

# 猴头菌提取物颗粒治疗溃疡性结肠炎的研究

陈敏<sup>1</sup>, 田汉文<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>四川省乐山市人民医院, 四川乐山 614000)

(<sup>2</sup>四川大学华西医学中心, 四川成都 610041)

溃疡性结肠炎 (UC) 是以腹泻、黏液脓血便、腹痛和里急后重等为主要症状, 以结肠黏膜慢性炎症和溃疡形成为病理特点的消化道疾病。由于本病治愈难度大, 且易复发, 并与结肠癌的发病存在一定的关系, 被世界卫生组织列为现代难治病之一。目前, 氨基水杨酸类药物和皮质类固醇类药物是治疗溃疡性结肠炎的主要药物。但存在停药后易复发、长期用药不良反应多和部分顽固性病例疗效不理想等缺点。猴头菌提取物颗粒属于新一代猴头菌生化制品, 比传统中药猴头菌制剂所含有效活性成分更明确, 含量更高, 具有抗氧化、调节免疫功能作用。本试验欲观察猴头菌提取物颗粒对溃疡性结肠炎的治疗效果和作用机制。

## 1 实验资料

### 1.1 实验动物

健康 3 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体质量 200~220g。购入后适应性饲养 7d。

### 1.2 实验药物

柳氮磺胺吡啶 (海南红惠制药有限公司, 批号 041204); 猴头菌提取物颗粒 (商品名: 谓葆, 山西康欣药业生产, 批号 071010)。

### 1.3 试剂与器材

无水乙醇 (分析纯, 北京化工厂), 三硝基苯磺酸 (美国, Sigma 公司), SOD, MDA 检测试剂盒 (北京邦定生物医学公司)。724 微型可见分光光度计 (上海光学仪器厂), 840 型高效液相色谱仪 (美国, Waters 公司), 水平离心机 (北京医疗仪器修理厂)。

### 1.4 大鼠实验性溃疡性结肠炎模型的建

## 立

采用 Morris 等<sup>[1]</sup>报道的 2,4,6 - 三硝基苯磺酸 (TNBS) 法造模: 将大鼠禁食 24h 后麻醉, 一次性将 TNBS (100mg/kg) 和 50%乙醇溶液 0.25mL 用橡胶输液管缓慢注入距肛门约 8 cm 处的肠腔内。造模后第 3 天治疗组开始给药。

### 1.5 实验分组及给药

正常组及模型组给予生理盐水灌胃, 1 次/d, 共 5 周; 阳性药物组选用柳氮磺胺吡啶 (SASP) 按相当于人的中等治疗剂量, 予 0.3g/kg SASP 混悬液灌胃, 1 次/d, 共治疗 5 周; 猴头菌提取物颗粒分别按低剂量组 (75mg/kg), 中剂量组 (150mg/kg) 和高剂量组 (300mg/kg) 灌胃 (分别为人日推荐量的 1、10、30 倍)<sup>[2,3]</sup>, 1 次/d, 共治疗 5 周。

### 1.6 观察指标及测定方法

5 周后各组大鼠经 10%水合氯醛 (400 mg/kg) 麻醉, 立即开腹分离结肠, 沿肠系膜缘剪开肠腔, 取病变处结肠 1~2 cm 速冻于液氮中, 后转至 -70℃ 保存, 留待测 SOD、MDA。结肠组织匀浆 SOD 含量测定: 采用黄嘌呤氧化酶法测定, 数据单位为 IU/mg。MDA 含量采用硫代巴比妥酸反应产物比色法测定, 数据单位为  $\mu\text{mol/g}$ 。

### 1.7 统计学处理

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组间进行  $t$  检验。

## 2 结果

2.1 结肠组织中 SOD、MDA 含量变化 (见表 1)

表 1 各组结肠组织中 SOD 和 MDA 含量的变化

组别	SOD (IU/mg)	MAD ( $\mu\text{mol/g}$ )
正常组	132.391 $\pm$ 21.582	15.380 $\pm$ 14.059
模型组	61.269 $\pm$ 17.421 <sup>②</sup>	37.452 $\pm$ 6.524 <sup>②</sup>
阳性药物组	106.443 $\pm$ 18.564 <sup>①⑤</sup>	21.314 $\pm$ 4.578 <sup>④</sup>
低剂量组	93.043 $\pm$ 25.869 <sup>①③</sup>	25.190 $\pm$ 8.276 <sup>①③</sup>
中剂量组	114.214 $\pm$ 23.953 <sup>⑤</sup>	19.653 $\pm$ 4.453 <sup>④</sup>
高剂量组	103.975 $\pm$ 22.652 <sup>④</sup>	21.294 $\pm$ 3.760 <sup>④</sup>

注: ①与正常组比较,  $P < 0.05$ ; ②与正常组比较,  $P < 0.001$ ;  
③与模型组比较,  $P < 0.05$ ; ④与模型组比较,  $P < 0.01$ ;  
⑤与模型组比较,  $P < 0.001$ 。

## 2.2 结肠组织损伤大体形态和组织学形态

表2 各组大鼠结肠大体形态和组织学损伤评分比较

项目	正常组	模型组	阳性药物组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
大体损伤评分	0.25 $\pm$ 0.50	6.35 $\pm$ 1.20	0.95 $\pm$ 0.50 <sup>①</sup>	6.15 $\pm$ 1.30	0.92 $\pm$ 0.40 <sup>①</sup>	0.94 $\pm$ 0.60 <sup>①</sup>
组织学损伤评分	1.20 $\pm$ 1.05	5.72 $\pm$ 0.46	1.03 $\pm$ 0.47 <sup>①</sup>	5.65 $\pm$ 0.38	0.99 $\pm$ 0.12 <sup>①</sup>	1.02 $\pm$ 0.21 <sup>①</sup>

注: ①与模型组比较,  $P < 0.01$

## 3 讨论

溃疡性结肠炎是肠道非特异性炎性疾病, 肠道局部炎性损伤是其重要病理改变, 其以大量炎细胞浸润肠壁和持续活化为特征<sup>[5]</sup>, 而 TNBS 结肠炎仍是研究炎性肠病 (IBD) 最常用的模型。TNBS 诱导的溃疡性结肠炎具有类似人类 IBD 人体病理及组织学改变, 并由免疫系统所介导; 此外, 该模型体现了急性炎症向慢性转化的动态过程, 有利于评价药物疗效。有关溃疡性结肠炎的临床和实验研究均发现自由基及其触发的脂质过氧化反应在其发生、发展中有重要作用<sup>[6,7]</sup>。而 SOD 能有效地清除氧自由基, 催化超氧化自由基分解成  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 进而在过氧化氢酶的作用下分解成  $\text{H}_2\text{O}$  和氧分子, 从而抑制肠组织中的脂质过氧化反应。SOD 活性可间接反映机体的脂质过氧化反应和抗脂质过氧化反应的能力, 许多学者认为 UC 体内, 特别是肠黏膜组织局部 SOD 活性降低, 清除氧自由基 (OFR) 能力的降低是导致 OFR 堆积造成肠黏膜损伤的重要机制之一<sup>[8,9]</sup>。

本实验表明, 模型组的 SOD 活力与正常组比较有显著性降低 ( $P < 0.001$ ); 阳性药物组

## 评分方法<sup>[4]</sup>

大体形态损伤评分指标包括粘连、局部充血、溃疡及炎症。粘连及充血按有无及轻重分别计 0、1、2 分, 出现炎症、溃疡数目增加 1 个、溃疡面  $> 2\text{cm}$  时, 范围每增加 1cm, 计分均加 1。组织学指标包括溃疡、炎症、肉芽肿、纤维化及病变深度, 按有无及轻重分别计 0、1、2 分, 病变深度达黏膜下层肌层、浆膜层分别计 1、2、3 分。各项相加得总分, 见表 2。

的 SOD 活力与正常组比较有降低 ( $P < 0.05$ ), 与模型组比较有显著性升高 ( $P < 0.001$ ); 低剂量组的 SOD 活力与正常组比较有降低 ( $P < 0.05$ ), 但与模型组比较则有升高 ( $P < 0.05$ ), 中、高剂量组的 SOD 活力与正常组比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 与模型组比较则有显著性升高 ( $P < 0.01$ )。

机体通过酶系统与非酶系统产生氧自由基, 后者能攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸, 引发脂质过氧化作用, 并因此形成脂质过氧化物以及新的氧自由基等。因而测试 MDA 的量常常可以反映机体内脂质过氧化的程度, 间接地反映细胞损伤的程度。本实验表明, 模型组的 MDA 含量与正常组比较有显著性升高 ( $P < 0.001$ ); 阳性药物组的 MAD 含量与正常组比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但与模型组比较则有显著性降低 ( $P < 0.01$ ); 低剂量组的 MDA 含量与正常组比较有升高 ( $P < 0.05$ ), 与模型组比较则有降低 ( $P < 0.05$ ), 中、高剂量组的 MDA 含量与正常组比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 与模型组比较则有显著性降低 ( $P < 0.01$ )。

促炎性细胞因子与抗炎性细胞因子之间的平衡失调所致免疫异常被视为 IBD 的一个重要发病机制<sup>[10]</sup>。溃疡性结肠炎的发生原因和致病机制迄今尚未完全阐明,多年研究证实该病与自身免疫反应有关。异常的免疫反应或正常免疫调节的破坏是 UC 发病的重要环节<sup>[11]</sup>。猴头菌提取物颗粒中所含猴头菌多糖具有免疫调节功能<sup>[12]</sup>,能改善由免疫功能异常所导致的肠黏膜功能下降或丧失;其中所含有效成分多糖、多肽及多种营养成分(氨基酸、微量元素及维生素 C 等),对受损肠黏膜有修复和营养作用。

综上所述,本实验证明:①猴头菌提取物颗粒对大鼠病变结肠黏膜有一定的修复作用;②溃疡性结肠炎大鼠经猴头菌提取物颗粒治疗后 MAD 含量降低, SOD 的活力增加,以中、高剂量组的治疗效果为佳。

猴头菌提取物颗粒在治疗溃疡性结肠炎的作用机制,表现在如下方面:①猴头菌提取物颗粒中所含有效成分猴头多糖、多肽及多种营养成分(氨基酸、微量元素及维生素 C 等),对胃肠道黏膜有修复和营养作用,同时也促进受损肠黏膜的修复;②猴头菌提取物颗粒所含猴头多糖、天然维生素 C,微量硒有清除氧自由基和抗氧化活性,对黏膜上皮增生修复有一定促进作用;③猴头多糖对巨嗜细胞膜受体及其介导的抗体依赖性细胞毒(MMADCC)的影响具双向调节作用。这种调节机制表现在同一剂量猴头多糖作用下,正常的 MMADCC 不受影响,激活的巨嗜细胞其 MMADCC 受到抑制,受到抑制的 MMADCC 又能被猴头多糖所增强,这样有利于机体免疫功能的调整<sup>[13]</sup>。猴头菌颗粒正是通过这种双向调节作用来达到减弱免疫炎症所导致的肠黏膜损伤,治疗溃疡性结肠炎。

#### 参考文献

- [1] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, *et al.* Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon[J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3):795
- [2] 向前,牛勃,解军,等.猴头菌提取物颗粒对小鼠肠蠕动和排便影响实验研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2006, 8(4):17-18
- [3] 胡晓年,张娟,向前,等.猴头菌提取物颗粒对胃炎及胃溃疡作用的研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2005, 7(6): 30-32
- [4] 朱峰,钱家鸣,潘国宗.细胞免疫反应性炎症性肠病动物模型的建立[J]. *中国医学科学院学报*, 1998, 20(4): 271
- [5] Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 1995, 24(3):475- 507
- [6] Nielsen OH, Ahnfelt-Ronne I. Involvement of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of chronic inflammatory bowel disease [J]. *Klin Wochenschr*. 1991, 69(21/23):995-1000
- [7] Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage[J]. *In Vivo*, 1999, 13(3):295-309
- [8] Mulden YPJ, Verspeget HW, Janssens AR, *et al.* Decrease in two intestinal copper/zinc containing proteins with antioxidant function in inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 1991, 32(10):1146-1150.
- [9] Lih-Brady L, Powell SR, Collier KP, *et al.* Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease [J]. *Dig Dis Sci*, 1996, 41(10):2078-2086
- [10] Anand AC, Adya CM. Cytokines in inflammatory bowel disease EJ 3 [J]. *Trop Gastroenterol*, 1999, 20(3): 97
- [11] 李琪佳. 细胞因子与溃疡性结肠炎[J]. *临床内科杂志*, 1997, 14(6):297
- [12] 徐杭民. 猴头菇多糖的免疫调节作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(7):427-428
- [13] 吉家祥, 范秀容. 猴头菌多糖对巨嗜细胞膜受体及其介导的抗体依赖性细胞毒的影响[J]. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1990, 36(2):112-116

