

溃结灵对溃疡性结肠炎患者 DNA 酶 I、Fascin 蛋白表达的影响

徐进康* 陆喜荣 徐宏伟 吴坚芳 许邹华 陶鸣浩

南京中医药大学附属昆山市中医院, 江苏省昆山市朝阳西路 189 号, 215300

基金项目: 2011 年度苏州市中西医结合科研基金资助项目(SYSD2011159)

* 通讯作者: 13809061203@163.com, 13809061203

[摘要] 目的 观察溃结灵方治疗溃疡性结肠炎(UC)患者的临床效果及作用机制。方法 将 80 例 UC 患者随机分为治疗组和对照组各 40 例, 治疗组给予溃结灵方每日 1 剂和柳氮磺吡啶片每次 1.0g, 每日 2 次, 对照组仅给予柳氮磺吡啶片, 两组均 8 周为 1 个疗程。观察两组患者的临床疗效, 治疗前后检测 DNA 酶 I、Fascin 蛋白的表达。结果 治疗组临床有效率(92.5%)高于对照组(72.5%), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 治疗组患者治疗前后 DNA 酶 I 分别为 (109.73 ± 28.46) 、 $(135.13 \pm 36.10) \mu\text{g/L}$, 对照组治疗前后分别为 (106.50 ± 27.54) 、 $(120.03 \pm 27.72) \mu\text{g/L}$, 两组治疗后均较治疗前明显提高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 治疗后组间比较差异亦有统计学意义($P < 0.05$); 治疗组 Fascin 蛋白转阴性率为 86.49%, 对照组为 66.67%, 治疗组显著高于对照组($P < 0.05$)。结论 溃结灵治疗 UC 疗效确切, 并能明显提高 UC 患者 DNA 酶 I 活性, 使 Fascin 蛋白表达转阴。

[关键词] 溃结灵; 溃疡性结肠炎; DNA 酶 I; Fascin 蛋白

Effect of Kuijieling on the Expression of DNA Enzyme I and Fascin Protein in Patients with Ulcerative Colitis

XU Jinkang, LU Xirong, XU Hongwei, WU Jianfang, XU Zouhua, TAO Minghao

(Kunshan Hospital of TCM, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province 215300)

ABSTRACT Objective To observe the therapeutic effect and mechanism of Kuijieling (TCM formula for ulcerative colitis) on ulcerative colitis (UC). **Methods** Eighty cases of UC were randomized into treatment group and control group, with 40 in each. The treatment group was given one dose of Kuijieling decoction daily and 1.0g of Sulfasalazine tablets each time, twice daily. The control group was given Sulfasalazine tablets. Both groups were treated for 8 weeks as one treatment course. The therapeutic effect was observed and the expression of DNA enzyme 1 and Fascin protein was detected before and after treatment. **Results** The total effective rate of the treatment group and control group was 92.5% and 72.5% respectively, with significant difference between groups ($P < 0.05$). The expression of DNA enzyme 1 was $(109.73 \pm 28.46) \mu\text{g/L}$ and $(135.13 \pm 36.10) \mu\text{g/L}$ before and after treatment respectively in the treatment group. The expression of DNA enzyme 1 was $(106.50 \pm 27.54) \mu\text{g/L}$ and $(120.03 \pm 27.72) \mu\text{g/L}$ before and after treatment respectively in the control group. Both groups were significantly increased in the expression of DNA enzyme 1 after treatment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), especially in the treatment group ($P < 0.05$). The negative rate of Fascin protein in the treatment group and control group was 86.49% and 66.67% respectively, with significant difference between groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Kuijieling is effective for UC, which can obviously improve the activity of DNA enzyme 1 and make Fascin protein negative.

Keywords Kuijieling; ulcerative colitis; DNA enzyme 1; Fascin protein

溃疡性结肠炎(UC)是一种累及直肠和结肠的黏膜和黏膜下层的特发性炎症, 肠道局部表现为连续性、弥漫性黏膜和黏膜下炎症改变, 可形成肉眼可见的糜烂和溃疡, 临床上以腹痛、腹泻、黏液便和血便为主要表现^[1-2]。目前, 临床上对 UC 尚缺乏规范化的治疗, 疗效尚不理想, 中医药治疗 UC 具有独特的优势和特色^[3]。我们采用溃结灵方治疗 UC 患者 40 例, 现报告如下。

1 资料

1.1 一般资料

80 例患者均为 2011 年 6 月至 2012 年 5 月南

京中医药大学附属昆山市中医院住院患者, 采用简单随机分组法分为治疗组及对照组各 40 例。治疗组中男 22 例, 女 18 例; 年龄 22~65 岁, 平均 (41.68 ± 10.42) 岁; 病程 3~56 个月, 平均 (18.25 ± 9.85) 个月。对照组中男 19 例, 女 21 例; 年龄 25~64 岁, 平均 (40.96 ± 10.75) 岁; 病程 4~54 个月, 平均 (17.08 ± 9.26) 个月。两组患者在性别、年龄、病程方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 诊断标准

参照中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组制定的《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识

意见》^[4]。①临床表现:持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重和不同程度的全身症状。②结肠镜检查:病变多从直肠开始,呈连续性、弥漫性分布。黏膜充血水肿、易脆、出血及脓性分泌物。病变明显处可见多发性糜烂或溃疡。可见结肠袋囊变浅、变钝或消失,假性息肉及桥形黏膜等。③钡剂灌肠检查主要改变:黏膜粗乱及(或)颗粒样改变;肠管边缘呈锯齿样或毛刺样肠壁多发性小充盈缺损;肠管短缩,袋囊消失呈铅管样等。④黏膜病理学检查:活动期:固有膜内弥漫性慢性炎细胞和中性粒细胞浸润;隐窝炎症或脓肿形成,黏膜糜烂溃疡;隐窝上皮增生,杯状细胞减少等;可见黏膜表层糜烂,溃疡形成,肉芽组织增生。⑤手术切除结肠标本见 UC 的肉眼和组织学特征。

1.3 纳入标准

符合上述诊断标准者;所有病例均经肠镜及病理确诊;年龄 18~65 岁;签署知情同意书。

1.4 排除标准

有胃肠道手术史,合并肠道其他疾病,或合并严重并发症者;妊娠期、哺乳期妇女;糖尿病患者;具有严重的原发性心、肝、肺、肾、血液疾病或影响其生存的严重疾病者。

2 方法

2.1 治疗方法

治疗组给予溃结灵方,组成:黄连 6 g,黄芩 10 g,白头翁 30 g,木香 10 g,马齿苋 15 g,白芍 20 g,白术 15 g,陈皮 10 g,厚朴 10 g,槟榔 15 g,枳壳 10 g,升麻 3 g,白扁豆 30 g,神曲 10 g,薏苡仁 30 g,冬瓜子 10 g,每日 1 剂,水煎服分 2 次,饭前 1 h 温服。口服柳氮磺吡啶片(山西三九同达药业有限公司,250 mg×60 片,国药准字 H14022874)每次 1.0 g,每日 2 次。对照组仅口服柳氮磺吡啶片,服用方法同治疗组。两组患者均 8 周为 1 个疗程。

2.2 观察指标及方法

两组患者于治疗前后均行肠镜检查 and 病理检查,并行 DNA 酶 I、Fascin 蛋白检测。

DNA 酶 I 检测方法:采取患者肘静脉血 3 ml,置于普通玻璃试管静置离心分离血清,-70℃ 保存待测,运用荧光分光光度法检测 SYBR Green I 与双链 DNA 特异性结合产生的荧光强度来间接反映样本 DNA 酶 I 含量。

Fascin 蛋白表达检测:活检病变处肠黏膜,共取标本 4 块,复查时取相同位置肠黏膜 4 块。标本经

10% 甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,厚度 4 μm。采用免疫组织化学方法,以试剂说明书中推荐的组织切片为阳性组织对照,PBS 缓冲液代替一抗做阴性对照,采用 EnVision 二步法,DAB 显色。

免疫组织化学染色结果采用以下判断标准:①染色程度评分:无色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分;②阳性细胞所占百分比评分:阴性为 0 分,阳性细胞数≤10%计 1 分,11%~50%计 2 分,51%~75%计 3 分,>75%计 4 分,然后计算两者的乘积,乘积<3 分为阴性,≥3 分为阳性。

2.3 疗效判定标准

参照文献^[4]制定。完全缓解:临床症状消失,结肠镜复查见黏膜大致正常。有效:临床症状基本消失,结肠镜复查见黏膜轻度炎症或假息肉形成。无效:经治疗后临床症状、内镜和病理检查结果均无改善。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,治疗前后及组间比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 两组患者临床疗效比较

治疗组完全缓解 23 例,有效 14 例,无效 3 例,有效率 92.5%;对照组完全缓解 17 例,有效 12 例,无效 11 例,有效率 72.5%。治疗组有效率显著高于对照组($P<0.05$)。

3.2 两组患者治疗前后 DNA 酶 I 比较

表 1 示,两组治疗后 DNA 酶 I 均较治疗前明显提高,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗后组间比较差异亦有统计学意义($P<0.05$),治疗组高于对照组。

表 1 两组患者治疗前后 DNA 酶 I 比较($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	DNA 酶 I
治疗组	治疗前	40	109.73±28.46
	治疗后	40	135.13±36.10**△
对照组	治疗前	40	106.50±27.54
	治疗后	40	120.03±27.72*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组治疗后比较,△ $P<0.05$

3.3 两组患者治疗前后 Fascin 蛋白表达比较

治疗组治疗前有 37 例 Fascin 蛋白表达阳性,治疗后 32 例转为阴性,转阴率为 86.49%;对照组

治疗前有 39 例 Fascin 蛋白表达阳性,治疗后 26 例转为阴性,转阴率为 66.67%。治疗组的转阴率显著高于对照组($P<0.05$)。

4 讨论

UC 是临床常见的一种疾病,发病率逐年升高,该病程漫长,病情轻重不一,常反复发作,是消化系统的疑难病之一。该病因主要与肠道感染、免疫异常、遗传因素等有关,到目前为止,现代医学对该病的发病机制尚不十分明确,因此治疗缺乏规范及有效性^[6]。UC 属中医“泄泻”、“痢疾”、“腹痛”等范畴,其致病因素是湿邪,与肠、肝、肾关系密切,疾病初起以实证为主而见湿热内蕴之候,久则伤脾及肾。病位在肠,病在血分,活动期以湿热型最为多见,缓解期以本虚标实为多见,本虚为脾肾虚弱,标实以湿热为主。溃结灵方中白头翁、马齿苋苦寒,入大肠、肝、胃经,清热解毒、凉血止痢,为治痢要药;黄芩、黄连性味苦寒,入大肠经,功擅清热燥湿解毒,以除致病之因;白芍养血和营、缓急止痛;木香、槟榔、枳壳行气导滞;白术、陈皮、厚朴、白扁豆、神曲、薏苡仁、冬瓜子健脾化湿;升麻升阳举陷。该方诸药合用,共奏清热利湿健脾、调和气血除痢之功。

DNA 酶 I 是一种有利于染色质分解和提高自身免疫性疾病易感性的内切核酸酶。Fascin 是由海胆的卵母细胞和体腔细胞的细胞浆中提取的一种肌动蛋白结合蛋白。近来有研究表明,Fascin 表达与 UC 疾病严重程度相关,其高表达的病灶始终在溃疡的边缘^[7]。本研究结果显示,DNA 酶 I、Fascin 蛋

白与 UC 关系密切,溃结灵方可以提高 UC 患者 DNA 酶 I 的活性,同时也可以使 Fascin 蛋白表达转阴,故溃结灵是一种治疗 UC 的有效药物,值得临床推广,其药物作用机制尚未完全清楚,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 陈治水,危北海,张万岱. 溃疡性结肠炎中西医结合治疗方案(草案)[J]. 中国中西医结合杂志,2004,24(11): 1052—1055.
- [2] Biondi A, Zoccali M, Costa S, et al. Surgical treatment of ulcerative colitis in the biologic therapy era[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(16): 1861—1870.
- [3] 中华中医药学会脾胃病分会. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识(2009)[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(5): 527—532.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协助组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见[J]. 中华消化杂志, 2007, 27(8): 545—546.
- [5] 沈海林. Fascin 蛋白在肾细胞癌中的表达及意义[D]. 沈阳:中国医科大学,2009:6—7.
- [6] Krag A, Israelsen H, von Ryberg B, et al. Safety and efficacy of Profermin(r) to induce remission in ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(15): 1773—1780.
- [7] Qualtrough D, Smallwood K, Littlejohns D, et al. The actin-bundling protein Fascin is overexpressed in inflammatory bowel disease and may be important in tissue repair[J]. BMC Gastroenterol, 2011, 11: 14.

(收稿日期:2012-07-06;修回日期:2012-09-23)

[编辑:邓媛]

(上接第 41 页)

- [2] 丁成赞,赵永青,李志梅,等. 448 例症状性癫痫的病因分析[J]. 中华神经外科杂志, 2006, 22(9): 541—543.
- [3] 蒋莉娅,唐志放,陈革. 开窍醒神散治疗颅脑外伤伴发间脑癫痫的临床观察[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(12): 2856—2857.
- [4] 蒋莉娅,黄继人,张卫东,等. 复方丹参滴丸治疗颅脑外伤伴发间脑癫痫的临床研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(9): 645—648.
- [5] 秦兵,段现来. 解读国际抗癫痫联盟分类和术语委员会对发作和癫痫分类框架术语及概念修订的最新报告(2010)[J]. 中华神经医学杂志, 2011, 10(2): 109—114.
- [6] 谭启福. 癫痫外科学[M]. 南京:南京大学出版社, 1995: 231—242.
- [7] 刘玲,王维平,刘宝军. 丹参对慢性癫痫模型大鼠脑电图及脑内 c-fos 和 GFAP 表达的影响[J]. 中成药, 2006, 28(11): 1677—1679.

- [8] 陈志刚,朱陵群,王席玲,等. 三七总皂苷对大鼠海马神经细胞缺氧缺糖再给氧损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 55—58.
- [9] 赵保胜,刘启德. 冰片促血脑屏障开放与病理性开放的比较[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(5): 287—288.
- [10] Vezzani A, French J, Bartfai T, et al. The role of inflammation in epilepsy[J]. Nat Rev Neurol, 2011, 7(1): 31—40.
- [11] 刘国军,黄建敏,李雪斌,等. 炎症细胞因子、C 反应蛋白在脑外伤性癫痫中的变化及意义[J]. 山东医药, 2012, 52(9): 39—40.
- [12] Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis[J]. Lancet, 2010, 375(9709): 132—140.

(收稿日期:2012-07-06;修回日期:2012-09-14)

[编辑:王利芬]