

附子-干姜对慢性溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜微循环障碍的改善作用

翟勇聪¹, 夏顺利¹, 王 雪¹, 臧凯宏^{1,2}, 韩 涛^{1,2*}

1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: 目的 研究附子-干姜对慢性溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 小鼠肠黏膜微循环障碍的改善作用。方法 建立慢性 UC 小鼠模型, 给予附子-干姜水煎液进行干预, 记录各组小鼠体质量、大便性状及便血情况, 进行疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分; 采用激光多普勒血流仪检测各组小鼠肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度; 采用 ELISA 法检测各组小鼠血清中血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 和组织因子 (tissue factor, TF) 水平; 采用苏木素-伊红 (HE) 染色法观察各组小鼠结肠组织病理改变情况; 采用免疫组化法检测各组小鼠肠黏膜毛细血管内皮细胞 CD31 表达并计算微血管密度 (microvessel density, MVD)。结果 与对照组比较, 模型组小鼠 DAI 评分显著增加 ($P < 0.01$), 肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度显著下降 ($P < 0.01$), 肠黏膜移动血细胞浓度显著升高 ($P < 0.01$), 血清 PAF、TF 水平显著升高 ($P < 0.01$), 结肠组织 CD31 表达减少, 肠黏膜微血管密度显著减少 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 附子-干姜高剂量 (6.06 g/kg) 组小鼠 DAI 评分明显降低 ($P < 0.01$), 肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度显著升高 ($P < 0.01$), 肠黏膜移动血细胞浓度显著降低 ($P < 0.01$), 机体凝血因子 PAF、TF 水平显著降低 ($P < 0.01$), 肠黏膜 MVD 显著增加 ($P < 0.01$)。结论 附子-干姜可通过改善肠黏膜微循环障碍从而治疗慢性 UC。

关键词: 附子-干姜; 慢性溃疡性结肠炎; 肠黏膜; 微循环; 微血管密度

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)07-1987-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.07.016

Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparaia-Zingiberis Rhizoma* on intestinal mucosal microcirculation in mice with chronic ulcerative colitis

ZHAI Yong-cong¹, XIA Shun-li¹, WANG Xue¹, ZANG Kai-hong^{1,2}, HAN Tao^{1,2}

1. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Gansu Key Laboratory for TCM Pharmacology and Toxicology, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To study the effect of Fuzi (*Aconiti Lateralis Radix Praeparaia*)-Ganjiang (*Zingiberis Rhizoma*) on intestinal mucosal microcirculation disorder in mice with chronic ulcerative colitis (UC). **Methods** Mice model of chronic UC was established, and *Aconiti Lateralis Radix Praeparaia-Zingiberis Rhizoma* decoction was given to intervene. Body weight, stool characteristics and blood in stool were recorded, disease activity index (DAI) score was performed. Laser Doppler Blood Flow Meter was used to detect intestinal mucosal blood perfusion, blood cell movement speed and mobile blood cell concentration. ELISA method was used to detect platelet activating factor (PAF) and tissue factor (TF) levels in serum. Pathological changes of colon tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Immunohistochemical method was used to detect the expression of CD31 in intestinal mucosal capillary endothelial cells of mice and the microvessel density (MVD) was calculated. **Results** Compared with control group, DAI score of mice in model group was significantly increased ($P < 0.01$), intestinal mucosal blood perfusion and blood cell moving speed were significantly decreased ($P < 0.01$), the concentration of moving blood cells in intestinal mucosa was significantly increased ($P < 0.01$), PAF and TF levels in serum were significantly increased ($P < 0.01$), CD31 expression in colon tissue was reduced, and intestinal mucosal microvessel density was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with model group, DAI score of mice in high-dose (6.06 g/kg) *Aconiti Lateralis Radix Praeparaia-Zingiberis Rhizoma* group was significantly reduced

收稿日期: 2020-11-24

基金项目: 国家自然科学基金地区基金资助项目 (81860728)

作者简介: 翟勇聪 (1994—), 女, 硕士研究生, 从事中药及复方应用研究。Tel: 13466865255 E-mail: 735451739@qq.com

*通信作者: 韩 涛 (1966—), 男, 教授, 硕士生导师, 从事中药及复方应用研究。Tel: 13919446101 E-mail: zggsht@126.com

($P < 0.01$), intestinal mucosal blood perfusion and blood cell moving speed were significantly increased ($P < 0.01$), concentration of moving blood cells in intestinal mucosa was significantly reduced ($P < 0.01$), and coagulation factor PAF and TF levels in serum were significantly reduced ($P < 0.01$), MVD of intestinal mucosa was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* can treat chronic UC by improving intestinal mucosal microcirculation.

Key words: *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma*; chronic ulcerative colitis; intestinal mucosa; microcirculation; microvessel density

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种与炎症相关的慢性结直肠疾病, 病变呈连续性。目前认为慢性 UC 的发病机制主要为先天免疫和适应性免疫, 以及遗传因素与微生物和环境因素之间的相互作用^[1]。慢性 UC 发病率在全球范围内呈上升趋势, 患者病理表现为腹痛、腹泄、黏液血便等症状, 生活质量受到严重影响^[2]。UC 患病率的增加会增加结直肠癌患病风险。慢性 UC 患者血液呈高凝状态, 血栓形成风险高, 易导致肠黏膜微循环障碍, 进而介导和放大肠黏膜损伤炎症, 表明慢性炎症与微循环障碍之间存在着密切联系^[3-4]。因此改善肠黏膜微循环障碍可能是治疗慢性 UC 的有效方法。

中医认为慢性 UC 属“泄泻”“久痢”“休息痢”“肠癖”等范畴, 病位多以大肠为主, 涉及脾、胃、肝、肾等脏腑, 病理因素常伴有阳虚、血虚、气滞、血瘀等证。慢性 UC 病机多以脾肾阳虚为主, 久病不愈、阳气已虚致使气血不足、血瘀肠络, 治疗多加用炮姜、熟附子温补脾肾、温通经脉^[5-8]。因此, 中医认为慢性 UC 与血瘀之间存在密切关系^[9]。

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品, 具有回阳救逆、补火助阳、温阳通脉的功效, 其性刚烈迅捷、走而不守, 能通上达下、行表彻里、通行十二经脉, 破癥坚、积聚、血瘀等^[10-13]。附子无姜不热, 常与干姜配伍使用^[14]。二者配伍在临床上常可治疗慢性肠炎、克隆恩病、慢性胃炎等慢性疾病。课题组前期研究发现^[15], 制附子与干姜配伍对肾上腺素所致小鼠耳廓微循环障碍具有良好的改善作用。现代药理学研究表明, 附子与干姜配伍具有改善微循环、增加血流速度、提高血流量的作用^[16-17]。本研究采用葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 制备慢性 UC 模型, 观察附子-干姜对慢性 UC 小鼠血清血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF)、组织因子 (tissue factor, TF) 的水平以及肠黏膜微血管密度 (microvessel density, MVD)、肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度、移动血细胞浓度的影响, 为附子-

干姜防治慢性 UC 肠黏膜微循环障碍提供依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 60 只, 6~8 周龄, 体重 20~22 g, 购自甘肃中医药大学实验动物中心, 合格证号 SCXK (甘) 2015-0002, 饲养于甘肃中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房, 温度 18~22 °C, 相对湿度 50%~60%。动物实验经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准 (批准号 2019-195)。

1.2 药材

制附子购自河北安草堂药业有限公司, 干姜购自河北百合药业有限公司, 经甘肃中医药大学药学院中药鉴定教研室李成义教授分别鉴定为毛茛科植物乌头 *A. carmichaelii* Debx. 的子根的加工品、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎。

1.3 药品与试剂

固本益肠片 (0.32 g/片, 批号 20191203) 购自沈阳绿洲制药有限公司; DSS (批号 D7002900) 购自上海翊圣生物有限公司; 小鼠 PAF ELISA 试剂盒 (批号 20200909A)、小鼠 TF ELISA 试剂盒 (批号 20200909A) 购自上海酶联生物有限公司; CD31 抗体 (批号 25u3337) 购自美国 Affinity 公司; 4%多聚甲醛通用组织固定液 (批号 XS190204) 购自北京白鲨易科技有限公司; 人尿粪隐血测定试剂盒 (批号 H-F01) 购自南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器

台式电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏设备公司); 包埋机 (浙江省金华市科迪仪器); 切片机、DM2500 显微镜 (德国 Leica 公司); SHA-C 水浴锅 (江苏荣华公司); iMark 酶标分析仪 (美国 Bio Rad 公司); MoorVMS-LDF 激光多普勒血流仪 (英国 Moor Instruments 公司); Biofuge Stratos 高速冷冻离心机 (美国科峻仪器公司)。

2 方法

2.1 附子-干姜提取液的制备

根据课题组前期研究^[15], 附子-干姜比例为 1:

1, 称取附子、干姜各 100 g, 附子加 10 倍量水浸泡 1 h, 先煎 1 h, 再与干姜合煎 30 min, 滤过; 连续煎煮 3 次, 合并 3 次滤液, 于水浴锅上浓缩至 200 mL, 质量浓度为 1 g/mL (以生药量计), 于 -20 °C 保存。

2.2 分组、造模与给药

小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、固本益肠 (1.16 g/kg) 组及附子-干姜高、中、低剂量 (6.06、3.03、1.51 g/kg) 组, 每组 10 只。对照组小鼠给予饮用水, 其余各组连续给予 2% DSS 水溶液 5 d, 自第 6 天开始自由饮用水 5 d, 此为 1 个循环, 如此反复进行 3 个循环, 共 30 d, 建立小鼠慢性 UC 模型^[18]。附子-干姜提取液以蒸馏水稀释至质量浓度为 0.30、0.15、0.08 g/mL 的溶液, 分别用作附子-干姜高、中、低剂量组; 固本益肠片溶于无菌蒸馏水配制质量浓度为 0.06 g/mL 的溶液。第 31 天各给药组 ig 相应药物 (20 mL/kg), 对照组与模型组 ig 等体积生理盐水, 1 次/d, 连续 10 d。每天观察各组小鼠精神状态、饮食、饮水情况, 记录小鼠体质量、大便性状及便血情况, 进行疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分。体质量下降率评分标准: 0 分为体质量不变; 1 分为下降 1%~5%; 2 分为下降 6%~10%; 3 分为下降 11%~15%。大便性状评分标准: 0 分为正常; 2 分为大便松散; 4 分为稀便。便血评分标准: 0 分为正常; 2 分为潜血阳性; 4 分为肉眼便血。

$DAI = (\text{体质量下降率评分} + \text{大便性状评分} + \text{便血评分}) / 3$

2.3 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度的影响

小鼠末次给药后禁食不禁水 1 h, ip 4% 水合氯醛麻醉, 将小鼠仰卧固定于实验台, 在腹正中线作 2~3 cm 切口, 暴露结肠, 选择距肛门 2~4 cm 处为下端观察区, 4~6 cm 处为上端观察区, 排除剧烈振动、心跳和呼吸对实验的影响。在暴露肠断面覆以纱布, 用温盐水湿润, 然后将光纤探头轻轻放在观察区结肠表面, 稳定 5 min 后进行观测。取 10 s 的平均值, 在检测开始 15 s 时记录血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度。将观察区上下端所测得的值取平均值作为整个结肠的血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度值。

2.4 附子-干姜对慢性 UC 小鼠血清中 PAF 和 TF 水平的影响

小鼠末次给药后禁食不禁水 1 h, 眼眶取血, 3000 r/min 离心 10 min, 收集血清, 按照试剂盒说

明书检测小鼠血清中 PAF 和 TF 水平。

2.5 附子-干姜对慢性 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响

小鼠末次给药后禁食不禁水 1 h, 脱颈椎处死, 取结肠组织, 清洗后于 4% 多聚甲醛中固定 48 h, 脱水、常规石蜡包埋、切片, 附于高黏附载玻片上, 于 37 °C 过夜, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 于显微镜下观察结肠组织损伤变化。

2.6 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜 MVD 的影响

取各组小鼠结肠组织, 清洗后于 4% 多聚甲醛中固定, 脱水、常规石蜡包埋、切片。石蜡切片脱蜡后, 加入 3% H_2O_2 阻断内源性氧化酶并用枸橼酸抗原修复 15 min, 5% BSA 封闭 30 min, 滴加一抗 (1:100), 37 °C 复苏 35 min, PBS 洗涤 5 min, 滴加生物素化的二抗, 37 °C 孵育 30 min, PBS 洗涤 5 min; 滴加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素工作液, 37 °C 孵育 30 min; DAB 显色、苏木素复染、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、封片后, 于显微镜下观察并拍照。CD31 阳性表达呈棕褐色或棕黄色颗粒。在 100× 视野下观察组织切片, 选择 3 个肠黏膜绒毛上微血管较多处, 即热点区; 再于 200× 视野下计数热点区微血管数目, 求 3 个视野的平均值, 作为肠黏膜绒毛组织的 MVD^[19]。

2.7 统计处理

采用 SPSS 23.0 软件分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行各组间差异比较。

3 结果

3.1 附子-干姜对慢性 UC 小鼠 DAI 评分的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠 DAI 评分显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组 DAI 评分显著降低 ($P < 0.01$)。

3.2 附子-干姜对慢性 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠黏膜炎性细胞浸润明显, 腺体排列损伤严重, 层次不清, 肠上皮细胞再生严重、淋巴组织异常增生。各给药组小鼠结肠组织结构趋于完整, 杯状细胞明显增多, 炎性细胞浸润明显减少, 腺体结构趋于完整, 增生组织明显较少。

3.3 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肠黏

表 1 附子-干姜对慢性 UC 小鼠 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 1 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on DAI score of chronic UC mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	DAI 评分
对照	—	0
模型	—	2.75 ± 0.10 ^{##}
固本益肠	1.16	1.39 ± 0.04 ^{**}
附子-干姜	6.06	1.81 ± 0.26 ^{**}
	3.03	1.84 ± 0.18 ^{**}
	1.51	2.43 ± 0.19 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下表同

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

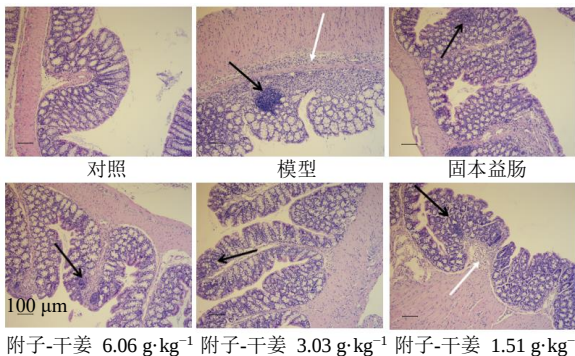


图 1 附子-干姜对慢性 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响 (HE, ×100)

Fig. 1 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on pathological changes of colon in chronic UC mice (HE, ×100)表 2 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度和移动血细胞浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 2 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on mucosal tissue perfusion, blood flow velocity and blood cell concentration in chronic UC mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血流灌注量/PU	血细胞移动速度/AU	移动血细胞浓度/AU
对照	—	800.73 ± 53.74	75.12 ± 9.74	349.33 ± 35.65
模型	—	451.66 ± 71.42 ^{##}	47.26 ± 7.58 ^{##}	641.81 ± 62.06 ^{##}
固本益肠	1.16	680.79 ± 95.85 ^{**}	62.61 ± 9.11 ^{**}	462.61 ± 67.95 ^{**}
附子-干姜	6.06	636.74 ± 84.94 ^{**}	64.98 ± 7.38 ^{**}	485.21 ± 89.65 ^{**}
	3.03	528.72 ± 84.93 [*]	56.19 ± 6.10 [*]	514.12 ± 109.98
	1.51	502.86 ± 90.81	48.16 ± 7.43	585.10 ± 40.61

表 3 附子-干姜对慢性 UC 小鼠血清中 PAF 和 TF 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 3 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on PAF and TF levels in serum of chronic UC mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	PAF/(pg·mL ⁻¹)	TF/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	402.98 ± 28.30	989.95 ± 111.89
模型	—	629.01 ± 74.38 ^{##}	1 683.60 ± 79.84 ^{##}
固本益肠	1.16	420.30 ± 69.24 ^{**}	992.95 ± 161.16 ^{**}
附子-干姜	6.06	490.37 ± 37.03 ^{**}	1 002.97 ± 131.95 ^{**}
	3.03	519.46 ± 30.03 ^{**}	1 127.68 ± 157.99 ^{**}
	1.51	550.62 ± 75.29 [*]	1 454.31 ± 102.24 ^{**}

膜血流灌注量、血细胞移动速度显著下降 ($P < 0.01$), 移动血细胞浓度显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 固本益肠组、附子-干姜高剂量组小鼠肠黏膜血流灌注量、血细胞移动速度显著升高 ($P < 0.01$)、移动血细胞浓度显著下降 ($P < 0.01$); 附子-干姜中剂量组小鼠肠黏膜血流灌注量、移动血细胞速度显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 附子-干姜对慢性 UC 小鼠血清中 PAF 和 TF 水平的影响

如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 PAF 和 TF 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠血清中 PAF 和 TF 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.5 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜 MVD 的影响

如图 2 所示, CD31 阳性表达均定位于血管内皮细胞胞质, 呈棕褐色颗粒或棕黄色。对照组小鼠肠黏膜结构清晰, CD31 表达阳性的棕褐色颗粒分布于肠绒毛的中轴, 数量较多; 模型组小鼠肠黏膜结构及肠绒毛可见边缘缺损, 炎性细胞浸润明显, CD31 表达阳性的棕褐色颗粒在肠绒毛的中轴分布不均, 颗粒较少; 各给药组小鼠肠黏膜可见较多的棕褐色颗粒。

如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肠黏膜 MVD 显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 固本益肠组及附子-干姜高、中剂量组小鼠肠黏膜 MVD 显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

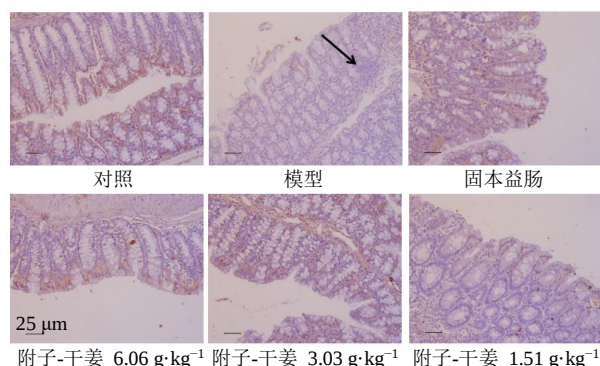


图 2 附子-干姜对慢性 UC 小鼠肠黏膜毛细血管内皮细胞 CD31 表达的影响 ($\times 400$)

Fig. 2 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on expression of CD31 in intestinal mucosal capillary endothelial cells of chronic UC mice ($\times 400$)

表 4 附子-干姜对慢性 UC 小鼠 MVD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata-Zingiberis Rhizoma* on MVD of chronic UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MVD/(个·mm ⁻²)
对照	—	30.43 ± 2.24
模型	—	24.28 ± 2.09 ^{##}
固本益肠	1.16	28.07 ± 2.48 [*]
附子-干姜	6.06	29.00 ± 2.14 ^{**}
	3.03	27.54 ± 2.54 [*]
	1.51	26.78 ± 2.36

4 讨论

UC 是消化系统中最常见的一种慢性疾病，常自结肠近端发展至全结肠导致黏膜损伤^[20]。慢性 UC 患者 5 年内结肠切除的风险为 10%~35%，我国 UC 的患病率为 0.011 6%^[21-22]。目前临床上主要以 5-氨基水杨酸药物、类固醇类、免疫抑制剂、生物制剂等基本药物联合肝素维持治疗慢性 UC，但因联合用药复杂，治疗效果不佳，UC 复发率极高、不良反应较多。因此，寻找更为有效的治疗 UC 药物尤为重要。中医药通过辨证治疗慢性 UC，具有不良反应小的优点^[23]。近年来有应用中药复方、中药单味药联合西药或者仅通过针刺改善微循环而治疗 UC 的相关报道^[24-26]，但因其复方药味复杂，改善微循环机制不明确或者针刺治疗方式单一，近期症状缓解效果良好，但远期疗效不佳。附子-干姜来源于《三因极一病证方论》中的附子理中汤，具有温中散寒、补气健脾的功效，主治久病不愈、寒凝不化、肠鸣即泻等症，方中发挥主要作用的附子-

干姜具有抗溃疡、抗炎、改善微循环等作用。

中医认为“瘀”是 UC 的主要病因病机，病理基础以脾肾阳虚为本、以“瘀”为标，表明 UC 病程较长，缠绵难愈，久病必有瘀，血瘀的产生必然加重 UC 的病情和复杂性^[27-28]。久泻伤肾则肾阳不足，脾阳无以温煦，气血瘀滞，化腐成脓，故导致腹痛、黏液脓血便。因此，可以用附子-干姜补肾阳间接化瘀从而改善脾肾阳虚、瘀血阻滞，从本质上治疗慢性 UC。本研究结果显示，附子-干姜可改善慢性 UC 小鼠皮毛光泽度、饮食饮水量及弓背、脓血便等症状，提示附子-干姜在改善慢性 UC 的临床症状中具有明显的优势。

肠黏膜局部的血液循环是黏膜局部防卫能力的重要组成部分。良好的血液循环，是提供丰富的营养和祛除有害代谢物质的重要保证，对黏膜的完整性起重要作用^[29]。目前，肠黏膜微循环障碍是慢性 UC 临床研究中的热点。慢性 UC 疾病使机体凝血系统异常、炎症活化、凝血功能障碍，肠黏膜微血栓形成，肠黏膜血流灌注量减少，加重肠黏膜组织缺血、坏死，形成溃疡，出现便血症状^[30-31]。肠道炎症可引起机体的抗凝系统紊乱、血小板功能改变，导致肠黏膜及其他部位血栓的形成。慢性 UC 肠黏膜活检病理组织学中常见大量黏膜毛细血管血栓形成^[32]。血栓形成使肠黏膜通透性改变，肠黏膜供血减少，使肠腔内的有害物质进入血循环，黏膜毛细血管破坏，进而使肠黏膜受损，诱导黏膜发生异常炎症反应^[33]。慢性 UC 炎症状态可通过局部释放血小板活化物（如 TF、PAF）并激活其他炎症细胞，使血液呈血栓状态，阻塞肠黏膜微循环，加重肠黏膜缺氧损伤，形成恶性循环，使慢性 UC 反复发作^[34]。化学趋化物 PAF 在局部微循环障碍病理过程中起重要作用^[35]。PAF 的主要作用是刺激血小板，促进血小板聚集，引起中性粒细胞聚集，增加血管通透性，加剧炎症发生^[36]。TF 在生理性止血和血栓形成中起着重要的作用。在某些诱因作用下凝血系统 TF 从内皮细胞释放，与凝血因子结合形成复合物后被活化，诱发机体血液呈高凝状态^[37]。TF 在慢性 UC 结肠组织中呈高表达水平^[38]。因此，PAF、TF 可作为检验炎症状态下机体是否有凝血状态的指标。本研究结果显示，附子-干姜可显著降低慢性 UC 小鼠血清中 PAF 和 TF 水平，减少慢性 UC 机体血栓的形成。机体微血栓形成会使肠黏膜组织微循环血流灌注量减少，血细胞移动速度减慢直至停止，移动

血细胞浓度上升,因此血流灌注量、血细胞移动速度、移动血细胞浓度是了解组织微循环状态的重要指标^[39]。移动血细胞浓度与组织中细胞的数量有关,可反映血细胞的聚集程度。血细胞移动速度是微循环的实时动态,可反映微循环血流灌注量的情况。血流灌注量与血流速度呈正比,血流灌注量的降低主要由血流速度变慢、移动血细胞浓度增高造成^[40]。激光多普勒血流仪是微循环血流测量中无创、敏感、重复性较好的检测设备,可以实时动态观察血流的变化^[41-43]。本研究结果显示,附子-干姜能显著改善慢性 UC 小鼠肠黏膜移动血细胞浓度,加快血流速度,减少红细胞聚集,提高肠黏膜微循环血流灌注量影响。肠黏膜微循环血流灌注量减少,就会使肠黏膜功能毛细血管破坏。CD31 是一种血小板内皮细胞黏附分子,可以准确地标记新生微血管的数目和密度^[44]。本研究结果显示,慢性 UC 状态下肠黏膜 MVD 显著降低,附子-干姜高剂量组小鼠肠黏膜 MVD 显著增加,表明附子-干姜能够保护肠黏膜功能毛细血管内皮细胞,增加肠黏膜功能毛细血管密度。

综上,本研究发现附子-干姜能够降低机体凝血系统的紊乱,保护慢性 UC 肠黏膜毛细血管内皮细胞,增加肠黏膜毛细血管密度,增加肠黏膜血流灌注量,加快血细胞移动速度,降低移动血细胞浓度,促进肠黏膜修复,改善肠黏膜微循环障碍。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhang Y Z, Li Y Y. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(1): 91-99.
- [2] Sung M K, Park M Y. Nutritional modulators of ulcerative colitis: Clinical efficacies and mechanistic view [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(7): 994-1004.
- [3] Tian Y, Zheng Y, Dong J, et al. Papaverine adjuvant therapy for microcirculatory disturbance in severe ulcerative colitis complicated with CMV infection: A case report [J]. *Clin J Gastroenterol*, 2019, 12(5): 407-413.
- [4] Tian Y, Zheng Y, Teng G, et al. Imbalanced mucosal microcirculation in the remission stage of ulcerative colitis using probe-based confocal laser endomicroscopy [J]. *BMC Gastroenterol*, 2019, 19(1): 114.
- [5] 陈治水. 溃疡性结肠炎的中医分型和治疗 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2008, 13(3): 200-204.
- [6] 谢晶日, 孙涛, 张冰. 溃疡性结肠炎的中医药治疗进展及相关优势探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(2): 425-427.
- [7] 朱春洋. 张声生教授治疗溃疡性结肠炎经验的数据挖掘及临床疗效评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [8] 贺海辉, 沈洪, 顾培青. 溃疡性结肠炎缓解期的防治 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(2): 280-286.
- [9] 朱庆平, 沈洪, 朱磊. 中医对溃疡性结肠炎患者瘀血病机的认识 [J]. 浙江中医药大学学报, 2013, 37(4): 480-482.
- [10] 宋恩峰, 孙文连, 张珏, 等. 附子临床应用及安全性评价研究 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(4): 895-901.
- [11] 贾蒙, 王怡. 附子活血化瘀功效在慢性肾脏病中的应用探讨 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(11): 6-9.
- [12] 秦凯华, 宋健平, 叶俏波. 附子功效的本草考证 [J]. 中药材, 2015, 38(1): 185-187.
- [13] 刘宾. 对干姜附子汤作用的认识 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(8): 1141-1142.
- [14] 陶长戈. 附子干姜组分配伍的胃肠吸收动力学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [15] 韩涛, 程小丽, 刘晓东, 等. 制附子及其不同配伍对小鼠实验性微循环障碍的影响 [J]. 中药药理与临床, 2007, 128(2): 40-41.
- [16] 黎同明, 王桂香, 高洁, 等. 附子干姜配伍温阳通脉作用的实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(4): 373-375.
- [17] 陈荣昌, 孙桂波, 张强, 等. 附子及其复方中药的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 883-888.
- [18] Valdez-Morales E, Guerrero-Alba R, Ochoa-Cortes F, et al. Release of endogenous opioids during a chronic IBD model suppresses the excitability of colonic DRG neurons [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2013, 25(1): 39-46.
- [19] 崔云亮. 大黄对脓毒症大鼠小肠微循环的影响和机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2013.
- [20] 朱成雷, 穆晶晶, 徐静雯, 等. 紫甘薯花青素对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道屏障损伤的修复作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(10): 1844-1853.
- [21] Boal Carvalho P, Cotter J. Mucosal healing in ulcerative colitis: A comprehensive review [J]. *Drugs*, 2017, 77(2): 159-173.
- [22] Lui R N S, Ng S C. The same intestinal inflammatory disease despite different genetic risk factors in the east and west? [J]. *Inflamm Intest Dis*, 2016, 1(2): 78-84.
- [23] 麦尔哈巴·米吉提, 王佳佳, 迟莉, 等. 中医药治疗溃疡性结肠炎研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(3): 669-671.
- [24] 高文艳, 王长洪. 血瘀在溃疡性结肠炎发病机制中的研究现状 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2006, 14(1): 425-427.

- 63-65.
- [25] 李志同. 电针合穴(尺泽)、下合穴(上巨虚)对 UC 大鼠肠微循环及 VIP 等的影响研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [26] 惠毅, 闫曙光, 李京涛, 等. 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对溃疡性结肠炎小鼠结肠上皮细胞 Notch 信号通路的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(13): 3147-3154.
- [27] 郭雁冰. 浅谈溃疡性结肠炎从瘀论治 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(7): 88-89.
- [28] 景珊. 运用“久病入络”学说治疗脾胃病探讨 [J]. 国医论坛, 2015, 30(5): 11-14.
- [29] 王新月, 闫昕. 溃疡性结肠炎的发病特点与“毒损肠络”病机学说 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(3): 410-414.
- [30] 姚琦. 溃疡性结肠炎与凝血功能的相关性研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2018.
- [31] 缪志伟, 顾鸣佳, 严晶, 等. 丹参注射液辅助治疗溃疡性结肠炎疗效及安全性的系统评价 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 51-57.
- [32] Deban L, Correale C, Vetrano S, et al. Multiple pathogenic roles of microvasculature in inflammatory bowel disease: A Jack of all trades [J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(6): 1457-1466.
- [33] 安贺军. 益气活血解毒法抗溃疡性结肠炎复发的微血管机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.
- [34] 刘屹. 丹参注射液对溃疡性结肠炎血小板活化(瘀血)状态干预效果的实验研究与临床观察 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2009.
- [35] 陈友岱, 周总光. 血小板活化因子与局部微循环障碍 [J]. 中国微循环, 2001, 9(3): 241-243.
- [36] 何山, 刘凯, 黄永坤. 美沙拉秦、酪酸梭菌、蒙脱石散对 UC 大鼠血中 PG-E₂、LT-B₄、PAF、VEGF 的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(8): 1212-1218.
- [37] 何灏澜. 丹参酮联合美沙拉秦对溃疡性结肠炎患者凝血功能及组织 TF、TFPI 表达的影响 [J]. 中西医结合研究, 2018, 10(5): 225-228.
- [38] He H L, Zhang J B, Li Q. Clinical significance of expression of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7461.
- [39] 孙幼屏, 郑元义, 周文格, 等. 应用超声微泡对肝肾微循环血流速度及血流状态的研究 [J]. 中国超声医学杂志, 2010, 26(9): 785-787.
- [40] 王军, 柏树令, 张凌志. 用激光多普勒血流仪检测升主动脉狭窄心衰大鼠的皮肤微循环 [J]. 中国微循环, 2000, 8(1): 32-33.
- [41] 王莺. 应用激光多普勒血流仪监测口腔黏膜血流 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2016, 48(4): 697-701.
- [42] 庞坦, 李小锦, 庄朋伟. 白及对卡拉胶大鼠炎症足血流速度的影响 [J]. 影像研究与医学应用, 2018, 2(11): 229-231.
- [43] 符崖, 陈元元, 黄兆胜, 等. 以血流变化评估血栓模型小鼠血管内皮功能 [J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(4): 546-549.
- [44] 张舒, 张君娜, 蔡静, 等. VHL 和 CD31-MVD 在结肠癌组织中的表达及临床意义 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(13): 2264-2267.

[责任编辑 李亚楠]