

# 痛泻要方对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜细胞间黏附分子-1 mRNA 和蛋白表达的影响

朱向东<sup>1</sup>, 梅晓云<sup>1\*</sup>, 吴红彦<sup>2</sup>, 潘政<sup>3</sup>, 曹燕飞<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学基础医学院, 南京 210046; 2. 甘肃中医学院基础课部, 兰州 730000;  
3. 兰州大学第二医院危重病科, 兰州 730000)

**[摘要]** 目的: 观察痛泻要方治疗溃疡性结肠炎(UC)的疗效, 并探讨其免疫作用机制。方法: 60 只 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、痛泻要方低、中、高剂量组、柳氮磺胺嘧啶(SASP)组, 除空白组外, 其余各组大鼠均以 2, 4, 6—三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇一次性灌肠法制备 UC 大鼠模型。模型成功后, 痛泻要方低、中、高剂量组(按生药量分别为 11, 22, 44 g·kg<sup>-1</sup>)ig, (按照临床成人用量的 5, 10, 20 倍折算), SASP 组按 0.3 g·kg<sup>-1</sup> 剂量灌胃治疗, 灌胃体积均为 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 空白组、模型组灌服等体积生理盐水, 治疗 21 d。肉眼观察结肠大体形态损伤并进行评分, 采用 RT-PCR 和免疫组化法检测细胞间黏附分子-1(ICAM-1)基因和蛋白表达水平。结果: 肉眼观察模型组大鼠结肠组织黏膜层可见炎症和溃疡形成, 模型组炎症评分(2.50 ± 1.08)分与空白组(0.08 ± 0.28)分比较, P < 0.05, 差异有统计学意义, 证实模型成功。与空白组 ICAM-1 基因相对表达和 ICAM-1 蛋白的表达量(0.17 ± 0.02), (0.32 ± 0.012 3)吸光度(A)比较, 模型组(0.27 ± 0.05), (0.44 ± 0.016 6)A 大鼠结肠组织 ICAM-1 基因相对表达和 ICAM-1 蛋白的表达量上调, 差异有统计学意义(P < 0.01); 与模型组比较, ICAM-1 基因相对表达和 ICAM-1 蛋白的表达量(A)痛泻要方高剂量组(0.19 ± 0.03), (0.32 ± 0.005 9), 中剂量组(0.20 ± 0.04), (0.34 ± 0.01)表达量下调, 差异有统计学意义(P < 0.05, P < 0.01)。结论: 痛泻要方可能下调 ICAM-1mRNA 和 ICAM-1 蛋白的表达量, 抑制炎症细胞的浸润, 阻止并减轻结肠组织损伤, 起到治疗 UC 的作用。

**[关键词]** 痛泻要方; 溃疡性结肠炎; 蛋白; 基因; 表达

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0174-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130124.0926.001.html>

**[网络出版时间]** 2013-01-24 9:26

**[收稿日期]** 20120920(029)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81060283)

**[第一作者]** 朱向东, 博士研究生, 副教授, 从事中药防治溃疡性结肠炎的研究, Tel: 15339312501, E-mail: zhuxiangdong33@163.com

**[通讯作者]** \* 梅晓云, 硕士, 教授, 从事中医治则治法研究, Tel: 13951691010, E-mail: xiaoyun663399@163.com

- [3] 王竞, 杜俊蓉. 缺血性脑损伤机制的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2008, 35(4): 302.
- [4] Wong C H, Crack P J. Modulation of neuro-inflammation and vascular response by oxidative stress following cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Current Medicinal Chemistry, 2008, 15(1): 1.
- [5] 邹忆怀. “毒损脑络”学说的症状学研究思考探究[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(7): 448.
- [6] 冯飞玲, 卢慧玲, 吴秋慧, 等. EGb761 对脑缺血大鼠脑组织的保护作用及机制[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(6): 1217.
- [7] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84.
- [8] Chen S T, Hsu C Y, Hogan E L, et al. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction[J]. Stroke, 1986, 17(4): 738.
- [9] 张现涛, 梁军, 刘红霞, 等. 银杏叶内酯 N 对实验性大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 141.
- [10] Schreibelt G, van Horssen J, van Rossum S, et al. Therapeutic potential and biological role of endogenous antioxidant enzymes in multiple sclerosis pathology[J]. Brain Res Rev, 2007, 56(2): 322.
- [11] 巩红岩, 秦元旭, 王更富, 等. 葛根素对大鼠体外循环后心肌缺血再灌注损伤的保护作用及抗氧化应激机制的探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 165.
- [12] Lewen A, Matz P, Chan P H. Free radical pathways in CNS injury[J]. Neurotrauma, 2000, 17(10): 871.

[责任编辑 聂淑琴]

## Influence of Tongxie Yaofang on the ICAM-1 mRNA and Protein Expression of Colonic Mucosa in Rats with Experimental Ulcerative Colitis

ZHU Xiang-dong<sup>1</sup>, MEI Xiao-yun<sup>1\*</sup>, WU Hong-yan<sup>2</sup>, PAN Zheng<sup>3</sup>, CAO Yan-fei<sup>2</sup>

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanjing 210046, China;

2. Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China;

3. Second Hospital Affiliated to Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

[ **Abstract** ] **Objective:** To observe the curative effect of Tongxie Yaofang on ulcerative colitis (UC), and identify its underlying mechanism. **Method:** Sixty SPF Wistar rats were randomly divided into the blank group, model group, Tongxie Yaofang low-, moderate-, high-dose groups and sulfasalazine (SASP) group; Except the blank group, the UC models were established by trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) /ethanol enema; after modeling, the Tongxie Yaofang low-, moderate-, high-dose groups were given at dose of 11, 22, 44 g · kg<sup>-1</sup> by gavage) the SASP group was given at dose of 0.3 g · kg<sup>-1</sup> by gavage, the blank group and model group were treated with the same volume's physiological saline for 21 days. The morphological injury was observed with the naked eye and scored. Intercellular adhesion molecular-1 (ICAM-1) gene and protein expressions were detected by means of RT-PCR and immunohistochemical method. **Result:** Inflammation and ulceration were found on the colonic mucous membrane of rats in the model group (2.50 ± 1.08), and compared with the blank group (0.08 ± 0.28), *P* < 0.05, and the discrepancy was statistically significant, the successful model was proved. The expression amount of ICAM-1 gene and protein of colonic tissues of rats in the model group (0.27 ± 0.05, 0.44 ± 0.016 6) was increased than that in the blank group (0.17 ± 0.02, 0.32 ± 0.012 3), and the discrepancy was statistically significant (*P* < 0.01). Compared with the model group (0.27 ± 0.05, 0.44 ± 0.016 6), the expression amount of ICAM-1 in the Tongxie Yaofang high- (0.19 ± 0.03, 0.32 ± 0.005 9) and moderate-dose groups (0.20 ± 0.04, 0.34 ± 0.010 4) were decreased, and the discrepancy was statistically significant (*P* < 0.05, *P* < 0.01). **Conclusion:** The prescription probably decreases the expression amount of ICAM-1 mRNA and ICAM-1 protein, inhibit inflammation cell infiltrate, reduce colon tissue damage, play a role in treatment of UC.

[ **Key words** ] Tongxie Yaofang; ulcerative colitis; protein; gene; expression

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以腹痛腹泻黏液脓血便持续或反复发作作为主要症状,该病发病原因及机制尚不明确,加之缠绵难愈,复发率高,且有癌变倾向,目前尚缺乏满意的治疗方法,已被列为现代难治病之一<sup>[1-2]</sup>,因此有关其病因病机的探讨以治疗药物的研发已成为近年来的研究热点。我们临床上用痛泻要方加减治疗该病,取得了显著疗效<sup>[3]</sup>。前期药效学研究证实<sup>[4]</sup>,痛泻要方能有效改善溃疡性结肠炎黏膜炎症,促进溃疡的修复,但作用机制不清。细胞间黏附分子-1(ICAM-1)属于黏附分子的免疫球蛋白超家族,存在于内皮细胞表面。已证实,在活动性UC病人及动物模型中,炎症结肠黏膜上的ICAM-1表达增加,是参与疾病发生发展的重要因子之一<sup>[5]</sup>。本次实验在前期研究

的基础上进一步探讨痛泻要方对实验性UC大鼠结肠黏膜ICAM-1蛋白和基因表达的影响,以期探讨痛泻要方治疗UC的疗效及作用机制。

### 1 材料

**1.1 动物** 采用SPF级Wistar大鼠60只,体质量(180 ± 10)g,雌雄各半,由甘肃中医学院科研实验动物中心提供,SPF级动物质量合格证号SCXKC(甘)2004-0006;SPF级实验设施合格证号SYXKC(甘)2004-0006-0001561。

**1.2 试剂** 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS,美国Sigma公司生产,批号2008-16-2,TRlzol试剂(批号19919)、琼脂糖(批号0000101394)(均购自Invitrogen公司),反转录试剂盒(批号0000007526)、PCR试剂盒(批号108030404),均购

自 Promega Corporation; 一抗 ICAM-1、SP 免疫组化染色试剂盒、DAB 染色试剂盒(均为北京博奥森生物工程开发有限公司)。

**1.3 仪器与设备** S1000™ 型 PCR 仪, 凝胶成像仪、电泳槽、电泳仪, 核酸定量分析仪(均为 Bio-Rad, 美国), 3-16PK 型通用台式高速离心机(德国), DM-86L626 型立式超低温冰箱(海尔, 中国), BI-2000 图像分析系统之免疫组化分析系统(成都太盟, 中国)。

**1.4 受试药物** 痛泻要方由炒白术、炒白芍、炒陈皮、防风 4 味药物组成。按照方剂学《丹溪心法》原方 3:2:1:1 的比例取陈皮、白术、白芍、防风, 用 8 倍量 70% 的乙醇每次回流 2 h, 提取 3 次, 得醇提取液和醇提取药渣。合并 3 次醇提取液, 滤过, 滤液减压回收乙醇后得醇提取浓缩液, 醇提取浓缩液干燥得干膏, 干膏粉碎成细粉, 加入挥发油。实验用不含赋形剂的浸膏, 冰箱保存备用。柳氮磺胺嘧啶(SASP, 上海信谊嘉华药业有限公司, 批号 H31020557)。

## 2 方法

**2.1 造模方法** 参考文献[5]采用 TNBS/乙醇溶液灌肠法制作溃疡性结肠炎(UC)大鼠模型: 将 Wistar 大鼠 60 只, 禁食(不禁水)24 h, 用 10% 水合氯醛腹腔麻醉(3 mL·kg<sup>-1</sup>)后, 一次性将 TNBS/乙醇液(100 mg·kg<sup>-1</sup> TNBS + 50% 的乙醇 0.25 mL)溶液用橡胶输液管轻缓注入大鼠距肛门约 7~8 cm 深的肠腔内, 留置数分钟。然后用针头抽取一定量的空气, 同样的方法注入大鼠肠腔, 防治溶液外漏, 让动物保持平躺状态, 自然清醒, 空白组 10 只大鼠也采用同样方法用等量的生理盐水灌肠。

**2.2 分组与给药** 将实验动物分为 6 组: 空白组、模型组、痛泻要方低、中、高剂量组及 SASP 组, 每组 10 只。除空白组外均以 100 mg·kg<sup>-1</sup> TNBS 加 50% 乙醇 0.25 mL 混合试剂灌肠。痛泻要方低、中、高剂量组分别按生药 11, 22, 44 g·kg<sup>-1</sup> ig(按照临床成人用量的 5, 10, 20 倍折算), SASP 组按 0.3 g·kg<sup>-1</sup> ig, ig 体积均为 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 空白组、模型组 ig 等体积生理盐水。各组于造模后第 2 天开始 ig, 1 次/d, 连续 21 d。3 周后, 处死, 取标本。

**2.3 取材** 大鼠禁食 24 h(不禁水)后, 脱颈椎法处死大鼠, 取血后迅速剖腹, 取出距肛门以上 8 cm 处结肠段, 沿肠系膜缘剪开肠腔, 用冷 PBS 缓冲液冲洗肠内容物, 肉眼观察各组大鼠肠组织大体形态情况记录并进行评分, 取病变最明显处 0.5 cm 左右, 迅速移至液氮中保存。大体形态损伤评分参照

Luketal 标准进行: 0 分: 无损伤; 1 分: 充血但没有溃疡; 2 分: 充血而且肠壁变厚但没有溃疡; 3 分: 有一处小溃疡, 直径约 0~1 cm; 4 分: 溃疡较大, 直径约 1~2 cm, 但肠管与外周脏器无粘连; 5 分: 溃疡直径 1~2 cm, 肠管增厚, 与周围脏器粘连严重。

**2.4 结肠组织 ICAM-1 蛋白表达** 采取经典的 SABC 法, 其主要步骤是: 将固定好的石蜡切片常规脱蜡至水。每张切片滴加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 室温放置 10 min。将切片浸入 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)中进行抗原热修复, 自然冷却至室温, 滴加 5% BSA 封闭液, 室温 20 min。分别滴加 ICAM-1 一抗, 4 ℃ 冰箱过夜。滴加生物素化山羊抗兔 IgG, 在 37 ℃ 培养箱中孵育 20 min。滴加试剂 SABC, 在 37 ℃ 培养箱中孵育 20 min。DAB 显色剂, 苏木素轻度复染 3 min; 经梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂胶封片。在显微镜下观察结果, 拍片。染色对照: 同一组片中, 用 PBS 代替一抗作孵育, 其余步骤同上。

**ICAM-1 蛋白表达结果判定及测量方法:** ICAM-1 蛋白表达: 主要表达于大鼠结肠组织中的肠道黏膜及黏膜下层, 以胞浆为主。ICAM-1 表达阳性为胞质呈棕黄颗粒染色, 颜色越深, 表达越强, 未出现棕黄颗粒, 为阴性。采用 BI-2000 图像分析系统之免疫组化分析系统, 随机选取 5 个视野, 测量阳性细胞平均积分吸光度(A), A 大, 蛋白表达强, 反之则表达弱。

**2.5 结肠组织 ICAM-1 mRNA 的表达** 总 RNA 的提取采用经典的 Trizol 法, 应用核酸定量分析仪测定总 RNA 的浓度和纯度, 确保 2.0 > A<sub>260</sub> nm/A<sub>280</sub> nm > 1.8。参照逆转录试剂盒说明书进行逆转录, 合成 cDNA, 用 cDNA 模板对大鼠内参照  $\beta$ -actin 及 ICAM-1 基因分别进行 PCR 扩增, 引物由金唯智生物科技北京有限公司合成, 内参照  $\beta$ -actin 引物序列为: 上游引物: 5'-CCTCTATGCCAACACAGTGC-3', 下游引物: 5'-AAGGGTGTAAAACGCAGCTC-3', 扩增产物长度 292 bp; ICAM-1 引物序列为: 上游引物: 5'-GTCTCAGAAGGGGACCAAGTAA-3', 下游引物: 5'-GCAGAGCAAAGAAGCGTCGTT-3', 产物长度 196 bp。扩增反应体系为 50  $\mu$ L, 其中 cDNA 3  $\mu$ L; 上下游引物各 1  $\mu$ L; MgCl<sub>2</sub> 3  $\mu$ L; 10  $\times$  Reaction Buffer 5  $\mu$ L; dNTP Mix 1  $\mu$ L; *Taq* DNA 聚合酶 0.25  $\mu$ L; 无酶水补足至 50  $\mu$ L。扩增参数为: 预变性 95 ℃ 2 min, 95 ℃ 变性 45 s, 退火 53 ℃ 45 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共 40 个循环( $\beta$ -actin 为 25 个循环), 总延伸 72 ℃ 5 min。PCR 扩增产物于 1% 琼脂糖凝胶中电

泳,在凝胶成像仪上成像,采用 Quantity One 图像分析软件分析数据,获得各电泳条带的积分吸光度( $X$ ),用  $\beta$ -actin 的积分吸光度( $A$ )作为内参照,计算基因的相对表达量( $X/A$ )作为实验数据。

**2.6 统计分析** 采用统计软件 SPSS 17.0 处理,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 一般状态** 模型组大鼠在造模当天开始出现稀便,觅食较不主动,食量减少,肛周污浊,于1周内体重略有下降,毛色晦暗无光泽且被粪便污染,持续稀便,部分大鼠有血便且肉眼可见,各治疗组中痛泻要方低、中剂量组症状缓解较慢,毛色仍稍晦暗无光泽,食量较少,扎堆、稀便及血便症状缓解不明显,不活跃;痛泻要方高剂量组、SASP 组随着给药时间的持续,症状明显好转,大部分大鼠稀便症状消失,基本恢复正常,粪便呈灰褐色颗粒状,毛色逐渐转为光亮润泽,食量正常,活跃,体重增长。各治疗组中以痛泻要方高剂量组和 SASP 组症状改善最为明显。

**3.2 结肠黏膜损伤情况** 模型组大鼠结肠黏膜可见明显的充血、水肿、溃疡,肠壁变厚、肠道缩短。经过痛泻要方及 SASP 治疗后大鼠结肠黏膜损伤情况均明显改善,但各组具体情况不相同,其中痛泻要方高剂量组及 SASP 组各大鼠黏膜仅有少量的充血水肿,其余损伤恢复正常,痛泻要方高剂量组、SASP 组与模型组比较,评分明显降低,差异具有显著性, $P < 0.01$ 。痛泻要方各治疗组随着剂量的增加,评分逐渐降低,痛泻要方高剂量组与 SASP 组相比较,评分差异无统计学意义。评分结果见表 1。

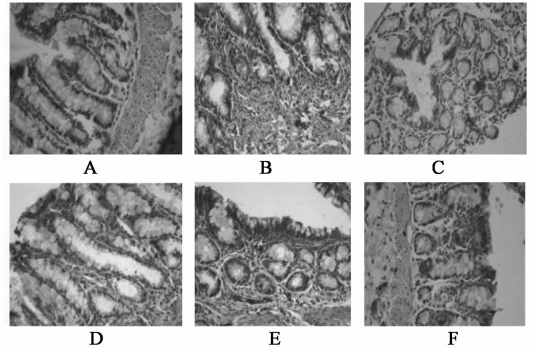
表 1 痛泻要方对 UC 大鼠结肠黏膜损伤评分及 ICAM-1 蛋白表达阳性细胞平均积分吸光度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	结肠黏膜 损伤评分/分	ICAM-1/A
空白	-	0.08 ± 0.28	0.32 ± 0.012 3
模型	-	2.50 ± 1.08 <sup>2)</sup>	0.44 ± 0.016 6 <sup>1)</sup>
痛泻要方	44	0.86 ± 0.86 <sup>3)</sup>	0.32 ± 0.005 9 <sup>3)</sup>
	22	1.60 ± 1.17	0.34 ± 0.010 4 <sup>3)</sup>
	11	2.00 ± 0.94 <sup>4)</sup>	0.38 ± 0.009 1 <sup>3)</sup>
SASP	0.3	0.83 ± 0.84 <sup>3)</sup>	0.33 ± 0.014 9 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.3 ICAM-1 蛋白表达的检测** 免疫组化 ICAM-1 显示:空白组:ICAM-1 蛋白少量表达。模型组:

ICAM-1 蛋白表达较强,数量较多;SASP 组:ICAM-1 蛋白表达较弱,数量较少。痛泻要方低剂量组:ICAM-1 蛋白表达中等,数量中等。痛泻要方高剂量组和中剂量组 ICAM-1 蛋白表达较弱,数量较少,与 SASP 区别不大。阳性细胞平均  $A$ 。见表 1,图 1。



A. 空白组;B. 模型组;C. 痛泻要方 44 g·kg<sup>-1</sup>组;D. 痛泻要方 22 g·kg<sup>-1</sup>组;E. 痛泻要方 11 g·kg<sup>-1</sup>组;F. SASP 组 0.3 g·kg<sup>-1</sup>组

图 1 痛泻要方对 UC 大鼠结肠组织中 ICAM-1 蛋白表达的影响(免疫组化 SP 法, ×40)

**3.4 RT-PCR 半定量** 空白组大鼠结肠黏膜 ICAM-1 的表达处于较低水平,用 TNBS/乙醇灌肠造模后表达量显著升高( $P < 0.01$ ),经痛泻要方治疗后与模型组比较,ICAM-1 的表达水平降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),见表 2,图 2。

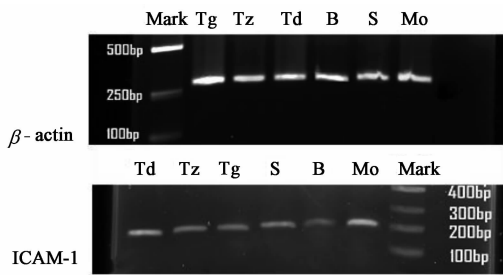
表 2 痛泻要方对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 ICAM-1mRNA 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ICAM-1 相对表达量
空白	-	0.17 ± 0.02
模型	-	0.27 ± 0.05 <sup>1)</sup>
痛泻要方	44	0.19 ± 0.03 <sup>2)</sup>
	22	0.20 ± 0.04 <sup>2)</sup>
	11	0.21 ± 0.06 <sup>3)</sup>
SASP	0.3	0.19 ± 0.05 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

### 4 讨论

溃疡性结肠炎(UC)是一种与免疫直接相关的肠道慢性非特异性炎症性疾病,临床表现以腹泻、黏液脓血便、腹痛、里急后重等为主。病变以溃疡和炎症为主,主要局限在结肠黏膜及黏膜下层,多累及远端结肠和直肠,本病反复发作、治愈难度大,容易恶化和癌变,给患者带来巨大痛苦,西医治疗溃疡性结肠炎以氨基水杨酸制剂、糖皮质激素和免疫抑制剂为主,但效果不甚理想且容易复发。所以本病已被世界卫生组织列为难治性消化病之一<sup>[6]</sup>。其病



Td. 痛泻要方 11 g·kg<sup>-1</sup>组;Tz. 痛泻要方 22 g·kg<sup>-1</sup>组;Tg. 痛泻要方 44 g·kg<sup>-1</sup>组;S. 模型组;B. 空白组;Mo. SASP 0.3 g·kg<sup>-1</sup>组

图 2 痛泻要方对 UC 大鼠结肠组织中的 ICAM-1 基因表达的影响

因和发病机制研究多认为与环境、遗传、感染等因素有关。中医药治疗 UC 有明显优势,在中医辨证论治思想的指导下,其临床疗效显著。很多经典方剂,如乌梅丸、白头翁汤、痛泻要方等<sup>[7]</sup>经典方剂已被临床研究证明有显著疗效。在实验研究中,研究者多关注结肠炎患者寒热错杂、湿热内蕴的中医病机,而对患者精神情志的紊乱导致病情加重关注较少,我们过临床和前期实验研究发现,很多 UC 患者因为病程长、病情重,精神压力很大,导致肝气郁结,肝郁脾虚而出现精神心理症状,而采用具有疏肝健脾功效的痛泻要方治疗,能取得显著疗效,本实验从蛋白和基因水平探讨痛泻要方的作用机制,为防治 UC 提供新思路。

黏附分子(adhesion molecules, AMS)是一类具有多种生物功能的受体型跨膜糖蛋白,能介导细胞趋化、淋巴细胞归巢、黏附等,参与免疫反应和炎症,在机体的病理和生理过程中发挥重要作用。黏附分子与 UC 的关系已引起人们的重视,UC 与 AMS 的关系受到人们的高度重视,其中 ICAM-1 与 UC 关系最为密切<sup>[8]</sup>。ICAM-1 是黏附分子免疫球蛋白超家族的成员之一,在生理情况下,ICAM-1 不表达或很少表达,当受到内毒素或者炎性细胞因子[如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白介素-1(IL-1)等]刺激后可表达于多种细胞上。ICAM-1 的表达上调使血管内皮细胞与白细胞大量牢固黏附,从而促进炎症细胞渗出血管到达炎症部位,同时使白细胞释放更多细胞因子和炎性介质,ICAM-1 与炎性细胞因子互相作用加重炎症形成恶性循环<sup>[9]</sup>。特别是在中性粒细胞向炎症部位聚集并导致组织损伤的过程中起着重要作用。有人发现活动期 UC 患者外周血 ICAM-1 显著增高,在肠组织中表达也增高,且与病情轻重呈正相关<sup>[10]</sup>。

我们研究发现,空白组大鼠结肠黏膜中 ICAM-1

蛋白和基因表达较弱,与文献报道结果一致,与空白组比较,模型组大鼠结肠黏膜中 ICAM-1 蛋白和基因表达上调,而治疗组(SASP、痛泻要方)ICAM-1 蛋白和基因表达量明显下调。而且本次实验发现 ICAM-1 蛋白和基因表达量与结肠黏膜组织的损伤程度呈正相关,也支持上述研究结果。上述研究结果表明,ICAM-1 的表达参与了 UC 的发病,痛泻要方治疗 UC 的作用机制可能是发挥疏肝健脾的整体调节作用,通过下调 ICAM-1 mRNA 和 ICAM-1 蛋白的表达量,抑制炎症细胞的浸润,阻止并减轻结肠组织损伤,起到治疗 UC 的作用,其与多种炎症细胞因子的相互作用机制,有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 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.
- [2] 周红光,陈海彬,徐肇敏,等. 溃克灵对溃疡性结肠炎大鼠模型结肠黏膜 ICAM-1 基因表达的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(3):216.
- [3] 朱蔚. 痛泻二草方治疗溃疡性结肠炎 30 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(7):14.
- [4] 段永强,成映霞,朱立鸣,等. 痛泻二草方对肝郁脾虚型 UC 模型大鼠的防治及作用机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(8):590.
- [5] Bendjelloul F, Rossmann P, Mal" P, et al. Detection of ICAM-1 in experimentally induced colitis of ICAM-1-deficient and wild-type mice: An immunohistochemical study[J]. Histochem J, 2000, 32:703
- [6] 杨名诗,龙友明,崔淑兰. 葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎小鼠 NF- $\kappa$ B 活性及其对 ICAM-1 表达的调控[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(4):600.
- [7] 晁冠群,吕宾,孟立娜,等. 痛泻要方对内脏高敏感大鼠脑、脊髓 CRF 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(15):2012.
- [8] 余欣,邱明义,胡继鹰,等. 乌梅丸对溃疡性结肠炎大鼠肠组织核转录因子- $\kappa$ B 及细胞间黏附分子 1 的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(3):172.
- [9] 赵晓霞,郭胜,李宝鹤. 芍药汤对溃疡性结肠炎大鼠 ICAM-1、TNF- $\alpha$ 、IL-10 影响的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(3):174.
- [10] 周燕红,于皆平. 银杏叶提取物对大鼠实验性结肠炎 NF- $\kappa$ B 和 ICAM-1 表达的影响[J]. 广东医学, 2007, 28(6):889.

[责任编辑 聂淑琴]