泌的作用与 C 组相接近,80 +100 目组 TNF-α 水平低于柳氮磺吡啶片组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明复方蜥蜴散 80 +100 目抑制促炎因子 TNF-α 分泌的效果更好;复方蜥蜴散 80 +100 目组分别与 80 目组、100 目组比较,其 TNF-α 含量明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),说明复方蜥蜴散

80 +100 目抗炎的效果比单独使用复方蜥蜴散 80 目、100 目更好,但复方蜥蜴散 80 目与 100 目组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明两者对治疗 UC 的抗炎作用无明显差异。见表 2。

表 2 各组大鼠血清 TNF-α 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/L)

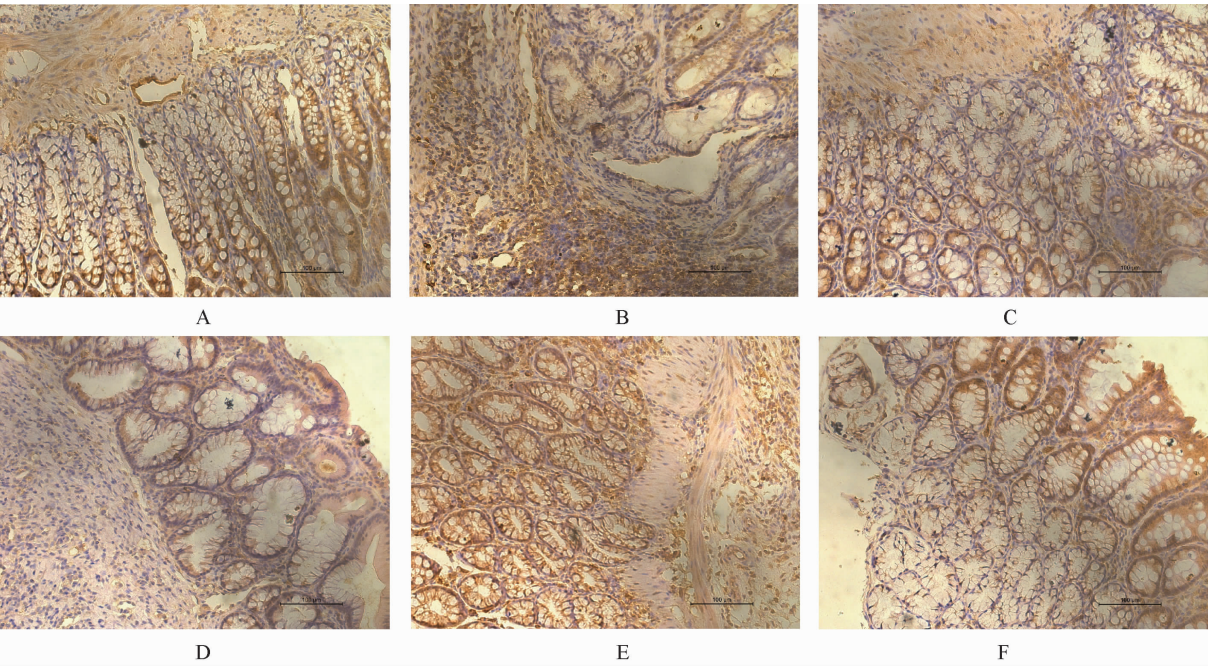
组别	n	TNF-α(ng/L)
正常对照组(A)	13	57.71 ±4.017
模型组(B)	11	127.56 ±4.801 *
柳氮磺吡啶片治疗组(C)	11	90.38 ±5.292 *#
复方蜥蜴散 80 目组(D)	11	87.41 ±5.263 *#□
复方蜥蜴散 100 目组(E)	11	88.84 ±2.003 *#□
复方蜥蜴散 80 +100 目组(F)	12	81.62 ±5.641 *#△

注:与 A 组比较,* $P<0.05$;与 B 组比较,# $P\leq 0.05$;与 C 组比较,△ $P<0.05$;与 F 组比较,□ $P<0.05$



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为柳氮磺吡啶片治疗组;D 为复方蛇蛻散 80 目组;E 为复方蛇蛻散 100 目;F 为复方蛇蛻散 80+100 目组

图 2 各组大鼠结肠 MyD88 蛋白原位表达情况(免疫组化染色,×100)



注:A 为正常对照组;B 为模型组;C 为柳氮磺吡啶片治疗组;D 为复方蛇蛻散 80 目组;E 为复方蛇蛻散 100 目;F 为复方蛇蛻散 80+100 目组

图 3 各组大鼠结肠 TRAF6 蛋白原位表达情况(免疫组化染色,×100)

3 讨论

目前,对于溃疡性结肠炎的发病机制尚不十分明确。由于患者的病情迁延难愈,治疗后的复发率较高,并且具有一定的癌变倾向,在临床治疗上比较困难^[14]。信号传导通路是溃疡性结肠炎研究的一个热点问题。MyD88 依赖通路是最主要的 TLRs 信号通路^[15],在 TRAF6 的介导下最终激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B),导致许多目的基因表达上调^[16-17]。在 TLRs 信号通路中,如果缺少 MyD88 的存在,激活信号

的向下传导将会受到很大影响,最终影响各种促炎细胞因子和机体防御蛋白的转录及表达,如 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-12 及 INF- β ^[8,18-19]。因此,TLRs/MyD88 信号通路是一个具有多种调节功能的传导通路,在免疫反应、炎症反应及肿瘤的发生和发展过程中均发挥重要作用^[19]。研究表明,TNF- α 在肠道中能介导肠黏膜的损伤,与 UC 的发病和病变活动有关^[20]。因此,TNF- α 水平的高低既可反映 UC 的炎症活动度,还可作为药物治疗 UC 的疗效评价指标。

溃疡性结肠炎病机复杂,多由饮食不节或感受外邪,致湿热、积滞等邪客于肠道,与肠道气血相搏结,大肠传导失司,气血凝滞,浊毒内蕴,阻滞脉络,血败肉腐,化腐成脓,内溃成疡,形成本病,属中医“泄泻”“痢疾”“便血”“肠风”或“脏毒”等范畴。导师认为 UC 病本在湿热浊毒淤积肠腑,阻滞气血运行,克伐脉络,久而肉腐成疡。故治疗此病的根本大法在:解毒排毒;益气扶正;化瘀生新;托毒生肌。复方蜥蜴散不同微粒组合剂药用宁夏密点麻蜥、白及、炒藕节、地榆炭、珍珠、半枝莲、金银花、仙鹤草、鹿角霜、三七、延胡索、焦乌梅、焦山楂、黄芪等,采用 80 目、100 目不同微粒等量混合与藕粉调成糊剂治疗 UC,既可起到解毒排毒缓释作用,又可利用含大量黏胶质、鞣质等成分药物^[21-24]的收敛之性起到局部保护肠黏膜的作用。

该方以宁夏密点麻蜥为君药,可奏清热解毒、活血行气、祛瘀散结之功。因其适应恶劣的生存环境,尾部遇敌断后可自行重生,有较强的修复再生功能。现代药理学研究亦表明蜥蜴有抗癌、修复、活血化瘀、免疫抑制、解毒的作用,能增强免疫力,修复和再生受损组织^[25]。半枝莲、金银花、黄芩、黄芪、珍珠为臣药,消补并用,共奏清热解毒、补气健脾、托毒生肌之功,可辅助麻蜥加强解毒、调节免疫及修复的作用。其中,金银花被称作“疮家圣药”,有抗多种病原微生物、中和毒素、解热、杀菌抗炎及增强免疫功能作用^[26];黄芩具有抗氧化、抗炎、抗菌、免疫调节、抗肿瘤等药理学作用^[27]。然单用解毒之品,气滞血瘀难消,肿结不散,疮疡难愈,又以仙鹤草、三七、延胡索、地榆炭、茜草、炒藕节、白及活血行气消肿、化瘀收敛止血,可增加肠黏膜血流量,改善溃疡局部的血液循环,促进肠黏膜溃疡面的修复;浊毒羁留肠络,胃之浊气不降,可导致浊毒进一步损伤肠络,又配以鹿角霜达络祛内外滞留之邪^[28],焦乌梅、焦山楂消食化瘀,调整胃肠功能,起到排空作用,防止毒邪羁留损伤肠膜,且与使药甘草合用有酸甘养阴生肌之义,令受损肠黏膜得以再生。诸药合用,既可解毒排毒,阻断 UC 过激的免疫反应,又可改善肠黏膜溃疡面局部血液循环,增加其营养,促进溃疡面愈合。

在干预大鼠溃疡性结肠炎模型 TLRs/MyD88 信号通路及下游炎症因子影响的实验研究中,复方蜥蜴散不同微粒组合剂抑制了信号通路下游信号传递分子 MyD88、TRAF6 蛋白的表达,下调了促炎细胞因子 TNF- α 的分泌水平。由此表明,其治疗 UC 的机制可能是抑制 TLRs/MyD88 信号通路下游信号传递分子 MyD88、TRAF6 蛋白的表达,阻断下游多种转录因子(如 NF- κ B、IRF3 等)的激活,抑制炎症递质的释放,阻断炎症的放大效应,减轻炎症损伤。另外,通过比较各组大鼠

一般生理状况及结肠组织病理改变、肠 MyD88、TRAF6 蛋白的表达及血清 TNF- α 水平发现,复方蜥蜴散 80 + 100 目组治疗 UC 的效果优于柳氮磺吡啶肠溶片及单独应用复方蜥蜴散 80 目、100 目,其对 UC 模型大鼠精神状态、排便量及质的影响尤为突出。由此推断,复方蜥蜴散 80 + 100 目等量混合应用于 UC 的治疗,其远期治疗效果可能优于柳氮磺吡啶肠溶片,优势表现在治疗效果好、无毒副作用、作用靶点多等。

由于复方蜥蜴散不同微粒组合剂组成成分多,作用靶点多,其治疗 UC 的机制有待进一步完善。针对 UC“久病入络,反复缠绵,难以治愈”的疾病特征,复方蜥蜴散不同微粒组合剂采用 80 目、100 目微粒等量组合,严格制备工艺,弥补了汤剂、丸剂、栓剂等剂型存在的缺点,体现了中药制剂“简便效廉验”的优势,值得在临床中进一步推广。

参考文献:

- [1] 赵曼,高峰. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(16): 3160-3165.
- [2] Park SH, Kim YM, Yang SK, et al. Clinical features and natural history of ulcerative colitis in Korea[J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13(3): 278-283.
- [3] 邓长生,夏冰. 炎症性肠病[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006: 200.
- [4] 杜群. 溃疡结灵对溃疡性结肠炎模型大鼠 Toll 样受体及 NF- κ B 的作用[D]. 广州:广州中医药大学, 2006.
- [5] 章烈,李园,周总光. 髓样分化因子 88 的研究进展:把握 TLR 信号通路中的瓶颈[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2013, 20(6): 685-689.
- [6] Sasai M, Tatematsu M, Oshiumi H, et al. Direct binding of TRAF2 and TRAF6 to TICAM-1/TRIF adaptor participates in activation of the Toll-like receptor 3/4 pathway [J]. Mol Immunol, 2010, 47(6): 1283-1291.
- [7] Byrd-Leifer CA, Block EF, Takeda K, et al. The role of MyD88 and TLR4 in the LPS-mimetic activity of Taxol[J]. J Immunol, 2001, 31(8): 2448-2457.
- [8] 李红,杜群,王汝俊. TLRs/NF- κ B 通路研究进展与溃疡性结肠炎[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(30): 4577-4579.
- [9] 张涛,谢建群. 大鼠溃疡性结肠炎模型的实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2006, 14(4): 240-242.
- [10] Leonard R. Johnson. 下消化道疾病、胃肠动力与神经胃肠病学·选译版[M]. 北京:科学出版社, 2008: 28-30.
- [11] 钟英强,黄花荣,陈其奎,等. 肠道溃疡性疾病[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009: 134.
- [12] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. Gastroenterology, 1989, 96(3): 795-803.
- [13] 马大烈,白辰光. 免疫组织化学阳性标记结果的观察和判断[J]. 临床与实验病理学杂志, 2003, 19(5): 557-559.
- [14] 刘晓东,曾泽伟. 西药联用中药保留灌肠治疗溃疡性结肠炎 60 例[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(4): 464.

- [15] 余益本,王建平. TLR 信号通路研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2012,28(12):1331-1334.
- [16] Shen J, Qiao Y, Ran Z, *et al.* Different activation of TRAF4 and TRAF6 in inflammatory bowel disease[J]. *Mediators Inflamm*, 2013. DOI: 10. 1155/2013/647936.
- [17] 徐世军,沈映君. TLR 信号途径关键转接分子 MyD88 的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2007,25(12):2504-2506.
- [18] Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, *et al.* TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans[J]. *Nat Genet*, 2000, 25(2):187-191.
- [19] An H, Qian C, Cao X. Regulation of toll-like receptor signaling in the innate immunity[J]. *Sci China Life Sci*, 2010, 53(1):34-43.
- [20] 沈桂英,张杰. 细胞因子在溃疡性结肠炎发病机制中的作用[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2009,12(2):334-336.
- [21] 李伟平,何良燕,丁志山. 白及的应用及资源现状[J]. 中华中医药学刊,2012,30(1):158-160.
- [22] 宛春雷,金哲雄. 仙鹤草鞣质成分的抗肿瘤作用研究[J]. 黑龙江医药,2011,24(1):29-31.
- [23] 李泱. 莲藕藕节鞣质提取纯化及其抗氧化活性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2009.
- [24] 夏红,孙立立,孙敬勇,等. 地榆化学成分及药理活性研究进展[J]. 食品与药品,2009,11(7):67-69.
- [25] 朱西杰,杨利侠,梁岩. 蜥蜴临证辨析[J]. 山西中医,2002,18(4):45-46.
- [26] 李建平,成玉明,王桂霞,等. 仙方活命饮体外抑菌实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(6):61.
- [27] 宋旦哥,孟庆刚. 黄芩药理作用研究述评[J]. 中华中医药学刊,2009,27(8):1619-1622.
- [28] 邵冬珊. 胃痛日久用鹿角霜[J]. 中医杂志,2003,44(5):331.

编辑:季春来

收稿日期:2016-05-11

· 管窥篇 ·

医方集锦

古人治病,多用坠下之品,如槟榔、枳实、厚朴、大黄之属,所谓通因通用,法非不善矣,然而效者半,不效者半,其不效者,每至缠绵难愈……予因制治病散,以治病证初起之时。方用葛根为君,鼓舞胃气上行也;陈茶、苦参为臣,清湿热也;麦芽、山楂为佐,消宿食也;赤芍、陈皮为使,所谓"行血则便脓自愈,调气则后重自除"也。制药普送,效者极多。惟于腹中胀痛不可按手者,此有宿食,更佐以朴黄丸下之。

——清·程国彭《医学心悟·痢疾》

如病在中上者,膈膜之地,而成燎原之场,即用景岳之玉女煎,六味之加二冬、龟甲、旱莲,一以清阳明之热,以滋少阴;一以救心肺之阴,而下顾真液。如元阳变动而为消烁者,即用河间之甘露饮,生津清热,润燥养阴,甘缓和阳是也。至于壮水以制阳光,则有六味之补三阴,而加车前、牛膝,导引肝肾。斟酌变通,斯诚善矣。

——清·叶天士《临症指南医案·三消》