

参苓白术颗粒对溃疡性结肠炎模型小鼠的保护作用

姜旭光¹, 王成文², 梁新婧¹, 王枫¹, 郝光平², 沙莉², 怀立春², 薛霖^{2*}

(1. 山东中医药高等专科学校, 山东烟台 264100; 2. 青海省大通中医院, 西宁 810100)

[摘要] 目的:研究参苓白术颗粒(SLBZ)对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠结肠炎保护作用,并探讨其作用机制。方法:清洁级 Balb/c 小鼠随机分为正常组,3 d 模型组,3 d 参苓白术颗粒组,7 d 模型组,7 d 参苓白术颗粒组。3,7 d 参苓白术颗粒组均连续 8 d *ig* SLBZ($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),正常组与 3,7 d 模型组 *ig* 等体积生理盐水。模型组和参苓白术颗粒组在 *ig* 的最后 3 d 用 4% DSS 饮水造模,3 d 模型组与 3 d 参苓白术颗粒组在造模第 3 天检测指标,正常组与 7 d 模型组,7 d 参苓白术颗粒组在造模第 7 d 检测相关指标,观察体重变化、粪便评分、病理学评分、凋亡细胞、黏液表达量、紧密连接蛋白(occludin)蛋白水平等。结果:与正常组比较,3 d 模型组凋亡细胞数量增多,occludin 蛋白减少($P < 0.05$);7 d 模型组体重下降,粪便评分增高,病理学评分增高,凋亡细胞数量增多,occludin 蛋白减少($P < 0.05$);与模型组比较,预防性连续 *ig* 8 d SLBZ,3 d 参苓白术颗粒组小鼠凋亡细胞表达量少,occludin 蛋白增多($P < 0.05$);7 d 参苓白术颗粒组小鼠体重升高,腹泻和血便症状明显好转,病理学评分减少,黏液分泌量多,凋亡细胞减少 occludin 蛋白表达量增多($P < 0.05$)。结论:预防性服用 SLBZ 可以缓解 DSS 诱导的结肠炎发病,其药理机制可能与 SLBZ 保护结肠黏膜屏障密切相关。

[关键词] 参苓白术颗粒; 溃疡性结肠炎; 结肠黏膜屏障; 病理学评分; 细胞连接; 上皮细胞凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0144-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016230144

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160919.1348.050.html>

[网络出版时间] 2016-09-19 13:48

Protective Effect of Shenling Baizhu Granule on Ulcerative Colitis Model

JIANG Xu-guang¹, WANG Cheng-wen², LIANG Xin-jing¹, WANG Feng¹,

XI Guang-ping², SHA Li², HUAI Li-chun², XUE Lin^{2*}

(1. Shandong College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Yantai 264100, China;

2. Qinghai Province Datong TCM Hospital, Xining 810100, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect and mechanism of Shenling Baizhu granule (SLBZ) on ulcerative colitis in mice induced by dextran sulfate sodium (DSS). **Method:** Clean-grade Balb/c mice were randomly divided into control group, 3 d model group, 3 d SLBZ group, 7 d model group and 7 d SLBZ group. 3 d and 7 d SLBZ groups were given SLBZ ($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) by gavage for 8 days, while control group and two model groups were given the same volume of saline. In all groups except the control group, animal models were established with 4% DSS water in the last 3 days. 3 d model group and 3 d SLBZ group were observed and tested on 3 d after modeling, while control group, 7 d model group and 7 d SLBZ group were observed and tested on 7 d after modeling. The changes in body weight, stool index (diarrhea and bloody stool), pathological score, apoptosis index, mucus expression and occludin protein were observed. **Result:** Compared with the normal group, the amount of apoptotic epithelial cells in colonic mucosa of 3 d model group increased significantly, the expression of occludin was significantly reduced ($P < 0.05$). In 7 d model group, body weight decreased significantly, stool

[收稿日期] 20160201(013)

[基金项目] 青海省中藏医药研究计划项目(2014105)

[第一作者] 姜旭光, 硕士, 副教授, 从事消化道道疾病治疗研究, Tel:0535-7292080, E-mail: jiangxuguanghao@163.com

[通讯作者] * 薛霖, 硕士, 主任医师, 从事免疫性疾病治疗研究, Tel:0971-2750029, E-mail: dtxuelin@126.com

index increased significantly, the pathological score increased, the amount of apoptotic cells increased, and occludin protein expression was significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, after preventive gavage of SLBZ suspension for 8 days, the amount of apoptotic epithelial cells in 3 d SLBZ group decreased, occludin protein expression increased significantly ($P < 0.05$), body weight of mice in 7 d SLBZ group increased, diarrhea and bloody stool symptoms improved obviously, pathological score decreased, the amount of mucus secretion increased, apoptotic cells decreased, and the expression of occludin increased ($P < 0.05$).

Conclusion: The preventive administration with SLBZ could relieve the symptoms of colitis induced by DSS, which may be closely related to protection of SLBZ on colonic mucosal barrier.

[**Key words**] Shenling Baizhu granule; ulcerative colitis; colonic mucosal barrier; pathology score; cell junction; epithelial cell apoptosis

溃疡性结肠炎(UC)以腹泻、腹痛和黏液脓血便为主要特征,目前没有根治方法,复发率高,20%~30%患者需要手术治疗,给患者带来极大身心痛苦和经济负担^[1]。UC发病与肠黏膜屏障功能异常关系密切。肠黏膜屏障是指将肠腔内细菌、抗原等物质与肠黏膜固有层免疫细胞隔离开,避免固有层免疫细胞激活的肠黏膜结构,主要由上皮细胞层及其表面的黏液层所构成。UC发病时肠黏膜屏障异常,通透性增高,导致肠腔内细菌、抗原等物质移位至黏膜固有层而激活免疫细胞,诱导黏膜异常免疫反应的发生^[2]。

参苓白术颗粒(SLBZ)源自《宋·太平惠民和剂局方》参苓白术散,是由参苓白术散与适宜的辅料配合而制成的颗粒状制剂,方由人参、茯苓、白术(麸炒)、山药、白扁豆(炒)、莲子、薏苡仁(麸炒)、砂仁、桔梗、甘草组成,有益气健脾,利湿止泻功效,在临床上常用来辅助治疗UC,能明显提高疗效^[3-4]。动物实验发现SLBZ对动物结肠炎模型有治疗作用,能抑制致炎因子,缓解炎症^[5-6],SLBZ对UC有明显的改善作用。前期研究工作多集中在SLBZ对UC的治疗作用,发病机制也从抗炎的作用探讨,对结肠黏膜屏障中的细胞连接有一定保护作用^[7]。本实验通过预防性灌胃小鼠SLBZ混悬液,探讨SLBZ对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎有无保护作用,观察SLBZ保护结肠黏膜屏障的作用,为SLBZ的健脾功效提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 清洁级Balb/c雄性小鼠40只,体重(20±2)g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,合格证号SCXK(鲁)2014-0007。

1.2 试剂 DSS(美国MP Biomedicals公司,批号M9417);SLBZ颗粒(北京同仁堂有限公司,批号4112048);大便隐血试剂盒(南京建成生物有限公

司,批号20150811);阿利辛蓝过碘酸-雪夫氏(AB-PAS)染色液试剂盒(北京诺博莱德科技有限公司,批号0810A15);末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记测定法(TUNEL)凋亡试剂盒(Roche公司,批号10131400);小鼠紧密连接蛋白(occludin)一抗(Life公司,批号OC-3F10);山羊抗小鼠荧光二抗(KPL公司,批号080714);Hochest染色液(同仁化学研究所,批号JA730)。

1.3 仪器 CUT5062型半自动旋转式石蜡切片机(德国莱比信公司);DH4000AB型电热恒温培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司);DP72型显微镜及DP2-BSW型成像系统(日本奥林巴斯公司);TCS SP5型激光共聚焦显微镜(德国Leica公司)。

2 方法

2.1 分组与给药 小鼠按随机数字法分为正常组,3 d模型组,3 d参苓白术颗粒组,7 d模型组,7 d参苓白术颗粒组,每组8只。3 d参苓白术颗粒,7 d参苓白术颗粒组小鼠*ig* SLBZ悬浊液,药量为9 g·kg⁻¹·d⁻¹(3倍人体用量),参照《中药药理研究方法学》^[8]剂量估换计算公式所得,在前期的预实验中,已经进行了量效关系的比较,确定为较适宜的剂量和浓度;正常组,3 d模型组,7 d模型组*ig*生理盐水20 mL·kg⁻¹·d⁻¹;以上各组*ig*时间均为8 d。

2.2 造模及给药 配制4% DSS溶液,参考文献[9]。模型组与参苓白术颗粒组小鼠用生理盐水或SLBZ悬浊液*ig* 8 d,从第6天开始用4% DSS溶液代替小鼠饮用水,3 d模型组与3 d参苓白术颗粒组连续造模3 d;7 d模型组与7 d参苓白术颗粒组连续造模7 d;正常组连续*ig*生理盐水8 d,继续自由饮水5 d,饮用水不加入DSS;以7 d模型组小鼠出现体重下降、腹泻伴血便、组织学观察结肠上皮有溃疡形成成为造模成功标准。

2.3 体重测量 小鼠从4% DSS饮水开始,每天测

量并记录小鼠体重。

2.4 粪便评分检测 3 d 模型组与 3 d 参苓白术颗粒组在 4% DSS 造模 3 d 后,7 d 模型组与 7 d 参苓白术颗粒组在 4% DSS 造模 7 d 后,采集小鼠新鲜粪便,按照文献的方法对粪便进行评分,具体评分标准由粪便黏稠度及血便组成。大便性状:正常(成形大便),计 0 分;松散(不黏附于肛门的糊状、半成形大便),计 2 分;稀便(可黏附于肛门的稀水样便),计 4 分;血便:正常,计 0 分;隐血阳性,计 2 分;肉眼血便,计 4 分^[10]。

2.5 组织病理学评分 20% 乌拉坦麻醉小鼠,剪开腹部,沿肠系膜韧带剪下完整结肠,用冰盐水冲洗肠内容物,展平后准确量取结肠肛门段 5 cm 组织,切成 2 段于 4% 多聚甲醛中固定 24 h。组织脱水、包埋、切片,进行苏木素伊红(HE)染色。在高倍镜下对切片随机挑选 10 个视野,观察结肠组织变化,参考文献评分标准,进行病理学评分^[11]。

2.6 结肠黏膜屏障评估 黏液 AB-PAS 染色的定量分析,将包埋好的结肠组织切片,分别进行常规 AB-PAS 染色,在高倍镜下对切片肛门端的结肠上皮组织随机挑选 5 个视野进行拍照,使用计算机图像分析软件 Image-proplus 6.0,以 AB-PAS 染色的吸光度 A 进行定量分析。

2.7 上皮细胞凋亡指数检测 采用 TUNEL 法评价结肠上皮细胞凋亡情况,将石蜡切片脱蜡,水化,置入孵育液中(0.3% Triton X-100, 0.1% sodiumcitrate)25 ℃ 反应 8 min,然后将切片进入 TUNEL 反应混合液中 37 ℃ 孵育 60 min。加 Hoechst(1:50)染核,室温下孵育 10 min,封片;每张切片随机选择 5 个视野拍照,并计数隐窝中 100 个结肠上皮细胞,记录凋亡细胞数,计算凋亡指数。

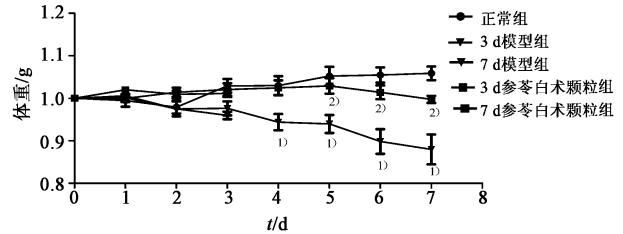
$$\text{凋亡指数} = (\text{凋亡细胞数}/100) \times 100\%$$

2.8 occludin 蛋白表达检测 切片常规脱蜡,水化后,微波修复,0.3% Triton 破膜,滴加 occludin 一抗(1:50),4 ℃ 湿盒中孵育过夜,加入山羊抗小鼠荧光抗体(1:50),恒温恒湿孵育 2 h,加 Hoechst(1:50)染核,室温下孵育 10 min,封片。每张切片随机选择 5 个视野,采用 Image Pro Plus6.0 图像软件,对各切片中荧光强度用积分吸光度 IA 表达。

2.9 统计学方法 应用 Graphpad Prism 5 统计学软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异采用单因素方差分析,组间用单因素方差分析中的 Tukey 分析,重复测量的变化数据用重复测量方差分析方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 SLBZ 对小鼠体重和粪便评分的影响 与正常组比较,7 d 模型组小鼠体重明显下降($P < 0.05$);模型组小鼠粪质稀薄,肛门周围黏附粪便,大多伴有明显血便,粪便评分较正常组明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较,预防性连续灌胃 8 d SLBZ 混悬液的 7 d 参苓白术颗粒组小鼠较 7 d 模型组体重下降较轻,腹泻较轻,血便较少;粪便评分低于模型组($P < 0.05$)。见图 1,表 1。



与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与 7 d 模型组比较²⁾ $P < 0.05$

图 1 SBLZ 对 DSS 诱导的慢性结肠炎小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Fig.1 Effect of SLBZ on body weight in mice with DSS-induced colitis($\bar{x} \pm s, n = 8$)

表 1 SLBZ 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠粪便评分和病理学评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

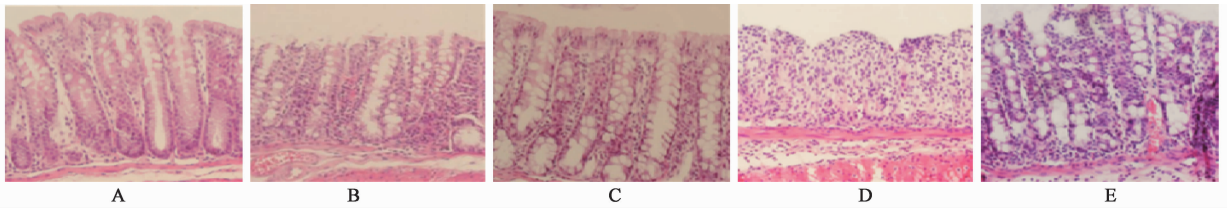
Table 1 Effect of SLBZ on feces and pathology score in mice with DSS-induced colitis($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	粪便评分	病理学评分
正常	-	0.00 ± 0.00	0.24 ± 0.17
3 d 模型	0	0.38 ± 0.52	2.06 ± 0.70
3 d 参苓白术颗粒	9	0.13 ± 0.35	1.23 ± 0.45
7 d 模型	0	4.75 ± 0.89 ¹⁾	8.21 ± 2.44 ¹⁾
7 d 参苓白术颗粒	9	2.75 ± 0.89 ²⁾	5.11 ± 0.84 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与 7 d 模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 SLBZ 对结肠组织病理学评分的影响 组织学显示正常组小鼠结肠黏膜完好,隐窝结构存在,黏膜下层无水肿。与正常组比较,7 d 模型组结肠上皮大量破损、脱落,形成溃疡,隐窝结构消失,杯状细胞丢失,黏膜下层炎症细胞浸润,较正常组明显增高($P < 0.05$),说明造模成功;与模型组比较,7 d 参苓白术颗粒组病理学评分较 7 d 模型组明显降低($P < 0.05$)。见表 1,图 2。

3.3 SLBZ 对结肠黏膜屏障的影响 正常组结肠上皮和隐窝有丰富的杯状细胞,黏液表达量多。与正常组比较,7 d 模型组黏液量明显减少($P < 0.05$);7 d 参苓白术颗粒组较 7 d 模型组黏液量表达量明显增多($P < 0.05$)。正常组结肠上皮和隐窝凋亡细胞量少。与正常组比较,3,7 d 模型组上皮细胞凋



A. 正常组; B. 3 d 模型组; C. 3 d 参苓白术颗粒组; D. 7 d 模型组; E. 7 d 参苓白术颗粒组(图 3 同)

图 2 参苓白术颗粒对 DSS 诱导的结肠炎小鼠病理学的影响(HE, ×400)

Fig. 2 Effect of SLBZ on pathology in mice with DSS-induced colitis(HE, ×400)

亡指数均明显升高 ($P < 0.05$); 与 3, 7 d 模型组比较, 3, 7 d 参苓白术颗粒组凋亡指数明显降低 ($P < 0.05$)。正常组结肠上皮和隐窝 occludin 表达量较多, 均匀分布在上皮细胞之间。与正常组比

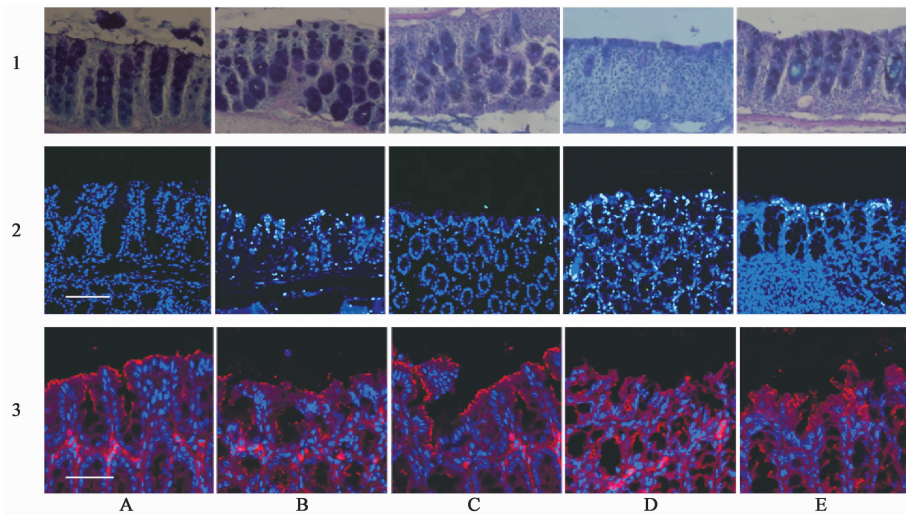
较, 3, 7 d 模型组的 occludin 表达均明显减少 ($P < 0.05$), 且分布紊乱; 与 3, 7 d 模型组比较, 3, 7 d 参苓白术颗粒组 occludin 表达明显增多 ($P < 0.05$)。见表 2, 图 3。

表 2 SBLZ 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠结肠上皮黏液分泌, 凋亡细胞, occludin 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of SLBZ on mucus, apoptosis, occludin expression in mice with DSS-induced colitis ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	黏液表达量/A	凋亡指数/%	occludin/A
正常	0	0.24 ± 0.03	1.93 ± 0.72	2363.5 ± 286.0
3 d 模型	0	0.20 ± 0.04	15.55 ± 3.23 ¹⁾	1367.4 ± 252.7 ¹⁾
3 d 参苓白术颗粒	9	0.21 ± 0.04	7.76 ± 2.21 ²⁾	1981.8 ± 143.3 ²⁾
7 d 模型	0	0.08 ± 0.03 ¹⁾	25.81 ± 6.58 ¹⁾	602.8 ± 146.1 ¹⁾
7 d 参苓白术颗粒	9	0.15 ± 0.02 ³⁾	14.63 ± 4.13 ³⁾	1038.6 ± 143.0 ³⁾

注: 与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, 与 3 d 模型组比较²⁾ $P < 0.05$; 与 7 d 模型组比较³⁾ $P < 0.05$ 。



1. AB-PAS; 2. apoptosis; 3. occludin

图 3 结肠炎小鼠结肠上皮黏液分泌、凋亡细胞、紧密连接 occludin 的变化(×400)

Fig. 3 Changes in mucus, apoptosis, occludin expression in mice with DSS-induced colitis(×400)

4 讨论

DSS 诱导的动物结肠炎是 UC 的动物模型, 经常用于 UC 的发病机制和药理研究。DSS 饮水 4 d 后结肠黏膜屏障破坏, 诱发结肠充血、糜烂, 开始出

现腹泻、血便, 结肠组织出现严重充血、糜烂、溃疡, 可反映 UC 从结肠黏膜屏障破坏到发病的病理变化^[11]。

实验结果表明, 预先灌胃 SLBZ 的参苓白术颗

粒组,在停止参苓白术颗粒用药,继续 DSS 饮水 5 d 后,能明显缓解 DSS 诱导的小鼠体重减轻,改善腹泻和血便症状;上皮细胞屏障、隐窝结构、炎症细胞浸润等病理学改变也明显优于模型组,说明预先服用 SLBZ 对 UC 发病有保护作用。

UC 肠黏膜杯状细胞的数量明显减少,黏液层的厚度也较正常薄,导致黏液层不能有效地清除肠黏膜表面所黏附的细菌,黏液层中细菌含量增多,容易诱导、加剧肠黏膜炎症反应^[12]。实验结果说明,DSS 作用 7 d 的小鼠结肠黏膜黏液层表达量减少,而预先 *ig* 参苓白术颗粒可以有效缓解黏液层破坏。

上皮细胞是结肠黏膜屏障的第 2 层。UC 发病时,大量的肠黏膜上皮细胞发生凋亡,与凋亡细胞相邻的上皮细胞不能有效地封闭凋亡细胞所留下的空间,导致肠黏膜通透性增高。有效地抑制肠上皮细胞凋亡,能明显改善黏膜屏障功能^[13]。本次实验发现 DSS 作用 3,7 d 的小鼠结肠上皮凋亡增多,说明 DSS 饮水早期有效促进上皮细胞凋亡,破坏结肠黏膜屏障,SLBZ 可以抑制上皮细胞凋亡,保护结肠黏膜屏障。肠黏膜上皮细胞与细胞间连接,形成了一个完整的生物屏障。细胞间的连接以肠紧密连接(TJ)最为重要,能封闭上皮细胞之间的间隙,调控肠黏膜的通透性,允许离子、小分子可溶性物质通过,阻止肠腔内的细菌、内毒素等有害物质渗入肠黏膜下层。紧密连接存在于靠近顶侧(肠腔侧)的细胞侧面,由紧密连接蛋白所构成,现已发现有 40 多种肠黏膜上皮细胞 TJ 的相关蛋白,主要有 occludin, claudin, ZO 蛋白^[14]。occludin 蛋白是构成 TJ 的主要蛋白,在 Caco-2 细胞中敲除 occludin 蛋白后,细胞间渗透性增加。UC 小鼠模型的结肠损伤越严重,occludin 蛋白表达就相应减少^[15]。因此,occludin 蛋白数量的变化在一定程度上提示了肠黏膜屏障功能的变化。本实验发现 DSS 饮水 3,7 d 的小鼠结肠 occludin 蛋白减少且分布紊乱,说明 DSS 作用早期可破坏细胞连接,增加细胞间通透,而 SLBZ 可以促进结肠 occludin 蛋白表达,修复结肠黏膜屏障。

综上,UC 早期已有结肠黏膜屏障破坏,表现为结肠上皮凋亡、细胞连接破坏,严重时黏液表达量减少,导致细菌、抗原等进入固有层,激活炎症细胞,释放炎症因子,启动炎症反应。预先 *ig* 参苓白术颗粒小鼠,在致病因素 DSS 作用下,停止参苓白术颗粒 *ig*,继续 DSS 饮水,仍能缓解小鼠病情严重性,说明

预先服用参苓白术颗粒可以缓解 UC 的发病与症状,其机制为参苓白术颗粒保护结肠黏膜屏障。减少细菌、抗原进入固有层诱发的炎症,对阐明参苓白术散的健脾作用有重要意义。

[参考文献]

- [1] Ordas I, Eckmann L, Talamini M, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2012, 380(9853):1606-1619.
- [2] Turner J R. Molecular basis of epithelial barrier regulation; from basic mechanisms to clinical application [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(6):1901-1909.
- [3] 冯艳. 参苓白术散加减配合灌肠治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎 38 例 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2001, 7(12):63-65.
- [4] 展文国. 裴正学教授治疗溃疡性结肠炎的经验 [J]. *中国实用医药*, 2012, 7(23):233.
- [5] 游宇, 刘玉晖, 高书亮. 参苓白术散抗小鼠炎症性肠病的机制研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5):136-140.
- [6] 李姿慧, 王键, 王又闻, 等. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清 EGF、SOD、MDA 的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(5):56-59.
- [7] 刘玉晖, 胡婕, 易文凤, 等. 参苓白术散治疗炎症性肠病与肠上皮细胞紧密连接的关系探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(3):130-133.
- [8] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2006:31-33.
- [9] 赵平, 董蕾, 罗金燕, 等. 葡聚糖硫酸钠致溃疡性结肠炎大鼠模型的建立 [J]. *第四军医大学学报*, 2005, 26(19):1738-1740.
- [10] Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, et al. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(3):541-546.
- [11] Rachmilewitz D, Karmeli F, Takabayashi K, et al. Immunostimulatory DNA ameliorates experimental and spontaneous murine colitis [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(5):1428-1441.
- [12] Sturm A, Dignass A U. Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease. [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(3):348-353.
- [13] 白爱平. 炎症性肠病肠黏膜屏障损伤机制 [J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(28):3187-3191.
- [14] Rodgers L S, Fanning A S. Regulation of epithelial permeability by the actin cytoskeleton [J]. *Cytoskeleton*, 2011, 68(12):653-660.
- [15] Cummins P M. Occludin; one protein, many forms [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(2):242-250.

[责任编辑 张丰丰]