

“益气解毒化瘀方”联合常规西药治疗溃疡性结肠炎30例临床研究

陈洁玲 沈杰 刘国正

(安徽省中医院亳州分院,亳州市中医院,安徽亳州236800)

摘要 目的:观察在常规西医治疗基础上加用益气解毒化瘀方对溃疡性结肠炎(UC)患者的临床疗效及氧化应激、铁死亡等指标的影响。方法:60例溃疡性结肠炎患者采用随机数字表法分为治疗组与对照组,每组30例。2组均予西医常规治疗,治疗组同时予中药汤剂益气解毒化瘀方口服,2组疗程均为2个月。观察2组患者治疗前后Mayo评分、UC的内镜下疾病严重指数(UCEIS)评分、组织病理学Geboes评分,以及外周血白细胞中超氧化物歧化酶1(SOD1)mRNA、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)mRNA及谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)mRNA水平,血清及肠黏膜组织中SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量,并作统计学比较;比较2组患者中医证候疗效。结果:治疗组中医证候总有效率为93.33%,明显高于对照组的80.00% ($P<0.05$)。治疗后2组患者Mayo评分、UCEIS评分、组织病理学Geboes评分均较治疗前明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),治疗组上述评分均明显低于对照组 ($P<0.05$, $P<0.01$)。治疗后2组患者外周血白细胞中PTGS2 mRNA表达及血清和肠黏膜组织中PTGS2蛋白含量均较治疗前明显下降 ($P<0.05$, $P<0.01$),SOD1 mRNA及蛋白、GPX4 mRNA及蛋白均较治疗前明显上升 ($P<0.05$, $P<0.01$),治疗组上述指标改善程度明显优于对照组 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:益气解毒化瘀方联合西医常规疗法治疗溃疡性结肠炎,可提高临床疗效,促进黏膜愈合,其可能的作用机制为改善氧化应激状态,减轻细胞铁死亡。

关键词 溃疡性结肠炎;四君子汤;香连丸;美沙拉秦肠溶片

中图分类号 R574.620.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2021)03-0034-04

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性、进展性和异质性的炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)。在肠道结构与功能方面,UC的疾病进展有6种主要表现形式:近端延伸;狭窄形成;肠道假性息肉和纤维化形成;肠道弹性和适应性下降,造成肠道动力障碍;肛门直肠功能障碍;黏膜屏障通透性改变^[1]。根据UC患者黏液脓血便的临床表现及反复发作、迁延难愈的病情特点,可归属于中医学“久痢”范畴。本病病位在大肠,与脾、肝、肾、肺诸脏的功能失调密切相关,病理性质为本虚标实,病理因素主要有湿邪(热)、热毒、瘀热、痰浊、气滞、血瘀等^[2]。铁死亡作为一种新型的细胞死亡方式,通过铁离子水平升高、氧化应激和谷氨酸兴奋性毒性作用等,参与炎症、神经、肿瘤等疾病的发生发展过程。然而,铁死亡与肠黏膜炎症的关系及其可能的分子机制仍不十分清楚。本课题组以往的研究表明,益气解毒化瘀方能明显降低UC模型大鼠的疾病活动指数(DAI)、大体形态损伤指数(CMDI)、组织学损伤指数(TDI),降低大鼠血清白介素-6(IL-6)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)含量,

升高IL-10含量^[3]。因此,本研究试图从铁死亡与肠黏膜炎症的角度,探讨益气解毒化瘀方干预溃疡性结肠炎的疗效及作用机理,现将结果报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 选择2018年1月至2020年1月安徽省中医院亳州分院收治的60例溃疡性结肠炎患者,采用随机数字表法分为治疗组与对照组,每组30例。治疗组男16例,女14例;年龄18~54岁,平均年龄(37.8 ± 3.2)岁;平均病程(1.3 ± 0.2)年;轻度18例,中度12例;病变范围蒙特利尔(Montreal)分类,直肠型(E1)10例,左半结肠型(E2)15例,广泛结肠型(E3)5例;大肠湿热证15例,热毒炽盛证8例,脾虚湿蕴证5例,其他2例。对照组男15例,女15例;年龄19~56岁,平均年龄(34.1 ± 3.4)岁;平均病程(1.4 ± 0.3)年;轻度20例,中度10例;直肠型(E1)8例,左半结肠型(E2)18例,广泛结肠型(E3)4例;大肠湿热证17例,热毒炽盛证7例,脾虚湿蕴证3例,其他3例。2组患者性别、年龄、病程、证型分布等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过安徽省中医院亳州分院伦理委员会审核。

1.2 诊断标准 UC的诊断标准及轻重程度判定参照《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)》^[4]中的标准。中医诊断及分型辨证标准参照《溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017)》^[2]拟定。

1.3 纳入标准 符合UC的中西医诊断标准,属于轻度或中度;年龄18~65岁;患者自愿参加本研究并签署知情同意书;能坚持完成1个疗程治疗。

1.4 排除标准 重度UC患者;妊娠期、哺乳期患者;合并有心、肝、肾和血液系统等严重原发性疾病或精神病患者;病情恶化或出现严重不良反应事件,需要退出临床试验者;过敏体质者。

2 治疗方法

2.1 对照组 予维持水电解质和酸碱平衡;美沙拉秦肠溶片(美莎欣,批号:H20103359;规格:250 mg/片),口服,4片/次,4次/d。

2.2 治疗组 在对照组治疗的基础上给予中药益气解毒化瘀方。药物组成:党参15 g,炒白术10 g,赤芍10 g,白芍10 g,煨木香6 g,马齿苋15 g,炒薏苡仁15 g,白及10 g,三七粉6 g,炒谷芽10 g,黄连5 g,黄柏10 g。随证加减:大肠湿热证,原方白芍加至30 g,党参减至9 g,白术减至6 g,加当归15 g、槟榔6 g、肉桂5 g、大黄9 g等。热毒炽盛证:原方党参减至9 g,白术减至6 g,加白头翁15 g、秦皮12 g、仙鹤草15 g等。脾虚湿蕴证:原方去黄柏,马齿苋减至9 g,加桔梗15 g、山药15 g、茯苓15 g等。每日1剂,由医院中药煎煮机煎煮为200 mL,早晚各服100 mL。

2组疗程均为2个月。

3 疗效观察

3.1 观察指标

3.1.1 中医证候评分 治疗前后参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]对2组患者的中医证候进行评分,腹痛、腹泻、脓血便评分按无、轻、中、重分别记0、2、4、6分,里急后重按无、轻、中、重分别记0、1、2、3分。

3.1.2 Mayo评分 治疗前后对2组患者进行Mayo评分。该评分包括排便次数、便血、黏膜表现和医师评估病情4项^[4],评分越高表示病情越重。

3.1.3 UC的内镜下疾病严重指数(UCEIS)评分 治疗前后对2组患者进行UCEIS评分。UCEIS是一种用于评估UC内镜下严重度的工具,对患者的血管模式(正常,斑片状闭塞,闭塞)、出血(无,黏膜、管腔轻度,管腔中度,管腔重度)和糜烂、溃疡(无,糜烂,浅

表性溃疡,深部溃疡)进行评分,评分越高表示疾病越严重^[6]。

3.1.4 组织病理学Geboes评分 治疗前后对2组患者进行组织病理学Geboes评分。评分项目包括隐窝结构不整齐、黏膜固有层慢性炎症细胞浸润、黏膜固有层中性粒细胞和嗜酸性粒细胞浸润、上皮细胞嗜中性粒细胞浸润、隐窝破坏、糜烂/溃疡等6项,评分越高表示病变越严重^[7]。

3.1.5 外周血白细胞中超氧化物歧化酶1(SOD1)mRNA、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)mRNA及谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)mRNA表达 治疗前后2组患者空腹取外周血2 mL,肝素抗凝,加入红细胞裂解液,混匀后离心,弃上清,留白细胞沉淀,加入TRIZOL混匀,提取RNA之后进行逆转录反应获得cDNA,再进行定量PCR扩增。引物序列如下:SOD1, forward 5'-CTCAGGAGACCATTGCATCA-3', reverse 5'-ACAAGCCAAACGACTTCCAG-3'; PTGS2, forward 5'-GGTTGCTGGTGGTAGGAATC-3', reverse 5'-TAAAGCGTTTGGGGTACTCA-3'; GPX4, forward 5'-GCCCCTCCATCTACGA CTTC-3', reverse 5'-TTGGTGATGATGCAGACGAAG-3'; GAPDH, forward 5'-CCACTCCTCCACCTTTG-3', reverse 5'-CACCACCTGTTGCTGT-3'。引物由上海生工公司设计、合成。

3.1.6 血清及肠黏膜SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量 治疗前后2组患者取血分离血清,采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒检测血清中SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量,试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。治疗前后2组患者行肠镜检查,取肠黏膜组织,采用western-blot方法检测SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量,抗体购自Abcam公司。

3.2 疗效判定标准 参照《溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017)》^[2]中的中医证候疗效评价标准。临床缓解:治疗后症状和体征明显改善,疗效指数 $\geq 95\%$;显效:治疗后症状和体征明显改善,70% $\leq$ 疗效指数 $<95\%$;有效:治疗后症状和体征有改善,30% $\leq$ 疗效指数 $<70\%$;无效:治疗后症状和体征无明显减轻或加重,疗效指数 $<30\%$ 。疗效指数(%)=(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分 $\times 100\%$ 。

3.3 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件,等级资料采用秩和检验,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用成组t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.4 治疗结果

3.4.1 2组患者中医证候疗效比较 结果见表1。

3.4.2 2组患者治疗前后Mayo、UCEIS、组织病理学Geboes评分比较 结果见表2。

3.4.3 2组患者治疗前后外周血白细胞中SOD1 mRNA、PTGS2 mRNA及GPX4 mRNA水平比较 结果见表3。

3.4.4 2组患者治疗前后血清SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量比较 结果见表4。

3.4.5 2组患者治疗前后肠黏膜组织中SOD1、PTGS2及GPX4比较 结果见图1、表5。

4 讨论

UC是一种发生于结肠黏膜及黏膜下层的弥漫性、慢性炎症性疾病,发病机制尚未完全清楚。研究发现,UC活动期患者脂质过氧化物(LPO)、丙二醛(MDA)、晚期氧化蛋白产物(AOPP)、一氧化氮(NO)等氧化应激指标表达水平均明显高于结肠息肉患者^[8]。目前认为,炎症反应与氧化应激共同作用于肠黏膜组织,引起多种基因突变,抑制细胞凋亡,促进细胞增殖转移,从而导致结肠肿瘤的发生。

铁死亡(Ferroptosis)是一种铁依赖性的氧化性程序性细胞死亡,其具有明确的铁依赖性且与脂质过氧化相关,谷胱甘肽(GSH)明显耗竭,GPX4是铁死亡的关键调节基因。目前已知铁死亡参与多种病理过程,包括缺血/再灌注引起的肾或肝损伤、神经毒性和神经退行性疾病、癌症等^[9]。PTGS2活化后可促进前列腺素合成,并激活下游一系列炎症反应信号,导致细胞凋亡。因此,我们推测铁死亡与UC肠道炎症存在着密切的关系。

益气解毒化瘀方是在经方

表1 治疗组与对照组患者中医证候疗效比较 单位:例(%)

组别	例数	临床缓解	显效	有效	无效	总有效率
治疗组	30	10 (33.33)	12 (40.00)	6 (20.00)	2 (6.67)	93.33%*
对照组	30	6 (20.00)	9 (30.00)	9 (30.00)	6 (20.00)	80.00%

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表2 治疗组与对照患者治疗前后Mayo、UCEIS、组织病理学Geboes评分比较($\bar{x}\pm s$) 单位:分

组别	例数	时间	Mayo评分	UCEIS评分	组织病理学Geboes评分
治疗组	30	治疗前	5.64±1.12	6.32±1.52	4.68±1.22
		治疗后	1.74±0.58** Δ	3.07±0.83** $\Delta\Delta$	2.85±0.94** Δ
对照组	30	治疗前	5.36±1.28	6.54±1.36	4.82±1.31
		治疗后	2.86±0.67**	4.68±1.05*	3.42±1.08*

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

表3 治疗组与对照组治疗前后外周血白细胞中SOD1、PTGS2及GPX4 mRNA水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	SOD1 mRNA	PTGS2 mRNA	GPX4 mRNA
治疗组	30	治疗前	1.02±0.23	1.01±0.16	1.03±0.12
		治疗后	2.58±0.48** $\Delta\Delta$	0.33±0.12** $\Delta\Delta$	2.88±0.47** Δ
对照组	30	治疗前	1.07±0.27	1.05±0.21	1.07±0.18
		治疗后	1.78±0.32**	0.76±0.20*	2.02±0.42**

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

表4 治疗组与对照组治疗前后血清SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	SOD1/(pg/mL)	PTGS2/(pg/mL)	GPX4/(ng/mL)
治疗组	30	治疗前	356.45±53.48	750.14±93.74	3.56±0.64
		治疗后	846.85±109.28** Δ	350.94±63.54** $\Delta\Delta$	8.75±1.32** $\Delta\Delta$
对照组	30	治疗前	327.74±44.06	720.21±80.72	3.29±0.52
		治疗后	684.32±78.28**	526.35±63.22*	6.42±1.13**

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

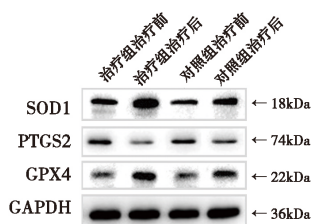


图1 治疗组与对照组治疗前后肠黏膜组织中SOD1、PTGS2及GPX4蛋白表达

表5 治疗组与对照组治疗前后肠黏膜组织中SOD1、PTGS2及GPX4蛋白含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	SOD1/(pg/mL)	PTGS2/(pg/mL)	GPX4/(ng/mL)
治疗组	30	治疗前	0.78±0.12	0.81±0.12	0.92±0.14
		治疗后	1.98±1.21** $\Delta\Delta$	0.31±0.04* Δ	1.87±0.28** Δ
对照组	30	治疗前	0.72±0.09	0.74±0.08	0.89±0.11
		治疗后	1.24±0.14*	0.45±0.07*	1.46±0.23*

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

四君子汤合香连丸的基础上化裁而成,以健脾益气、清热解毒、活血化癥为治则立法。本方以党参、白术为君,补脾益气、燥湿利水。马齿苋、黄连、黄柏、木香共为臣药:马齿苋清热解毒、凉血止痢;黄连配黄柏燥湿清热、凉血解毒而止大便脓血;黄连配木香,行肠胃滞气,除里急后重。赤芍、三七粉、白及、白芍共为佐药:赤芍、白芍合用,白芍敛阴,赤芍凉血,退血分之热;白及、三七功专活血行瘀、敛疮生肌。炒薏苡仁、炒谷芽健脾消积利水共为使药。该方配伍严谨,切中病机,用药精良。本研究结果显示,加用益气解毒化癥方治疗可有效改善患者中医证候。目前UC的疾病管理策略正由控制症状发展为达到临床/患者报告缓解(直肠无出血、排便频率正常)和内镜缓解(黏膜愈合),以阻断疾病进展,改善远期预后。本研究结果显示,治疗后2组患者Mayo评分和UCEIS、组织病理学Geboes评分均较治疗前明显下降,治疗组上述评分明显低于对照组,说明加用益气解毒化癥方可更好地促进黏膜愈合。

SOD1是细胞内重要的抗氧化剂,对清除自由基,维持细胞内外氧化还原平衡起到重要的作用,保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害^[10]。本研究结果显示,治疗后2组患者SOD1 mRNA表达和蛋白含量均较治疗前明显升高,且治疗组明显高于对照组。GPX4是GSH依赖性酶,可对抗依赖铁和脂质过氧化,并保持细胞膜脂双层的稳态。如果GPX4表达下降,细胞对铁死亡更加敏感;GPX4表达上调,则细胞表现出对铁死亡的适应性耐受^[11-12]。PTGS2也被称为环氧化酶-2(COX-2),是UC活动期关键基因。研究发现,PTGS2单倍型与炎症性肠病易感性相关^[13],PTGS2-1195G多态性与UC的发病风险具有相关性^[14]。本研究结果显示,治疗后2组患者PTGS2蛋白含量及mRNA表达均较治疗前明显下降,GPX4蛋白含量及mRNA表达均较治疗前明显上升,且治疗组改善效果明显优于对照组,表明加用益气解毒化癥方可抑制氧化应激,减轻铁死亡。

综上,本研究结果显示,益气解毒化癥方联合西医常规疗法治疗溃疡性结肠炎患者疗效更为显著,可能与改善氧化应激状态,减轻细胞铁死亡,促进黏膜修复有关。在今后的研究中,我们将探讨铁死亡与肠黏膜通透性及与炎症反应通路的关系,筛选更加有效、更有针对性的治疗方药,进一步提高本病的治疗效果,减少复发,从而改善患者的临床预后。

参考文献

[1] 厉英超,陈思玮,邵佳媛,等.溃疡性结肠炎达标治疗的研

究进展[J].西安交通大学学报(医学版),2020,41(4):628.

- [2] 中华中医药学会脾胃病分会.溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017)[J].中华中医药杂志,2017,32(8):3585.
 - [3] 陈洁玲,肖伟,林彬.中医药对溃疡性结肠炎相关细胞因子调节作用实验研究[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(1):220.
 - [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组.炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J].中华炎症肠病杂志,2018,2(3):173.
 - [5] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社,2002:58.
 - [6] TRAVIS S P, SCHNELL D, KRZESKI P, et al. Reliability and initial validation of the ulcerative colitis endoscopic index of severity[J]. Gastroenterology, 2013, 145(5): 987.
 - [7] MAGRO F, LOPES J, BORRALHO P, et al. Comparison of different histological indexes in the assessment of UC activity and their accuracy regarding endoscopic outcomes and faecal calprotectin levels[J]. Gut, 2019, 68(4): 594.
 - [8] 陈伦虎,宋方敏,李和平,等.高迁移率族蛋白B1在溃疡性结肠炎组织中的表达及其与氧化应激、屏障功能损伤的相关性研究[J].现代消化及介入诊疗,2019,24(10):1104.
 - [9] WANG H, AN P, XIE E J, et al. Characterization of ferroptosis in murine models of hemochromatosis[J]. Hepatol Baltim Md, 2017, 66(2): 449.
 - [10] 吴阳阳,刘明江,殷韶杰,等.针刺对溃疡性结肠炎大鼠氧化应激和内质网应激的影响[J].针刺研究,2020,45(1):8.
 - [11] MAIORINO M, CONRAD M, URSINI F. GPx4, lipid peroxidation, and cell death: discoveries, rediscoveries, and open issues[J]. Antioxid Redox Signal, 2018, 29(1): 61.
 - [12] YANG W S, STOCKWELL B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells[J]. Chem Biol, 2008, 15(3): 234.
 - [13] COX D G, CRUSIUS J B, PEETERS P H, et al. Haplotype of prostaglandin synthase 2/cyclooxygenase 2 is involved in the susceptibility to inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(38): 6003.
 - [14] ANDERSEN V, NIMMO E, KRARUP H B, et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2) polymorphisms and risk of inflammatory bowel disease in a Scottish and Danish case-control study[J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17(4): 937.
- 第一作者:陈洁玲(1985—),女,医学硕士,主治医师,研究方向为溃疡性结肠炎的基础与临床。bzszyy2020@163.com

收稿日期:2020-08-10

编辑:吴宁