

· 基础研究 ·

血根碱对大鼠结肠炎及炎症通路中相关因子的影响[△]柳亦松^{1,2}, 唐昭山¹, 刘兆颖^{1,2}, 蒋昊航¹, 段志贵³, 曾建国^{2,4*}

(1. 湖南农业大学 动物医学院, 湖南 长沙 410128;

2. 湖南农业大学 兽用中药资源与中兽药创制国家地方联合工程研究中心, 湖南 长沙 410128;

3. 湖南师范大学 生命科学院, 湖南 长沙 410081;

4. 湖南省植物功能成分利用协同创新中心, 湖南 长沙 410128)

[摘要] 目的: 探讨血根碱对葡聚糖硫酸钠致溃疡性结肠炎的疗效及可能的机制。方法: 建立葡聚糖硫酸钠致溃疡性结肠炎大鼠模型, 随机分为空白组、模型组、柳氮磺吡啶组、血根碱组。观察各组大鼠体质量、腹泻及隐血情况; 通过荧光定量 PCR (qPCR) 分析炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 在结肠组织中的表达量; 利用免疫组化实验检测 NF- κ B 通路中关键因子 p65。结果: 与模型组相比, 血根碱组和阳性组大鼠的结肠组织中炎症因子 IL-1 β 、IL-6 表达降低, 而 IL-10 的表达升高; 同时, 免疫组化实验发现血根碱组与模型组相比, 其核内转入因子核蛋白 p65 显著下调。结论: 血根碱可能通过调节 NF- κ B 通路中的核转入因子 p65, 降低炎症因子 IL-1 β 、IL-6 的表达, 同时提高炎症因子 IL-10 的表达, 从而对炎症起到抑制作用。

[关键词] 血根碱; 结肠炎; 炎症因子; NF- κ B(p65)

Effects of Sanguinarine on Inflammatory Factors in Rat Colitis and Inflammatory Pathway

LIU Yisong^{1,2}, TANG Zhaoshan¹, LIU Zhaoying^{1,2}, JANG Haohang¹, DUAN Zhigui³, ZENG Jianguo^{2,4*}

(1. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. National and Provincial Union Engineering Research Center for the Veterinary Herbal Medicine Resources and Initiative, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

3. College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

4. Hunan Co-innovation Center for Utilization of Botanicals Functional Ingredients, Hunan, Changsha 410128, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the regulatory effect of sanguinarine on inflammation, and provide the foundation for research of sanguinarine for its anti-inflammatory effect. **Methods:** With dextran sulfate sodium induced colitis in rats as a model, the regulating mechanism of sanguinarine on rat body weight, diarrhea and colitis and the occult blood detection factor was observed. The expression of IL-1, IL-6, IL-10 and TNF- α in colonic tissue was analyzed by fluorescence quantitative PCR (qPCR). **Results:** Compared with the model group, the nuclear factor p65 protein in the sanguinarine group significantly decreased. **Conclusion:** Sanguinarine can up-regulate IL-10 and down-regulate IL-1 β , IL-6, and inhibits inflammation. The nuclear factor p65 was also down-regulated.

[Keywords] Sanguinarine; colitis; inflammatory factors; NF- κ B(p65)

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.008

肠道与动物的健康生长有着密切的联系, 保护好肠道的健康^[1], 对动物生长有着重要的作用。目前动物炎性肠病 (IBD) 主要包括溃疡性结肠炎 (UC) 和克罗恩病, 这种疾病防治越来越困难。炎性因子在溃疡性结肠炎的发展过程中起着关键性的作用。

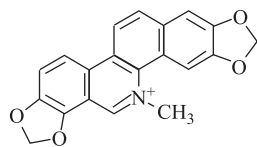
促炎性细胞因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-6 (IL-6) 在溃疡性结肠炎的血清中显著增加。IL-10 是一种多能干细胞因子, 它在炎症过程中起重要的抑制作用; 在炎性肠病患者中, 可以检测到 IL-10 的表达水平超出正常

[△] [基金项目] 国家自然科学基金 (31200615); 国家重点实验室培育基地开放项目 (15KFXM09)

* [通信作者] 曾建国, 教授, 研究方向: 中药资源与综合利用; Tel: (0731)84673824, E-mail: zengjianguo@hunau.edu.cn

值。NF- κ B 是炎症发生的重要信号通路之一^[2-3], 尤其对于促炎性细胞因子的调节。NF- κ B 家族包括 5 个成员: KRelA (P65)、RelB、c-Rel、P (105/50/52) 和 P100。在未受刺激的细胞中, NF- κ B 是以 p50 和 p65 二聚体形式处于失活状态。刺激后, 核蛋白二聚体磷酸化或降解, 核转因子 NF- κ B 由胞浆转入细胞核^[4], 进而产生更大的炎症反应。有文献表明^[5-6], 在炎症性疾病患者的结肠黏膜中巨噬细胞增加, 同时炎症因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的表达也增加, 表明 NF- κ B 的活化增加了炎症细胞因子的表达。因此, 有效抑制 NF- κ B 途径、调节细胞因子的表达, 有利于减轻炎症性疾病。

血根碱是一种主要存在于罂粟科、蓝堇科及芸香科植物中的苯并菲啶类生物碱, 主要来源植物为血水草、博落回和白屈菜, 化学结构见图 1, 具有抗炎、抗菌、促进动物生长、抗肿瘤及杀虫等作用^[7-9], 其作为一种植物源成分, 还具有低残留、无环境污染等优点, 在兽医领域具有抗菌作用和促进动物生长等的应用前景。近年许多实验研究表明, 血根碱在抑制炎症的发生发展中具有重要价值^[2-3]。



血根碱 (Sanguinarine, SA)

图 1 血根碱结构式

溃疡性结肠炎临床症状为腹泻和黏液脓血便等特征, 病变在肠道黏膜及黏膜下层, 在病变部位形成溃疡、隐窝脓肿、杯状细胞减少、炎症细胞浸润等。常见的人造动物溃疡性结肠炎模型有葡聚糖硫酸钠 (DSS) 模型、乙酸模型、角叉菜胶模型等。DSS 模型广泛用于研究腹泻及炎症^[10-12]。该方法采用 5% DSS 水溶液给大鼠自由饮用, 连续 7 d, 大鼠的病变从肛门开始自后而前地发展, 黏膜充血水肿, 散在性糜烂或溃疡; 在 4~5 d 出现腹泻, 用隐血试纸检测成阳性, 在 5~7 d 可出现不同程度的肉眼便血。大鼠出现腹泻的同时, 体重也会减轻, 呈现以淋巴细胞浸润为主的非特异性炎症, 与人类的溃疡性结肠炎 (UC) 病变类似。本实验采用 DSS 模型来验证血根碱的抑制或缓解大鼠结肠炎的作用并说明其可能的机制。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠, SPF 级, 体质量 (200 $\pm$ 10) g、雄性, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 合格证号: SCXK 湘 2011-0003。

1.2 主要药品与试剂

葡聚糖硫酸钠 (DSS, MP Biomedicals, LLC, Cat No. 160110 M. W = 36 000 ~ 50 000)、便隐血 (FOB) 检测试纸 (艾博生物医药有限公司, 批号: 2015020127)、柳氮磺吡啶肠溶片 (上海中西三维药业有限公司, 批号: 20141115)、98% 氯化血根碱 (湖南美可达生物资源股份有限公司, 批号: 1408011)、羧甲基纤维素钠 CMC-Na (北京北瑞达医药科技有限公司, 批号: 20121015)、qPCR Master Mix 2 $\times$ (Cat: #K0361) 购自 Thermo Scientific 公司; 动物组织 RNA 提取试剂盒 (Cat: #DP431) 购自天根生物科技有限公司; Prime ScriptTM RT Master Mix 第一链合成试剂盒 (Cat: RR036A) 购自 TaKaRa 公司。p65 免疫组化试剂盒 (上海科彩生物科技有限公司, 批号: 20120406)。

1.3 主要仪器

7300 荧光定量 PCR 仪器 (美国应用生物系统公司), MILLI-Q 纯水仪 (德国默克-密理博实验室设备有限公司), J12-21M 型离心机 (Beckman Model), CR21 型高速立式离心机 (HITACHI), DRP-9271 型电热恒温培养箱 (上海森信试验仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组

选取健康大鼠 32 只, 全部雄性, 体质量为 (200 $\pm$ 10) g, 恒温 25 $^{\circ}$ C 适应性饲养 3 d 后, 随机分为 4 组: 空白组、模型组、柳氮磺吡啶组、血根碱组。

2.2 实验模型建立与给药方式

第 1 天到第 14 天血根碱组和柳氮磺吡啶组大鼠每天分别按体质量灌胃 75 mg $\cdot$ kg⁻¹ 的血根碱 (该剂量设定来自于前期研究基础)^[10] 和 225 mg $\cdot$ kg⁻¹ 的柳氮磺吡啶^[13], 灌胃体积为 1 mL, 空白组、模型组灌胃等体积的 CMC-Na 溶液; 模型组、柳氮磺吡啶组和血根碱组在第 8 天到第 14 天自由饮用含 5% DSS 的蒸馏水, 空白组饮用蒸馏水。

2.3 实验观察与记录

每天定时(早上 9 时)称量并记录每只大鼠体质量,大便性状及出血级别,并计算每只大鼠的日常疾病活动指数(DAI)。DAI 具体评分指标见表 1,DAI=(体质量+大便性状+便血)评分/3。

表 1 DAI 具体指标评价方法

评分	体质量下降(%)	大便	粪便出血
0	0	正常	-
1	1~5		
2	5~10	松软	+
3	11~15		
4	>15	腹泻	肉眼便血

注:大便正常:正常成形的;大便松软:黏糊状,但并不黏在肛门上;腹泻:粪便呈液体状,在肛门处有残留;粪便潜血检测:使用便隐血(FOB)快速检测试纸检测。

2.4 动物处理

第 15 天处死大鼠,取出结肠,一部分保存于甲醛溶液中,用于观察结肠部位的病理变化;一部分结肠组织和血清于-80℃保存,用于炎症因子的检测。

2.5 荧光定量 PCR

总 RNA 提取:每组大鼠结肠组织各自于-80℃取 50 mg 立即放入装有液氮的研钵,用研钵棒研磨成粉末状,加入 RNA 提取试剂盒对应量体积的 RL 裂解液,后续步骤按试剂盒提取操作说明,获得总 RNA。各组取 1 μg RNA 进行 cDNA 第一链的合成。利用表 2 设计好的引物对炎症因子 IL-1β、IL-6、IL-10、TNF-α 进行荧光定量(qPCR)分析。qPCR 条件:95℃ 30 s 1 个循环;95℃ 15 s,60℃ 30 s,40 个循环。数据采用 2^{-ΔΔCt}方法处理,对每个组织设立 3 个重复,首先计算各组织的目的基因与 β-actin 的 Ct 差值,即 ΔCt=Ct(目的基因)-Ct(β-actin),选取空白组的平均 ΔCt 作为对照,用其他基因的 ΔCt 减去其平均 ΔCt,即为 ΔΔCt;2^{-ΔΔCt}表示各组织基因的表达相对于空白组基因的变化倍数。

2.6 免疫组化和 HE 染色

2.6.1 石蜡制片 取保存在 10% 甲醛溶液中的结肠组织进行石蜡切片:第一步,石蜡包埋,取结肠组织进行方块修整用纱布包好置流水下冲洗过夜,再进行 70%、80%、95%、100% 乙醇进行脱水,二甲苯进行透明,置于溶好的石蜡中进行包埋。第二步,将包埋好的组织在切片机上切成厚度 4 μm 并贴片到

载玻片上。制成好的切片将进行 HE 染色和免疫组化。

表 2 相关炎症因子的引物

基因	引物序列	长度/bp	基因序列号
β-actin	F: CTGGTCGTACCACTGGCATT R: CCAGGAAGGAAGGCTGGAAG	369	NM 03114
TNF-α	F: CCACCACGCTCTTCTGTCTACTG R: CTTGCTGGTTTGCTACGACG	171	NM 012675.3
IL-1β	F: ACTATGGCAACTGTCCTGAAC R: GTGCTTGGTCTCATCCTG	275	NM 031512.2
IL-10	F: GCAGGACTTTAAGGGTTACTTGG R: TCATTCTTCACCTGCTCCACTG	222	NM 012854.2
IL-6	F: AGACAAAGCCAGAGTCATTCAGAG R: AGCCACTCCTTCTGTGACTC	147	NM 012589

2.6.2 免疫组化 切片脱蜡、水化:二甲苯 10 min→100% 乙醇 5 min→95% 乙醇 5 min→90% 乙醇 5 min→85% 乙醇 5 min→80% 乙醇 5 min→75% 乙醇 5 min→60% 乙醇 5 min→50% 乙醇 5 min→30% 乙醇 5 min→自来水 1 min;PBS 洗 2~3 次各 5 min;3% H₂O₂ (80% 甲醇)滴加在切片上,室温静置 10 min;PBS 洗 2~3 次各 5 min。抗原修复:利用枸橼酸钠缓冲液(pH=6.0)在微波炉中加热至沸腾,然后将脱蜡、水化的组织切片放入,断电,间隔 5~10 min,反复 1~2 次;PBS 洗 2~3 次各 5 min;滴加正常山羊血清封闭液,室温静置 20 min,甩去多余液体;滴加 I 抗(p65 抗体)50 μL,室温静置 1 h 或 4℃ 过夜或 37℃ 1 h;4℃ 过夜后需在 37℃ 复温 45 min;PBS 洗 3 次每次 2 min;滴加 II 抗 45~50 μL,室温静置或 37℃ 1 h;PBS 洗 3 次各 5 min;DAB 显色 5~10 min,在显微镜下掌握染色程度;PBS 或自来水冲洗 10 min;苏木精复染 2 min,盐酸乙醇分化;自来水冲洗 10~15 min;脱水、透明,30% 乙醇 3 min→50% 乙醇 3 min→70% 乙醇 3 min→80% 乙醇 3 min→90% 乙醇 3 min→95% 乙醇 3 min→100% 乙醇 3 min→二甲苯 20 min;封片、镜检。免疫组化后观察 p65 蛋白在结肠中的表达情况。

免疫组化结果评判标准:1)阳性着色细胞数:每只大鼠观察 5 张切片、每张切片上观察 5 个高倍视野(×200),计数阳性细胞百分比,阳性细胞数<5%为 0 分,5%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,76%~100%为 4 分。2)阳性着色强度:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为

2分,棕褐色为3分。3)两者计分相乘即为阳性等级。

2.6.3 HE染色 脱蜡:二甲苯Ⅰ10 min→二甲苯Ⅱ5 min;水化:100%乙醇Ⅰ5 min→100%乙醇Ⅱ5 min→95%乙醇Ⅰ5 min→95%乙醇Ⅱ5 min→85%乙醇3 min→5%乙醇2 min→蒸馏水冲洗1 min;染色:苏木精染色5 min→自来水洗→盐酸乙醇分化15 s→自来水洗15 min→蒸馏水洗2 min→75%乙醇2 min→85%乙醇2 min→0.5%伊红染色1 min→95%乙醇Ⅰ5 min→95%乙醇Ⅱ5 min→100%乙醇Ⅰ5 min→100%乙醇Ⅱ5 min→二甲苯Ⅰ5 min→二甲苯Ⅱ5 min;封片:中性树胶封片,上述处理好的玻片,取中性树胶滴入载玻片的组织上,取盖玻片从一端逐步盖下去,避免发生气泡。HE染色后观察结肠组织病理情况。

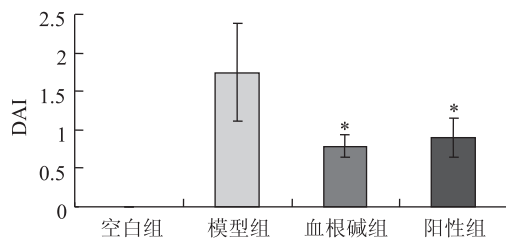
2.7 统计方法

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,利用SPSS17.0软件,采用单因素方差分析判断组间差异统计学意义。

3 结果

3.1 DAI指数

记录14 d的大鼠体质量、粪便和隐血情况,计算DAI,以($\bar{x} \pm s$)表示,模型组DAI为(1.74 ± 0.64)、阳性组DAI为(0.79 ± 0.15)和血根碱组DAI为(0.89 ± 0.25)。利用统计软件SPSS 17.0分析血根碱组和阳性组跟模型组比对的差异结果 P 值分别为0.036和0.015,差异具有统计学意义;而血根碱组与阳性组 P 值为0.677,差异不具有统计学意义。图2表明预防给药血根碱能减缓大鼠体质量降低,减轻腹泻,减少肠道出血。



注:与模型组相比,* $P < 0.05$;下同。

图2 各组大鼠DAI

3.2 炎症因子的表达

3.2.1 IL-1 β 4组大鼠炎症因子IL-1 β 以($\bar{x} \pm s$)表示,即空白组(1.15 ± 0.68)、模型组($4.84 \pm$

0.76)、血根碱组(1.81 ± 0.63)和阳性组(3.29 ± 0.61)。空白组大鼠炎症因子IL-1 β 正常表达,并以其为参照对象,血根碱组和阳性组比对模型组的 P 值分别为0.034和0.047,差异具有统计学意义。图3表明大鼠给予血根碱后的炎症因子IL-1 β 的表达量降低。

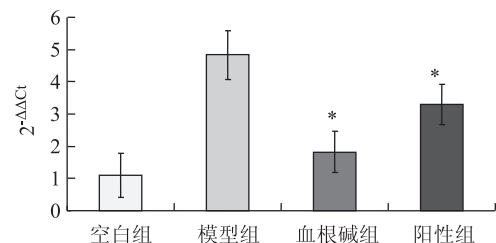


图3 IL-1 β 炎症因子表达

3.2.2 IL-6 4组大鼠炎症因子IL-6以($\bar{x} \pm s$)表示,即空白组(1.02 ± 0.21)、模型组(39.96 ± 5.50)、血根碱组(6.75 ± 0.71)和阳性组(3.54 ± 0.59)。空白组大鼠炎症因子IL-6正常表达,并以其为参照对象,血根碱组和阳性组比对模型组的 P 值分别为0.024和0.017,差异具有统计学意义。图4表明给予血根碱后大鼠的炎症因子IL-6的表达降低。

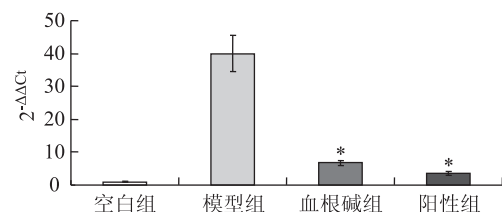


图4 IL-6炎症因子表达

3.2.3 TNF- α 4组大鼠炎症因子TNF- α 以($\bar{x} \pm s$)表示,即空白组(1.00 ± 0.03)、模型组(4.32 ± 0.77)、血根碱组(2.84 ± 0.42)和阳性组(2.89 ± 0.23)。空白组大鼠炎症因子TNF- α 正常表达,并以其为参照对象,图5表明该实验血根碱组的TNF- α 的表达量低于模型组,但无统计学上差异。分析给予血根碱后的大鼠对炎症因子TNF- α 影响不大。

3.2.4 IL-10 4组大鼠炎症因子IL-10以($\bar{x} \pm s$)表示,即空白组(1.05 ± 0.30)、模型组(5.19 ± 0.64)、血根碱组(14.01 ± 0.69)和阳性组(12.23 ± 0.29)。空白组大鼠炎症因子IL-10正常表达,以其为参照对象,血根碱组和阳性组比对模型组的 P 值分别为0.031和0.036,差异具有统计学意义。图6表明血根碱组给药后的IL-10抑炎因子表达量升高。

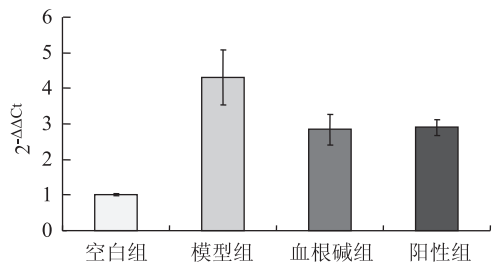


图 5 TNF-α 炎症因子表达

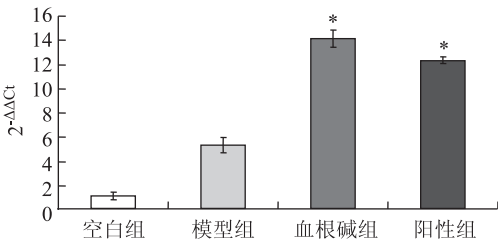
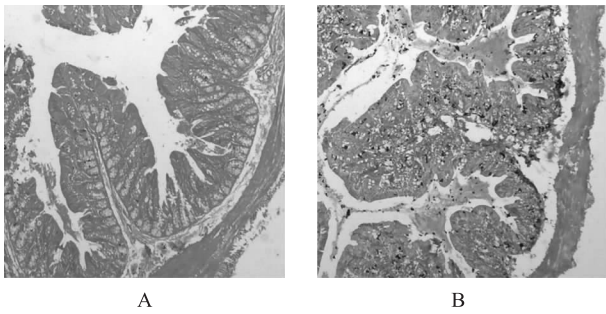


图 6 IL-10 抑炎因子表达

3.3 HE 染色和免疫组化

3.3.1 HE 染色 根据图 7 可见空白组杯状细胞较多,具有纹状缘;模型组纹状缘消失,杯状细胞减少,并且有许多炎性细胞产生。该实验结果表明葡聚糖硫酸钠对大鼠造模成功,符合实验预期结果。

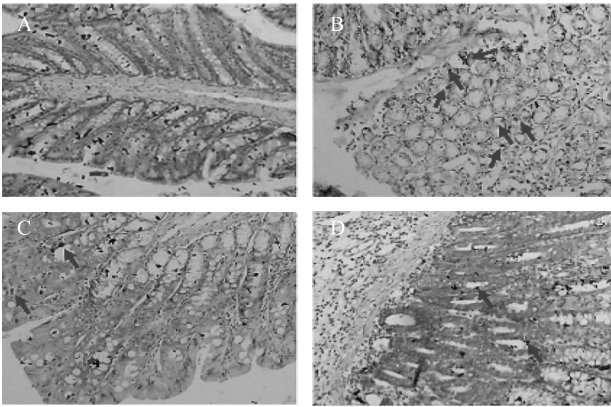


注: A. 空白组; B. 模型组。

图 7 大鼠结肠组织 HE 染色

3.3.2 免疫组化 空白组大鼠 NF-κB(p65)蛋白阳性细胞正常表达(见图 8A),模型组中 NF-κB(p65)蛋白阳性细胞最多(见图 8B);血根碱组(见图 8C)和阳性组(见图 8D)NF-κB(p65)蛋白阳性细胞低于模型组,差异具有统计学意义,但高于空白组。通过表 3 组织免疫评分结果分析:模型组阳性等级为强阳性(+++, 10.26 ± 1.61),血根碱组的阳性等级为弱阳性(+, 3.20 ± 0.96),统计学分析 $P = 0.009$,差异具有统计学意义,血根碱组大鼠炎症情况明显得到了缓解,趋于正常大鼠。结果表明在正常情况下,大鼠炎症因子 NF-κB(p65)也有表达,在

给予血根碱后大鼠炎症因子 NF-κB(p65)表达显著降低。分析血根碱可能降低炎症因子 NF-κB(p65)表达,抑制或缓解炎症发生。



注: A. 空白组; B. 模型组; C. 血根碱组; D. 阳性组; 箭头指的为阳性细胞。

图 8 大鼠 NF-κB(p65) 蛋白免疫组化

表 3 组织免疫组化阳性等级

组别	阳性等级	NF-κB(p65) ($\bar{x} \pm s$)
空白组	+	2.13 ± 0.74
模型组	+++	10.26 ± 1.61
血根碱预防给药组	+	3.20 ± 0.96 **
阳性药物预防给药组	++	6.40 ± 1.28 **

注: 与模型组相比, ** $P < 0.01$ 。

4 讨论

本研究主要基于葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导大鼠结肠炎模型,这种结肠炎造模方式已经得到了大量的实验验证,并且被普遍接受^[12-13]。在此基础之上,实验通过预防灌胃 75 mg · kg⁻¹ · d⁻¹血根碱 14 d,其中在第 8 天进行 DSS 诱导结肠炎大鼠模型,大鼠的 DAI 与模型组比较具有统计学差异。该结果表明血根碱在临床症状上能起到影响体质量、减缓便血的产生,说明血根碱对治疗大鼠结肠炎具有一定的保护作用。

DAI 测量的指标主要包括体质量、粪便的软硬和粪便中的隐血^[13],这 3 个指标能够较好地反映所检测动物的生理机能。本实验中的结果表明,血根碱能够显著减缓葡聚糖硫酸致大鼠炎症的产生和增强大鼠对疾病的抵抗,在生长过程中保持健康。动物临床表现为血根碱组大鼠较模型组的大鼠更活跃和日增重高。该结果说明血根碱能够预防动物疾病和保持动物的日增重。

组织病理变化能较客观地反映机体的防御表现。在免疫系统中上皮细胞具有先天的天然屏障作用,同样也具有许多与免疫相关的细胞,比如巨噬细胞、淋巴细胞、杯状细胞,这些细胞数量和形态的改变对机体免疫的第一道防御功能具有重要意义。该实验病理切片表明,血根碱能较好地保护上皮细胞中的杯状细胞,能使得杯状细胞的形态保持完整,同时保障其发挥正常的生理反应。

白介素调节因子(IL)和肿瘤坏死因子(TNF- α)在机体的免疫系统具有非常重要的作用,如IL-1、IL-6和IL-10在炎症通路上能影响NF- κ B(p65)蛋白的表达,从而影响NF- κ B炎症通路。在该实验中,我们从荧光定量和免疫组化的实验结果来看,血根碱可能抑制IL-1、IL-6和TNF- α 的表达,联级反应后能使NF- κ B的表达降低。从机体中多种蛋白质分子中的表达来看,血根碱在抑制炎症上可能是通过下调IL-1、IL-6和TNF- α 的表达来抑制炎症的产生。同样,IL-10在炎症通路上是抑制炎症发展的重要调节因子。因此该实验表明,血根碱能够显著提高IL-10调节因子的表达。基于以上结果,我们认为血根碱不仅能下调促炎因子的表达,还能提高抑炎因子的表达,通过这两条途径来共同减缓炎症的发生发展。血根碱通过影响白介素和肿瘤坏死因子的表达来调节炎症的变化,是否还通过其他途径来调节机体免疫机制,还需要结合转录组学和蛋白质组学技术等动态变化分析技术进行更深入的研究。

参考文献

- [1] 郑璇,郑育洪.国内外超级细菌的研究进展及防控措施[J].中国畜牧兽医文摘,2013,28(1):69-75.
- [2] Niu X,Fan T,Li W,et al. Protective effect of sanguinarine against acetic acid- induced ulcerative colitis in mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2013,267(3):256-265.
- [3] Blackwell T S,Christman J W. The role of nuclear factor- κ B in cytokine gene regulation[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1997,17:3-9.
- [4] Madan M Chaturvedi, Ashok Kumar, Bryant G Darnay, et al. Aggarwal Sanguinarine (Pseudocheleerythrine) Is a Potent Inhibitor of NF- κ B Activation, I κ Ba Phosphorylation, and Degradation [J]. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY,1997,272(48):30129-30134.
- [5] Rogler G, Andus T. Cytokines in inflammatory bowel disease[J]. World J Surg,1998,22:382-389.
- [6] Rogler G,Brand K,Vogl D,et al. Nuclear factor- κ B is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa[J]. Gastroenterology,1998,115:537-569.
- [7] Mitscher L A, Park Y H, Clark D, et al. Antimicrobial agents from higher plants. An investigation of *Hunnemannia fumariaefolia* pseudoalcoholates of sanguinarine and cheleerythrine[J]. Lloydia,1978,41:145-150.
- [8] 徐丽,曾建国,程辟,等. 血根碱-黄芩苷、白屈菜红碱-黄芩苷离子对化合物体外抗菌活性和急性毒性研究[J]. 中南药学,2012,10(1):10-13.
- [9] Steven E Newman, Michael J Roll. A naturally occurring compound for controlling powdery mildew of greenhouse roses[J]. Hort Science,1999,34(4):686-689.
- [10] E Vrublova, J Vostalovea, J Ehrmann, et al. The phytogetic feed additive Sangrovit modulates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats [J]. Veterinarni Medicina, 2010, 55 (12):610-618.
- [11] Hamed Laroui, Sarah A Ingersoll, Hong Chun Liu. Dextran Sodium Sulfate (DSS) Induces Colitis in Mice by Forming Nano-Lipocomplexes with Medium-Chain Length Fatty Acids in the Colon[J]. Plos One,2012,7(3):1-12.
- [12] 徐丽红,肖芳,兰小琴,等. 葡聚糖硫酸钠诱导 C57BL/6J 小鼠急性结肠炎模型的建立与评价[J]. 医学研究生学报,2014,27(9):918-922.
- [13] 肖娟,李秀琼,刁建新,等. 白芍总苷对葡聚糖硫酸钠致大鼠实验性结肠炎作用机制研究[J]. 佛山科学技术学院学报,2012,30(2):78-81.

(收稿日期 2017-02-26)