清咽滴丸治疗大鼠口腔溃疡的实验研究

陈　卓[1]，王金磊[2]，庄朋伟[1*]，刘　丹[2]，崔广智[1]，佟永领[2]，张艳军[1*]

1. 天津中医大学中药学院 天津市中药药理重点实验室，天津　300193
2. 天津中新药业集团有限公司第六制药厂，天津　300401

摘　要：目的　探讨清咽滴丸治疗口腔溃疡的治疗效果。**方法**　SPF 级大鼠 60 只，随机分为对照组，模型组，清咽滴丸高、中、低剂量（90、30、10 mg/kg）组，阳性药（桂林西瓜霜 200 mg/kg）组，每组 10 只。于大鼠口腔左侧颊部黏膜下注射醋酸制备口腔溃疡模型。造模后第 2 天开始给药，连续给药 10 d。用游标卡尺测量各组大鼠给药前及给药后第 4、7、10 天的口腔溃疡的直径，计算溃疡面积；取口腔溃疡部位组织，其中一部分溃疡组织制备匀浆，按试剂盒方法测定肿瘤坏死因子-α（TNF-α）水平，剩余溃疡组织切片观察溃疡组织形态变化。**结果**　高剂量清咽滴丸组和桂林西瓜霜组大鼠口腔溃疡面积均显著减小（P＜0.05、0.01），溃疡部位组织病变明显减轻，TNF-α 水平显著降低（P＜0.01）。**结论**　清咽滴丸对醋酸诱导的口腔溃疡具有一定治疗作用。

关键词：清咽滴丸；口腔溃疡；醋酸；桂林西瓜霜；肿瘤坏死因子 α

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2016)01 - 0106 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.01.016

Experimental research on Qingyan Droping Pills for treatment of oral ulcer in rats

CHEN Zhuo[1], WANG Jin-lei[2], ZHUANG Peng-wei[1], LIU Dan[2], CUI Guang-zhi[1], TONG Yong-ling[2], ZHANG Yan-jun[1]

1. Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Zhongxin Pharma-Tianjin No. 6 TCM Factory, Tianjin 300401, China

Abstract: Objective　To study the treatment effect of Qingyan Droping Pills (QDP) for oral ulcer. **Methods**　SPF level 60 rats were randomly divided into control group, model group, positive control (Guilin Watermelon Frost 200 mg/kg) group, high-, mid- , and low-dose QDP groups (n = 10). The oral ulcer model of rat was established by injection of acetic acid on the oral mucosa of left cheek in rat, at 24 h immediately after the formation of ulcers. The first two days after the start of the administration modeling, continuous administration of 10 d was performed. The ulcer diameters before the administration and 4, 7, 10 d after administration were recorded by vernier caliper. Rats in each group after the last measurement were sacrificed and part of oral ulcers were removed, some of ulcers tissue were homogenized by TNF-α assay kit. The remaining ulcers were sliced and the ulcer morphology was observed. **Results**　Mouth ulcer areas of high-dose QDP group and Watermelon Frost group were significantly reduced (P < 0.05, 0.01), ulcer tissue lesions and TNF-α levels were significantly reduced (P < 0.01). **Conclusion**　QDP on acetic acid-induced oral ulcers has some therapeutic effect.

Key words: Qingyan Droping Pills; oral ulcers; acetic acid; Guilin Watermelon Frost; TNF-α

口腔溃疡是口腔黏膜病中的常见病症，发病率很高，其发病特点为在局部形成溃疡后可继发感染，造成溃疡局部组织炎症和坏死。口腔溃疡病因复杂，与多种因素有关，如口腔细菌或病毒感染、免疫失调、创伤、营养缺乏等因素[1-2]，目前尚无较好的治疗方法。清咽滴丸由甘草、诃子、青黛、人工牛黄、薄荷脑、冰片 6 味药材组成，具有疏风清热、解毒利咽之功效[3]。清咽滴丸对急慢性咽炎具有显著的疗效[4-5]，现代研究表明，清咽滴丸具有抗病毒和抑菌作用[6]。本研究根据其临床适应症及应用特点，制

收稿日期：2015-09-04

基金项目：长江学者和创新团队发展计划资助项目（PCSIRT, RT_14R41）

作者简介：陈　卓（1989—），男，硕士研究生，研究方向为中药药理学。Tel: 13920355892　E-mail: 403297501@qq.com

***通信作者**　张艳军　E-mail: zyjsunye@163.com

庄朋伟　E-mail: zhuangpengwei@163.com

备大鼠口腔溃疡模型，观察清咽滴丸对口腔溃疡的治疗作用，并初步探讨其相关机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级健康 SD 大鼠，体质量 180～220 g，雄性，购于北京维通利华实验动物技术有限公司，合格证号为 SCXK（京）2006-0012。大鼠购入后检疫与驯化饲养 1 周，使其适应新环境并剔除体质量差异较大的动物。动物在室温 18～24 ℃、湿度 40%～50%条件下饲养，实验期间动物自由进食、饮水，昼夜节律正常。

1.2 药品及试剂

清咽滴丸（天津中新药业集团股份有限公司，批号 622047）；桂林西瓜霜（桂林三金药业股份有限公司，批号 130861）；肿瘤坏死因子（TNF-α）试剂盒（上海宝曼生物科技有限公司）；冰醋酸（天津市化学试剂供销公司）。

1.3 仪器

酶标仪（Tecan）；游标卡尺（成都三和量具有限公司）；低温高速离心机（美国 Beckman 公司）；U-CMAD3 型光学显微镜、C5060-ADU 型光镜照相机（日本 Olympus 公司）；820 ROTARY MICROTOME 型石蜡切片机（美国 American Optical 公司）。

2 方法

2.1 实验分组

SD 大鼠 60 只，随机分为对照组，模型组，清咽滴丸 10、30、90 mg/kg 组（中剂量为临床等效剂量）、阳性药组（桂林西瓜霜 200 mg/kg），每组 10 只。

2.2 大鼠口腔溃疡模型的制备

参考文献方法[7-8]并结合本实验室前期建立的方法制备大鼠口腔溃疡模型，具体操作：将大鼠用 10%水合氯醛（3 mL/kg）ip 麻醉，于大鼠口腔左侧颊部黏膜下注射 10%醋酸，0.1 mL/只，对照组注射等量的生理盐水，大鼠在 24 h 后即可形成口腔溃疡。

2.3 清咽滴丸对大鼠口腔溃疡的治疗作用

造模后第 2 天开始给药，将清咽滴丸研磨成粉，桂林西瓜霜直接取药粉，给药时将药粉（每只大鼠剂量的 1/4）均匀涂于溃疡面上，每次给药均保证药物在口腔内停留 3 min，剩余药粉（每只大鼠剂量的 3/4）以水溶解后 ig 给予大鼠。模型组和对照组分别同法用等量生理盐水处理，连续给药 10 d。用游标卡尺测量各组大鼠给药前及给药后第 4、7、10 天的口腔溃疡的最大横径（d_1）及最大纵径（d_2），计算溃疡面积（溃疡面积＝$\pi \times d_1 \times d_2 \times 1/4$，$\pi$ 取值 3.14）。各组大鼠于末次测量后，处死，并取下口腔溃疡处组织，部分溃疡组织加入 9 倍量的生理盐水进行匀浆处理，4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min，分离上清液，按试剂盒方法测定 TNF-α。剩余溃疡组织，10%甲醛固定，石蜡包埋，切片，镜检，观察各组口腔溃疡组织形态变化。

2.4 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理，检验方法采用单因素方差分析（One way-AVONA），组间比较用 LSD 方法。

3 结果

3.1 对大鼠口腔溃疡面积的影响

观察各组大鼠口腔溃疡面的大体形态，结果显示对照组无溃疡出现。注射醋酸后可出现明显的口腔溃疡，肉眼观察溃疡面的黏膜呈凹陷性缺损，大致呈圆形，表面为黄白色，周围充血水肿，说明口腔溃疡模型制备成功。

大鼠口腔溃疡模型呈现一定自愈性，随着时间的延长，溃疡面积逐渐减小。实验开始时各组大鼠口腔溃疡面积无显著性差异；在给药第 4、7、10 天，与模型组比较，高剂量清咽滴丸组和桂林西瓜霜组大鼠口腔溃疡面积均显著减小（$P<0.05$、0.01）。结果提示清咽滴丸对醋酸诱导的口腔溃疡具有一定治疗作用，见表 1。

3.2 对大鼠口腔溃疡部位组织病理变化的影响

对照组大鼠口腔黏膜上皮完整，下方为疏松结缔组织；模型组大鼠口腔黏膜破损，鳞状上皮破溃脱落，表面覆盖坏死组织，黏膜下有大量炎细胞浸润；与模型组比较，桂林西瓜霜组和高剂量清咽滴丸组大鼠溃疡部位组织病变明显减轻，炎性细胞浸润明显减少，部分被新生肉芽组织替代，溃疡愈合后鳞状上皮完整、增厚，黏膜更接近疏松结缔组织。结果表明，清咽滴丸可以改善醋酸诱导的口腔溃疡病理结构的改变，见图 1。

3.3 对大鼠口腔溃疡部位组织中 TNF-α 水平的影响

与对照组比较，模型组大鼠口腔溃疡组织中 TNF-α 水平显著升高（$P<0.01$），说明模型组大鼠出现显著炎性症状。与模型组比较，高剂量清咽滴丸组和桂林西瓜霜组大鼠口腔溃疡组织中 TNF-α 水平显著降低（$P<0.05$），结果见表 2。结果提示清咽滴丸可以降低溃疡组织中 TNF-α 水平，可能是其治疗醋酸诱导口腔溃疡的作用机制之一。

表 1　清咽滴丸对大鼠口腔溃疡面积的影响（$\bar{x}\pm s$, $n=10$）

Table 1　Effects of QDP on oral ulcer area of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	溃疡面积/mm^2			
		给药前	给药第 4 天	给药第 7 天	给药第 10 天
对照	—	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
模型	—	26.8±5.8$^{\triangle\triangle}$	24.5±4.2$^{\triangle\triangle}$	15.1±3.2$^{\triangle\triangle}$	7.8±2.1$^{\triangle\triangle}$
桂林西瓜霜	200	26.2±5.1	15.0±3.9**	8.5±5.0*	3.2±2.5*
清咽滴丸	10	25.5±4.9	21.0±3.7	12.6±4.5	7.0±3.6
	30	25.4±5.0	20.0±4.0	13.2±5.6	6.5±2.3
	90	26.1±6.0	14.6±5.1**	9.2±4.1*	3.8±2.1*

与对照组比较：$^{\triangle\triangle}P<0.01$；与模型组比较：$^{*}P<0.05$　$^{**}P<0.01$，下同

$^{\triangle\triangle}P<0.01$ *vs* control group; $^{*}P<0.05$　$^{**}P<0.01$ *vs* model group, same as below

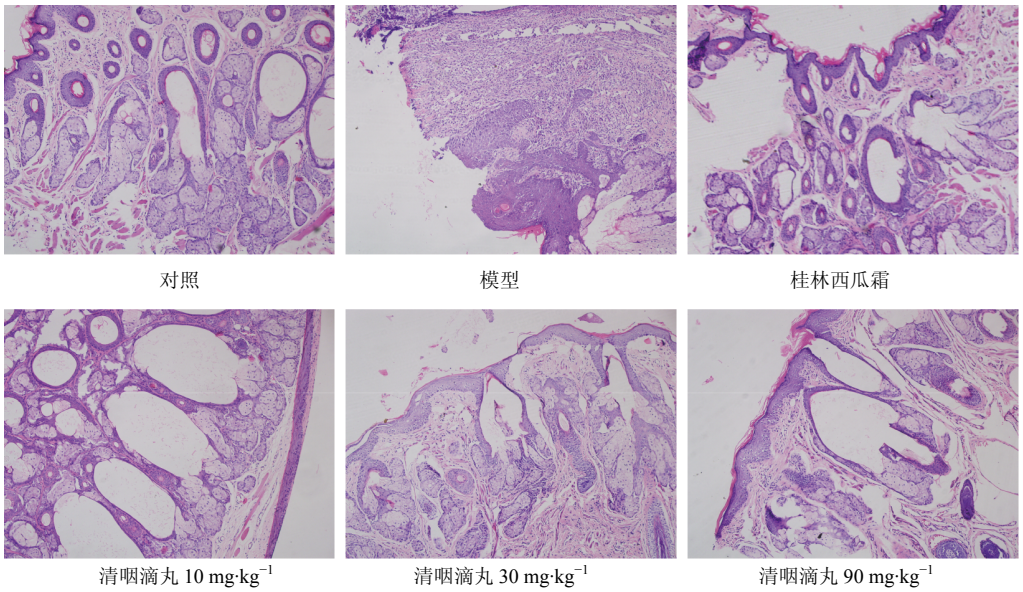

图 1　清咽滴丸对大鼠口腔溃疡部位组织病理变化的影响

Fig. 1　Effects of QDP on oral ulcer pathological changes of rats

表 2　清咽滴丸对大鼠口腔溃疡组织中 TNF-α 水平的影响（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

Table 2　Effect of QDP on TNF-α level in tissue of oral ulcer in rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	TNF-α/(ng·g^{-1})
对照	—	40.44±3.40
模型	—	56.21±3.18$^{\triangle\triangle}$
桂林西瓜霜	200	44.93±5.98*
清咽滴丸	10	52.26±7.08
	30	47.33±6.12
	90	45.54±6.20*

4　讨论

口腔溃疡俗称“口疮”，是一种常见的发生于口腔黏膜的溃疡性损伤病症，发作时疼痛剧烈，局部灼痛明显，严重者还会影响饮食及语言交流，对日常生活造成极大不便，其中以复发性口腔溃疡（recurrent oral ulcer，ROU）最为常见。ROU 是口腔临床常见多发病，占口腔溃疡的 90%以上，反复发作，给患者带来极大困扰，严重影响患者生活质量。其中 40%～50%的 ROU 患者有家族病史，但是 ROU 的发病机制以及愈合的机制尚不清楚，目前还没有足够理想的模型模拟该病。

化学性口腔溃疡的致病因素明确，尽管与 ROU 的病因不同，但其主要的病理变化以及其愈合的过程基本一致。因此本实验采用化学性口腔溃荡的动物模型代替 ROU 模型，通过醋酸诱导的口腔溃疡模型，初步明确了清咽滴丸在达到一定剂量的前提下具有促进溃疡愈合的作用，可以使口腔溃疡的面积显著减

小、改善醋酸所致大鼠口腔溃疡局部组织病理改变。

TNF-α 是炎症性疾病中很重要的损伤性细胞因子之一，可诱导包括自身在内的多种细胞因子（白细胞介素 1β、白细胞介素 6 等）以及一些炎症介质的产生，损伤组织，继而加重炎症反应[9]。本实验结果表明模型大鼠口腔溃疡部位组织中 TNF-α 水平显著升高，高剂量清咽滴丸可使口腔黏膜组织中 TNF-α 下降，从而减轻口腔溃疡的程度、促进溃疡愈合，为临床使用清咽滴丸提供了一定的实验基础和理论依据。

参考文献

[1] O'Neill I D, Scully C. Biologics in oral medicine: ulcerative disorders [J]. *Oral Dis*, 2013, 19(1): 37-45.

[2] 王贺忠, 戴会珍. 复发性口腔溃疡病因学研究现状 [J]. 内蒙古医学杂志, 2001, 33(2): 136-138.

[3] 张铁军, 韩世柳, 田成旺, 等. 清咽滴丸极性成分的高效液相指纹图谱及其模式识别的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1282-1285.

[4] 石志兴, 林文森. 清咽滴丸治疗急性咽炎临床观察 [J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2006, 14(5): 323-324.

[5] 詹可顺, 魏 伟, 余南生. 清咽滴丸治疗慢性咽炎的临床研究 [J]. 中国基层医药, 2003, 10(11): 1129-1130.

[6] 刘 剑, 刘丽华, 孟庆军, 等. 清咽滴丸抗常见呼吸道病毒的实验研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(7): 519-523.

[7] 李前进, 王宇翎, 尹艳艳, 等. 一种简便实用的口腔溃疡实验模型 [J]. 安徽医科大学学报, 2002, 37(4): 327-328.

[8] 彭玉梅. 口腔溃疡动物实验模型的建立 [J]. 北京口腔医学, 2008, 16(2): 85-86.

[9] 邹韵秋, 吴秋玲, 梁晓萍, 等. 复发性口腔溃疡与血清 TNF-α、TGF-β 浓度关系的临床研究 [J]. 武汉大学学报: 医学版, 2001, 22(3): 237-238.

• 封面图片介绍 •

萍蓬草花

萍蓬草 *Nuphar pumilum* 是睡莲科（Nymphaeaceae）萍蓬草属多年生浮叶型水生草本植物，叶生于根茎先端，飘浮水面，有长柄，叶片椭圆形或卵形，质厚，长 12 ~ 17 cm，宽 7.5 ~ 10.0 cm，表面绿色，滑润有光泽，叶背面紫红色，密被细毛；花黄色，直径 2.5 ~ 3.5 cm，花瓣多数，甚短小，果实长卵形，具宿存的柱头及萼片；花期 4 ~ 8 月，果期 7 ~ 9 月。花梗圆形，具有白色的长柔毛；花萼五枚，萼片约 1.6 cm 长，0.8 ~ 1.2 cm 宽；花瓣 10 枚，线形，黄色，5 ~ 6 mm 长，1.5 ~ 2 mm 宽；雄蕊约 30 枚，黄色，花药约 3 mm 长，花丝约 7 mm 长；柱头在顶端平展成盘准状，6 ~ 10 裂，红色；果实壶形，约 2 cm 长，1.5 cm 宽；种子卵形，草绿色，如小形的绿豆，长 3 ~ 4 mm，宽约 2 mm。

萍蓬草生于湖泊沼泽中，分布于我国广东、福建、江苏、浙江、江西、四川、吉林、黑龙江、新疆等地，日本、俄罗斯的西伯利亚地区和欧洲也有分布。其根状茎入药，能健脾胃，具有补虚止血、治疗神经衰弱之功效。