

# 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植 MSCs 向溃疡性结肠炎大鼠结肠迁移分化的影响

朱磊<sup>1,2</sup>, 沈洪<sup>1\*</sup>, 刘丽<sup>1</sup>, 顾培青<sup>1</sup>, 王玖<sup>2</sup>, 蒋寅<sup>2</sup>, 朱长乐<sup>1</sup>, 司海鹏<sup>1</sup>, 朱莹莹<sup>1</sup>

(1. 南京中医药大学附属医院(江苏省中医院), 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 南京 210029)

**[摘要]** 目的:观察健脾补肾清肠化湿方对静脉移植的大鼠骨髓间充质干细胞(MSCs)向溃疡性结肠炎模型大鼠结肠迁移归巢的影响。方法:体外分离培养SD大鼠MSCs,传至第3代,制备细胞悬液,加入 $0.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 健脾补肾清肠化湿方共培养,并以4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)荧光标记备用。大鼠分为空白组,模型组, MSCs组, 干预 MSCs组和联合组。2,4,6三硝基苯磺酸(TNBS)法建立溃疡性结肠炎大鼠模型,空白组、模型组大鼠尾静脉分别 *iv* 1 mL生理盐水, MSCs组大鼠, *iv* 1 mL MSCs( $1\times 10^6$ 个), 干预 MSCs和联合组大鼠分别尾静脉 *iv* 体外中药干预的 MSCs( $1\times 10^6$ 个), 联合组再予健脾补肾清肠化湿方  $13.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , *ig* 10 d。第5,10天每组各处死5只大鼠,结肠标本进行大体形态和组织学评估,共聚焦显微镜观察各组 DAPI 标记 MSCs 在结肠内迁移情况,免疫组化检测肠干细胞标记物神经细胞 RNA 结合蛋白(Musashi-1)的表达。结果:与正常组比较,模型组大鼠结肠可见广泛充血水肿,伴糜烂,肉眼可见溃疡形成,提示造模成功。除模型组和正常组外,各移植组结肠组织均能检测到 DAPI 标记的 MSCs,且数量随时间的延长而逐渐增加;各治疗组均能改善大鼠结肠组织大体形态和组织病理,且第10天联合组优于 MSCs组( $P<0.05$ );各移植组能提高 Musashi-1 的表达,第10天联合组和干预 MSCs组优于 MSCs组( $P<0.05$ )。结论:健脾补肾清肠化湿方能促进 MSCs 向结肠溃疡部位的迁移和分化,并能修复受损的结肠黏膜。

**[关键词]** 溃疡性结肠炎; 健脾补肾; 清肠化湿; 骨髓间充质干细胞; 移植; 迁移

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)21-0088-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015210088

**Effects of Jianpi Bushen Qingchang Huashi Decoction on Migration and Differentiation of MSCs in Ulcerative Colitis Rat** ZHU Lei<sup>1,2</sup>, SHEN Hong<sup>1\*</sup>, LIU Li<sup>1</sup>, GU Pei-qing<sup>1</sup>, WANG Jiu<sup>2</sup>, JIANG Yin<sup>2</sup>, ZHU Chang-le<sup>1</sup>, SI Hai-peng<sup>1</sup>, ZHU Xuan-xuan<sup>1</sup> (1. *Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (TCM) (Jiangsu Provincial Hospital of TCM), Nanjing 210029, China*; 2. *Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To observe whether Jianpi Bushen Qingchang Huashi decoction (JBQHD) can promote the migration of mesenchymal stem cells (MSCs) intravenously transplanted in rat's bone to the colon of ulcerative colitis (UC) rat model. **Method:** MSCs were isolated and cultured *in vitro*, then spread to the third generation to prepare cell suspension, and  $0.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  JBQHD was added into it for co-culture. Fluorescent pre-labeling by 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) was carried out *in vitro*. The rats were divided into blank group, model group, MSCs group, intervened MSCs group and combined group. UC rats models were established by TNBS method. The rats of blank group and model group received intravenous injection with 1 mL normal saline respectively through tail veins. The rats of MSCs group received intravenous injection with 1 mL MSCs through tail veins ( $1\times 10^6$  CFU). The rats of intervened MSCs group and combined group received intravenous injection with

**[收稿日期]** 20150127(013)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81403344, 81373606); 国家中医药行业科研专项项目(201407001); 国家中医药管理局项目(JDZX2012079); 江苏省临床医学科技专项项目(BL2014100); 江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD); 国家中医临床研究中心(脾胃)

**[第一作者]** 朱磊, 主治医师, 从事消化系统疾病的中西医结合治疗及机制研究, Tel:15605169582, E-mail: zhulei510@sina.com

**[通讯作者]** \* 沈洪, 博士, 教授, 从事消化系统疾病的中西医结合治疗及机制研究, E-mail: shenhong999@163.com

MSCs that had been intervened *in vitro* with the decoction ( $1 \times 10^6$  CFU), and the combined group also received  $13.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  JBQHD by *ig* for 10 days. Five rats were killed respectively in each group on Day 5 and Day 10. Gross morphological and histological evaluation was taken for the colon specimens, and confocal microscope was used to observe the migration of MSCs labeled by DAPI in the colon tissues; immunohistochemical staining was conducted to detect the expression of Musashi-1 (a marker of intestinal stem cells). **Result:** Compared with the normal group, the rats in model group had extensive hyperemia and edema in colon tissues, accompanied by erosion and visible ulceration, indicating successful modeling. Except model group and normal group, MSCs labeled by DAPI can be detected in colon tissues in all other groups, and the quantity increased gradually with time. The all treatment groups could improve gross morphology and histopathology in colon tissues of rats, and the result in combined group was superior to that in MSCs group ( $P < 0.05$ ) on Day 10, and various transplant groups could increase the expression of Musashi-1, and the result in combined group and intervened MSCs group was superior to that in MSCs group ( $P < 0.05$ ) on Day 10. **Conclusion:** JBQHD could not only promote the migration and differentiation of MSCs to the colon ulcers, but also repair the damaged colon mucosa.

**[Key words]** ulcerative colitis; Jianpi Bushen; Qingchang Huashi; mesenchymal stem cells; transplant; migrate

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 属于炎症性肠病范畴, 近年来发病率逐年上升。主要累及直肠和结肠黏膜, 慢性迁延、反复发作, 影响患者的生活质量, 并易发生癌变。目前西医治疗包括抗炎、糖皮质激素、免疫抑制剂及生物制剂等, 但有时疗效不理想, 病情易反复。近年来干细胞再生、免疫调节等方面的研究逐渐受到关注, 骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 定向迁移分化成特定的功能细胞从而治疗溃疡性结肠炎已成为治疗的新手段。MSCs 是一种具有多向分化潜能的细胞, 有报道称将骨髓干细胞移植入器官损伤的动物体内, 可见外源的细胞定植在损伤的器官内, 并参与损伤器官的修复。He X W 等<sup>[1]</sup> 证明了移植骨髓来源的间充质干细胞可用于治疗小鼠实验性结肠炎, Hayashi 等证实了 MSCs 能促进溃疡性结肠炎的黏膜修复从而起到治疗作用, 这与其免疫抑制特性有关<sup>[2-3]</sup>。

健脾补肾清肠化湿方 (JBQHD) 为临床治疗治疗溃疡性结肠炎, 特别是难治性溃疡性结肠炎的有效方剂, 本实验拟观察健脾补肾、清肠化湿方对静脉移植 MSCs 大鼠结肠迁移分化的影响, 为进一步研究该方治疗溃疡性结肠炎提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性清洁型 SD 大鼠, 体重 ( $200 \pm 20$ ) g, 6~7 周鼠龄, 购自扬州大学比较医学中心, 合格证号 SCXK(苏) 2012-0004。

**1.2 药物** 健脾补肾清肠化湿方 (JBQHD, 生黄芪、炒白术、补骨脂、益智仁、黄芩、黄连), 批号分别

为 140401, 140401, 140402, 140301, 140402, 140302, 140402, 140415, 140301)。按成人 10 倍用量, 称取上述健脾补肾清肠化湿方, 按总质量的 10 倍体积, 加水共煎煮 2 次, 合并 2 次药液, 于旋转蒸发仪中蒸发, 并减压浓缩至所需的体积, 质量浓度为生药量  $13.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 放入广口瓶中常温保存。

**1.3 试剂** 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS, Sigma 公司, 批号 080M5000) 5% 水溶液; 兔抗大鼠神经干细胞 RNA 结合蛋白 (Musashi-1) 抗体 (Abcam 公司, 批号 GR106700-9), 4, 6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI, 碧云天公司, 批号 C1005), M199 培养液 (Gibco 公司, 批号 11150-059)。

**1.4 仪器** 低温超速离心机 (德国 Eppendorf 公司), ZFMQ050PE 型超纯水器 (美国 Millipore 公司), A5002 型酶联免疫检测仪 (瑞士 Tecan 公司), 垂直电泳仪 (美国 GE 公司), 硝酸纤维素膜 (美国 Bio-Rad 公司), ECL 发光剂 (美国 GE 公司), GS-800 型吸光度扫描仪 (美国 Bio-Rad 公司), Cymentre 2000 型柯达活体成像仪 (美国 Kodak 公司)。

## 2 方法

**2.1 MSCs 体外中药干预及 DAPI 标记** 贴壁筛选法分离提取 MSCs, 培养至细胞繁殖逐渐连成片长满瓶底 50%~60% 密度, 根据前期体外实验结果, 加入健脾补肾清肠化湿方  $0.78 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  共培养 24 h, 再加入 DAPI 至终质量浓度为  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  室温下孵育 5 min, 吸除染色液并用 PBS 洗涤 3 次, 加入 0.125% 胰酶消化制成单细胞悬液备用。

**2.2 动物模型复制** 参照 Morris<sup>[4]</sup> 等方法, 采用 TNBS 灌肠法制作 UC 大鼠模型。造模前大鼠禁食 24 h, 制备造模液 (100 mg·kg<sup>-1</sup> TNBS + 50% 乙醇 0.25 mL), 造模大鼠予以 10% 水合氯醛 (3 mL·kg<sup>-1</sup>) ip 麻醉, 用大鼠灌胃针管由肛门轻柔插入约 8 cm, 缓慢推注造模液, 诱导 UC 形成; 造模后大鼠仰卧归笼, 自然苏醒, 并常规饲养。

**2.3 动物分组给药** 大鼠随机分为 5 组, 空白组、模型组、MSCs 组、干预 MSCs 组和联合组。造模成功后, 空白组和模型组大鼠各从尾静脉回输生理盐水 1 mL, MSCs 组大鼠经尾静脉注入 1 mL 细胞悬液 (细胞数目为 1 × 10<sup>6</sup>/只, DAPI 标记的无药物干预的第 3 代 MSCs), 干预 MSCs 组和联合组分别经尾静脉注入 1 mL 细胞悬液 (细胞数目为 1 × 10<sup>6</sup>/只, DAPI 标记的药物干预的第 3 代 MSCs), 此外, 联合组另给予健脾补肾清肠化湿方 13.6 g·kg<sup>-1</sup> ig 给药, 连续 10 d。

#### 2.4 指标检测

**2.4.1 结肠大体形态和组织病理学评估** 移植治疗第 5, 10 天, 给药 24 h 后, 各组分别脱颈椎处死 5 只大鼠, 开腹取结肠, 自肛门向上取结肠 8 cm, 沿肠系膜纵轴剪开肠腔, 反复生理盐水冲洗干净后铺平, 观察大体形态。另取病变最严重处结肠, 放置于 4% 甲醛中固定, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光镜下观察结肠组织病理学变化。

分别参照 Dielema<sup>[5]</sup> 和 Ekstrom<sup>[6]</sup> 的标准进行组织病理学评分和结肠大体形态评分。大体形态按黏膜损伤程度 1~5 分记分。

**2.4.2 共聚焦显微镜观察 DAPI 标记 MSCs 表达** 结肠标本由冰冻切片机制成 8 μm 的冰冻切片, 冰冻切片风干, 采用共聚焦显微镜观察 DAPI 标记细胞表达情况, 随机选取 10 个非重叠高倍 (×200) 视野并拍照, 观察。

**2.4.3 检测肠干细胞标记物 Musashi-1 的表达** 结肠组织石蜡切片脱蜡水化, 免疫组化法 SP 法检测肠干细胞标记物 Musashi-1 的表达, 严格按试剂盒说明操作。细胞质呈棕黄色阳性判断为 Musashi-1 阳性。采用半定量积分法计算染色积分, 每张切片随机选取 5 个高倍视野 (×200), 计算阳性细胞百分比。

**2.5 统计学处理** 数据处理采用 SPSS 19.0 统计软件。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较以单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 MSCs 扩增培养** MSCs 接种后, 原代培养的

MSCs 在悬液中呈圆形, 24 h 后即可见细胞开始贴壁, 细胞呈现出成纤维状或短梭形。2~3 d 后出现散在细胞集落, 贴壁生长, 增殖较慢, 细胞相互紧密贴附生长, 逐渐融合成片, 沿胞体长轴有序排列, 呈旋涡状。经传代纯化, 第 3 代 (P3) MSCs 形态单一均匀, 融合后呈典型的极性, 漩涡状生长 (图 1)。

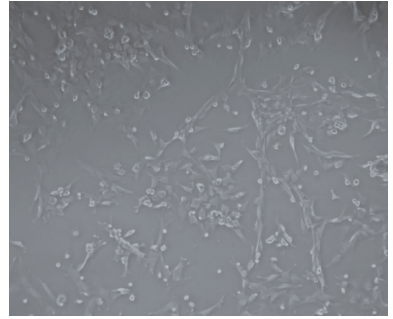


图 1 第 3 代 MSCs 形态

Fig.1 Form of 3rd generation MSCs

**3.2 各组结肠大体形态和组织病理学情况** 模型组大鼠结肠可见广泛充血水肿, 伴糜烂, 肉眼可见溃疡形成。治疗第 5 天, 各移植组结肠病变较模型组充血水肿减轻, 溃疡数目及范围减少; 治疗第 10 天, 各移植组皱襞较正常, 局部黏膜充血水肿, 肠道无粘连, 恢复正常或有不同程度的充血、水肿及糜烂。随着时间延长, 黏膜大体形态较前好转, 各移植组大体形态评分与模型组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

光镜下观察结肠组织切片, 模型组大鼠可见黏膜、黏膜下层有溃疡形成, 并伴有大量中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润, 可见腺体破坏、结构紊乱和隐窝脓肿。第 5 天, 各移植组较模型组好转, MSCs 移植组较模型组结肠病理组织学评分差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。治疗第 10 天, 各移植组表现为慢性炎症, 坏死的黏膜上皮逐渐修复, 溃疡愈合, 无隐窝脓肿。与模型组相比, 各移植组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 联合组与 MSCs 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1, 图 2。

**3.3 移植细胞在大鼠结肠内的分布** 通过激光共聚焦显微镜下观察, 第 5 天各组少量发蓝色荧光的细胞; 移植后第 10 天发蓝色荧光的细胞较第 5 天增多, 而空白组和模型组无 DAPI 荧光表达。提示健脾补肾清肠化湿方可促进 DAPI 标记的 MSCs 向受损肠组织迁移, 且数量随时间的延长而逐渐增加, 主要分布于黏膜层及黏膜下层。

**3.4 各组大鼠结肠黏膜肠干细胞标记物 Musashi-1 的表达** 正常组可见少见 Musashi-1 阳性表达,

表 1 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植 MSCs 大鼠结肠大体形态的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Influence of Jianpi Bushen Qingchang Huashi decoction (JBQHD) on morphology of MSCs intravenously transplanted rat colon ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	处理	结肠第 5 天评分/分		结肠第 10 天评分/分	
		大体形态	病理	大体形态	病理
空白	NS 1 mL <i>iv</i>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 <sup>1)</sup>	0.4 ± 0.6	0.2 ± 0.5 <sup>1)</sup>
模型	NS 1 mL <i>iv</i>	3.8 ± 0.5	7.8 ± 0.8	2.8 ± 0.8	3.8 ± 0.5
MSCs	MSCs 1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i>	2.6 ± 0.6 <sup>1)</sup>	6.0 ± 1.0 <sup>1)</sup>	2.0 ± 0.7 <sup>1)</sup>	2.2 ± 0.5 <sup>1)</sup>
干预 MSCs	干预 MSCs <sup>3)</sup> (1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i> )	2.4 ± 0.6 <sup>1)</sup>	4.4 ± 0.9 <sup>1)</sup>	1.8 ± 0.5 <sup>1)</sup>	1.8 ± 0.8 <sup>1)</sup>
联合	干预 MSCs <sup>3)</sup> (1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i> ) + 健脾补肾清肠化湿方 13.6 g·kg <sup>-1</sup> , <i>ig</i>	2.2 ± 0.5 <sup>1)</sup>	3.2 ± 0.8 <sup>1,2)</sup>	1.4 ± 0.5 <sup>1)</sup>	0.8 ± 0.5 <sup>1,2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与 MSCs 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup> 0.78 mg·L<sup>-1</sup>健脾补肾清肠化湿方干预 MSCs(表 2 同)。

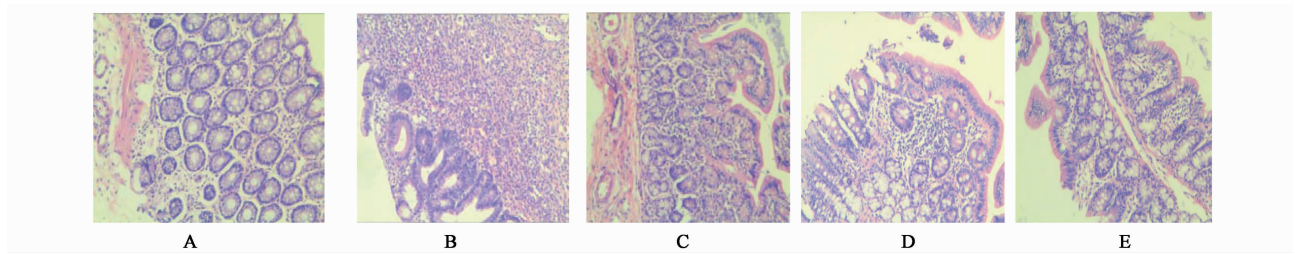


图 2 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植 MSCs 第 10 天各组大鼠结肠组织病理形态的影响 (HE, ×100)  
A. 空白组; B. 模型组; C. MSCs 组; MSCs (1 × 10<sup>6</sup>/mL, *iv*); D. 干预 MSCs 组; 0.78 mg·L<sup>-1</sup>健脾补肾清肠化湿方干预 MSCs (1 × 10<sup>6</sup>/mL, *iv*); E. 联合组; 干预 MSCs (1 × 10<sup>6</sup>/mL, *iv*) + 健脾补肾清肠化湿方 13.6 g·kg<sup>-1</sup>, *ig* (图 3 同)

图 2 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植 MSCs 第 10 天各组大鼠结肠组织病理形态的影响 (HE, ×100)

Fig. 2 Influence of Jianpi Bushen Qingchang Huashi decoction (JBQHD) on histopathology of MSCs intravenously transplanted rat colon (HE, ×100)

模型组 Musashi-1 阳性表达量较正常组明显减少, 各移植组可见 Musashi-1 阳性表达, 组织黏膜和黏膜下层的血管内皮细胞中为主。随着给药时间延长, Musashi-1 的表达增加。第 5 天联合组较模型

组相比有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 第 10 天, 移植各组与模型组比较均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 联合组、干预 MSCs 组优于 MSCs 组 ( $P < 0.05$ )。见图 3, 表 2。

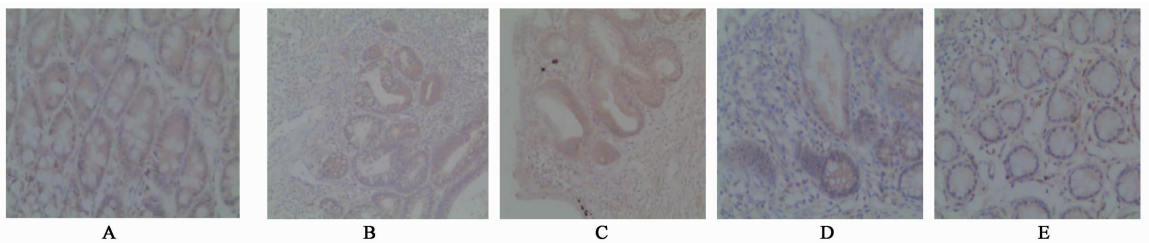


图 3 健脾补肾清肠化湿方对大鼠结肠黏膜 Musashi-1 表达的影响 (免疫组化, ×100)

Fig. 3 Influence of JBQHD on Musashi-1 expression of colonic mucosa (immunohistochemical, ×100)

表 2 健脾补肾清肠化湿方对大鼠结肠黏膜 Musashi-1 染色积分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Influence of JBQHD on colonic mucosa staining integral value of Musashi-1 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	处理	结肠黏膜 Musashi-1 染色积分/分	
		第 5 天	第 10 天
空白	NS 1 mL, <i>iv</i>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
模型	NS 1 mL, <i>iv</i>	3.8 ± 0.5	7.8 ± 0.8
MSCs	MSCs 1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i>	0.8 ± 0.8	1.8 ± 0.5 <sup>1)</sup>
干预 MSCs	干预 MSCs <sup>3)</sup> (1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i> )	0.2 ± 0.5	0.4 ± 0.6 <sup>1,2)</sup>
联合	干预 MSCs <sup>3)</sup> (1 × 10 <sup>6</sup> /mL, <i>iv</i> ) + 健脾补肾清肠化湿方 13.6 g·kg <sup>-1</sup> , <i>ig</i>	0.6 ± 0.6 <sup>1)</sup>	0.8 ± 0.5 <sup>1,2)</sup>

#### 4 讨论

溃疡性结肠炎是一种病因尚未完全明确的肠道慢性炎症性疾病,修复肠道黏膜损伤的最佳干细胞来源为肠道上皮干细胞。正常情况下,肠干细胞的增殖分化,肠上皮细胞每 3~5 d 更新一次<sup>[7]</sup>,促进组织修复。但肠干细胞来源数量有限,且在体外不能长期培养扩增,所以目前多进行骨髓干细胞移植。

研究表明 MSCs 具有向受损组织迁移归巢的特点,溃疡性结肠炎的受损肠道对 MSCs 有特异性趋化作用,在受损肠组织的招募下,可以使 MSCs 向隐窝基底(即肠道干细胞所在部位)迁移和定植,迁移至受损结肠部位的 MSCs 显著高于正常结肠<sup>[8]</sup>。Musashi-1 是肠道干细胞的选择性标记物。结肠黏膜干细胞减少可能是导致结肠黏膜损伤迁移难愈的重要原因,如何促进 MSCs 向受损肠道迁移以补充足够的结肠黏膜干细胞就成为治疗该病的关键。

目前国内外的对 MSCs 的研究多是单纯的 MSCs 作用于 UC。Brittan 等<sup>[9]</sup>发现,结肠损伤小鼠给予 MSCs 移植后,小鼠的体质量和生存率明显升高,溃疡范围明显缩小。中医理论认为,肾主骨,生髓,脾主运化,为气血生化之源;湿热蕴结肠道,气血损伤,亦会伤脾及肾,泻痢难愈。临床上,健脾补肾清肠化湿方对用于难治性溃疡性结肠炎,病情迁移难愈。结合文献报道和前期研究,MSCs 和中药都具有抗炎和免疫调节作用,因此本实验意在观察联合治疗能否减轻促进受损的结肠黏膜修复。

实验采用 TNBS 复合法诱导 UC 模型,与正常组比较,模型组大鼠结肠可见广泛充血水肿,伴糜烂,肉眼可见溃疡形成,提示造模成功。经移植及灌胃治疗后,除模型组和正常组外,各移植组结肠组织均能检测到 DAPI 标记的 MSCs,且数量随时间的延长而逐渐增加;各治疗组均能改善大鼠结肠组织大体形态和组织病理,且第 10 天联合组优于 MSCs 组( $P < 0.05$ ),且能提高 Musashi-1 的表达,第 10 天联合组和干预 MSCs 组优于 MSCs 组( $P < 0.05$ )。以上结果表明,健脾补肾、清肠化湿方可以促进移

植的 MSCs 向受损肠组织迁移,并分化成肠干细胞,这可能是修复结肠黏膜的机制之一。移植后的 MSCs 是否分化为肠上皮细胞,参与修复肠黏膜屏障,调节免疫炎症,以及健脾补肾清肠化湿方如何促进 MSCs 迁移定位,尚需进一步深入研究。

#### [参考文献]

- [1] He X W, He X S, Lian L, et al. Systemic infusion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of experimental colitis in mice [J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(12):3136-3144.
- [2] De Miguel M P, Fuentes-Julián S, Blázquez-Martínez A, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications [J]. Curr Mol Med, 2012, 12(5):574-591.
- [3] Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, et al. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2008, 326(2):523-531.
- [4] Morris G P, Beck P L, Erridge M S. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. Gastroenterology, 1989(96):795-803.
- [5] Dieleman L A, Palmén M J, Akol H, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines [J]. Clin Exp Immunol, 1998, 114(3):385-391.
- [6] Ekstrom G M. Oxazolone-induced colitis in rats: effects of budesonide, cyclosporin A, and 5-aminosalicylic acid. [J]. Scand J Gastroenterol, 1998, 33(2):174-179.
- [7] Singh U P, Singh N P, Singh B, et al. Stem cells as potential therapeutic targets for inflammatory bowel disease [M]. Front Biosci (Schol Ed), 2010:993-1008.
- [8] Kayahara T, Sawada M, Takashi S, et al. Candidate marker for stem and early progenitor cells, and Hes 1, are expressed in crypt base columnar cells of mouse small intestines [J]. FEBS Lett, 2003, 535(1/3):131-135.
- [9] Kudo K, Liu Y, Takahashi K, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to prevent radiation-induced intestinal injury in mice [J]. Radiat Res, 2010, 51(1):73-79.

[责任编辑 聂淑琴]