

型大鼠血中 TC, 减轻体质及脂肪质量, 但对血糖和 TG 无明显影响, 而黄芪葛根汤对血中各项生化指标无明显影响, 却增加了肝脏质量及升高肝内 TG, 与之前在高脂饲料合并 STZ 造成 II 型糖尿病的大鼠模型中的研究结果不同, 可能是模型及高脂饲料配方不同, 具体机制有待进一步研究。

黄芪散是宋代《圣济总录》治疗“三消渴疾”方, 由葛根、黄芪、桑白皮三味药以 2:1:1 比例组方, 黄芪葛根汤是清代《证治汇补》治疗“酒郁, 内热恶寒”方, 由黄芪、葛根以 2:1 比例组方。两方均以黄芪-葛根药对入方, 用以益气生津, 治疗气阴不足证。黄芪散方中尚有清泻肺热的桑白皮, 黄芪与葛根药对的比例与黄芪葛根汤相反, 益气生津的同时重在清肺和养阴, 而黄芪葛根汤则重在益气。研究显示, 两方在降脂、改善胰岛素抵抗方面作用强度及特点不同, 黄芪散优于黄芪葛根汤。葛根素^[10]、黄芪黄酮^[11]、桑白皮黄酮 DNJ (1-脱氧野尻霉素, 1-deoxynojirimycin)^[12]等黄酮类成分均能显著改善胰岛素抵抗, 且具有协同作用^[13]。化学分析显示两方黄酮类成分的含量也存在明显差异。中药复方配伍理论认为复方中药用量、药味、剂型、服用方法等变化, 均可引起药效变化。因此, 黄芪散与黄芪葛根汤在脂代谢紊乱大鼠模型中的药理作用的差别, 可能与药味和药物之间剂量配比改变, 导致有效组分变化有关, 其科学内涵尚需深入探讨。

(致谢: 非常感谢广州中医药大学 2009 级硕士研究生帅颖、2010 级硕士研究生陈沛鑫在实验准备与实施过程中给予的帮助。)

参考文献:

[1] 赵进喜, 李成卫. 糖尿病临床药对新用[M]. 北京: 中国医药科技

出版社, 2006: 93.

- [2] 王春怡, 陈艳芬, 李卫民, 等. 黄芪葛根汤对糖尿病及胰岛素抵抗小鼠血糖的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2731-2732.
- [3] 王春怡, 李卫民, 高英. 黄芪葛根汤对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及 PPAR- γ mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 152-155.
- [4] 王春怡, 陈艳芬, 李卫民, 等. 黄芪葛根汤对实验性糖尿病及胰岛素抵抗的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 145-149.
- [5] 陈艳芬, 王春怡, 李卫民, 等. 黄芪葛根汤对糖尿病心肌病大鼠氧化应激和 NF- κ B 表达的影响[J]. 中成药, 2012, 34(8): 1428-1432.
- [6] 陈艳芬, 王春怡, 李卫民, 等. 古方黄芪散降糖作用的实验研究[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(1): 73-76.
- [7] Linda T. Tran, Violet G. Yuen, John H. McNeill. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2009, 332(1-2): 145-59.
- [8] Rong X, Li Y, Ebihara K, et al. An adipose tissue-independent insulin-sensitizing action of telmisartan: a study in lipodystrophic mice[J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2009, 331: 1096-1103.
- [9] Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice[J]. Journal of Clinical Investigation, 2008, 118(3): 829-838.
- [10] 曹莉, 顾振纶, 茅彩萍. 葛根素对糖尿病小鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 中草药, 2006, 37(6): 901-904.
- [11] 李楠, 范颖, 贾旭鸣, 等. 黄芪不同有效部位对糖尿病模型大鼠血清胰岛素、脂联素的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 144-146.
- [12] 朱玉霞, 邹德平, 刘学鹏, 等. 桑叶黄酮对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗影响的研究[J]. 四川医学, 2008, 29(9): 1114-1115.
- [13] 肖冰心, 王倩, 樊利青, 等. 葛根黄酮提高桑白皮降糖活性及其机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 149-153.

(编辑: 邓响潮)

大黄牡丹汤提取液对结肠炎小鼠的治疗及作用机制研究

郑冬生, 王丽红, 邓向亮, 周 联(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 研究大黄牡丹汤提取液对 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 诱导的结肠炎小鼠的治疗作用。方法 TNBS/乙醇溶液一次性灌肠建立结肠炎小鼠模型, 大黄牡丹汤提取液低剂量(0.5 g·L⁻¹)、中剂量(1 g·L⁻¹)、高剂量(2 g·L⁻¹)3 个不同剂量灌胃治疗 6 d, 通过观察小鼠一般情况及结肠病理学变化, 检测大黄牡丹汤提取液对结肠炎小鼠的治疗作用。用流式细胞术检测外周血、派氏结、肠系膜淋巴结中 Treg 细胞的变化, ELISA 检测小鼠外周血白细胞介素 10(IL-10)、转化生长因子(TGF- β)的变化。结果 与模型组比较, 大黄牡丹汤提取

收稿日期: 2012-11-04

作者简介: 郑冬生, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药药理。Email: zdshp2007@126.com。通讯作者: 周联, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药免疫药理。Email: zl@gzucm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873415); 教育部博士学科点专项科研基金资助项目(20124425110010)。

液各组小鼠疾病活动指数 (DAI) 评分、大体评分、病理学评分都有降低趋势。中剂量组小鼠大体评分、病理学评分都明显降低 (2.29 ± 0.76 , 2.86 ± 0.69 VS 5.86 ± 0.90 , 5.86 ± 1.07 , $P < 0.05$), 外周血、肠系膜淋巴结、派氏结 Treg 细胞, 外周血 IL-10、TGF- β 升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 大黄牡丹汤提取液各剂量组对结肠炎小鼠均有一定的治疗作用, 治疗的机制可能与提高 Treg 细胞水平有关。

关键词: 大黄牡丹汤提取液; 结肠炎; Treg 细胞; 小鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0226-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.004

Therapeutic Effect and Mechanism of Alcohol Extract from *Dahuang Mudan* Decoction on Colitis Mice Induced by Trinitrobenzene Sulfonic Acid

ZHENG Dongsheng, WANG Lihong, DENG Xiangliang, ZHOU Lian (College of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To study the therapeutic effect of alcohol extract from *Dahuang Mudan* Decoction (DMD) on experimental mice colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). **Methods** The colitis mice model was established by Single-dose enteroclysis of TNBS-alcohol solution. After the modeling, low-dose ($0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), middle-dose ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), and high-dose ($2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) DMD alcohol extract were administered to the mice by intragastric gavage for 6 days. Through the observation of body weight, stool, colon pathological change, the therapeutic effect of DMD alcohol extract on colitis mice was evaluated. The changes of Treg cells in peripheral blood, Peyer's patches (PPs), mesenteric lymph nodes (MLN) were tested by flow cytometry, and the changes of interleukin-10 (IL-10) and transforming growth factor beta (TGF- β) in peripheral blood were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the model group, DAI score, general score and pathological score of DMD alcohol extract groups were decreased, and significant differences were shown in the decrease of general score and pathological score of middle-dose DMD alcohol extract group (2.29 ± 0.76 , 2.86 ± 0.69 VS 5.86 ± 0.90 , 5.86 ± 1.07 , $P < 0.05$), and in the increase of Treg cells count in peripheral blood, PPs and MLN, as well as the peripheral IL-10 and TGF- β ($P < 0.05$). **Conclusion** DMD alcohol extract has certain therapeutic effect on mice colitis induced by TNBS, and the therapeutic mechanism may be related with the increase of the level of Treg cells.

Keywords: Alcohol extract from *Dahuang Mudan* Decoction; Colitis; Treg cells; Mice

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC), 是一种常见的非特异性肠道疾病, 影响其发病的因素很多, 其中免疫因素占主导地位, 也有将溃疡性结肠炎归为自身免疫性疾病^[1]。2, 4, 6- 三硝基苯磺酸 (TNBS) / 乙醇溶液诱导的小鼠结肠炎, 病理特点及发病机制与溃疡性结肠炎近似^[2]。大黄牡丹汤出自张仲景的《金匱要略》, 由大黄 12 g、桃仁 12 g、丹皮 9 g、芒硝 9 g、冬瓜子 30 g 组成, 具有泻热破瘀、散结消肿的作用, 是治疗肠痈初期的经典方。大黄牡丹汤对结肠炎小鼠的实验研究^[3]及其主要成分丹皮酚、大黄酸抗炎、抗氧化和调节免疫等方面的药理机制^[4-5], 提示大黄牡丹汤醇提液治疗小鼠结肠炎可能也有较好的治疗效果。本实验采用 TNBS 诱发小鼠结肠炎模型, 观察大黄牡丹汤提取液对小鼠一般情况和结肠黏膜病理学变化判断其治疗作用, 通过 Treg 细胞数量和转化生长因子 (TGF- β)、白细胞介素 10 (IL-10)

水平治疗前后的变化, 探讨大黄牡丹汤提取液对结肠炎的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药物 大黄, 批号: 20120827; 牡丹皮, 批号: 120901; 桃仁, 批号: 20120512; 冬瓜子, 批号: 20120827; 芒硝, 批号: 51812711; 柳氮磺胺吡啶肠溶片, 批号: 20110503, 上海福达制药有限公司。

1.2 试剂 5 % 三硝基苯磺酸 (TNBS), 美国 Sigma 公司; TGF- β (批号: 128121214)、IL-10 (批号: 121021222) 试剂盒, 联科生物公司; CD4⁺-PE-cy7 (批号: B144733), BioLegend; CD25⁺-PE (批号: E01154-516)、Foxp3⁺-APC (批号: E07303-1634), eBioscience 公司。TNBS/ 乙醇溶液的配制: 50 μL TNBS+75 μL 无水乙醇 +25 μL PBS。

1.3 动物 SPF 级 BALB/c 雌性小鼠, 体质量 20 ~ 22 g,

购于广东省医学实验动物中心，许可证号：SCXK（粤）2008-0002。

1.4 仪器 KD-2258S 轮转式石蜡切片机，浙江金华科迪仪器设备有限公司；RE- 52AA 旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；多功能酶标仪，瑞士 TECAN 公司；FACS canto II 流式仪，美国 BD 公司。

1.5 方法

1.5.1 大黄牡丹汤提取液的制备 参照文献^[6]提取、旋蒸，将提取液浓缩至相当于生药量 0.5，1，2 g·L⁻¹ 3 个浓度。

1.5.2 动物模型复制、分组及给药 参照文献方法^[7]并加以改进，BALB/c 小鼠 60 只，随机分为 6 组，即正常对照组，模型组，大黄牡丹汤提取液低、中、高剂量组，阳性药组，每组 10 只。禁食不禁水 24 h，4 %的水合氯醛(7.5 mL·kg⁻¹)麻醉小鼠至无意识状态，除正常对照组外，灌肠 TNBS/ 乙醇溶液 150 μL 复制模型。6 h 后各组分别灌胃生理盐水、大黄牡丹汤提取液(4.7，9.4，18.8 g·kg⁻¹)、柳氮磺胺吡啶(390 mg·kg⁻¹)，连续给药 6 d。

1.5.3 一般情况 每天观察活动情况、记录小鼠体质量的变化、大便情况(大便性状、血便等)、精神状态、进食量、皮毛变化等。参照 Cooper^[8]方法进行疾病活动指数(DAI)评分。

1.5.4 结肠损伤评分 观察结肠充血、溃疡和肠壁增厚情况，参照文献^[9]进行结肠大体形态损伤评分。

1.5.5 病理学检查 剪取病变部位，10 %的中性甲醛固定、石蜡包埋、切片厚 4 μm，HE 染色，光镜下观察结肠组织病理学改变，参照文献^[10]进行结肠组织病理学评分。

1.5.6 Treg 细胞数量检测 脱颈椎处死小鼠，取小鼠派氏结、肠系膜淋巴结，加 PBS 于 200 目筛网上轻轻研压，得到单细胞悬液；摘眼球取血 0.5 mL 于肝素抗凝管中摇匀，加入红细胞裂解液 2 mL，避光裂解 10 min，300 g 离心 5 min，PBS 洗涤 2 次，得到细胞悬液；取细胞悬液 100 μL，加入 10 μL CD4⁺-PE-cy7、10 μL CD25⁺-PE 后混匀，暗处室温反应 30 min，冷 PBS 洗涤后，加入 1 mL 经过稀释的固定、透膜剂，反应 50 min 后以透膜缓冲液洗涤并重悬，加入 10 μL Foxp3⁺-APC(同时设同型对照反应管)，反应 30 min 后洗涤，以 300 μL 冷 PBS 重悬，进行流式测定。

1.5.7 外周血 IL-10、TGF-β 的检测 小鼠摘眼球取血 0.75 mL，3500 r·min⁻¹，4 ℃，10 min 离心，取血

清 200 μL，采用 IL-10 和 TGF-β 酶联免疫试剂盒，具体操作严格按照说明书进行。

1.6 统计学处理方法 统计软件采用 SPSS17.0 for Windows。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示，符合正态分布者，多组间比较采用单因素方差分析，不符合正态分布者，组间比较采用独立样本的 Wilcoxon 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 见表 1。正常对照组小鼠反应灵敏，毛发有光泽，饮食正常，无腹泻。模型组小鼠，精神萎靡，少动，毛发杂乱无光泽，饮食量减少，出现不同程度的腹泻及便血。各给药组小鼠精神逐渐好转，饮食量、体质量逐渐恢复。处死前所有模型组小鼠体质量低于正常对照组，差异有统计学意义($P < 0.05$)；模型组低于大黄牡丹汤提取液各剂量组，差异有统计学意义($P < 0.05$)，但大黄牡丹汤提取液各剂量组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有模型组小鼠 DAI 评分明显高于正常对照组($P < 0.05$)，模型组明显高于给药组，差异有统计学意义($P < 0.05$)，中剂量组对结肠炎小鼠 DAI 评分改变明显，但与柳氮磺胺吡啶组比较，差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表1 各组小鼠体质量、DAI 评分($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	体质量 /g	DAI 评分
正常对照组	-	21.77 ± 0.60	0
模型组	-	18.93 ± 0.66*	5.71 ± 0.95*
大黄牡丹汤提取液低剂量组	4.7	20.34 ± 0.49*	2.29 ± 0.49**
大黄牡丹汤提取液中剂量组	9.4	20.54 ± 0.89*	1.71 ± 0.95**
大黄牡丹汤提取液高剂量组	18.8	20.21 ± 0.80*	2.14 ± 1.07**
柳氮磺胺吡啶组	0.39	20.5 ± 0.85*	1.14 ± 0.69**

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

2.2 结肠大体形态损伤评分 见表 2。正常对照组小鼠结肠大体形态正常，皱襞纹理清晰，肠壁不增厚，无粘连，黏膜未见充血、糜烂及溃疡；模型组小鼠可见肠道粘连，肠管积气积粪，肠壁增厚，肠黏膜广泛充血水肿并可见明显的溃疡灶。大黄牡丹汤提取液各剂量组、阳性药组小鼠结肠病变明显减轻，肠壁增厚降低，肠黏膜无明显糜烂、溃疡，仅局部见充血、水肿。模型组小鼠结肠大体形态评分显著高于正常对照组($P < 0.05$)，大黄牡丹汤提取液各剂量组、阳性药组 DAI 评分较模型组显著下降，差异有统计学意义($P < 0.01$)。

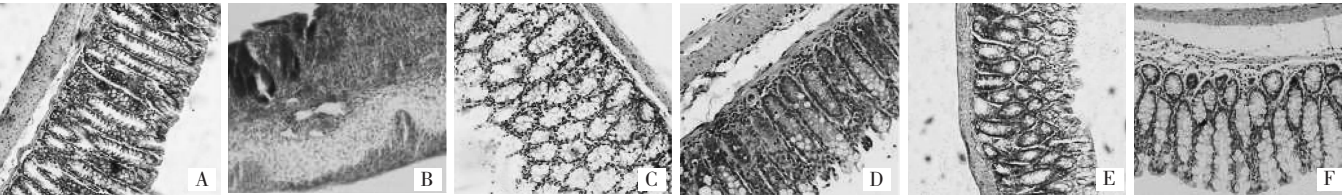
2.3 结肠组织病理学评分 见表 2 及图 1。正常对照组小鼠镜下观察结肠组织形态正常，结肠各层结构清晰，未见水肿、糜烂及溃疡形成，间质少量淋巴细胞浸润；模型组小鼠结肠组织可见黏膜层、黏膜下层广泛溃疡形成，大量中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润，腺体破坏，结构紊乱，杯状细胞大量减少，隐窝消失，隐窝炎症及脓肿形成。大黄牡丹汤提取液中、高剂量组，柳氮磺胺吡啶组小鼠结肠组织可见病变明显减轻，溃疡愈合，隐窝脓肿消失，充血水肿明显减轻，炎性细胞浸润明显减少。所有造模组小鼠结肠组织病理学评分显著高于正常对照组($P < 0.01$)，高剂量组、柳氮磺胺吡啶组较模

型组明显下降，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，但两治疗组间差异无统计学意义。

表 2 各组小鼠结肠大体形态损伤及组织病理学评分($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	大体评分	病理学评分
正常对照组	—	0	0
模型组	—	$5.86 \pm 0.90^*$	$5.86 \pm 1.07^*$
大黄牡丹汤提取液低剂量组	4.7	4.71 ± 0.76	4.43 ± 0.53
大黄牡丹汤提取液中剂量组	9.4	$3.29 \pm 0.49^*$	$3.14 \pm 0.90^*$
大黄牡丹汤提取液高剂量组	18.8	$4.43 \pm 0.53^*$	3.29 ± 0.49
柳氮磺胺吡啶组	0.39	$2.29 \pm 0.76^*$	$2.86 \pm 0.69^*$

注：与正常对照组比较， $^*P < 0.05$ ；与模型组比较， $^*P < 0.05$ 。



A. 正常对照组；B. 模型组；C~E. 大黄牡丹汤提取液低、中、高剂量组；F. 柳氮磺胺吡啶组

图 1 各组小鼠结肠组织病理图片(HE, $\times 100$)

Figure 1 Pathological feature of mice colon tissue in each group(by HE staining, $\times 100$)

2.4 小鼠外周血 IL-10 和 TGF- β 水平检测 见表 3。与正常对照组比较，模型组细胞因子 IL-10 和 TGF- β 的水平显著降低，差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较，大黄牡丹汤提取液低、中剂量组、阳性药组 IL-10 的水平显著升高($P < 0.01$)，大黄牡丹汤提取液高剂量组水平升高，但差异无统计学意义($P > 0.05$)；大黄牡丹汤提取液低、中及高剂量组及阳性药组 TGF- β 水平均显著升高，差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 3 各组小鼠外周血 IL-10 和 TGF- β 的水平($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 The level of IL-10 and TGF- β in peripheral blood of each group

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-10 / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	TGF- β / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常对照组	—	7.84 ± 0.30	100.40 ± 6.35
模型组	—	$2.42 \pm 0.28^{**}$	$46.90 \pm 8.98^{**}$
大黄牡丹汤提取液低剂量组	4.7	$4.49 \pm 0.25^{**}$	$70.59 \pm 6.35^{**}$
大黄牡丹汤提取液中剂量组	9.4	$7.08 \pm 0.46^{**}$	$80.91 \pm 3.85^{**}$
大黄牡丹汤提取液高剂量组	18.8	4.88 ± 0.78	$58.24 \pm 2.40^{**}$
柳氮磺胺吡啶组	0.39	$8.20 \pm 1.04^{**}$	$89.07 \pm 4.31^{**}$

注：与正常对照组比较， $^{**}P < 0.01$ ；与模型组比较， $^{**}P < 0.01$ 。

2.5 各组小鼠外周血、肠系膜淋巴结、派氏结中 Treg 细胞的表达水平 见表 4。与正常对照组比较，模型组除外周血 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}/\text{CD4}^+$ 的百分率外，肠系膜淋巴结、派氏结 Treg 细胞百分率均显著

降低，差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较，大黄牡丹汤提取液中剂量组、阳性药组外周血 Treg 细胞百分率升高，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；大黄牡丹汤提取液中、高剂量组及阳性药组肠系膜淋巴结 Treg 细胞百分率升高，差异有统计学意义($P < 0.01$)；各治疗组派氏结中 Treg 细胞百分率均升高，差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 4 各组小鼠不同部位 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}/\text{CD4}^+$ 的表达水平($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 The level of $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}/\text{CD4}^+$ in different parts of mice

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$(\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}/\text{CD4}^+) / \%$		
		外周血	肠系膜淋巴结	派氏结
正常对照组	—	6.53 ± 0.43	12.82 ± 0.27	10.03 ± 0.30
模型组	—	5.23 ± 0.67	$11.42 \pm 0.31^{**}$	$8.7 \pm 0.08^{**}$
大黄牡丹汤提取液低剂量组	4.7	6.98 ± 0.46	12.74 ± 0.72	$9.45 \pm 0.13^*$
大黄牡丹汤提取液中剂量组	9.4	$7.20 \pm 0.45^*$	$13.68 \pm 0.33^{**}$	$9.5 \pm 0.18^*$
大黄牡丹汤提取液高剂量组	18.8	7.00 ± 0.38	$13.66 \pm 0.90^{**}$	$8.23 \pm 0.21^*$
柳氮磺胺吡啶组	0.39	$8.68 \pm 1.09^*$	$15.50 \pm 0.59^{**}$	$9.8 \pm 0.08^*$

注：与正常对照组比较， $^{**}P < 0.01$ ；与模型组比较， $^*P < 0.05$ ， $^{**}P < 0.01$ 。

3 讨论

UC 是一种病因未明的侵犯结肠的自身免疫性疾病。目前认为，在自身免疫性疾病发病过程中，Treg

细胞数量减少,免疫抑制作用降低,从而导致免疫失衡,引发自身免疫性疾病^[1]。事实上,Treg细胞在UC中有重要的免疫调节作用已初步得到证实,其功能异常或数量减少均可发生导致自身免疫性疾病发生,Treg细胞对UC有预防和治疗作用^[2]。Treg细胞在自身免疫性疾病中的作用,主要是通过释放细胞因子IL-10和TGF- β 抑制效应性T细胞,从而维持机体的免疫平衡和稳定^[3]。

本研究中,动物模型的结肠组织学变化符合UC的基本病理学改变,显示TNBS诱导的结肠炎小鼠模型成功。肠系膜淋巴结、派氏结Treg细胞百分率下降,进一步证实了Treg细胞数量减少可以引起小鼠免疫调节能力下降和免疫抑制功能的削弱是诱发肠道炎症发生的重要机制;全血的Treg细胞百分率也有下降趋势,则反映了局部肠道炎症和免疫紊乱,可能引起宿主机体的自发免疫反应。结肠的病理变化和评分,说明肠道处于炎症急性期,黏膜糜烂、水肿、隐窝减少、中性粒细胞侵入黏膜层和固有层等,是明显的炎症表现。这也说明了Treg细胞与小鼠结肠炎密切相关,在结肠炎的发生发展过程中扮演着重要角色。

结肠炎小鼠经大黄牡丹汤醇提液治疗后,肠道炎症病理改变明显缓解,糜烂、水肿、炎细胞浸润等较模型组减轻,提示大黄牡丹汤提取液对结肠炎有一定的治疗作用。治疗后小鼠全血与肠系膜淋巴结、派氏结内淋巴细胞Treg细胞的百分率较模型组提高,说明这种治疗作用与大黄牡丹汤提取液能改变Treg细胞数量有关。治疗后小鼠全血中IL-10、TGF- β 水平较模型组提高,进一步说明了大黄牡丹汤提取液可能是作用于Treg细胞。

综上所述,大黄牡丹汤提取液能有效改善TNBS/乙醇诱导的小鼠结肠炎,其机制可能与升高IL-10、

TGF- β 水平以及增加Treg细胞表达有关,具体作用机制尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Mayer L. Evolving paradigms in the pathogenesis of IBD[J]. J Gastroenterol, 2010, 45(1): 9-16.
- [2] Maximilian JW, Markus FN. Chemically induced mouse Models of colitis[M]. Current Protocols in Pharmacology, 2009: 5.55.1-5.55.15.
- [3] 周成梅,王青,周联,等. 大黄牡丹汤对实验性结肠炎小鼠模型的治疗作用[J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(4): 263-265.
- [4] 金汝城,谢伟雪. 大黄的化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(11): 548-551.
- [5] 孙言才,沈玉先,孙国平. 丹皮酚的主要药理活性研究进展[J]. 中成药, 2004, 6(7): 579-582.
- [6] 刘丽尹,运涵,赵春杰. HPLC法同时测定大黄牡丹汤中大黄酸、丹皮酚和芍药苷的含量[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(3): 139-141.
- [7] 徐阳,李伟光,刘海峰,等. 三硝基苯磺酸诱导小鼠溃疡性结肠炎模型制备的技术改良[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(2): 106-112.
- [8] Cooper HS, Murthy SN. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis[J]. Lab Invest, 1993, 69(2): 238-249.
- [9] Luk HH, Cho CH. Delineation of the protective action of zinc sulfate on ulcerative colitis in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2002, 443(3): 197-204.
- [10] Obermeier F, Dunger N, Falk W. Contrasting activity of cytosin-guanosin dinucleotide oligonucleotides in mice with experimental colitis[J]. Clin Exp Immunol, 2003, 134(2): 217-224.
- [11] Saito K. Differential regulatory function of resting and preactivated allergen-specific CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in Th2-type airway[J]. J Immunol, 2008, 181(10): 6889-6897.
- [12] Yu QT, Banham AH, Papadakis KA. Expression and functional characterization of FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells in ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13(2): 191-199.
- [13] Zhang N. Regulatory T cells sequentially migrate from inflamed tissues to draining lymph nodes to suppress the alloimmune response[J]. Immunity, 2009, 30(3): 458-469.

(编辑:邓响潮)

化痰中药半夏及山慈菇抗动脉粥样硬化的作用机制研究

杨 广,江 巍,张敏州,阮新民(广州中医药大学第二附属医院,广东 广州 510120)

摘要:目的 探讨半夏、山慈菇的调脂及内皮保护作用。**方法** 采用高脂喂养方法复制大鼠高脂血症模型,造模成功后,将高脂血症大鼠随机分为模型组、阿托伐他汀组、半夏组及山慈菇组4组,分别给予生理盐水、阿

收稿日期:2013-01-07

作者简介:杨广,男,硕士,主治医师,研究方向:重症医学及心血管病的中西医结合研究。Email: yg_1918@163.com。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(2011KT2001)。