

盐酸小檗碱对溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜机械屏障的保护作用

沈雁¹, 王章流¹, 郑华君¹, 钟继红¹, 徐磊¹, 江向红¹, 倪思忆¹, 李思² (1.浙江中医药大学附属第二医院消化内科, 杭州 310005; 2.浙江省立同德医院儿科, 杭州 310012)

摘要: 目的 观察盐酸小檗碱(berberine hydrochloride, BBR)对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠结肠黏膜机械屏障的干预作用, 探讨其治疗 UC 的可能机制。方法 BALB/c 小鼠随机分为空白对照组, 模型对照组, BBR 低、中、高剂量组和柳氮磺吡啶阳性对照组。采用右旋葡聚糖硫酸钠(DSS)法复制 UC 小鼠模型后, 灌胃给药 7 d。每天观察小鼠一般情况并评估疾病活动指数(DAI); 末次给药后解剖取结肠组织, 切片、HE 染色观察组织的病理学变化; Western blot 法测定肠道干细胞标志物 LGR-5 和 TERT 的含量; 免疫组化 SP 法检测紧密连接蛋白 claudin-1、occludin 和 ZO-1 的表达水平。结果 与模型对照组比较, BBR 治疗组小鼠结肠炎的临床表现和结肠组织病理表现明显改善, DAI 评分下降; 经中、高剂量 BBR 治疗后, UC 小鼠结肠组织中 LGR-5、TERT 和紧密连接蛋白 claudin-1、occludin 和 ZO-1 的表达水平均较模型对照组明显升高, 差异有统计学意义。结论 BBR 能有效减轻 UC 小鼠的结肠炎症, 其机制可能与其抑制肠道干细胞和紧密连接蛋白的破坏、保护肠黏膜机械屏障稳态有关。

关键词: 小檗碱; 溃疡性结肠炎; 肠黏膜机械屏障; 肠道干细胞; 紧密连接蛋白

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)12-1765-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.12.003

引用本文: 沈雁, 王章流, 郑华君, 等. 盐酸小檗碱对溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜机械屏障的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1765-1770.

Protective Effects of Berberine Hydrochloride on the Intestinal Mucosal Mechanical Barrier in Mice with Ulcerative Colitis

SHEN Yan¹, WANG Zhangliu¹, ZHENG Huajun¹, ZHONG Jihong¹, XU Lei¹, JIANG Xianghong¹, NI Siyi¹, LI Si² (1.Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China; 2.Department of Pediatrics, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effects of berberine hydrochloride(BBR) on the colonic mucosal mechanical barrier in mice with ulcerative colitis(UC), and to explore the possible mechanisms of its therapeutic effects on UC. **METHODS** BALB/c mice were randomly divided into blank control group, model control group, low dose BBR group, middle dose BBR group, high dose BBR group and salazosulfapyridine positive control group. UC mouse model was established by dextran sulphate sodium(DSS), and then daily gavage administration was given for 7 days. During the course of experiment, the general conditions of mice were observed, and disease activity index(DAI) were assessed. At the end of treatment, colon tissue were sectioned and HE stained, and its pathological changes were observed under light microscope, the contents of LGR-5 and TERT were determined by Western blot, the expression level of claudin-1, occludin and ZO-1 were detected by immunohistochemical method. **RESULTS** Compared with model control group, the clinical and pathological symptoms of colitis in BBR groups were improved greatly, with their DAI were all decreased. After middle or high dose BBR treatment, the expression levels of LGR-5, TERT, claudin-1, occludin and ZO-1 of colonic tissue in UC mice were all increased when comparing with model control group, whose difference were statistically significant. **CONCLUSION** BBR can effectively relieve colitis in UC mice, the mechanism may be related to keeping the steady state of intestinal mucosal barrier by suppressing the destruction of intestines stem cells and tight junction proteins.

KEYWORDS: berberine; ulcerative colitis; intestinal mucosal mechanical barrier; intestinal stem cells; tight junction proteins

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种以黏膜炎症和溃疡形成为主要病理特征的慢性结肠炎性疾病, 临床呈现出反复发作和迁延不愈的特点, 严重者可并发结肠穿孔、大出血和中毒性巨结肠等, 癌变风险高, 预后差, 已被 WHO 列为现

代难治病之一^[1-3]。近来有研究指出^[4-7], 肠黏膜屏障损伤及由此导致的肠上皮通透性增高是 UC 发病的始动因素和病情进展的核心环节。保护肠黏膜屏障稳态、促进黏膜愈合已成为当前 UC 治疗药物开发的主要研究方向之一。盐酸小檗碱

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2016KYB223); 浙江省中医药科技计划项目(2015ZB066)

作者简介: 沈雁, 女, 硕士生, 主治医师 Tel: 13505716204 E-mail: shendanxi61115@163.com

(berberine hydrochloride, BBR)又名盐酸黄连素,是从中药黄连中提取出来的有效成分,其不良反应小^[8],价格低廉,临床应用广泛^[9-11]。大量研究表明,小檗碱对实验性 UC 模型有良好的治疗作用,但其是否通过保护肠黏膜屏障而发挥抗 UC 效应的机制罕见报道。本研究从结肠黏膜机械屏障的角度出发,在评价 BBR 对 UC 治疗作用的基础上,探讨 BBR 抗 UC 的部分作用机制。

1 材料

1.1 动物

健康 SPF 级 BALB/c 小鼠 72 只,♂,8 周龄,体质量(20±2)g,购自中国科学院上海实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0006。实验动物使用许可证号:SYXK(浙)2015-0008。

1.2 药品与试剂

右旋葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS, Sigma-Aldrich 公司,批号:31404;Fluka:5 000 MW);BBR(Sigma-Aldrich 公司,批号:1065210;分子量:371.81);柳氮磺吡啶(salazosulfapyridine, SASP, Sigma-Aldrich 公司,批号:1636005;分子量:398.39);组织总蛋白提取试剂(Thermo Pierce 公司,批号:78510);30%丙烯酰胺溶液(Bio-Rad 公司,批号:161-0156);ECL DualVue WB Marker (GE 公司,批号:RPN810);LGR5(批号:ab137484)、TERT(批号:ab191523)一抗均购自 Abcam 公司;claudin-1(批号:SAB4503545)、occludin(批号:SAB4200489)、ZO-1(批号:SAB1306492)一抗均购自 Sigma-Aldrich 公司;抗兔(批号:31160)和抗鼠(批号:31210)二抗均购自 Thermo Pierce 公司; β -actin (Santa Cruz 公司,批号:SC-47778)。

1.3 仪器

RM2235 型石蜡切片机(德国 Leica 公司);BX20 型荧光显微镜摄像机(日本 OLYMPUS 公司);GNP-9080 型隔水式恒温培养箱(中国上海精宏医疗设备有限公司);DU800 型紫外分光光度计(美国 Beckman 公司);3-18K 型高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司);Mini-PROTEAN 电泳系统和 Mini Trans-Blot 转印系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 药物混悬液的配制

按人-小鼠体表面积换算,分别用蒸馏水配制成低、中、高浓度的 BBR 混悬液(50, 75, 100 mg·kg⁻¹)和 SASP 混悬液(30 mg·kg⁻¹)。

2.2 分组及处理

小鼠适应性养殖 1 周后随机分为 6 组,分别为空白对照组,模型对照组,BBR 低、中、高剂量组和阳性对照组,每组 12 只。

参考文献^[12]采用 DSS 法建立 BALB/c 小鼠 UC 模型,空白对照组小鼠每日自由饮用纯净水,其他各组小鼠每日自由饮用 5%DSS 溶液 2 周。自造模成功次日起,全部小鼠改为正常饮水,BBR 治疗组和阳性对照组分别灌胃给予低、中、高剂量的 BBR 混悬液和 SASP 混悬液 0.4 mL,模型对照组灌胃给予等体积的蒸馏水,每日 1 次,共 7 d。

2.3 一般情况观察

自造模之日起,每日观察并记录小鼠精神状态、进食、饮水和活动等一般情况,每日定时称量小鼠体质量,观察粪便性状和便血情况,并参考文献^[13]行疾病活动度评分(disease activity index, DAI),DAI=(体质量减轻率分数+大便性状分数+隐血程度分数)/3。

2.4 结肠组织病理学检测

药物治疗结束后,全部小鼠以颈部脱臼法处死,严格无菌条件下取出结肠组织,肉眼观察黏膜及浆膜面的变化。组织修整大小为 1.0 cm×1.0 cm×0.2 cm,4%多聚甲醛固定 24 h,石蜡包埋,3~4 μ m 厚,连续切片,HE 染色后光镜观察组织病理学变化。

2.5 结肠组织中肠道干细胞标志物 LGR-5 和 TERT 蛋白表达的测定

采用 Western blot 法进行测定。提取结肠组织总蛋白,BCA 法测定蛋白含量。配制 8%~12%分离胶和 5%浓缩胶,各组均取 60 μ g 蛋白,每孔 10~15 μ L,浓缩胶 60 V、分离胶 80 V 进行 SDS-PAGE 电泳 2 h 左右。SDS-PAGE 凝胶平衡后在冷却条件下以 100 V 恒压全湿转膜 2 h,之后用含 5% BSA 的 T-TBS 室温封闭 1 h,然后再用 T-TBS 漂洗 3 次,每次 5 min。分别用抗 LGR-5、TERT 和 β -actin 的一抗和相应二抗孵育,T-TBS 洗膜 5 次,每次 5 min。最后用 ECL 检测阳性信号,显影定影后采用 BandScan 5.0 软件分析条带的光密度值。目的蛋白相对表达量=目的蛋白光密度值/内参光密度值×10⁴进行表示。

2.6 结肠组织中紧密连接蛋白 claudin-1、occludin 和 ZO-1 表达的测定

石蜡切片贴附于经多聚氨基酸处理过的载玻片上,置入 60 $^{\circ}$ C 烘箱过夜。采用免疫组化 SP 法观

察组织中 claudin-1 的分布特征,并测定其表达水平。染为棕褐色为阳性目标。高倍镜下随机选取 5 个视野,参照 Fromowitz 法进行评分,具体评分标准参照文献[14]:①无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;②阳性范围:<5% 为 0 分,5%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,>75%为 4 分。计算 2 项结果之和,<2 分为阴性(-),2~3 分为弱阳性(+),4~5 分为中度阳性(++),6~7 分为强阳性(+++)。

2.7 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,首先对数据进行方差齐性检验,方差齐则应用 One Way ANOVA 法进行检验,并用 LSD 法进行组间两两比较;如果方差不齐则应用 Welch 法进行检验,应用 Dunnett-t 法进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠一般情况和疾病活动度变化

造模成功后,模型对照组、BBR 治疗组和阳性对照组小鼠均出现精神呆滞、行动缓慢、皮毛不整、进食少,伴有不同程度的大便稀溏、便血、体质量下降,而空白对照组小鼠的精神、活动、毛发、饮食、大便、体质量等一般情况均正常。随着药物治疗的进行,BBR 治疗组和阳性对照组小鼠的上述症状均较治疗前减轻,DAI 较治疗前显著下降($P < 0.05$)。药物治疗后同一时期 BBR 高剂量组与阳性对照组的 DAI 比较,无明显差异。结果见表 1。

表 1 小鼠治疗前后 DAI 评分($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab. 1 Disease activity index in mice($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	治疗前	治疗后	
			3 d	7 d
空白对照组	—	0.07 ± 0.06	0.06 ± 0.04	0.06 ± 0.05
模型对照组	—	$1.91 \pm 0.73^{1)}$	$1.82 \pm 0.80^{1)}$	$1.40 \pm 0.63^{1)}$
BBR 低剂量组	50	$1.89 \pm 0.67^{1)}$	$1.35 \pm 0.61^{1)}$	$0.95 \pm 0.47^{1)2)}$
BBR 中剂量组	75	$1.92 \pm 0.76^{1)}$	$1.15 \pm 0.70^{1)2)}$	$1.02 \pm 0.55^{1)2)}$
BBR 高剂量组	100	$1.94 \pm 0.72^{1)}$	$0.99 \pm 0.58^{1)2)}$	$0.54 \pm 0.38^{1)2)}$
阳性对照组	30	$1.85 \pm 0.79^{1)}$	$1.03 \pm 0.46^{1)2)}$	$0.52 \pm 0.40^{1)2)}$

注:与空白对照组比较, $^{1)}P < 0.05$;与同组治疗前比较, $^{2)}P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank control group, $^{1)}P < 0.05$; compared with the same group before treatment, $^{2)}P < 0.05$.

3.2 小鼠结肠组织病理改变

镜下可见,模型对照组结肠黏膜溃疡发生,组织明显水肿,有部分肠壁凹陷,上皮细胞排列紊乱,部分细胞破裂损伤甚至脱落,细胞核聚集、

模糊,肠绒毛残损,大量炎性细胞浸润,以单核细胞和中性粒细胞为主;BBR 低、中剂量组也可见结肠黏膜溃疡,组织水肿稍减轻,上皮细胞较整齐,但仍有较显著的细胞脱落和炎性细胞浸润。BBR 高剂量组和阳性对照组的结肠黏膜溃疡较少,并可见已愈合的溃疡组织,组织水肿明显减轻,上皮细胞较整齐,细胞破裂减少,炎性细胞浸润明显减少;空白对照组的结肠黏膜完整,光滑,腺体层次清楚、清晰可见,未见糜烂、溃疡及中性粒细胞浸润等。结果见图 1。

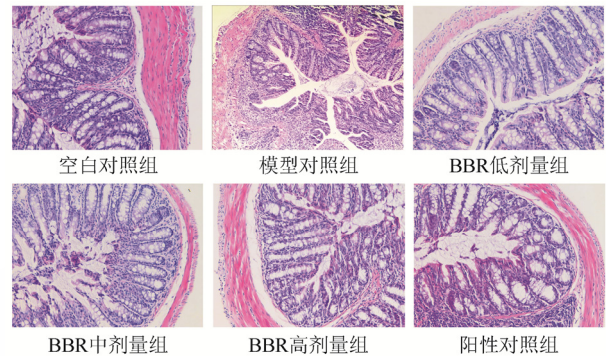


图 1 小鼠结肠组织病理改变(HE, 200 $\times$)

Fig. 1 Cell pathological change of colon tissue in mice(HE, 200 $\times$)

3.3 小鼠结肠组织中 LGR-5 和 TERT 蛋白的表达水平

与空白对照组相比,模型对照组小鼠结肠组织中 LGR-5 和 TERT 蛋白的表达水平均明显降低($P < 0.05$)。与模型对照组相比,经中、高剂量 BBR 治疗后,LGR-5 和 TERT 蛋白的表达水平均明显升高($P < 0.05$),但仍明显低于空白对照组。与阳性对照组相比,BBR 各治疗组的 LGR-5 和 TERT 蛋白水平均明显较低($P < 0.05$)。结果见表 2。

3.4 小鼠结肠组织中 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白的表达水平

与空白对照组相比,模型对照组小鼠结肠组织中 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白的表达水平均明显降低($P < 0.05$)。与模型对照组相比,经中、高剂量 BBR 治疗后 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白的表达水平均明显升高($P < 0.05$),但仍明显低于空白对照组。与阳性对照组相比,BBR 低、中剂量组的 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白水平均明显较低($P < 0.05$),而 BBR 高剂量组各蛋白水平与阳性对照组差异无统计学意义。结果见图 2、表 3。

表 2 小鼠结肠组织 LGR-5 和 TERT 蛋白的表达水平($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab. 2 Colon tissue expression level of LGR-5 and TERT in mice($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	LGR-5	TERT
空白对照组	—	$12.85 \pm 0.64^{(3)}$	$11.50 \pm 0.27^{(3)}$
模型对照组	—	$3.37 \pm 0.22^{(1)(3)}$	$3.74 \pm 0.28^{(1)(3)}$
BBR 低剂量组	50	$4.69 \pm 0.16^{(1)(3)}$	$4.33 \pm 0.16^{(1)(3)}$
BBR 中剂量组	75	$5.24 \pm 0.20^{(1)(2)(3)}$	$4.97 \pm 0.11^{(1)(2)(3)}$
BBR 高剂量组	100	$6.01 \pm 0.15^{(1)(2)(3)}$	$5.58 \pm 0.20^{(1)(2)(3)}$
阳性对照组	30	$9.12 \pm 0.28^{(1)(2)}$	$7.90 \pm 0.38^{(1)(2)}$

注: 与空白对照组比较, $^{(1)}P<0.05$; 与模型对照组比较, $^{(2)}P<0.05$; 与阳性对照组比较, $^{(3)}P<0.05$ 。

Note: Compared with blank control group, $^{(1)}P<0.05$; compared with model control group, $^{(2)}P<0.05$; compared with positive control group, $^{(3)}P<0.05$.

表 3 小鼠结肠组织 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白的表达水平($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab. 3 Colon tissue expression level of claudin-1、occludin and ZO-1 in mice($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	claudin-1	occludin	ZO-1
空白对照组	—	$5.79 \pm 1.36^{(3)}$	$2.94 \pm 0.52^{(3)}$	$4.33 \pm 1.57^{(3)}$
模型对照组	—	$0.92 \pm 0.70^{(1)}$	$0.68 \pm 0.32^{(1)}$	$1.23 \pm 0.68^{(1)}$
BBR 低剂量组	50	$1.14 \pm 0.50^{(1)(3)}$	$0.89 \pm 0.30^{(1)(3)}$	$1.15 \pm 1.30^{(1)(3)}$
BBR 中剂量组	75	$2.00 \pm 0.74^{(1)(2)(3)}$	$1.29 \pm 0.63^{(1)(2)(3)}$	$2.08 \pm 0.65^{(1)(2)(3)}$
BBR 高剂量组	100	$2.66 \pm 1.05^{(1)(2)}$	$1.74 \pm 1.26^{(1)(2)}$	$2.56 \pm 1.54^{(1)(2)}$
阳性对照组	30	$2.79 \pm 1.41^{(1)(2)}$	$1.77 \pm 0.80^{(1)(2)}$	$2.43 \pm 1.28^{(1)(2)}$

注: 与空白对照组比较, $^{(1)}P<0.05$; 与模型对照组比较, $^{(2)}P<0.05$; 与阳性对照组比较, $^{(3)}P<0.05$ 。

Note: Compared with blank control group, $^{(1)}P<0.05$; compared with model control group, $^{(2)}P<0.05$; compared with positive control group, $^{(3)}P<0.05$.

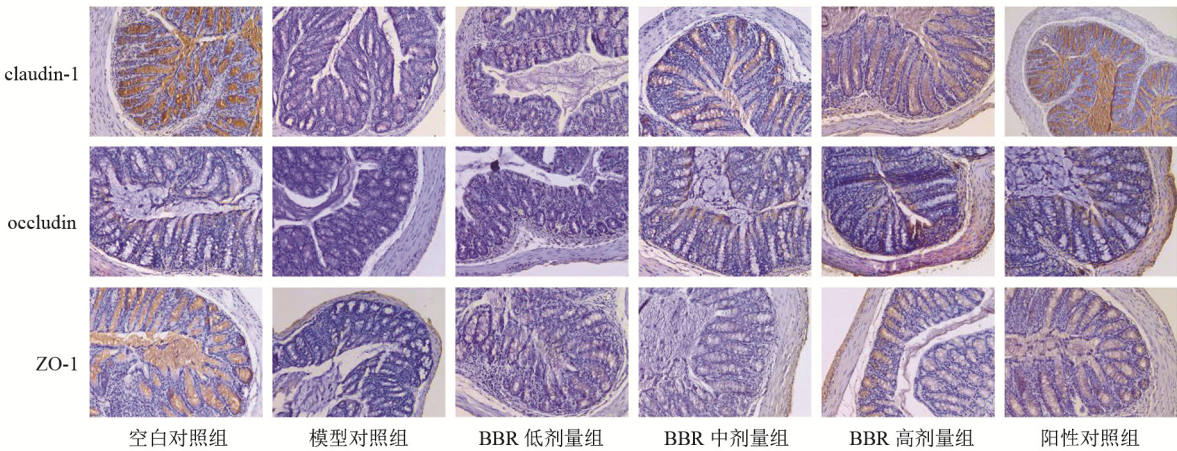


图 2 小鼠结肠组织中 claudin-1、occludin 和 ZO-1 蛋白的表达(SP, 200 $\times$)

Fig. 2 Colon tissue expression level of claudin-1、occludin and ZO-1 in mice(SP, 200 $\times$)

4 讨论

UC 的病因病机尚不十分明确, 既往普遍认为免疫功能紊乱是各种病因病机导致结肠炎症损伤的下游环节^[15]。随着对 UC 病机研究的深入, 肠黏膜屏障稳态破坏被证实是 UC 的重要病理基础。肠黏膜屏障是一种具有高度选择性屏障效应的功能结构体系, 机械屏障是该体系中最为重要的组分, 由肠上皮细胞和细胞间的连接复合体构成。生理条件下, 肠上皮细胞协助营养物质从肠腔吸收进入循环系统, 同时限制对人体有害的物质(如内毒素和炎症因子等)通过; 而细胞间连接复合体则以紧密连接蛋白为关键结构基础, 主要包括闭合蛋白 claudin-1、咬合蛋白 occludin 等膜蛋白和闭合小环蛋白 ZO-1 等外周胞浆蛋白, 对大分子物质是否通过起到关键调控作用。机械屏障结构上的完整性保障了肠上皮通透性的稳定发挥。正常

情况下, 肠上皮细胞的生理性损伤与隐窝基底部肠道干细胞分化更新补充之间维持动态平衡, 同时紧密连接等结构封闭了相邻上皮细胞间的空隙, 从而形成了稳固的防御体系, 有效防止抵抗病原微生物及其他外源性抗原物质的自由通过^[16]。但在 UC 的病理状态下, 毒性分子和病原微生物等攻击肠屏障结构, 导致其受损伤, 肠上皮细胞异常凋亡, 肠上皮通透性增高^[17-18], 肠腔内的各种抗原物质发生易位并异常暴露于固有层黏膜相关淋巴组织, 刺激后者释放大量的致炎细胞因子, 并借助细胞因子间网络化通信发动免疫炎症攻击, 进而导致隐窝破坏, 肠道干细胞减少, 肠上皮细胞更新障碍致肠上皮进一步缺损。至此, 肠黏膜损伤不断加剧, 免疫炎症反应呈瀑布样级联放大, 最终引起持续和/或严重的组织损伤。这便是 UC 病情反复、易趋重症化的重要原因。因此,

设法维持肠黏膜机械屏障结构的完整性和肠上皮通透性的稳定是 UC 治疗的有效策略,是防治 UC 重症化、慢性化的关键^[19],国际上已将“黏膜愈合”确立为 UC 的首要治疗终点和关键预后指标,药物治疗理念亦从“针对下游的非特异性免疫抑制”转变为“始于根源、基于途径的治疗方法”^[20-22]。

黄连是毛茛科植物黄连的根茎,性苦、寒,入心、肝、胃、大肠经。《本经》云:“主……肠癖腹痛下痢。”BBR 是从中药黄连中提取的一种异喹啉类生物碱,具有较强的抗炎和免疫调节作用。临床和基础研究表明,BBR 能减轻非甾体类抗炎药和慢性应激引起的肠黏膜损伤^[23-24];可剂量依赖性地降低人视网膜上皮细胞的通透性,保护其屏障功能^[25];亦能减少严重腹腔感染或脓毒血症时炎症介质的表达,从而改善受损的肠黏膜屏障,降低肠壁通透性^[26-27];用于治疗 UC 则能促进肠黏膜再生,加速溃疡愈合,明显降低 UC 的复发率,疗效确切^[28-30]。但直接研究 BBR 对 UC 的重要病理机制——肠黏膜屏障损伤的影响方面的报道较为少见。

本研究以 DSS 诱导法建立的小鼠 UC 模型为研究对象,以肠黏膜机械屏障的重要结构基础——肠道干细胞标志物 LGR-5、TERT 以及紧密连接蛋白 claudin-1、occludin 和 ZO-1 为检测指标,研究 BBR 对 UC 肠黏膜机械屏障的保护作用及机制。实验结果显示:BBR 能有效缓解 UC 小鼠体质质量下降、稀便、便血等症状,明显降低其 DAI 评分($P<0.05$),改善结肠溃疡、上皮细胞损伤、炎症细胞浸润等组织病理表现;高剂量 BBR 治疗后,小鼠的 DAI 评分下降尤为显著($P<0.05$),其效果与阳性对照药 SASP 相当。其次,UC 小鼠结肠组织中 LGR-5 和 TERT 蛋白的含量均明显降低($P<0.05$),而经中、高剂量 BBR 治疗后,上述蛋白水平平均明显升高($P<0.05$),但效果不如阳性对照药 SASP,差异有统计学意义($P<0.05$)。最后,UC 小鼠结肠组织中 claudin-1、occludin 和 ZO-1 的表达水平平均明显降低($P<0.05$),而经中、高剂量 BBR 治疗后,上述蛋白水平平均显著升高($P<0.05$),且高剂量 BBR 对上述 3 种蛋白的干预效果与阳性药物 SASP 相当。上述研究结果表明:以肠道干细胞和紧密连接蛋白破坏为标志的肠黏膜机械屏障损伤

参与了 UC 的发生发展,是 UC 的重要病理机制。BBR 对机械屏障的重要结构基础具有一定的保护作用,可通过抑制肠道干细胞和紧密连接蛋白的破坏、维持肠黏膜机械屏障的稳态,从而有效治疗 DSS 诱导的结肠炎症,显示出良好的疗效。

本研究揭示了 BBR 对 UC 的部分作用机制,证实了临床应用 BBR 治疗 UC 的前景,但应在此基础上继续深入研究 UC 肠黏膜化学、免疫、生物等其他屏障组分异常与 UC 发病的关系、潜在机制及相互作用,以及 BBR 对上述组分的调节作用和可能机制,从而为临床治疗 UC 提供更为精确的治疗靶标和更为有效的药物。

REFERENCES

- [1] LI X, SONG P, LI J, et al. The disease burden and clinical characteristics of inflammatory bowel disease in the Chinese population: a systematic review and Meta-analysis [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(3): E238.
- [2] BEWTRA M, NEWCOMB C W, WU Q, et al. Mortality associated with medical therapy versus elective colectomy in ulcerative colitis: a cohort study [J]. *Ann Intern Med*, 2015, 163(4): 262-270.
- [3] NG W K, WONG S H, NG S C. Changing epidemiological trends of inflammatory bowel disease in Asia [J]. *Intest Res*, 2016, 14(2): 111-119.
- [4] SÁNCHEZ DE MEDINA F, ROMERO-CALVO I, MASCARAQUE C, et al. Intestinal inflammation and mucosal barrier function [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(12): 2394-2404.
- [5] FRIES W, BELVEDERE A, VETRANO S. Sealing the broken barrier in IBD: intestinal permeability, epithelial cells and junctions [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(12): 1460-1470.
- [6] ANTONI L, NUDING S, WEHKAMP J. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(5): 1165-1179.
- [7] LEE S H. Intestinal permeability regulation by tight junction: implication on inflammatory bowel diseases [J]. *Intest Res*, 2015, 13(1): 11-18.
- [8] HU Y, EHLLI E A, KITTELSRUD J, et al. Lipid-lowering effect of berberine in human subjects and rats [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 861-867.
- [9] YAO B Y, HUANG Z M. Berberine protect mice against CCl₄-induced acute liver injury [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2016, 33(4): 424-427.
- [10] ZHANG Q, LI Y, CHEN L. Effect of berberine in treating type 2 diabetes mellitus and complications and its relevant mechanisms [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2015, 40(9): 1660-1665.
- [11] 付健健,王伟雅,杨之斌. 小檗碱用于结肠癌治疗的研究现状[J]. *医药导报*, 2016, 35(4): 367-369.
- [12] STEVCEVA L, PAVLI P, HUSBAND A J, et al. The inflammatory infiltrate in the acute stage of the dextran sulphate sodium induced colitis: B cell response differs depending on the percentage of DSS used to induce it [J]. *BMC Clin Pathol*, 2001, 1(1): 3.

- [13] ZHONG J H, WANG Z L, LIU Y C, et al. Effects of tripterygium glycosides tablets on the expression of TLR4 and NF- κ B of colonic mucosa in mice with ulcerative colitis [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2016, 33(1): 23-27.
- [14] 翟金海, 沈洪, 倪菲菲, 等. 清肠化湿方对实验性大鼠结肠炎结肠黏膜上皮细胞紧密连接蛋白 claudin-1 的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2013, 29(2): 151-154.
- [15] BRESSLER B, MARSHALL J K, BERNSTEIN C N, et al. Clinical practice guidelines for the medical management of nonhospitalized ulcerative colitis: the Toronto consensus [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(5): 1035-1058.
- [16] CARTER S R, ZAHS A, PALMER J L, et al. Intestinal barrier disruption as a cause of mortality in combined radiation and burn injury [J]. *Shock*, 2013, 40(4): 281-289.
- [17] VINDIGNI S M, ZISMAN T L, SUSKIND D L, et al. The intestinal microbiome, barrier function, and immune system in inflammatory bowel disease: a tripartite pathophysiological circuit with implications for new therapeutic directions [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2016, 9(4): 606-625.
- [18] ZOU Y, LIN J, LI W, et al. Huangqin-tang ameliorates dextran sodium sulphate-induced colitis by regulating intestinal epithelial cell homeostasis, inflammation and immune response [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39299. Doi: 10.1038/srep39299.
- [19] SUN T, GAO G Z, LI R F, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation ameliorates oxidative stress and restores intestinal mucosal permeability in chemically induced colitis in mice [J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(5): 891-901.
- [20] LEE S H, KIM M J, CHANG K J, et al. Fecal calprotectin predicts complete mucosal healing and better correlates with the ulcerative colitis endoscopic index of severity than with the Mayo endoscopic subscore in patients with ulcerative colitis [J]. *BMC Gastroenterol*, 2017, 17(1): 110. Doi: 10.1186/S12876-017-0669-7.
- [21] LEE S Y, TSAI W C, LIN J C, et al. Astragaloside II promotes intestinal epithelial repair by enhancing L-arginine uptake and activating the mTOR pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12302.
- [22] MORAN C P, NEARY B, DOHERTY G A. Endoscopic evaluation in diagnosis and management of inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastrointest Endosc*, 2016, 8(20): 723-732.
- [23] SUN Y, XUN K, WANG Y, et al. A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs [J]. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(9): 757-769.
- [24] ZHU X, SUN Y, ZHANG C, et al. Effects of berberine on a rat model of chronic stress and depression via gastrointestinal tract pathology and gastrointestinal flora profile assays [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5): 3161-3171.
- [25] FU D X, YU J Y, CONNELL A R, et al. Beneficial Effects of Berberine on Oxidized LDL-Induced Cytotoxicity to Human Retinal Müller Cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(7): 3369-3379.
- [26] LUO Y Q, WU C T, YU H T, et al. Effect of Berberine on intestinal barrier dysfunction in rats with severe abdominal infection [J]. *Chin Arch Gen Surg*(Electronic Edition)[中华普通外科学文献(电子版)], 2014, 8(3): 191-195.
- [27] LI G X, WANG X M, JIANG T, et al. Berberine prevents intestinal mucosal barrier damage during early phase of sepsis in rat through the toll-like receptors signaling pathway [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2015, 19(1): 1-7.
- [28] LI Y H, ZHANG M, XIAO H T, et al. Addition of berberine to 5-aminosalicylic acid for treatment of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis in C57BL/6 mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144101.
- [29] HONG T, YANG Z, LV C F, et al. Suppressive effect of berberine on experimental dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2012, 34(3): 391-397.
- [30] HU Y, EHLE E A, KITTELSRUD J, et al. Lipid-lowering effect of berberine in human subjects and rats [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 861-867.

收稿日期: 2018-02-15

(本文责编: 曹粤锋)