

清肠化湿方对小鼠骨髓来源树突状细胞生物学特性的影响

谷静¹, 沈洪^{1,2*}, 刘军楼^{1,2}, 欧阳俊¹, 朱磊^{1,2}

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210029; 2. 江苏省中医院消化科, 南京 210029)

[摘要] **目的:** 针对溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 活动期病机组成“清肠化湿、调气和血、敛疡生肌”的清肠化湿方, 通过体外实验, 观察其对小鼠骨髓来源树突状细胞 (dendritic cells, DC) 抗原提呈功能的影响, 探讨该方治疗 UC 的作用机制。**方法:** 以核因子- κ B 基因圈套寡核苷酸 (NF- κ B decoy ODN) 转染 24 h 后的 DC 生物学特性为对照, 观察 10 mg·L⁻¹ 清肠化湿方孵育 24 h 后 DC (细胞密度 1 × 10⁶/mL) 细胞的生物学特性的改变, 确立清肠化湿方通过抑制 NF- κ B 的表达影响 DC 的抗原提呈功能。实验分为空白组, ODN 转染组, 清肠化湿方组, 脂多糖 (LPS) 组, ODN 转染 + LPS 组, 清肠化湿方 + LPS 组 6 组。流式细胞术检测各组 DC 表面标志抗原 CD11c, 共刺激分子 CD40, MHC II 的表达, 免疫荧光法检测各组 NF- κ B 核转位情况。**结果:** 清肠化湿方 + LPS 组与 LPS 组 CD40、MHC II 比较, $P < 0.05$; 各组与 LPS 组 NF- κ B 核转位情况相比较, $P < 0.05$ 。说明清肠化湿方有效降低了 DC 表面抗原 CD40、MHC II 共刺激分子的表达, 抑制了 NF- κ B 的活化入核。**结论:** 清肠化湿方通过抑制 NF- κ B 的表达, 影响 DC 成熟与分化, 下调抗原提呈功能, 从而降低炎症反应, 是其治疗 UC 的主要机制。

[关键词] 清肠化湿方; 树突状细胞; 溃疡性结肠炎; 核因子- κ B

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0200-05

[doi] 10.11653/syfy2013130200

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130425.1459.003.html>

[网络出版时间] 2013-04-25 14:59

Effect of Qingchang Huashi Formula on the Biological Characteristics of Mouse Bone Marrow-derived Dendritic Cells

GU Jing¹, SHEN Hong^{1,2*}, LIU Jun-lou^{1,2}, OUYANG Jun¹, ZHU Lei^{1,2}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the impact of Qingchang Huashi formula (QHF) on mouse bone marrow-derived dendritic cell (DC) antigen-presenting function and explore the mechanism of action of the treatment of UC. **Method:** The DCs transfected by nuclear factor κ B decoy oligonucleotides (NF- κ B ODN) were as control group to observe the change the characters of the DC after incubation of QHF, and then to observe whether QHF can influence the function of DC antigen-presenting by inhibiting the expression of NF- κ B. The experiment was divided into six groups, which is blank group, QHF group, ODN transfection group, QHF and lipopolysaccharides (LPS) group, ODN transfection and LPS group. Flow cytometry was used to detect the DC surface of CD11c, CD40, MHC II expression and immune fluorescence was used to detect the nuclear translocation of NF- κ B of each group. **Result:** QHF could effectively reduce the DC surface antigens CD40 and MHC II costimulatory molecule expression, and inhibit NF- κ B activation into the nucleus. **Conclusion:** By inhibiting the

[收稿日期] 20130103(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072778); 江苏省自然科学基金项目(BK2011078); 江苏省中医药局课题项目(JD11002, JD11011); 江苏高校优势学科建设工程项目(JD11002, JD11011)

[第一作者] 谷静, 硕士研究生, 从事中药治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究, E-mail: gujingok@sina.com

[通讯作者] * 沈洪, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 从事消化系统疾病的中医药防治及机制研究, E-mail: shenhong999@163.com

expression of NF- κ B, affecting maturation and differentiation of DC, reducing the antigen-presenting function, thereby reducing the inflammatory response are the main mechanism of QHF treating UC.

[Key words] Qingchang Huashi Formula; DC; UC; NF- κ B

随着经济的发展、环境的变迁、饮食习惯的改变,消化系统疾病谱发生了巨大的改变,肠道疾病的比重显著上升,各种原因引起的肠道溃疡性疾病不仅常见多发,而且逐渐作为一个突出的病理改变,成为临床诊治的难题。溃疡性结肠炎是一种与肠道免疫密切相关的肠道黏膜慢性非特异炎症性疾病,病程迁延,反复发作,是非常难治的结肠癌前病变。近年来因在我国发病率不断增高而倍受重视,目前,除柳氮磺胺吡啶、皮质类固醇等治疗药物外,中医药已成为其主要治疗方法之一,并取得了独特的疗效优势,特别是针对 UC 活动期湿热蕴肠关键病机的清肠化湿法在临床的应用日益普遍。

近年来,随着相关研究对核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)在肠道炎症中的枢纽作用、DC 抗原提呈功能的阐明,调控此免疫反应的关键分子进而阻断 UC 过激的炎症反应已成为治疗和新药研发的重点。本研究前期实验已证明清肠化湿方对三硝基苯磺酸 (TNBS) 诱导的 UC 模型大鼠有良好的治疗效果,降低结肠组织 NF- κ B 的表达。针对溃疡性结肠炎活动期湿热蕴肠关键病机组成“清肠化湿、调气和血、敛疡生肌”的清肠化湿方,通过体外实验,观察其对小鼠骨髓来源 DC 抗原提呈功能的影响,探讨该方治疗 UC 的作用机制。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6(H-2b) 纯系小鼠,雄性,6~8 周龄,体重 18~20 g,购自扬州大学生物医学比较中心,动物许可证号 SCXK(苏)2012~0004。

1.2 药物 清肠化湿方(黄连 6 g,黄芩 6 g,煨木香 10 g,炒白芍 20 g,生地榆 10 g,白芷 15 g,徐长卿 15 g,生甘草 5 g)购自江苏省医药公司,生产批号分别为:20101201,20101201,20100501,20101001,20090901,20101201,20101201,20101201,以上药物均在南京市药品检验所进行质量检验,鉴定为合格中药饮片。按成人用量,称取上述清肠化湿方 1 付,共 87 g,投入提取罐中,浸泡 60 min,煎煮 2 次,合并药液,予旋转蒸发仪中蒸发,减压浓缩,真空干燥箱中干燥成药物细粉。称取清肠化湿方清膏 26.43 g,即浸膏量 30.4%。取 0.1 g 的清膏溶解于 10 mL 灭菌的 PBS 中($10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),过滤除菌,分装, -20 °C 保存。加药时取适量稀释至终质量浓度为

$10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 试剂 rmGM-CSF (杭州隆基生物公司), RPMI-1640 培养液 (WISSENT 公司), 胎牛血清 (WISSENT 公司), 红细胞裂解液 (上海碧云天生物有限公司), 青-链霉素双抗 (Hyclone 公司), LPS (L4391, Sigma 公司), 荧光素标记的大鼠抗小鼠单抗 CD11c-PE, CD40-FITC, MHC II -FITC (eBioscience 公司, 美国), OPTI-MEM 培养液 (Gibco by Life technology 公司), 针对 NF- κ B 设计 decoy ODN^[1] (双链序列为 5'-CCTTGAAGGGATTTCCCTCC-3', 3'-GGAACTTCCCTAAAGGGAGG-5') [正义链 5' 6-FAM (FITC) 部分硫代 (PS), 反义链部分硫代 (PS), 上海生物工程有限公司合成], 脂质体 Lipofectamin 2000 (Invitrogen 公司), 一抗 P65 antibody (Proteintech 公司), 二抗 anti-rabbit IgG (Invitrogen 公司), DAPI 核染色剂。

1.4 仪器 BSC-1300-II-B1 型细胞超净台 (苏州市华宁净化设备有限公司), MCO-15AC 恒温细胞培养箱 (购自 SANYO 公司), LD24-1.2 型低速台式离心机 (北京京立离心机有限公司), 090-135.001 型倒置显微镜 (购自 Leica 公司), 流式细胞仪及分析软件, 激光共聚焦显微镜。

以上实验仪器均由南京中医药大学仙林校区第一临床医学院临床医学实验研究中心提供。

2 方法

2.1 骨髓来源树突状细胞 (BMDc) 的诱导培养 参考 Kayo Inaba^[2] 等人的方法, 在其基础上稍有改变。

2.1.1 小鼠骨髓单核细胞分离 将 C57BL/6 小鼠拉颈处死, 浸入 75% 乙醇消毒 5 min, 无菌状态下取出其胫骨和股骨, 浸泡于不含胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中。用 1 mL 注射器吸取 RPMI-1640 培养液刺入骨髓腔反复冲洗, 将骨髓冲洗入无菌离心管中, 离心 ($1\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min), 弃上清, 红细胞裂解液 1 mL 重悬以溶解红细胞, 室温静置 2 min, 再次离心 ($1\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min), 弃上清, PBS 洗涤两遍, 离心 ($1\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 3 min) 后收集细胞。

2.1.2 DC 的培养 用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基悬浮细胞, 接种于 6 孔培养板 ($1 \times 10^7 / \text{mL}$), 加入细胞因子 rmGM-CSF (终质量浓度为

$10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 的细胞培养箱中培养, $48\sim 72\text{ h}$ 全量换液, 除去未贴壁细胞和细胞碎片。培养至 5 d 时, 半量换液, 并补足细胞因子, 培养至第 7 天, 加入 LPS 培养 24 h, 收集细胞即为成熟 DC。

2.2 分组 实验共分为 6 组, 分别为空白组、清肠化湿方组(清肠化湿方 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、NF- κB ODN 组($2 \mu\text{g}$ ODN: $10 \mu\text{L}$ 脂质体/孔)、清肠化湿方 + LPS 组(清肠化湿方 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + LPS $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、NF- κB ODN + LPS 组($2 \mu\text{g}$ ODN: $10 \mu\text{L}$ 脂质体/孔 + LPS $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、LPS 模型组(LPS $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。第 6 天加入清肠化湿方培养、ODN 转染, 第 7 天加入 LPS 培养 24 h。

2.3 NF- κB ODN 转染 DC 参考张洪德^[3]选用的方法①ODN 退火: 等摩尔的互补单链 NF- κB “decoy”ODN 混合, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 2 min, 然后缓慢降至室温(低于 $30\text{ }^\circ\text{C}$), 形成双链脱氧核苷酸(ODNs), $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。②DC 培养: RPMI 1640 培养液中, $37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 条件下培养。③NF- κB “decoy”ODNs 转染 DC: 于 6 孔培养板中接种细胞 $(2\sim 4)\times 10^6$ /孔, 转染前换 OPTI-MEM 培养液。在灭菌的 EP 管中将 $2 \mu\text{g}$ ODNs 和 $10 \mu\text{L}$ lipofectamin 分别溶于 $250 \mu\text{L}$ OPTI-MEM 培养液中, 将 lipofectamin 室温下放置 5 min 后两者混合, 轻轻混匀, 室温下放置 20 min 后转染细胞, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 5% CO_2 培养 5 h 后检测转染情况。24~48 h 后可以观察转入基因表达情况。

2.4 DC 细胞表型流式细胞术分析 参考 Ming-Qing Xu^[4]等人的方法, 第 8 天流式细胞仪检测: 分别收集各组细胞, 离心($2\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min), PBS 悬浮, 5×10^5 个/ $100 \mu\text{L}$, 每组设 3 个复孔, 加入荧光标记抗体: PE 标记的 CD11c, FITC 标记的 CD40、MHC-II, 终质量浓度为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 避光放置标记 30 min, PBS 洗 1 遍($2\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min), 加入预冷的 PBS $600 \mu\text{L}$ 至上样管中, 流式细胞仪检测各组细胞表面 CD11c, CD40, MHC-II 的表达。

2.5 免疫荧光观察各组树突状细胞(DC)NF- κB 蛋白表达情况 参考刘智群^[5]的实验方法: ①收集细胞, 离心, 去上清, 重新种于共聚焦小皿中, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 5% CO_2 培养 4 h 后吸弃上清, 预冷 PBS 洗涤 3 遍。②在预冷的 4% 多聚甲醛(PFA)中 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 固定 30 min, 常温 PBS 洗涤 3 遍 $\times 5\text{ min}$ 。③0.1% Triton X-100 破膜, 室温静置 10 min, 常温 PBS 洗 3 次 $\times 5\text{ min}$ 。④1% BSA 室温封闭 30 min。⑤加入按 1:50 稀释的一抗 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 过夜(14 h)后, PBS 洗 3 次 $\times 10$

min。⑥加入 1:1 000 稀释的 TRITC 标记的二抗室温避光孵育 1 h, PBS 洗 3 次 $\times 10\text{ min}$ 。⑦加入 1:1 000 稀释的核染色剂 DAPI, 室温染色 3~5 min, PBS 洗 3 次 $\times 10\text{ min}$ 。⑧激光共聚焦显微镜观察并拍照。

2.6 统计分析 采用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计学处理, 各实验独立重复 ≥ 3 次, 实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用最小显著差法(least significant difference, LSD)作两两比较, 多组间比较采用 Oneway-ANOVA。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠骨髓来源树突状细胞形态 如图 1 所示, 小鼠骨髓来源 DC(iDCs)聚集成团, 成集落样生长, 经 LPS 刺激后细胞大多悬浮于培养液中。

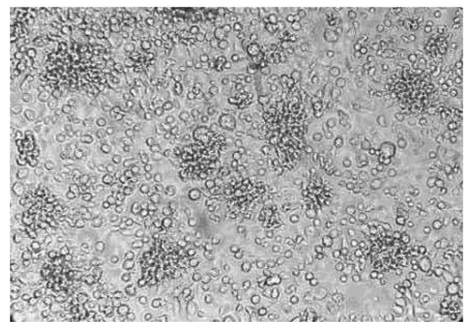


图 1 小鼠骨髓来源树突状细胞的形态

3.2 流式细胞术检测 ODN 转染效率 如图 2 所示, 流式细胞术检测各组转染效率, ODN 与脂质体比为 1:5 时转染效率最高, 可达 90% 以上, 具有检测意义。

3.3 各组小鼠骨髓来源 DC 表面分子表达水平 各组数据组内比较, 符合正态分布。各组 CD11c 表达相比较, 无明显差异性, 且均值较高, 说明本研究采用的研究方法和试剂可诱导较高纯度的小鼠骨髓系 DC。单因素方差分析清肠化湿方组 CD40, MHC II 与空白组比较, 无明显差异, 说明清肠化湿方本身对 DC 无明显刺激诱导其成熟的作用。LPS 模型组与空白组 CD40, MHC II 比较, $P < 0.05$, CD40、MHC II 表达明显增高, 说明 LPS 有刺激 DC 成熟的作用。清肠化湿方 + LPS 组与 ODN + LPS 组 CD40 比较, $P > 0.05$, MHC II 比较, $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, $P < 0.05$; 清肠化湿方组及清肠化湿方 + LPS 组的峰值明显在 LPS 组的左边, 与 ODN 组相近, 说明清肠化湿方具有类似于 NF- κB decoy ODN 的作用, 对 LPS 有一定的抑制作用, 阻止 LPS 刺激 DC 成熟和分化, 降低 DC 抗原提呈功能。见表 1。

表 1 各组小鼠骨髓来源 DC 表面分子表达水平及 NF-κB 入核率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	终质量浓度/mg·L ⁻¹	CD11c	MHC II	CD40	NF-κB 入核率
空白	-	94.30 ± 2.10	53.23 ± 4.52	6.07 ± 1.49	7.07 ± 3.70
清肠化湿方	10	91.47 ± 4.01	54.30 ± 1.9	7.20 ± 0.50	5.28 ± 2.77
清肠化湿方 + LPS	10 + 1	91.50 ± 0.62	63.03 ± 1.47 ¹⁾	51.68 ± 0.51 ¹⁾	11.19 ± 2.15
LPS	1	92.20 ± 1.31	84.30 ± 0.67	85.93 ± 0.88	94.66 ± 2.24
ODN	2 × 10 ⁻³	93.97 ± 0.62	60.13 ± 2.66	7.27 ± 0.54	12.10 ± 1.39
ODN + LPS	2 × 10 ⁻³ + 1	91.83 ± 1.19	73.71 ± 1.50 ¹⁾	49.27 ± 1.17 ¹⁾	15.87 ± 2.99

注:与 LPS 组相比¹⁾P < 0.05。

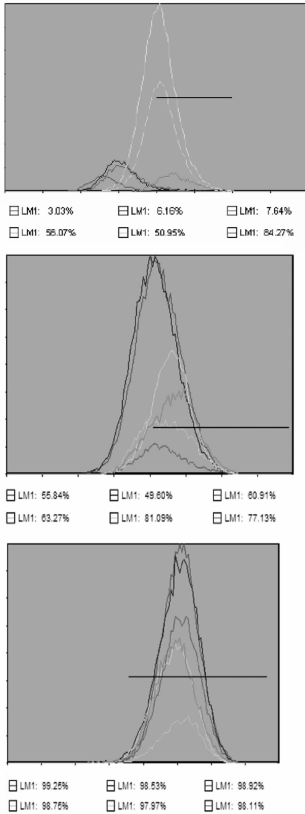
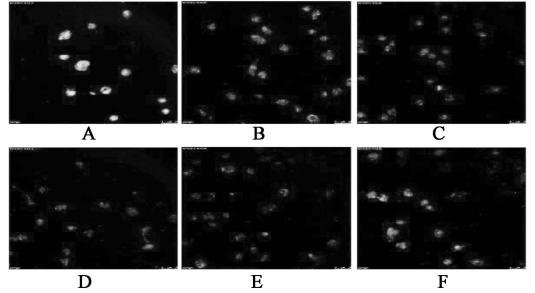


图 2 各组小鼠骨髓来源 DC 表面分子水平比较

3.4 各组药物对小鼠髓系 DC 中 NF-κB 核转位的影响 各组与 LPS 组相比较, P < 0.05, 均有显著差异; 余各组间比较无显著差异 (见表 1)。说明清肠化湿方能有效抑制 NF-κB 活化入核, 与 NF-κB ODN 的作用类似, 且二者无明显差异性。图 3 为各组 DC 细胞核中 NF-κB 荧光表达情况。

4 讨论

溃疡性结肠炎在中医古籍文献中没有固定的名称, 历代医学古籍中有“肠癖”、“休息痢”、“久痢”、“肠风”、“脏毒”等记载^[6]。早在《内经》中“肠癖”是以腹痛、便血、下利赤白脓血, 并发痔瘡为主症, 与现代医学的 UC 症状相似。汉代张仲景《伤寒杂病论》中泻痢并论, 统称“下利”。目前临床上多采用



A. LPS 组; B. 空白组; C. 清肠化湿方 10 mg·L⁻¹ 组; D. ODN 组; E. 清肠化湿方 + LPS 组; F. ODN + LPS 组

图 3 激光共聚焦显微镜下

观察各组 DC 细胞核中 NF-κB 荧光表达情况 (×630)

“久痢”病名。

现代医学治疗 UC 最常用的药物是柳氮磺氨吡啶 (SASP) 及皮质类固醇药物, 副作用大且疗效并不显著, 临床上采用中药治疗方法已成为趋势, 如李鲜明等人^[7] 采用青黛颗粒、李玲玲, 荣英蕊等^[8] 拟泄浊解毒方以及周正华, 施丽婕等^[9] 拟化瘀通阳灌肠方治疗 UC, 均取得显著疗效。根据其活动期湿热内蕴大肠的主要病机, 本研究组拟清肠化湿方^[10] 以清肠化湿、调气和血、敛疮生肌, 配合中药灌肠^[11] 治疗, 临床上取得良好疗效。

近年来, 很多研究阐明 UC 的发病与 NF-κB 在肠道炎症中的枢纽作用, DC 免疫功能亢进相关, 调控此免疫反应的关键分子进而阻断 UC 过激的炎症反应已成为研究热点。

DC^[12] 是目前已知的最强有力的一种专职抗原递呈细胞 (Professional antigen presenting cells, APC), 是肠道免疫系统中的重要组成成员。DC 抗原提呈功能与其表面免疫分子的表达密切相关, CD11c 是 DC 与其他细胞相鉴别的标志抗原, MHC-II 分子是 DC 抗原递呈的物质基础, CD40 是 DC 表达的另一种协同刺激分子, DC 的活化有赖 CD40/CD40L 结合。NF-κB^[13] 在 DC 成熟和功能表达方面有重要的作用, 过度表达是 DC 激活并发挥抗原提

呈功能的必要条件。

未成熟的小鼠髓系 DC (iDCs) 在 rmGM-CSF 刺激下,由骨髓祖细胞扩展而来^[14],低表达 CD40、MHC II 分子,NF- κ B 多以无活性的形式留驻在胞质内。经 LPS 刺激成熟的树突状细胞 NF- κ B 活化入核,高表达 CD40 和 MHC II 分子^[15],诱导抗原提呈功能亢进,导致炎症因子的释放,改变结肠黏膜上皮细胞紧密连接蛋白^[16]的结构与分布,加重肠黏膜炎症和免疫反应,形成恶性循环,致溃疡反复发作,迁延难愈。

人工合成的 NF- κ B decoy ODN 含有 NF- κ B 结合位点(GGGATTCCCC),经脂质体转染入特定的组织或细胞内可与游离的 NF- κ B 结合,从而圈套了 NF- κ B,阻止其活化。近年来,Ming-Qing Xu 等^[4]研究证明 NF- κ B decoy ODN 在同种异体器官移植中能降低 DC 的抗原提呈功能,调节免疫耐受。张洪德^[3]研究证明 NF- κ B decoy ODN 能抑制糖尿病患者外周血 DC1 的 NF- κ B 活性,降低 DC 成熟程度,减少 DC 表面共刺激分子的表达和细胞因子的分泌,从而纠正糖尿病患者 DC 的异常。

本实验研究结果显示清肠化湿方 + LPS 组与 LPS 组相比,NF- κ B 蛋白表达及 DC 表面 CD40 和 MHC II 分子的表达率均显著降低。此结果显示清肠化湿方能有效抑制 NF- κ B 的活化入核,降低 DC 表面 CD40 和 MHC II 分子的表达,从而抑制 DC 的成熟与分化,下调抗原提呈功能,降低炎症反应,是其治疗 UC 的主要机制。但有关清肠化湿方抑制 NF- κ B 的活化,影响 DC 成熟分化的关键机制,以及其发挥作用的关键成分还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Ryuichi Morishita, Toshiko Sugimoto, Motokuni Aoki, et al. *In vivo* transfection of cis element 'decoy' against nuclear factor- κ B binding site prevents myocardial infarction[J]. *Nature Medicine*, 1997,3(8):894.

[2] Kayo Inaba, William J Swiggard, Ralph M Steinman, et al. Isolation of dendritic cells[J]. *Current Protocols in Immunology*, 2009(3):7.

[3] 张洪德. ODN 阻断 NF- κ B 信号通路对糖尿病患者外周血树突状细胞发育成熟的影响[D]. 吉林:吉林大

学,2010.

[4] Ming-Qing Xu, Yu-Ping Suo, Jian-Ping Gong, et al. Prolongation of liver allograft survival by dendritic cells modified with NF- κ B decoy oligodeoxynucleotides[J]. *World J Gastroenterol*, 2004,10(16):2361.

[5] 刘智群. 清肠化湿法治疗溃疡性结肠炎的疗效评价及对 TLR4/NF- κ B 通路和肠黏膜屏障的影响[D]. 南京:南京中医药大学,2012.

[6] 杨小波,罗云坚. 古代中医对溃疡性结肠炎相关认识的启示[J]. *新中医*, 2007,39(5):103.

[7] 李鲜明,宗士群,杜立阳,等. 青黛颗粒对溃疡性结肠炎实验大鼠血清白细胞介素 6 和 10 水平的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2011,19(2):81.

[8] 荣英蕊,刘建平,郎晓猛,等. 泄浊解毒方对溃疡性结肠炎大鼠 TLR 4IB 及 IL8 表达的影响[J]. *山西中医*, 2011,27(4):46.

[9] 周正华,施雨婕,杨强,等. 化瘀通阳灌肠方对溃疡性结肠炎患者高凝状态的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2012,27(8):2155.

[10] 沈洪,张声生,王垂杰,等. 中药分期序贯方案对轻中度溃疡性结肠炎血沉和 C 反应蛋白的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2011,19(2):101.

[11] 叶柏,沈洪,陆乐,等. 清化活血敛疡法治疗溃疡性结肠炎 100 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2008,49(11):986.

[12] KAYO INABA. Dendritic cells as antigen-presenting cells *in vivo* [J]. *Immunology and Cell Biology*, 1997,75:206.

[13] Xiuqing Wang, Ding-geng Chen. Recombinant murine cytomegalovirus vector activates human monocyte-derived dendritic cells in a NF- κ B dependent pathway [J]. *Molecular Immunology*, 2009,46(16):3462.

[14] Ralph M Steinman, Kayo Inaba. Myeloid dendritic cells [J]. *J Leukocyte Biol*,1999,66(8):205.

[15] Nick Giannoukakis, C Andrew Bonham, Shiguang Qian, et al. Prolongation of cardiac allograft survival using dendritic cells treated with NF- κ B decoy oligodeoxyribonucleotides[J]. *Molecular Therapy*, 2000(5):430.

[16] 刘智群,沈洪,朱莹莹,等. 清肠化湿方对 TNBS 诱导大鼠 UC 模型紧密连接蛋白的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2012,39(8):1617.

[责任编辑 聂淑琴]