

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.13.008
文章编号: 1005-8982 (2023) 13-0046-07

实验研究·论著

甘草泻心汤联合美沙拉秦缓释颗粒对急性期 溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜屏障的作用研究*

王秋晓¹, 吴容², 张智彬¹, 唐学贵¹

(1. 川北医学院附属医院 中西医结合肛肠科, 四川 南充 637000;
2. 成都中医药大学, 四川 成都 610000)

摘要: **目的** 探讨甘草泻心汤联合美沙拉秦缓释颗粒治疗急性期溃疡性结肠炎的可能作用机制。**方法** 将50只健康的雄性SD大鼠随机分为5组[空白组、模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及甘草泻心汤联合美沙拉秦组(以下简称联合组)], 每组10只。除空白组外, 其余大鼠均采用3%硫酸葡聚糖钠盐(分子量40 000)水溶液自由饮用7 d复制急性期溃疡性结肠炎大鼠模型。模型复制成功后, 空白组和模型组采用纯净水干预, 其余3组分别采用甘草泻心汤、美沙拉秦混悬液、甘草泻心汤联合美沙拉秦混悬液灌胃治疗14 d。干预治疗后观察大鼠的一般情况, 测量各组大鼠体重并进行疾病活动指数(DAI)评分, 采用HE染色法观察结肠组织病理改变并进行组织学损伤指数(HI)评分, 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清二胺氧化酶(DAO)和D-乳酸(D-LA)的含量, 显色基质萤试剂定量检测大鼠血清细菌内毒素, Western blotting检测ZO-1和Occludin蛋白表达。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠DAO和D-LA含量及细菌内毒素定量均升高($P < 0.05$), ZO-1和Occludin蛋白表达降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组的大鼠DAI评分和HI评分降低($P < 0.05$), DAO和D-LA含量及细菌内毒素定量均降低($P < 0.05$), ZO-1和Occludin蛋白表达升高($P < 0.05$)。各治疗组间比较, 联合组干预治疗后疗效优于甘草泻心汤组和美沙拉秦组。**结论** 甘草泻心汤联合美沙拉秦缓释颗粒对急性期溃疡性结肠炎大鼠的肠黏膜屏障具有一定的修复功能, 作用机制可能与ZO-1和Occludin蛋白表达有关, 进而影响肠黏膜的通透性与完整性。

关键词: 溃疡性结肠炎; 甘草泻心汤; 肠黏膜屏障; 紧密连接蛋白

中图分类号: R574.62

文献标识码: A

Experimental research of Gancao Xiexin decoction combined with Mesalachin slow-release granules on intestinal mucosal barrier of ulcerative colitis rats in acute phase*

Wang Qiu-xiao¹, Wu Rong², Zhang Zhi-bin¹, Tang Xue-gui¹

(1. Department of Integrated Traditional and Western Medicine Anorectal, Affiliated Hospital of North
Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Chengdu University of
Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610000, China)

Abstract: Objective To explore the possible mechanism of action of Gancao Xiexin decoction(GCXX
decoction) combined with Mesalachin extended-release granules in the treatment of acute phase ulcerative colitis.

Methods Fifty healthy male SD rats were randomly divided into five groups (blank group, model group, GCXX

收稿日期: 2023-01-29

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81573990, 82074429); 南充市2022年市校科技战略合作专项(No: 22SXQT0076); 2021年度川北
医学院附属医院科研发展计划项目(No: 2021YS007)

[通信作者] 唐学贵, E-mail: txg668nc@sohu.com; Tel: 18989183808

decoction group, Mesalachin group, GCXX decoction combined with Mesalachin group here after referred to as the combined group). Except for 10 rats in the blank group, all other rats were used 3% dextran sulfate nano-salt (molecular weight 40 000) aqueous solution for 7 d to establish the acute phase UC rat model. The successfully modeled rats were randomly divided into the model group, GCXX decoction group, Mesalachin group and combined group, with 10 rats in each group. The blank group and the model group were treated with pure water, and the remaining three groups were treated with GCXX decoction, Mesalachin suspension, and GCXX decoction combined with Mesalachin suspension by gavage for 14 d. After the intervention, the general condition of the rats was observed, the body mass of each group was measured and the disease activity index (DAI) was scored, and the histological changes of the colon were observed by HE staining and the histological damage index (HI) was scored, the levels of serum diamine oxidase (Diamine Oxidase, DAO) and D-lactic acid (D-Lactic, D-LA) were measured by ELISA, and the expression of tight junction proteins (ZO-1) and occludin (Occludin) were detected by Western blotting analysis. **Results** Compared with the blank group, rats in the model group had increased DAO and D-LA content ($P < 0.05$), increased bacterial endotoxin quantification ($P < 0.05$), and decreased ZO-1 and Occludin protein expression ($P < 0.05$). Compared with the model group, the rats in the GCXX decoction group, Mesalachin group, and combined groups had lower DAI scores ($P < 0.05$), lower HI scores ($P < 0.05$), lower DAO and D-LA contents ($P < 0.05$) and lower bacterial endotoxin quantification ($P < 0.05$), and higher ZO-1 and Occludin protein expressions ($P < 0.05$). In comparison between treatment groups, the efficacy of the combined group was better than that of the GCXX decoction group and Mesalachin group after the intervention. **Conclusion** GCXX decoction combined with Mesalachin slow-release granules has a certain repair function on the intestinal mucosal barrier of UC rats in the acute phase, and the mechanism of action may be related to ZO-1 and Occludin protein expression, thus affecting the permeability and integrity of the intestinal mucosa.

Keywords: colitis, ulcerative; Gancao Xiexin decoction; intestinal mucosal barrier; tight junctions

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因尚不明确的慢性特异性结直肠炎性疾病, 好累及大肠黏膜和黏膜下层^[1]。UC 以腹痛腹泻、黏液脓血便, 伴里急后重感为主要临床表现, 且可伴随不同程度的全身症状, 具有反复发作, 迁延不愈, 复发率高等特点, 甚至会增加患结直肠癌的风险, 严重影响患者的身心健康和生存质量。UC 的患病率与经济的发展水平有极大的关系, 调查显示 UC 年发病率在欧洲每年高达 24.3/10 万, 在北美每年高达 19.2/10 万, 而亚洲及中东地区每年患病率仅为 0.15 ~ 6.50/10 万, 低于西方发达国家和地区, 但最新数据显示, 发展中地区的 UC 发病率有上升趋势^[2-5]。目前关于 UC 具体发病机制尚未完全阐明, 认为多与先天遗传、地域环境、饮食习惯、自身免疫、感染等多种因素密切相关, UC 缺乏根治性药物, 成为困扰全球的健康问题之一^[6-7]。

有研究显示, 肠黏膜屏障能够阻止有害物质透过肠黏膜, 有效抑制微生物侵袭, 防止致病性抗原对机体造成损害, 维持肠道微生态环境系统稳定^[8]。肠黏膜屏障损伤是引起 UC 的重要因素, 因此保持肠黏膜屏障的完整性、通透性, 修复受损的肠黏膜屏障是关键点。甘草泻心汤原方出自张仲景的《伤

寒论》和《金匱要略》,《伤寒论》所载甘草泻心汤中的甘草为炙甘草, 是否载有人参尚不明确;《金匱要略》方中为生甘草, 并且方中明确载有人参, 均具有调和阴阳寒热、扶正祛邪功效。UC 属于祖国医学“痢疾”“泄泻”的疾病范畴, 其主要病机为脾胃虚弱, 寒热错杂, 湿热内蕴, 虚实夹杂。研究表明《金匱要略》中甘草泻心汤对 UC 治疗有效, 但在对肠黏膜屏障影响方面的作用机制尚不完全明确^[9-10]。本研究基于肠黏膜屏障的角度, 主要探讨甘草泻心汤联合美沙拉秦缓释颗粒治疗急性期溃疡性结肠炎的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 50 只 SPF 成年雄性大鼠, 6 ~ 8 周龄, 体重 (200 ± 20) g, 由川北医学院实验动物中心提供 [动物使用许可证编号: SYXK(川)2018-076; 动物伦理审查批件号: NSMC 伦理动物审 2022-18 号]。饲养条件: 温度 24 ~ 26 °C, 湿度: 60% ~ 80%, 自然光照, 分笼饲养, 给予标准日粮和饮用水, 每日更换垫料, 保持饲养房内清洁、通风及安静 (以上日粮、饮用水及更换垫料均由川北医学院实

验动物中心提供)。

1.1.2 实验药品及制备 硫酸葡聚糖钠盐(DSS,分子量:40 000,批号:C13463220,上海麦克林生化科技有限公司),将3 g DSS溶解于100 mL纯水配成3%的DSS水溶液,制备后置于4℃冰箱保存。甘草泻心汤免煎颗粒成分:生甘草12 g、半夏9 g、干姜9 g、黄芩9 g、黄连3 g、党参9 g、大枣6 g,以上药品购于川北医学院附属医院中药房,经由中药房药师鉴定后使用。根据《中药药理研究方法学》^[11]动物给药量计算,60 kg成人与200 g大鼠的折算系数为6.25,甘草泻心汤免煎颗粒用量为6 g/(kg·d),制备后置于4℃冰箱保存。美沙拉秦缓释颗粒(批号:国药准字H20143164,上海爱的发制药有限公司),购于川北医学院附属医院西药房,规格0.5 g/包,急性期用药剂量:4 g/d,公式如上所述,大鼠体重按200 g计算药物用量约为84 mg/d,将颗粒研磨后蒸馏水制备混悬液备用,置于4℃冰箱保存。

1.1.3 实验试剂 大鼠D-乳酸(D-LA)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),大鼠血清二胺氧化酶(DAO)ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),二甲苯(成都市科隆化学品有限公司),无水乙醇(成都市科隆化学品有限公司),HE染液套装和便隐血(OB)试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司),中性树胶(上海国药集团化学试剂有限公司),4%多聚甲醛固定液、山羊抗兔二抗-HRP、山羊抗小鼠二抗-HRP、TBS缓冲液(干粉),10%水合氯醛溶液、显色基质萤试剂盒(厦门市萤试剂实验厂有限公司)。

1.1.4 主要仪器 高速低温组织研磨仪(武汉赛维尔生物有限公司),移液器及吸头、快速组织脱水机、切片机(中国Thermo Fisher scientific/赛默飞世尔),包埋机、冻台、修蜡仪(武汉俊杰电子有限公司),酶标仪(美国Bio Rad公司),精密电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),台式高速冷冻微型离心机、电泳仪(美国Bio Rad公司),电热恒温培养箱(上海跃进医疗有限公司),超纯水机(成都超纯科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 模型复制及分组 50只健康的雄性SD大鼠在SPF饲养房里适应性喂养1周,排除环境等干扰

因素的影响,对大鼠进行称重、编号,随机选取10只作为空白组进食饮水,剩余40只SD大鼠正常进食,给予3% DSS水溶液自由饮用7 d复制急性期UC大鼠模型。模型复制成功后观察SD大鼠的情况,如拉稀或排出血便,结合疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分>1分,则表明模型复制成功。模型复制成功后随机分为4组[模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及甘草泻心汤联合美沙拉秦组(以下简称联合组)]。实验期间观察大鼠的一般情况(包括体重、精神状态、毛色、行为、进食饮水量、大便性状、隐血情况等),并进行DAI评分。

1.2.2 干预治疗 模型复制结束当天即干预治疗第1天。空白组给予纯净水灌胃4 mL/次,1次/d;模型组给予生理盐水灌胃4 mL/次,1次/d;甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组分别给予甘草泻心汤免煎颗粒、美沙拉秦混悬液、甘草泻心汤免煎颗粒加美沙拉秦混悬液灌胃4 mL/次,1次/d。各组每天灌胃均在同一时间段,干预治疗期间所有SD大鼠正常进食进水,连续治疗14 d。

1.2.3 标本取材及处理 末次给药后禁食不禁饮24 h,用吸入七氟烷联合10%水合氯醛溶液腹腔注射深麻醉大鼠,腹主动脉取血,静置30 min后,采用低温高速离心机3 500 r/min,离心8 min,收集血清,-20℃冰箱保存备用。剖开大鼠腹部,取距肛门1 cm以上全部结肠组织,用0.9%氯化钠注射液冲洗截取的结肠组织,选取病变最明显处置于4%多聚甲醛溶液中固定(固定液使用量超过组织体积的10倍),另一部分使用锡箔纸包裹后置于1.5 mL冻存管,于-80℃冰箱冷冻保存备用。

1.2.4 DAI评分 根据HAMAMOTO等^[12]表述的DAI评分方法。 $DAI=(\text{体重下降率}+\text{大便性状}+\text{大便隐血})/3$ 。检测大便隐血情况按照购买的便隐血(OB)试剂盒说明书进行操作。见表1。

1.2.5 HE染色法观察组织病理改变及组织学损伤指数(HI)评分 将4%多聚甲醛溶液中组织进行取材、脱水、包埋、切片,按照HE染液套装说明书进行操作,在高倍光学显微镜下观察各组SD大鼠结肠组织病理改变并进行HI评分^[13]。见表2。

1.2.6 ELISA检测DAO和D-LA含量 离心后的SD大鼠血清使用ELISA试剂盒检测DAO和D-LA的含量,按照ELISA试剂盒说明书步骤进行操作。

表 1 DAI 评分

体重下降率	大便性状	便血情况	评分
0	正常	正常	0
1% ~ 5%	-	隐血 1+	1
> 5% ~ 10%	松散	隐血 2+	2
> 10% ~ 15%	-	肉眼血便隐血 3+	3
> 15%	稀便	大量肉眼血便 4+	4

注: 正常粪便为成形黄色大便; 松散粪便为不黏附于肛门的半成形大便; 稀便为可黏附于肛门的稀水样大便。

表 2 HI 评分

评分	炎症	程度	损伤
0	无损伤	无损伤	无损伤
1	轻度	黏膜	基底 1/3 受损
2	中度	黏膜和黏膜下层	基底 2/3 受损
3	重度	透壁	只有表面上皮完好无损
4	-	-	整个隐窝和上皮丢失

1.2.7 显色基质萤试剂法检测细菌内毒素的定量
离心后的 SD 大鼠血清使用显色基质萤试剂盒检测于细菌内毒素的定量, 按照显色基质萤试剂盒说明书步骤进行操作。

1.2.8 Western blotting 检测 ZO-1 和 Occludin 表达
①组织总蛋白提取: 将组织剪成小块置于匀浆器中, 加入 RIPA 裂解液冰上彻底匀浆, 将匀浆液离心后收集上清, 用 BCA 标准蛋白定量测定蛋白浓度; ②取出蛋白样品, 制备样品; ③SDS-PAGE 电泳: 加入 SDS-PAGE 进行电泳及转膜; ④免疫反应: 用 5% 的脱脂牛奶 (TBST 配制), 封闭 1 h, 加入稀释好的一抗, 4 °C 孵育过夜 (快转), 或者室温孵育抗体 3 h (慢转), 室温下用 TBST 在脱色摇床上洗 3 次, 5 min/次, 再加入稀释好的二抗, 室温孵育 1 h 后, 室温下用 TBST 在脱色摇床上洗 3 次, 5 min/次; ⑤显影及分析: 加入 ECL 显影液在化学发光成像系统下采集图像, 使用 Image J 分析软件进行灰度分析。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况及 DAI 评分比较

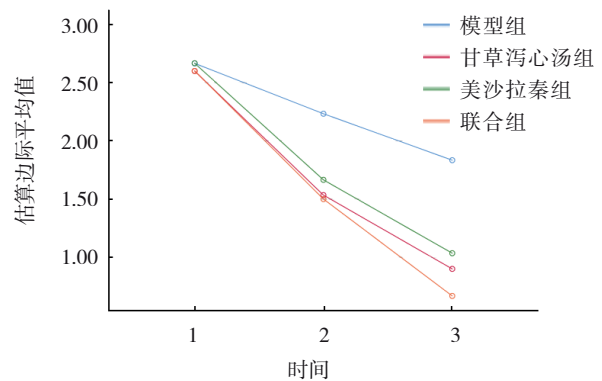
空白组大鼠在实验期间正常进行饮水, 除体重明显增加外, 一般情况无明显变化; 与空白组大鼠比较, 其余各组在模型复制期间进食饮水减少, 体重下降, 毛色变黄甚至掉毛, 大便松散或稀便带血, 甚至出现明显肉眼血便、血尿。干预治疗期间, 各治疗组与模型组大鼠相比, 一般情况较前改善, 体重增加, 黏液脓血便、血尿减少。

模型组与各治疗组在模型复制后、治疗后 1 周、治疗后 2 周 3 个不同时间点的 DAI 评分比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 DAI 评分有差异 ($F = 237.754, P = 0.000$); ②各组的 DAI 评分有差异 ($F = 11.942, P = 0.000$), 各治疗组在治疗后 1 周、治疗后 2 周的 DAI 评分较模型组低, 且治疗后 2 周的 DAI 评分更低; ③各组的 DAI 评分变化趋势有差异 ($F = 8.296, P = 0.000$)。治疗后 1 周和 2 周各治疗组 DAI 评分与模型组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。联合组的 DAI 评分降低最明显。见表 3 和图 1。

表 3 各组大鼠不同时间点 DAI 评分比较
(n=10, 分, $\bar{x} \pm s$)

组别	模型复制后	治疗后 1 周	治疗后 2 周
模型组	2.67 ± 0.35	2.23 ± 0.28	1.83 ± 0.32
甘草泻心汤组	2.60 ± 0.47	1.53 ± 0.39 [†]	0.90 ± 0.45 [†]
美沙拉秦组	2.67 ± 0.47	1.67 ± 0.50 [†]	1.04 ± 0.53 [†]
联合组	2.60 ± 0.21	1.50 ± 0.18 [†]	0.67 ± 0.22 [†]

注: †与模型组比较, P < 0.05。



1: 模型复制后; 2: 治疗后 1 周; 3: 治疗后 2 周。

图 1 各组的 DAI 评分变化趋势

2.2 大鼠结肠组织病理改变及HI评分比较

空白组组织形态结构完整,肠壁各层结构正常,细胞排列整齐,未见明显病理损伤改变。模型组组织形态结构破坏严重,肠壁全层炎症细胞浸润,糜烂或溃疡灶形成,损伤区隐窝结构及上皮全部丢失,可见黏膜下层水肿。各治疗组经药物干预治疗后,结肠组织可见不同程度损伤,与模型组相比有一定程度改善,且联合组恢复情况最佳。见图2。

模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组的HI评分分别为(3.30±0.48)、(2.00±0.67)、(2.50±0.97)、(1.30±0.48)分,经方差分析,差异有统计学意义($F=15.287, P=0.000$)。

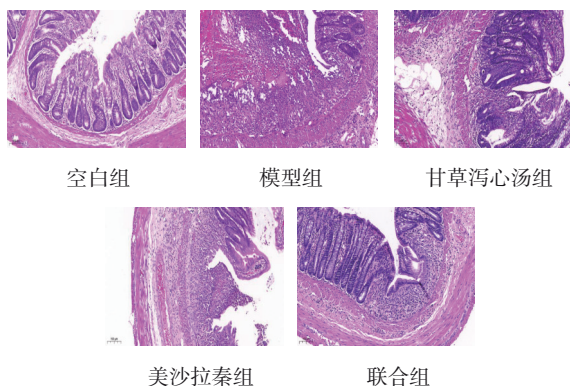


图2 各组大鼠结肠组织病理改变 (HE×200)

2.3 各组大鼠血清DAO和D-LA含量比较

ELISA检测结果显示,各组大鼠血清DAO和D-LA含量比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。其中,模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组DAO和D-LA含量较空白组升高($P<0.05$),甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组DAO和D-LA含量较模型组降低,联合组降低最明显($P<0.05$)。见表4。

2.4 各组大鼠血清细菌内毒素含量比较

显色基质鲎检测结果显示,各组大鼠血清细菌内毒素含量比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组内毒素浓度较空白组升高($P<0.05$),甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组内毒素浓度较模型

表4 各组大鼠血清D-LA和DAO含量比较

($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	D-LA/($\mu\text{g/L}$)	DAO/(pg/mL)
空白组	52.47 ± 19.58	18.86 ± 1.86
模型组	256.77 ± 46.40 ^①	27.09 ± 3.83 ^①
甘草泻心汤组	123.53 ± 23.72 ^{①②}	23.01 ± 3.87 ^{①②}
美沙拉秦组	199.67 ± 16.50 ^{①②}	23.70 ± 3.20 ^{①②}
联合组	114.53 ± 21.30 ^{①②}	20.98 ± 3.41 ^{①②}
F值	82.803	8.637
P值	0.000	0.000

注:①与空白组比较, $P<0.05$;②与模型组比较, $P<0.05$ 。

组降低,联合组降低最明显($P<0.05$)。见表5。

表5 各组大鼠血清细菌内毒素含量比较

($n=10, \text{EU/mL}, \bar{x} \pm s$)

组别	细菌内毒素
空白组	12.31 ± 6.62
模型组	57.79 ± 27.43 ^①
甘草泻心汤组	30.58 ± 16.86 ^{①②}
美沙拉秦组	31.91 ± 21.16 ^{①②}
联合组	15.20 ± 10.09 ^{①②}
F值	10.022
P值	0.000

注:①与空白组比较, $P<0.05$;②与模型组比较, $P<0.05$ 。

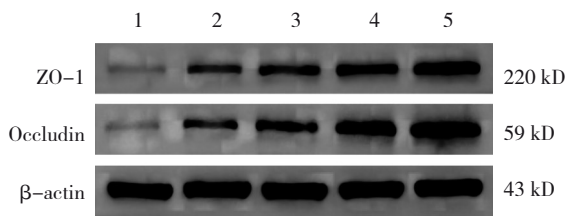
2.5 各组大鼠结肠组织ZO-1和Occludin蛋白表达的比较

Western blotting检测结果显示,各组大鼠结肠组织ZO-1蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义($F=100.749, P=0.000$),模型组ZO-1蛋白相对表达量较空白组下降($P<0.05$),甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组ZO-1蛋白相对表达量较模型组升高,联合组升高最明显($P<0.05$);各组大鼠结肠组织Occludin蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义($F=172.422, P=0.000$),模型组Occludin蛋白相对表达量较空白组下降($P<0.05$),甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组Occludin蛋白表达较模型组升高,联合组升高最明显($P<0.05$)。见表6和图3。

表 6 各组大鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 蛋白相对表达量的比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	ZO-1 蛋白	Occludin 蛋白
空白组	0.41 ± 0.15	0.43 ± 0.09
模型组	0.18 ± 0.04 ^①	0.19 ± 0.10 ^①
甘草泻心汤组	0.61 ± 0.12 ^②	0.64 ± 0.10 ^②
美沙拉秦组	0.80 ± 0.13 ^②	0.83 ± 0.14 ^②
联合组	0.99 ± 0.13 ^②	1.01 ± 0.12 ^②
F 值	100.749	172.422
P 值	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。



1: 模型组; 2: 空白组; 3: 甘草泻心汤组; 4: 美沙拉秦组; 5: 联合组。

图 3 各组大鼠 ZO-1、Occludin 蛋白表达

3 讨论

UC 是一种发病机制复杂的炎症性肠病, 受遗传因素、肠道免疫状态和肠道微生物稳态的影响。肠黏膜屏障缺陷对溃疡性结肠炎的发展至关重要^[14]。肠黏膜屏障包括机械屏障、化学屏障、生物屏障、免疫屏障。机械屏障作为肠黏膜屏障的第一道防线, 主要通过肠黏膜上皮细胞和紧密连接蛋白来发挥功能^[15-16]。正常状态下, 机械屏障仅允许离子和可溶性小分子物质通过。肠黏膜屏障功能障碍时, 肠黏膜通透性和完整性异常, 使得有害物质(大分子和微生物等)或内毒素穿透肠壁入血, 诱发炎症反应^[17-21]。DAO、D-LA 和内毒素是间接评价肠黏膜屏障功能的指标^[22-23], 肠黏膜屏障功能受损时, DAO、D-LA 会升高。肠内细菌产生的内毒素会穿透肠壁入血, 形成内毒素血症, 同时内毒素也会破坏肠黏膜屏障, 加速内毒素入血的速度^[24]。紧密连接蛋白家族中的 ZO-1 和 Occludin 作为检测肠黏膜屏障功能的常用标志性蛋白指标^[25], ZO-1 与 Occludin 蛋白表达水平降低说明肠黏膜通透性增高和完整性改变, 进而反映了肠黏膜屏障功能障碍。已有大量研究证明, 施加有效干预后, ZO-1 与 Occludin 蛋白表达上调, 这说明在保护肠黏膜屏障及改变肠黏膜屏障通透性和完整性方面有重要的作用^[26-29]。

笔者在实验中所用的甘草泻心汤出自《金匱要略》, 其记载侧重于治疗狐惑病。该方由生甘草、黄芩、黄连、半夏、干姜、人参、大枣组成。《金匱要略》甘草泻心汤重用生甘草, 而非炙甘草, 生甘草以泻中焦之热解毒, 却不伤及中焦。方中芩连相配, 味苦, 性寒无毒, 入阳明大肠经, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效。干姜搭配半夏具有温中助阳, 除烦止呕消痞的作用。本方中以党参代替人参, 补益功效略逊于人参, 因其性味甘平, 作用和缓更适合本证。叶桂《本草经解》云: 大枣气平, 味甘, 无毒, 主心腹邪气, 安中养脾气, 平胃气……。诸药合用, 以达辛开苦降, 寒温并施, 补泻兼顾之效。现代药理学相关研究表明^[26-27], 甘草泻心汤含有黄连碱、甘草素、小檗碱、黄芩苷、甘草酸铵等成分。其中小檗碱^[28]能够降低 IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的水平, 升高紧密连接蛋白的表达, 减轻肠黏膜屏障的损伤。且有研究证明小檗碱毒副作用较小, 临床用药安全性高^[29]。黄芩苷能调节肠腔内菌群的结构, 保护肠上皮细胞功能, 减轻肠黏膜相关炎症反应, 维持肠道内稳态^[30]。

本实验通过检测空白组、模型组、甘草泻心汤组、美沙拉秦组及联合组 ZO-1、Occludin 蛋白表达和肠黏膜屏障功能相关指标(DAO 和 D-LA 含量, 细菌内毒素定量), 证明甘草泻心汤和美沙拉秦缓释颗粒均能一定程度恢复 DSS 诱导的 UC 大鼠肠黏膜屏障功能, 其中联合组的治疗效果最为显著。甘草泻心汤和美沙拉秦通过潜在的作用机制促进 ZO-1、Occludin 蛋白表达, 恢复肠黏膜屏障的通透性与完整性, 从而改善 UC 大鼠肠黏膜屏障功能。本实验仅探讨了肠黏膜机械屏障与紧密连接相关蛋白之间的潜在联系, 未涉及其余屏障、炎症机制、肠道菌群及激素影响等方面。未来可从甘草泻心汤的药物组成中寻找有潜力的活性成分和相关代谢靶点的作用机制, 拓宽研究范围, 为中医药学治疗 UC 等炎症性肠病提供有效的实验证据。

参 考 文 献 :

- [1] 李炜, 黄菊芳, 罗茂权, 等. 中西医结合治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 大众科技, 2021, 23(10): 90-93.
- [2] 刘笃佳, 王媛媛, 马旭. 溃疡性结肠炎的流行病学研究进展[J]. 中国烧伤创疡杂志, 2017, 29(3): 214-217.
- [3] WEI S C, SOLLANO J, HUI Y T, et al. Epidemiology, burden of disease, and unmet needs in the treatment of ulcerative colitis in

- Asia[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 15(3): 275-289.
- [4] SHARARA A I, AL AWADHI S, ALHARBI O, et al. Epidemiology, disease burden, and treatment challenges of ulcerative colitis in Africa and the Middle East[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 12(9): 883-897.
- [5] KOBAYASHI T, SIEGMUND B, LE BERRE C, et al. Ulcerative colitis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 74.
- [6] ORLANSKI-MEYER E, AARDOOM M, RICCIUTO A, et al. Predicting outcomes in pediatric ulcerative colitis for management optimization: systematic review and consensus statements from the pediatric inflammatory bowel disease-ahead program[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(1): 378-402.e22.
- [7] FUKUDA T, NAGANUMA M, TAKABAYASHI K, et al. Mucosal concentrations of N-acetyl-5-aminosalicylic acid related to endoscopic activity in ulcerative colitis patients with mesalamine[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(11): 1878-1885.
- [8] 庄肇滕, 吕宾. 溃疡性结肠炎肠黏膜屏障损伤及其相关机制研究进展[J]. *胃肠病学*, 2012, 17(8): 506-508.
- [9] 谭颖, 袁世清, 杨智豪, 等. «伤寒论»与«金匱要略»中甘草泻心汤异同[J]. *河南中医*, 2022, 42(4): 495-497.
- [10] LUO Y T, WU J, ZHU F Y, et al. Gancao Xiexin decoction ameliorates ulcerative colitis in mice via modulating gut microbiota and metabolites[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 1383-1405.
- [11] 陈奇 主编. «中药药理研究方法学»[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [12] HAMAMOTO N, MAEMURA K, HIRATA I, et al. Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice by intracolonic administered antibodies against adhesion molecules (endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1))[J]. *Clin Exp Immunol*, 1999, 117(3): 462-468.
- [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] MANKERTZ J, SCHULZKE J D. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2007, 23(4): 379-383.
- [15] LANDY J, RONDE E, ENGLISH N, et al. Tight junctions in inflammatory bowel diseases and inflammatory bowel disease associated colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(11): 3117-3126.
- [16] MARTINI E, KRUG S M, SIEGMUND B, et al. Mend your fences: the epithelial barrier and its relationship with mucosal immunity in inflammatory bowel disease[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2017, 4(1): 33-46.
- [17] 韦志坤, 程爱国. 肠黏膜细胞的紧密连接与肠壁通透性的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(4): 394-399.
- [18] 马军宏, 于向阳, 张楠, 等. 紧密连接蛋白与肠黏膜屏障损伤研究进展[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2015, 21(1): 104-105.
- [19] 甘元涛, 赵少勇. 肠黏膜屏障损伤与紧密连接蛋白 ZO-1 的关系研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2016, 32(7): 1027-1029.
- [20] 孙博云, 王师英, 胡鸿毅. 肠黏膜通透性改变与炎症性肠病关系的研究进展[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2016, 24(11): 891-894.
- [21] 王希, 廖吕钊, 江荣林. 肠上皮细胞紧密连接蛋白的结构功能及其调节[J]. *浙江医学*, 2018, 40(8): 895-898.
- [22] 徐凤, 毛艺纯, 周淑芬, 等. 半夏泻心汤对溃疡性结肠炎小鼠肠道黏膜屏障功能保护作用及 ZO-1 和 Occludin 表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(1): 44-47.
- [23] 陈凤慧, 王晓华, 范春梅. 补充外源性维生素 D 对老年溃疡性结肠炎患者氧化-抗氧化失衡、肠道黏膜屏障和临床预后的影响[J]. *陕西医学杂志*, 2018, 47(12): 1634-1637.
- [24] 周婷婷, 宋莎莎, 唐敏, 等. 溃疡性结肠炎患者肠黏膜屏障功能测定的临床意义[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(61): 3-4.
- [25] 苏晓兰, 姚梦茜, 陈琳, 等. 清热化湿调枢方对葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎模型小鼠肠黏膜屏障及相关蛋白表达的影响[J]. *中医杂志*, 2022, 63(16): 1566-1572.
- [26] KUO W T, ZUO L, ODENWALD M A, et al. The tight junction protein ZO-1 is dispensable for barrier function but critical for effective mucosal repair[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(6): 1924-1939.
- [27] IBRAHIM S, ZHU X, LUO X L, et al. PIK3R3 regulates ZO-1 expression through the NF- κ B pathway in inflammatory bowel disease[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106610.
- [28] OGAWA M, OSADA H, HASEGAWA A, et al. Effect of interleukin-1 β on occludin mRNA expression in the duodenal and colonic mucosa of dogs with inflammatory bowel disease[J]. *J Vet Intern Med*, 2018, 32(3): 1019-1025.
- [29] WEI Y Y, FAN Y M, GA Y, et al. Shaoyao decoction attenuates DSS-induced ulcerative colitis, macrophage and NLRP3 inflammasome activation through the MKP1/NF- κ B pathway[J]. *Phytomedicine*, 2021, 92: 153743.
- [30] 何颖, 涂正伟, 邹爱英, 等. HPLC-QTOF/MS 法鉴定甘草泻心汤中化学成分[J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(11): 2246-2254.
- [31] 唐红梅, 翟少钦, 陈春林, 等. 一测多评法同时测定甘草泻心汤中 8 种成分[J]. *中成药*, 2022, 44(5): 1410-1415.
- [32] 陈美琳, 李芝奇, 范琦琦, 等. 小檗碱药理作用及其相关作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(18): 5861-5872.
- [33] 薛明松, 郑王玉, 张宇峰, 等. 黄连粗多糖协同小檗碱改善溃疡性结肠炎肠黏膜屏障损伤的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(13): 71-76.
- [34] 龚发萍, 郑鸣. 黄芩的化学成分及药理作用[J]. *临床合理用药杂志*, 2021, 14(34): 176-178.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 王秋晓, 吴容, 张智彬, 等. 甘草泻心汤联合美沙拉秦缓释颗粒对急性期溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜屏障的作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(13): 46-52.

Cite this article as: WANG Q X, WU R, ZHANG Z B, et al. Experimental research of Gancao Xiexin decoction combined with Mesalacin slow-release granules on intestinal mucosal barrier of ulcerative colitis rats in acute phase[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(13): 46-52.