

久泻灵颗粒对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎大鼠 TLR4 及 NF- κ B p65 表达的影响

吴玉泓^{1,2}, 许雅清¹, 李海龙^{1,2}, 蔺兴遥¹, 程小丽¹, 明海霞¹, 张磊¹

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000;

2. 甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室; 甘肃省中药新产品创制工程实验室, 兰州 730000)

【摘要】 目的 探讨久泻灵颗粒对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织中 TLR4、NF- κ B p65 蛋白基因的表达的影响。**方法** 通过灌服大黄水煎液, 肌肉注射氢化可的松并结合 TNBS(2,4,6-三硝基苯磺酸)混合乙醇灌肠建立动物模型。将 90 只大鼠随机分为空白组、模型组、久泻灵颗粒治疗 7、14、21 d 组及阳性对照(SASP)组, 用药治疗后采用免疫组化 SP 法和 RT-qPCR 法分别检测大鼠结肠组织中 TLR4、NF- κ B p65 蛋白和基因的表达。**结果** 结肠黏膜形态学评分结果显示, 各治疗组评分均有降低, 差异有显著性($P < 0.01$); 免疫组化 SP 法结果显示: TLR4、NF- κ B p65 在模型组大鼠中表达均显著增强($P < 0.01$); 药物干预后各治疗组大鼠 TLR4、NF- κ B p65 表达均减弱($P < 0.05$); RT-qPCR 法结果显示: 与空白组比较, 模型组大鼠 TLR4、NF- κ B p65 表达增强($P < 0.01$); 与模型组比较, 治疗后各组大鼠 TLR4、NF- κ B p65 表达减弱($P < 0.05$)。**结论** 久泻灵颗粒可减轻结肠黏膜炎症反应, 起到修复黏膜的作用, 其原因与降低脾肾阳虚型 UC 模型大鼠结肠组织中 TLR4、NF- κ B p65 基因的转录和蛋白的表达有关。

【关键词】 溃疡性结肠炎; 脾肾阳虚; TLR4; NF- κ B p65; 久泻灵颗粒; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016) 01-0047-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.01.009

Effect of a Chinese medicine, Jiuxieling granules, on the expression of TLR4 and NF- κ B p65 in ulcerative colitis rats with spleen and kidney yang deficiency

WU Yu-hong^{1,2}, XU Ya-qing¹, LI Hai-long^{1,2}, LIN Xing-yao¹, CHENG Xiao-li¹, MING Hai-xia¹, ZHANG Lei¹

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Traditional Chinese Herbs and Prescription Innovation and Transformation of Gansu Province; Gansu Province Chinese Medicine New Products Engineering Laboratory, Lanzhou 730000)

【Abstract】 Objective To explore the effects of a Chinese medicine, Jiuxieling granules, on the expression of TLR4 and NF- κ B p65 mRNA and proteins in ulcerative colitis model rats with spleen and kidney yang deficiency. **Methods** The rat model of ulcerative colitis with spleen and kidney yang deficiency was established by oral administration of rhubarb decoction, intramuscular injection of hydrocortisone and TNBS (2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid) combined with ethanol enema. All the 90 rats were randomly divided into blank control group, UC model of spleen kidney yang deficiency group, and Jiuxieling granules treatment groups for 7 days, 14 days and 21 days, respectively, and positive control group (SASP). After all the rats were killed and colon samples were collected, the expression of TLR4 and NF- κ B p65 mRNA and proteins of colon tissues were detected by RT-qPCR and SP immunohistochemical. **Results** The results of immunohistochemical assay indicated that expressions of TLR4 and NF- κ B p65 in the UC model group were significantly enhanced,

[基金项目] 国家自然科学基金项目(编号:81260520)。

[作者简介] 吴玉泓(1967-), 男, 博士, 硕士生导师。研究方向: 中医病证结合动物模型及治则治法研究。Email: 172924249@qq.com

when compared with that of the blank group ($P < 0.01$). After treatment, the expressions of TLR4 and NF- κ B p65 in all treatment groups were significantly decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The RT-qPCR assay results indicated that the expressions of TLR4 and NF- κ B p65 in the UC model group were significantly enhanced when compared with that of the blank group ($P < 0.01$). After treatment, the expressions of TLR4 and NF- κ B p65 in all treatment groups were reduced ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusions** Jiuxieling granules can alleviate the mucosal inflammation and facilitate the mucosal repair. The main reasons of which may be associated with reduction of TLR4 and NF- κ B p65 gene transcription and protein expression in the ulcerative colitis model rats with spleen and kidney yang deficiency.

【Key words】 Ulcerative colitis; Yang deficiency of spleen and kidney; TLR4; NF- κ B p65; Jiuxieling granules; Rats

Corresponding author: WU Y-hong, E-mail: 172924249@QQ.com

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性、反复发作性的非特异性肠道炎症性疾病, 临床主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便以及里急后重, 以形成肠黏膜、黏膜下层的炎症和溃疡为特征, 发生癌变的几率大^[1], 尤其是有结直肠癌家族史的患者, 同时还会引发严重的并发症^[2]。近几年研究发现中医药以及中西医结合治疗 UC 疗效甚好, 使用中医药可以改善患者的溃疡症状和结肠黏膜的微循环, 不良反应小、复发率低、远期疗效高, 具有很好的推广与研究开发价值^[3]。而我们在与 UC 中医证候类型相关的文献研究中发现, 脾肾阳虚证在众多证型中位列第四, 属临床常见证、多发证。本课题从此证着手, 选择四神丸加理中丸进行干预, 从基因和蛋白质的角度, 通过分子生物学手段和方法, 对久泻灵颗粒治疗脾肾阳虚型 UC 进行进一步的探讨, 阐明温补脾肾法治疗 UC 的作用机制及久泻灵颗粒组方用药对机体肠黏膜的免疫调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 90 只, 周龄 6~7 周, 体重 (180 ± 20) g, 雌雄各半, 由甘肃中医药大学实验动物中心提供【SCXK(甘)2011-0001】。动物实验操作在甘肃中医药大学实验动物中心进行【SYXK(甘)2011-0001】。并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀【2014-041】。

1.1.2 药品及试剂

久泻灵颗粒 (甘肃众友健康医药股份有限公司加工)、大黄水煎液 (甘肃中医学院附属医院中药房)、三硝基苯磺酸 (Sigma 公司, 批号 111M5001V)、

氢化可的松注射液 (天津药业焦作有限公司, 批号 13060211)、柳氮磺胺吡啶肠溶片 (上海信谊制药公司, 批号 120915)、浓缩型 DAB 溶液、DAB 底物液 (北京中杉金桥, 批号 K146720D)、兔 SP 检测试剂盒 (中杉金桥, 批号 14188A03)、Mouse anti-NF κ B p65 (中杉金桥, 批号 A-0814)、Rabbit anti-TLR4 (博士德生物技术公司, 批号 217847)、反转录试剂盒 (德国罗氏试剂, 批号 14854823)、基因上下游引物 (大连宝生物工程有限公司)、Bioneer 扩增试剂盒 (上海 Bioneer Trade 有限公司)。

1.1.3 主要实验仪器

高速冷冻离心机 (Biofuge-Stratos)、匀浆、美国 Bio-Rad 实时荧光定量 PCR 仪 (CFX96)、成都泰盟 BI-2000 医学图像分析系统 (成都泰盟科技有限公司)、山东易创 MIE 图像处理系统 (山东易创电子有限公司)、显微镜 (日本 Olympus, CX21 型)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

适应性饲养 1 周后, 根据随机数字表法将 90 只 Wistar 大鼠按照体重及雌雄分为 6 组, 每组 15 只。

参考文献方法^[4-5]重建动物模型。①“脾虚”模型: 空白组大鼠给以蒸馏水每只 2 mL/d 灌胃, 其余各组大鼠上午给以大黄水煎液灌胃, 每只 2 mL/d, 下午给以蒸馏水灌胃每只 2 mL/d, 连续 14 d。②“脾肾阳虚”模型: 在脾虚模型基础上进行, 于第 15 天在除空白组外的其余大鼠左右肢臀部交替肌肉注射氢化可的松 25 mg/(kg·d), 并给以蒸馏水灌胃每只 2 mL/d, 连续 10 d, 第 25 天禁食不禁水。③“UC”模型: 第 26 天用 100 mg/kg TNBS 加 50% 乙醇 0.25 mL 混合剂灌肠, 空白组用等体积蒸馏水灌肠。

1.2.2 给药方法

造模成功后, 空白组和模型组给予 0.2 g/kg 生

理盐水灌胃,久泻灵颗粒治疗 7、14、21 d 组以 0.2 g/kg 中药药剂灌胃,阳性对照组给予 0.2 g/kg 的柳氮磺胺吡啶肠溶片溶液灌胃,每只 2 mL。等效剂量以成人常规剂量按人与动物体型系数折算,灌胃容积为 1 mL/100 g 体重,连续 3 周。

1.2.3 标本采集

空白组、模型组、阳性对照组大鼠于造模 21 d 末,久泻灵颗粒各治疗组大鼠于造模 7、14、21 d 末禁食不禁水 24 h,水合氯醛麻醉后对大鼠剖腹截取整个结肠组织并沿纵轴剪开,生理盐水清洗干净,装于做标记的离心管中,−80℃ 保存,用于后续检测。

1.2.4 指标检测

(1) 免疫组化法检测 TLR4、NF-κB p65 蛋白的表达

免疫组化步骤:① 石蜡切片,脱蜡至水(有需要抗原修复的在此步骤后进行)。② 3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min, PBS 冲洗, 3 min × 3 次→滴加封闭液,孵育 10 min。③ 滴加 TLR4、NF-κBp65 抗体, 37℃ 孵育 30 min, 4℃ 过夜, PBS 冲洗 3 min × 3 次。④ 滴加生物素化山羊抗兔 IgG, 37℃ 培养箱中孵育 15 min, PBS 冲洗 3 min × 3 次。⑤ 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37℃ 孵育 15 min, PBS 冲洗 3 min × 3 次。⑥ 滴加 DAB 液体,室温下显色,自来水充分冲洗。⑦ 苏木素轻度复染 3 min, 自来水充分冲洗,盐酸酒精分化,自来水返蓝。⑧ 脱水透明。⑨ 中性树胶封片。⑩ 采用医学图像分析系统,光镜下观察,每组选取 8 张切片,每张切片选取 6 个视野,进行积分光密度值分析。

(2) RT-qPCR 法检测 TLR4、NF-κB p65 mRNA 的表达

① 常规抽提各组大鼠结肠黏膜总 RNA 并反转录合成 cDNA。② 引物序列见表 1。③ PCR 扩增反应:反应体系为 2 × Greenstar Master Mix 加 5 μL,上下游引物各加 1 μL, DNA 模板 1 μL, 双蒸水 2 μL。反应条件为 Stage 1:预变性 Repeat:1, 95℃, 10 min; Stage 2:PCR 反应 Repeat:42, 95℃, 10 s→55℃, 30 s; Stage 3:Dissociation。④ 将 PCR 扩增仪得出的各组 Ct 值输入 Excel 表中, $\Delta Ct = \text{目的基因 Ct 值} - \text{内参基因 Ct 值}$, 相对定量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,每个样本重复三孔,取均值计算 Ct 值。选用数学和三角里的 Power 公式。

表 1 各基因引物的核酸序列

Tab. 1 Nucleic acid sequences of the gene primers

引物名称 Primer name	引物序列(5'–3') Primer sequences
β-actin-F	GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA
β-actin-R	GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG
TLR4-F	CTCACAACTTCAGTGGCTGGATTTA
TLR4-R	GTCTCCACAGCCACCAGATTCTC
NF-κB p65-F	GGCAGCACTCCTTATCAAC
NF-κB p65-R	GGTGTCTGTCCTCCATCGTAG

1.2.5 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,选用单因素方差分析(One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般生存状况

空白组大鼠始终表现为反应敏捷,饮食量正常,活动情况无异常,毛发浓密柔顺伴有光泽,粪便为棕褐色颗粒。模型组则多数在第 5 天后天开始出现蜷卧、眯眼等部分症状,第 10 天后症状开始明显,大鼠蜷卧扎堆,食量减少,体重开始减轻,便形质软,部分动物眯眼弓背,游泳耐力下降。往后动物症状逐渐加重,体重明显减轻,便形稀溏,肛周污秽,少食怠动,畏寒,成群蜷缩或弓背,毛发失去光泽而枯槁疏散等脾肾阳虚症状。治疗组第 6 天出现轻度蜷卧、眯眼,第 13 天后出现少食怠动、体重下降、便形质软、游泳耐力减轻等,治疗至 16 d 后上述症状开始减轻或消失,表现为反应较为灵敏,活动及饮食量增加,粪便部分呈颗粒状,眯眼弓背消失,游泳耐力较前提高(其中模型组死亡 3 只,治疗 7 d;治疗 14 d 组各死亡 1 只,治疗 21 d 组死亡 2 只)。

2.2 大鼠结肠黏膜形态学变化

表 2 各组大鼠结肠黏膜形态学评分结果显示:与空白组比较,模型组大鼠黏膜损伤评分明显升高,差异有显著性($P < 0.01$);与模型组比较,其余各治疗组评分均有降低,差异有显著性($P < 0.01$),且以治疗 21 d 组效果最为明显;与治疗 21 d 组比较,阳性对照组差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 大鼠结肠中 TLR4、NF-κB p65 的基因表达

表 3 可以看出:与空白组比较,模型组大鼠结肠组织中 TLR4、NF-κB p65 基因表达量都明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠结肠组织 TLR4、NF-κB p65 基因表达量则有所下降,治疗 21 d 组效果显著($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠结肠黏膜组织损伤评分($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 The scores of colon mucosa damage in the rats

组别 Groups	动物数 Animal numbers	剂量 g/kg Dose	黏膜损伤评分 Mucosal damage scores
空白组 Blank group	15	—	0.5 ± 0.418
模型组 Model group	10	—	6.1 ± 0.579 [△]
治疗 7 d 组 Treatment for 7 days group	11	6.75	3.5 ± 0.857 ^{*#}
治疗 14 d 组 Treatment for 14 days group	11	6.75	3.3 ± 0.378 ^{*#}
治疗 21 d 组 Treatment for 21 days group	10	6.75	2.9 ± 0.850 [*]
阳性组 Positive group	150.2	3.1 ± 0.849 [*]	

注:与空白组比较, [△] $P < 0.01$;与模型组比较, ^{*} $P < 0.01$,与治疗 21 d 组比较, [#] $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the blank group, $P < 0.01$; Compared with the model group, $*P < 0.01$; Compared with the 21 days treatment group, $^{\#}P < 0.05$.

表 3 各组大鼠结肠组织 TLR4、NF-κB p65 基因表达量($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
Tab. 3 The expressions of TLR4 and NF-κB p65 mRNA in colon mucosa tissue of the rats

组别 Groups	剂量(g/kg) dose	TLR4	NF-κB p65
空白组 Blank group	—	0.215 ± 0.024	0.319 ± 0.028
模型组 Model group	—	1.0 ± 0.00 [△]	1.0 ± 0.00 [△]
治疗 7 d 组 Treatment for 7 days group	6.75	0.604 ± 0.023 ^{*▲}	0.864 ± 0.252 ^{*▲}
治疗 14 d 组 Treatment for 7 days group	6.75	0.603 ± 0.005 ^{*▲}	0.849 ± 0.149 ^{*▲}
治疗 21 d 组 Treatment for 7 days group	6.75	0.419 ± 0.017 [#]	0.562 ± 0.019 [#]
阳性组 Positive group	0.2	0.458 ± 0.057 [*]	0.669 ± 0.182 ^{*▲}

注:与空白组比较, [△] $P < 0.01$;与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$;与治疗 21 d 组比较, [▲] $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the blank group, $^{\Delta}P < 0.01$; compared with the model group, $*P < 0.05$, $^{\#}P < 0.01$; Compared with the 21 days treatment group, $^{\blacktriangle}P < 0.05$.

2.4 大鼠结肠中 TLR4、NF-κB p65 的蛋白表达

2.4.1 大鼠结肠组织 TLR4、NF-κBp65 表达

(1) 空白组: TLR4: 无阳性表达, 表达呈阴性; NF-κB p65: 阳性细胞有微弱表达(如图 1A、A1)。

(2) 模型组: TLR4: 表达呈胞质阳性, 分布于肠黏膜上皮及固有层, 胞质可见黄色颗粒, 表达强于空白组; NF-κB p65: 阳性表达于黏膜上皮, 固有层单个核细胞, 胞质胞膜均有黄色颗粒, 表达强于空白组(如图 1B、B1)。

(3) 治疗 7 d 组: TLR4: 少量阳性细胞散在分布于组织黏膜层、黏膜下层, 中等强度表达, 偶见于黏膜腺体; NF-κB p65: 仍见大量阳性表达(如图 1C、C1)。

(4) 治疗 14 d 组: TLR4: 组织黏膜层见少量 TLR4 阳性细胞, 接近肠腔处呈中等强度表达; NF-κB p65: 整个组织中阳性表达相对减弱, 黄色颗粒减

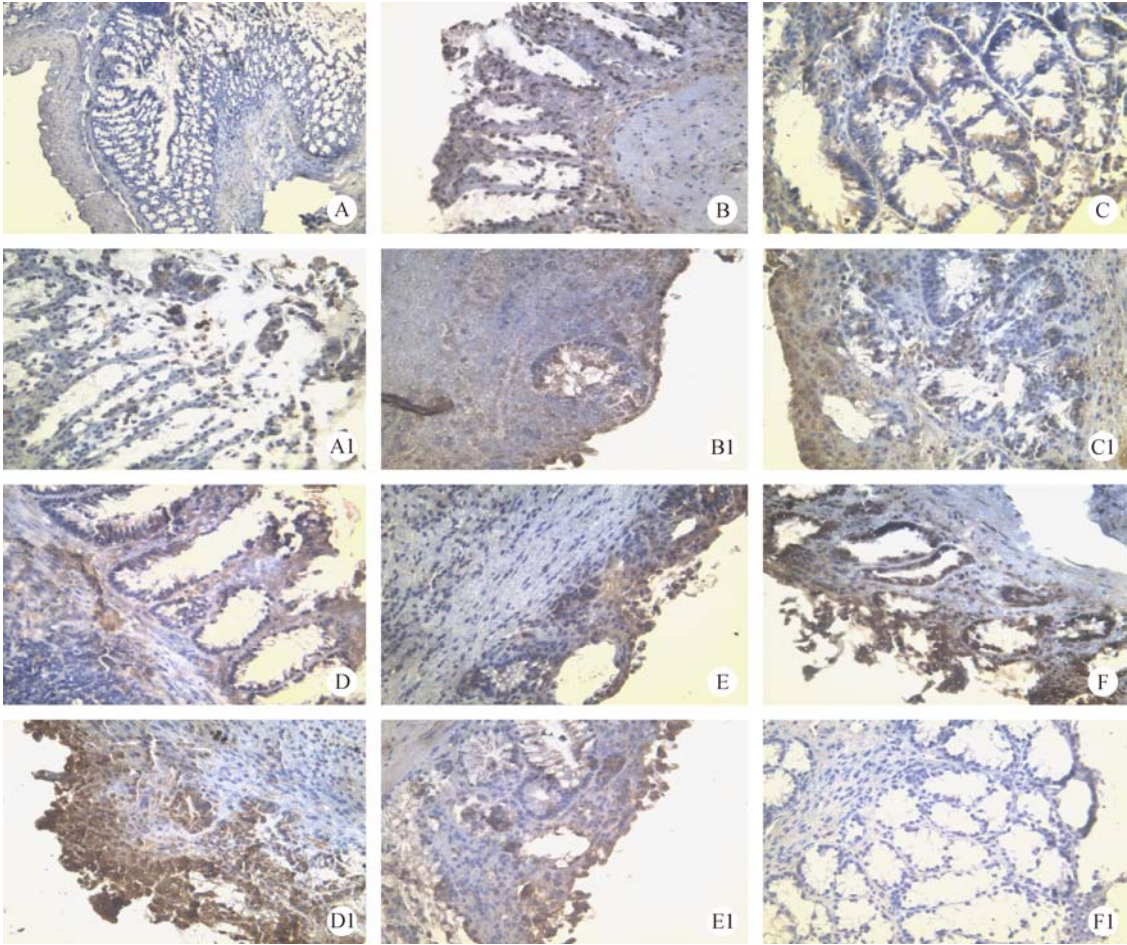
少, 但仍可见阳性表达在上皮高于固有层(如图 1D、D1)。

(5) 治疗 21 d 组: TLR4: 阳性表达基本呈阴性, 仅有个别散在浸润细胞; NF-κB p65: 黏膜上皮及固有层单个核细胞中存在阳性表达, 呈现弱阳性(如图 1E、E1)。

(6) 阳性对照组: TLR4: 个别散在的弱阳性表达; NF-κB p65: 阳性细胞微弱表达, 胞质内偶见黄色颗粒(如图 1F、F1)。

2.4.2 大鼠结肠组织 TLR4、NF-κB p65 平均灰度值

表 4 结果显示: 与空白组比较, 模型组大鼠 TLR4、NF-κB p65 表达明显增强($P < 0.01$), 差异有显著性; 与模型组比较, 治疗 7、14、21 d 组和阳性对照组 TLR4、NF-κB p65 表达减弱, 差异有显著性($P < 0.05$), 且治疗 21 d 组表达最为明显($P < 0.01$)。



注: A、A1 空白组; B、B1 模型组; C、C1 治疗 7 d 组; D、D1 治疗 14 d 组; E、E1 治疗 21 d 组; F、F1 阳性组

图 1 TLR4 及 NF-κB p65 免疫组化结果(×40)

Note. A. A1. Blank group. B. B1. Model group. C. C1. Treatment group at 7 days. D. D1. Treatment group at 14 days. E. E1. Treatment group at 21 days. F. F1. Positive group.

Fig. 1 TLR4 and Appendix 2 NF-κB p65 immunohistochemical results (×40)

表 4 各组大鼠结肠黏膜 TLR4、NF-κB p65 平均灰度值 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The average grey values of TLR4 and NF-κB p65 in the colon mucosa tissue of the rats.

组别 Groups	动物数 Animal numbers	剂量(g/kg) doses	TLR4	NF-κB p65
空白组 Blank group	15	—	46.201 ± 9.613	121.865 ± 7.542
模型组 Model group	10	—	68.571 ± 9.106 [△]	311.257 ± 7.530 [△]
治疗 7 天组 Treatment for 7 days group	11	6.75	65.841 ± 5.512 ^{*##}	301.250 ± 8.184 ^{*##}
治疗 14 天组 Treatment for 14 days group	11	6.75	58.819 ± 8.011 ^{*▲}	301.186 ± 9.163 ^{*##}
治疗 21 天组 Treatment for 21 days group	10	6.75	50.165 ± 9.035 [#]	287.306 ± 8.586 [#]
阳性组 Positive group	15	0.2	58.363 ± 7.279 ^{*▲}	298.122 ± 7.821 ^{*▲}

注:与空白组比较, [△] $P < 0.01$;与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$;与治疗 21 天组比较, [▲] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the blank group, [△] $P < 0.01$; Compared with the model group, ^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$; compared with 21 days treatment group, [▲] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$.

3 讨论

本课题采用病证结合方法建立脾肾阳虚型 UC

大鼠模型,久泻灵颗粒加以干预,从大肠组织形态学变化、蛋白质组学研究和现代中药基因组学的角度,来观察久泻灵颗粒对脾肾阳虚型 UC 模型大鼠组织

中蛋白基因 TLR4、NF- κ B p65 表达的影响,进一步验证 TLR4、NF- κ B p65 与脾肾阳虚型 UC 的发病有着密切的关系。

本研究所使用的久泻灵颗粒是自拟方药,由理中丸加四神丸组成,具备阴阳调理、温肠补肾、止泻利湿、燮理虚实的功效,本方配伍精悍得体,整个方药十分鲜明的体现出辛开、苦降,寒热、攻涩并施、协调升降气机这几大特征。药物包括人参、白术、补骨脂、肉豆蔻、干姜、吴茱萸和五味子八味。方中补骨脂性味辛、苦,大温,补命门火以温脾阳,以此达到治“肾泻”的规则;白术,归经为脾、胃经,拥有补益脾气、燥湿、利尿等多个功效,炒白术能加强补气健脾止泻的功效,它被誉为“健脾益气的第一要药”,与人参共同健脾益气;三味药共行温补脾肾、补虚治本之效;肉豆蔻则祛湿利浊攻邪,还能行气,并且可以温中散寒、温脾暖肾,它与人参、白术共奏行补之效;吴茱萸、干姜温中散寒;治标又以五味子涩肠止泻,这几味药可以说是并收敛耗散之正气。诸药合用,以达到内外合治,标本兼顾之意,其配伍正中病机,在临床上疗效显著。

TOLL 样受体在 1997 年被 Medzhitov 等^[6]发现。TLRs 能够和病原识别模式分子结合^[7],激活下游信号转导分子,从而激活 NF- κ B,使得炎症介质得以表达,直接影响免疫反应的强度大小。正常的肠黏膜上皮细胞微量表达 TLR4,但是在 UC 患者的肠黏膜上 TLR4 过度表达,与 UC 患者全结肠里是否有炎症或是没有炎症关系不大,同时处于非活动期的 UC 上皮细胞里同样能找到 TLR4 阳性表达,另外 UC 患者的肠壁固有层也有大量 TLR4 表达。NF- κ B 在 UC 发病过程中占枢纽性的角色,它是各种致病因子释放和表达的关键^[8-9]。NF- κ B 通过调节炎症介质、细胞因子之基因转录的过程,从而使胞质内处于游离状态的 NF- κ B 移位到胞核,与 NF- κ B 位点相结合,启动炎症反应基因转录过程,继而生成更多反应蛋白^[10],来参与炎症免疫反应。p65 在组织中的表达,特别是在细胞核中的表达能够间接的反映了 NF- κ B 的活性^[11],因此 TLR4、NF- κ B p65 是药物治

疗 UC 的重要靶点。

本课题实验结果表明久泻灵颗粒降低了 UC 模型大鼠结肠黏膜中 TLR4、NF- κ B p65 蛋白和基因的表达,且差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),证实了此方药能够通过终止或抑制炎症反应的相关基因转录、蛋白表达,进一步减少炎症因子的释放,以此来减轻炎症反应对结肠黏膜的损伤,同时还能促进结肠黏膜的修复,促进机体的免疫平衡,且随着用药时间的延长,治疗效果越佳。

参 考 文 献

- [1] 李艳萍. 溃疡性结肠炎癌变机制的研究与结直肠息肉危险因素分析 [D]. 北京协和医学院, 2014.
- [2] 肖观景. 中医辨证治疗溃疡性结肠炎的临床分析 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(1): 596-597.
- [3] 魏桂双. 中药治疗溃疡性结肠炎疗效观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(13): 1434-1436.
- [4] 陈贤坤, 王立峰, 赵慧, 等. 强肌健力方对脾肾两虚大鼠细胞因子水平的影响 [J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(3): 282-283.
- [5] 赵海梅, 刘端勇, 汤菲, 等. 四神丸对小鼠溃疡性结肠炎结肠黏膜修复的保护机制研究 [J]. 中成药, 2009, 31(12): 1935-1937.
- [6] Medzhitov R, Preston-Hurlburt, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. Nature, 1997, 388(664): 394-397.
- [7] 陈晓, 王启之. Toll 样受体 4 的信号转导与溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2010, 19(1): 87-89.
- [8] Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF- κ B collaboration and crosstalk in cancer [J]. Cytok Growth, 2010, 21(1): 11-19.
- [9] Caamano J, Hunter CA. NF- κ B family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions [J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15: 414-429.
- [10] 赵烽, 室田诚逸, 森田育男, 等. NF- κ B 与疾病 [J]. 生命科学, 2001, 13(1): 11-13.
- [11] Rogler G, Brand K, Vogt D, et al. Nuclear factor κ B is activated in macrophage and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa [J]. Gastroenterology. 1998, 115(2): 357-369.

[收稿日期] 2015-07-22