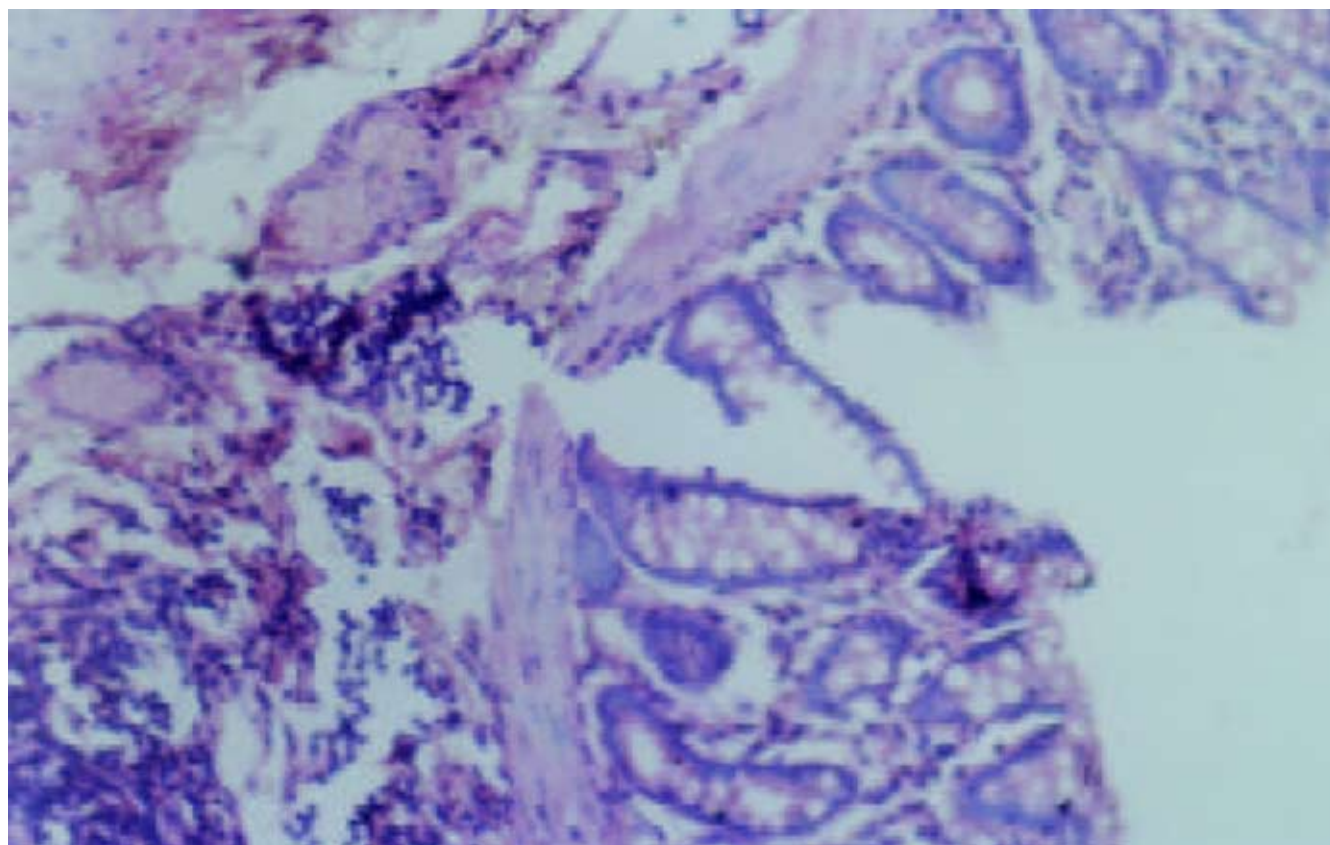


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



2/2004

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2004 年 2 月 15 日

第 12 卷

第 2 期

(总第119期)

述 评

253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军

胃 癌

258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦

262 胃癌前病变p21^{ras}, c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤

266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青

肝 癌

271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达
邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南

276 肝癌细胞H₂₂与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究
张娟, 张锦堃, 卓少宏

280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达
周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊

283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林

病毒性肝炎

286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白
成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟

291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析
成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟

298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞

302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因
王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花

306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因
刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花

311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因
杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林

315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅

319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究
张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏

323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究
李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮

327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较
成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳

332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明

基础研究

336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定
蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭

339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析
刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻

344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪

347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和Ic-fos表达
杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
www.isgcon2005.com
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education
- II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus
February 22-25, 2006
isde@sapmea.asn.au
www.isde.net

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(半月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2004-02-15
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市2345信箱)
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号
82-262

国外代号
M 4481

国内定价
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用

刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方

刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 武汉大学人民医院消化内科
湖北省武汉市 430060
吴东方, 武汉大学人民医院药理学部 湖北省武汉市 430060
刘少平, 男, 1973-11-08 生, 湖北黄石市人, 汉族, 武汉大学人民医院消化
内科硕士研究生, 主要从事炎症性肠病的防治研究.
湖北省科技攻关项目, No. 2001AA308B
项目负责人: 董卫国, 430060, 湖北省武汉市解放路 238 号, 武汉大学人民
医院消化内科. dongwg@public.wh.hb.cn
电话: 027-88074434
收稿日期: 2003-05-14 接受日期: 2003-06-02

Protective effects of *Angelica sinensis* polysaccharides on acetic acid-induced rat colitis

Shao-Ping Liu, Wei-Guo Dong, Bao-Ping Yu, He-Sheng Luo,
Jie-Ping Yu, Dong-Fang Wu

Shao-Ping Liu, Wei-Guo Dong, Bao-Ping Yu, He-Sheng Luo, Jie-Ping Yu,
Department of Gastroenterology, Wuhan University Renmin Hospital,
Wuhan 430060, Hubei Province, China
Dong-Fang Wu, Department of Pharmacy, Wuhan University Renmin
Hospital, 238 Jiefang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Supported by Science and Technology Committee of Hubei Province,
No. 2001AA308B
Correspondence to: Wei-Guo Dong, Wuhan University Renmin Hospital,
238 Jiefang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China.
dongwg@public.wh.hb.cn
Received: 2003-05-14 Accepted: 2003-06-02

Abstract

AIM: To study the protective effects of *Angelica sinensis* polysaccharides (ASP) on colon injury in acetic acid-induced rat colitis and its mechanism.

METHODS: The colitis model of rats was produced by intracolonic enema with acetic acid. The experimental animals were divided into 6 groups: normal, model, 5-ASA (100 mg/kg), and ASP (250, 500, 1 000 mg/kg), and treated intracolonic with saline, 5-ASA, and ASP respectively once a day for 7 days. The colon mucosa damage index (CMDI) and occult blood test (OBT) were evaluated. The activities of MPO and SOD, the contents of MDA and NO, the expression levels of TGF- β and EGF in the colon tissue were detected. H-E stained section was also observed.

RESULTS: Intracolonic enema with ASP decreased the significantly elevated extents of CMDI, OBT and levels of MPO, MDA, and NO in the model group (CMDI: 2.1 ± 0.8 , 1.8 ± 0.6 , 1.4 ± 0.7 vs 2.9 ± 0.6 ; OBT: 3.1 ± 1.3 , 2.7 ± 1.1 , 2.2 ± 1.2 vs 3.8 ± 0.8 ; MPO: 77.2 ± 23.6 , 72.5 ± 16.8 , 61.3 ± 19.2 vs 98.1 ± 26.9 ; MDA: 44.26 ± 10.25 , 38.72 ± 14.84 , 31.59 ± 12.68 vs 31.59 ± 12.68 ; NO: 0.252 ± 0.041 , 0.223 ± 0.037 , 0.217 ± 0.032 vs 0.331 ± 0.092 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$), increased the significantly reduced level of expression of TGF- β and the activity of SOD in the model group (SOD: 30.16 ± 2.88 , 31.27 ± 2.73 , $33.52 \pm$

2.81 vs 28.33 ± 1.17 ; TGF- β : 0.136 ± 0.031 , 0.153 ± 0.036 , 0.169 ± 0.029 vs 0.105 ± 0.021 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$), and also increased significantly the expression of EGF (EGF: 0.178 ± 0.021 , 0.195 ± 0.031 , 0.191 ± 0.022 vs 0.151 ± 0.026 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$). The histological changes were also alleviated with ASP treatment.

CONCLUSION: Enteroclysis with ASP markedly relieve the colon injury in acetic acid-induced rats colitis, which is related with promoting growth factors, decreasing oxygen free radicals and some anti-inflammation effects.

Liu SP, Dong WG, Yu BP, Luo HS, Yu JP, Wu DF. Protective effects of *Angelica sinensis* polysaccharides on acetic acid-induced rat colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(2):367-370

摘要

目的: 研究当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎损伤的保护作用及其初步机制。

方法: 建立大鼠乙酸性结肠炎模型。实验设正常对照组, 模型对照组; 阳性药物对照组(5氨基水杨酸100 mg/kg); 当归多糖给药组(250, 500, 1 000 mg/kg), 每天灌肠给药一次, 用药 7 d。评价大鼠结肠黏膜损伤指数(CMDI)及粪便隐血实验(OBT), 检测结肠组织髓过氧化物酶(MPO), SOD 活性, MDA、NO 含量和 TGF- β 、EGF 表达水平, 并作病理组织学观察。

结果: ASP 灌肠明显降低模型组大鼠结肠显著升高的 CMDI、OBT 评分, MPO 活性、MDA、NO 含量(CMDI: 2.1 ± 0.8 , 1.8 ± 0.6 , 1.4 ± 0.7 vs 2.9 ± 0.6 ; OBT: 3.1 ± 1.3 , 2.7 ± 1.1 , 2.2 ± 1.2 vs 3.8 ± 0.8 ; MPO: 77.2 ± 23.6 , 72.5 ± 16.8 , 61.3 ± 19.2 vs 98.1 ± 26.9 ; MDA: 44.26 ± 10.25 , 38.72 ± 14.84 , 31.59 ± 12.68 vs 31.59 ± 12.68 ; NO: 0.252 ± 0.041 , 0.223 ± 0.037 , 0.217 ± 0.032 vs 0.331 ± 0.092 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 明显升高模型组大鼠结肠显著降低的 SOD 活性与 TGF- β 表达水平 (SOD: 30.16 ± 2.88 , 31.27 ± 2.73 , 33.52 ± 2.81 vs 28.33 ± 1.17 ; TGF- β : 0.136 ± 0.031 , 0.153 ± 0.036 , 0.169 ± 0.029 vs 0.105 ± 0.021 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 亦显著上调 EGF 表达(EGF: 0.178 ± 0.021 , 0.195 ± 0.031 , 0.191 ± 0.022 vs 0.151 ± 0.026 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。ASP 用药呈一定量效关系。SF 灌肠亦改善模型组大鼠结肠病理组织学表现。

结论: ASP 灌肠明显缓解乙酸性结肠炎大鼠结肠损伤, 机制与促生长因子、抗氧化和一定的抗炎作用相关。

刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方. 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用. 世界华人消化杂志 2004;12(2):367-370

http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/367.asp

0 引言

当归多糖(angelica sinensis polysaccharides, ASP)具有调节免疫、抗肿瘤、抗感染、促进造血等广泛药理作用^[1]. 近年研究发现, ASP 体外通过促生长因子合成, 上调 c-myc 蛋白表达、升高鸟氨酸脱羧酶活性等作用, 促进大鼠胃上皮细胞增生与迁移, 加速其损伤模型的修复; ASP 灌胃明显缓解大鼠实验性胃溃疡损伤, 促进溃疡愈合; ASP 可拮抗大鼠胃肠道大量中性粒细胞浸润引起的炎症损伤; ASP 亦能抑制 MDA, NO 生成, 减少谷胱甘肽的清除, 表现出抗氧化特性, 拮抗 CCl₄ 诱导的大鼠氧化性肝损伤^[2-7]. 为探讨 ASP 对 IBD 肠组织损伤是否亦具有缓解保护作用机制, 我们建立大鼠乙酸性结肠炎模型, 首次观察 ASP 灌肠给药对其结肠损伤程度及氧自由基、生长因子水平的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 健康 Sprague-Dawley 大鼠, 雌雄兼用, 体重 250 ± 30 g, 由湖北预防医学科学院实验动物中心提供; ASP 由武汉大学人民医院药理学部参照文献[5]方法提取、纯化, 所用当归产于甘肃岷县, 使用前溶于生理盐水, 高压消毒; 5-ASA 原料药, 国怡药业有限公司提供, 批号 0209477; 分析纯乙酸, 上海生化试剂厂产品; MPO, SOD, MDA, NO 检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所; OB 试纸, Tonyar Biotech 公司产品; TGF-β, EGF 多抗分别购自美国 Santa Cruz 和 Zymed 公司; SP 试剂盒由北京中山生物技术有限公司提供; 其余试剂均为国产分析纯.

1.2 方法 参照文献[Gut 1996;39:407-415]制备动物模型, 乙醚麻醉固定大鼠, 橡胶输液管由肛门轻柔插入结肠内约 8 cm, 推入 80 mL/L 乙酸 2 mL, 作用 20 s 后, 立即注入 5 mL 生理盐水, 冲洗 2 次. 实验设正常对照组、模型对照组、阳性药物对照组、ASP 给药组 (250, 500, 1 000 mg/kg), 每组 8 只, 均灌肠给药, 1 次/d, 给药时间从制备模型后 24 h 开始, 用药 7 d. 正常对照组及模型对照组均给予等量生理盐水灌肠. 实验完成后用 OB 试纸检测粪便隐血实验(OBT), 显色评分标准按 OB 试纸说明进行. 处死动物, 参照文献[8]评价 CMDI, 评分标准为: 0 = 无损伤; 1 = 轻度充血、水肿, 表面光滑, 无糜烂或溃疡; 2 = 充血水肿, 黏膜粗糙呈颗粒状, 有糜烂或肠粘连; 3 = 高度充血水肿, 黏膜表面有坏死及溃疡形成, 溃疡最大纵径小于 1 cm, 肠壁增厚或表面有坏死及炎症; 4 = 在 3 分基础上溃疡最大纵径大于 1 cm, 或全肠壁坏死. 在距肛门 7-9 cm 处取适量结肠新鲜标本, 快速置于液氮中速冻, 待测 SOD, MDA, NO, MPO, 检测操作按相应试剂盒说明进行;

用 40 mL/L 多聚甲醛溶液固定结肠组织标本, 常规石蜡包埋、切片, HE 染色并光镜观察. TGF-β、EGF 免疫组化检测步骤严格按试剂盒说明进行, 均以非免疫性山羊血清封闭非特异性抗原, 一抗分别为 1:100, 1:150 的 TGF-β 与 EGF 兔 IgG 多抗, 二抗均为生物素化羊抗兔 IgG 工作液, 以 PBS 代替一抗做阴性对照, 以细胞核蓝色为阴性, 胞质内或核膜上呈棕黄色为阳性. 每张切片选取 10 个 400 倍视野, 采用全自动图像分析仪与 HPIAS-2000 图像分析软件, 分别扫描记录阳性细胞的吸光度 A 值, 取其平均值, 作为此切片 TGF-β, EGF 的相对含量.

统计学处理 数据以 mean±SD 表示, 采用 SPSS 医学统计软件处理, 两组间均数差异的比较采用 t 检验.

2 结果

2.1 结肠损伤程度和炎症反应 模型组大鼠 CMDI, OBT 与 MPO 活性较正常对照显著升高(P < 0.01), 不同剂量 ASP 灌肠显著降低 CMDI, 中、大剂量 ASP 亦使 OBT 评分, MPO 活性明显降低(P < 0.05 或 P < 0.001). 大剂量 ASP 改善 CMDI, OBT 作用与 100 mg/kg 5-ASA 相当(表 1). 结肠标本 HE 染色亦显示, 模型组黏膜高度充血水肿, 上皮溃疡形成, 局部见坏死, 大量炎性细胞浸润, 腺体中杯状细胞显著减少而大剂量 ASP 用药组黏膜充血水肿, 上皮溃疡坏死明显减轻, 炎性细胞浸润亦有所缓解.

表 1 ASP 对结肠炎大鼠 CMDI, OBT 的影响 (mean±SD, n=8)

分组	剂量(mg/kg)	CMDI(分)	OBT(分)	MPO(nkat/g)
正常对照	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	413 ± 192
模型对照	0	2.9 ± 0.6 ^b	3.8 ± 0.8 ^b	1 635 ± 448 ^b
5-ASA	100	1.6 ± 0.9 ^d	2.6 ± 1.1 ^c	493 ± 180 ^d
ASP	250	2.1 ± 0.8 ^c	3.1 ± 1.3	1 287 ± 393
ASP	500	1.8 ± 0.6 ^d	2.7 ± 1.1 ^c	1 209 ± 280 ^c
ASP	1 000	1.4 ± 0.7 ^d	2.2 ± 1.2 ^d	1 022 ± 320 ^d

^bP < 0.01, vs 正常对照组; ^cP < 0.05, ^dP < 0.01, vs 模型对照组.

表 2 ASP 对结肠炎大鼠结肠氧自由基与生长因子的影响(mean±SD, n=8)

分别	剂量(mg/kg)	SOD (ukat/g)	MDA (umol/g)	NO (mmol/g)	TGF-β (A × 10 ⁻³)	EGF (A × 10 ⁻³)
正常对照	0	602 ± 32	9.2 ± 3.8	176 ± 45	146 ± 25	162 ± 23
模型对照	0	472 ± 20 ^b	57.5 ± 12.4 ^b	331 ± 92 ^b	105 ± 21 ^b	151 ± 26
5-ASA	100	548 ± 49 ^d	34.7 ± 9.4 ^d	194 ± 35 ^d	97 ± 27	159 ± 28
ASP	250	503 ± 48	44.3 ± 10.2 ^c	252 ± 41 ^c	136 ± 31 ^c	178 ± 21 ^c
ASP	500	521 ± 46 ^c	38.7 ± 14.8 ^c	223 ± 37 ^d	153 ± 36 ^d	195 ± 31 ^d
ASP	1000	559 ± 47 ^d	31.6 ± 12.7 ^d	217 ± 32 ^d	169 ± 29 ^d	191 ± 22 ^d

^bP < 0.01, vs 正常对照组; ^cP < 0.05, ^dP < 0.01, vs 模型对照组.

2.2 结肠氧自由基和生长因子 模型组大鼠 MDA, NO 含量显著升高, TGF-β 表达、SOD 活性显著降低(P < 0.01),

EGF 表达无明显变化, ASP 灌肠显著降低 MDA, NO 含量, 升高 TGF- β , EGF 表达水平, SOD 活性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 100 mg/kg 5-ASA 对模型组 TGF- β , EGF 表达水平无明显影响. ASP 用药呈一定量效关系(表 2, 图 1-4).

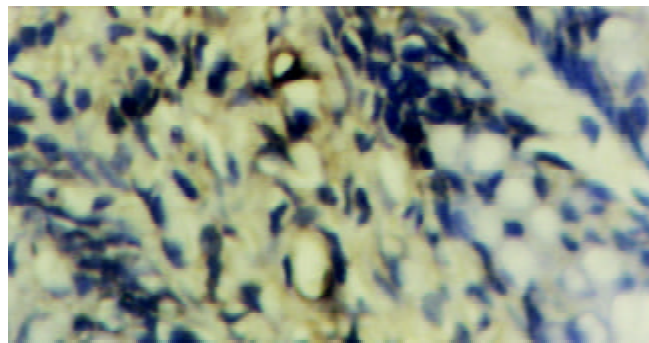


图 1 TGF- β 在模型组大鼠结肠组中的表达 SP \times 400.

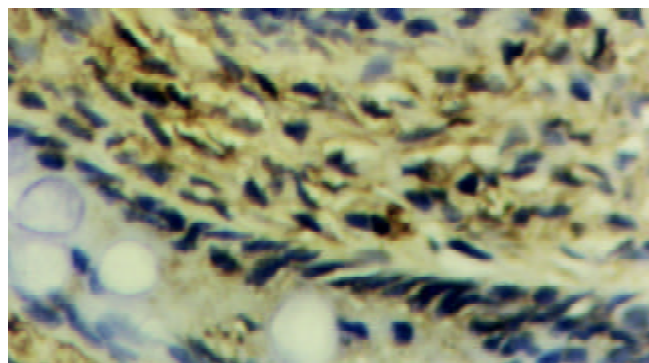


图 2 TGF- β 在 ASP 大剂量用药组大鼠结肠组中的表达 SP \times 400.

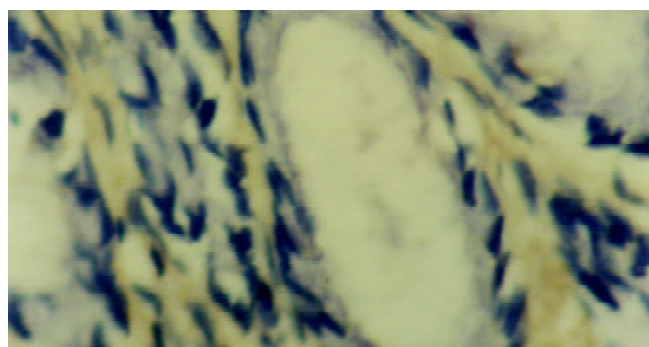


图 3 EGF 在模型组大鼠结肠组中的表达 SP \times 400.

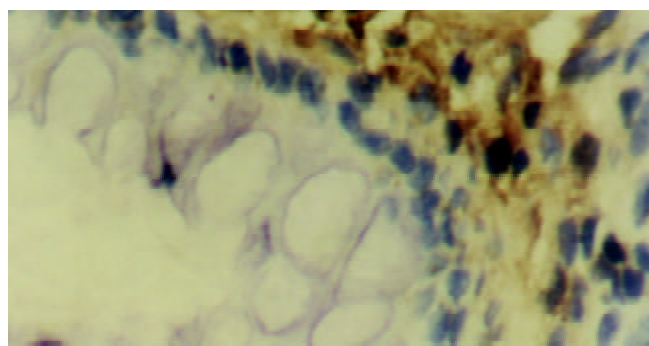


图 4 EGF 在 ASP 大剂量用药组大鼠结肠组中的表达 SP \times 400.

3 讨论

乙酸诱导的大鼠实验性结肠炎是成熟经典的 IBD 模型, 因其发病机制、病理表现与人类 IBD 相似, 常用于 IBD 治疗药物的筛选与评价^[8-9]. 本研究显示, ASP 灌肠显著减轻模型组大鼠结肠黏膜损伤程度, 明显缓解便血症状, 表现出明显的结肠损伤保护作用. MPO 活性是间接反映 IBD 炎症程度的重要指标^[10], 本研究亦显示中、大剂量 ASP 明显降低模型组 MPO 活性, 显示出一定的抗炎效果, 但其作用仍明显弱于 100 mg/kg 5-ASA ($P < 0.01$). ASP 抗炎机制之一可能为其含有药理特性类似于肝素的成分, 可通过与一系列炎症前化学激动反应相互作用, 产生拮抗炎症效应^[4]. IBD 肠黏膜中 OFR 水平明显升高, 抗氧化系统存在缺陷, 大量 OFR 对自身组织产生攻击作用, 充当或激活炎症递质, 使结肠炎症损伤进一步加重^[11-14]. 过量的弱氧自由基 NO 不仅趋化中性粒细胞和单核细胞, 还使血管扩张, 通透性增加, 有助于炎症的始动与发展, 且可与超氧阴离子反应生成具有高度细胞毒性的过氧亚硝酸盐, 损伤结肠上皮细胞的功能和结构, 破坏肠道黏膜屏障的完整性^[15-18]. 抗氧化剂与抑制 NO 生成, 可有效缓解 IBD 结肠损伤^[8, 18-19]. 本研究显示模型组大鼠 OFR 与 NO 大量生成, ASP 灌肠明显降低 MDA、NO 含量, 升高 SOD 活性, 表现出较强抗 OFR 作用, 从而缓解结肠氧化损伤与炎症反应. IBD 肠黏膜中 iNOS 活性显著升高是 NO 大量病理性生成的主要原因^[20]. 研究证实 ASP 可剂量依赖性抑制 iNOS 活性^[5-6], 这可能是其减少炎症结肠组织 NO 含量的机制. ASP 通过抗氧化、清除氧自由基作用, 从而抑制氧自由基对 IBD 重要炎症调控因子 NF- κ B 的激活, 亦可能是其抗炎效应的机制^[5, 21-22]. TGF- β , EGF 是对多种组织损伤修复和再生具有重要意义的细胞生长因子, 具有相互协同促进作用^[23-28], 且均可阻止氧化剂诱导的肠黏膜屏障损伤与功能低下, 对肠道黏膜屏障的完整性及功能维持具有重要意义^[29-32]. 研究证实 TGF- β 不足可加重 IBD 肠道损伤, 外源性给予 TGF- β , EGF 均可明显缓解 IBD 肠道损伤^[33-37]. 本研究显示模型组大鼠结肠 TGF- β 水平显著降低, EGF 无明显改变; ASP 灌肠显著升高二者表达水平, 表明其明显促进 TGF- β 、EGF 的合成分泌, 其促生长因子作用与新近研究报道相似^[2-3], 而 5-ASA 对二者表达无明显影响. 结肠组织中显著增加的 TGF- β 、EGF 可通过促多种组织细胞增生、分化、迁移作用, 直接加速结肠上皮细胞、黏膜屏障及血管损伤的修复与再生, 并发挥细胞保护作用, 这可能是 ASP 缓解模型组大鼠结肠损伤及肠道出血的主要机制.

4 参考文献

- 1 Xie L, Yang LH, Li XH. Research on the pharmacologic effects of *Angelica sinensis*. *Res Tradi Chin Med* 2000;16:56-58
- 2 Ye YN, Koo MW, Li Y, Matsui H, Cho CH. *Angelica sinensis* modulates migration and proliferation of gastric epithelial cells. *Life Sci* 2001;68:961-968

- 3 Ye YN, Liu ES, Shin VY, Koo MW, Li Y, Wei EQ, Matsui H, Cho CH. A mechanistic study of proliferation induced by *Angelica sinensis* in a normal gastric epithelial cell line. *Biochem Pharmacol* 2001;61:1439-1448
- 4 Cho CH, Mei QB, Shang P, Lee SS, So HL, Guo X, Li Y. Study of the gastrointestinal protective effects of polysaccharides from *Angelica sinensis* in rats. *Plant Med* 2000;66:348-351
- 5 Ye YN, Liu ES, Li Y, So HL, Cho CC, Sheng HP, Lee SS, Cho CH. Protective effect of polysaccharides-enriched fraction from *Angelica sinensis* on hepatic injury. *Life Sci* 2001;69:637-646
- 6 Ding H, Peng R, Yu J. Modulation of *Angelica sinensis* polysaccharides on the expression of nitric oxide synthase and Bax, Bcl-2 in liver of immunological liver-injured mice. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2001;9(Suppl):50-52
- 7 Ye YN, So HL, Liu ES, Shin VY, Cho CH. Effect of polysaccharides from *Angelica sinensis* on gastric ulcer healing. *Life Sci* 2003;72:925-932
- 8 Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ, Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996;39:93-99
- 9 Li L, Wang ZL, Ke JT, Zhang M, Shao JF, Zhong CN. Select animal models for experimental colitis model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:584-585
- 10 Li JH, Yu JP, He XF, Xu XM. Expression of NF- κ B in rats with TNBS-induced ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11:214-218
- 11 Kriegelstein CF, Cerwinka WH, Laroux FS, Salter JW, Russell JM, Schuermann G, Grisham MB, Ross CR, Granger DN. Regulation of murine intestinal inflammation by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: divergent roles of superoxide and nitric oxide. *J Exp Med* 2001;194:1207-1218
- 12 Kirsner JB. Historical origins of current IBD concepts. *World J Gastroenterol* 2001;7:175-184
- 13 Pavlick KP, Laroux FS, Fuseler J, Wolf RE, Gray L, Hoffman J, Grisham MB. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease. *Free Radic Biol Med* 2002;33:311-322
- 14 Huycke MM, Abrams V, Moore DR. Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. *Carcinogenesis* 2002;23:529-536
- 15 Feng ZJ, Yao XX. Regulating effect of NO-PGE₂ on visceral angiectasis in portal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:1154-1156
- 16 Le QL, Wen XD. The role of nitric oxide in stress-induced gastric ulcers in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:815-816
- 17 Wang QG, He LY, Chen YW, Hu LS. Enzymohistochemical study on burn effect on rat intestinal NOS. *World J Gastroenterol* 2000;6:421-423
- 18 Bai AP, Shen ZX, Yu JP, Yu BP, Luo Y. Nitric oxide and the acute injury in colitis model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:900-901
- 19 Yavuz Y, Yuksel M, Yegen BC, Alican I. The effect of antioxidant therapy on colonic inflammation in the rat. *Res Exp Med (Berl)* 1999;199:101-110
- 20 Zhang K, Deng CS, Zhu YQ, Yang YP, Zhang YM. Significance of nuclear factor- κ B, cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in human ulcerative colitis tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:575-578
- 21 Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001;107:135-142
- 22 Liu SQ, Yu JP, Luo HS, Ran ZX. Effects of Ginkgo biloba extract on expression of NF- κ B in rat liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:922-926
- 23 Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 1992;199:1017-1021
- 24 Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, Fiddes JC, Klagsbrun M. A heparin-binding growth factor secreted by macrophage-like cells that is related to EGF. *Science* 1991;251:932-943
- 25 Fu XB, Yang YH, Sun TZ, Gu XM, Jiang LX, Sun XQ, Sheng ZY. Effect of intestinal ischemia-reperfusion on expressions of endogenous basic fibroblast growth factor and transforming growth factor β in lung and its relation with lung repair. *World J Gastroenterol* 2000;6:353-355
- 26 Yuan YZ, Lou KX, Gong ZH, Tu SP, Zhai ZK, Xu JY. Effects and mechanisms of emodin on pancreatic tissue EGF expression in acute pancreatitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:127-130
- 27 Wan SM, Sun SH, Den MD, Ge QL, Yang YJ. TGF- β 1 and PDGF-A expression in gastric cancer tissue and prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:36-39
- 28 Zhuang ZH, Chen YL, Wang CD, Chen YG. Expression of TGF- β 1 and TGF- β receptor in gastric carcinoma and precancerous lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:507-509
- 29 Banan A, Fields JZ, Talmage DA, Zhang L, Keshavarzian A. PKC-zeta is required in EGF protection of microtubules and intestinal barrier integrity against oxidant injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G794-808
- 30 Banan A, Fields JZ, Zhang Y, Keshavarzian A. Phospholipase C-gamma inhibition prevents EGF protection of intestinal cytoskeleton and barrier against oxidants. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G412-423
- 31 Banan A, Zhang Y, Losurdo J, Keshavarzian A. Carbonylation and disassembly of the F-actin cytoskeleton in oxidant induced barrier dysfunction and its prevention by epidermal growth factor and transforming growth factor alpha in a human colonic cell line. *Gut* 2000;46:830-837
- 32 Banan A, Fields JZ, Talmage DA, Zhang Y, Keshavarzian A. PKC-beta1 mediates EGF protection of microtubules and barrier of intestinal monolayers against oxidants. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G833-847
- 33 Hahm KB, Im YH, Parks TW, Park SH, Markowitz S, Jung HY, Green J, Kim SJ. Loss of transforming growth factor beta signalling in the intestine contributes to tissue injury in inflammatory bowel disease. *Gut* 2001;49:190-198
- 34 Beck PL, Podolsky DK. Growth factors in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 1999;5:44-60
- 35 Sandborn WJ, Targan SR. Biologic therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002;122:1592-1608
- 36 Wiercinska-Drapalo A, Flisiak R, Prokopowicz D. The role of transforming growth factors beta in pathogenesis of ulcerative colitis. *Pol Merkuriusz Lek* 2001;10:177-179
- 37 Whiting CV, Williams AM, Claesson MH, Bregenholt S, Reimann J, Bland PW. Transforming growth factor-beta messenger RNA and protein in murine colitis. *J Histochem Cytochem* 2001;49:727-738



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

