

# 复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎患者的治疗作用及其机制

范恒, 庄雄, 段雪云, 梁丽, 廖奕, 唐庆

范恒, 庄雄, 梁丽, 廖奕, 唐庆, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022  
段雪云, 湖北中医学院附属医院药剂科 湖北省武汉市 430061

国家自然科学基金资助项目, No. 30772878

作者贡献分布: 此课题由范恒设计; 研究过程由范恒、庄雄及段雪云操作完成; 数据分析与论文写作由范恒完成。

通讯作者: 范恒, 副教授, 副主任医师, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@yahoo.com.cn

电话: 027-85726395

收稿日期: 2009-04-04 修回日期: 2009-05-05

接受日期: 2009-07-30 在线出版日期: 2009-08-18

## Therapeutic effects of colonic-coated compound lightyellow sophora root capsules in patients with ulcerative colitis and mechanisms underlying such effects

Heng Fan, Xiong Zhuang, Xue-Yun Duan, Li Liang, Yi Liao, Qing Tang

Heng Fan, Xiong Zhuang, Li Liang, Yi Liao, Qing Tang, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Xue-Yun Duan, Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30772878

Correspondence to: Professor Heng Fan, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn

Received: 2009-04-04 Revised: 2009-05-05

Accepted: 2009-07-30 Published online: 2009-08-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the therapeutic effects of colonic-coated compound lightyellow sophora root capsules (CCLSRC) in patients with ulcerative colitis (UC) and explore the mechanisms underlying such effects.

**METHODS:** Twenty-four patients diagnosed with ulcerative colitis by colonoscopy and biop-

sy were randomly divided into two groups: Chinese medicine treatment (CMT) group ( $n = 16$ ) and Western medicine treatment (WMT) group ( $n = 8$ ). Patients in the CMT group were treated with CCLSRC for eight weeks, while those in the WMT group were treated with mesalazine for the same duration. The positive expression rates of I $\kappa$ B- $\alpha$  in colonic mucosa in all patients were examined by immunohistochemistry before and after treatment.

**RESULTS:** The total response rates achieved in the CMT group and WMT group were 93.75% and 87.50%, respectively, with no significant difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). The positive expression rate of I $\kappa$ B- $\alpha$  was higher in pretreated patients than in post-treated ones ( $25.6\% \pm 2.9\%$  vs  $21.5\% \pm 4.9\%$ ,  $23.5\% \pm 5.6\%$  vs  $21.8\% \pm 5.0\%$ , both  $P < 0.01$ ). After treatment, no significant difference was observed in the positive expression rate of I $\kappa$ B- $\alpha$  between the two groups ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** CCLSRC exerts good curative effects against UC perhaps through inhibition of I $\kappa$ B- $\alpha$  expression in colonic mucosa.

**Key Words:** Colonic-coated Compound Lightyellow Sophora Root Capsule; Mesalazine; Ulcerative colitis; Nuclear transcription factor-kappa B

Fan H, Zhuang X, Duan XY, Liang L, Liao Y, Tang Q. Therapeutic effects of colonic-coated compound lightyellow sophora root capsules in patients with ulcerative colitis and mechanisms underlying such effects. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(23): 2429-2432

## 摘要

**目的:** 观察复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎(UC)患者的治疗作用以及对结肠黏膜 I $\kappa$ B- $\alpha$  蛋白的表达作用, 并探讨其作用机制。

**方法:** 经结肠镜及病理证实的 UC 患者 24 例, 随机分为复方苦参组和美沙拉嗪组, 复方苦参组 16 例用复方苦参结肠溶治疗, 美沙拉嗪组 8 例用美沙拉嗪治疗, 共治疗 8 wk。采用免疫组

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)属炎症性肠病之一, 是一种原因不明的直肠和结肠炎性疾病。祖国医学文献中虽无“溃疡性结肠炎”病名记载, 但依据典型临床特点, 认为 UC 属于“痢疾”“肠癖”的范畴, 因患者一般表现有缓解期、发作期不同, 病程长, 易复发, 故应属“痢疾”中“休息痢”(慢性复发型)或“久痢”(慢性持续型)的范畴。

## ■同行评议者

张声生, 教授, 首都医科大学附属北京中医医院消化中心

## ■研究前沿

目前UC病因与发病机制尚不十分明确,但已明确免疫反应异常是其发病中的重要环节。研究证实Toll样受体(TLRs)/核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)通路在炎症性肠病(IBD)的发生发展中占举足轻重的地位,而NF- $\kappa$ B的抑制蛋白(I $\kappa$ B)是此通路的中间环节。

组织化学法检测患者治疗前后I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白的阳性细胞表达率。

**结果:**复方苦参组总有效率为93.75%,美沙拉嗪组为87.50%,2组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。复方苦参组和美沙拉嗪组治疗前结肠黏膜I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白阳性细胞表达率明显高于治疗后( $25.6\%\pm 2.9\%$  vs  $21.5\%\pm 4.9\%$ ,  $23.5\%\pm 5.6\%$  vs  $21.8\%\pm 5.0\%$ , 均 $P<0.01$ ),治疗后复方苦参组结肠黏膜I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白阳性细胞表达率与美沙拉嗪组无明显统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:**复方苦参结肠溶胶囊对UC患者具有较好的治疗作用,治疗后患者结肠黏膜I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白阳性细胞表达率明显降低,这可能是其作用机制之一。

**关键词:** 复方苦参结肠溶; 美沙拉嗪; 溃疡性结肠炎; 核转录因子 $\kappa$ B

范恒, 庄雄, 段雪云, 梁丽, 廖奕, 唐庆. 复方苦参结肠溶胶囊对溃疡性结肠炎患者的治疗作用及其机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(23): 2429-2432

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2429.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属炎症性肠病之一,是一种原因不明的直肠和结肠炎性疾病<sup>[1]</sup>。其主要临床特征为反复发作和持续发作的腹泻,黏液脓血便,腹痛,里急后重。UC在欧美国家患病率为40-100/10万,在国内未见精确的统计报告数据,随着国内居民生活方式和饮食结构的巨大变化,近年来其发病率有明显增高的趋势<sup>[2]</sup>。虽然目前UC病因与发病机制尚不十分明确,但已明确免疫反应异常是其发病中的重要环节<sup>[3-4]</sup>。研究证实Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)/核转录因子 $\kappa$ B(nuclear transcription factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)通路在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发生发展中占举足轻重的地位<sup>[5]</sup>,而NF- $\kappa$ B的抑制蛋白(I $\kappa$ B)是此通路的中间环节<sup>[6]</sup>。复方苦参结肠溶胶囊由苦参、地榆、青黛、白及等组成,具有生肌止血、消肿敛疮、清热解毒、燥湿、杀虫、凉血止血之功效,治疗UC(湿热内蕴证)疗效明显<sup>[7]</sup>。在此基础上,本研究从NF- $\kappa$ B活化通路的环节入手,对UC患者结肠黏膜I $\kappa$ B- $\alpha$ (inhibitors  $\alpha$  of NF- $\kappa$ B)的蛋白表达进行检测,以期对复方苦参结肠溶胶囊治疗UC作用机制进行较深层次探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 24例UC(湿热内蕴证)患者均为2008-07/2009-02经协和医院内镜中心结肠镜检查 and 病理科病理检查,诊断标准参照中华医学会消化分会2000年成都研讨会对“炎症性肠病诊断治疗规范的建议”及UC湿热内蕴型诊断参考慢性非特异性UC中西医结合诊断、辨证和疗效标准(试行方案)<sup>[8]</sup>。复方苦参结肠溶胶囊为北京中惠药业有限公司开发研制的中药,由苦参、地榆、青黛、白及等组成,每粒0.4 g;美沙拉嗪由上海福达制药有限公司生产,国药准字H31020840,每片0.25 g。兔抗人I $\kappa$ B- $\alpha$ 多克隆抗体为北京中杉金桥生物技术有限公司产品,免疫组织化学试剂盒购自晶美生物工程有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 诊断及临床严重程度分级标准:** UC诊断及临床严重程度分级参照中华医学会消化病学会2000年全国炎症性肠病学术研讨会(成都)标准<sup>[8]</sup>, UC湿热内蕴型诊断参考慢性非特异性UC中西医结合诊断、辨证和疗效标准(试行方案)<sup>[9]</sup>。

**1.2.2 纳入标准:** (1)符合UC诊断,类型包括慢性复发型、慢性持续型、初发型,但不包括暴发型,均为活动期。病情包括轻、中、重者;(2)中医辨证为湿热内蕴证;(3)在18-65岁,女性受试者应在试验期间采取严格的避孕措施,或者已进入绝经期、绝经3 mo以上,或者已接受绝育;(4)患者自愿签署知情同意书。

**1.2.3 排除标准:** (1)年龄在18岁以下,或者大于65岁以上者;(2)临床类型为急性暴发型;(3)UC缓解期患者;(4)细菌性痢疾、阿米巴痢、慢性血吸虫病、肠结核等感染性结肠炎及克罗恩病、缺血性肠炎、放射性肠炎患者,结肠癌及直肠癌患者;(5)有严重并发症如局部狭窄、肠梗阻、肠穿孔、直肠腺瘤、中毒性结肠扩张、肛门疾病患者;(6)妊娠或哺乳期妇女;(7)过敏体质或对多种药物(2种以上或对该药中的已知成分)有过敏史者,对水杨酸类药物过敏者;(8)有严重的原发性心、肝、肾、肺、血液系统疾病,哮喘病患者,肾功能异常者,肝功能ALT $\geq$ 正常值2倍以上者;(9)有生育要求的男性患者;(10)正在参加其他药物临床试验的患者;(11)医生认为不宜作为受试者的其他情况。

**1.2.4 患者分组及取材:** 将符合中、西医诊断标准的24例UC患者根据就诊时间先后顺序随机



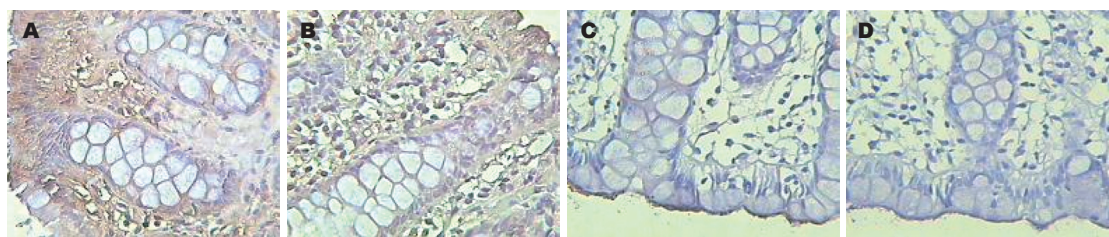


图1 IκB-α蛋白在结肠组织中的表达(免疫组织化学染色×200). A: 复方苦参组治疗前; B: 美沙拉嗪组治疗前; C: 复方苦参组治疗后; D: 美沙拉嗪组治疗后.

表1 两组总体疗效比较

分组	n	完全缓解	有效	无效	总有效率n(%)
复方苦参组	16	7	8	1	15(93.75)
美沙拉嗪组	8	3	4	1	7(87.50)

分成复方苦参组16例和美沙拉嗪组8例, 两组患者在性别、年龄、病程、临床严重程度病变累及部位等差异无显著性(均 $P>0.05$ ), 具有可比性. 复方苦参组口服复方苦参结肠溶胶囊每次4粒, 每天3次; 美沙拉嗪组口服美沙拉嗪, 每次3片, 每天3次, 疗程均为8 wk. 服药前后均行结肠镜检查并取肠黏膜组织活检, 行石蜡包埋切片.

**1.2.5 IκB-α检测:** 采用免疫组织化学, 按常规包埋, 切片, 厚度4 μm, 载玻片为防脱片. 用PBS按1:50稀释一抗, 按试剂盒操作说明进行免疫组织化学染色. 在光镜下, 细胞质和细胞核内出现棕黄色颗粒的细胞为IκB-α阳性细胞. 在40倍高倍镜下选取典型视野计数100个细胞, 其中阳性细胞数作为IκB-α计数值, 并以百分率表示.

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件包进行检验, 治疗前后采用配对 $t$ 检验分析, 组间采用方差分析.

## 2 结果

**2.1 两组临床疗效评定** 复方苦参组完全缓解7例, 有效8例, 无效1例, 总有效率93.75%; 美沙拉嗪组完全缓解3例, 有效4例, 无效1例, 总有效率87.50%; 两组总有效率比较,  $\chi^2 = 0.1066$ ,  $P = 0.94$ , 差异无统计学意义. 说明复方苦参组临床疗效与美沙拉嗪组相当(表1).

**2.2 两组治疗前后结肠黏膜IκB-α蛋白表达比较** 复方苦参组和美沙拉嗪组2组治疗前结肠黏膜IκB-α蛋白阳性细胞表达率均明显高于治疗后( $25.6\% \pm 2.9\%$  vs  $21.5\% \pm 4.9\%$ ,  $23.5\% \pm 5.6\%$  vs  $21.8\% \pm 5.0\%$ , 均 $P<0.01$ ); 治疗后复方苦参组结肠黏膜IκB-α蛋白阳性细胞表达率与美沙拉嗪组无明显统计学意义( $P>0.05$ , 图1).

## 3 讨论

祖国医学文献中虽无“溃疡性结肠炎”病名记载, 但依据典型临床特点, 认为UC属于“痢疾”“肠僻”的范畴, 因患者一般表现有缓解期、发作期不同, 病程长, 易复发, 故应属“痢疾”中“休息痢”(慢性复发型)或“久痢”(慢性持续型)的范畴. 中医对UC的病因病机有系统的认识, 就病因而论, 多责至于感受外邪, 饮食所伤, 情志失调及脾肾亏虚等. 起病机主要为或肝犯脾土、或肾虚中土失养、或湿邪困脾、或寒邪克脾、或饮食所伤、或情志失调, 导致脾失健运, 运化失职, 腐熟水谷失司而引起湿热内蕴, 气机失调, 气血凝滞等而发病.

一般来说, UC是免疫、遗传、环境及肠道细菌等多因素共同作用的结果. 对UC起主要致病作用的细胞因子, 如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)1β、IL-6、IL-8等在转录水平由NF-κB调控<sup>[10]</sup>. 国内外研究表明, NF-κB在UC中呈现过度激活状态, 导致并调控UC患者细胞因子及黏附分子等过度和持续表达, 放大炎症反应, 从而参与了UC肠道的炎症和免疫反应<sup>[11-13]</sup>. NF-κB是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子, NF-κB与IκB结合于细胞质中而使NF-κB处于非活性状态. 外源性刺激因子与TLRs结合形成复合物, 通过信号转导将IκB激酶(IκB kinase, IKK)磷酸化而激活, 活化的IKK再使IκB磷酸化进而被降解, 使得NF-κB从NF-κB-IκB复合物上解离, 发生活化, 进入细胞核, 与相应基因启动子上的特定序列(κB位点)结合, 启动靶基因转录<sup>[14]</sup>. 故IκB的磷酸化是激活NF-κB系统的关键步骤<sup>[13]</sup>, 而IκB是此通路的中间环节<sup>[15]</sup>.

研究发现的IκB家族包括IκB-α、IκB-β、IκB-γ、IκB-ε、Bcl-3、P50/P105(C端)和P100/P52(C端)等<sup>[6,16]</sup>, IκB-α是NF-κB的主要调控蛋白<sup>[17]</sup>. 当激活因素作用于NF-κB信号通路后, IκB-α氨基末端的32和36位丝氨酸在上游激酶

## ■创新盘点

复方苦参结肠溶胶囊由苦参、地榆、青黛、白及等组成, 具有生肌止血、消肿敛疮、清热解毒、燥湿、杀虫、凉血止血之功效, 治疗UC(湿热内蕴证)疗效明显. 在此基础上, 本研究从NF-κB活化通路的环节入手, 对UC患者结肠黏膜IκB-α的蛋白表达进行检测, 以期对复方苦参结肠溶胶囊治疗UC作用机制进行较深层次探讨.

## ■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 有一定的学术价值。

的作用下发生磷酸化, 磷酸化的I $\kappa$ B- $\alpha$ 氨基末端21和22位赖氨酸在E3泛素连接酶的作用下与泛素分子共价结合, 被泛素化。泛素化使I $\kappa$ B- $\alpha$ 空间构象改变, 从而使其可以被26S蛋白酶体复合物降解。I $\kappa$ B- $\alpha$ 的降解, 使得NF- $\kappa$ B从NF- $\kappa$ B-I $\kappa$ B- $\alpha$ 复合物上解离, 发生活化, 进入细胞核, 与相应基因启动子上 $\kappa$ B位点结合, 启动靶基因转录<sup>[14,18]</sup>, 从而调节炎症递质的产生, 进而导致UC炎症黏膜的损伤, 故I $\kappa$ B- $\alpha$ 与UC的发病密切相关, 通过抑制I $\kappa$ B- $\alpha$ 的磷酸化而抑制NF- $\kappa$ B的活化是治疗UC的途径之一。

现代药理学研究发现, 苦参清热燥湿, 苦参素可抑制多种炎症因子的释放, T细胞及对IL有抑制作用<sup>[19]</sup>; 地榆入大肠经, 凉血收敛止血, 解毒敛疮, 能缩短凝血时间, 并有抗菌作用; 青黛专清肠胃之热, 清除细胞中氧自由基, 下调NF- $\kappa$ B活性, 阻断Fas/FasL; 白芨收敛止血, 消肿生肌, 促进黏膜修复, 具有黏附能力, 将药物黏附于病变组织。诸药相配, 具有清热燥湿, 凉血止血生肌功效。

本研究表明, 复方苦参结肠溶胶囊对UC(湿热内蕴证)的疗效是肯定的。UC患者复方苦参结肠溶及美沙拉嗪治疗前结肠组织I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白阳性细胞表达率明显高于治疗后各组, 表明I $\kappa$ B- $\alpha$ 的高表达与UC发病密切相关; 复方苦参组及美沙拉嗪阳性对照组I $\kappa$ B- $\alpha$ 阳性细胞表达率无明显统计学意义, 表明复方苦参组对UC患者过量表达的I $\kappa$ B- $\alpha$ 蛋白水平有下调作用, 这可能是复方苦参结肠溶能够抑制NF- $\kappa$ B活性并最终治疗UC的作用。

## 4 参考文献

- 1 Hanauer SB. Medical therapy of ulcerative colitis. *Lancet* 1993; 342: 412-417
- 2 陈颖, 汪国华. 治疗溃疡性结肠炎的药物进展. 中药研究与信息 2005; 7: 23-25
- 3 巫协宁. 炎症性肠病的发病机制新解. 国外医学·消化系统疾病分册 2004; 24: 323-325
- 4 Fan H, Chen R, Shen L, Lv J, Xiong P, Shou Z, Zhuang X. Oxymatrine improves TNBS-induced colitis in rats by inhibiting the expression of NF- $\kappa$ B p65. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2008; 28: 415-420
- 5 张可. NF- $\kappa$ B与炎症性肠病. 国外医学·消化系统疾病分册 2003; 23: 94-96
- 6 Moynagh PN. The NF- $\kappa$ B pathway. *J Cell Sci* 2005; 118: 4589-4592
- 7 范恒, 寿折星, 吕建芳, 沈霖, 杨胜兰, 陈瑞. 复方苦参结肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎11例. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 60-61
- 8 中华医学会消化病学分会. 对炎症性肠病诊断治疗规范的建议. 中华消化杂志 2001; 21: 236-239
- 9 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性非特异性溃疡性结肠炎中西医结合诊断、辨证和疗效标准(试行方案). 中国中西医结合杂志 2004; 24: 1052-1055
- 10 Abreu MT, Vora P, Faure E, Thomas LS, Arnold ET, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 2001; 167: 1609-1616
- 11 Mitsuyama K, Suzuki A, Tomiyasu N, Takaki K, Toyonaga A, Sata M. Transcription factor-targeted therapies in inflammatory bowel disease. *Digestion* 2001; 63 Suppl 1: 68-72
- 12 甘华田, 欧阳钦, 贾道全, 夏庆杰. 溃疡性结肠炎患者核因子- $\kappa$ B活化与细胞因子基因表达. 中华内科杂志 2002; 41: 252-255
- 13 李军华, 于皆平, 何小飞, 徐细明. 核因子- $\kappa$ B在大鼠实验性溃疡性结肠炎肠组织的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2003; 11: 214-218
- 14 Ponnappan S, Cullen SJ, Ponnappan U. Constitutive degradation of IkappaBalpha in human T lymphocytes is mediated by calpain. *Immun Ageing* 2005; 2: 15
- 15 高小玲. I $\kappa$ B激酶的研究进展. 国外医学·临床生物化学与检验学分册 2004; 25: 539-541
- 16 Verma IM, Stevenson JK, Schwarz EM, Van Antwerp D, Miyamoto S. Rel/NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B family: intimate tales of association and dissociation. *Genes Dev* 1995; 9: 2723-2735
- 17 Baldwin AS Jr. The NF- $\kappa$ B and I $\kappa$ B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 649-683
- 18 陈丹英, 翟中和, 舒红兵. NF- $\kappa$ B激活的调节机理. 科学通报 2003; 48: 1893-1911
- 19 吕建芳, 范恒, 沈霖, 寿折星, 庄雄. 氧化苦参碱对实验性结肠炎大鼠肠黏膜细胞因子和核因子- $\kappa$ B p65表达的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2289-2294

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕