

# 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响

李姿慧, 王 键, 王又闻, 蔡荣林, 孙 娟, 叶铭钢

## ■背景资料

溃疡性结肠炎是一种原因不明的慢性肠道炎症性疾病, 一般病程较长, 病情复杂, 迁延难愈。现代医学对本病多采用氨基水杨酸制剂结合皮质激素等进行治疗, 但疗效并不理想。中医药对防治本病积累了丰富的经验, 特别是采用健脾化湿法代表方剂参苓白术散治疗脾虚湿困型UC取得了较好的疗效。

李姿慧, 北京中医药大学基础医学院 北京市 100029  
王 键, 孙娟, 叶铭钢, 安徽中医学院中医临床学院 安徽省合肥市 230038

王又闻, 上海中医药大学药学院 上海市 201043

蔡荣林, 安徽中医学院针灸经络研究所 安徽省合肥市 230038

李姿慧, 在读博士, 主要从事中医治则治法的理论与实验研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173172

安徽省高等学校自然科学基金资助项目, No. KJ2011A184

作者贡献分布: 李姿慧与王键对此文所作贡献均等; 此课题由王键、李姿慧、孙娟及叶铭钢设计; 研究过程由李姿慧、王又闻、蔡荣林、孙娟及叶铭钢操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王键与李姿慧提供; 数据分析由李姿慧、王键及蔡荣林完成; 本论文写作由李姿慧与王键完成。

通讯作者: 王键, 教授, 博士生导师, 230038, 安徽省合肥市梅山路103号, 安徽中医学院. wangjian6301@163.com

收稿日期: 2011-10-19 修回日期: 2011-12-05

接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

## Effect of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency

Zi-Hui Li, Jian Wang, You-Wen Wang, Rong-Lin Cai, Juan Sun, Ming-Gang Ye

Zi-Hui Li, School of Preclinical Medicine, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China  
Jian Wang, Juan Sun, Ming-Gang Ye, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China

You-Wen Wang, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Rong-Lin Cai, Research Institute of Acupuncture and Moxibustion, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173172; and the National Basic Research Program of China University Science Research Project of Anhui Province, No. KJ2011A184

Correspondence to: Jian Wang, Professor, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China. wangjian6301@163.com

Received: 2011-10-19 Revised: 2011-12-05

Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

## Abstract

**Aim:** To investigate the effect of Shenlingbaizhu powder on serum contents of epidermal growth factor (EGF), superoxide dismutase (SOD) and

malondialdehyde (MDA) in ulcerative colitis (UC) rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency.

**METHODS:** UC was induced in rats with combined trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) and ethanol. Rats were randomly divided into three groups: normal control group, model control group and Shenlingbaizhu powder group. After treatment of rats with Shenlingbaizhu powder, the general conditions of animals and pathological changes in the colon were observed and evaluated. Serum contents of EGF were measured by ELISA, and serum levels of SOD and MDA were measured by chemical colorimetry.

**RESULTS:** The symptoms and pathological changes in the colon were obviously improved in the Shenlingbaizhu powder group compared to the model control group. Serum content of EGF was significantly decreased ( $1.67 \pm 0.17$  vs  $1.92 \pm 0.23$ ,  $P < 0.05$ ) in the model control group compared to the normal control group. Serum levels of SOD and MDA also differed significantly between the model control group and normal control group ( $1.11 \pm 0.13$  vs  $1.40 \pm 0.14$ ,  $16.42 \pm 1.77$  vs  $13.26 \pm 0.99$ , both  $P < 0.01$ ). Serum content of EGF in the Shenlingbaizhu powder group was significantly increased ( $1.89 \pm 0.19$  vs  $1.67 \pm 0.17$ ,  $P < 0.05$ ). Serum levels of SOD and MDA in the Shenlingbaizhu powder group were significantly improved ( $1.38 \pm 0.15$  vs  $1.11 \pm 0.13$ ,  $13.40 \pm 1.25$  vs  $16.42 \pm 1.77$ , both  $P < 0.01$ ) in comparison with those in the model group.

**CONCLUSION:** Shenlingbaizhu powder exerts therapeutic effects against syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency in UC rats possibly via mechanisms associated with the regulation of serum levels of EGF, SOD and MDA.

**Key Words:** Shenlingbaizhu powder; Syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency; Epidermal growth factor; Superoxide dismutase; Malondialdehyde

Li ZH, Wang J, Wang YW, Cai RL, Sun J, Ye MG. Effect

## ■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(5): 410-413

## 摘要

**目的:** 观察参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎(UC)大鼠表皮生长因子(EGF)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响, 以期探究其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

**方法:** 参照文献复制脾虚湿困型UC模型, 将大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、参苓白术散组, 每组10只, 观察大鼠一般情况、结肠病理改变, 检测各组大鼠血清EGF、SOD、MDA含量。

**结果:** 参苓白术散组大鼠症状、体征及结肠黏膜病理变化较模型对照组明显改善。模型对照组大鼠EGF含量与正常对照组比较, 差异有统计学意义( $1.67 \pm 0.17$  vs  $1.92 \pm 0.23$ ,  $P < 0.05$ ), SOD、MDA含量与正常对照组比较的差异有非常显著性( $1.11 \pm 0.13$  vs  $1.40 \pm 0.14$ ,  $16.42 \pm 1.77$  vs  $13.26 \pm 0.99$ ,  $P < 0.01$ ); 参苓白术散组大鼠EGF含量与模型对照组比较, 差异有统计学意义( $1.89 \pm 0.19$  vs  $1.67 \pm 0.17$ ,  $P < 0.05$ ), SOD、MDA水平的差异有非常显著性( $1.38 \pm 0.15$  vs  $1.11 \pm 0.13$ ,  $13.40 \pm 1.25$  vs  $16.42 \pm 1.77$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** 参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD、MDA的水平, 可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一。

**关键词:** 参苓白术散; 脾虚湿困; 表皮生长因子; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

李姿慧, 王键, 王又闻, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 410-413  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/410.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的以大肠黏膜及黏膜下层炎性反应为特点的病变, 属于祖国医学“肠癖”、“疾痢”、“便血”等范畴, 中医学认为其病机的根本是脾虚湿困<sup>[1]</sup>。临床上主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便, 患者病情轻重程度不等, 多为慢性反复发作。参苓白术散出自《古今医鉴》, 是治疗脾虚湿盛证的常用方剂。临床应用参苓白术

散加减治疗溃疡性结肠炎已有较多报道, 并取得了较好的临床疗效<sup>[2-4]</sup>。但是对其治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎的作用机制研究少见相关报道。有研究发现, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)在肠道黏膜损伤和修复中发挥着重要作用<sup>[5]</sup>; UC的发生、发展与氧自由基诱发的脂质过氧化作用亦有密切相关性<sup>[6]</sup>, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是这个过程中重要的过氧化物分解酶, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)为其终末产物。因此, EGF、SOD、MDA水平可能是参苓白术散治疗溃疡性结肠炎的重要作用机制之一, 对此目前尚未见报道。鉴于此, 本研究采用多因素造模构建脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型, 观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠EGF、SOD、MDA水平的影响, 以期探究其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康Wistar大鼠40只, 雌雄各半, 体重180-220 g, 由南京医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(苏)20080004; 三硝基苯磺酸(TNBS), 由Sigma公司生产; 参苓白术散购自安徽中医学院门诊部, 方剂组成: 莲子肉9 g, 薏苡仁9 g, 缩砂仁6 g, 桔梗6 g, 白扁豆(姜汁浸, 去皮)12 g, 茯苓15 g, 人参15 g, 甘草(炒)9 g, 白术15 g, 山药15 g, 陈皮9 g; 精炼纯猪油(4℃保存); 0.9%生理盐水。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 参照相关文献进行动物模型复制<sup>[7,8]</sup>。动物房温度保持18℃-25℃。将40只大鼠适应性喂养3 d, 随机抽取10只为正常对照组, 给予常温正常喂养, 每日给予生理盐水2 mL灌胃1次; 其余30只大鼠单日禁食, 并给予4℃冰水(2 mL/只)灌胃1次, 双日供应充足饲料并予以猪油(4 mL/只)灌胃1次, 每日08:00-16:00令大鼠站在2 cm深的水中, 控制睡眠时间8 h, 连续造模20 d。第21天开始禁食不禁水24 h, 用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 用聚丙烯管插入大鼠肛门上段8 cm, 对照组以0.8 mL生理盐水灌肠, 其余大鼠注入5%的TNBS与50%乙醇12:5比例混合的复合物(其中TNBS 120 mg/kg)0.8 mL, 然后提起大鼠尾部, 持续倒置1 min, 使造模剂充分渗入大鼠肠腔内, 然后使大鼠头部倾斜向下躺至自然清醒, 自由饮食。2-3 d出现黏液脓血便, 说明模型复制成功。

**1.2.2 分组与给药:** 从模型复制成功的大鼠中随

## ■ 研发前沿

溃疡性结肠炎的病因和发病机制尚未明确。中医药治疗溃疡性结肠炎具有独特的优势, 采用中药复方治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究还有待于进一步深入研究。

## ■ 相关报道

临床应用参苓白术散加减治疗慢性溃疡性结肠炎取得了较好的疗效, 亦有研究报道参苓白术散具有明显改善胃肠动力、修复胃肠黏膜屏障的作用, 同时相关研究发现EGF、SOD及MDA在溃疡性结肠炎发病及治疗过程中具有重要的作用。

### ■创新亮点

本研究采用多因素造模构建脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型,观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠EGF、SOD及MDA水平的影响,以期探明其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

### ■应用要点

本研究发现参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD及MDA的水平,具有调节EGF和抗自由基的作用,从而促进肠黏膜修复,可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一。

表 1 各组大鼠血清EGF、SOD及MDA水平比较 ( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	EGF( $\mu$ g/L)	SOD(U/mL)	MDA( $\mu$ mol/L)
正常对照组	1.92 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>	1.40 $\pm$ 0.14 <sup>d</sup>	13.26 $\pm$ 0.99 <sup>d</sup>
模型对照组	1.67 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	1.11 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	16.42 $\pm$ 1.77 <sup>b</sup>
参苓白术散组	1.89 $\pm$ 0.19 <sup>c</sup>	1.38 $\pm$ 0.15 <sup>d</sup>	13.40 $\pm$ 1.25 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型对照组。

机抽取20只,分为模型对照组、参苓白术散组,每组10只。根据《药理实验方法学》“不同动物等效剂量折算系数表”折算出参苓白术散煎剂给大鼠用量为1.2 g/(100 g·d),正常对照组和模型对照组用0.9%生理盐水1 mL/(100 g·d)灌胃,连续14 d。

1.2.3 记录大鼠一般情况:每天记录各组大鼠饮水量、进食量,观察大鼠一般情况和粪便质地等。

1.2.4 病理检查:实验结束后,大鼠用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉,各组大鼠取距肛门约8 cm的结肠,10%甲醛固定、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红染色,观察结肠病理改变。

1.2.5 血清EGF、SOD及MDA含量测定:腹主动脉取血后,不抗凝离心取血清备测。ELISA法检测大鼠血清EGF水平;用化学比色法测定SOD活性和MDA水平,严格按试剂盒说明书操作。

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件进行处理,实验数据以mean  $\pm$  SD表示,均数间两两比较采用 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠一般状况变化 正常对照组大鼠毛色顺滑,有光泽,反应灵活,大便呈小球状;造模大鼠最初1-2 d神态萎靡,水中站立结束后毛长时间不能干燥,2-3 d后状态略有好转,第5天开始出现嗜卧懒动、大便变软,10 d左右出现饮食减少、竖毛、易脱毛,雄鼠阴囊下垂,15 d后有行走歪斜、肛周污秽、眯眼、神态极度萎靡等症状。模型对照组动物经肛门灌入三硝基苯磺酸出现黏液脓血便,大鼠精神萎靡、消瘦、饮食减少,体征改善不明显;参苓白术散组大鼠经灌胃治疗后症状基本好转。

2.2 各组结肠黏膜病理变化 肉眼观:正常对照组大鼠结肠皱襞纹理清晰,未见溃疡;模型组大鼠结肠黏膜充血、水肿,可见溃疡形成;参苓白术散组大鼠结肠黏膜充血、水肿明显减轻,溃疡缩小甚至愈合。光镜下:正常对照组大鼠结肠各层结构清晰,肠腺规则,极向明显,间质未见

充血水肿;模型组黏膜呈灶状缺失,水肿、充血、大量炎细胞浸润,伴有溃疡灶形成;参苓白术散组大鼠黏膜基本恢复正常,仍有少量炎性细胞浸润。

2.3 各组大鼠血清EGF、SOD、MDA水平 模型对照组大鼠EGF、SOD含量明显下降,MDA含量显著升高,与正常对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。参苓白术散组大鼠EGF含量与模型对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),SOD、MDA水平的差异亦非常显著( $P < 0.01$ )。提示参苓白术散能改善脾虚湿困型UC大鼠的EGF、SOD、MDA水平(表1)。

## 3 讨论

UC一般病程较长,早期症状不典型容易被忽视,脾虚日久生“湿”、“热”、“瘀”、“毒”等邪,壅塞大肠,终致肠中脂膜腐败溃烂,化为脓血,相杂而下发为泻痢。《景岳全书·泄泻》云:“饮食不节,起居不时,以致脾胃受伤,则水反为湿,谷反为滞,精华之气不能输化,乃致合污下降而泻痢矣”,说明脾虚湿困是溃疡性结肠炎的重要病机。脾虚失运,土不制水而生湿,湿性黏滞,阻遏气机,湿性下趋,注于肠道则大便反快。如尤在泾《金匱要略心典》曰:“中湿者,亦必先有内湿而后感外湿,故其人平日土德不及而湿动于中……为小便不利,大便反快”。参苓白术散是健脾化湿法的代表方剂,临床应用参苓白术散加减治疗慢性溃疡性结肠炎取得了较好的疗效,亦有研究报道参苓白术散具有明显改善胃肠动力、修复胃肠黏膜屏障的作用<sup>[9-11]</sup>。但是,目前对于参苓白术散治疗溃疡性结肠炎的作用机制尚缺乏深入的研究。

本研究采用TNBS诱导法、疲劳、控制饮食、潮湿环境的多因素“病证结合”造模法构建脾虚湿困型UC大鼠模型。模型对照组大鼠模型复制后相继出现脓血便、肛周污秽、消瘦、竖毛、懒动及炎症反应,皆符合UC的表现。模型对照组大鼠血清中EGF含量明显低于正常对照

组, 参苓白术散组EGF含量明显高于模型组, 说明参苓白术散能增高UC大鼠血清中EGF含量, 进而促进肠黏膜损伤修复; 模型对照组SOD活性显著低于正常对照组, 与相关文献报道一致<sup>[12]</sup>, 参苓白术散组SOD活性显著高于模型组, 模型对照组MDA含量高于正常对照组, 参苓白术散组血清中MDA含量明显低于模型对照组, 提示参苓白术散可能通过提高SOD活性而清除过量的氧自由基, 降低MDA的水平, 减少脂质过氧化作用, 阻止细胞内酶的失活及蛋白变性而减少细胞损伤, 保护结肠组织。

已有研究表明, 溃疡性结肠炎患者血清MDA含量明显升高, SOD水平显著下降<sup>[13]</sup>, 李燕舞等<sup>[14]</sup>在观察EGF在溃疡性结肠炎大鼠模型中的动态变化及药物对其影响的实验中, 发现EGF在UC发展过程中先降低后增高, 认为可能与机体本身修复机制启动有关; 溃结灵可以增加EGF表达, 可能是其发挥促黏膜修复的机制之一。周凡等<sup>[15]</sup>发现脾胃湿热型UC大鼠与正常组相比, 血清中SOD活性下降, MDA水平升高, 认为氧自由基可能参与了脾胃湿热型UC的发病过程。这些研究与本文研究结果相类似, 进一步证实EGF、SOD、MDA在溃疡性结肠炎发病及治疗过程中的重要作用。

总之, 参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD、MDA的水平, 具有调节EGF和抗自由基的作用, 从而促进肠黏膜修复, 可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一, 具有重要的临床指导价值。

#### 4 参考文献

- 1 关晓辉. 中医药综合治疗溃疡性结肠炎效果分析. 中国医药导报 2010; 7: 97-98
- 2 雒福东, 孔鹏飞, 唐学贵. 参苓白术散桃花汤合保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察. 实用中医内科杂志 2011; 25: 54-55
- 3 李惠霞. 参苓白术散加减配合中药灌肠治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎47例. 辽宁中医杂志 2008; 35: 886
- 4 李楠. 参苓白术散合中药灌肠治疗溃疡性结肠炎62例. 中医研究 2011; 24: 46-47
- 5 Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Kapsoritaki AI, Manolakis AC, Tsiopoulos FD, Germentis AE, Potamianos SP. Downregulation of serum epidermal growth factor in patients with inflammatory bowel disease. Is there a link with mucosal damage? *Growth Factors* 2010; 28: 461-466
- 6 Kosaka T, Yoshino J, Inui K, Wakabayashi T, Kobayashi T, Watanabe S, Hayashi S, Hirokawa Y, Shiraishi T, Yamamoto T, Tsuji M, Katoh T, Watanabe M. Involvement of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 and superoxide dismutase polymorphisms in ulcerative colitis. *DNA Cell Biol* 2009; 28: 625-631
- 7 黄秀深, 沈涛, 刘伟, 罗玉熙, 吴施国, 徐薇, 侯建业, 苏先华, 张萍. 平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响. 中医杂志 2007; 48: 730-732
- 8 王雪茜, 王新月. 溃结饮2种给药途径对大鼠溃疡性结肠炎血清IFN- $\gamma$ 和IL-4的影响. 北京中医药大学学报 2010; 33: 468-471
- 9 林琼, 陈朝元. 参苓白术散对功能性不良患者血MTL及VIP的影响. 内蒙古中医药 2010; 29: 9-11
- 10 杨旭东, 张杰, 王巍. 参苓白术散对脾虚小鼠肠保护作用及其机制的研究. 牡丹江医学院学报 2009; 30: 9-11
- 11 张仲林, 钟玲, 臧志和, 辛志伟. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究. 时珍国医国药 2009; 20: 3151-3152
- 12 杨天, 邹开芳. 重组肠三叶因子对实验性结肠炎大鼠NO表达、MDA和SOD活性的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 403-405
- 13 郝志明, 茆新明, 王利公. 溃疡性结肠炎患者血清MDA及SOD的变化. 胃肠病学和肝病杂志 2000; 9: 124-125
- 14 李燕舞, 黄秋凌, 王汝俊. 溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜表皮生长因子表达的动态变化及溃结灵对其的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 269-270
- 15 周凡, 李生强, 柯晓, 谢冰颖, 王若愚, 黄玉梅, 武一曼. 脾胃湿热型溃疡性结肠炎模型大鼠超氧化物歧化酶活性和丙二醛水平的实验研究. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 177-179

#### ■同行评价

本文选题较新颖, 设计合理, 结构紧凑, 分析合理, 条理分明, 通过观察参苓白术散对溃疡性结肠炎大鼠血清相关因子的影响, 探讨中药复方的治疗学机理, 具有一定的意义, 为进一步开展参苓白术散治疗溃疡性结肠炎作用机制的深入研究及其临床应用提供了实验依据。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)