

本文引用:陈晓峰,谢君. 不同芍药甘草配伍用于溃疡性结肠炎的治疗作用及机制研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(10):1074-1077.

不同芍药甘草配伍用于溃疡性结肠炎的治疗作用及机制研究

陈晓峰,谢君*

(张家港市中医医院药剂科,江苏 张家港 215600)

[摘要] **目的** 研究不同芍药甘草配伍用于溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)的治疗作用及机制。**方法** 纳入90只实验小鼠作为研究对象,随机抽签分为观察1组、观察2组及对照组,各30只。观察1组和观察2组采用乙酸法建立UC小鼠模型,分别以3:1和1:1比例配伍芍药甘草,以芍药甘草汤进行干预。对照组正常饲养,未行其他干预。记录3组小鼠胸腺指数、脾脏指数及结肠组织核因子-kBp65(NF-kBp65),比较观察1组和观察2组小鼠结肠收缩频率、扭体次数、炎性细胞数、炎性细胞面积、平均光密度及平均黑度总和。**结果** 观察1组给药30 min和1 h后结肠收缩频率和扭体次数显著低于观察2组和给药前($P<0.05$)。观察1组胸腺和脾脏指数均高于观察2组,结肠组织NF-kBp65低于观察2组($P<0.05$)。观察1组炎性细胞数、炎性细胞面积、平均光密度及平均黑度总和均显著低于观察2组($P<0.05$)。**结论** 3:1比例配伍芍药甘草较1:1比例配伍的芍药甘草汤用于治疗UC,其止痛止泻效果更佳,这可能与控制炎症浸润、刺激免疫器官分泌免疫细胞,抑制NF-kBp65激活有关。

[关键词] 芍药;甘草;溃疡性结肠炎

[中图分类号]R259;R285.6 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.010.006

Study on Therapeutic Effect and Mechanism of Different Compatibility of Peony and Licorice on Ulcerative Colitis

CHEN Xiaofeng, XIE Jun*

(Department of pharmacy, Zhangjiagang Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhangjiagang, Jiangsu 215600, China)

[Abstract] **Objective** To study the therapeutic effect and mechanism of different compatibility of peony and licorice on ulcerative colitis (UC). **Methods** The 90 experimental mice were randomly divided into the No. 1 observation group, No. 2 observation group, and control group, 30 mice in each group. The UC model mice of the No. 1 observation group and No. 2 observation group were built by the acetic acid method, intervened with intervened peony Licorice decoction, the compatibility of peony and licorice with 3:1 and 1:1 in the two groups. The control group was fed normally without other interventions. The thymus spleen index and colonic tissue nuclear factor-kBp65 (NF-kBp65) were recorded in three groups, the colonic contraction frequency, writhing, inflammatory cell number, size, density and average total blackness between No. 1 observation group and No. 2 observation group were observed. **Results** The colonic contraction frequency and writhing frequency in No. 1 observation group after giving medicine for 30 minutes and 1 hour were lower than the control group and before drug administration ($P<0.05$). The thymus and spleen indexes in No.1 observation group were higher than that in the No.2 observation group, and

[收稿日期]2016-12-26

[基金项目]江苏省自然科学基金计划(815269)。

[作者简介]陈晓峰,男,本科,副主任药师,主要从事药学研究。

[通讯作者]* 谢君,女,主管药师,E-mail:262229220@qq.com。

colon tissue NF-kBp65 was lower than the No.2 observation group ($P<0.05$). The number of inflammatory cells, inflammatory cell area, the average optical density and the average total blackness of the No.1 observation group were significantly lower than those in No.2 observation group ($P<0.05$). **Conclusion** The 3:1 proportion of peony and licorice are more effective in improving the pain and diarrhea than 1:1 ratio in the treatment for UC. This may be related to controlling inflammatory infiltration, stimulating immune organ secreting immune cells and inhibiting NF-kB activation.

[**Keywords**] peony; licorice; ulcerative colitis

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)属非特异性炎症性疾病,主要累及黏膜和黏膜下层,临床以腹泻、腹痛、便血为主要表现,属中医“肠癖、脏毒”范畴。既往认为肠癖多因脾胃虚弱、气血阻滞而致,本虚标实、脾虚湿盛为本病病理基础^[1]。芍药甘草汤出自伤寒论,以调和肝脾、缓急止痛为主要功用,临床在 UC、萎缩性胃炎等消化系统疾病中得到广泛应用^[2]。芍药、甘草是方剂芍药甘草汤主要组成药物,目前,临床对芍药、甘草的不同配伍疗效认识尚有争议,且缺乏对其作用机制的研究^[3]。既往多认为 1:1 比例可达到理想缓急止痛效果,但近年来有报道认为 3:1 疗效可能更好^[4]。为此,本研究纳入 90 只小鼠,建立 UC 小鼠模型,分析芍药、甘草不同配伍比例的芍药甘草汤对 UC 的治疗效果及作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验小鼠均由广西药学院动物实验室提供,合格证号:08A038。观察 1 组 30 只,雌性 17 只,雄性 13 只;年龄(12.54±3.68)周;体质量(214.51±20.84)g。观察 2 组 30 只,雌性 16 只,雄性 14 只;年龄(13.02±3.71)周;体质量(220.17±22.36)g。对照组 30 只,雌雄各 15 只,年龄(12.77±3.54)周,体质量(209.36±21.17)g。3 组小鼠性别、年龄及体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 UC 小鼠建模

观察 1 组和观察 2 组小鼠禁食 24 h,行戊巴比妥钠腹腔麻醉,成功后清洁灌肠,用尼龙导管经肛门插入结肠 8 cm 处,注入 5%冰乙酸溶液 1 mL,间隔 2 d,连续重复 4 次。然后正常饲养 2 周。期间对对照组正常饲养。

1.3 治疗药物及方法

观察 1 组配方:芍药 0.6 g/kg,甘草 0.2 g/kg;观察 2 组配方:芍药 0.2 g/kg,甘草 0.2 g/kg。两组分别按上述配方取药材 10 g,加入 10 倍量清水浸泡煮沸 30 min,过滤分离,取上清液,冷冻干燥,备用。两组均从饲养结束后第 10 天开始给药,用生理盐水每日灌胃 1 次,按 3 g/(kg·d)剂量给小鼠灌服芍药甘草汤煎剂混悬液,分 2 次灌服,连续给药 3 d。给药结束后即可开始记录小鼠扭体反应次数。

1.4 病理标本切片检测

观察 1 组和观察 2 组给药完成后禁食 12 h,用乌拉坦 800 mg/kg 行小鼠尾静脉浅麻醉,沿腹中线做 3 cm 切口,找出结肠段两端并用缝合线固定在肠管固定管两侧小孔上,缝合线一端从肠管固定管中央穿出连接 BL-420S 生物机能实验系统,放回腹腔,记录结肠收缩频率。3 组小鼠灌胃后 1 d 内处死,取近肛门端 3 cm 处结肠作为病理标本。切片 4 μm,行 HE 染色,以平均吸光度反应评定核因子-kBp65(NF-kBp65)活性。摘取脾脏、胸腺,计算脾脏指数和胸腺指数。将观察 1 组和 2 组小鼠标本置于 20×10 倍视野光镜下观察炎性细胞浸润区域,采用 MIAS 2 000 型计算机图形系统测定炎性细胞数量、面积、平均光密度及平均黑度总和。

1.5 统计学方法

选用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行分析 and 处理,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多时点对比采用重复测量的方差分析,单一时点的对比采用多变量的方差分析,两组间比较行 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠收缩频率和扭体次数比较

给药后,两组各时间点(30 min,1 h)结肠收缩频

率和扭体次数均减少($P<0.05$)。观察1组给药30 min和1 h后结肠收缩频率和扭体次数显著低于观察2组($P<0.05$)。见表1。

2.2 3组免疫指标比较

表1 结肠收缩频率和扭体次数比较

($n=30, \bar{x}\pm s$)

组别	项目	给药前1 h	给药30 min后	给药1 h后	F	P
观察1组	收缩频率/(次/min)	165.33±25.58	146.42±20.31* [△]	130.29±18.85* [△]	23.714	0.000
	扭体次数/(次/20 min)	35.69±5.22	20.26±4.18* [△]	14.73±3.92* [△]	19.671	0.000
观察2组	收缩频率/(次/min)	167.04±21.39	158.68±20.73*	142.88±18.21*	18.639	0.000
	扭体次数/(次/20 min)	36.13±6.71	33.79±5.59*	22.87±4.46*	17.443	0.000

注:与给药前比较,* $P<0.05$;与观察2组比较, $\Delta P<0.05$ 。

观察1组与对照组比较胸腺指数差异无统计学意义($P>0.05$)。观察1组和2组脾脏指数和结肠组织NF-kBp65均高于对照组($P<0.05$)。观察1组胸腺和脾脏指数均高于观察2组,结肠组织NF-kBp65低于观察2组($P<0.05$)。见表2。

2.3 两组炎性指标比较

观察1组炎性细胞数、炎性细胞面积、平均光密度及平均黑度总和均显著低于观察2组,差异有统

表2 3组免疫指标比较

($n=30, \bar{x}\pm s$)

组别	胸腺指数/(mg/10 g)	脾脏指数/(mg/10 g)	结肠组织NF-kBp65
观察1组	0.23±0.07 [△]	0.68±0.13* [△]	0.04±0.01* [△]
观察2组	0.18±0.03*	0.56±0.09*	0.06±0.02*
对照组	0.26±0.08	0.34±0.05	0.02±0.01
F	12.584	15.584	17.302
P	0.001	0.000	0.000

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与观察2组比较, $\Delta P<0.05$ 。

计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组炎性指标比较

($n=30, \bar{x}\pm s$)

组别	炎性细胞数/个	炎性细胞面积/ μm^2	平均光密度	平均黑度总和
观察1组	281.37±65.13*	3 424.13±576.48*	30 976.85±4 452.92*	35 162.08±4 872.36*
观察2组	353.72±89.24	5 509.56±781.23	34 012.23±5 124.76	42 158.29±5 516.97
t	3.587	11.765	2.449	5.206
P	0.001	0.000	0.017	0.000

注:与观察2组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨论

UC与自身免疫性疾病、遗传及感染等因素密切相关^[5],但其具体机制尚未完全阐明,是临床难治性疾病之一。目前,免疫抑制剂、激素及手术外科治疗疗效不甚满意,且毒副作用较多^[6]。近年来,中医药逐渐引起临床重视,芍药甘草汤作为缓急止痛的经典方剂在UC中得到广泛应用^[7]。本研究对比不同配伍剂量芍药甘草汤在UC中的疗效,结果显示观察1组给药30 min和1 h后小鼠结肠收缩频率和扭体次数均显著低于给药前和观察2组,提示3:1比例配伍芍药甘草汤用于UC模型小鼠对结肠蠕动亢进具有明显拮抗性抑制作用,能缓解结肠痉挛性蠕动,从而发挥止痛止泻作用。杨艳等^[8]研究也认为大剂量芍药甘草配伍能直接影响回肠平滑肌频率和张力变化率,增强解痉止痛效果,与本文结论相符。

胸腺和脾脏是机体重要免疫器官,分别通过分泌胸腺素和T淋巴细胞参与细胞免疫^[9]。胸腺指数和脾脏指数指每10 g体重脏器的重量,对评价淋巴细胞增殖能力具有重要意义^[10]。本研究中,观察1组与对照组胸腺指数无显著性差异,提示3:1比例配伍芍药甘草汤能刺激UC小鼠受损胸腺的细胞增殖,对恢复和调节免疫机能有重要意义。另外,有研究还认为芍药甘草及柴胡配伍能发挥协同作用^[11],有助于增强免疫功能。脾脏被认为是机体细胞免疫中心,芍药甘草配伍能提高腹腔巨噬细胞吞噬率,促进淋巴细胞转化和溶血素的形成^[12]。本研究显示观察1组和2组脾脏指数显著高于对照组,而观察1组较2组更为明显,说明芍药甘草汤对恢复机体免疫功能作用显著,芍药甘草3:1配伍较1:1比例效果更好。徐晓娟等^[13]也认为3:1配伍较1:1比例能通过

升高血浆- β 内啡肽而达到更好的止痛效果,与本文结论一致。NF- κ B 异常活化在 UC 病理进展中具有重要作用^[14],本研究显示观察 1 组和 2 组结肠组织 NK- κ Bp65 均高于正常对照组,提示建模成功,而观察 1 组 NF- κ B 显著低于 2 组,提示 3:1 配伍芍药甘草抑制 NF- κ Bp65 激活作用优于 1:1 配伍组。

溃疡、糜烂是 UC 的主要病理变化,炎性浸润是 UC 诊断治疗的主要依据^[15]。甘草内含甘草甜素具有肾上腺皮质激素样作用^[16],因而具有抗变态反应,抑菌消炎作用。炎性细胞面积和平均光密度能对结肠黏膜溃疡和炎症程度进行定量、客观、精准评估^[17]。本研究中,观察 1 组炎性细胞数、炎性细胞面积、平均光密度及平均黑度总和均显著低于观察 2 组,提示观察 1 组在改善炎症病理状态,抑制结肠黏膜溃疡进展方面效果优于 2 组。

综上所述,芍药甘草汤能显著改善 UC 腹泻、疼痛症状,以 3:1 比例配伍芍药甘草较 1:1 比例配伍疗效更为显著,这可能与控制炎性浸润,刺激免疫器官分泌免疫细胞,抑制 NF- κ Bp65 激活有关。

参考文献:

[1] 宾承国.仙桔汤辨证加减口服灌肠治疗溃疡性结肠炎的临床观察[J].医学综述,2014,20(1):148-149.
[2] 宋琳,崔忠文,郑杨,等.崔振儒教授应用自拟芍药甘草汤治疗急性胃脘痛经验[J].中国中医急症,2014,23(10):1848-1849.
[3] 郭珊珊,王谦,白立川,等.芍药-甘草配伍的研究进展[J].中草药,2014,45(10):1481-1485.
[4] 马婷婷,贺蕊,龚慕辛,等.不同配伍比例芍药甘草汤成分的肠吸收研究[J].中国中药杂志,2015,40(21):4268-4274.

[5] 陈璐.溃疡性结肠炎发病机制的研究进展[J].疑难病杂志,2016,15(6):650-654.
[6] 雷晓燕,崔梅花.溃疡性结肠炎的治疗进展[J].山东医药,2014,54(6):99-102.
[7] 李道华,夏侯伟.芍药甘草汤加减保留灌肠治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎 58 例疗效观察[J].河北中医,2009,31(11):1660-1661.
[8] 杨艳,李东华,王洋,等.大剂量使用芍药与甘草配伍解痉作用的研究[J].时珍国医国药,2013,24(2):347-349.
[9] 赵善民,赵懿宁,汤球,等.裸鼯鼠胸腺、脾脏及淋巴结解剖学、组织学与超微结构的初步观察[J].实验动物与比较医学,2013,33(5):395-399.
[10] Hamano R, Baba T, Sasaki S, et al. Agand IL-2 immune complexes efficiently expand Ag-specific Treg cells that migrate in response to chemokines and reduce localized immune responses [J]. European Journal of Immunology, 2014,44(4):1005-1015.
[11] 邓素玲,杜旭召,孟婉婷,等.王宏坤运用芍药甘草汤经验[J].河南中医,2016,36(9):1508-1509.
[12] 张颖,柯尊记,杨坚,等.芍药甘草汤及其活性成分的脑保护作用机制研究概述[J].现代生物医学进展,2014,14(34):6773-6777.
[13] 徐晓娟,金沈锐.芍药甘草汤不同配伍比例对痛经大鼠 β -内啡肽的影响研究[J].中国中医基础医学杂志,2004,10(6):40-41.
[14] 杨璐佳,张泓,张雨辰,等.电针曲池与上巨虚穴对溃疡性结肠炎大鼠 NF- κ B 及 HMGB1 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2014,9(5):58-61.
[15] 马冬红,韩英.溃疡性结肠炎临床诊疗规范要点评介[J].现代消化及介入诊疗,2013,8(6):369-372.
[16] 赵雨坤,李立,刘学,等.基于系统药理学探索甘草有效成分甘草甜素的药理作用机制[J].中国中药杂志,2016,41(10):1916-1920.
[17] 刘德亮.溃疡性结肠炎患者结肠粘膜组织 EGF 表达水平的临床意义[J].宁夏医科大学学报,2013,35(11):1259-1261.

(本文编辑 李杰)