

· 药理 ·

健脾清热活血方介导 β -catenin,
TCF-4 表达防治溃疡性结肠炎相关癌变研究

张保静, 陈远能, 黄斌, 张涛*
(广西中医药大学附属瑞康医院, 南宁 530011)

[摘要] **目的:**观察溃疡性结肠炎相关癌变(ulcerative colitis associated carcinogenesis, UCAC, 简称溃结相关癌变)小鼠组织形态、超微结构以及结肠黏膜 β -catenin、T 细胞因子 4(T cell factor-4, TCF-4)的表达变化,探讨健脾清热活血方药防治溃结相关癌变的可能机制。**方法:**120 只清洁级 BALB/c 小鼠随机分 6 组,每组 20 只,设正常组、模型组、美沙拉嗪 $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 阳性对照组、健脾清热活血方低、中、高剂量治疗组($4.29, 8.58, 17.16\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$);除外正常组,其余各组采用 1,2-二甲肼(DMH)/葡聚糖硫酸钠(DSS)复合法制备溃结相关癌变模型,模型组予等剂量生理盐水,对照组予美沙拉嗪,治疗组予不同剂量健脾清热活血方药水提液,连续干预 16 周。应用光镜、透射电镜观察溃结相关癌变小鼠结肠组织形态学以及超微结构变化;免疫组化、Western-bolt 及实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测结肠黏膜 β -catenin、TCF-4 蛋白及其 mRNA 表达变化。**结果:**模型组小鼠结肠光镜下可见黏膜上皮脱落,腺体萎缩、高级别上皮内瘤变,部分癌变,电镜下可见大、小不等、排列紊乱的上皮细胞,胞核不规则、核仁增大并上移;治疗组光镜下见黏膜充血肿胀,个别轻度不典型增生和淋巴滤泡出现,未见溃疡及癌变,电镜下可见上皮细胞体积明显变小,核染色质边集、核固缩或碎裂,核膜断裂,凋亡小体形成;与模型组比较,治疗组结肠黏膜损伤有不同程度改善($P<0.05$)。模型组结肠 β -catenin、TCF-4 蛋白及其 mRNA 呈高表达特点;治疗组结肠 β -catenin、TCF-4 蛋白及其 mRNA 表达均呈下降趋势,与模型组比较,有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**健脾清热活血方药可能通过调控 β -catenin、TCF-4 表达,促进炎症缓解,发挥防治溃疡性结肠炎相关癌变的效应。

[关键词] 溃疡性结肠炎相关癌变; β -连接蛋白; T 细胞因子 4; 健脾清热活血方药
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0144-06
[doi] 10.11653/syfj2013200144

Effect of Jianpi Qingre Huoxue Decoction on the Expression of β -catenin
and TCF-4 in Ulcerative Colitis Associated Carcinogenesis

ZHANG Bao-jing, CHEN Yuan-neng, HUANG Bin, ZHANG Tao*
(Ruikang Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530011, China)

[Abstract] **Objective:** The mechanism of preventing ulcerative colitis associated carcinogenesis (UCAC) by Jianpi Qingre Huoxue decoction was discussed by observing the changes of β -catenin and T cell factor-4 (TCF-4) in colon mucosa. **Method:** One hundred and twenty BALB/c rats were randomly divided into six groups: normal group, model group, positive control group, low dosage, mild dosage and high dosage groups of Jianpi Qingre Huoxue, 20 rats in each group. Except normal group, the other groups were intraperitoneal injected with 0.4% dimethylhydrazine (DMH) $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ by skin and peritoneal once a week. After intraperitoneal injection of DMH, those groups were given orally 3% dextran sulfacte sodium (DSS) for one week. The model group was treated with normal saline by intragastric administration for sixteen weeks. The positive control group was treated with mesalazine decoction for sixteen weeks. The intervention group was treated with different dosage of Jianpi

[收稿日期] 20130301(023)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81001507,81260536);广西卫生厅重点项目(重 201A041)
[第一作者] 张保静,在读硕士研究生,从事消化系统疾病中西医结合防治研究, E-mail: zhangbaojing456@163.com
[通讯作者] * 张涛,博士后,副教授,硕士研究生导师,从事溃疡性结肠炎中西医结合防治研究, E-mail: 327664246@qq.com

Qingre Huoxue decoction by intragastric administration for sixteen weeks. The colon histomorphology was assayed by naked eyes and light microscope. The ultra microstructure was checked by electron microscope. The expression of β -catenin and TCF-4 was detected by immunohistochemistry and western-blot and Real-time PCR. **Result:** The changes of high-grade intraepithelial neoplasia and partical carcinogenesis were found in model group by electron microscope, Meanwhile, a lot of epithelial cell of specimen size and arranged in disorder were found in colon mucosa of blank group, at same time, the irregular cell nucleus and the nucleolued of increasment and upward displacement appeared. However, the colon mucosa damage obviously improved in intervention group compared withmodel group. Colon mucosa is characterized by hyperemia and swelling by light microscope, small amout mild atypical hyperplasia and lymphoid follicle could be found, but the ulceration and carcinogenesis could not be found. By electron microscope, epithelial cell became smaller, at the same time, condensation of the nuclear chromatin, shrinkage and nucleus membrane and apoptofic bodies were found in intervention groups. The colonic mucosa damage was improved obviously in intervention groups, compared with the black group ($P < 0.05$). The expression of β -catenin and TCF-4 was increased in model group, meanwhile, the expression of β -catenin and TCF-4 was declined in intervention groups, compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Jianpi Qingre Huoxue decoction may exert a preventing effect on ulcerative colitis associated carcinogenesis through promoting inflammation laxation, inducing cell apoptosis, regulating the expression of β -catenin and TCF-4.

[**Key words**] ulcerative colitis associated carcinogenesis; β -catenin; TCF-4; Jianpi Qingre Huoxue decoction

溃疡性结肠炎 (UC, 简称溃结) 又称非特异性溃疡性结肠炎, 属于炎症性肠病 (IBD)。我国尚缺乏大规模人群的发病率调查, 相关文献^[1] 估计我国近 15 年溃疡性结肠炎患病率为 11.62/10 万, 且最新的一项基于住院病人的研究统计显示, 近 10 年中发病人数增加了 3 倍^[2], 提示溃结已成为严重影响我国人民身心健康的肠道主要疾病之一。溃结与结肠癌之间存在因果关系已得到消化界公认, 炎症作为致癌因素之一业已得到普遍认可, 如何控制炎症的发生、发展对于肿瘤的防治显然是有利的^[3-5]。溃疡性结肠炎相关癌变 (ulcerative colitis associated carcinogenesis, UCAC, 溃结相关癌变) 是涉及多基因、多信号的复杂过程, Wnt 通路调控 β -连接蛋白 (β -catenin) 磷酸化 (P- β -catenin), β -catenin 核内异常转录介导 UCAC 发生、发展中具有重要地位^[6]。本项目基于上述理论基础, 观察健脾清热活血中药复方对 UCAC 结肠 β -catenin, T 细胞因子-4 (TCF-4) 的影响, 以探讨健脾清热活血类中药防治 UCAC 的可能机制。

1 材料

1.1 动物 BALB/c 小鼠 120 只, SPF 级, 雄性, 5 周龄, (18 ± 2) g, 购自湖南实验动物中心, 动物许可证号 SCXK (湘) 2009-0004, 动物合格证号 HNASLKJ20102130。

1.2 试剂 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium

salt, DSS)、1,2-二甲胂 (dimethylhydrazine, DMH, 均由美国 Sigma 公司提供, 批号分别为 D980, D161802); 2.5% 戊二醛固定、10% 福尔马林、NaOH、甲醛、无水乙醇 (均由南宁市博仁生物科技有限公司提供, 批号分别为 078577, D8779, 35110018, 0079790, 1008006); 二甲苯、Harris 苏木精液、伊红染色液 (均为南宁阳光实验中心提供, 批号分别为 0237021, J42070, 3599); 离心柱型总 RNA 提取试剂盒 (北京天根公司, 批号 DP419); 逆转录试剂盒 (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit) (Ferments, 上海生物科技公司, 批号 081243); β -catenin, TCF-4 一抗和 FS Universal SYBR Green Masf (均购自广州聚研生物, 批号分别为 BA0426, BA1284, 4913914001); 蛋白提取液, 南宁天地扬生物公司, 批号 CO201); 引物, 上海生物科技公司, 批号 M425088/M425089; 液氮由广西医科大学第一附属医院氧气中心站提供。

1.3 仪器 Axiovert200-倒置相差显微镜 (德国 Zeiss 公司); SZ-93-自动双重纯水蒸馏器、TP1020-自动脱水机、HI1210 Leica-摊片机、EG1160Leica-自动包埋机 (均为上海亚荣生化仪器厂); PTC-220-多通道 PCR 扩增仪 (美国 MJ 公司); BIO-RAD-全自动酶标仪、7500 荧光 PCR 仪、5810R-高速低温离心机 (均为德国 Eppenndorf Centrifuge 公司); Power/Pac300-BIO-RAD 电泳仪 (美国 BIO-RAD 公司); Gel

doc2000-凝胶成像分析系统(美国 BIO-RAD 公司); LXJ-IIB-低速大容量离心机(上海安亭仪器厂); ABI 3900-台式高通量 DNA 合成仪(上海生物科技公司); 超声细胞破碎仪(上海天呈科技有限公司); BIO RAD-垂直电泳仪及转移系统、射线摄影暗匣(均为广州艺佳生物)。

1.4 药物 健脾清热活血中药组方为救必应 15 g, 白术 10 g, 白芍 15 g, 水蛭 10 g, 三七 10 g, 炙甘草 6 g, 药物购自广西中医药大学第一附属医院仁爱分院, 经广西中医药大学中药学院中药标本中心黄陆良鉴定均符合《中国药典》标准。用蒸馏水煎成健脾清热活血中药药液, 浓缩配制成含原生药 1 g·mL⁻¹ 的药液, 过滤分装 4℃ 保存备用。

美沙拉嗪肠溶颗粒剂(法国博福-益普生生产), 批号 H20070727, 用蒸馏水配制成 0.4% 的药液, 过滤分装 4℃ 保存备用。

2 方法

2.1 造模 参照文献报道^[7-8], 取 5 周龄雄性 BALB/c 小鼠 120 只, 适应性喂养 1 周后, 按体重随机分为正常组、模型组、对照组(美沙拉嗪组)、治疗组(低、中、高剂量组), 每组 20 只。将 DMH 溶于生理盐水中, 使其终浓度为 20 mg·kg⁻¹ (0.4% DMH 0.005 mL·g⁻¹), 用 1 mol·L⁻¹ NaOH 调整 pH 至 6.5。除正常组外, 其余各组每周各皮下、腹腔注射(间隔 3 d) DMH 20 mg·kg⁻¹ 1 次; 继而在小鼠饮水中添加 3% DSS, 连续自由饮用 1 周, 以上述过程为 1 个循环; 共重复 3 个循环, 其中第 2 个循环中 DSS 改为 2%, 正常组予以同步饲养, 模型组予等剂量生理盐水, 对照组予 0.4% 浓度的美沙拉嗪药液, 治疗组分别按成人用药量的 3, 6, 12 倍给药, 即 4.29, 8.58, 17.16 g·kg⁻¹ [人(60 kg) 与小鼠(20 g) 标准体重, 按体表面积比等效剂量换算比率, 相当于人的 6 倍剂量为等效剂量即中剂量组]。

2.2 标本采集 全部小鼠第 24 周末脱椎处死, 迅速剖取从回盲瓣至肛门的全部结肠, 选择性取材(挑取溃疡或肿瘤最明显处病变肠段, 若无溃疡则选取红肿糜烂较明显处病变肠段)沿纵轴切开, 乱取结肠黏膜组织, 选材共分为 5 部分, 其中第 1 部分置于福尔马林溶液中以备病理检测; 第 2 部分切成

大约 1 mm 宽, 2~3 mm 长的小块, 置入新鲜电镜固定液中以备电镜检测; 第 3, 4, 5 部分分别放入滴加裂解液的冻存管里, 置入液氮管里保存以备免疫组化、Western-blot 及荧光定量 PCR 检测。

2.3 指标检测

2.3.1 小鼠结肠病理改变情况的观察 将已用福尔马林液固定好的小鼠结肠取出, 然后切取病变处, 经用蒸馏水冲洗后逐级脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋切片, 常规 HE 染色, 封片, 光镜下观察炎症和溃疡情况。组织学损伤评分标准按照 Clapper M L 等描述的标准^[9]。

2.3.2 不典型增生评价标准 不典型增生按照 Morson 等描述的标准分低度和高度不典型增生^[10]; 癌分为原位癌和进展期癌; 前者定义为癌细胞浸润至黏膜层或黏膜下层; 后者定义为癌细胞浸润至肌层及以外。

2.3.3 结肠黏膜透射电镜下改变情况的观察 以新鲜电镜固定液(2.5% 戊二醛)固定结肠组织, 然后采用包埋法操作, 具体步骤依照“前固定-洗涤-后固定-脱水-浸透-包埋-修整-切片, 捞片-染色-电镜观察”进行。

2.3.4 结肠 β -catenin, TCF-4 蛋白表达 应用免疫组化 SABC 法和 Western-blot 技术检测 β -catenin, TCF-4 蛋白表达, 具体步骤严格按照试剂说明书进行操作。免疫组化以 PBS 代替一抗为阴性对照, 采用 Image pro plus 4.0 软件进行图像分析, 并按照 Maruyama^[10] 方法判断 β -catenin 及 TCF-4 的表达特征; Western-blot 检测以 TBP 作为内参, 用吸光度扫描仪对蛋白含量进行密度分析, 以目的蛋白与 TBP 的密度比值作为目的蛋白的相对含量。

2.3.5 结肠 β -catenin, TCF-4 mRNA 表达 应用实时荧光定量 PCR 法(Real-time PCR), 以 TBP 为内参, 检测 β -catenin, TCF-4 的 mRNA 表达, 具体步骤严格按照试剂说明书进行操作, 各样品的荧光信号值由荧光定量 PCR 仪的支持软件 ABI Prism7000SDS software 实时产生并自动计算定量数值, 以目的基因与 TBP 的 mRNA 表达比值作为目的基因的相对表达量。 β -catenin, TCF-4 引物序列见表 1。

表 1 目的基因和内参基因的引物序列

基因名称	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	扩增长度/bp
β -catenin	CTCTGGGGCTGGCTGTAGAC	ACATCTCCTCCGACTCTTCC	153
TCF-4	GGGAAGATCTGAGTACTGAAGAA	CCCTGAGCATAAGGTGGAA	121
TBP	GGGAAGATCTGAGTACTGAAGAA	CCCTGAGCATAAGGTGGAA	147

2.4 统计学分析 采用 SPSS 11.5 for Windows 软件,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐同时用 LSD 法,方差不齐时用 Tambane'S T2 法, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 光镜下观察结肠黏膜损伤情况和损伤评分
正常组:镜下结肠黏膜未见明显异常,可见少许炎性细胞浸润。模型组:镜下可见黏膜上皮脱落,溃疡多而且大,腺体萎缩、高级别上皮内瘤变,部分癌变。光镜下,各治疗组结肠黏膜损伤较模型组均有不同程度的改善($P < 0.05$),镜下可见黏膜充血肿胀,个别低度不典型增生和淋巴滤泡出现,未见溃疡及癌变,其中中、高剂量组结肠黏膜损伤改善情况更佳。实验结果表明,各治疗组结肠黏膜损伤较模型组均有不同程度的改善,其中中、高剂量组比低剂量组结肠黏膜损伤改善情况更佳。见表 2。

表 2 健脾清热活血方对溃疡性结肠炎结肠黏膜损伤评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

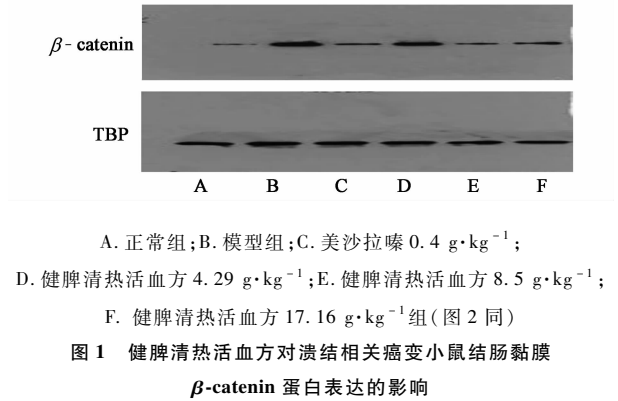
组别	给药剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	损伤评分/分
正常	—	0
模型	—	$8.18 \pm 1.12^{(2)}$
美沙拉嗪	0.40	$5.08 \pm 1.06^{(1)}$
健脾清热活血方	4.29	$7.19 \pm 0.31^{(1)}$
	8.58	$6.25 \pm 0.23^{(1)}$
	17.16	$6.16 \pm 0.11^{(1)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与正常组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)。

3.2 透射电镜下观察溃疡性结肠炎相关癌变超微结构情况
正常组:上皮细胞大小一致,排列整齐,结构较完整,纤毛较长;细胞核位于细胞底部,未见明显核仁;细胞器未见明显异常增生、肿胀及变形。模型组:上皮细胞大小不等,排列紊乱;细胞核浆比例增大,核上移;胞核不规则,可见明显核仁;细胞内线粒体、高尔基体、核糖体大量增生,线粒体局灶可见明显扩张、肿胀。各治疗组结肠黏膜癌变超微结

构均较模型组有不同程度改善,镜下可见上皮细胞体积明显变小,核染色质边集、核固缩,核膜断裂,核碎裂,细胞器明显扩张肿胀、碎裂,其中中、高剂量组癌变改善效果更佳,镜下可看到上皮细胞明显变小、空泡化,凋亡小体形成,局灶可见坏死,提示健脾清热活血中药可以诱导细胞凋亡。

3.3 小鼠结肠 β -catenin,TCF-4 蛋白表达变化
模型组 β -catenin 结肠黏膜上皮细胞阳性表达增多,以核内高表达为特点;TCF-4 阳性表达呈上升趋势且以核表达为主;各治疗组 β -catenin 结肠黏膜表达为主,核内阳性表达较少,TCF-4 阳性表达减少,与模型组比较,均有统计学差异($P < 0.05$)。Western-blot 分析显示模型组 β -catenin,TCF-4 均呈现高表达现象,各治疗组 β -catenin,TCF-4 均呈低表达现象,与模型组比较,均有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 3,4 和图 1~2。这说明, β -catenin 核内积聚,下游靶基因 TCF-4 高表达可能是溃结相关癌变的关键所在,健脾清热活血方药具有干预 β -catenin 核内积聚以及 TCF-4 表达的作用。见图 1~2,表 3。



3.4 小鼠结肠 β -catenin,TCF-4 mRNA 表达变化
模型组 β -catenin,TCF-4 mRNA 表达呈上升趋势;各治疗组 β -catenin,TCF-4 mRNA 表达呈下降趋势,与模型组比较均有统计学差异($P < 0.05$)。这说明,

表 3 健脾清热活血方对溃结相关癌变小鼠结肠 β -catenin,TCF-4 蛋白相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

组别	给药剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	β -catenin 蛋白/ $\times 10^3 \cdot \mu\text{m}^{-2}$	TCF-4 蛋白/ $\times 10^3 \cdot \mu\text{m}^{-2}$	β -catenin 蛋白表达	TCF-4 蛋白表达
正常	—	$2\,436.76 \pm 231.14$	$2\,059.63 \pm 244.64$	1.45 ± 0.12	1.01 ± 0.93
模型	—	$6\,317.31 \pm 625.28^{(2)}$	$7\,972.37 \pm 585.06^{(2)}$	$2.34 \pm 0.17^{(2)}$	$2.14 \pm 0.29^{(2)}$
美沙拉嗪	0.40	$3\,514.77 \pm 443.21^{(1)}$	$3\,639.51 \pm 427.31^{(1)}$	$1.23 \pm 0.16^{(1)}$	$1.03 \pm 0.12^{(1)}$
健脾清热活血方	4.29	$4\,323.99 \pm 445.60^{1,2)}$	$4\,794.56 \pm 318.25^{1,2)}$	$1.97 \pm 0.13^{1,2)}$	$1.39 \pm 0.17^{1,2)}$
	8.58	$3\,421.98 \pm 422.36^{1,2)}$	$3\,629.25 \pm 296.19^{1,2)}$	$1.41 \pm 0.61^{1,2)}$	$1.11 \pm 0.22^{1,2)}$
	17.16	$3\,534.39 \pm 457.41^{1,2)}$	$3\,795.04 \pm 380.33^{1,2)}$	$1.76 \pm 0.28^{1,2)}$	$1.26 \pm 0.15^{1,2)}$

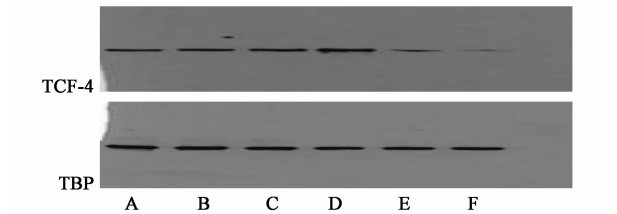


图 2 健脾清热活血方对溃结相关癌变小鼠
结肠黏膜 TCF-4 蛋白表达的影响

溃结相关癌变存在 β -catenin mRNA 高表达,导致下游靶基因 TCF-4 过度转录的特点,健脾清热活血方可能干预上述靶点,发挥治疗效应。见表 4。

表 4 健脾清热活血方对溃结相关癌变小鼠结肠 β -catenin,
TCF-4,mRNA 相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

组别	给药剂量 /g·kg ⁻¹	β -catenin /TBP	TCF-4 /TBP
正常	-	1.61 ± 0.14	1.63 ± 0.23
模型	-	2.51 ± 0.16	2.42 ± 0.33
美沙拉嗪	0.40	1.28 ± 0.08 ¹⁾	1.11 ± 0.26 ¹⁾
健脾清热活血方	4.29	2.14 ± 0.17 ^{1,2)}	1.62 ± 0.19 ^{1,2)}
	8.58	1.53 ± 0.06 ^{1,2)}	1.21 ± 0.26 ^{1,2)}
	17.16	1.87 ± 0.05 ^{1,2)}	1.46 ± 0.19 ^{1,2)}

4 讨论

健脾清热活血中药是广州中医药大学全国名老中医劳绍贤教授在总结多年治疗溃结经验基础上,精心筛制而成,临床疗效确切^[12-14]。该方由白术、炙甘草、救必应、白芍、水蛭、三七等药物组成,诸药合用共奏健脾利湿、清热解毒、活血定痛之功。本研究采用 DMH/DSS 复合法制备溃结相关癌变模型,以公认有效的美沙拉嗪为对照,观察不同剂量健脾清热活血中药防治 UCAC 的可能机制及其效应,组织病理学及超微结构结果均证实健脾清热活血类方药能明显减轻结肠黏膜损伤,缓解结肠黏膜炎症程度,部分阻断癌变进程,提示健脾清热活血中药可有效缓解 UCAC。

多项研究均已证实,UC 患者具有较高的肠癌发生率已是不争的事实,UC 相关性结直肠癌 (ulcerativecolitis-associated colorectal cancer, UC-CRC)虽仅占有结直肠癌的 1% ~ 2%,但占 UC 患者死亡原因的 15%,相关研究^[15]发现,病程为 10,20,30 年的 UC 患者结直肠癌发生率分别为 0.6% ,5.4% ,7.5% ,提示防治溃结已成为治疗 UC-CRC 的关键。尽管 UC 癌变机制目前尚未明了,但 β -catenin 核内异常转位及其下游靶基因过度转录被

认为是 UC 癌变的关键事件之一。 β -catenin 是 Wnt 信号通路中最关键的转递子^[16],是一种多功能胞质蛋白,可于细胞膜、细胞质及细胞核中存在,含有 781 个氨基酸,其氨基末端含数个 GSK-3 β 的磷酸化位点,羧基末端有活化相应靶基因转录的功能,中间区域形成 α -螺旋和连接环结构,含有 Cadherin、APC 蛋白及 TCF 结合的位点,这些分子的结构特点决定了 β -catenin 在 Wnt 信号转导中起枢纽作用。 β -Catenin 缺少 DNA 结合活性,却有转录活性区,而 T 细胞因子 (Tcf) 兼有 β -Catenin 结合域和结合 DNA 活性,却无转录活性,两者结合形成具有转录功能的复合物,在核内共同调控下游基因 c-myc, cyclinD1 的转录,诱导细胞恶变,从而完成 Wnt 信号的最终效应。本研究结果发现模型组结肠黏膜 β -catenin 表达减少,核内表达增加, β -catenin 的 mRNA 和蛋白水平呈高表达,TCF-4 的 mRNA 和蛋白水平亦呈高表达趋势。治疗组 β -catenin 蛋白表达以结肠黏膜为主,不存在黏膜表达缺失现象, β -catenin、TCF-4 的 mRNA 和蛋白水平表达较模型组相比,呈下降变化,其中以中剂量和高剂量疗效最为明显,上述变化与 UCAC 小鼠结肠黏膜组织形态学变化呈正相关,表明健脾清热活血中药可以调控 β -catenin,TCF-4 基因表达,发挥抑制 UCAC 的效应。

综合上述研究结果,课题组推测健脾清热活血中药复方具有明确防治溃结相关癌变效应,其机制其可能与调控 β -catenin,TCF-4 表达,促进炎症缓解,从而发挥防治溃疡性结肠炎相关癌变的效应。

[参考文献]

[1] 中国炎症性肠病协作组. 3100 例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析[J]. 中华消化杂志,2006,26(6):368.

[2] Yun J, Xu C T, Pan B R. Epidemiology and gene markers of ulcera-tive colitis in the Chinese[J]. World J Gastroenterol, 2009,15:788.

[3] Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation [J]. Cell,2010,140(6):871.

[4] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation[J]. Nature, 2008,454(7203):436.

[5] Colotta F, Allavena P, Sica, et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer; links to genetic instability [J]. Carcinogenesis, 2009, 30(7):1073.

[6] Risques R A, Lai L A, Brentnall T A, et al. Ulcerative colitis is a disease of accelerated colon aging: evidence from telomere attrition and DNA damage [J]. Gastroenterology, 2008, 135(2):410.

藏药吉尔巴对糖尿病性视网膜病变的影响及机制研究

岳丽珺,张燕,向丽,赖先荣*,孟宪丽
(成都中医药大学,成都 611137)

[摘要] 目的:研究藏药吉尔巴对糖尿病视网膜病变模型(DR)大鼠的降血糖作用、抗氧化应激作用、血管保护作用及其相关机制。方法:SD 大鼠单次 ip 给予链脲佐菌素(STZ)40 mg·kg⁻¹制备 2 型糖尿病模型,高脂饲料喂养 5 个月,随机分组,给予相应药物,连续 30 d,实验期间监测大鼠体质量、血糖的变化,实验结束后检测大鼠超氧化物歧化酶(SOD)活力,一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、细胞黏附分子(ICAM-1)、血管紧张素Ⅱ(ANGⅡ)的水平,并通过大鼠视网膜 HE 染色分析其病理变化。结果:吉尔巴浸膏可显著降低 DR 模型大鼠空腹血糖,可减轻视网膜病理改变,降低大鼠视网膜内皮细胞/周细胞值(E/P),显著增强 SOD 活力,降低血清细胞黏附分子(ICAM-1)和血管紧张素Ⅱ(ANGⅡ)含量。结论:吉尔巴浸膏能够减轻糖尿病视网膜病变程度,减缓发展进程,同时具有整体调节功能,对糖尿病大鼠视网膜具有保护作用。

[关键词] 糖尿病视网膜病变; 吉尔巴; 血糖控制; 氧化应激; 血管保护

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0149-05

[doi] 10.11653/syfy2013200149

Study on the Effect of *Berberis dictyophlla* Cortex on Diabetic Retinopathy and the Mechanism

YUE Li-jun, ZHANG Yan, XIANG Li, LAI Xian-rong*, MENG Xian-li

[收稿日期] 20130517(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173360);四川省教育厅重点项目(10ZA092);四川省科技厅科技支撑计划(2011SZ0298)

[第一作者] 岳丽珺,在读硕士研究生,中药药理,Tel:13518202396,E-mail:yuelijun1130@163.com

[通讯作者] * 赖先荣,副研究员,民族药学,Tel:028-61800160,E-mail:laixianrong@163.net

[7] Kohno H, Suzuki R, Sugie S, et al. Beta-Catenin mutations in a mouse model of inflammation-related colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine and dextran sodium sulfate[J]. Cancer Science,2005, 96(2):69.

[8] 黄芸,董蕾. 马齿苋对大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 中国中药杂志,2011,36(19):2727.

[9] Clapper M L, Gary M A, Coudry R A, et al. 5-aminosalicylic acid inhibits colitis-associated colorectal dysplasias in the mouse model of azoxyme thane/dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. Inflamm Bowel Dis. , 2008, 14(10):1341.

[10] Morson B C, Sobin L H, Grundmann E, et al. Precancerous conditions and epithelial dysplasia in the stomach[J]. J Clin Pathol,1980,33(8):711.

[11] Maruyama K,Ochiai A, Akimoto S, et al. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer [J]. Oncology, 2000, 59(4):302.

[12] 常东,劳绍贤,樊亚巍,等. 溃结灵颗粒配合柳氮磺胺吡啶治疗大肠湿热型溃疡性结肠炎 30 例[J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(11):1566.

[13] 李华燕,张涛,张颖芹. 健脾清热活血方与美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的对比研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(4):227.

[14] 常东,刘子志,李键,等. 大肠湿热型溃疡性结肠炎患者防御素、白细胞介素-8 表达及溃结灵的干预作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(11):13.

[15] Lakato L, Mester G, Erdelyi Z, et al. Risk factors for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in a Hungarian cohort of patients with ulcerative colitis: Results of a population-based study [J]. Inflamm Bowel Dis, 2006, 12(3):205.

[16] Schneikert J, Behrens J. The canonical Wnt signaling pathway and its APC partner in colon cancer development[J]. Gut, 2007, 56(3):417.

[责任编辑 聂淑琴]