

# 中药经验方治疗溃疡性结肠炎不同时期 TNF- $\alpha$ 及 IL-23 的变化

司海鹏<sup>1</sup> 朱长乐<sup>1</sup> 秦 菲<sup>2</sup> 叶 柏<sup>3</sup>

(1 南京中医药大学附属医院病理科, 南京, 210029; 2 江苏省中西医结合医院, 南京, 210028;

3 南京中医药大学附属医院消化科, 南京, 210029)

**摘要** 目的:探讨溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)患者在中药经验方治疗不同时期 TNF- $\alpha$  及 IL-23 的变化。方法:选取 2011 年 4 月至 2014 年 8 月在南京中医药大学附属医院经中医辨证后诊断为 UC 的患者 26 例,作为观察组,取健康志愿者 26 例作为正常对照。观察组给予中药经验方治疗,分别在疾病活动期和缓解期内镜下取活检,用免疫组化方法检测组织中 TNF- $\alpha$  及 IL-23 表达。结果:各组 TNF- $\alpha$  及 IL-23 表达显示,UC 活动期与缓解期组比较,及 UC 活动期与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 UC 缓解期与正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:经验方可以降低溃疡性结肠炎患者活动期组织中细胞因子水平,从而抑制其对黏膜的损伤。

**关键词** 溃疡性结肠炎; IL-23; TNF- $\alpha$ ; 免疫组化

## Changes of IL-23 and TNF- $\alpha$ in Different Stages of Ulcerative Colitis Treated by Chinese Materia Medica Empirical Formula

Si Haipeng<sup>1</sup>, Zhu Changle<sup>1</sup>, Qin Fei<sup>2</sup>, Ye Bai<sup>3</sup>

(1 Department of Pathology, Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2 Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing 210028, China; 3 Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China)

**Abstract Objective:** To explore the changes of IL-23 and TNF- $\alpha$  in different stages of the patients with ulcerative colitis (UC) treated with Chinese materia medica empirical formula. **Methods:** A total of 26 patients who were diagnosed as UC through TCM syndrome differentiation in Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM from April 2011 to August 2014, were treated with Chinese materia medica empirical formula. Biopsy was performed during active stage and remission stage. The expression of IL-23 and TNF- $\alpha$  in the intestinal mucosa in different stages were assessed by immunohistochemistry (IHC). Another 26 healthy volunteers were selected as control. **Results:** The expression levels of IL-23 and TNF- $\alpha$  in active stage were higher than those of the control group and those in remission stage with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). There was no statistically significant difference in UC remission stage when compared with control group. **Conclusion:** Chinese materia medica empirical formula could reduce the inflammatory reaction of UC patients in active stage, so as to inhibit damage to intestinal mucosa.

**Key Words** Ulcerative colitis; IL-23; TNF- $\alpha$ ; Immunohistochemistry

中图分类号: R285.6 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.018

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是肠道慢性非特异性疾病,病因未明,目前认为其发病机制与黏膜缺损、肠道感染、免疫调节异常等多种因素有关<sup>[1]</sup>。病变主要在结肠黏膜及黏膜下层,一般从结肠远段开始,向上累及全结肠甚至末段回肠,病变呈连续性,患者主要以腹痛、腹泻和黏液脓血便为表现,属中医“疾病”“便血”范畴。在前期血清细胞因子研究基础上<sup>[2-3]</sup>,我们此次采用中药口服及灌肠方

法治疗 UC 患者,观察活动期及缓解期组织中 TNF- $\alpha$  及 IL-23 的变化。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 4 月至 2014 年 8 月在南京中医药大学附属医院经中医辨证后诊断为 UC 的患者 26 例,作为观察组,取健康志愿者 26 例作为正常对照。观察组中,男 11 例,女 15 例,年龄 16~63 岁,病程 3~24 个月。对照组中男 11 例,女

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81403344)——“黄芩苷干预 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路对溃疡性结肠炎免疫调节、肠黏膜屏障修复的作用机制研究”;国家中医药行业科研专项资助(201407001)——“针对难治性脾胃病的中医药诊疗规范转化应用研究”

作者简介:司海鹏(1976.08—),女,硕士,副主任医师,研究方向:肿瘤病理研究, E-mail: mtshp@sina.com

通信作者:叶柏(1961.04—),男,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:脾胃病, E-mail: mtshp@sina.com

15 例,年龄 27 ~ 65 岁。

1.2 诊断标准 西医诊断标准请参照 2007 年中华医学会消化病学分会发表的“对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见”进行诊断<sup>[4]</sup>;而中医参照《中药新药临床研究指导原则》为辨证标准<sup>[5]</sup>。

1.2.1 活动期主症 腹痛、腹泻,黏液脓血便;舌质红,苔黄腻。次症:身热、小便短赤;肛门灼热;里急后重;口干口苦口臭;脉滑数。符合主症加次症 2 项即可诊断。

1.2.2 缓解期主症 大便溏薄,黏液白多赤少;舌质暗红,苔白腻。次症:腹痛隐隐;神疲乏力;食欲减退;口干苦;脉细数。符合主症加次症 4 项即可诊断。

1.3 纳入标准 符合西医诊断标准;符合中医辨证标准,活动期为大肠湿热证,缓解期为脾肾阳虚证;患者知情同意。

1.4 排除标准 不符合中西医溃疡性结肠炎诊断标准;妊娠或哺乳期女性;合并肝肾等其他系统严重原发性疾病及精神病者;同时参加其他临床实验研究的患者。

1.5 脱落或剔除标准 病历资料不全或中途退出者。

## 1.6 治疗方法

1.6.1 活动期 中药口服基本方:发作期患者体内久蕴湿热之毒,毒邪再加上饮食积滞,使得肠中气滞血瘀,从而引发肠络血败继之肉腐,成痈酿脓,血络受损,混杂粪便而下故临床表现为黏液脓血便,此种大肠湿热证根据我院叶柏主任医师多年经验用药<sup>[6]</sup>,应予凉血活血、清化敛瘀法:赤芍 15 g、白芍 15 g、地锦 15 g、紫草 15 g、秦皮 15 g、地榆 15 g、炒当归 10 g、白头翁 10 g、黄芩 10 g、葛根 10 g、煨木香 6 g、白芍 10 g、牡丹皮 10 g、肉桂 2 g、黄连 3 g、生甘草 5 g,1 剂/d,分 2 次服用,用药 1 ~ 2 个月,可根据病情变化随证加减。中药灌肠方:地榆 30 g、石菖蒲 20 g、黄柏 20 g、白头翁 15 g、(包)五倍子 10 g、白及粉 3 g、三七粉 1.5 g、青黛 3 g,浓煎 100 ~ 150 mL,加入锡类散 1 g。患者排便后左侧卧位,缓慢注入药液。临睡前灌肠,1 次/d,每连续灌肠 20 d 后停灌 7 d。

1.6.2 缓解期 中药口服基本方:根据叶柏主任医师多年经验用药,缓解期本虚为主,主要是脾肾阳虚,应予清化活血、健脾温中法:云茯苓 15 g、秦皮 15 g、地锦 15 g、仙鹤草 15 g、炒当归 10 g、炙黄芪 15 g、益智仁 10 g、防风 10 g、炒白术 10 g、黄连 3 g、

煨木香 6 g、肉豆蔻 5 g,1 剂/d,分 2 次服用,用药 1 ~ 2 个月,可依病情变化随证加减。

1.7 观察指标 分别在疾病活动期和缓解期内镜下取活检,10% 甲醛固定,石蜡包埋切片进行病理常规苏木精-伊红 (Hematoxylin-Eosin, HE) 染色;同时切片进行 SP 二步法免疫组化染色,IL-23 及 TNF- $\alpha$  试剂均购自福州迈新公司。

1.7.1 HE 染色 观察腺体形态改变,隐窝脓肿有无,间质炎细胞浸润情况。

1.7.2 免疫组化染色 计数高倍镜下 5 个视野内阳性细胞,IL-23 及 TNF- $\alpha$  染色结果参照文献进行,均为胞质染色,按染色强度及数量分为 3 级:无染色为(-);(+)为阳性细胞数 < 10% 且强度为淡黄色;(++)为阳性细胞数 > 50%,染为棕黄色;二者之间为(+++)。将对应分级记为 0、1、2、3。采用双盲法,由 2 位病理医师分别判读取平均数。

1.8 疗效判定标准 1)病理检查示:炎细胞减少,尤其是中性粒细胞消失;2)隐窝脓肿消失,隐窝排列紊乱;3)潘氏细胞化生。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行统计学分析,多个样本比较进行  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HE 染色 活动期可见固有层内弥漫浸润的慢性炎细胞;可见隐窝炎及隐窝脓肿;黏膜表面糜烂、溃疡形成;部分上皮内杯状细胞减少。缓解期可见各种炎细胞明显减少;隐窝脓肿虽然消失,但是隐窝呈不规则增生,排列较紊乱;部分可见潘氏细胞化生。正常组间质散在少量炎细胞,腺体大小、形态规则。如图 1、2、3。

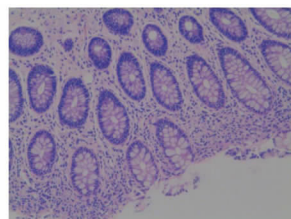
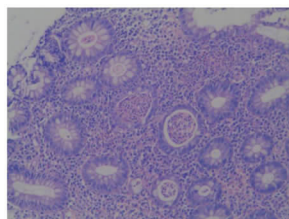


图 1 UC 活动期多量慢性炎 图 2 UC 缓解期间质各种炎  
细胞浸润(HE 染色  $\times 200$  倍) 细胞减少(HE 染色  $\times 200$  倍)

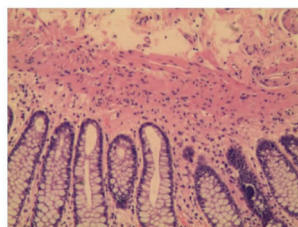


图 3 正常黏膜 HE 染色  $\times 200$

2.2 免疫组化结果 UC 缓解期与活动期组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),UC 缓解期与正常组比较明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),UC 活动期与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。如图 4~6,表 1~2。

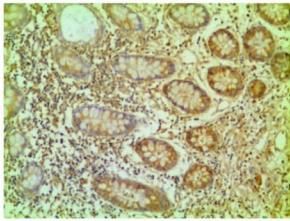


图 4 活动期炎细胞  
表达 IL-23 增多

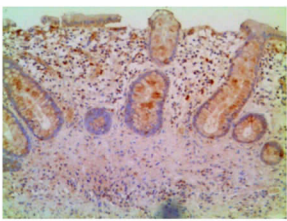


图 5 缓解期炎细胞  
IL-23 表达降低

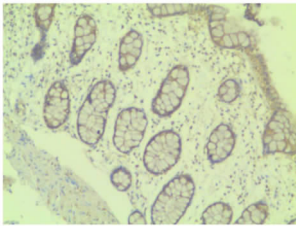


图 6 正常组炎细胞 IL-23 明显降低

表 1 UC 患者 TNF- $\alpha$ 、IL-23 不同表达强度的病例数(例)

|               | IL-23 |    |    |   | TNF- $\alpha$ |   |   |   |
|---------------|-------|----|----|---|---------------|---|---|---|
|               | 0     | 1  | 2  | 3 | 0             | 1 | 2 | 3 |
| 正常组( $n=26$ ) | 8     | 14 | 4  | 0 | 21            | 5 | 0 | 0 |
| 活动期( $n=26$ ) | 1     | 11 | 10 | 4 | 10            | 8 | 7 | 1 |
| 缓解期( $n=26$ ) | 5     | 14 | 6  | 1 | 17            | 9 | 0 | 0 |

表 2 UC 患者 TNF- $\alpha$ 、IL-23 表达水平计分(分)

|               | IL-23 |    |    |    | TNF- $\alpha$ |   |    |   | $P$      |
|---------------|-------|----|----|----|---------------|---|----|---|----------|
|               | 0     | 1  | 2  | 3  | 0             | 1 | 2  | 3 |          |
| 正常组( $n=26$ ) | 0     | 14 | 8  | 0  | 0             | 5 | 0  | 0 |          |
| 活动期( $n=26$ ) | 0     | 11 | 20 | 12 | 0             | 8 | 14 | 3 | *        |
| 缓解期( $n=26$ ) | 0     | 14 | 12 | 3  | 0             | 9 | 0  | 0 | $\Delta$ |

注:与活动期比较,\* $P < 0.05$ ;与正常组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

溃疡性结肠炎,是一种发生在肠道的非特异性慢性疾病,其发病机制与遗传易感宿主对肠道菌群的免疫应答失常有关,新近研究发现心里压力、饮用牛奶也可增加发病概率<sup>[7]</sup>,“推测 UC 是遗传、环境、免疫和感染等多种因素共同作用,引起肠道黏膜出现异常免疫反应而导致的<sup>[8]</sup>。过去西方国家中 UC 常见,但近些年随着国人饮食习惯的变化,发病率逐步上升。患者主要表现为腹痛、腹泻、里急后重,还可同时伴有结节性红斑、口腔溃疡等不同程度的肠外表现”,而镜下则为弥漫性炎性反应为主的病理改变。目前对此病的治疗原则是:控制病情的发作、缓解症状<sup>[9]</sup>、减少并发症的发生。美沙拉嗪作为新型

的 5-氨基水杨酸控制剂,它具有抑制免疫功能的作用,临床上常用作首选药,但是长期使用会给患者带来一定程度的不良反应如恶心、呕吐等<sup>[10]</sup>。马来酸曲美布汀片是种新型药,疗效显著,但国内研究较少<sup>[11-12]</sup>。而近些年中药独特的药理作用,比单独应用西药更安全有效,所以我们此次采用中药治疗 UC 患者来探讨中药疗效。

中医 UC 属于“肠风”“泄泻”,病机特点活动期为体内毒邪久蕴湿热之毒邪加上饮食积滞,使得肠中气滞血瘀,从而引发肠络血败继之肉腐,成痈酿脓,血络受损,混杂粪便而下故临床表现为黏液脓血便,甚者形成溃疡。根据 UC 的病因,在内镜下可以看到肠黏膜充血、出血、溃疡等病理改变,我院叶柏主任以多年治疗 UC 临床经验<sup>[6]</sup>,治疗上以凉血活血、清化敛疡为基本治疗方法,含黄芩、地锦、葛根、秦皮、赤白芍、黄连、煨木香、炒当归组成的治疗 UC 活动期中药方。而对缓解期则根据《素问·太阴阳明论》:“饮食不节,起居不时者,阴受之。下为飧泄,久为肠澼”,疾病长期发作,久而损伤及肾,命门火衰,脾失温煦,导致脾肾阳虚,治疗上以云茯苓、秦皮、地锦、仙鹤草、炒当归、炙黄芪、防风、炒白术、黄连、煨木香等予清化活血、健脾温中法为主,收到不错的疗效。经典的药理研究表明:赤芍除能抑制血小板聚集,降低全血黏度,还具有抗炎和免疫抑制作用;当归则能改善局部微循环,疏通血细胞瘀滞,调节机体免疫功能及杀菌作用;黄连则能抑制和调节肠道菌群,当它与创面接触后,可使局部蛋白质凝固,在表面形成一层较致密的保护层,促进溃疡表面的愈合。故此方具有改善肠道局部微循环,以及抗感染、改善机体免疫状态等作用,特别是通过改善局部血运,可以促进炎症反应吸收、加速溃疡愈合,减轻症状。

而促进炎症反应的 Th17 细胞,增殖受多种细胞因子影响,在抵抗病原感染及介导自身免疫性疾病方面起重要作用。而 IL-17 是 Th17 细胞的主要效应因子,研究发现 IL-17 在 UC 患者肠黏膜及血清中表达增高,推测其在 UC 的发生和发展中起重要作用。新近提出的 IL-23/IL-17 轴说明<sup>[13]</sup>:“IL-23 不仅能促进 Th17 细胞扩增和存活,还能分泌 IL-17,而后者具有强大的刺激中性粒细胞的功能,由此表明 IL-23 在 UC 发生发展中发挥重要作用”。TNF- $\alpha$  是由单核/巨噬细胞活化产生的一种细胞因子,主要在肠黏膜局部发挥作用,通过与特定受体结合产生潜在的细胞毒效应<sup>[14]</sup>和前炎性反应作用。IL-23、TNF- $\alpha$  作

为炎症反应递质,诱发 UC 肠黏膜的炎症反应,从而出现相应的临床症状。本研究 IL-23、TNF- $\alpha$  表达情况,缓解期患者的细胞因子水平较活动期降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),说明此经验方可以抑制促炎因子的表达,使细胞因子水平下降,最终抑制了炎症反应递质对肠黏膜的损伤,相应临床症状也随之缓解,与有关结果一致<sup>[15-17]</sup>。缓解期组与正常组比较,没有统计学差异,但能看出缓解期能够减少炎症反应递质,缓解黏膜损伤的趋势,效果较好。

综上所述,经验方可以降低 UC 患者组织中细胞因子水平,从而抑制其对黏膜的损伤,从而为我们进一步研究提供依据。

### 参考文献

- [1] Dai SX, Wu G, Zou Y, et al. Balance of CD8<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> CD28-T lymphocytes is vital for patients with ulcerative colitis[J]. Dig Dis Sci, 2013, 58(1): 88-96.
- [2] 魏国丽, 郑学宝, 周宇, 等. 参苓白术散联合美沙拉嗪治疗脾胃气虚型溃疡性结肠炎疗效及其对血清 IL-17、TNF- $\alpha$  及 IL-23 水平的影响[J]. 广东医学, 2013, 34(1): 143-145.
- [3] 高孟耐, 周浩, 余祝, 等. 马来酸曲美布汀片对溃疡性结肠炎患者血清 TNF- $\alpha$ 、IL-23、ESR、D-D 的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2017, 37(4): 204-206.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见[J]. 中华内科杂志, 2008, 47(1): 73-78.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则(试行)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 29-134.
- [6] 商璐, 叶柏. 叶柏教授治疗溃疡性结肠炎经验[J]. 中医学报, 2013, 41(3): 126-128.
- [7] 朱磊, 沈洪, 沈照峰, 等. 135 例溃疡性结肠炎相关危险因素的临床特征分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2017, 25(6): 409-

412.

- [8] 陈璐, 周中银. 溃疡性结肠炎发病机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(6): 650-654.
- [9] Vinesh E, Masthan K, Kumar MS, et al. A Clinicopathologic Study of Oral Changes in Gastroesophageal Reflux Disease, Gastritis, and Ulcerative Colitis[J]. Journal of Contemporary Dental Practice, 2016, 17(11): 943.
- [10] Wada S, Kumagai H, Yokoyama K, et al. Mesalazine allergy in a boy with ulcerative colitis: clinical usefulness of mucosal biopsy criteria[J]. Clin J Gastroenterol, 2016, 9(5): 302-305.
- [11] Montpetit H, Ranger M, Colin P, et al. Discovery of a novel trimebutine metabolite and its impact on N-desmethyltrimebutine quantification by LC-MS/MS[J]. Bioanalysis, 2015, 7(8): 1007-1015.
- [12] 于惠玲, 鲁素彩, 孟杰, 等. 马来酸曲美布汀联合舒肝颗粒治疗功能性消化不良的临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(6): 499-501.
- [13] 赵红伟, 郎晓猛, 朱叶珊, 等. 1,25-二羟基维生素 D3 对溃疡性结肠炎小鼠免疫调节机制的研究[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(5): 496-499.
- [14] Baird AC, Mallon D, Radford-Smith G, et al. Dysregulation of innate immunity in ulcerative colitis patients who fail anti-tumor necrosis factor therapy[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(41): 9104-9116.
- [15] 辛群, 孙擎, 葛现才, 等. 参苓白术散与美沙拉嗪对溃疡性结肠炎患者血清 IL-17、IL-23 及 TNF- $\alpha$  水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(9): 1663-1665.
- [16] 徐宝琪. 参苓白术散联合美沙拉嗪治疗对溃疡性结肠炎 IL-17、TNF- $\alpha$  及 IL-23 影响研究[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(2): 298-299.
- [17] 朱磊, 沈洪, 顾培青, 等. 健脾补肾、清肠化湿方联合 BMSCs 对溃疡性结肠炎模型大鼠肠屏障的修复作用[J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(7): 1017-1023.

(2016-05-24 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第 75 页)

- [14] 谷群英, 王建凯, 牛光良. 丹栀逍遥散治疗口腔黏膜疾病体会[J]. 中医学报, 2013, 28(12): 1928-1929.
- [15] 张姝, 于学垠. 甘草泻心汤联合他克莫司治疗口腔扁平苔藓 150 例[J]. 河南中医, 2015, 35(2): 239-240.
- [16] 何清美, 颜家渝, 李必泽, 等. 补脾胃泻阴火升阳汤加減合并西

医疗法治疗口腔扁平苔藓的临床观察[J]. 成都医学院学报, 2016, 11(4): 427-430.

- [17] 冯亚龙, 赵英永, 丁凡, 等. 茯苓皮的化学成分及药理研究进展(I)[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 1098-1102.

(2017-01-03 收稿 责任编辑: 张文婷)