

· 基础研究 ·

化癥通阳方对溃疡性结肠炎大鼠巨噬细胞炎性蛋白-2 的影响

郝冉^{1*} 施丽婕² 笪如桥^{1△} 杜丽明^{1▲} 张栋栋^{1○} 刘旭^{1●} 白洁琼^{1○}

摘要 目的 观察化癥通阳方对溃疡性结肠炎(UC)大鼠巨噬细胞炎性蛋白-2(MIP-2)的影响。**方法** 将 54 只 Wister 大鼠随机取 14 只为空白对照组,其余 40 只为模型组,采用葡聚糖硫酸钠(DSS)自由饮用结合灌胃方法进行模型复制,将模型组随机分为生理盐水组、美沙拉嗪组、化癥通阳组,每组 10 只,分别给予生理盐水、美沙拉嗪灌肠液、化癥通阳中药进行灌肠治疗,给药 10 天后剖取大鼠结肠黏膜组织。用生物素标记各组黏膜组织的总蛋白,采用细胞因子抗体芯片分析各组的差异表达蛋白。对筛选出的蛋白采用免疫组化方法进行验证。**结果** 芯片分析筛选出模型组中 MIP-2 表达较空白对照组有显著差异,美沙拉嗪组、化癥通阳组较模型组为低表达。免疫组化验证空白对照组未见或见少量棕色染色的 MIP-2 蛋白表达,模型组染色程度高于空白对照组,评分比较差异有统计学意义($P < 0.05$),美沙拉嗪组、化癥通阳组与生理盐水组比较,染色程度低于生理盐水组($P < 0.05$)。**结论** UC 大鼠活动期 MIP-2 表达明显升高;化癥通阳方与美沙拉嗪皆能够降低 MIP-2 的表达。

关键词 溃疡性结肠炎;化癥通阳方;巨噬细胞炎性蛋白-2;抗体芯片

Effect of Huayu Tongyang Recipe on Macrophage Inflammatory Protein-2 of Ulcerative Colitis Rats
HAO Ran¹, SHI Li-jie², DA Ru-qiao¹, DU Li-ming¹, ZHANG Dong-dong¹, LIU Xu¹, and BAI Jie-qiong¹
1 Graduate College, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193); 2 Department of Gastroenterology, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Huayu Tongyang Recipe (HTR) on macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) in rats with ulcerative colitis (UC). **Methods** Totally 54 Wistar rats were randomly divided into the blank control group ($n = 14$) and the model group ($n = 40$). UC rat model was duplicated by free drinking 5% dextran sulphate sodium (DSS) solution and gastric administration of DSS solution. After modeling, successfully 30 modeled rats in the model group were randomly divided into normal saline group, mesalazine group, HTR group, 10 rats in each group. Enema treatment was given to rats in normal saline, mesalazine enema, and HTR groups respectively. After 10 days medication, the colonic mucosa of rats were dissected. The total protein of the mucosal tissues of each group was labeled with biotin. The differentially expressed proteins were analyzed by using cytokine antibody microarray. The identified proteins were tested by immunohistochemistry. **Results** The expression of MIP-2 in the model group was significantly different from that in the blank control group. Compared with the model group, the expression of MIP-2 was lower in mesalazine group and HTR group after treatment. Immunohistochemistry showed that there was no or a small amount of brown stained MIP-2 expression in the blank control group. The staining degree of the model group was higher than that of the blank control

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81373848)

作者单位: 1. 天津中医药大学研究生院(天津 300193); 2. 天津中医药大学第一附属医院脾胃科(天津 300193)

现作者单位: * 秦皇岛市中医医院脾胃科(河北 066000); △ 天津河北区王串场街社区卫生服务中心(天津 300193); ▲ 开滦总医院(河北唐山 063000); ○ 天津市武清区中医医院(天津 301700); ● 天津市人民医院内镜中心(天津 300121)

通讯作者: 施丽婕, Tel: 022-27432460, E-mail: slj629@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20171207. 300

group, with statistical difference ($P < 0.05$). Compared with the normal saline group, the staining degree was lower in mesalazine group and HTR group ($P < 0.05$). Conclusions The activity of MIP-2 expression increased significantly in active stage UC rats. HYR and mesalazine could effectively reduce the expression of MIP-2.

KEYWORDS ulcerative colitis; Huayu Tongyang Recipe; macrophage inflammatory protein-2; anti-body chip

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的慢性自身免疫性肠炎,容易引起多种并发症,严重地影响了患者的生活质量。其发病机制至今尚不完全明确,缺乏有效的治疗方法。现代药物多应用 5-氨基水杨酸、免疫制剂、激素或生物制剂治疗虽然能缓解症状,促进黏膜愈合,但不良反应较多。而研究发现中医药在本病的预防、治疗及改善生活质量等方面显示出了优势^[1]。本研究主要探讨化瘀通阳方对 UC 大鼠模型巨噬细胞炎性蛋白-2 (macrophage inflammatory protein-2, MIP-2) 的影响。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 Wister 大鼠 54 只,购自北京华阜康有限责任公司(许可证号: SCXK(京)2014-0004,合格证: No. 11401300025067)。鼠龄 8 周,体重为 170 ~ 190 g。大鼠正常饮食,在室温 22 ℃ 下饲养,相对湿度 40% ~ 60%,正常光照,自由饮水。本实验遵守国家有关实验动物保护和使用准则。

2 药物与试剂 化瘀通阳方由蒲黄 10 g、五灵脂 10 g、薤白 10 g 组成(以上药物由天津中医药大学第一附属医院药剂科提供),按照中药常规煎法制成每千克 2.7 g 生药的药液,依据徐叔云教授主编的《药理实验方法学》中的药物剂量换算法^[2],按相当于成人 6.3 倍等效量,计算得出大鼠的给药浓度为 0.54 g/mL。葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS, 美国 MP 公司,批号: M8667),美沙拉嗪灌肠液(德国莎尔福 Falk 药厂,批号: 15G58),AAR-BLM-1 试剂盒(美国 RayBiotech 公司),Rabbit Anti-MIP-2(美国 santa 公司,批号: HZ390031),苏木素-伊红染色液、二甲苯溶液(北京百浩生物科技有限公司),各浓度梯度乙醇(北京龙迈达斯科技有限公司),柠檬酸钠抗原修护液(碧云天生物医药研究所),Gibco 山羊血清(上海酶联生物科技有限公司),二抗(美国 Zymed 公司),ImageQuant LAS4000 扫描仪(美国 GE 公司),显微镜(日本欧林巴斯公司),切片机(德国莱卡公司)。

3 分组与 UC 模型制备及干预方法 从 54 只大鼠中随机取 14 只为空白对照组,自由饮用蒸馏水。其余 40 只为模型组,采用 DSS 自由饮用结合灌胃方法进行模型复制^[3],给予 5% DSS 溶液自由饮用 7 天,并且每天每只给予 4 mL 5% DSS 溶液灌胃,所有大鼠均正常饮食。造模期间模型组大鼠死亡 4 只,空白对照组大鼠无死亡。造模第 7 天结束后随机抽取模型组中 6 只大鼠处死;在空白对照组中随机取 4 只大鼠处死,并与模型组对照,观察 UC 模型组大鼠是否建立,随机留取模型组及空白对照组各 4 只大鼠黏膜组织,以备抗体芯片检测细胞因子之用。造模成功后第 2 天,将模型组大鼠随机分为生理盐水组、美沙拉嗪组、化瘀通阳组,每组 10 只,分别给予生理盐水、美沙拉嗪灌肠液(0.036 g/mL)、化瘀通阳中药剂(0.54 g/mL)进行灌肠治疗,每次 2 mL,保留 10 min,每天 1 次,共治疗 10 天。10 天后将所有大鼠脱颈处死并取材。

4 取材 各组大鼠腹腔麻醉后使用脱颈椎法处死大鼠,肉眼观察黏膜损伤状态,选取损伤明显处长约 1 ~ 2 cm, 4% 中性甲醛溶液浸泡固定,制作病理切片。随机取 4 只美沙拉嗪组及 4 只化瘀通阳组大鼠肠组织重量约 200 mg 黏膜,迅速放入液氮中, -80 ℃ 保存,用于检测抗体芯片。

5 观察指标及方法

5.1 大鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI) 观察大鼠的活动状态、皮毛光泽度,并记录每天每只大鼠的体重、粪便性状及便潜血情况,便潜血测定采用邻联甲苯胺法^[4]检测,进行大鼠 DAI 评分。DAI 评分标准见表 1^[5]。

表 1 DAI 评分标准			
计分(分)	体重下降率(%)	大便秘状	便血情况
0	无	正常便	潜血(-)
1	1 ~ 5	松散便	潜血(+)
2	6 ~ 10		潜血(++)
3	11 ~ 15	稀便	潜血(+++)
4	> 15		肉眼血便

注:每只大鼠每日 DAI 评分为 3 项评分和的平均值

5.2 病理观察 中性甲醛固定 24 h 后,将组织

在流动的水下冲洗至少 10 min,置于不同浓度的乙醇液体中,浸蜡 2.5 h,石蜡包埋组织,切片,切片厚度 3 μm 。捞片,置于乙醇溶液中,用蒸馏水冲洗,苏木素染液染色,流水冲洗后用 HE 分化液浸泡,置于返蓝液中,再次流水置于伊红染液中染色,置于乙醇溶液中,用中性树胶封片,并进行光镜观察。

5.3 细胞因子检测 应用 AAR-BLM-1 细胞因子抗体芯片试剂盒进行细胞因子检测,按照抗体芯片说明书进行操作。在孵育盒中加入 2.5 mL 封闭缓冲液,孵育 1 h;抽去封闭液后,加入 2.5 mL 封闭液稀释好的样品;去除样品,用不同的洗液洗膜 7 次;加入生物素标记抗体,孵育 2 h,重复洗膜 5 次;加入稀释的 HRP-链霉亲和素,孵育 2 h,重复洗膜 5 次;检测反应抗体芯片膜与检测缓冲液混匀,孵育 10 min,去除过量检测试剂,干燥后将膜夹在两塑料薄膜之间;使用扫描仪进行扫描。抗体芯片样本图像用扫描仪进行扫描,提取芯片数据,按照选取信号值 > 200 为表达有意义。应用扫描仪配套的分析软件计算出每个有表达意义细胞因子的差异倍数,按差异倍数 > 2.0 倍表示该细胞因子表达上调,差异倍数 < 0.5 倍表示该细胞因子表达下调。

5.4 免疫组化染色 以多聚赖氨酸防脱片处理后的玻片捞片,把切片置于 68 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱中烤片 2 ~ 8 h,依次于二甲苯溶液 2 道 15 min,置于各浓度乙醇,冲洗后置于缓冲液中,在高压条件下进行抗原修复,滴加过氧化氢,入 PBS 洗液 3 道,滴加山羊血清覆盖,滴加配置好的一抗覆盖,孵育 1 h,在 PBS 缓冲液中 3 道,滴加二抗孵育 0.5 h,冲洗后滴加 DAB 显色剂显色,镜下控制显色程度,终止,苏木素 15 s 复染细胞核,脱水后置于二甲苯溶液透明,中性树胶封片。镜下观察 MIP-2 蛋白在肠黏膜的表达情况,根据免疫组化染色定量评分标准进行评价,评分标准见表 2。

表 2 免疫组化染色定量评分

内容	计分(分)	蛋白染色情况
蛋白染色程度	1	不着色
	2	着浅棕色
	3	着棕色,核蓝色
	4	着棕褐色或深棕黄色,核深蓝色
阳性蛋白数量	1	少于视野范围内细胞数的 5%
	2	视野范围内细胞数的 5% ~ 25%
	3	视野范围内细胞数的 26% ~ 50%
	4	超过视野范围内细胞数的 50%

注:免疫组化评分为阳性染色程度评分与阳性蛋白数量评分之积

进行分析。符合正态性分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素的方差分析;不符合正态分布,计数资料用中位数表示,组间比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠 DAI 评分比较(图 1,表 3) 空白对照组大鼠毛色色泽正常,饮食正常,体重保持或稍有增加。生理盐水组、化瘀通阳组、美沙拉嗪组大鼠在造模第 4 天后明显出现精神不佳,少食,大便次数增加,大便潜血阳性,部分出现肉眼血便,体重明显减轻。造模期间共死亡大鼠 4 只。化瘀通阳组及美沙拉嗪组在分别灌肠治疗第 7 天和第 6 天后出现体重上升,活动增加,饮食增加,大便无潜血或潜血(+)。与空白对照组比较,模型组 DAI 评分升高($P < 0.01$),与生理盐水组比较,美沙拉嗪组、化瘀通阳组 DAI 评分明显降低($P < 0.05$),美沙拉嗪组与化瘀通阳组评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

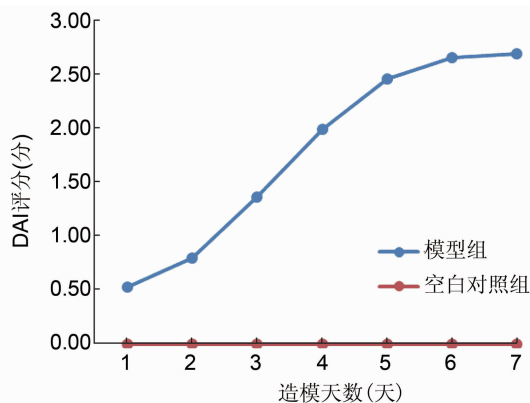


图 1 造模期间 DAI 评分

表 3 治疗后各组大鼠 DAI 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	DAI 评分
生理盐水	8	1.26 $\pm$ 0.43
美沙拉嗪	9	0.59 $\pm$ 0.28 *
化瘀通阳	9	0.63 $\pm$ 0.26 *

注:组间 $F=4.15$, $P < 0.05$;与生理盐水组比较, * $P < 0.05$

2 各组大鼠结肠组织病理形态观察比较(图 3) 空白对照组结肠黏膜组织可见结肠隐窝,柱状细胞表面具有纹状缘,杯状细胞丰富,肠道黏膜层、黏膜基层、浆膜层结构清晰(图 3A)。造模后模型组肠管结构破坏严重,结构不清晰,隐窝细胞大面积丢失,炎细胞浸润达到黏膜下层(图 3B)。治疗后化瘀通阳组结肠黏膜可见杯状细胞丢失,炎细胞浸润在隐窝基底层(图 3C)。美沙拉嗪组结肠纹状缘、

杯状细胞、黏膜层、黏膜肌层、黏膜下层结构完整。炎细胞浸润达黏膜肌层(图 3D)。生理盐水组结肠黏膜可见隐窝细胞丢失,炎细胞浸润达黏膜下层(图 3E)。

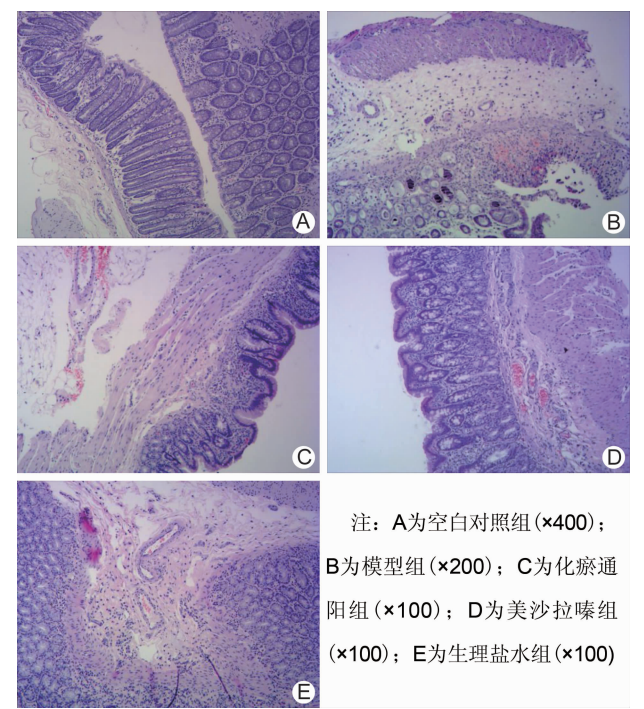
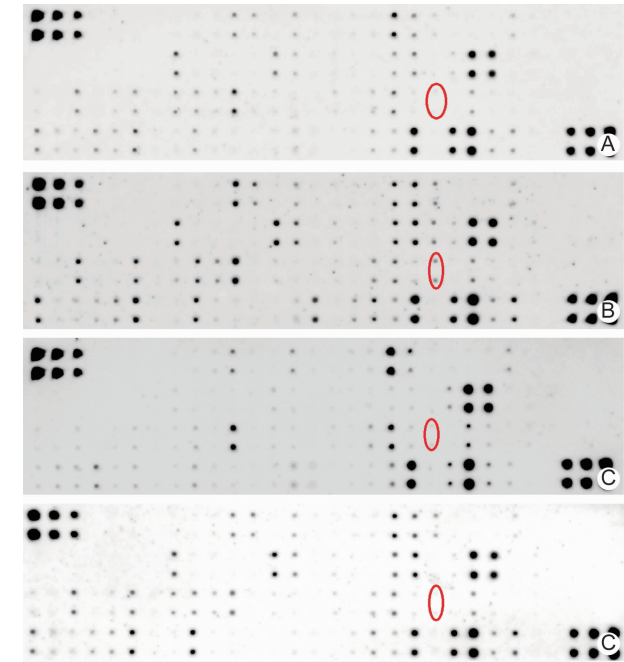


图 2 各组大鼠结肠组织病理观察 (HE)

3 各组大鼠细胞因子检测比较(图 3) 按照筛选标准从 90 种细胞因子中初步筛选出有表达意义的细胞因子共 26 种,其中,模型组肠黏膜组织中 MIP-2 较空白对照组呈高表达。治疗后美沙拉嗪组与化癍通阳组肠黏膜组织较模型组均呈低表达。造模后模型组与空白对照组比较,差异倍数为 10.50 > 2.0,细胞因子表达上调,治疗后化癍通阳组、美沙拉嗪组与模型组比较,差异倍数分别为 0.09、0.17,均 < 2.0,细胞因子表达下调。

4 各组大鼠免疫组化评分比较(图 4,表 4、5) 空白对照组未见棕色染色的 MIP-2 蛋白,模型组蛋白表达较空白对照组升高,染色程度高于空白对照组,两组评分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与生理盐水组比较,化癍通阳组、美沙拉嗪组评分明显降低($P < 0.05$)。

表 4 两组肠黏膜 MIP-2 蛋白免疫组化染色评分比较 [分, M(p25,p75)]					
组别	n	评分	平均秩	Z	P
空白对照	10	0.00(0.00,2.00)	7.55	-2.31	0.02
模型	10	4.00(1.50,4.50)	13.45		



注:A 为空白对照组 (×400);B 为模型组 (×200);C 为化癍通阳组 (×100);D 为美沙拉嗪组 (×100);红色圆圈表示 MIP-2 信号

图 3 各组大鼠抗体芯片结果

表 5 治疗后肠黏膜 MIP-2 免疫组化染色评分比较 [分, M(p25,p75)]			
组别	n	评分	平均秩
生理盐水	8	3.00(3.00,4.00)	20.81
美沙拉嗪	9	2.00(1.00,2.00) *	9.61
化癍通阳	9	2.00(1.00,2.50) *	10.89

注:组间 $F = 11.65, P < 0.05$;与生理盐水组比较, * $P < 0.05$

讨 论

UC 是一种直肠和结肠的慢性非特异性炎症性疾病。本病发病原因尚不明确,主要包括环境、感染、免疫以及遗传之间的复杂交互反应所致^[6],这些反应引起非特异性炎症细胞的激活,炎性细胞因子与介质产生,最后造成肠黏膜的损伤。MIP-2 是一种趋化因子,分子量为 6kD,其 cDNA 编码 100 个氨基酸,成熟蛋白质有 73 个氨基酸残基。其具有种属特异性,人的 MIP-2 基因定位于 4 号染色体,鼠定位于 5 号染色体,属于 CXC 类趋化因子,鼠的 MIP-2 主要受体是 CXCR2。对中性粒细胞具有较强的趋化作用。它能选择性诱导中性粒细胞在组织聚集,其作用一方面可特异性趋化中性粒细胞到炎症组织,加强中性粒细胞对病原菌的清除,参与集体的防御反应;另一方面,它能活化中性粒细胞释放过量的髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)等酶类,造成组织损伤。有研究表明,炎

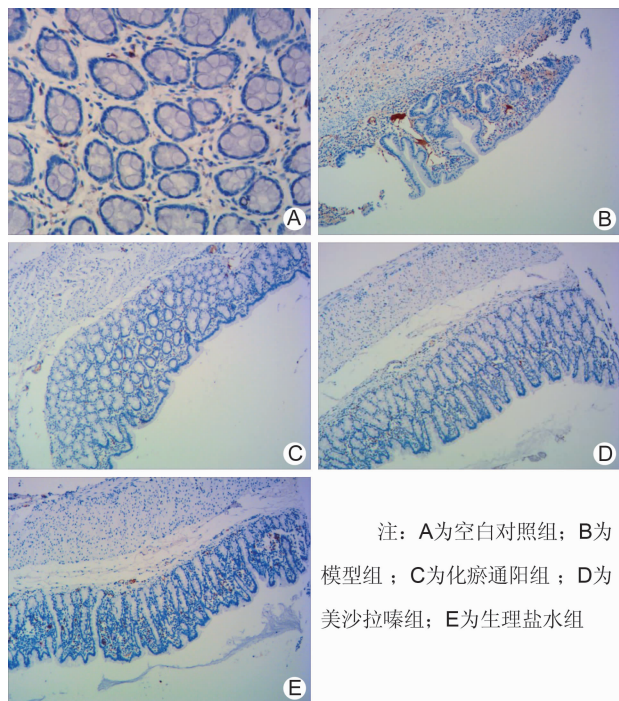


图4 各组免疫组化结果

症反应中 MIP-2 可促进白细胞与内皮细胞外基质中带有硫酸乙酰的葡聚糖相互作用,增加白细胞与内皮细胞的黏附,且可上调白细胞表面黏附分子 CD11b/CD18 的表达,可导致白细胞穿越内皮细胞到达炎症部位^[7];研究证明,脂多糖所诱导的 MIP-2 是通过 Toll 受体 4 (TLR4) 涉及到核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 及其抑制蛋白 κ B (inhibitor protein κ B, I- κ B) 所表达的^[8]。此因子表达水平时间越长,炎症越严重。熊玉宝^[9]认为 MIP-2 通过诱导白细胞的趋化和活化在小鼠急性胰腺炎损伤模型的病理过程中发挥了关键作用;米续等^[10]认为在慢性非细菌性前列腺炎大鼠的前列腺液中 MIP-2 含量明显高于正常组前列腺液中 MIP-2 含量,提示 MIP-2 在慢性非细菌性前列腺炎中起着很重要的作用;曾玉兰等^[7]认为支气管肺炎大鼠中白细胞总数及中性粒细胞、MIP-2 显著增高,提示慢性支气管炎、肺组织内存在中性粒细胞的聚集、活化,且与 MIP-2 的特异性趋化作用密不可分。有研究表明,在一些动物炎症和损伤的模型中, MIP-2 是在间接的肠道损伤时所诱导的血小板激活因子的主要角色,同时也是导致中性粒细胞浸润和后续组织损伤的主要诱导趋化因子^[11]。

以上可以表明, MIP-2 与炎症所诱导的疾病密切相关,而 UC 的发病机制与炎症介导相关,本实验表明 UC 的发病可能与 MIP-2 的表达升高有关,通过化癥通阳方或美沙拉嗪治疗后的大鼠, MIP-2 的表达较生

理盐水组降低。可以推测,当肠黏膜组织受到损伤后,通过 TLR4 涉及到的 NF- κ B 及 I- κ B 表达 MIP-2, MIP-2 在病损处形成浓度梯度,并与其受体 CXCR2 结合后,吸引中性粒细胞黏附于细胞壁,使中性粒细胞不可逆的黏附在血管内皮表面,穿过内皮细胞间隙和基底膜,随着浓度梯度进入到病变部位,加强中性粒细胞对病原菌的清除。同时,浸润的中性粒细胞分泌大量的 MIP-1 α , MIP-1 α 激活整合素,增强了中性粒细胞与细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 黏附的作用,促进中性粒细胞的黏附、迁移,从而反向诱导 MIP-2 的表达,最终导致大量中性粒细胞的浸润,引发进一步的炎症反应和组织损伤^[12]。因此,在疾病发病初期, MIP-2 可诱导中性粒细胞到病变部位,对损伤部位的病原菌进行清除,当疾病进一步发展,中性粒细胞对 MIP-2 的正反馈作用使得 MIP-2 进一步趋化和活化中性粒细胞到病变部位,加重疾病的炎症反应。经过治疗后美沙拉嗪组与化癥通阳组肠黏膜 MIP-2 的表达均出现下降,因此可以提出,可能由于 MIP-2 的表达下降,减少了中性粒细胞的活化,并减少炎症的损伤,最终使 UC 病情减轻。

本实验在制备 DSS 诱导 UC 大鼠模型的基础上发现自拟化癥通阳方可以明显改善大鼠体重、减轻血便和腹泻症状。古人注意到血瘀与泄泻的关系,《医林改错》中记载“腹肚作泻,久不愈者,必瘀血为本”^[13]。现代研究也发现血瘀是贯穿 UC 发病的始终,运用活血化癥之法可有一定的效果态^[14]。方中蒲黄、五灵脂均有止血、活血散瘀的功效。卫阳为机体阳气的重要部分,具有保护卫表,抵御外邪的作用。卫阳具有自稳功能,能够识别“自我与非我”,对“非我”如致病因素产生抗争和排斥,而对“自我”则采用和平共处的非干扰状态^[15]。卫阳又具有类似于现代免疫学中的免疫功能。它不仅在体表起到了防御作用,同时在机体内部与病邪的斗争中发挥着抵御作用,卫阳滋生于脾,宣发于肺,卫气固,则邪不入侵,当机体受到外邪的侵袭时,卫阳因其慄疾滑利的特性而首先抵御外邪。故以薤白宣通卫阳,配合活血化癥之剂自拟了化癥通阳方,并应用该方在临床上取得了初步疗效^[16]。本研究也证实了此方可以改善 UC 大鼠的形态学结构,促进肠黏膜愈合,并降低 MIP-2 的表达。

本研究为探索性实验,样本量较少,有待于加大样本量,进行更深入的研究。同时对于 MIP-2 在 UC 的具体作用机制尚待进一步研究,在今后研究中应进一步分析化癥通阳方的药理成分及作用机制。

参 考 文 献

- [1] 谢晶日, 孙涛, 张冰. 溃疡性结肠炎的中医药治疗进展及相关优势探讨[J/OL]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(2): 425-427.
- [2] 徐叔云主编. 药物试验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202.
- [3] 鲁兵, 余万桂, 吴国栋. 溃疡性结肠炎模型建立的研究进展[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2013, 10(6): 102-105.
- [4] 彭小青. Th1/Th2 细胞炎症因子在大鼠溃疡性结肠炎治疗模型中的表达研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [5] Hamamoto N, Maemura K, Hirata L, et al. Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice by intracolonicly administered antibodies against adhesion molecules [endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)] [J]. Clin Exp Immunol, 1999, 117(3): 462-468.
- [6] 陈治水, 陈宁. 溃疡性结肠炎中西医结合研究新进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(4): 437-442.
- [7] 曾玉兰, 杨荣时, 彭红星. 盐酸氨溴索对吸烟诱导的支气管肺炎大鼠 MIP-2 的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(17): 2585-2587.
- [8] Xu BL, Zhang GJ, Ji YB. Active components alignment of Gegen Qinlian Decoction protects ulcerative colitis by attenuating inflammatory and oxidative stress [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 162(5): 253-260.
- [9] 熊玉宝. MIP-2 在大鼠急性胰腺炎肺损伤发病机制中的作用[D]. 苏州: 苏州大学, 2004.
- [10] 米续, 赵景良, 张志杰, 等. MIP-2 在慢性非细菌性前列腺炎前列腺液中的表达及意义[J]. 中国误诊学杂志, 2007, 30(7): 7276-7277.
- [11] Li HM, Wang YY, Wang HD, et al. Berberine protects against lipopolysaccharide induced intestinal injury in mice via alpha 2 adrenoceptor-independent mechanisms [J]. Acta Pharmacologica Sin, 2011, 32(11): 1364-1372.
- [12] 王世锋, 王文波, 吴苏舒. 肺型氧中毒小鼠肺组织巨噬细胞炎症蛋白-2 mRNA 表达的改变[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2006, 13(4): 239-242.
- [13] 清·王清任. 医林改错[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 31.
- [13] 刘彦晶, 冷炎, 金学沫, 等. 行气活血化痰法对溃疡性结肠炎患者血清 TNF- α 和 IL-6 的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(17): 4753-4755.
- [15] 许朝进, 席孝贤, 贺新怀. 卫气与黏膜免疫相关性辨识[J]. 中医药学刊, 2005, 23(1): 120-123.
- [16] Shi LJ, Shi L, Liu LL, et al. Effect of yang-activating and stasis-eliminating decoction from Traditional Chinese medicine on intestinal mucosal permeability in rats with ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 37(4): 452-460.

(收稿: 2015-10-14 修回: 2017-11-25)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶