



马齿苋对大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用

黄芸, 董蕾*

(西安交通大学医学院第二附属医院 消化内科, 陕西 西安 710004)

[摘要] 目的:考察马齿苋对溃疡性结肠炎的治疗作用。方法:雄性SD大鼠72只随机分为6组。用2,4,6-三硝基苯磺酸灌肠制备大鼠溃疡性结肠炎模型。马齿苋高($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中($5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低($2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组和柳氮磺吡啶组($0.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)从造模后第3天开始灌肠给药,每天1次,连续10 d。观察大鼠结肠组织形态学改变并进行评分,测定结肠组织内髓过氧化物酶(MPO)含量。结果:马齿苋中、高剂量组能够改善溃疡性结肠炎模型大鼠的大便性状,显著改善大鼠结肠组织的病理损害,降低大体形态损伤评分,降低髓过氧化物酶(MPO)含量。结论:马齿苋对溃疡性结肠炎急性期有良好疗效,能够改善溃疡性结肠炎模型大鼠的肠粘膜损伤,减少MPO含量,减轻肠道炎症。

[关键词] 马齿苋;溃疡性结肠炎;三硝基苯磺酸

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种肠道慢性炎症性疾病,其病因和发病机制目前尚未完全阐明。近年的研究表明,UC的肠道炎症可能是环境因素诱发的遗传易感者对于肠道细菌的粘膜免疫反应调节系统紊乱所导致^[1]。在我国中医理论中UC的临床表现应归于“泄泻、久痢、肠风、脏毒”的范畴。马齿苋为马齿苋科植物马齿苋的干燥地上部分,性寒,味酸,具有清热解毒、凉血止血的功效,用于热毒血痢、便血、痈肿疔疮等症^[2]。本研究应用2,4,6-三硝基苯磺酸制备大鼠UC模型,研究马齿苋对UC的治疗作用,以期分离提纯有效活性成分,研发新的药物制剂提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 动物、药品与试剂 清洁级剑康雄性SD大鼠72只,体重200~230 g,购自西安交通大学医学院实验动物中心,许可证号SCXK(陕)2007-001。马齿苋浸膏粉购于陕西宏达植物化工有限公司,提取自马齿苋全草,产品规格为10:1,批号MC-071010。柳氮磺吡啶(SASP)上海三维制药有限公司生产,批号为200809C25。5%三硝基苯磺酸(TNBS)(W/V)购于美国Sigma公司。髓过氧化物酶(MPO)试剂盒

购于南京建成生物工程研究所。

1.2 主要仪器 Thermo Multiskan Spectrum全波长酶标仪(芬兰Thermo Labssystem公司);T6型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);IKA-WERKE T8.01手握式组织匀浆器(德国IKA-WERKE公司);Eppendorf高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);电子恒温水浴锅(上海优浦科学仪器有限公司)。

1.3 溶液配制 分别称取马齿苋浸膏粉7.5,15,30 g溶于150 mL蒸馏水中,制成质量浓度为0.05,0.1,0.2 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3种药液备用。将SASP肠溶片包衣刮除后研磨,称取10 g粉末溶于100 mL蒸馏水中,配制成质量浓度为0.1 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液备用。

1.4 造模^[3] SD大鼠禁食24 h,乙醚吸入麻醉后将硅胶管(外径2 mm)经肛门插入结肠内,头端距肛门约8 cm,按100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量缓慢注入预混的乙醇体积分数为50%的TNBS乙醇溶液1 mL,正常对照组则注入生理盐水1 mL。缓慢拔出硅胶管,夹闭肛门并将大鼠尾部提起倒置60 s,以防止灌入液体流出。

1.5 实验分组与给药 正常对照组和模型对照组灌肠给予等体积生理盐水。SASP组按0.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌肠给予SASP溶液。马齿苋(P)高、中、低剂量组分别按10,5,2.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌肠给予马齿苋药液。各组大鼠均于造模后第3天开始灌肠给予相应剂量的药物,每天1次,连续10 d。

1.6 结肠标本制取及损伤评分 大鼠禁食24 h后以质量分数为10%水合氯醛腹腔注射麻醉(300 mg

[稿件编号] 20100912017

[基金项目] 陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项计划项目(2007ZDKG-73)

[通信作者] *董蕾,教授,博士生导师, Tel: (029) 87679368, E-mail: donglei556@126.com

[作者简介] 黄芸,硕士研究生,住院医师, E-mail: huangyun9@126.com



· kg⁻¹),背位固定,迅速开腹分离结肠,沿肠系膜缘剪开暴露肠腔,4℃生理盐水冲洗肠内容物,平铺在冰屑上观察全结肠黏膜有无缺损及缺损大小,并按大体形态损伤评分标准^[4]进行评分:0分,黏膜无损伤;1分,局部充血水肿,但无溃疡;2分,局部溃疡但无明显水肿或肠壁增厚;3分,溃疡伴至少1个部位炎症;4分,2个或更多部位溃疡及炎症;5分,沿结肠纵轴超过1cm的病损;6~10分,沿结肠纵轴超过2cm的病损,每增多1cm积分增加1分。另取病变明显处组织约200mg,液氮速冻后移至-80℃超低温冰箱冷冻保存。

1.7 病理组织学观察 取病变明显处组织置于质量分数为4%的中性甲醛溶液中固定,石蜡包埋HE染色后显微镜下观察。

1.8 结肠组织MPO活性测定 取冻存的结肠组织块制成质量分数为10%的组织匀浆液,按试剂盒说明书步骤测定MPO活性。

1.9 统计学分析 应用SPSS 13.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),2组间比较采用LSD-*t*检验。等级资料成组设计多个样本比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学

意义。

2 结果

2.1 实验大鼠一般情况 正常组大鼠精神状态好,活动灵活,皮毛顺滑有光泽,大便呈正常颗粒状。模型组大鼠精神状态差,对外界刺激反应迟钝,喜贴边扎堆,饮食减少,体重不增,毛色黯淡,腹部胀大,拱背蜷缩呈蹲踞状,大便呈不成形黏液稀便或软便,肛周粘有稀便及黏液。各治疗组大鼠一般状态较模型组有所好转,精神状态较好,活动较灵活,毛色稍黯淡,黏液稀便的情况有不同程度改善,其中SASP组及马齿苋高剂量组大鼠症状缓解更明显。

2.2 马齿苋对UC模型大鼠结肠大体形态的影响

模型组大鼠结肠与周围组织粘连,肠管缠绕粘连,外有大网膜包裹,难以剥离。狭窄段近端肠管明显扩张,内为大量稀便,肠壁变薄,组织极脆易破且不易分离。各治疗组大鼠肠管有不同程度粘连,较模型组有所改善。模型组大鼠肠管节段性狭窄,肠壁明显增厚,有节段性环周溃疡形成,溃疡表面有黑褐色膜状坏死物附着,溃疡旁黏膜充血、水肿明显。各治疗组大鼠肠壁黏膜也可见不同程度的点片状或节段性充血、水肿、糜烂或是溃疡形成,严重程度减轻。

按大体形态损伤评分标准进行评分,结果见表1。

表1 马齿苋对UC模型大鼠结肠大体形态的影响

| 组别 | 例数 | 评分 | | | | | | | | | | 均值 | |
|------|----|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|--------------------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | 10 |
| 正常 | 12 | 10 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.17 |
| 模型 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 6.00 |
| P低剂量 | 9 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 4.78 |
| P中剂量 | 10 | 0 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.00 ¹⁾ |
| P高剂量 | 9 | 0 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.11 ¹⁾ |
| SASP | 10 | 0 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.70 ¹⁾ |

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 马齿苋对UC模型大鼠结肠组织学形态的影响 正常组大鼠结肠组织肠壁各层结构清晰完整,包括有黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层。黏膜上皮细胞排列整齐,腺体规则,极向明显,杯状细胞丰富,黏膜下层可见毛细血管和散在淋巴细胞,未见明显充血水肿。模型组大鼠结肠组织可见黏膜层大片缺失、脱落,缺损深度可达到肌层甚至穿透肠壁。所形成的糜烂或溃疡灶大小不等,溃疡表面覆有大量坏死组织和炎性渗出物。黏膜下层肿胀,有大量炎性细胞浸润,

主要为中性粒细胞和少量淋巴细胞,并有肉芽组织形成。肌层的肌纤维水肿,可见凝固性坏死灶及中性粒细胞浸润。浆膜层可见炎性细胞浸润和纤维结缔组织增生,但尚未形成瘢痕。结肠病变处于炎症急性期。各治疗组肠黏膜缺损、脱落可见不同程度的改善,间质水肿较轻,有少到中量炎性细胞浸润。

2.4 马齿苋对UC模型大鼠结肠组织MPO活性的影响 与正常组相比,模型组MPO含量明显升高($P < 0.05$),说明炎症处于急性期。马齿苋低剂量



组 MPO 含量较模型组略减低,而中、高剂量组及 SASP 组 MPO 含量明显低于模型组($P < 0.05$)。其中, SASP 组 MPO 含量低于高剂量组,中剂量组 MPO 含量高于高剂量组,组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 马齿苋对 UC 模型大鼠结肠组织 MPO 的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | MPO/活力单位·克湿片 ⁻¹ |
|-------|----|-------------------------------|
| 正常 | 12 | 0.220 ± 0.070 |
| 模型 | 8 | 0.804 ± 0.091 ¹⁾ |
| P 低剂量 | 9 | 0.727 ± 0.062 |
| P 中剂量 | 10 | 0.549 ± 0.086 ^{2,3)} |
| P 高剂量 | 9 | 0.462 ± 0.102 ²⁾ |
| SASP | 10 | 0.338 ± 0.063 ^{2,3)} |

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.05$;与模型组相比²⁾ $P < 0.05$;与 P 高剂量组相比³⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

UC 是一种原因不明的非特异性慢性肠道炎症性疾病,病变主要位于结肠的黏膜层,多累及直肠和远端结肠,亦可遍及整个结肠病程漫长,常反复发作,迁延不愈。UC 的病因和发病机制较复杂,涉及环境因素、遗传倾向、肠道菌群和免疫失调等。近年来,根据中医辨证与西医分期相结合的方法,中药治疗 UC 取得了良好疗效,具有副作用小、复发率低等优点,临床应用前景十分广阔。

UC 急性期病变主要表现为溃疡形成和大量炎症细胞的浸润。MPO 是中性粒细胞嗜天青颗粒中含量较高的一种过氧化物酶。炎症发生后,中性粒细胞被激活,通过脱颗粒作用释放 MPO 到细胞外或吞噬小体内发挥生物学效应。研究发现,肠黏膜 MPO 活性可作为 IBD 患者病情活动程度的监测指标。每一个中性粒细胞中所含的 MPO 相对恒定(约占细胞干重的 5%),所以组织中 MPO 活性的高低基本上可定量表达中性粒细胞的数量,含量增高

时可以反映组织中中性粒细胞浸润增多,间接反映炎症程度^[5-6]。马齿苋富含有机酸、多种维生素和微量元素等化学成分,具有“天然抗生素”的美称^[7]。另外,马齿苋含有大量粘度很高的胶质成分,能够在创面表面形成一层薄膜,构成创面与外界的屏障,并向创面提供维生素、多糖等营养物质,促进创面快速良好的愈合^[8]。马齿苋中、高剂量组能改善 UC 大鼠的一般状态,显著减轻结肠组织的病损程度,使得病变范围减小,黏膜缺损较浅,中性粒细胞浸润减少,并能降低 MPO 活性,提示经灌肠治疗后 UC 模型大鼠的结肠炎症有明显下降趋势,马齿苋能够促进溃疡愈合,对 UC 炎症急性期具有一定疗效。随着对马齿苋治疗机理的深入了解和制药工艺的进展,今后有望分离提纯其有效活性成分,为 UC 的治疗提供新的选择。

[参考文献]

- [1] Targan S R, Karp L C. Defects of mucosal immunity leading to ulcerative colitis[J]. Immunol Rev, 2005, 206:296.
- [2] 王晓玲,王红霞. 马齿苋的传统应用和现代研究概况[J]. 首都医药,2004,4:112.
- [3] Tomoko O, Hiraku O, Yoshiharu M. Gastrointestinal distribution and absorption behavior of Eudragit-coated chitosan-prednisolone conjugate microspheres in rats with TNBS-induced colitis[J]. Int J Pharm, 2008, 348:89.
- [4] Daniela B H, Elizabeth S F, Maria M C, et al. Pharmacological and biochemical characterization of bradykinin B2 receptors in the mouse colon: influence of the TNBS-induced colitis[J]. Regulatory Peptides, 2007, 141:25.
- [5] 郑礼,王淑仙,崔德玉,等. 介绍一种简便的炎症性肠炎疾病的评价方法[J]. 中国药理学通报,1996,12(5):468.
- [6] 徐萍,徐东升,陈江,等. 髓过氧化物酶对炎症性肠病病情活动监测的临床价值[J]. 实用临床医学,2006,7(12):34.
- [7] 牛广才,朱丹. 马齿苋化学成分及其药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学,2005,33(6):1090.
- [8] 张振邦,苑晓华,沈宇钢,等. 马齿苋提取液治疗 II 度烧伤 2 例[J]. 包头医学院学报,1999, 15(1):62.



Protective effect of purslane in a rat model of ulcerative colitis

HUANG Yun, DONG Lei*

(Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

[**Abstract**] **Objective:** To evaluate the protective effect of purslane on the acute injury caused by intra-colonic administration of trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) in rats. **Method:** Seventy-two male SD rats were separated into 6 groups randomly. Rat model of ulcerative colitis was established by intra-colonic administration of trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). Purslane ($2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and sulfasalazine ($0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was administered by enemata, 3 days after TNBS instillation and daily during 10 days before killing the rats. Colons were removed for histological analysis and measurement of myeloperoxidase (MPO). **Result:** Rats treated with purslane (5 and $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) were significantly healthier than TNBS-alone rats, as shown by improved food intake and reduced diarrhea, corrected the disorders in morphology associated to lesions, significantly reduced myeloperoxidase (MPO) levels. **Conclusion:** purslane exerts protective effect in experimental colitis, the effect seems to be related to relieving inflammatory reaction and repairing lesions.

[**Key words**] purslane; ulcerative colitis; trinitrobenzenesulfonic acid

doi:10.4268/cjcm20111926

[责任编辑 刘 ■]