

四君子汤对 UC 模型大鼠的治疗作用 及其对紧密连接蛋白 Occludin 表达的影响

林汉杰, 张金卫, 卢月, 危建安, 孙静, 黎莉, 韩凌*
(广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**观察四君子汤对 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的溃疡性结肠炎大鼠治疗作用及其对黏膜上皮细胞紧密连接蛋白闭合蛋白(Occludin)表达的影响。**方法:**SD 大鼠实验分为正常组,模型组,阳性药组(柳氮磺胺吡啶肠溶片,SASP, $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),四君子汤高、中、低剂量给药组(生药 5.6, 2.8, $1.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 8 只。除正常组外,其余各组采用 TNBS 灌肠法制作溃疡性结肠炎模型,造模 24 h 后各组分别按设计剂量连续 ig 给药 10 d。观察大鼠饮食、精神状态、疾病活动指数、大便次数与质量等情况,末次给药 24 h 后,处死动物取结肠,肉眼观察结肠黏膜的病变并进行结肠大体形态损伤评分,取病变部位进行 HE 染色,光镜下评价黏膜病理损伤指数,免疫组织化学法检测大鼠结肠 Occludin 蛋白的表达。**结果:**模型组大鼠 DAI 评分、结肠形态与组织学损伤评分等均比正常组高,Occludin 蛋白表达较正常组低($P < 0.05$),四君子汤与 SASP 治疗能不同程度减轻 TNBS 诱导的 UC 模型对黏膜的破坏,使紧密连接蛋白 Occludin 表达升高,抑制结肠通透性的增加,保护结肠黏膜屏障功能($P < 0.05$)。**结论:**四君子汤能有效增加 Occludin 蛋白表达,促进实验性 UC 大鼠结肠黏膜屏障功能修复,这可能是其治疗结肠炎的机制之一。

[关键词] 闭合蛋白; 紧密连接; 溃疡性结肠炎; 黏膜屏障; 四君子汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0112-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130112

Efficacy of Sijunzi Tang in TNBS-induced UC Rat Models and Effect on Occludin

LIN Han-jie, ZHANG Jin-wei, LU Yue, WEI Jian-an, SUN Jing, LI Li, HAN Ling*

(The Second Affiliated Clinical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the efficacy of Sijunzi decoction in treatment of 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) -induced ulcerative colitis and investigate its effect on expression of tight junction protein Occludin in mucosal epithelial cells. **Method:** SD rats were divided into normal group, model group (TNBS-induced colitis), Sijunzi Tang (SJZT) high dose group, middle dose group and low dose group (crude drug $5.6, 2.8, 1.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and Salazosulfapyridine treatment group (SASP, $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), $n = 8$ in each group ($P < 0.05$). Experimental ulcerative colitis models were induced by rectal instillation of TNBS in all groups except normal group. 24 h after modeling, drugs were given intragastrically continuously for ten days according to their respective doses in each group. Their diet conditions, mental state, disease activity index (DAI) scores, stool frequency and body weight were observed. 24 h after the last administration, the rats were sacrificed and their colon was taken. The pathological changes of colonic mucosa were visually observed and their scores of colon macroscopic damage index (CMDI) were recorded. Lesion areas were taken for HE staining, and colon tissues damage index (TDI) was evaluated under light microscopy, expression of Occludin proteins in colon of the rats was detected by immunohistochemical method. **Result:** DAI scores, CMDI scores and TDI scores in model

[收稿日期] 20150819(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202635)

[第一作者] 林汉杰, 硕士, 从事分子生物学研究, Tel:020-39318672, E-mail: Vlinhanjie5498@163.com

[通讯作者] * 韩凌, 博士, 副研究员, 从事分子生物学与系统生物学研究, Tel:020-39318672, E-mail: asi33@163.com

group were higher than those in control group, Occludin protein expression was lower than in control group. However, SJZT and SASP treatment could reduce damage to mucosa of TNBS-induced UC models, increase the expression of tight junction proteins Occludin, inhibit the increase of colonic permeability, and protect the colonic mucosal barrier function ($P < 0.05$). **Conclusion:** SJZT can increase Occludin protein expression and promote the recovery of colonic mucosal barrier function in UC rats, which may be one of its mechanism for treatment of colitis.

[**Key words**] Occludin; tight junction; ulcerative colitis; mucosal barrier; Sijunzi Tang

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD)^[1] 的一种发病类型, 临床主要表现为腹痛、腹泻、血便和吸收障碍等症状, 目前该病因尚不明确, 仍无有效的治愈方法。中医将 UC 归为“痢疾”、“滞下”、“肠澀”等范畴, 认为发病机制是患者的脾胃受损, 从而导致湿困于脾土, 最终导致肠道功能失调^[2-3]。四君子汤作为益气健脾的代表方剂^[4], 研究表明, 具有促进脾脏和胸腺组织 T 淋巴细胞修复、抑制肿瘤细胞增殖、增加胃肠黏膜表面细胞粘液糖蛋白表达等免疫调节功能^[5]。

有报道显示 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 可诱导 UC 大鼠模型, 证候基础为寒热错杂, 以寒为主, 适合健脾温中、化湿止泻之药治疗^[6]。鉴于此, 本研究采用 TNBS 诱导的 SD 大鼠 UC 模型, 给予四君子汤灌胃治疗, 观察四君子汤对 UC 大鼠治疗效果, 及其对大鼠结肠黏膜上皮细胞紧密连接蛋白闭合蛋白 (Occludin) 表达水平的影响, 为四君子汤治疗 UC 的免疫调节机制提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康雌性 SD 大鼠, 体重 (220 ± 20) g, 购自于广东省医学实验动物中心, 合格证号 SCXK (粤)2014-0001, SPF 级环境饲养。

1.2 药物及试剂 TNBS (美国 Sigma 公司, 批号 109K5008), 无水乙醇 (天津市百世化工有限公司, 批号 20140602), 水合氯醛 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20130314), 均经过 0.22 μm 微孔滤膜过滤。隐血试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20140326), Occludin 兔多克隆抗体 (英国 Abcam 公司)。四君子汤 (党参、白术、茯苓、甘草) 购自于广东省中医院药房, 柳氮磺胺吡啶肠溶片 (山西同达药业有限公司, 批号 140701)。参照张挪威等^[7] 方法稍加改进提取四君子汤, 称取总饮片 107.8 g (党参-白术-茯苓-炙甘草 9:9:9:6), 加 7 倍量超纯水, 浸泡 30 min。回流提取法煮沸, 2 h 后纱布过滤。再加 5 倍量超纯水, 无需浸泡, 重复上述操作 2 次。合并浓缩

滤液, 按照大鼠与人体表面积比换算, 设为中间给药剂量, 将四君子汤浓缩液配制成低、中、高质量浓度 (生药 0.14, 0.28, 0.56 g·mL⁻¹); 柳氮磺胺吡啶肠溶片用超纯水配成质量浓度为 0.04 g·mL⁻¹。

1.3 仪器 PB602-N 型电子天平 (瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司), MilliQ Advantage 型超纯水仪 (德国 Millipore 公司), SHT 型电热套 (上海鹰迪仪器设备有限公司), R-210 型旋转蒸发仪 (瑞士 Buchi 公司), Leica DM 2500 型光学显微镜 (德国 Leica Microsystems 公司)。

2 方法

2.1 造模方法 参照 Morris 等^[8] 的方法制作 TNBS 诱导的 UC 大鼠模型。造模前禁食不禁水 24 h, 用 10% 水合氯醛 0.5 mL ip 麻醉; 用内径 1.5 mm 无菌硅胶管轻轻从大鼠肛门旋转插入, 推入 TNBS 溶液 (100 mg·kg⁻¹ TNBS + 50% 乙醇 0.25 mL), 轻轻拔出硅胶管, 捏紧肛门提尾倒立 3 ~ 5 min 后, 放回笼中自然苏醒, 自由饮食。正常组以无菌生理盐水灌肠, 其余条件均与 TNBS 组相同。

2.2 动物分组与给药 适应性饲养 1 周后, 采用随机区组分组法将 48 只 SD 大鼠分为 6 组, 分别为正常组、模型组、四君子汤高、中、低剂量组、柳氮磺胺吡啶 (SASP) 组。造模 24 h 后正常组及模型组 ig 给予无菌水, 四君子汤 (SJZT) 低、中、高治疗组与 SASP 治疗组剂量为生药 1.4, 2.8, 5.6 g·kg⁻¹, SASP 组 0.4 g·kg⁻¹。每日 1 次, 每次 ig 量为 10 mL·kg⁻¹, 连续 10 d。观察大鼠精神状态、饮食、体重、大便性状和隐血, 12 h 内粪便数次与总质量等情况。

2.3 指标检测、取材与标本留取 测量大鼠每日体重和疾病活动指数 (DAI) 评分, DAI 评分标准参考文献^[9], 见表 1。大鼠结肠长度、质量与结肠黏膜损伤评分检测, 参考文献^[10] 进行结肠大体形态损伤评分 (CMDI)。结肠黏膜无损伤, 记 0 分; 局部结肠黏膜充血水肿但无糜烂、溃疡形成, 记 1 分; 有线性溃疡形成但无显著炎症发生, 记 2 分; 在 1 个部位上有线性溃疡形成并且有炎症, 记 3 分; 在 2 个或以

上的部位有溃疡形成或炎症,记 4 分;沿结肠长轴有 2 个或以上部位有溃疡形成和炎症,长度超过 1 cm,记 5 分;溃疡形成超过 2 cm,记 6~8 分。各组末次 *ig* 给药后禁食不禁水 24 h,用 10% 水合氯醛 ($3.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 麻醉大鼠后,脱颈椎法处死大鼠,截取肛门至盲肠部位结肠(约 8 cm),沿肠系膜纵轴剪开,用预冷磷酸盐缓冲液冲洗干净,观察结肠大体损伤情况,称质量并测量长度。取病变部位 0.5~1 cm 于 4% 多聚甲醛固定,以备制作病理切片与免疫组化法检测紧密连接蛋白 Occludin 表达,剩余损伤部分于 -80°C 冻存。正常组取对应位置,其余处理条件一致。

表 1 大鼠体重下降、粪便性状及隐血情况 DAI 评分

Table 1 Weight loss, excrement characters and occult blood of DAI of rats

记分	体重下降 /%	粪便性状	隐血情况
0	无	硬、干、不黏、不散	阴性(-)
1	1~5	软、黏	弱阳性(-+),30 s 内显浅蓝色
2	5~10	散	阳性(+),立即显蓝绿色
3	10~15	半稀便	强阳性(++),立即显深蓝色
4	>15	稀便	肉眼可见便血

注:DAI=(体重下降分数+粪便性状分数+隐血分数)/3,体重下降 5% 记分为 1 分,以此类推,以造模前 1 d 大鼠体重为基础体重。

2.4 病理切片制作及组织病理学评分 将在 4% 的多聚甲醛固定 48 h 的结肠组织脱水石蜡包埋,3 μm 连续切片做病理切片,HE 染色,光镜下观察溃疡情况。参照文献[11],根据结肠溃疡深度、范围、炎症程度进行结肠组织学损伤评分(tissues damage index,TDI)。结肠没有损伤,记 0 分;较弱的黏膜和/或黏膜下炎症浸润和充血水肿,黏膜轻度糜烂,伴有毛细血管增生,而黏膜肌层保持完整,记 1 分;在 1 分的基础上,范围达标本的 50% 以上,记 2 分;显著地炎症浸润和充血水肿,有溃疡形成并延伸到黏膜下层和黏膜肌层,较少的炎症细胞浸润黏膜固有层但无肌层坏死,记 3 分;在 3 分的基础上,范围达标本的 50% 及以上,记 4 分;广泛的溃疡形成,伴有凝固性坏死,有数量众多的中性粒细胞浸润,细胞坏死达黏膜固有肌层,记 5 分;在 5 分的基础上,范围达标本的 50% 及以上,记 6 分。

2.5 Occludin 免疫组织化学染色 采用 EnVision 法,石蜡切片常规脱蜡至水, H_2O_2 -甲醇液孵育,胃蛋白酶 37°C ,30 min 抗原修复,5% BSA 封闭 30 min,兔抗 Occludin 抗体(1:100) 4°C 过夜后,滴加适当二

抗工作液 37°C 孵育 30 min,DAB 显色,镜下控制显色时间,苏木素复染,常规脱水透明,树胶封片,光镜下观察 Occludin 蛋白表达情况。

2.6 统计学分析 采用 GraphPad Prism 5.0,Image-Pro Plus 6.0 统计软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据间比较用 One-way ANOVA 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠体重和 DAI 评分的影响 正常组大鼠饮食正常,体重持续增加,大便干,个别微湿,毛发有光泽,好动活跃。TNBS 诱导后,大鼠的饮食量比正常组低,毛发枯黄,精神萎靡,活动减少,体重降低。在诱导后 3~4 d 内,有稀便、便血的情况,DAI 值较高。随后体重渐渐升高,DAI 评分值逐渐减小,但 SJZT 各剂量组与 SASP 治疗组 DAI 评分均较模型组有所恢复。见图 1。

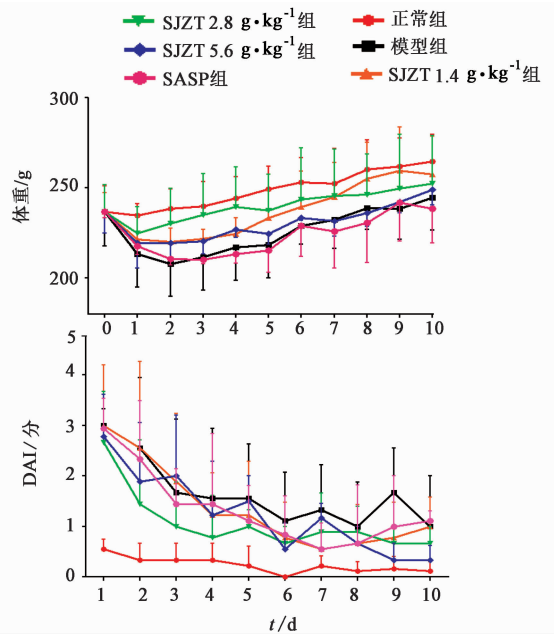


图 1 SJZT 对大鼠体重和 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig.1 Effects of SJZT on body weight and DAI grade in rats($\bar{x} \pm s, n=8$)

3.2 对大鼠 12 h 大便次数与质量的的影响 各组大鼠于第 9 次给药后,观察 12 h 内大便次数,以及大便总质量。正常组大鼠大便干、轻,模型组大便湿、散,大便次数及总质量较正常组明显增加($P < 0.05$)。SJZT 各剂量给药组以及 SASP 组大便干、微湿,干便占比例大,与模型组比较均有所恢复。其中 SJZT 中剂量给药组(大便次数)与 SJZT 低剂量(大便质量)与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 SJZT 对大鼠大便次数和质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effects of SJZT on defecation frequency and weight in rats

($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	大便次数/次	大便质量/g
正常	-	5.75 ± 0.96	0.75 ± 0.17
模型	-	10.80 ± 1.10 ¹⁾	2.40 ± 0.43 ¹⁾
SJZT	1.4	9.67 ± 1.16	1.33 ± 0.06 ²⁾
	2.8	8.50 ± 0.58 ²⁾	2.00 ± 0.37
	5.6	10.00 ± 0.82	2.00 ± 0.33
	0.4	9.75 ± 1.50	2.50 ± 0.36

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3, 4 及图 4 同)。

3.3 对大鼠结肠长度、质量与结肠黏膜损伤评分的影响 TNBS 诱导后大鼠的结肠发生溃疡增厚, 长度缩短, 质量增加。模型组最为严重, 可见肠道结肠长度降低、结肠质量及溃疡程度均增加, 和正常组比较均有显著差异 ($P < 0.05$)。SJZT 各剂量给药组结肠溃疡程度较模型组均减轻, 结肠长度有所恢复, 结肠质量减轻。SJZT 中、高剂量组 CMDI 评分与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 SJZT 对大鼠结肠长度、质量和组织学损伤评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effects of SJZT on length of colon, weight and histological damage score in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	结肠长度/ cm	结肠质量/ g	结肠大体评分/分
正常	-	11.83 ± 0.58	2.18 ± 0.19	0.33 ± 0.58
模型	-	8.67 ± 0.58 ¹⁾	4.30 ± 0.73 ¹⁾	6.33 ± 0.58 ¹⁾
SJZT	1.4	9.83 ± 0.58	3.14 ± 0.67	4.33 ± 0.58
	2.8	11.83 ± 0.58 ²⁾	2.92 ± 0.21 ²⁾	3.33 ± 1.53 ²⁾
	5.6	12.33 ± 0.29 ²⁾	2.92 ± 0.44 ²⁾	2.33 ± 1.16 ²⁾
	0.4	9.00 ± 0.50	2.80 ± 0.47 ²⁾	3.67 ± 1.16

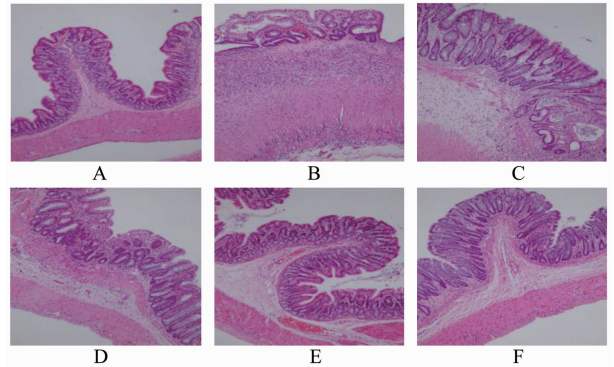
3.4 对大鼠结肠组织学损伤指数的影响 正常组大鼠黏膜上皮细胞排列整齐紧密, 杯状细胞多, 腺体性状规则, 偶尔有少量炎症细胞浸润。模型组大鼠可见黏膜广泛溃疡, 有的溃疡达肌肉层, 有大量炎症细胞浸润, 腺体受破坏。SJZT 各剂量组及 SASP 组较模型组明显好转, 主要表现在炎症细胞浸润减少, 溃疡面积减少且只涉及至黏膜层或黏膜下层, 杯状细胞增多, 腺体恢复, 个别隐窝轻度囊肿, 增生。SJZT 中、高剂量组结肠病理评分明显降低, 与模型组比较具有统计学差异 ($P < 0.05$)。见表 4, 图 2。

3.5 对大鼠结肠组织 Occludin 蛋白表达的影响

表 4 SJZT 对大鼠结肠组织学损伤指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effects of SJZT on colonic histological damage index in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	结肠病理损伤评分/分
正常	-	1.33 ± 0.58
模型	-	5.67 ± 0.58 ¹⁾
SJZT	1.4	3.67 ± 1.16
	2.8	3.00 ± 1.00 ²⁾
	5.6	3.00 ± 1.00 ²⁾
	0.4	4.33 ± 0.76



A. 正常组; B. 模型组; C. SASP 组; D. SJZT 1.4 $g \cdot kg^{-1}$ 组; E. SJZT 2.8 $g \cdot kg^{-1}$ 组; F. SJZT 5.6 $g \cdot kg^{-1}$ 组 (图 3 同)

图 2 SJZT 对大鼠结肠组织学的影响 (HE, $\times 100$)

Fig. 2 Effects of SJZT on colonic histology in rats (HE, $\times 100$)

正常组 Occludin 蛋白连续分布在结肠黏膜上皮细胞的边缘, 主要定位于细胞膜和细胞质, 显棕黄色颗粒状。模型组染色散乱不连续, 染色较浅。SJZT 各剂量给药组和 SASP 阳性药组染色明显恢复, 排列较规则、连续完整, 基本集中在结肠黏膜上皮细胞的位置。与正常组比较, 模型组 Occludin 的表达明显降低 ($P < 0.05$), 与模型组比较, SJZT 中、高剂量组明显升高 ($P < 0.05$)。见图 3, 4。

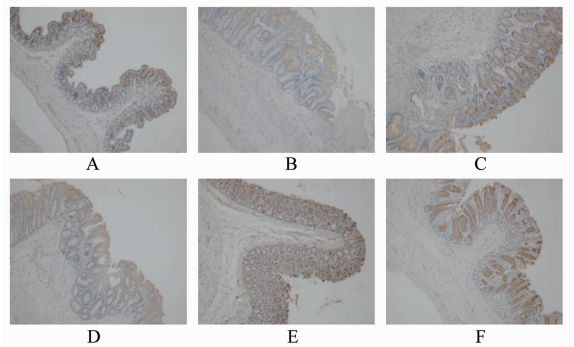
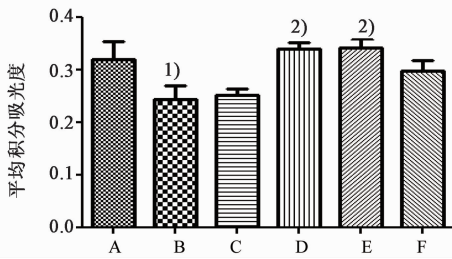


图 3 SJZT 对大鼠结肠组织 Occludin 表达的影响 (免疫组化, $\times 100$)

Fig. 3 Effects of SJZT on Occludin of colonic histology in rats (IHC, $\times 100$)

4 讨论

UC 是一种自身免疫性慢性炎症, 主要发生在



A. 正常组; B. 模型组; C. SJZT 1.4 g·kg⁻¹组; D. SJZT 2.8 g·kg⁻¹组; E. SJZT 5.6 g·kg⁻¹组; F. SASP 组

图 4 SJZT 对大鼠结肠组织 Occludin 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig. 4 Effects of SJZT on Occludin of colonic histology in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

结肠黏膜层,以溃疡糜烂为主,临床症状主要为血性黏液便,并有不同程度的腹痛、里急后重^[12]。目前临床上多采用氨基水杨酸、类固醇激素、免疫抑制剂 3 大类药物联合,兼加手术切除治疗,但疗效并不理想,长期使用也会产生诸多不良反应及副作用,从中医药中探寻有效的治疗方剂具有重要意义。

中医对溃疡性结肠炎的病因认识主要为感受外邪,饮食所伤,情志失调及脾胃虚弱等。按病机解释,主要为脏腑气血阴阳的失调,常表现为脾虚失运、大肠壅滞、肝犯脾土、肾虚不固,其中以脾虚为病机根本,常用温中、调气、化湿、清热之药加减组方治疗^[13]。SJZT 为益气健脾的经典方剂,是治疗胃肠道溃疡的代表方之一,既有党参补中益气、养血生津,又有白术燥湿除热、消胀止泻,茯苓渗湿化痰、健脾去壅,配合白术治疗寒湿证,还有炙甘草气血双补、阴阳并调。在本项目中笔者主要观察了 SJZT 对 TNBS 诱导的实验性 UC 大鼠的治疗作用,发现 SJZT 可对 TNBS 诱导的 UC 大鼠结肠黏膜损伤起保护作用,缓解大鼠腹泻、便血症状,促进黏膜修复。

紧密连接(tight junction, TJ)存在于上皮细胞之间和上皮细胞与内皮细胞之间,具有控制着物质跨膜运输及维持细胞极性的功能^[14]。TJ 复合体结构主要由 3 种超家族蛋白构成, Occludin 和 Claudin 跨膜蛋白家族及周膜蛋白紧密连接蛋白(zonula occludens, ZO) 家族^[15]。据报道^[16], Occludin 广泛表达于细胞基侧膜顶端,与胞浆中其他蛋白(如 ZO 蛋白)相互结合形成紧密连接的基本结构,调控着上皮细胞的跨上皮电阻(TER)和膜转运功能。陈丽敏等人研究发现, TNBS 造模 3 d 后,大鼠结肠黏膜中 Occludin 的表达降低,说明 Occludin 的表达可以反映溃疡的程度^[17]。一些炎症因子调控紧密连接结构与功能,例如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 增加后,

可引起肠黏膜屏障破坏、渗透性异常,导致肠道炎症性疾病的发生发展^[18]。笔者的研究表明, TNBS 诱导 UC 大鼠结肠部位 Occludin 表达较少且散乱。给予 SASP 以及 SJZT 治疗 10 d 后, Occludin 在黏膜上皮细胞位置表达与模型组比较均增加,表明 SJZT 和 SASP 均有促进紧密连接蛋白表达的作用,其中以 SJZT 中、高剂量组效果最为显著,这可能是 SJZT 保护结肠黏膜机械屏障、促进结肠黏膜愈合的作用机制之一。

已有多项研究表明, SJZT 可明显改善受损胃肠道黏膜,促进结肠黏膜修复。SJZT 能通过促进脾虚证大鼠胃黏膜黏液凝胶(MUC5AC)的表达,降低胃黏膜半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)含量及上皮细胞凋亡,改善胃黏膜屏障功能,从而对慢性胃病等胃黏膜疾病的发生与发展起到遏制及治疗作用^[19-20]。亦能通过升高脾虚老龄大鼠肠道黏膜中 CD3, CD8 细胞以及分泌型免疫球蛋白(sIgA)分泌增加,增加肠三叶因子(TFF3)表达,促进肠黏膜中防御性网络状结构更好的发挥黏膜防御能力,维持黏膜的完整性^[21-22]。笔者的研究结果显示, SJZT 能通过促进大鼠受损结肠黏膜紧密连接蛋白 Occludin 表达,发挥着黏膜重建与修复,增强肠黏膜防御能力的作用。正常组结肠黏膜上皮细胞紧密连接蛋白 Occludin 主要在大鼠结肠黏膜上皮细胞膜的顶端显线状分布, TNBS 诱导造模后,阳性染色较正常组明显减弱,呈非连续性分布, SJZT 治疗后可有效缓解 TNBS 对结肠黏膜的损伤。但是,是否还包括对其他紧密连接蛋白家族有调节作用,以及通过作用于哪个信号通路进而调节了紧密连接蛋白的表达,还有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Glocker E, Grimbacher B. Inflammatory bowel disease: is it a primary immunodeficiency [J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(1):41-48.
- [2] 王新月, 王建云. 溃疡性结肠炎中医药治疗的关键问题与优势对策[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(2):263-267.
- [3] 钟鸣, 钟柠泽. 溃疡性结肠炎的中西医治疗进展研究[J]. 中国医药指南, 2013, 11(3):475-476.
- [4] 吕苑. 四君子汤的药理研究和临床应用[J]. 中医研究, 2012, 25(1):76-79.
- [5] 朱禹. 四君子汤药理作用及应用研究[J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(5):132-133.
- [6] 刘丽梅, 张秋海, 柏冬, 等. 连理汤对 TNBS 诱导大

- 鼠溃疡性结肠炎模型结肠及外周血中炎症相关因子影响的拆方研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9):152-157.
- [7] 张挪威, 万长荣, 赵宏, 等. 四君子汤提取工艺优化研究[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(6):1-4.
- [8] Morris G P, Beck P L, Herridge M S, et al. Hapten induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795-803.
- [9] Murthy S N S, Cooper H S, Shim H, et al. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin[J]. *Dig Dis Sci*, 1993, 38(9): 1722-1734.
- [10] Zingarelli B, Hake P W, Burroughs T J, et al. Activator protein-1 signalling pathway and apoptosis are modulated by poly (ADP-ribose) polymerase-1 in experimental colitis [J]. *Immunology*, 2004, 113(4): 509-517.
- [11] Akcan A, Muhtaroglu S, Akgun H, et al. Ameliorative effects of bombesin and neurotensin on trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis, oxidative damage and apoptosis in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(8):1222-1230.
- [12] Fuss I J. Is the Th1/Th2 paradigm of immune regulation applicable to IBD [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2008, 14(S2):110-112.
- [13] 王子剑, 孙志广. 溃疡性结肠炎的中西医研究进展 [J], 吉林中医药, 2013, 33(4):425-427.
- [14] Chasiotis H, Kelly S P. Effects of elevated circulating cortisol levels on hydromineral status and gill tight junction protein abundance in the stenohaline goldfish [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2012, 175(2):277-283.
- [15] Ulluwishewa D, Anderson R C, McNabb W C, et al. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components [J]. *Nutr*, 2011, 141(5):769-776.
- [16] Willis C L, Meske D S, Davis T P. Protein kinase C activation modulates reversible increase in cortical blood-brain barrier permeability and tight junction protein expression during hypoxia and posthypoxic reoxygenation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(11): 1847-1859.
- [17] 程丽敏, 仲丽丽, 高龙英. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠黏膜 occludin, TLR2, ICAM-1 蛋白表达的影响 [J]. 中医药学报, 2013, 41(3):69-72.
- [18] 赵海君, 钱易. 紧密连接的结构与功能 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2013, 32(5):384-386.
- [19] 李岩, 王垂杰. 四君子汤对脾虚证大鼠胃黏膜黏液凝胶表达的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2013, 21(9):465-467.
- [20] 赵盛云, 王垂杰. 四君子汤对脾虚证大鼠胃黏膜上皮细胞凋亡及 Caspase-3 表达的影响 [J]. 中国医科大学学报, 2014, 43(1):31-33.
- [21] 张博, 窦逾常, 王垂杰. 脾虚老龄大鼠肠黏膜 sIgA、CD3、CD8 水平变化及四君子汤对其的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(11):3063-3064.
- [22] 张博, 窦逾常, 王垂杰. 四君子汤对脾虚大鼠肠黏膜 TFF3 蛋白表达及 TFF3mRNA 表达的影响 [J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(5):715-717.

[责任编辑 周冰冰]

《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)

经过中国科学院“中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database, 简称 CSCD)”定量遴选、专家定性评估,《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)。

2015—2016 年度 CSCD 收录来源期刊 1200 种, 其中中国出版的英文期刊 194 种, 中文期刊 1006 种。CSCD 来源期刊分为核心库和扩展库两部分, 其中核心库 872 种(以备注栏中 C 为标记); 扩展库 328 种(以备注栏中 E 为标记)。

CSCD 具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点, 自提供使用以来, 深受用户好评, 被誉为“中国的 SCI”。CSCD 是我国第一个引文数据库, 曾获中国科学院科技进步二等奖。该数据库已在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用。