

## 健脾补肾、清肠化湿方联合BMSCs对溃疡性结肠炎模型大鼠肠屏障的修复作用

朱磊, 沈洪, 顾培青, 刘丽, 张露, 成家飞, 朱长乐, 司海鹏

朱磊, 张露, 江苏省中医院基地办 江苏省南京市 210029

沈洪, 顾培青, 成家飞, 江苏省中医院消化科 江苏省南京市 210029

刘丽, 江苏省中医院科技处 江苏省南京市 210029

朱长乐, 司海鹏, 江苏省中医院病理科 江苏省南京市 210029

朱磊, 主治医师, 从事消化系统疾病的中西医结合治疗及机制研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81373606

国家中医药行业科研专项基金资助项目, No. 201407001

江苏省临床医学科技专项基金资助项目, No. BL2014100

作者贡献分布: 课题实施、数据分析和论文写作由朱磊完成; 顾培青、张露、成家飞、朱长乐及司海鹏协助实施; 刘丽实验技术指导; 沈洪课题设计、指导与审核。

通讯作者: 沈洪, 教授, 主任中医师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 江苏省中医院消化科. [shenhong999@163.com](mailto:shenhong999@163.com)  
电话: 025-86617141-91601

收稿日期: 2015-12-31

修回日期: 2016-01-18

接受日期: 2016-01-25

在线出版日期: 2016-03-08

Hong Shen, Pei-Qing Gu, Jia-Fei Cheng, Department of Gastroenterology, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Li Liu, Technology Department of Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Chang-Le Zhu, Hai-Peng Si, Department of Pathology, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81373606; State Administration of Traditional Chinese Medicine Scientific Research Foundation, No. 201407001; Digestive Disease Clinical Research Center Construction Project of TCM of Jiangsu Province, No. BL2014100

Correspondence to: Hong Shen, Professor, Chief Physician of TCM, Department of Gastroenterology, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. [shenhong999@163.com](mailto:shenhong999@163.com)

Received: 2015-12-31

Revised: 2016-01-18

Accepted: 2016-01-25

Published online: 2016-03-08

### ■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症。随着骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs) 在溃疡性结肠炎肠道炎症和屏障功能的研究日益增多, 通过调控BMSCs调节免疫、重建肠黏膜屏障已成为治疗UC新的药物作用靶点。有必要研究中联合BMSCs治疗溃疡性结肠炎的作用及机制, 从而指导中药的临床应用。

### Jianpi Bushen Qingchang Huashi Decoction combined with BMSCs for repairing intestinal barrier in a rat model of ulcerative colitis

Lei Zhu, Hong Shen, Pei-Qing Gu, Li Liu, Lu Zhang, Jia-Fei Cheng, Chang-Le Zhu, Hai-Peng Si

Lei Zhu, Lu Zhang, Base Office of Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

### Abstract

**AIM:** To observe the effect of traditional Chinese compound medicine Jianpi Bushen Qingchang Huashi Decoction combined with bone mesenchymal stem cells (BMSCs) in the repair of the intestinal mucosa of rats with ulcerative colitis.

**METHODS:** Rats were divided into five groups: a normal group, a model group, a BMSCs group, an intervened BMSCs group and a combination group. The rats of the normal

### ■同行评议者

刘杰民, 主任医师, 贵州省人民医院消化内科

## ■ 研究前沿

BMSCs具有向受损组织迁移归巢的特点, 迁移后的BMSCs调节肠道异常的免疫反应可以分化成多种细胞类型, 参与组织修复和重建。MSCs转分化为结肠黏膜干细胞从而起到治疗作用的前提是外周血循环中要有足够量的骨髓干细胞, 因此, 需要提高循环中的干细胞数量, 促进其增殖迁移到受损部位, 使其分化为结肠功能细胞, 恢复肠道正常的生理功能。

and model groups received an intravenous injection of normal saline separately through the tail vein. The BMSCs group received an intravenous injection of BMSCs ( $1 \times 10^6/\text{mL}$ ) through the tail vein. The intervened BMSCs group and combination group received BMSCs ( $1 \times 10^6/\text{mL}$ ) intervened by decoction in vitro, and the combination group additionally received the oral decoction for 10 days. Five rats were killed on the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> day after the transplantation, respectively. The mRNA and protein expression of Muc2 was detected by real-time PCR and Western blot, respectively. Expression of Math1 and KLF-4 was assayed by Western blot.

**RESULTS:** The number of goblet cells was increased in each BMSCs transplantation group. The mRNA expression of Muc2 significantly increased in each treatment group relative to the model group, and the increase was more significant in the combination group than in the intervened BMSCs and BMSCs groups. As time increased, the therapeutic effect was more obvious. On the 10<sup>th</sup> day of treatment, compared with the normal group, Muc2, Math1 and KLF-4 protein expression was significantly decreased in the model group, while the expression of these proteins was higher in the treatment groups, with the combination group increasing most obviously.

**CONCLUSION:** Transplantation of BMSCs combined with traditional compound Chinese medicine could improve the mRNA and protein expression of Muc2 in UC rats, reduce inflammation and repair intestinal barrier, which may be related to the Math1 and KLF-4 factors.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Ulcerative colitis; Jianpi Bushen Qingchang Huashi; Mesenchymal stem cells; Mucus barrier

Zhu L, Shen H, Gu PQ, Liu L, Zhang L, Cheng JF, Zhu CL, Si HP. Jianpi Bushen Qingchang Huashi Decoction combined with BMSCs for repairing intestinal barrier in a rat model of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(7): 1017-1023 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1017.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i7.1017>

## 摘要

目的: 观察健脾补肾、清肠化湿方联合骨髓

间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠黏膜的修复作用。

**方法:** SD大鼠随机分为空白组、模型组、BMSCs组、干预BMSCs组和联合组。TNBS法建立溃疡性结肠炎大鼠模型, 空白组、模型组大鼠尾静脉分别注射1 mL生理盐水, BMSCs组大鼠尾静脉注射BMSCs, 干预BMSCs和联合组大鼠分别注射体外中药共培养的BMSCs, 联合组再予中药13.6 g/kg灌胃10 d。分别于第5天和第10天每组各处死5只大鼠, 留取标本。电子显微镜观察大鼠结肠组织杯状细胞数量, 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)和Western blot法分别检测大鼠结肠组织Muc2 mRNA和蛋白的表达, Western blot法检测Muc2相关因子Math1和KLF-4蛋白的表达。

**结果:** 与模型组相比, 各治疗组肠黏膜杯状细胞数量增多, 各治疗组Muc2 mRNA水平升高, 联合组优于干预BMSCs组和BMSCs组( $P<0.05$ )。随着时间延长, 治疗效果越明显。治疗第10天, 与正常组相比, 模型组Muc2、Math1和KLF-4蛋白表达量明显下降, 经治疗后, 各治疗组蛋白表达量均上高, 联合组升高最明显。

**结论:** 静脉移植BMSCs的同时给予健脾补肾、清肠化湿方能提高黏蛋白Muc2表达水平, 增多杯状细胞数量, 修复肠屏障, 联合灌胃持续给药效果更佳, 其机制可能和提高Math1和KLF-4因子表达有关。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 健脾补肾清肠化湿方; 间充质干细胞; 黏液屏障

**核心提示:** 目前认为溃疡性结肠炎发病主要是环境作用于遗传易感者, 在肠道菌群参与下启动了肠道免疫和非免疫系统, 导致免疫炎症反应, 肠黏膜屏障遭到破坏。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗已成为研究热点。本研究初步探索中药联合BMSCs移植从而促进肠黏膜屏障的修复作用及其可能机制。

朱磊, 沈洪, 顾培青, 刘丽, 张露, 成家飞, 朱长乐, 司海鹏. 健脾补肾、清肠化湿方联合BMSCs对溃疡性结肠炎模型大鼠肠屏障的修复作用. *世界华人消化杂志* 2016; 24(7): 1017-1023

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1017.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i7.1017>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病率逐年增加, 其确切病因和发病机制尚不十分清楚, 推测其可能是遗传易感者在环境因素和肠道菌群作用下, 免疫和炎症反应失调所致, 其中肠屏障功能的失调在UC发病机制中起重要作用. 骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植是目前国内外消化领域研究的热点之一, 其治疗目标主要是改变自然病程, 使肠黏膜愈合并最终恢复肠道黏膜的正常功能<sup>[1]</sup>. 肠干细胞可分化为四种细胞: 柱状细胞、杯状细胞、潘氏细胞及神经内分泌细胞, BMSCs可以直接分化为功能细胞参与肠屏障的修复. 健脾补肾、清肠化湿方为临床常用的治疗溃疡性结肠炎的有效方剂, 特别是针对激素抵抗、激素依赖的难治性溃疡性结肠炎具有较好疗效. 本实验通过制备UC大鼠模型, 经尾静脉输注培养的BMSCs, 同时联合健脾补肾、清肠化湿方治疗, 观察其对UC模型大鼠结肠黏膜的修复作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** BMSCs提取: SPF级♂SD大鼠, 4-5周龄, 体质量150 g, 由扬州大学动物中心提供; 体内实验: 60只♂SPF级SD大鼠, 体质量200 g±20 g, 6-7周龄[购自扬州大学, 许可证号: SCXK(苏)2013-0026], 常规饲养. 健脾补肾、清肠化湿方(生黄芪、炒白术、补骨脂、益智仁、黄芩、黄连等), 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(批号分别为140401、140401、140402、140301、140402、140302、140402、140415、140301). 按成人10倍用量, 称取上述健脾补肾、清肠化湿方, 按总质量10倍体积加水煎煮2次, 合并2次药液, 于旋转蒸发仪中蒸发, 减压浓缩至所需体积, 浓度为生药量0.68 g/mL, 放入广口瓶中常温保存. 5%TNBS水溶液: Sigma公司产品, 购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司, 批号1412514; TRIzol(Invitrogen, 15596-026); cDNA第一链合成试剂盒(Fermentas, Lithuania, K1622); 实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)

Master Mix(SYBR Green)(TOYOBO, QPK201); Agarose(Biowest, 111860); 50×TAE电泳缓冲液(南京建成, KGM020); MUC2(Abcam公司, ab-11197, 抗小鼠); KLF-4(Santa公司, sc-20691, 抗兔); Math1(Abcam公司, ab168374, 抗兔); 兔二抗(Santa公司, sc-2004); 鼠二抗(Santa公司, sc-2005). 超净台(苏州净化, SW-CF-1FD); PCR循环仪(Labnet, MultiGene Gradient); qRT-PCR循环仪(中山达安, DA7600); 核酸电泳仪(北京六一, DYY-6B); 凝胶成像仪(BIO-RAD, Gel Doc XR); Allegra 21R台式高速冷冻离心机(美国BECKMAN公司); Gel Doc2000成像系统、垂直电泳系统(美国BIO-RAD公司); 320-S pH计(美国Mettler Toledo公司); AR5120电子天平(美国AHOMS公司); MultiTemp III恒温水浴锅.

### 1.2 方法

**1.2.1 模型制备:** 参照文献[2]方法, 采用TNBS灌肠法制作UC大鼠模型. 造模前禁食24 h, 50只造模大鼠予10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉; 麻醉状态大鼠, 用大鼠灌胃针管由肛门轻柔插入约8 cm, 缓慢推注造模液, 诱导UC形成; 确保注入的TNBS能在肠内弥散分布, 注入后将大鼠持续倒置3 min.

**1.2.2 实验分组与药物干预:** SD大鼠随机分为5组, 空白组、模型组、BMSCs组、干预BMSCs组和联合灌胃组. 造模成功后, 空白组和模型组大鼠各从尾静脉回输生理盐水1 mL, BMSCs组大鼠经尾静脉注入第3代BMSCs细胞悬液( $1 \times 10^6$ /mL), 干预BMSCs组和联合灌胃组分别注入体外中药复方培养的BMSCs( $1 \times 10^6$ /mL), 此外, 联合组另给予复方13.6 g/kg灌胃给药, 连续10 d.

**1.2.3 电子显微镜检测大鼠结肠组织杯状细胞:** 分别于第5天和第10天后每组各处死5只大鼠, 取病变最严重处结肠(距肛门6-8 cm), 一部分置4%甲醛中固定, 石蜡包埋、切片(4 μm)、HE染色, 采用电子显微镜观察大鼠结肠组织杯状细胞的数量及形态的影响.

**1.2.4 qRT-PCR检测大鼠结肠组织Muc2 mRNA的表达:** 按照TRIzol试剂盒说明书提取结肠组织(距肛门6-8 cm)细胞总RNA, 逆转录合成cDNA链(20 μL体系), 每个样本基因做3个复孔, 取模板(cDNA稀释10倍)1 μL, 引物序列如下: Rat-GAPDH primer(111 bp): Sense primer: 5'-TCAAGAAGGTGGTGAAGCAG-3';

### ■ 相关报道

研究发现, UC患者存在肠干细胞向杯状细胞分化障碍(主要由两种转录因子Hath1及KLF-4介导), 因此引起杯状细胞缺失, 肠黏液层变薄, 黏液屏障异常, 从而导致肠道菌群侵袭黏膜增加, 触发肠道炎症反应, 导致UC发病.



■ 创新点

本文基于BMSCs与UC之间的密切联系,以BMSCs参与修复肠黏膜作用为主要依据,探讨临床有效方剂联合BMSCs治疗UC的作用,分别从杯状细胞分化、黏蛋白以及可能机制3个方面初步探讨了中药复方在UC治疗中的作用。

表 1 各组大鼠结肠黏膜Muc2 mRNA表达量 (n = 5, mean ± SD)

分组	Muc2 mRNA水平	
	第5天	第10天
空白组	8.42 ± 0.59 <sup>b</sup>	8.46 ± 0.43 <sup>b</sup>
联合组	6.02 ± 2.36 <sup>bc</sup>	7.26 ± 0.39 <sup>bc</sup>
干预BMSCs组	3.93 ± 0.59 <sup>b</sup>	4.99 ± 0.48 <sup>b</sup>
BMSCs组	2.06 ± 0.46	3.83 ± 0.17
模型组	1.02 ± 0.12	2.69 ± 0.08

<sup>b</sup>P<0.01 vs 模型组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 干预BMSCs组。

Antisense primer: 5'-AGGTGGAAGAATGGG AGTTG-3'; Rat-MUC2 primer(129 bp): Sense primer: 5'-TTCTTGCTGGGTGAAGAGTG-3'; Antisense primer: 5'-AGACAAGGTGGAGTCC AAGC-3'.

1.2.5 Western blot法检测结肠组织Muc2、MATH1和KLF-4蛋白表达: 取制备好的样品,每个样品分别上样20 μL。上样完毕后,聚丙烯酰胺凝胶先70 V跑完积层胶,再将电压升至120 V直到电泳结束。电泳结束后,取下凝胶进行转膜,恒压80 V转膜,约为2 h。电转结束后,取下膜后先用PBS洗涤4次,5 min/次。然后置于5%马血清封闭液中封闭37 ℃ 1 h。用封闭液稀释一抗,膜在一抗稀释液中37 ℃反应1 h或置于4 ℃过夜。洗膜4次,5 min/次;膜在二抗中37 ℃反应1 h。洗膜ECL显影。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件处理,实验数据以mean±SD表示,多组间比较采用单因素方差分析, P<0.05为差异有统计学意义。qRT-PCR数据结果采用2<sup>-ΔΔCt</sup>计算方法统计。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠组织中结肠杯状细胞情况 显微镜下观察发现,治疗后第5天,模型组可见溃疡周腺体黏液分泌减少,未见杯状细胞残留; BMSCs移植后,溃疡周腺体可见少量杯状细胞。第10天空白组大鼠结肠腺体内见较多杯状细胞,模型组黏膜局部溃疡形成,溃疡周腺体增生,部分腺体内见少量杯状细胞形成;经治疗后, BMSCs组黏膜层见少量炎细胞浸润,少量杯状细胞形成;干预BMSCs组腺体表面柱状细胞增生,下方见杯状细胞形成;联合组腺体大部分

杯状细胞形成。联合组杯状细胞数量增多最为明显(图1, 图2)。

2.2 qRT-PCR检测结肠黏膜Muc2 mRNA的表达水平 与空白组比较,模型组结肠组织Muc2 mRNA表达量明显降低(P<0.01);与模型组比较,各治疗组Muc2 mRNA水平升高,联合组和干预BMSCs组有统计学意义(P<0.05),且联合灌胃组优于干预BMSCs组(P<0.05)。随着治疗时间延长,作用效果越明显(表1, 图3)。

2.3 Western blot法检测结肠组织Muc2、MATH1和KLF-4蛋白表达 治疗第10天,与正常组相比,模型组Muc2、Math1和KLF-4蛋白表达量明显下降,经治疗后,各治疗组蛋白表达量均上高,联合组升高最明显(图4)。

3 讨论

肠黏膜屏障的一线防御屏障是肠上皮屏障,主要由肠黏膜上皮细胞和其紧密连接组成,同时包含黏液层和一些修复成分如三叶因子,这种屏障能够起到物理机械作用能够阻隔肠道细菌和黏膜固有层免疫细胞的接触<sup>[3-5]</sup>。正常情况下,肠腔内黏性黏液层覆盖在肠上皮表面,甚至可以完全填满隐窝,覆盖在黏膜表面,使肠腔内容物可以自由、连续流动,并且在肠上皮附近保持一个抗菌环境。大部分黏液由杯状细胞分泌,肠道杯状细胞产生的黏蛋白Muc2是肠道黏液屏障的主要成分<sup>[2]</sup>。当肠道受刺激时,储存在颗粒胞浆内的黏蛋白特异性地排列在杯状细胞膜上,保持持续的分泌状态;同时黏蛋白具有直接的抗菌作用,还可以通过形成抗蛋白酶基质来发挥防御作用<sup>[6,7]</sup>。

溃疡性结肠炎最典型的病理特点是大量隐窝坏死,形成脓肿,而结肠黏膜干细胞位于隐窝基底部,隐窝坏死导致原本极少的结肠黏膜干细胞进一步减少,无法再生和分化成为足够的结肠黏膜上皮细胞以修复损伤的黏膜<sup>[8,9]</sup>。肠黏膜屏障通透性增加,肠腔内抗原进入黏膜和黏膜下层,升高肠道中致炎细胞因子肿瘤坏死因子等,降低抗炎细胞因子白介素-10等,促发细胞因子网络失衡,形成恶性循环,致溃疡反复发作,迁延不愈<sup>[10]</sup>。

BMSCs被证明可以分化成多种细胞类型,产生生长因子和细胞因子参与组织修复和重建<sup>[11-14]</sup>。正常情况下,由于肠干细胞的增殖、分化,肠上皮细胞每3-5 d更新一次<sup>[15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>发

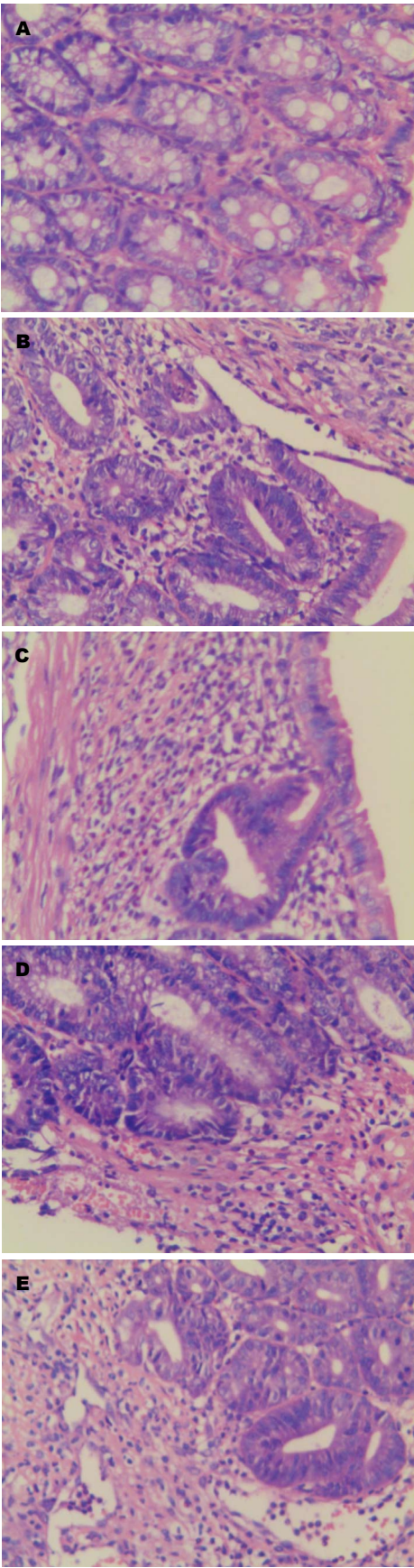


图 1 第5天大鼠结肠组织中结肠杯状细胞情况(×400).  
A: 空白组; B: 联合组; C: 干预BMSCs组; D: BMSCs组; E: 模型组.

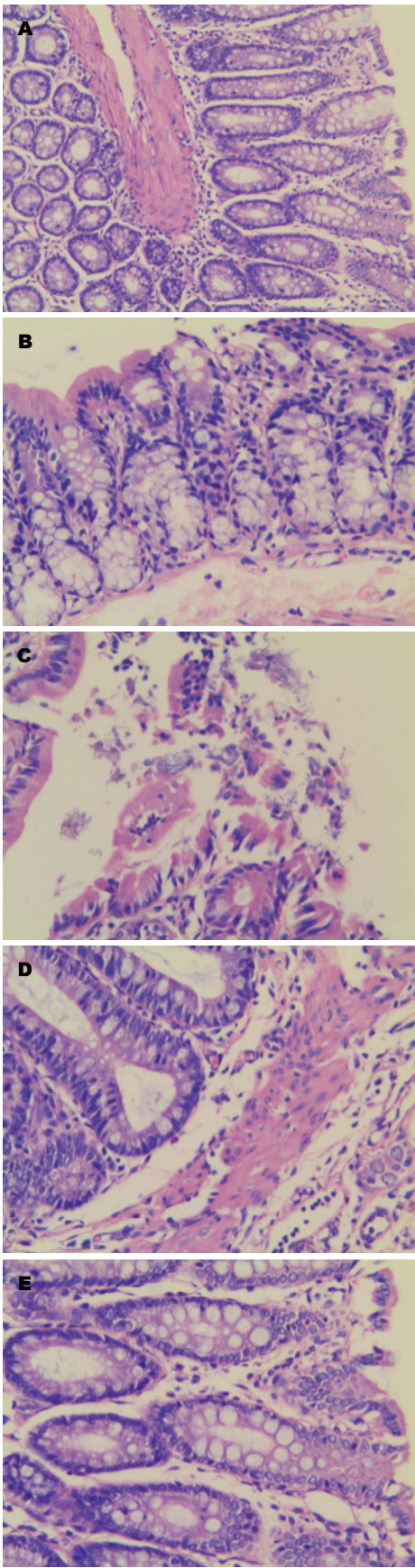


图 2 第10天大鼠结肠组织中结肠杯状细胞情况(×400).  
A: 空白组; B: 联合组; C: 干预BMSCs组; D: BMSCs组; E: 模型组.

**应用要点**  
UC属临床疑难疾病,近年来,随着对UC发病机制认识的不断深入,有中药在UC发病中的作用机制研究也取得了较大的进展.中药联合BMSCs治疗UC的相关研究可作为UC治疗机制研究的新方向.



## ■名词解释

肠黏液: 是肠黏膜屏障的重要组成部分, 能够抵御肠腔内细菌、消化酶等的侵袭。黏液层由大量的黏液分子组成, 在结肠中, 杯状细胞合成并释放这些黏液, 并由Muc基因控制, 从而维护肠黏膜屏障的完整。

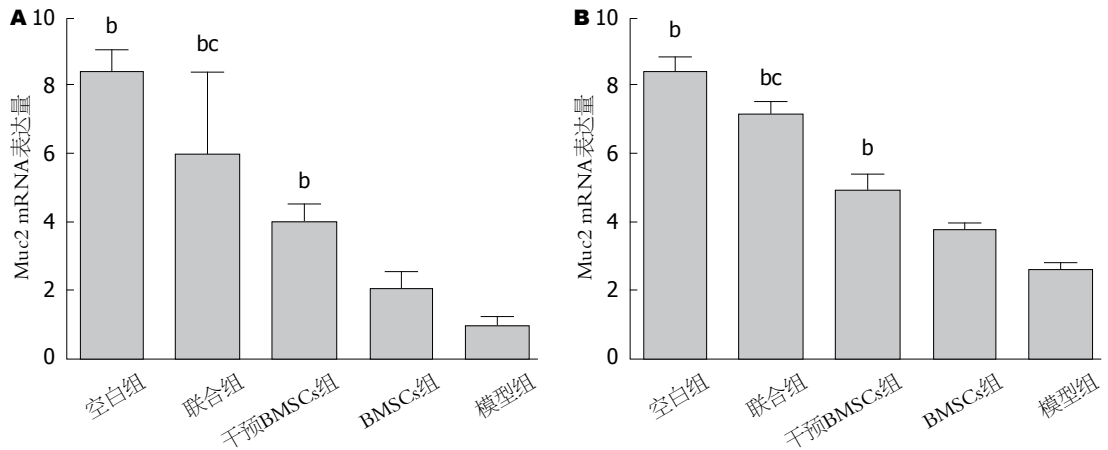


图3 各组大鼠结肠黏膜Muc2 mRNA表达量。A: 第5天; B: 第10天。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 干预BMSCs组。

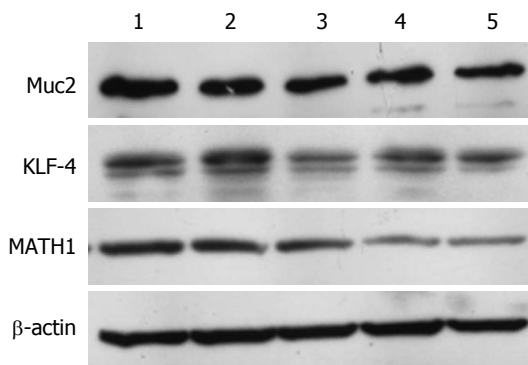


图4 各组大鼠结肠组织Muc2、MATH1和KLF-4蛋白表达。1: 空白组; 2: 联合组; 3: 干预BMSCs组; 4: BMSCs组; 5: 模型组。

现, UC患者存在肠干细胞向杯状细胞分化障碍(主要由两种转录因子Math1及KLF-4介导), 引起杯状细胞缺失, 肠黏液层变薄, 黏液屏障异常, 从而导致肠道菌群侵袭黏膜增加, 触发肠道炎症反应, 导致UC发病。

中医理论指导下研究的中药越来越受到关注, 进行溃疡性结肠炎中药新药的开发和研究具有重要意义。文献报道<sup>[17-21]</sup>健脾补肾复方或单味中药可促进MSCs的增殖和分化。我们通过挖掘治疗溃疡性结肠炎的核心方药, 探索其用药规律, 结合临床实践, 制定了治疗溃疡性结肠炎的有效方剂健脾补肾、清肠化湿方<sup>[22,23]</sup>。前期研究<sup>[24,25]</sup>表明, 健脾补肾、清肠化湿方体外对MSCs的生长具有促进增殖作用, 并能促进其迁移; 移植UC模型大鼠后, 免疫组织化学法检测Musashi-1肠干细胞数量增加。清肠化湿能够抑制树突状细胞的成熟与分化, 下调抗原提呈功能, 降低炎症反应, 并且增强紧密连接蛋白的表达, 修复肠黏

膜<sup>[26-30]</sup>。

本实验通过制备UC大鼠模型, 采用健脾补肾、清肠化湿方联合BMSCs治疗, 观察肠道杯状细胞及其产生的黏蛋白Muc2表达水平, 并观察转录因子Math1及KLF-4的表达。研究结果表明, 中药可以促进移植BMSCs向杯状细胞生成, 提高黏蛋白Muc2的表达, 机制可能与转录因子Math1及KLF-4有关, 结合口服持续给药效果更佳, 这为健脾补肾、清肠化湿方应用于难治性溃疡性结肠炎的治疗提供了理论依据。

#### 4 参考文献

- 瞿勇, 廖应雷. 干细胞移植在炎症性肠病中的治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3772-3777
- Swidsinski A, Sydora BC, Doerffel Y, Loening-Baucke V, Vaneechoutte M, Lupicki M, Scholze J, Lochs H, Dieleman LA. Viscosity gradient within the mucus layer determines the mucosal barrier function and the spatial organization of the intestinal microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 963-970 [PMID: 17455202]
- Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 331-341 [PMID: 12669023]
- Schulzke JD, Ploeger S, Amasheh M, Fromm A, Zeissig S, Troeger H, Richter J, Bojarski C, Schumann M, Fromm M. Epithelial tight junctions in intestinal inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1165: 294-300 [PMID: 19538319 DOI: 10.1111/j.1749-6632]
- Braun J, Wei B. Body traffic: ecology, genetics, and immunity in inflammatory bowel disease. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 401-429 [PMID: 18039105 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100128]
- Rousseau K, Byrne C, Kim YS, Gum JR, Swallow DM, Toribara NW. The complete genomic organization of the human MUC6 and MUC2 mucin genes. *Genomics* 2004; 83: 936-939 [PMID: 15081123]

- 7 Lidell ME, Moncada DM, Chadee K, Hansson GC. Entamoeba histolytica cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 9298-9303 [PMID: 16754877 DOI: 10.1073/pnas.0600623103]
- 8 Pull SL, Doherty JM, Mills JC, Gordon JI, Stappenbeck TS. Activated macrophages are an adaptive element of the colonic epithelial progenitor niche necessary for regenerative responses to injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 99-104 [PMID: 15615857]
- 9 Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 2010; 30: 80-89 [PMID: 19936899 DOI: 10.1007/s10875-009-9345-1]
- 10 Raddatz D, Bockemühl M, Ramadori G. Quantitative measurement of cytokine mRNA in inflammatory bowel disease: relation to clinical and endoscopic activity and outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 547-557 [PMID: 15827446]
- 11 Ozaki K, Sato K, Oh I, Meguro A, Tataru R, Muroi K, Ozawa K. Mechanisms of immunomodulation by mesenchymal stem cells. *Int J Hematol* 2007; 86: 5-7 [PMID: 17675259]
- 12 Wu Y, Wang J, Scott PG, Tredget EE. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S18-S26 [PMID: 17727462 DOI: 10.1111/j.1524-475X]
- 13 Lanzoni G, Roda G, Belluzzi A, Roda E, Bagnara GP. Inflammatory bowel disease: Moving toward a stem cell-based therapy. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4616-4626 [PMID: 18698675]
- 14 Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 2007; 213: 341-347 [PMID: 17620285]
- 15 Singh UP, Singh NP, Singh B, Mishra MK, Nagarkatti M, Nagarkatti PS, Singh SR. Stem cells as potential therapeutic targets for inflammatory bowel disease. *Front Biosci (Schol Ed)* 2010; 2: 993-1008 [PMID: 20515838]
- 16 Gersemann M, Stange EF, Wehkamp J. From intestinal stem cells to inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3198-3203 [PMID: 21912468 DOI: 10.3748/wjg.v17.i27.3198]
- 17 杨丽, 朱晓峰, 张荣华. 补肾活血复方含药血清对MSCs增殖和骨向分化影响的时效及量效研究 *中药材* 2012; 35: 259-263
- 18 张爱国, 蔡建平, 谭湘陵, 钱晓伟, 许宝满. 五种中药对体外培养的大鼠骨髓间充质干细胞增殖活性的作用. *辽宁中医杂志* 2012; 39: 158-161
- 19 王明宁, 胡琳, 胡火珍, 李小明. 四种中药注射液对大鼠骨髓间充质干细胞增殖作用的影响. *四川动物* 2008; 27: 1130-1132
- 20 王新生, 崔慧先, 刘华, 孙黎. 黄芪诱导骨髓间充质干细胞分化进程中细胞内钙离子浓度的动态变化. *中国组织工程研究与临床康复* 2007; 11: 8469-8472
- 21 史春民, 王拥军, 苗登顺. 异补骨脂素促进大鼠骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化并抑制其向分化. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2011; 31: 606-611
- 22 沈洪, 叶柏, 张露, 朱磊, 方涛, 顾培青, 宁丽琴, 郑凯, 陈静, 周晓波, 徐艺, 范晓薇, 沈天华, 戴路明, 陈功. 基于数据挖掘的溃疡性结肠炎核心药物及配伍分析. *世界科学技术-中医药现代化* 2013; 15: 926-931
- 23 朱磊, 沈洪, 成家飞, 张露, 倪菲菲, 顾培青. 溃疡性结肠炎与骨髓间充质干细胞的研究进展及中医药治疗新思路. *中华中医药杂志* 2015; 30: 146-148
- 24 朱磊, 沈洪, 刘丽, 顾培青, 王玖, 蒋寅, 朱长乐, 司海鹏, 朱萱萱. 健脾补肾清肠化湿方对静脉移植MSCs向溃疡性结肠炎大鼠结肠迁移分化的影响. *中国实验方剂学杂志* 2015; 21: 88-92
- 25 朱磊, 沈洪, 顾培青, 刘丽, 朱长乐, 司海鹏. 健脾补肾方促进BMSCs增殖治疗溃疡性结肠炎的实验研究. *南京中医药大学学报* 2015; 31: 560-563
- 26 沈洪, 刘智群, 朱荃, 朱磊, 翟金海. 清肠化湿方对溃疡性结肠炎NF- $\kappa$ B/Tolls通路的影响及其机制. *中国中西医结合杂志* 2013; 33: 1233-1238
- 27 谷静, 沈洪, 刘军楼, 欧阳俊. 朱磊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. *中国方剂学杂志* 2013; 19: 200-204
- 28 翟金海, 沈洪, 倪菲菲, 朱磊, 刘智群. 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. *南京中医药大学学报* 2013; 29: 151-154
- 29 翟金海, 沈洪, 倪菲菲, 朱磊, 刘智群. 清肠化湿方对实验性大鼠结肠炎结肠黏膜及肠系膜淋巴结树突状细胞的影响. *中国中西医结合杂志* 2012; 32: 1366-1369
- 30 刘智群, 沈洪, 朱萱萱, 郝波, 朱磊, 翟金海. 清肠化湿方对TNBS诱导大鼠UC模型紧密连接蛋白的影响. *辽宁中医杂志* 2012; 39: 1617-1619

## 同符评价

中医药治疗溃疡性结肠炎有明显优势, 本文通过制备UC大鼠模型, 采用健脾补肾、清肠化湿方联合BMSCs治疗, 观察肠道杯状细胞及其产生的黏蛋白Muc2表达水平, 并观察转录因子Math1及KLF-4的表达. 为健脾补肾、清肠化湿方应用于难治性溃疡性结肠炎的治疗提供了理论依据, 为探索中医药治疗UC的作用机制做了有益的尝试。

编辑: 于明茜 电编: 都珍珍

