

# 大黄酸对 DSS 诱导溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用及机制探讨

罗爽, 罗霞, 刘琦, 潘增烽, 周联\*  
(广州中医药大学, 广州 510006)

**[摘要]** **目的:**探讨大黄酸对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎的治疗作用及其相关的作用机制。**方法:**C57BL/6 雄性小鼠,随机分为 6 组,分别为正常组,模型组,美沙拉秦组(0.8 g·kg<sup>-1</sup>)与大黄酸低、中、高剂量组(6.25, 12.5, 25 mg·kg<sup>-1</sup>),每组 10 只。除正常组给予蒸馏水外,其余各组均采用 3% DSS 溶液自由饮用 7 d 诱导溃疡性结肠炎模型。造模第 1 天开始灌胃给药,正常组与模型组给予等量的蒸馏水,连续给药 14 d。每天观察小鼠体重、粪便性状、隐血便血情况,评分并计算疾病活动指数(DAI);取结肠,测量长度,制作结肠石蜡切片,苏木素-伊红(HE)染色后显微镜下观察其病理变化;取外周血,收集血清,酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测小鼠血清中鞭毛蛋白抗体含量;蛋白质免疫印迹(Western blot)检测小鼠结肠组织 Toll 样受体 5(TLR5),核因子- $\kappa$ B p65(NF- $\kappa$ B p65)蛋白的表达水平。**结果:**与正常组比较,模型组小鼠 DAI 分显著升高( $P < 0.01$ );结肠明显缩短( $P < 0.01$ );黏膜上皮、肠腺等结构消失,黏膜下层大量淋巴细胞浸润,血管扩张。给予美沙拉秦与各剂量的大黄酸后,上述症状均得到缓解( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与正常组比较,模型组血清中鞭毛蛋白抗体含量升高( $P < 0.01$ );结肠组织 TLR5, NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达明显增加( $P < 0.01$ ),美沙拉秦组与各剂量大黄酸组均减少( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**大黄酸具有治疗 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的作用,其机制可能与影响 TLR5/NF- $\kappa$ B 信号通路有关。

**[关键词]** 大黄酸; 溃疡性结肠炎; Toll 样受体 5; 核因子- $\kappa$ B p65

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)11-0109-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017110109

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170309.1012.016.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-09 10:12

## Effect and Mechanism of Rhein on DSS-induced Ulcerative Colitis in Mice

LUO Shuang, LUO Xia, LIU Qi, PAN Zeng-feng, ZHOU Lian\*

(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the efficacy and its mechanism of rhein on dextran sulphate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis in mice. **Method:** C57BL/6 male mice were randomly divided into 6 groups: normal control group, model group, mesalazine treatment group, low-dose rhein group, middle-dose rhein group and the high-dose rhein group (6.25, 12.5, 25 mg·kg<sup>-1</sup>),  $n = 10$  in each group. The mice in normal control group received distilled water, while all the other mice were treated with 3% dextra sulfate sodium for 7 days to induce the ulcerative colitis model. From the first day of modeling, mesalazine and different concentrations of rhein were given by gavage for 14 days continuously, and equal volume of distilled water was given in normal group and model group. The body weight, defecation condition and hematochezia of the mice were observed and recorded everyday; scores of disease activity index (DAI) were calculated and evaluated; colon was taken and its length was measured; colon paraffin slices were prepared and their pathological changes were observed under microscope after HE staining. Peripheral blood was taken and the serum was collected to detect the level of anti-flagellin antibody by using ELISA kit. The expression levels of Toll like receptor 5 (TLR5) and nuclear factor (NF)- $\kappa$ B p65 in colon were measured by Western blot. **Result:** As compared with the normal control group, DAI scores were significantly

**[收稿日期]** 20161214(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81673668)

**[第一作者]** 罗爽, 硕士, 从事中药免疫药理研究, Tel:020-39358221, E-mail:LuoShuang5743@163.com

**[通讯作者]** \*周联, 博士, 研究员, 从事中药免疫药理与毒理研究, Tel:020-39358047, E-mail: zli@gzucm.edu.cn

increased in model group ( $P < 0.01$ ); the colon length was significantly shortened ( $P < 0.01$ ); meanwhile, epithelium and intestinal gland disappeared, with a large number of lymphocyte infiltration and local vascular dilation in submucous layer. Above symptoms were ameliorated after giving mesalazine and different concentrations of rhein ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The anti-flagellin antibody in serum, the expression levels of TLR5 and NF- $\kappa$ B p65 were significantly increased in model group ( $P < 0.01$ ) as compared with the normal group; while these levels were decreased after treatment by mesalazine and different concentrations of rhein ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Rhein could treat DSS-induced ulcerative colitis in mice, and its mechanism may be related to inhibiting the expression of TLR5/NF- $\kappa$ B p65 pathway.

**[Key words]** rhein; ulcerative colitis; Toll like receptor 5 (TLR5); nuclear factor- $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65)

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种原因不明的慢性非特异性炎症性肠病, 其病变部位以直肠和乙状结肠为主, 主要临床症状表现为腹泻、腹痛、黏液血便等<sup>[1]</sup>。发病年龄一般在 20 ~ 50 岁, 男女患病率无显著差别, 但有明显的地域差异<sup>[2]</sup>。此病变容易反复发作, 且发生癌变的机会比正常人高 5 ~ 10 倍, 被称为“不是癌症的癌症”<sup>[3]</sup>。现普遍认为, UC 是遗传、环境、感染、免疫和肠道菌群等多种因素相互作用的结果。近年来, 肠道菌群及其代谢产物, 如脂多糖、肽聚糖、鞭毛蛋白等在 UC 发病及病情反复过程中起的重要作用逐渐引起研究者的注意。其中, 鞭毛蛋白是细菌鞭毛的结构成分, 是目前发现的体内 Toll 样受体 5 (Toll like receptor, TLR5) 的唯一配体, 且研究发现, 鞭毛蛋白在溃疡性结肠炎的发生发展中起重要作用<sup>[4-9]</sup>。

大黄牡丹汤对于 UC 患者或小鼠均具良好治疗效果<sup>[10-12]</sup>, 但其作用机制尚未明了。大黄酸为大黄牡丹汤中活性成分之一, 具有抑菌<sup>[13]</sup>、抗炎<sup>[14]</sup>、抗肿瘤<sup>[15]</sup>、抗肝纤维化<sup>[16]</sup>、调节肠道菌群<sup>[17]</sup>及预防术后肠粘连的形成<sup>[18]</sup>等药理作用。另外, 大黄酸在全肠段均有良好的吸收<sup>[19]</sup>。本研究旨在从大黄酸着手, 探讨大黄酸对葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的 UC 小鼠的治疗作用, 及其对 TLR5/核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路的影响, 从而为阐明大黄牡丹汤的作用机制提供依据和思路。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 C57BL/6 小鼠 60 只, 雄性, 体重 20 ~ 22 g, 购自广东省医学实验动物中心, 合格证号 SCXK(粤)2013-0002, 于广州中医药大学实验动物中心饲养, 许可证号 SYXK(粤)2013-0085。本研究获得广州中医药大学实验动物伦理委员会批准, 所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

**1.2 药物及试剂** DSS (美国 MP Biomedicals 公

司, 批号 Q1723); 大黄酸 (纯度 HPLC  $\geq 90\%$ , 成都普菲德生物技术有限公司, 批号 16051704); 美沙拉秦缓释颗粒剂 (上海的发制药有限公司, 国药准字 H20143164); 细胞核蛋白与胞浆蛋白抽提试剂盒, BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (增强型), SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (碧云天生物技术公司, 批号分别为 060816160816, 063016161009, 061316160617); 小鼠鞭毛蛋白抗体酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (上海劲马仪器设备公司, 批号 201611); Anti-TLR5 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab13868); NF- $\kappa$ B p65 (D14E12) XP<sup>®</sup> Rabbit mAb (美国 CST 公司, 批号 0004); 山羊抗小鼠免疫球蛋白 G (IgG) (H + L)-HRP, 山羊抗兔 IgG (H + L)-HRP (天津三箭生物技术股份有限公司, 批号分别为 AF303, AE401); supper ECL Plus 超敏发光液 (北京普莱利基因技术有限公司, 批号 PLL-2016-08)

**1.3 仪器** ECLIPSE TE2000-S 型倒置显微镜 (日本 Nikon 公司), Tanno5200 型全自动化学发光图像分析仪 (日本 Tanno 公司), Mini-PROTEAN Tetra Cell 型电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司), D3024R 型微型高速冷冻离心机 (赛洛捷克公司)

## 2 方法

**2.1 动物造模与给药** C57BL/6 小鼠随机分为 6 组, 分别为正常组, DSS 模型组, 美沙拉秦组  $0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[20]</sup>, 大黄酸低剂量组  $6.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 大黄酸中剂量组  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 大黄酸高剂量组  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 每组 10 只。参考文献 [21] 的造模方法, 正常组给予蒸馏水, 其余各组采用自由饮用 3% DSS 溶液连续 7 d, 诱导溃疡性结肠炎模型, 第 8 天开始全部换成蒸馏水。造模第 1 天开始灌胃给药, 除正常组与模型组给予蒸馏水外, 其余各组以  $0.02 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  体重给予相应的药物, 连续给药 14 d, 第 15 天处死小鼠。

**2.2 疾病活动指数 (DAI) 评估** 每日称量小鼠体

重,观察其大便性状和便血情况,并按以下评分标准进行评分(表 1),将体重下降、大便性状和便血情况的评分均值,作为 DAI<sup>[5]</sup>。

表 1 DAI 评分标准

评分/分	体重下降/%	大便性状	大便出血
0	0	正常	正常(-)
1	1~5	松散	隐血阳性(+)
2	5~10		轻微血便(++)
3	10~15	稀便	肉眼血便(+++)
4	≥15	水样稀便	显性出血(!!!)

**2.3 结肠长度变化** 实验第 15 天,取小鼠结肠至肛门直肠段,测量并记录自然长度。

**2.4 苏木素-伊红(HE)染色观察结肠组织病理学变化** 实验第 15 天,取结肠病变部位,用 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋,组织切片后进行 HE 染色,显微镜下观察结肠组织结构是否完整及组织充血水肿、溃疡和淋巴细胞浸润等病理学改变情况。

**2.5 ELISA 检测血清中鞭毛蛋白抗体含量** 实验第 15 天,取小鼠静脉血于无菌离心管中,室温静置 30 min 后,4℃ 条件下 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,收集上层血清,-80℃ 储存备用。据 ELISA 试剂盒说明书,检测血清中鞭毛蛋白抗体含量。

**2.6 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测结肠组织 TLR5,NF-κB p65 的表达水平** 实验第 15 天,取小鼠结肠,用生理盐水冲洗后立即放入干冰中速冻,再于 -80℃ 储存。将组织转移至匀浆管中,于冰上剪碎,并加入裂解液 1 mL,电动匀浆仪匀浆。采用细胞核蛋白与胞浆蛋白抽提试剂盒提取结肠组织的胞浆蛋白与核蛋白,BCA 法测定蛋白浓度后,Western blot 检测小鼠结肠组织 TLR5,NF-κB p65 的表达,设置相应内参 β-肌动蛋白(β-actin),增殖细胞核抗原(PCNA)。Image J 软件分析 Western blot 结果,以目标蛋白与内参的比值表示目标蛋白的相对表达量。

**2.7 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 统计软件进行处理,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对溃疡性结肠炎小鼠 DAI 评分的影响** 与正常组比较,造模各组第 3 天开始出现粪便潜血阳性,第 5 天出现肉眼可见血便或稀便,同时伴随小鼠体重下降、饮食饮水量减少、活动减少、毛色变差,随着造模时间的延长症状逐渐加重。美沙拉秦组与不同剂量大黄酸组,体重下降程度、腹泻便血症状及小鼠

状态均有所缓解。与正常组比较,模型组的 DAI 评分显著较高,差异具统计学意义(*P* < 0.01);而与模型组比较,美沙拉秦组与大黄酸各剂量组 DAI 评分减少(*P* < 0.01);另外,大黄酸各剂量组 DAI 评分,随着剂量的增加而减少。见表 2。

表 2 大黄酸对溃疡性结肠炎小鼠 DAI 评分的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of rhein on disease activity index in ulcerative colitis of mice( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	DAI/分
正常	-	0
模型	-	2.60 ± 0.56 <sup>1)</sup>
美沙拉秦	800	0.50 ± 0.24 <sup>2)</sup>
大黄酸	6.25	1.26 ± 0.46 <sup>2)</sup>
	12.5	1.11 ± 0.50 <sup>2)</sup>
	25	0.76 ± 0.16 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.01。

**3.2 对溃疡性结肠炎小鼠结肠长度的影响** 与正常组比较,模型组小鼠结肠显著缩短(*P* < 0.01),美沙拉秦与各剂量大黄酸具恢复作用。尤其是大黄酸中、高剂量组可明显恢复结肠长度,与模型组比较差异均具统计学意义(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。见表 3。

表 3 大黄酸对溃疡性结肠炎小鼠结肠长度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of rhein on colon length in ulcerative colitis of mice( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	结肠长度/cm
正常	-	6.6 ± 0.6
模型	-	5.2 ± 0.4 <sup>1)</sup>
美沙拉秦	800	5.6 ± 0.5
大黄酸	6.25	5.8 ± 0.6
	12.5	5.7 ± 0.4 <sup>2)</sup>
	25	6.3 ± 0.5 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup> *P* < 0.05,<sup>3)</sup> *P* < 0.01(表 4,图 2 同)。

**3.3 对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织病理变化的影响** 小鼠结肠组织病理切片 HE 染色结果显示,正常组小鼠结肠组织结构完整,未见溃疡、坏死;固有层肠腺完整且排列有序;黏膜肌层完整;黏膜下层未见淋巴细胞浸润;肌层完整、平滑。模型组小鼠黏膜上皮细胞大量坏死脱落,肠腺与隐窝消失,黏膜下层有大量淋巴细胞浸润、血管扩张、充血。美沙拉秦组结肠组织的结构大体完整,肠腺排列整齐,固有层及黏膜下层淋巴细胞浸润减少。大黄酸各剂量组结构相对完整,淋巴细胞浸润明显较模型组少。见图 1。

**3.4 对溃疡性结肠炎小鼠血清中鞭毛蛋白抗体含量的影响** 与正常组比较,模型组小鼠血清中鞭毛蛋白抗体含量升高(*P* < 0.01);与模型组比较,美沙

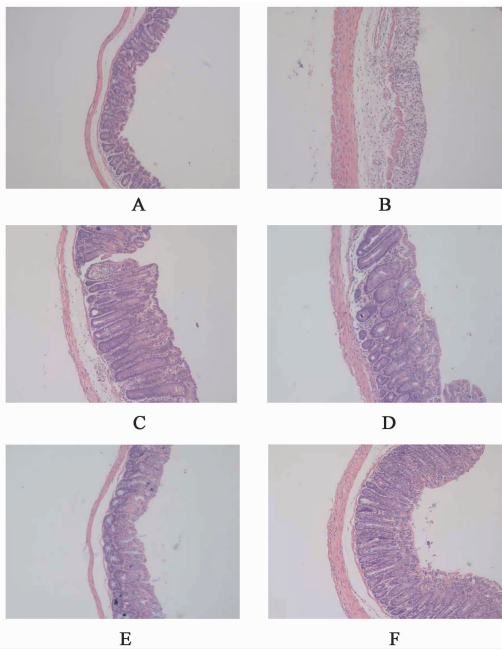


图 1 大黄酸对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织病理变化的影响 (HE,  $\times 200$ )  
A. 正常组; B. 模型组; C. 美沙拉秦组; D. 大黄酸  $6.25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  组; E. 大黄酸  $12.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  组; F. 大黄酸  $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  组 (图 2 同)

图 1 大黄酸对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织病理变化的影响 (HE,  $\times 200$ )

Fig. 1 Effect of rhein on colon tissue pathological changes in ulcerative colitis of mice (HE,  $\times 200$ )

拉秦组与大黄酸各剂量组均降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 大黄酸对溃疡性结肠炎小鼠血清中鞭毛蛋白抗体含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 4 Effect of rhein on level of anti-flagellin antibody in serum in ulcerative colitis of mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	血清中鞭毛蛋白抗体/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	-	$64.18 \pm 14.11$
模型	-	$102.81 \pm 17.07^{(1)}$
美沙拉嗪	800	$78.30 \pm 16.81$
大黄酸	6.25	$58.24 \pm 21.67^{(3)}$
	12.5	$53.31 \pm 28.34^{(2)}$
	25	$50.77 \pm 18.37^{(3)}$

**3.5 对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织 TLR5, NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的影响** 与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织 TLR5 表达显著增加 ( $P < 0.01$ ); 而与模型组比较, 美沙拉秦组与大黄酸中剂量组 TLR5 的表达量下降 ( $P < 0.05$ ); 大黄酸高剂量组 TLR5 的表达量明显下降 ( $P < 0.01$ )。与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织 NF- $\kappa$ B p65 表达显著增加 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 美沙拉秦组与大黄酸各剂量组 NF- $\kappa$ B p65 表达均减少 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见图 2。

#### 4 讨论

DSS 是由蔗糖合成的一种硫酸多糖体, 其诱导

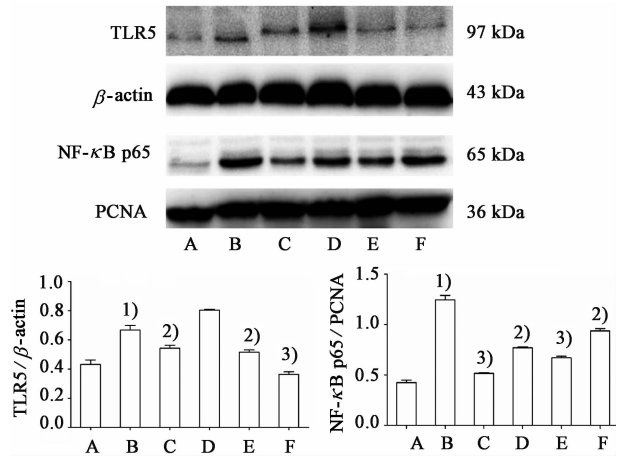


图 2 大黄酸对结肠组织 TLR5, NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

Fig. 2 Effect of rhein on expression of TLR5 and NF- $\kappa$ B p65 protein in ulcerative colitis of mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 5$ )

UC 模型的机制可能与其破坏肠黏膜屏障、致使肠道菌群失调、抑制上皮增生等因素有关<sup>[21]</sup>。该模型简单易行、成功率较高、重复性好, 且与人类的 UC 病变类似, 故本研究选择采用 3% DSS 溶液自由饮用 7 d 诱导溃疡性结肠炎小鼠模型。造模第 3 天开始出现粪便潜血阳性, 第 5 天出现肉眼可见血便或稀便, 同时伴随小鼠体重下降、饮食饮水量减少、活动减少、毛色变差, 随着造模时间的延长症状逐渐加重。另外, 实验结果显示, 与正常组比较, 模型组小鼠 DAI 评分升高、结肠缩短、结肠隐窝与肠腺消失, 充血水肿、大量淋巴细胞浸润, 提示造模成功。

溃疡性结肠炎患者会出现结肠变短的现象<sup>[3]</sup>, 实验结果发现, 与正常组比较, 模型组小鼠结肠明显缩短, 大黄酸中、高剂量具恢复结肠长度的作用。除此之外, 与模型组比较, 大黄酸各剂量组 DAI 评分降低、结肠组织炎症状态缓解, 表明大黄酸具有缓解与治疗 UC 的作用。另外, 检测小鼠血清中的鞭毛蛋白抗体含量发现, DSS 模型组含量远高于正常组, 而大黄酸能降低血清中鞭毛蛋白抗体含量。鞭毛蛋白是细菌鞭毛的主要结构组分, 同时也是重要的病原相关分子模式 (PMAP), 能被机体 TLR5 识别结合后参与髓样分化因子 88 (MyD88)/IRAK/TRAF6 依赖的信号通路, 最终活化核转录因子 NF- $\kappa$ B, 促炎细胞因子的基因表达上调, 如白细胞介素-8 (IL-8), 人巨噬细胞炎性蛋白 3 (MIP3), 从而介导机体促炎反应<sup>[22]</sup>。已有研究发现, IBD 患者血清中鞭毛蛋白抗体的含量升高, 且与病程相关<sup>[23, 7-8]</sup>, 而鞭毛蛋白是目前发现的机体 TLR5 唯一的配体<sup>[24]</sup>, 故表明鞭毛蛋白-TLR5 信号通路与 UC 有关。TLR5 高表达于

结肠上皮细胞及固有层树突状细胞<sup>[25]</sup>, Western blot 检测小鼠结肠组织 TLR5 的表达, 结果显示, 与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织 TLR5 的表达增加, 该实验结果与孙宏飞等<sup>[26]</sup>, Erridge 等<sup>[27]</sup>的研究结果一致。同时, 发现给予美沙拉秦与各剂量大黄酸, 结肠组织 TLR5 的表达下降。进一步检测结肠组织 NF- $\kappa$ B p65 的表达发现, 与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织 NF- $\kappa$ B p65 的表达增加, 而美沙拉秦组、大黄酸各剂量组结肠组织 NF- $\kappa$ B p65 的表达均有所下降。以上结果表明大黄酸通过抑制 TLR5/NF- $\kappa$ B 信号通路, 炎症因子的分泌减少, 促使淋巴细胞浸润减少、炎症缓解。

综上所述, 大黄酸能通过影响 TLR5/NF- $\kappa$ B 信号通路治疗 DSS 诱导的溃疡性结肠炎, 从而为阐明大黄牡丹汤的作用机制提供了研究基础。

#### [参考文献]

[1] 左国庆, 谢宏赞, 吴绍从, 等. 实用胃肠病临床手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015; 206-226.

[2] HU P J. Inflammatory bowel disease in Asia: The challenges and opportunities [J]. *Intest Res*, 2015, 13 (3): 188-190.

[3] 安阿玥. 肛肠病学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005; 341.

[4] Rhee S H, Im E, Riegler M, et al. Pathophysiological role of Toll-like receptor 5 engagement by bacterial flagellin in colonic inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102 (38): 13610-13615.

[5] 沙素梅. Toll 样受体 5 与黏附侵袭性大肠杆菌 LF82 在炎症性肠病发病中的作用研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2014.

[6] 李林静, 李治国, 朱丽萍, 等. 溃疡性结肠炎体内 Toll 样受体 5 核因子- $\kappa$ B 及白细胞介素 17 表达及相关性研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2014, 34 (10): 996-999.

[7] 周川, 郝奔杰, 薛福敏, 等. 溃疡性结肠炎患者血清和结肠上皮细胞中细菌鞭毛蛋白的表达 [J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2012, 47 (4): 454-456.

[8] 薛福敏. 细菌鞭毛蛋白在溃疡性结肠炎中的致病作用研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2011.

[9] Meena N K, Ahuja V, Meena K, et al. Association of TLR5 gene polymorphisms in ulcerative colitis patients of north india and their role in cytokine homeostasis [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0120697.

[10] 国文文, 张正菊, 王其艳. 大黄牡丹汤治疗溃疡性结肠炎机制研究进展 [J]. *实用中医药杂志*, 2016, 32 (2): 186-188.

[11] 周成梅, 王青, 周联, 等. 大黄牡丹汤对实验性结肠炎小鼠模型的治疗作用 [J]. *中药新药与临床药理杂志*, 2007, 18 (4): 263-265.

[12] 温如燕, 罗霞, 郑彦懿, 等. 大黄牡丹汤对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用 [J]. *中药新*

药与临床药理, 2016, 27 (5): 649-654.

[13] 陈秋荷, 皮荣标, 陈景考. 大黄酸及其衍生物: 合成与药理作用研究进展 [J]. *药学研究*, 2016, 35 (3): 161-167.

[14] 李晓红. 大黄酸抗炎作用及机理研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2010.

[15] 钱文斌. 大黄酸对乳腺癌肿瘤细胞 HER-2 蛋白表达的影响研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33 (1): 224-226.

[16] 武超, 曹红燕, 孙明瑜. 大黄酸在肝病中的应用研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2015, 42 (12): 2382-2387.

[17] 王瑞凤, 雷海燕, 臧璞, 等. 大黄酸对糖尿病小鼠肠道菌群影响的初步研究 [J]. *中国微生物学杂志*, 2016, 28 (1): 21-24, 46.

[18] 尹家乐, 张爱香, 王毓炜, 等. 大黄酸精氨酸预防大鼠实验性肠粘连抗炎机制的研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21 (1): 18-21.

[19] 陈琳, 牛笑怡, 张振秋. 赤芍、大黄药对提取物中丹皮酚和大黄酸的分布研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21 (5): 107-110.

[20] 李富军, 王维, 赵赓, 等. 乐复能对溃疡性结肠炎小鼠疗效及其对小鼠结肠黏膜内 TNF- $\alpha$  表达的影响 [J]. *中南大学学报: 医学版*, 2015, 40 (5): 504-510.

[21] Chassaing B, Aitken J D, Malleshappa M, et al. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice [J]. *Curr Protoc Immunol*, 2014, doi: 10.1002/0471142735.im1525s104.

[22] Rhee S H, Keates A C, Moyer M P, et al. MEK is a key modulator for TLR5-induced interleukin-8 and MIP3 $\alpha$  gene expression in non-transformed human colonic epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (24): 25179-25188.

[23] Wallis D, Asaduzzaman A, Weisman M, et al. Elevated serum anti-flagellin antibodies implicate subclinical bowel inflammation in ankylosing spondylitis: an observational study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15 (5): R166.

[24] 罗佳, 李薇, 段云峰, 等. Toll 样受体 5 和鞭毛蛋白的相互作用影响宿主区分病原菌和益生菌 [J]. *微生物学通报*, 2014, 41 (7): 1368-1375.

[25] ZHENG B, Morgan M E, vande Kant H J, et al. Transcriptional modulation of pattern recognition receptors in acute colitis in mice [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832 (12): 2162-2172.

[26] 孙宏飞, 郭莲怡. Toll 样受体在溃疡性结肠炎患者外周血中的表达及其意义 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37 (6): 634-640.

[27] Erridge C, Duncan S H, Bereswill S, et al. The induction of colitis and ileitis in mice is associated with marked increases in intestinal concentrations of stimulants of TLRs 2, 4, and 5 [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (2): e9125.

[责任编辑 周冰冰]