

本文引用: 李前昆, 宾东华, 尹园缘, 邹巍莹, 刘颖, 黄静雯, 程扬, 刘密, 王萍, 余炼. 参苓白术散对克罗恩病大鼠炎症因子 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10 及 IL-4 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(8): 1361-1367.

参苓白术散对克罗恩病大鼠炎症因子 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10 及 IL-4 的影响

李前昆¹, 宾东华², 尹园缘², 邹巍莹², 刘颖², 黄静雯², 程扬², 刘密¹, 王萍³, 余炼^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007;

3. 湖南省常德市武陵区疾病预防控制中心, 湖南常德 415000

〔摘要〕 目的 观察参苓白术散对克罗恩病(Crohn's disease, CD)大鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-17C(interleukin-17C, IL-17C)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)的影响。**方法** 将60只SD大鼠随机分为空白组、模型组、美沙拉嗪组(0.21 g·kg⁻¹·d⁻¹)、参苓白术散低剂量组、参苓白术散中剂量组、参苓白术散高剂量组(5.88、11.76、23.59 g·kg⁻¹·d⁻¹), 每组10只, 雌雄各半。将5% 2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)与50%乙醇按1:1比例混合成TNBS灌肠液, 并按3 mL·kg⁻¹的剂量进行CD造模, 造模成功后空白组及模型组给予生理盐水灌胃, 其余组给予相应药物灌胃。14 d后进行大鼠结肠黏膜损伤指数(colon macroscopic damage index, CMDI)评分; HE染色观察结肠组织的病理学改变, ELISA法检测各组大鼠血清中IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10及IL-4的含量。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠CMDI评分明显升高($P<0.01$), 病理学改变可见上皮固有层内的单管状的大肠腺稀少且功能形态产生异常, 出现淋巴滤泡增生, 血清中IL-1 β 、IL-1、IL-17C水平明显升高($P<0.01$), IL-10、IL-4明显下降($P<0.01$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组、参苓白术散低、中剂量组及参苓白术散高剂量组CMDI评分降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 病理学改变可见结肠组织黏膜上皮细胞不同程度炎症反应及单管状腺体破坏, 参苓白术散低剂量组可见少量血管扩张出血, 美沙拉嗪组、参苓白术散低剂量组、参苓白术散中剂量组、参苓白术散高剂量组IL-1 β 、IL-17C、IL-1水平下降, IL-10、IL-4水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与美沙拉嗪组比较, 参苓白术散低剂量组、参苓白术散中剂量组IL-1 β 、IL-17C水平升高($P<0.05$), 参苓白术散低剂量组IL-1升高($P<0.01$), 参苓白术散高剂量组IL-1水平降低($P<0.01$), IL-10、IL-17C水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 参苓白术散有助于减轻CD模型大鼠的肠道炎症反应, 修复肠道黏膜损伤, 其作用机制可能与调节CD模型大鼠炎症因子IL-1、IL-17C、IL-1 β 、IL-10及IL-4的水平有关。

〔关键词〕 克罗恩病; 参苓白术散; 炎症因子; 白细胞介素; 美沙拉嗪

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.08.004

Effects of Shenling Baizhu Powder on inflammatory factors IL-1 β , IL-1, IL-17C, IL-10, and IL-4 in Crohn's disease rats

LI Qiankun¹, BIN Donghua², YIN Yuanyuan², ZOU Weiyang², LIU Ying², HUANG Jingwen²,

CHENG Yang², LIU Mi¹, WANG Ping³, YU Lian^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of

Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. Changde Wuling District Center for Disease Control and

Prevention, Changde, Hunan 415000, China

〔收稿日期〕 2022-12-05

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81774438); 湖南中医药大学校级课题一般项目(2021XJJ024); 湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(21B0395); 湖南省中医药科研计划项目(E2022035); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202210541109)。

〔第一作者〕 李前昆, 男, 中医学(5+3)本科生, 研究方向: 中医药干预炎症肠病。

〔通信作者〕 * 余炼, 男, 硕士, 副教授, E-mail: yulian@hnuem.edu.cn。

[Abstract] Objective To observe the effects of Shenling Baizhu Powder (SLBZP) on interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-1 (IL-1), interleukin-17C (IL-17C), interleukin-10 (IL-10), and interleukin-4 (IL-4) in rats with Crohn's disease (CD). **Methods** A total of 60 SD rats were randomly divided into blank group, model group, mesalazine group (0.21 g·kg⁻¹·d⁻¹), low-, medium-, and high-dose SLBZP groups (5.88, 11.76, 23.59 g·kg⁻¹·d⁻¹, respectively), 10 rats in each group, half male and half female. Five percent of 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) and fifty percent ethanol were mixed into TNBS enema at a ratio of 1:1, and CD modeling was conducted by the enema at a dose of 3 mL·kg⁻¹. After successful modeling, the blank group and model group were given normal saline by gavage, while the other groups were given corresponding drugs by gavage. After 14 days, the colon macroscopic damage index (CMDI) of rats was scored; HE staining was used to observe the histopathological changes of colon; ELISA was adopted to determine the content of IL-1 β , IL-1, IL-17C, IL-10, and IL-4 in serum of rats in each group. **Results** Compared with the blank group, CMDI score of the model group increased significantly ($P<0.01$); the pathological changes showed that the single tubular large intestine glands in the epithelial lamina propria were sparse with abnormal forms and function, and hyperplasia of lymphoid follicles appeared; the serum levels of IL-1 β , IL-1, and IL-17C increased significantly ($P<0.01$), but the serum levels of IL-10 and IL-4 decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, CMDI scores of mesalazine group as well as medium- and high-dose SLBZP groups significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the pathological changes showed different degrees of inflammation response in mucosal epithelial cells of colon tissue and destruction of single tubular glands in mesalazine group and low-, medium-, and high-dose SLBZP groups, and a small amount of blood vessel dilation and bleeding in low-dose SLBZP group; the levels of inflammatory factors in mesalazine group and low-, medium-, and high-dose SLBZP groups decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with mesalazine group, the levels of IL-1 β and IL-17C in low- and medium-dose SLBZP groups increased ($P<0.01$); IL-1 level in low-dose SLBZP group increased ($P<0.01$); in high-dose SLBZP group, IL-1 level decreased ($P<0.01$), but IL-10 and IL-17C levels increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** SLBZP is helpful in alleviating intestinal inflammation and repairing intestinal mucosal damage in CD model rats, and its mechanism of action may be related to regulating the levels of inflammatory factors IL-1, IL-17C, IL-1 β , IL-10, and IL-4.

[Keywords] Crohn's disease; Shenling Baizhu Powder; inflammatory factors; interleukin; mesalazine

克罗恩病(Crohn's disease, CD)作为炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的一种临床类型,是一种多发性、局限性的慢性肠道炎症性疾病,可累及从口腔至肛门的整个胃肠道^[1]。研究表明,近年来CD的发病率逐渐升高,且有低龄化趋势^[2-3]。据报道,我国CD的发病率呈现显著增长的趋势,地区发生率可达1.22/10万人^[4]。CD的病因尚未明确,其发病多由遗传、感染、环境等多种因素共同作用导致^[5]。CD的主要临床表现为反复发作性肠道炎症,严重时可见肠道溃疡及全身症状,如肠梗阻、肠腔狭窄、瘘管形成,甚至腹腔内的脓肿,影响患者进食,进而导致营养不良、贫血、低蛋白血症等,对患者的身体健康及生活质量造成严重影响^[6-7]。CD尚无根治的办法,在经过治疗后症状可缓解,但CD治疗周期长,病情易反复,缠绵难愈,故如何促进CD患者的肠道黏膜愈合、组织学缓解是目前临床工作中急需解决的问题。

CD归属于中医学“肠澼”“痢疾”“腹痛”等范畴,基本病机为湿热相蒸,瘀毒内蕴^[8]。参苓白术散是健脾渗湿之代表方,具有益气健脾、渗湿止泻的功效,其临床应用有助于缓解CD患者腹痛、腹泻等症状^[9]。在长期临床实践中,中医药在治疗CD上表现出独特的优势,如有效解决临床上CD患者的临床症状、减少疾病复发率、提高患者生活水平、减少因CD疾病过程中导致的各类并发症产生等。针对CD脾虚为本、湿浊为标病机特点,常选用参苓白术散为基础方灵活加减用药,个体化治疗,有效提高CD的缓解率,降低复发率。本课题组前期临床研究已经证实柳氮磺吡啶栓剂配合参苓白术散加减方保留灌肠治疗溃疡性结肠炎有较好的疗效^[10]。因此,本文建立CD大鼠模型,旨在从肠道炎症角度出发,探究参苓白术散治疗CD的作用机理,为临床应用中医药治疗CD提供理论及实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF级SD大鼠60只,每组10只,雌雄各半,体重180~200 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物许可证编号:SCXK(湘)2019-0004。动物饲养于湖南中医药大学第一附属医院实验中心,饲养温度24~26℃,相对湿度50%~70%,自由摄食饮水,适应性喂养3 d,符合湖南中医药大学动物伦理委员会标准(伦理委员会审查编号:ZY-FY20220228-01)。

1.2 药物

白扁豆、陈皮、山药、砂仁、薏苡仁、白术、茯苓、人参、甘草、桔梗、莲子均购自湖南中医药大学第一附属医院门诊药房(批号分别为NG21121301、SX21122701、TH21122903、SL22011102、SX21122705、SL22010401、CK22011006、200501、TH22010406、TH22010404、200401),经湖南中医药大学第一附属医院制剂中心鉴定,符合用药标准。

1.3 主要试剂及仪器

美沙拉嗪颗粒(中国医药集团有限公司,批号:H20143164);4%多聚甲醛(北京白鲨易科技有限公司,批号:BL539A);二甲苯、无水乙醇(湖南汇虹试剂有限公司);苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色液(Wexis,规格:2500 mL);中性树胶(中国上海标本模型厂,规格:100g);2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)、戊巴比妥钠(Sigma Corporation of America,批号:P2297、P3761);大鼠白细胞介素(IL-1、IL-10、IL-1 β 、IL-4、IL-17C)ELISA试剂盒(批号:ED30193、ED30194、ED30206、ED30217、SU-BN39249)、酶标仪(型号:Rayto RT-6100)均购自厦门仑昌硕生物科技有限公司;生物组织摊烤片机(武汉俊杰电子有限公司,型号JK-6);光学显微镜(德国莱卡公司,型号:DM2000 LED);超净工作台(苏州集团安泰空气技术有限公司,型号:BBS-SDC);盖玻片、载玻片(江苏世泰实验器械有限公司,型号:10212440C、188105W);微量移液器(德国Eppendorf公司,型号:Q37553);电热恒温鼓风干燥箱(常州中诚仪器制造有限公司,型号:DHG-9101-3A);高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H2100R)。

2 方法

2.1 参苓白术散药液的制备

依据原方比例,参照现代临床剂量(麸炒白术15 g、山药15 g、茯苓15 g、人参15 g、白扁豆12 g、莲子9 g、麸炒薏苡仁9 g、砂仁6 g、桔梗6 g、炙甘草10 g)^[11],将饮片混合后浸泡30 min,生药量共112 g,按体表面积换算法:大鼠用药剂量=(112 g生药量 \times 6.3)/成人体质量60 kg=11.76 g \cdot kg⁻¹(中剂量),高、低剂量分别为23.59、5.88 g \cdot kg⁻¹,按1 mL/100 g计算大鼠灌胃容积,为2~3 mL。首先熬制高剂量药液,计算生药浓度为2.94 g \cdot mL⁻¹,药物先使用12倍比例纯净水冷水浸泡30 min,再使用大火煮沸,煮沸后转小火煎药30 min,过滤,取药液,药渣进行第二次煎煮,二煎取10倍蒸馏水煎煮30 min,混合两次药液。将参苓白术散高剂量组药液需要量单独分装,剩余药液根据需要量分别稀释2倍、4倍,为生药量1.47、0.73 g \cdot mL⁻¹,对应参苓白术散中、低剂量组,均存于4℃冰箱备用。

2.2 CD大鼠模型的制备

参考MORRIS^[12]的造模方法,将5%TNBS与50%乙醇按1:1比例混合成TNBS灌肠液,使用TNBS灌肠液3 mL \cdot kg⁻¹(含TNBS 80 mg \cdot kg⁻¹)灌肠制备CD模型,造模前24 h禁食、不禁水,提前称量并计算灌肠量,使用2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,将大鼠倒置,予以液状石蜡润滑肛门及灌肠管,除空白组外均以TNBS灌肠液3 mL \cdot kg⁻¹(含TNBS 80 mg \cdot kg⁻¹)灌肠,灌肠结束将大鼠继续倒立1 min促进灌肠液充分吸收,空白组大鼠用同体积灭菌水行灌肠操作,隔7天重复灌肠1次,共2次。大鼠食欲降低、体质量减轻、伴有便血或稀便,每组随机抽取2只大鼠处死,自肛门处向上取结肠(15 \pm 2) cm,沿纵轴剪开,用生理盐水冲洗干净,观察大鼠结肠肠壁增厚、黏膜充血水肿或有溃疡即为造模成功。原每组10只大鼠,造模后处死2只,本次造模期间余无死亡大鼠,剩余每组8只。

2.3 动物分组及给药

实验大鼠使用乱数表法抽取样本并将其分为空白组、模型组、美沙拉嗪组以及参苓白术散低、中、高剂量组,经造模后处死操作,每组剩余8只。除正常组外其余各组均为CD模型大鼠,具体造模方法详

见“2.2”。所有大鼠均自由进食饮水,实验组大鼠造模 7 天后开始使用灌胃针头灌胃给药。根据大鼠体表面积换算公式计算大鼠给药剂量,大鼠每天给药剂量=成人临床剂量 $\times 6.3$ (人与大鼠体表面积折算系数)/人体质量(60 kg)。给药方法为美沙拉嗪组给予美沙拉嗪药液(0.21 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)灌胃,参苓白术散低、中、高剂量组给与参苓白术散药液(5.88、11.76、23.59 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)灌胃,将等量生理盐水试剂按灌胃操作给空白组对照组和模型组进行处理,每天 1 次,连续 14 d。

2.4 实验指标检测

2.4.1 一般情况观察及结肠黏膜损伤指数(colon macroscopic damage index, CMDI)评分 观察各组大鼠每天的进食、饮水、排便情况,评估大便性状、体质量变化及结肠黏膜损伤程度,评估大鼠是否有进食饮水量明显减少,大便次数增多、不成形、便血以及体质量减轻等表现,并根据取材后大鼠结肠黏膜损伤程度、有无溃疡等进行 CMDI 评分^[13],具体评分标准:无损伤为 0 分;有轻度充血水肿无溃疡为 1 分;充血水肿肠壁变厚为 2 分;高度充血水肿,且有直径小于 1 cm 溃疡为 3 分;3 分基础上溃疡直径大于 1 cm 为 4 分;如肠管与周围组织有粘连则为 5 分。

2.4.2 HE 染色观察结肠组织病理改变情况 取各实验组大鼠一段有明显病理改变的结肠组织,行脱水,包埋,固定操作并均匀切成以 4 μm 为标准的薄组织切片,最后烘干后脱蜡,苏木精染色,再次脱水后使用二甲苯透明,封片。光学显微镜下观察各组大鼠结肠组织病理变化。

2.4.3 ELISA 法检测各组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4 的含量 使用双抗体夹心法,用抗大鼠炎症因子 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4 抗体包被于酶标板上,抗体与复合物结合,洗去表面杂质,再加入辣根过氧化物酶标记的抗体,最终形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,洗去游离试剂成分,加入显色底物,用酶标仪在 450 nm 波长处测光密度(optical density, OD)值,大鼠炎症因子浓度与该值之间呈正比,通过绘制标准曲线计算出样品中炎症因子的浓度^[14]。

2.4.4 统计学分析 采用 SPSS 24.0 统计软件进行分析。实验结果以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,满足正态分布采用方差分析进行多组间比较,方差齐用 LSD 法,方差不

齐用 Dunnett T3 法;不满足正态分布使用非参数检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察及 CMDI 评分

空白组大鼠进食正常,粪便性状正常。给药 14 d 后,与空白组比较,模型组大鼠体质量减轻,进食量减少,活动能力减弱,并出现稀便、大便带血等情况,美沙拉嗪组及参苓白术散中、高剂量组大鼠体质量较造模后升高,食欲好转,且大便成型,无明显便血。参苓白术散低剂量组部分大鼠体质量降低、大便偶不成型。将各组大鼠结肠组织进行一般情况的解剖观察,并进行 CMDI 评分。与空白组比较,模型组 CMDI 评分明显升高($P<0.01$);与模型组比较,美沙拉嗪组及参苓白术散低、中、高剂量组 CMDI 评分降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与美沙拉嗪组比较,参苓白术散低剂量组 CMDI 评分明显升高($P<0.01$),参苓白术散高剂量组 CMDI 评分明显降低($P<0.01$)。详见表 1。

表 1 参苓白术散对 CD 大鼠 CMDI 评分的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	结肠长度/cm	CMDI 评分/分
空白组	—	15.82 \pm 0.12	—
模型组	—	14.37 \pm 0.43	3.50 \pm 0.53**
美沙拉嗪组	0.21	15.22 \pm 0.62	1.75 \pm 0.46 $\blacktriangle\blacktriangle$
参苓白术散低剂量组	5.88	14.98 \pm 0.46	3.00 \pm 0.53 $\blacktriangle\blacktriangle\blacksquare$
参苓白术散中剂量组	11.76	17.28 \pm 0.49	1.88 \pm 0.64 $\blacktriangle\blacktriangle$
参苓白术散高剂量组	23.59	15.36 \pm 0.17	1.38 \pm 0.52 $\blacktriangle\blacktriangle\blacksquare$

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$, $\blacktriangle P<0.05$;与美沙拉嗪组比较, $\blacksquare P<0.01$ 。

3.2 对 CD 大鼠结肠组织病理形态的影响

空白组黏膜上皮组织完整,分布有吸收细胞和大量杯状细胞,排列正常且密集并无形态上的改变,上皮固有层内的单管状大肠腺稠密且功能正常,黏膜肌层可见内环行和外纵行的两薄层平滑肌,黏膜下层可见成群脂肪细胞,浆膜完整,隐窝形态正常。与空白组比较,模型组 CD 大鼠黏膜上皮细胞已发生大量坏死脱落、杯状细胞明显减少、单管状的腺体被破坏,各层可见大量炎症细胞与免疫淋巴细胞浸润,淋巴组织增生并有淋巴滤泡出现。美沙拉嗪组和参苓白术散各组结肠组织黏膜上皮细胞未出现明显病理性脱落坏死,但见少量炎症反应产物浸润及单管状腺体破坏,参苓白术散低剂量组可见少量血管扩张出血。详见图 1。

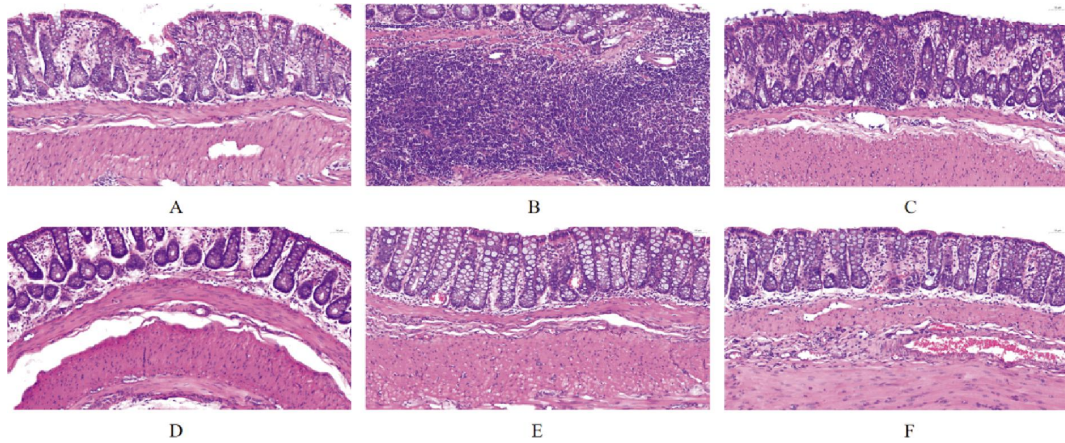


图1 各组大鼠结肠病理图(HE,×200)

注:A.空白组;B.模型组;C.美沙拉嗪组;D.参苓白术散高剂量组;E.参苓白术散中剂量组;F.参苓白术散低剂量组。

3.3 对 CD 大鼠血清中 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4 水平表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清指标突出表现为 IL-1 β 、IL-1、IL-17C 水平明显升高,IL-10、IL-4 明显下降($P<0.01$);与模型组比较,美沙拉嗪组及参苓白术散低、中、高剂量组 IL-1 β 、IL-17C、IL-1 水平下降,IL-10、IL-4 水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与美沙拉嗪组比较,参苓白术散低、中剂量组 IL-1 β 、IL-17C 水平升高($P<0.05$),参苓白术散低剂量组 IL-1 升高($P<0.01$),参苓白术散高剂量组 IL-1 水平降低,IL-10、IL-17C 水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。详见表 2。

4 讨论

IBD 已成为一种全球性疾病,新兴工业化国家 IBD 的发病率不断上升,社会负担较重^[15],CD 作为 IBD 的一种临床类型,在我国发病率及复发率日益增高,对 IBD 预防及治疗研究刻不容缓。《素问·腹中论》:“病有少腹盛,上下左右皆有根……病名曰伏梁……裹大脓血,居肠胃之外。”CD 归属于中医学“伏梁”

范畴,CD 的发病多由脾胃之气不足或脾肾阴阳两虚所致,扩散至下焦肠道导致肠腑病变,邪入血络,致使湿热瘀毒内聚,基本病机为湿热相蒸,瘀毒内蕴,其病位在水土之属,病症表现多样且易反复。现代研究显示,中西医结合疗法有助于延长 CD 缓解期、控制病情发展,同时结合疗法可减轻西药中激素等的毒副作用及不良反应^[16]。

近几年关于中医药治疗 CD 的临床实验结果与研究报告提示,治疗 CD 的主要机制包括抑制 CD 患者炎症因子的表达、调节患者免疫功能等方面。BOURGONJE 等^[17]报道无血浆硫醇与炎症生物标志物呈负相关,并且与 CD 的有利结果相关。前期临床研究已经证实柳氮磺吡啶栓剂配合参苓白术散加减方保留灌肠治疗 UC 有较好的疗效,肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)是 IBD 急性期和慢性期的关键促炎介质,在 IBD 的促炎细胞因子产生中起关键作用^[18]。周华等^[19]研究发现参苓白术散可以通过调节肠道黏膜组织中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-10 及 TNF- α 细胞因子的功能来修复肠道黏膜屏障。研究表明,IL-1 β 能通过

表2 各组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4 的水平($\bar{x}\pm s$)

组别	n	浓度/(g·kg ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-1/(pg·mL ⁻¹)	IL-17C/(pg·mL ⁻¹)	IL-10/(pg·mL ⁻¹)	IL-4/(pg·mL ⁻¹)
空白组	8	—	17.52±2.28	47.10±10.48	480.68±55.87	30.59±3.20	55.63±1.98
模型组	8	—	31.18±2.90**	112.50±10.31**	775.05±55.05**	22.87±3.90**	44.41±2.40**
美沙拉嗪组	8	0.21	19.43±3.89 ^{▲▲}	64.12±11.29 ^{▲▲}	570.49±57.87 ^{▲▲}	36.64±5.02 ^{▲▲}	65.63±8.54 ^{▲▲}
参苓白术散低剂量组	8	5.88	27.63±2.35 ^{▲■}	84.54±13.57 [■]	685.77±96.15 [■]	35.57±5.34 ^{▲▲}	58.57±5.74 ^{▲▲}
参苓白术散中剂量组	8	11.76	24.24±2.53 ^{▲■}	68.46±11.62 ^{▲▲}	680.32±34.72 [■]	36.46±12.47 ^{▲▲}	66.35±9.03 ^{▲▲}
参苓白术散高剂量组	8	23.59	17.70±5.89 ^{▲▲}	49.00±3.67 [■]	636.60±34.72 [■]	41.87±5.87 [■]	71.93±15.50 ^{▲▲}

注:与空白组对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,^{▲▲} $P<0.01$,[▲] $P<0.05$;与美沙拉嗪组比较,[■] $P<0.01$,[■] $P<0.05$ 。

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^[20]。王声勇等^[21]研究结果显示,CD患者Th17/Treg细胞以及IL-17/IL-10因子失衡,表明IL-17/IL-10是进一步导致炎症反应的炎症因子,参苓白术散能够通过调节上述因子抑制炎症反应。IL-10为抑炎因子能够通过抑制淋巴T细胞、免疫细胞等发挥保护肠道屏障功能、维持免疫系统稳态的功效^[22]。IL-17是IBD的主要致病因子之一,抗IL-17中和抗体应是理论上的治疗药物之一,然而针对CD患者使用中和抗体的治疗方案却矛盾地加重了肠道炎症,表明IL-17细胞因子具有重要的稳态功能^[23-24]。有研究表明,参苓白术散中含有的人参皂苷Rg1具有减弱促炎反应、增强先天免疫力并保留适应性免疫力的作用,人参皂苷Rb1可能通过抑制炎症反应和氧化应激来减轻大鼠的肠道损伤^[25]。因此,本实验探究参苓白术散减轻CD大鼠肠道炎症反应及黏膜屏障损伤是否与调节IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4炎症因子的水平相关。

参苓白术散出自《太平惠民和剂局方·卷三》^[26],由莲子(去皮),薏苡仁,缩砂仁,桔梗(炒令深黄色),白扁豆(姜汁浸,去皮,微炒),白茯苓,人参(去芦),甘草(炒),白术,山药组成。为四君子汤(参、苓、术、草)的基础上加減而成,本方中君药人参健脾升脾气,山药健脾补肺。臣药白术燥化湿邪,茯苓淡渗利湿,莲子补益中焦、涩止肠痢。扁豆、薏苡仁、缩砂仁能够调畅中焦;桔梗升发五行之肺金。炙甘草以其甘温之性能补能和缓,大枣煎汤服用,调畅中焦气虚。诸药配伍,治脾虚湿胜者佳。参苓白术散作为中药方剂,治疗CD具有整体调节的独特优势,在中医辨证论治的基础上可随证加減,毒副作用小^[27]。

本研究结果显示,模型组CMDI评分明显升高($P<0.01$),模型组大鼠血清中IL-1 β 、IL-1、IL-17C水平明显升高,IL-10、IL-4明显下降($P<0.01$),提示CD大鼠的病理炎症反应指标显著异常,从临床症状体征及数据得出炎症反应在CD病程中占据了极其重要的一部分。美沙拉嗪组及参苓白术散低、中、高剂量组CMDI评分均降低($P<0.01$),表明美沙拉嗪及参苓白术散各剂量组有治疗效果,且参苓白术散高剂量组治疗效果大于美沙拉嗪组。美沙拉嗪组及参苓白术散各组IL-1 β 、IL-1、IL-17C水平明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),IL-10、IL-4明显下降($P<0.01$);

病理学结果显示,美沙拉嗪组和参苓白术散中、高、低剂量组结肠组织黏膜上皮细胞有一定程度脱落坏死,少量炎性细胞浸润及腺体被破坏,参苓白术散低剂量组可并见少量血管扩张出血。与美沙拉嗪组比较,参苓白术散低、中剂量组IL-1 β 、IL-17C水平升高($P<0.05$),参苓白术散低剂量组IL-1升高($P<0.01$),参苓白术散高剂量组IL-1水平降低,IL-10、IL-17C水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。参苓白术散不同剂量组中,参苓白术散高剂量($23.59\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)组效果最佳。本实验为参苓白术散在中医治疗CD缓解期的优势地位提供了实验依据和理论支撑。

综上所述,参苓白术散通过调控IL-1 β 、IL-1、IL-17C、IL-10、IL-4的表达减轻CD大鼠肠道炎症反应及黏膜屏障损伤情况,为中医药防治CD提供实验依据与参考,同时有助于将参苓白术散广泛推广运用于临床,缩短患者治疗时间,节约医疗成本,产生较大的社会效益及经济效益。但本次研究大鼠未进行中医证候分型,研究样本量较小,仍需要进一步大样本实验佐证。

参考文献

- [1] PARK S H, PARK J C, LUKAS M, et al. Biosimilars: Concept, current status, and future perspectives in inflammatory bowel diseases[J]. *Intestinal Research*, 2020, 18(1): 34-44.
- [2] LARSEN M D, BALDAL M E, NIELSEN R G, et al. The incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis since 1995 in Danish children and adolescents <17 years—based on nationwide registry data[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2016, 51(9): 1100-1105.
- [3] 童锦祿, 冉志华. 炎症性肠病诊断和鉴别诊断中的难点以及中国面临的问题[J]. *中国实用内科杂志*, 2015, 35(9): 731-734.
- [4] 李冠炜, 任建安. 重视我国克罗恩病流行病学研究[J]. *肠外与肠内营养*, 2017, 24(3): 135-137.
- [5] SHIVASHANKAR R, TREMAINE W J, et al. Incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota from 1970 through 2010[J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology: the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 2017, 15(6): 857-863.
- [6] KEDIA S, DAS P, MADHUSUDHAN K S, et al. Differentiating Crohn's disease from intestinal tuberculosis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2019, 25(4): 418-432.
- [7] FAYE A S, HOLMER A K, AXELRAD J E. Cancer in inflammatory bowel disease[J]. *Gastroenterology Clinics of North Amer-*

- ica, 2022, 51(3): 649–666.
- [8] 杨丽艳, 赵宝宁, 杨贺庆, 等. 半夏泻心汤联合美沙拉嗪治疗轻度活动期克罗恩病疗效研究[J]. 陕西中医, 2021, 42(9): 1240–1242.
- [9] 杨凡. 参苓白术散临床研究进展[J]. 新中医, 2018, 50(10): 38–42.
- [10] 翦闽涛, 宾东华, 李 逵, 等. 参苓白术散加减方保留灌肠治疗溃疡性结肠炎 30 例疗效观察[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(2): 48–50.
- [11] 李 冀. 方剂学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 123.
- [12] MORRIS G P, BECK P L, HERRIDGE M S, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon[J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795–803.
- [13] BUTZNER J D, PARMAR R, BELL C J, et al. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat[J]. *Gut*, 1996, 38(4): 568–573.
- [14] 李冬雪. β -隐黄素对大鼠实验性牙周炎炎症因子的影响[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [15] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: A systematic review of population-based studies[J]. *Lancet*, 2017, 390(10114): 2769–2778.
- [16] TIAN R M, LIU X F, LUO Y Q, et al. Apoptosis exerts a vital role in the treatment of colitis-associated cancer by herbal medicine[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 438.
- [17] BOURGONJE A R, VON MARTELS J Z H, BULTHUIS M L C, et al. Crohn's disease in clinical remission is marked by systemic oxidative stress[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 499.
- [18] WILSON A, CHOI B, SEY M, et al. High infliximab trough concentrations are associated with sustained histologic remission in inflammatory bowel disease: A prospective cohort study[J]. *BioMed Central Gastroenterology*, 2021, 21(1): 77.
- [19] 周 华, 张 敏, 吴 芳, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎的抗炎作用及机制研究[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(19): 1455–1460.
- [20] 张嘉骏, 施家希, 黄 娟, 等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 36–41.
- [21] 王声勇, 朱燕莉, 张 海. 黄芩汤颗粒剂对克罗恩病的免疫调节作用研究以及临床疗效分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016, 24(4): 314–316.
- [22] SONG X, LI J, WANG Y, et al. Clematichinenoside AR ameliorated spontaneous colitis in IL-10^{-/-} mice associated with improving the intestinal barrier function and abnormal immune responses[J]. *Life Sciences*, 2019, 239: 117021.
- [23] LIN X, GAUDINO S J, JANG K K. IL-17RA-signaling in Lgr5⁺ intestinal stem cells induces expression of transcription factor ATOH1 to promote secretory cell lineage commitment[J]. *Immunity*, 2022, 55(2): 237–253.
- [24] LI S J, ZHUGE A X, WANG K C, et al. Ketogenic diet aggravates colitis, impairs intestinal barrier and alters gut microbiota and metabolism in DSS-induced mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(20): 10210–10225.
- [25] CHEN S F, LI X, WANG Y L, et al. Ginsenoside Rb1 attenuates intestinal ischemia/reperfusion-induced inflammation and oxidative stress via activation of the PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2019, 19(5): 3633–3641.
- [26] 太平惠民和剂局. 太平惠民和剂局方[M]. 刘景源, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 109.
- [27] 王佳佳, 迟 莉, 王文娟, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎大鼠 NLPR3、NF- κ B、MUC2、TFF3 基因表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2019, 14(12): 1638–1641.

(本文编辑 苏 维)