

雷娜,雷兰平,吴容,等. 甘草泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白 3、4 的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(8): 47-54.

Lei N, Lei LP, Wu R, et al. Effects of Gancao Xiexin decoction on aquaporin 3 and 4 in rats with ulcerative colitis [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(8): 47-54.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.08.007

甘草泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白 3、4 的影响

雷娜¹,雷兰平²,吴容¹,权娜娜³,唐学贵^{4*}

(1.成都中医药大学,成都 611137;2.中南大学湘雅二医院,长沙 410013;3.彭州市人民医院,四川 彭州 611930;
4.川北医学院附属医院,四川 南充 637000)

【摘要】 目的 探讨甘草泻心汤对溃疡性结肠炎(UC)大鼠水通道蛋白 3、4 的影响。**方法** 清洁级 SD 大鼠 32 只,抽取 8 只作为空白组,余下 24 只采用 4% 葡聚糖硫酸钠复制 UC 模型,模型成功后随机分为模型组,西药组(美沙拉嗪缓释颗粒),中药组(甘草泻心汤),每组 8 只,持续灌胃 2 周,每天 1 次。检测并记录体质量、疾病活动指数、结肠长度、结肠黏膜损伤指数、组织病理学改变和结肠组织学损伤指数,血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 1 β (IL-1 β)、IL-6,结肠水通道蛋白 3 (AQP3)、水通道蛋白 4 (AQP4) 蛋白和 mRNA。**结果** 与空白组相比,模型组和给药组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 浓度升高 ($P<0.05$);模型组和给药组结肠 AQP3、AQP4 蛋白表达降低 ($P<0.05$);模型组、给药组结肠 AQP3 mRNA 表达和模型组、西药组结肠 AQP4 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。中药组结肠 AQP4 mRNA 表达与空白组相比无统计学差异 ($P>0.05$)。与模型组相比,给药组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 浓度降低 ($P<0.05$);中药组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 浓度比西药组更低 ($P<0.05$);给药组结肠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 表达升高 ($P<0.05$);中药组结肠 AQP4 蛋白表达比西药组更高 ($P<0.05$);中药组结肠 AQP3、AQP4 mRNA 表达比西药组更高 ($P<0.05$)。**结论** 甘草泻心汤能有效改善 UC 大鼠体质量、疾病活动指数、结肠黏膜损伤指数、组织学损伤指数等情况,其可能通过改善结肠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 表达,调节血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平,推测这些可能是甘草泻心汤治疗 UC 的效应机制。

【关键词】 甘草泻心汤;溃疡性结肠炎;水通道蛋白 3;水通道蛋白 4;炎症因子

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 08-0047-08

Effects of Gancao Xiexin decoction on aquaporin 3 and 4 in rats with ulcerative colitis

LEI Na¹, LEI Lanping², WU Rong¹, QUAN Nana³, TANG Xuegui^{4*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China. 2. the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013. 3. the People's Hospital of Pengzhou, Pengzhou 611930. 4. Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000)

【Abstract】 Objective To explore the effects of Gancao Xiexin decoction (GXD) on aquaporin (AQP) 3 and AQP4 in rats with ulcerative colitis (UC). **Methods** Thirty-two clean SD rats, eight SD rats were used as the blank group, the remaining 24 rats were used to replicate the UC model with 4% dextran sulfate sodium. After the model was successful, the

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (82074429)。

[作者简介] 雷娜 (1993—), 女, 医师, 在读博士研究生, 研究方向: 中医药防治消化疾病。E-mail: 805055027@qq.com

[通信作者] 唐学贵 (1966—), 男, 主任医师, 博士, 研究方向: 中医药防治消化疾病的诊治、研究与教学。E-mail: txg668nc@sohu.com

rats were divided into model, Western medicine(slow-release mesalazine granules), and Chinese medicine(Gancao Xiexin decoction)groups, eight rats in each group and then gavaged continuously for 2 weeks once a day. Body mass, disease activity index, colon length, colonic mucosa damage index, histopathological changes, histological damage index, serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-(IL)-1 β , IL-6 and colonic AQP3 and AQP4 were assessed. **Results** Compared with the blank group, serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in model and administration groups were increased($P<0.05$), colonic AQP3 and AQP4 levels in model and administration groups were decreased($P<0.05$), and colonic AQP3 mRNA levels in model and administration groups, and AQP4 mRNA levels in model and Western medicine groups were declined($P<0.05$). There was no remarkable difference in mRNA expression of colonic AQP4 between Chinese medicine and blank groups($P>0.05$). Compared with the model group, serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in Western and Chinese medicine groups were decreased($P<0.05$), serum levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in the Chinese medicine group were lower than those in the Western medicine group($P<0.05$), colonic AQP3 and AQP4 protein and mRNA levels in administration groups were increased($P<0.05$), the colonic AQP4 protein level in the Chinese medicine group was higher than that in the Western medicine group($P<0.05$), and colonic AQP3 and AQP4 mRNA levels in the Chinese medicine group were higher than those in the Western medicine group($P<0.05$). **Conclusions** GXD effectively improves the body weight, disease activity index, colonic mucosa damage index, and histological damage index of UC rats, which may regulate serum TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels by improving AQP3 and AQP4 protein and mRNA levels in the colon, which may be the mechanism of GXD in for UC treatment.

【Keywords】 Gancao Xiexin decoction; ulcerative colitis; aquaporin 3; aquaporin 4; inflammatory factors

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)主要表现为腹痛、腹泻和便血,并伴有不同全身症状。临床上治疗 UC 常用药物为氨基水杨酸、激素以及免疫抑制剂等,这类药物虽然效果显著,但其对免疫系统的非特异性作用限制了其进一步的应用^[1]。UC 是中医药治疗的优势病种,可以起到缓解临床症状和肠道炎症,减少复发,促进肠黏膜愈合,防治并发症,提高患者生活质量等作用^[2-4]。甘草泻心汤最早见于《伤寒论》,临床上常用于治疗消化系统疾病,如口腔溃疡、胃溃疡、溃疡性结肠炎等。肠黏膜上分布着大量水通道蛋白(aquaporins, AQPs),其在肠道水液吸收、分泌、代谢和调控肠道炎症过程中起到重要作用^[5-7]。研究报道,AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)大鼠肠组织中表达明显降低,提示 AQP3、AQP4 参与了 IBD 的发病^[6,8]。本实验通过观察甘草泻心汤对 UC 大鼠结肠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 的影响及其对血清肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 的调节作用,探讨甘草泻心汤对 UC 大鼠结肠 AQP3、AQP4 的影响及其对 UC 大鼠的保护效应。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠,体重 190~210 g,32 只,

来源于川北医学院实验动物中心[SCXK(川)2018-18]。实验环境为川北医学院实验动物中心屏障环境动物房[SYXK(川)2018-076]。所有动物实验操作均遵守川北医学院实验动物伦理规范(2022-18)并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

甘草泻心汤(炙甘草 12 g、党参 9 g、大枣 6 g、半夏 9 g、干姜 9 g、黄芩 9 g、黄连 3 g)购于川北医学院附属医院中药房;美沙拉秦缓释颗粒(国药准字: H20143164,规格每包 0.5 g,上海爱的发公司);葡聚糖硫酸钠(批号:OS1701A,上海西宝公司);大鼠 TNF- α ELISA 试剂盒(货号: E-EL-R2856c,伊莱瑞特生物公司);大鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(货号: E-EL-R0012c,伊莱瑞特生物公司);大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒(货号: E-EL-R0015c,伊莱瑞特生物公司);AQP3 抗体(批号: ab125219,Abcam 公司);AQP4 抗体(批号: ab9512, Abcam 公司);TRIzol(批号: 15596-026,Invitrogen 公司)。离心机(湘仪,型号: TDZ4-WS);切片机(LEICA,型号: RM2125RTS);酶标仪(Bio Rad,型号: i Mark);Rt-PCR 仪(Roche,型号: LightCycler96)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及造模

32 只大鼠适应性喂养 7 d,随机抽取 8 只作为空白组(blank group, BG)。余下 24 只复制 UC 模

型,自由饮用 4% 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 溶液 7 d。确认模型成功后,将余下 24 只模型组大鼠区组随机分为 3 组:模型组 (model group, MG)、西药组 (Western medicine group, WMG) 和中药组 (Chinese medicine group, CMG), 每组 8 只。分组后模型组和给药组大鼠体重及结肠炎疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分, 组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

1.3.2 给药

空白组:不干预;模型组:等体积生理盐水灌胃;西药组:美沙拉嗪缓释颗粒灌胃 (0.36 g/kg);中药组:甘草泻心汤灌胃 (4.32 g/kg)。每天灌胃 1 次,连续 2 周。给药剂量参照《药理与中药药理实验》^[9]的方法计算。

1.3.3 取材

末次给药后禁食不禁饮 24 h,2% 戊巴比妥钠 (0.05 mg/kg) 腹腔麻醉。腹主动脉采血,血液静置 2 h,以 3500 r/min 离心 8 min,取上清液于 EP 管, -80℃ 冰箱保存备检。颈椎脱臼法处死大鼠,离断全部结肠,冲洗干净,选取一段结肠用多聚甲醛固定,余下结肠于 -80℃ 冰箱保存待检。

1.3.4 指标观察与检测

(1) 一般情况

每日观察大鼠精神状态、行为活动、大便性状等情况以及称取体重。

(2) 大便隐血检测

采用邻联甲苯胺法^[10]:用棉签取少量大便涂于载玻片上,加 1% 邻联甲苯胺冰醋酸溶液 2~3 滴,加 3% 过氧化氢 2~3 滴,立即观察结果。结果判断如下:2 min 后仍不显色,阴性-;10 s 后,由浅蓝色变成蓝色,阳性+;初显浅蓝褐色,逐渐呈明显蓝褐色,阳性++;立即呈现蓝褐色,阳性+++;立即出现蓝黑褐色,阳性++++。

(3) DAI 评估

参考 Murano 等^[11]提供的评分标准。DAI = (体

重下降+大便性状+大便隐血)/3。体重下降比率评分:体重下降<1%,0 分;体重下降 1%~5%,1 分;体重下降 5%~11%,2 分;体重下降 11%~15%,3 分;体重下降>15%,4 分。大便性状评分:正常(成形的大便),0 分;松散(不黏附于肛门的半成形大便),2 分;稀便(可黏附于肛门的水样便),4 分。大便隐血评分:正常,0 分;隐血(+),2 分;血便,4 分。

(4) 结肠长度测量及结肠黏膜损伤指数 (colonic mucosa damage index, CMDI) 评估

取材时测量大鼠结肠长度, CMDI 评估参考 Huang 等^[12]在文献中提供的指标,评分标准如下:没有炎症,0 分;局部充血无溃疡,1 分;局部溃疡但无充血,2 分;同一部位有溃疡和组织粘连,3 分;两个或两个以上部位炎症以及溃疡延伸>1 cm,4 分;溃疡延伸超过 2 cm,5 分。

(5) 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色

大鼠结肠组织常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡后,进行 HE 染色,封片,镜下观察结肠组织结构、炎症及损伤情况。

(6) 结肠组织学损伤指数 (histological damage index, HI) 评估。

根据 HE 染色结果计算 HI 评分,参考 Sánchez-Fidalgo 等^[13]文献中的评分标准,详见表 1。

(7) 酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测定大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 浓度

取大鼠血清于室温下解冻,按照试剂盒说明书进行检测。

(8) 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 染色法检测结肠组织 AQP3、AQP4 蛋白表达

大鼠结肠常规脱水、包埋、切片,脱蜡水化,抗原修复,滴加稀释好的 AQP3 (或 AQP4) 抗体,于湿盒内 4℃ 过夜。次日于 37℃ 复温,滴加二抗, DAB 显色,苏木素复染,封片。通过 Image-Pro Plus 6.0 分析结果。

表 1 HI 评分标准
Table 1 HI score criteria

得分 Score	炎症 Inflammation	程度 Extent	腺窝损伤 Crypt damage
0	无 None	无 None	无 None
1	轻微 Slight	黏膜 Mucosa	基底 1/3 受损 Basal 1/3 damaged
2	中度 Moderate	黏膜和黏膜下层 Mucosa and submucosa	基底 2/3 受损 Basal 2/3 damaged
3	严重 Severe	全层 Transmural	仅表面上皮完整,整个隐窝和上皮丢失 Only surface epithelium intact, entire crypt and epithelium lost

(9) 逆转录-聚合酶链反应法(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)测定结肠组织 AQP3、AQP4 mRNA 表达

①总 RNA 提取及逆转录反应:用 TRIzol 提取总 RNA,测定浓度,逆转录成 cDNA 模板。

②PCR 反应:以 β -actin 为内参,对 cDNA 模板进行扩增,引物序列见表 2。

③结果处理:通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 mRNA 相对表达水平。

1.4 统计学方法

以 SPSS 26.0 软件分析数据,计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布且方差齐的数据进行 One-way ANOVA 分析,组间两两比较进行 LSD(方差齐)或 Tamhane's T_2 (方差不齐)分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

造模后,模型组和给药组大鼠蜷缩、倦怠、活动减少,体重下降明显,大部分出现血便、肛周有明显血液沾染和大便黏附等情况。

2.2 大鼠体重

造模前,组间体重两两比较,无显著差异($P>0.05$)。造模后,模型组和给药组较空白组明显降

低($P<0.05$),模型组和给药组组间两两比较,无统计学差异($P>0.05$)。治疗 1 周,模型组和给药组较空白组低($P<0.05$),中药组较模型组高($P<0.05$)。治疗 2 周,模型组和给药组仍较空白组低($P<0.05$),中药组较模型组高($P<0.05$),见图 1。

2.3 DAI 评分

造模后,模型组和给药组较空白组明显升高($P<0.05$),模型组和给药组组间两两比较无统计学差异($P>0.05$)。治疗 1 周,模型组和给药组较空白组高($P<0.05$),中药组较模型组降低($P<0.05$)。治疗 2 周,模型组和给药组评分继续降低,仍比空白组高($P<0.05$),西药组与中药组较模型组低($P<0.05$),见图 2。

2.4 结肠长度

与空白组相比,模型组和西药组结肠长度缩短($P<0.05$)。中药组与空白组相比,无显著差异($P>0.05$)。给药组较模型组结肠长度更长($P<0.05$),见图 3。

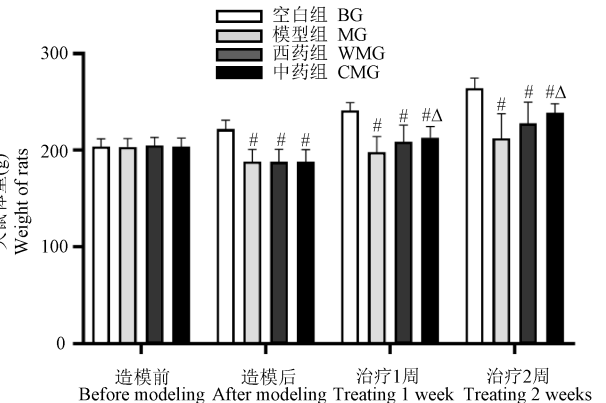
与空白组相比,模型组和给药组 CMDI 评分升高($P<0.05$)。与模型组相比,中药组降低($P<0.05$)。中药组比西药组更低($P<0.05$),见图 3。

2.5 HE 染色结果

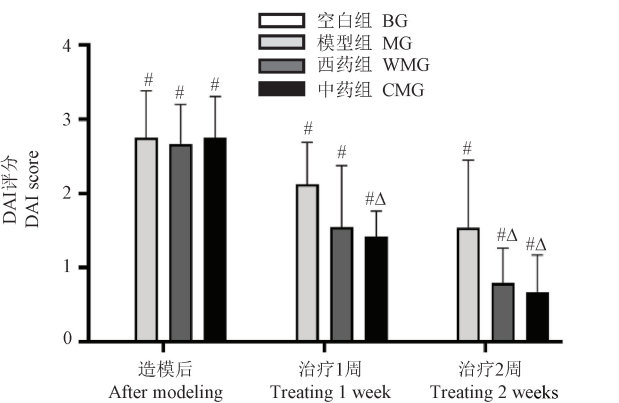
空白组结肠组织各层结构清晰,未见炎细胞浸润。模型组肠壁结构破坏明显,可见大量炎症细胞

表 2 AQP3、AQP4 引物序列
Table 2 AQP3, AQP4 primers sequences

引物名称 Primer name	上游(5'→3') Forward(5'→3')	下游(5'→3') Reverse(5'→3')
β -actin	TGTCACCAACTGGGACGATA	GGGGTGTGAAGGTCTCAAA
AQP3	ACTTGGCTTTTGGCTTCGCT	GTGCCAGTGTCTAGATGGGC
AQP4	CGGAGCCAGCATGAATCCAG	GCACAGCGCCTATGATTGGT



注:与空白组相比, $^{\#}P<0.05$;与模型组相比, $^{\Delta}P<0.05$ 。
Note. Compared with blank group, $^{\#}P<0.05$. Compared with model group, $^{\Delta}P<0.05$.



注:与空白组相比, $^{\#}P<0.05$;与模型组相比, $^{\Delta}P<0.05$ 。
Note. Compared with blank group, $^{\#}P<0.05$. Compared with model group, $^{\Delta}P<0.05$.

Figure 1 Weight of rats Figure 2 DAI score

浸润。西药组可观察到黏膜层结构模糊及缺失,少量炎细胞浸润。中药组的结肠组织各层结构比较清晰,小部分黏膜层缺损、模糊,较少炎症细胞浸润,见图 4。

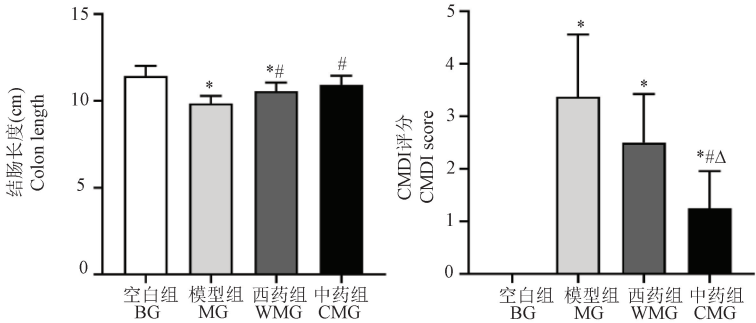
2.6 HI 评分

与空白组相比,模型组和给药组 HI 评分升高 ($P<0.05$)。与模型组相比,给药组降低 ($P<0.05$)。

中药组比西药组更低 ($P<0.05$),见图 5。

2.7 血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度

与空白组相比,模型组和给药组血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度升高 ($P<0.05$)。与模型组相比,西药组和中药组血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度降低 ($P<0.05$)。中药组血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度比西药组更低 ($P<0.05$),见图 6。



注:与空白组相比, * $P<0.05$;与模型组相比, # $P<0.05$;与西药组相比, Δ $P<0.05$ 。

图 3 结肠长度、CMDI 评分

Note. Compared with blank group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Western medicine group, Δ $P<0.05$.

Figure 3 Colon length, CMDI score

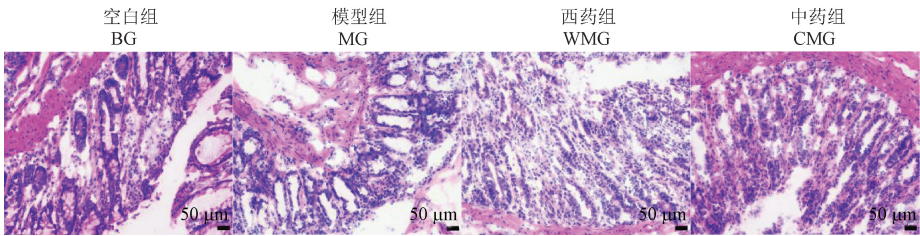


图 4 HE 染色

Figure 4 HE staining

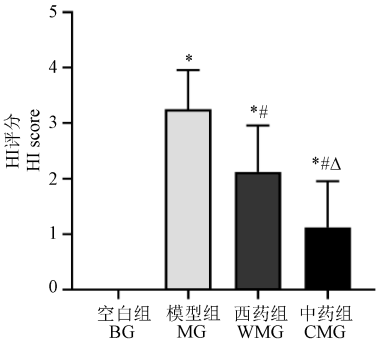
2.8 结肠 AQP3、AQP4 蛋白相对表达

AQP3 较集中地表达于结肠黏膜层顶部,呈深棕色,少量分布于黏膜下层和浆膜层,呈浅棕色(图 7A)。AQP4 较分散地表达于大鼠结肠全层,以黏膜层分布最多,染色最深,黏膜下层、肌层及浆膜层分布次之,染色稍淡(图 7B)。

结肠 AQP3、AQP4 蛋白相对表达水平见图 7C、7D。与空白组相比,模型组和给药组结肠 AQP3、AQP4 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。与模型组相比,给药组结肠 AQP3、AQP4 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。中药组 AQP4 蛋白表达较西药组高 ($P<0.05$)。

2.9 结肠 AQP3、AQP4 mRNA 相对表达

如图 8 所示,与空白组相比,模型组、给药组结肠 AQP3 mRNA 表达和模型组、西药组结肠 AQP4 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。中药组结肠 AQP4

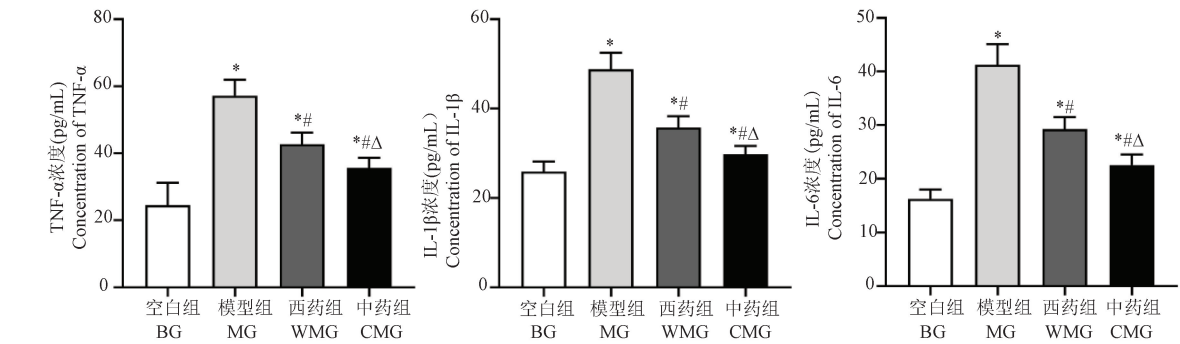


注:与空白组相比, * $P<0.05$;与模型组相比, # $P<0.05$;与西药组相比, Δ $P<0.05$ 。

图 5 HI 评分

Note. Compared to blank group, * $P<0.05$. Compared to model group, # $P<0.05$. Compared to Western medicine group, Δ $P<0.05$.

Figure 5 HI score

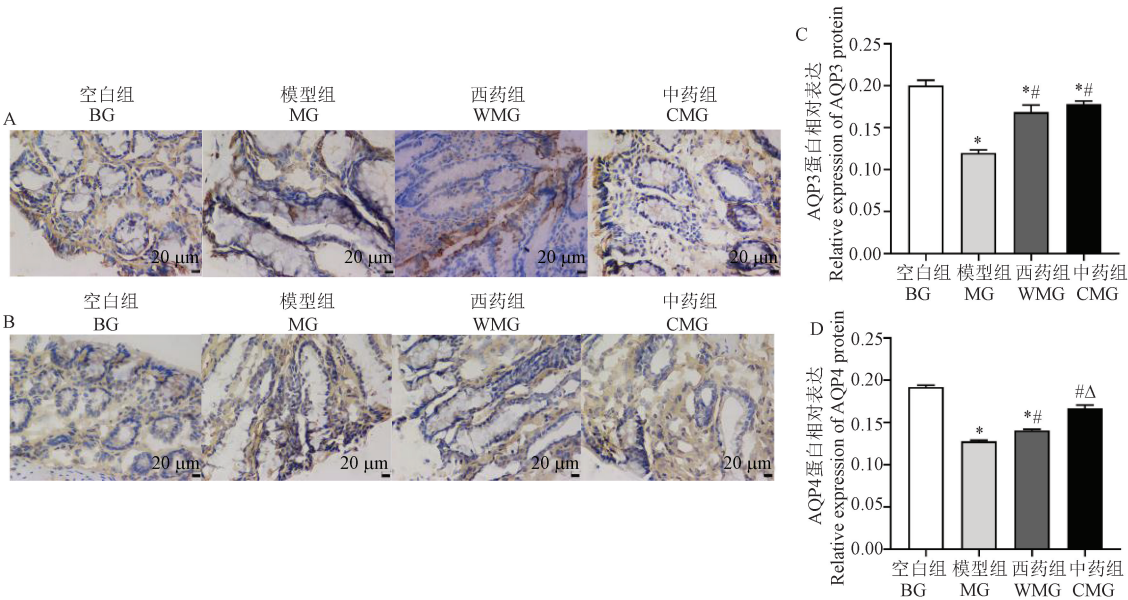


注:与空白组相比, * $P<0.05$;与模型组相比, # $P<0.05$;与西药组相比, Δ $P<0.05$ 。

图 6 TNF-α、IL-1β、IL-6 浓度

Note. Compared with blank group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Western medicine group, Δ $P<0.05$.

Figure 6 Concentration of TNF-α, IL-1β and IL-6

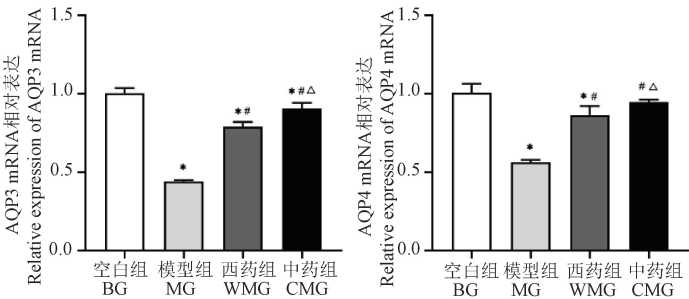


注:A、B: AQP3、AQP4 IHC 染色;C、D: AQP3、AQP4 蛋白相对表达量。与空白组相比, * $P<0.05$;与模型组相比, # $P<0.05$;与西药组相比, Δ $P<0.05$ 。

图 7 AQP3、AQP4 IHC 染色及相对表达

Note. A/B. AQP3 and AQP4 IHC staining. C/D. Relative expression of AQP3 protein and AQP4 protein. Compared with blank group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Western medicine group, Δ $P<0.05$.

Figure 7 AQP3、AQP4 IHC staining and relative expression of AQP3、AQP4 protein



注:与空白组相比, * $P<0.05$;与模型组相比, # $P<0.05$;与西药组相比, Δ $P<0.05$ 。

图 8 AQP3、AQP4 mRNA 相对表达

Note. Compared with blank group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$. Compared with Western medicine group, Δ $P<0.05$.

Figure 8 Relative expression of AQP3、AQP4 mRNA

mRNA 表达与空白组相比无统计学差异 ($P>0.05$)。与模型组相比,西药组和中药组结肠 AQP3、AQP4 mRNA 表达升高 ($P<0.05$)。中药组结肠 AQP3、AQP4 mRNA 表达比西药组更高 ($P<0.05$)。

3 讨论

UC 病程长,病变范围广,易复发,治疗困难,并且有并发结肠癌的风险,严重影响患者及其家属的生活质量。UC 反复发作、迁延不愈不仅对患者造成了巨大的心理负担,而且与之相关的医疗保健和社会支出也在不断增加^[14-15],已被世界卫生组织列为难治性疾病之一^[16]。近年来,其发病率在全球呈上升趋势,北欧地区患病率最高,约为 24.3/10 万,北美地区约为 19.2/10 万^[17]。UC 的发病呈现出明显年轻化趋势^[18],与 UC 相关的结肠癌患者也呈上升趋势,并且呈现年轻化趋势^[19]。目前,UC 的发病机制尚不清楚,普遍认为其发病原因包括遗传、环境、感染、微生物、免疫等因素^[20-21]。

中医学中没有“溃疡性结肠炎”这一病名,其归属于中医“痢疾”“肠癖”“泄泻”等范畴。中医药治疗 UC 手段丰富,具有副作用小,疗效可靠,延缓复发等优势。UC 病机复杂,以脾虚为主,多见正虚邪恋、寒热错杂之证。甘草泻心汤主治脾虚失健、寒热错杂之证,符合 UC 的病机之本。方中重用炙甘草补脾和中,益气缓急而治本;党参、大枣补中益气;半夏降逆止呕、清热燥湿;干姜温中散寒;黄芩、黄连清热燥湿、泻火解毒。全方配伍甘缓补脾胃之气,辛温散脾虚之寒,苦寒清胃肠之热。相关研究表明,甘草泻心汤可以改善 UC 炎症情况,降低炎症因子水平,促进肠道黏膜修复,提高免疫^[22-24]。

国外文献报道,IBD 患者结肠 AQP3 mRNA 表达明显降低,并且其在克罗恩病和 UC 患者的特异性肠段中表达也存在差异,表明肠道炎症和水/溶质稳态之间存在相关性,提示 AQP3 可能在 IBD 病理生理中发挥重要作用^[25]。越来越多的研究表明,中药可以通过调控 AQP3、AQP4 表达以改善 UC 症状与炎症情况。荆芥和防风能显著改善 UC 大鼠情况和病理学改变,加速肠黏膜恢复,其可能通过上调结肠 AQP4、AQP8 蛋白和 mRNA 表达有关^[8]。芍药汤合龙血竭能够改善急性期 UC 大鼠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 表达以及调控 TNF- α 、IL-1 β 的表达水平^[26]。参苓白术散能够改善脾虚湿困型 UC 大鼠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 表达^[27]。

TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 是 UC 病理过程中的重要

致炎因子,与疾病进展密切相关。TNF- α 能够促进中性粒细胞聚集,导致机体慢性炎症,与 UC 肠黏膜损伤密切相关^[28]。IL-1 β 可以通过自分泌或旁分泌的方式引起 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的合成与释放,引起肠黏膜缺血、坏死及溃疡等病变。相关研究报道,UC 患者血清 TNF- α 、IL-6 水平明显升高,其升高程度与病情严重程度、累及范围以及复发密切相关^[29-30]。

本研究首次发现甘草泻心汤可以改善 UC 大鼠结肠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 的表达,调节 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达水平,为研究 AQPs 与 UC 相关性提供了理论支持,后续可以继续研究 AQPs 家族其他蛋白与 UC 病理的相关性以及中医药对 AQPs 的调控作用。本研究还发现中药组效果优于西药组,分析其原因可能是中药具有多组分、多途径、多靶点的特点^[31-33],并且毒副作用小,因此甘草泻心汤在改善 UC 效果方面优于美沙拉秦缓释颗粒,本研究为中医药治疗 UC 提供了依据与思路。

综上,甘草泻心汤能够改善 UC 大鼠体质量下降、血便等情况,促进肠黏膜愈合与修复,其可能通过改善结肠 AQP3、AQP4 蛋白和 mRNA 表达,调节血清 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 表达,推测这些可能是甘草泻心汤治疗 UC 的效应机制。

参考文献:

- [1] Zhang M, Viennois E, Prasad M, et al. Edible ginger-derived nanoparticles: a novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 321-340.
- [2] 李军祥, 谭祥, 毛堂友. 溃疡性结肠炎中西医结合治疗策略 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(4): 398-400.
- [3] 何兰娟, 邓渊, 王燕, 等. 四神丸对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 TLR4、NOD2 表达的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(5): 613-618.
- [4] 马琪, 翁与竞, 李佳, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎模型小鼠的疗效评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(6): 785-792.
- [5] Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract [J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(5-6): 642-650.
- [6] Zhao G, Li J, Wang J, et al. Aquaporin 3 and 8 are down-regulated in TNBS-induced rat colitis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(1): 161-166.
- [7] Wang L, Tang H, Wang C, et al. Aquaporin 4 deficiency alleviates experimental colitis in mice [J]. *FASEB J*, 2019, 33(8): 8935-8944.
- [8] 屈映, 张书信, 傅丽元, 等. 荆芥、防风对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 AQP4 和 AQP8 表达的影响 [J]. *中国中药杂志*,

- 2020, 45(15): 3719-3725.
- [9] 张大方, 金若敏. 药理与中药药理实验 3 版 [M]. 上海: 上海科学技术出版社; 2013.
- [10] 李玉中. 检验科管理规范与操作常规 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社; 2018.
- [11] Murano M, Maemura K, Hirata I, et al. Therapeutic effect of intracolonicly administered nuclear factor kappa B (p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis [J]. Clin Exp Immunol, 2000, 120(1): 51-58.
- [12] Huang GD, Xiong J. Effect of azathioprine upon inflammation in rats with ulcerative colitis induced by immune complex-combined TNBS/ethanol [J]. Biomed Res Tokyo, 2017, 28(6): 2604-2608.
- [13] Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Sánchez-Hidalgo M, et al. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice [J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(7): 1401-1413.
- [14] Adams S M, Bornemann P H. Ulcerative colitis [J]. Am Fam Physician, 2013, 87(10): 699-705.
- [15] Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2020, 49(4): 643-654.
- [16] Sandor Z, Deng XM, Khomenko T, et al. Altered angiogenic balance in ulcerative colitis; a key to impaired healing? [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 350(1): 147-150.
- [17] Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review [J]. Gastroenterology, 2012, 142(1): 46-54.
- [18] Ryan DP, Doody DP. Surgical options in the treatment of ulcerative colitis [J]. Semin Pediatr Surg, 2017, 26(6): 379-383.
- [19] Wang YN, Li J, Zheng WY, et al. Clinical characteristics of ulcerative colitis-related colorectal cancer in Chinese patients [J]. J Dig Dis, 2017, 18(12): 684-690.
- [20] Wawrzyniak M, Scharl M. Genetics and epigenetics of inflammatory bowel disease [J]. Swiss Med Wkly, 2018, 148: w14671.
- [21] Cao SY, Ye SJ, Wang WW, et al. Progress in active compounds effective on ulcerative colitis from Chinese medicines [J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(2): 81-102.
- [22] 陈浩, 张波, 徐速, 等. 甘草泻心汤联合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎的疗效及对血清炎症指标的影响 [J]. 中药材, 2017, 40(2): 475-478.
- [23] 曹志强, 王国义. 甘草泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用研究及临床疗效评价 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(S2): 170-172.
- [24] 陈浩, 徐佳佳, 王国庆, 等. 基于肠道屏障功能研究甘草泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(10): 2378-2380.
- [25] Ricanek P, Lunde LK, Frye SA, et al. Reduced expression of aquaporins in human intestinal mucosa in early stage inflammatory bowel disease [J]. Clin Exp Gastroenterol, 2015, 8: 49-67.
- [26] 雷娜. 芍药汤合龙血竭对急性期 UC 大鼠模型的实验研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.
- [27] 李姿慧, 王键, 蔡荣林, 等. 参苓白术散通过 ERK/p38 MAPK 信号通路干预溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 AQP3、AQP4 的表达 [J]. 中成药, 2015, 37(9): 1883-1888.
- [28] Lopez A, Billioud V, Peyrin-Biroulet C, et al. Adherence to anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases: a systematic review [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19(7): 1528-1533.
- [29] Dotan I, Rachmilewitz D. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2005, 21(4): 426-430.
- [30] Chen Y, Wu D, Sun L. Clinical significance of high-mobility group box 1 protein (HMGB1) and nod-like receptor protein 3 (NLRP3) in patients with ulcerative colitis [J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e919530.
- [31] Zhi G, Shao B, Zheng T, et al. Exploring the molecular mechanism of Gan Shuang Granules for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis using network pharmacology, molecular docking, and experimental verification [J]. Fron Pharmacol, 2023, 14: 1082451.
- [32] Wang K, Chen Q, Shao Y, et al. Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 111044.
- [33] Zhang R, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: review and assessment [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 123.

〔收稿日期〕2022-10-25