

本文引用:葛冰景,曹红燕,戴彦成,阙任焯,傅志泉. 白芍总苷对葡聚糖硫酸钠诱导的IBD模型小鼠炎症因子水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2020,40(8): 957-963.

白芍总苷对葡聚糖硫酸钠诱导的 IBD 模型 小鼠炎症因子水平的影响

葛冰景,曹红燕,戴彦成,阙任焯,傅志泉*

(上海中医药大学附属上海市中西医结合医院,上海 200082)

〔摘要〕 目的 探讨白芍总苷对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的小鼠炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)模型的作用及相关机制研究。方法 将 50 只 SPF 级 C57BL/6 小鼠随机分成正常组(N 组)、模型组(M 组)、柳氮磺吡啶组(L 组)、低剂量白芍总苷组(BL 组)、高剂量白芍总苷组(BH 组),每组 10 只。M 组及治疗组小鼠自由饮用 30 g/L DSS,同时予以相应药物灌胃 1 次;N 组自由饮水、进食,连续 7 d 后处死。期间每天记录小鼠体质量及粪便情况,进行结肠炎疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分,利用结肠组织 HE 染色进行组织病理学评价,利用 ELISA 法检测血清中 IL-8、IL-10、IL-23、IL-36、CCL20、CCR6 的表达。结果 与 M 组比较,用药组 DAI 评分均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),各用药组之间差异无统计学意义($P>0.05$);与 M 组比较,用药组均可下调 IL-8、IL-23、IL-36、CCL20 和 CCR6 的表达,上调 IL-10 的表达,并以 L 组、BH 组最为显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$);病理组织学结果显示,L 组、BH 组结肠组织的炎症反应得到了显著改善。结论 白芍总苷可以有效调节炎症因子表达,减少结肠组织的炎症损伤,并改善小鼠的腹泻及便血症状。

〔关键词〕 白芍总苷;炎症性肠病;葡聚糖硫酸钠;炎症因子;疾病活动指数

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.08.010

Effects of Total Glucosides of Paeony on Inflammatory Factors in Dextran Sulfate Sodium Induced-Mice Model of Inflammatory Bowel Disease

GE Bingjing, CAO Hongyan, DAI Yancheng, QUE Renye, FU Zhiqian*

(Shanghai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai
University of Chinese Medicine, Shanghai 200082, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the effect and the underlying mechanism of total glucosides of paeony on inflammatory factors in dextran sulfate sodium (DSS) induced-mice model of inflammatory bowel disease (IBD). **Methods** A total of 50 SPF-class C57BL/6 mice were randomly divided into a normal group (N group), a model group (M group), a sulfasalazine group (L group), a low-dose of total glucosides of paeony group (BL group) and high-dose of total glucosides of paeony group (BH group), with 10 mice in each group. The mice in M group and treatment groups were free to drink 30 g/L DSS, and were given the corresponding medicine by gavage once, while the mice in the N group were free to drink water and eat. All the mice were executed 7 days later. During this period, the status of weight and feces of the mice were recorded, and colitis disease activity index (DAI) score were assessed. In addition, HE staining of colon tissue were performed to evaluate the histopathological injury, and the expression of serum IL-8, IL-10, IL-23, IL-36, CCL20 and CCR6 were determined by using ELISA. **Results** Compared with the M group, DAI scores of mice in the treatment group were significantly decreased

〔收稿日期〕 2019-12-17

〔基金项目〕 国家自然科学基金面上项目(81873253);上海市自然科学基金项目(16ZR1433800);上海市中西医结合医院人才引进专项基金项目(160304)。

〔作者简介〕 葛冰景,女,主治医师,研究方向:消化系统疾病的临床及基础研究。

〔通讯作者〕 *傅志泉,男,主任医师,硕士研究生导师,E-mail:mr.fzq@163.com。

($P<0.05$ or $P<0.01$), and the differences in each treatment group was not statistically significant ($P>0.05$). Compared with the M group, the expression of IL-8, IL-23, IL-36, CCL20, and CCR6 were decreased in the treatment group, while the expression of IL-10 was increased, in which the L group and the BH group were most significant ($P<0.05$ or $P<0.01$). The histopathological results showed that the inflammatory response of colon tissue in the L group and the BH group was significantly improved. **Conclusion** Total glucosides of paeony could effectively regulate the expression of inflammatory factors, reduce the inflammatory injury of colon tissues, and improve the diarrhea and hematochezia symptoms in mice.

[**Keywords**] total glucosides of paeony; inflammatory bowel disease; dextran sulfate sodium; inflammatory factor; disease activity index

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组以腹痛、腹泻、黏液脓血便为主要表现的慢性非特异性肠道炎症性疾病,包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。其病因和发病机制均未明确,目前认为该疾病与遗传、免疫、精神应激等因素相关^[1]。由于该病迁延难愈,又易转化为结肠癌,因此被世界卫生组织定义为世界难治病之一,发病率为5/10万~12/10万^[2]。我国对此病尚无完整的统计,但就临床所见病例而言并非罕见,且有增多趋势^[3]。

根据IBD临床表现的腹泻、腹痛、里急后重、黏液或脓血便等症状,中医学将其归属于“肠癖”“泄泻”“痢疾”“肠风”“脏毒”等范畴^[4],认为其病因与湿热之邪、饮食所伤、情志郁结及禀赋不足等有关,肝郁脾虚为其本,湿热蕴结为其标,并常见本虚标实、寒热错杂之证。因此,健脾疏肝、清湿热、化瘀血之治法已成为目前中医药治疗IBD的重要策略。白芍味酸甘,性微寒,可养血敛阴,又能柔肝,炒制后酸甘微寒,焦助肝阴,补肝之体,缓中止痛作用增强。研究表明,白芍的主要成分为白芍总苷、氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药内酯苷等,具有抗炎、抗溃疡、抗氧化、调节免疫等作用^[5]。白芍总苷能抑制副交感神经的兴奋性而具有解痉作用,在动物模型中对胃肠道电运动有明显的抑制作用;通过延长豚鼠结肠平滑肌横肌收缩时间而促进结肠运动^[6]。故本研究采用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导小鼠IBD模型,观察白芍总苷对小鼠一般情况、结肠病理及炎症相关指标的影响,探讨其防治IBD的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6 雄性小鼠 50 只,SPF 级,6~8 周龄,体重(20±2) g,由上海中医药大学实验动物中心提

供。动物许可证号:SYXK(沪 2014-008)。所有小鼠于动物中心饲养、造模和观察,自由饮食饮水。

1.2 药物和主要试剂

白芍总苷(宁波立华制药有限公司,批号:190305);柳氮磺吡啶肠溶片(上海福达制药有限公司,批号:2215272);DSS,分子量为36 000~50 000 DA(MP Biomedicals 公司,批号:Q4299);粪隐血测试盒(南京建成生物工程研究院,批号:20180521);IL-8 ELISA 试剂盒(批号:MEI023)、IL-10 ELISA 试剂盒(批号:MEI025)、IL-23 ELISA 试剂盒(批号:MEI036)、IL-36 ELISA 试剂盒(批号:MEI048)、趋化因子CCL20 ELISA 试剂盒(批号:MEI055)、趋化因子CCR6 ELISA 试剂盒(批号:MEI045)均由上海博谷生物科技有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 分组及造模 将 50 只 SPF 级 C57BL/6 小鼠按照体质量分层随机的方法分成:正常组(N 组)、模型组(M 组)、柳氮磺吡啶组(L 组)、白芍总苷低剂量组(BL 组)、白芍总苷高剂量组(BH 组),每组 10 只。适应性饲养 1 周后,N 组自由饮食饮水,其余组小鼠自由饮用 3% DSS 溶液,连续 7 d,建立小鼠炎症性肠病的急性模型。

1.3.2 给药方式 根据动物实验等效剂量系数折算法,将人每天 9.1 倍剂量折算成小鼠等效剂量。白芍总苷人常用剂量为 0.6 g,1 天 2~3 次口服。将柳氮磺吡啶(300 mg/kg)、白芍总苷低剂量(180 mg/kg)和白芍总苷高剂量(250 mg/kg)用 0.3% 羧甲基纤维素钠稀释成混悬液。自造模起,各用药组每日定时根据小鼠体质量以 0.02 mL/g 混悬液灌胃 1 次,对照组给予 0.9% 氯化钠灌胃 1 次,均连续灌胃 7 d。

1.3.3 样品采集与处理 禁食 12 h 后,用 3% 戊巴比妥钠,按照 2 mL/kg 体质量的剂量腹腔注射麻醉,由下腔静脉收集血液,将小鼠结肠、直肠组织用 PBS

溶液冲洗干净。选取肛门上1 cm组织,置于10%福尔马林中,剩余肠组织装入冻存管,-80℃保存。肠组织于福尔马林中固定24 h后予以脱水、包埋,并制成切片,以苏木精-伊红染色后于显微镜下观察。血液予以4℃下静置3 h后,在低温离心机4℃环境下3 000 r/min离心15 min,分离血清,分装后于-70℃保存待用。

1.4 观测指标

1.4.1 结肠炎疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分 每日灌胃前称小鼠体质量,计算小鼠体质量下降率=(当天体质量/实验前体质量)×100%,观察粪便性状,测定粪便隐血情况,并进行相应评分。DAI评分标准具体如下:(1)体质量评分:无变化或增加,0分;减轻1%~5%,1分;减轻5%~10%,2分;减轻10%~15%,3分;减轻大于15%,4分^[7-8]。(2)粪便性状评分:正常,0分;软便、球状便,1分;膏状或半球状便,肛门无附着,2分;膏状便,肛门有附着,3分;稀便,4分。(3)粪便隐血评分:阴性,0分;弱阳性,1分;阳性,2分;强阳性,3分;肉眼血便,4分。

DAI评分=(体质量评分+粪便性状评分+粪便隐血评分)/3

1.4.2 直肠病理组织学评价 切片以苏木精-伊红染色后于显微镜下观察,病理组织学评判标准如下:(1)炎症程度:无、轻、中、重;(2)病变累及深度:无病变、黏膜层、黏膜下层、透壁;(3)隐窝破坏情况:无破坏、基底1/3破坏、基底2/3破坏、基底破坏仅上皮完整;(4)病变累及范围:1%~25%,26%~50%,51%~75%,76%~100%。

1.4.3 ELISA法检测血清中IL-6、IL-10、IL-23、IL-36、CCL20、CCR6的表达 先后将各组血清样本100 μL,50 μL酶标溶液加入ELISA 96孔板,然后予以37℃恒温孵育1 h,充分洗板后加入显色液,

常温下避光反应10~15 min,加入终止液,在450 nm波长下读取OD值。依据标准曲线计算各指标的实际表达量。

1.5 统计学方法

应用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量下降率、粪便评分及DAI评分情况

实验开始后N组小鼠体质量平稳上升,其余各组中M组、中药组小鼠体质量与N组比较于造模第2天显著下降,L组第4天开始体质量显著下降,均于第7天达高峰,与N组比较差异有显著统计学意义($P<0.01$),其中M组体质量下降最为明显。中药组第4天起与M组比较,体质量下降率差异有统计学意义($P<0.05$);L组第6天与M组比较体质量下降率减缓,差异有统计学意义($P<0.05$),但第7天与M组比较差异无统计学意义($P>0.05$);中药组体质量下降率较L组缓慢,但各药物组间差异无统计学意义($P>0.05$),详见表1。M组小鼠在3% DSS造模后第2天起粪便呈膏状,肛门无附着,隐血阳性;第5天明显加重,解血样便,粪便呈稀水样。BL组小鼠第3天排出膏状便,肛门有附着;第5天有部分小鼠粪便呈弱阳性;其余各用药组小鼠粪便隐血阴性,排软便。粪便性状及隐血评分结果见表2。M组与各用药组于造模第3天起粪便评分与N组比较差异有显著统计学意义($P<0.01$),L组第4天开始粪便性状改善,与N组比较差异无统计学意义($P>0.05$);BH组于第6天开始明显好转,与N组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各药物组能明显改善IBD小鼠的腹

表1 各组小鼠体质量下降率评分情况($\bar{x}\pm s$,%)

组别	<i>n</i>	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7
N组	10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M组	8	0.00±0.00	1.43±0.79 ^{##}	1.86±0.69 ^{##}	2.14±0.69 ^{##}	3.14±0.90 ^{##}	3.57±0.79 ^{##}	3.43±0.97 ^{##}
L组	10	0.00±0.00	1.00±0.58	1.14±0.90	1.57±0.98 [#]	2.29±0.95 [#]	2.57±0.79 ^{##}	2.86±0.89 ^{##}
BL组	10	0.00±0.00	1.43±0.53 ^{##}	1.43±0.53 [#]	1.29±0.49 ^{**}	1.43±0.79 ^{**}	2.29±0.49 ^{**##}	2.57±0.53 ^{**##}
BH组	10	0.00±0.00	1.43±0.78 ^{##}	1.29±0.76 [#]	1.29±0.95 ^{**}	1.86±0.34 ^{**}	1.86±0.58 ^{**##}	2.43±0.64 ^{**##}

注:与N组相比,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与M组比较,^{*} $P<0.01$,^{**} $P<0.01$

表 2 各组小鼠粪便性状及隐血评分情况($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	n	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7
N 组	10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M 组	8	0.00±0.00	1.14±0.56	2.57±0.79 ^{###}	3.43±0.67 ^{###}	4.57±0.79 ^{###}	6.29±0.97 ^{###}	7.14±0.99 ^{###}
L 组	10	0.00±0.00	0.29±0.12 [*]	1.29±0.57 ^{**}	1.00±0.77 ^{**}	0.71±0.58 ^{**}	0.71±0.37 ^{**}	0.57±0.31 ^{**}
BL 组	10	0.00±0.00	0.29±0.13 [*]	1.86±0.69 ^{###}	2.29±0.57 ^{###}	2.00±0.93 ^{###}	2.00±0.93 ^{###}	1.86±0.58 ^{###}
BH 组	10	0.00±0.00	0.00±0.00 ^{**}	1.42±0.72 ^{###}	1.43±0.83 ^{###}	1.00±0.52 ^{**}	1.00±0.54 ^{**}	0.71±0.47 ^{**}

注:与 N 组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$; 与 M 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 L 组比较, $\Delta P<0.05$

表 3 各组小鼠 DAI 评分情况($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	n	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7
N 组	10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
M 组	8	0.00±0.00	0.86±0.26 ^{###}	1.48±0.42 ^{###}	1.86±0.57 ^{###}	2.57±0.42 ^{###}	3.29±0.78 ^{###}	3.52±0.74 ^{###}
L 组	10	0.00±0.00	0.43±0.32 [#]	0.81±0.26 ^{###}	0.85±0.42 ^{###}	1.00±0.51 ^{###}	1.10±0.46 ^{###}	1.14±0.38 ^{###}
BL 组	10	0.00±0.00	0.57±0.25 ^{###}	1.10±0.16 ^{###}	1.19±0.18 ^{###}	1.14±0.26 ^{###}	1.43±0.25 ^{###}	1.48±0.26 ^{###}
BH 组	10	0.00±0.00	0.48±0.26 ^{###}	0.90±0.37 ^{###}	0.90±0.29 ^{###}	0.95±0.32 ^{###}	1.48±0.46 ^{###}	1.05±0.29 ^{###}

注:与 N 组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$; 与 M 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

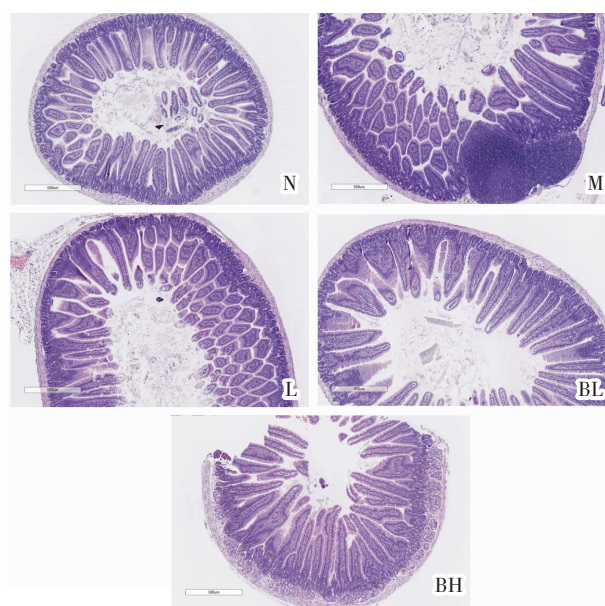
泻及便血情况,与 M 组差异有显著统计学意义($P<0.01$)。在药物干预治疗过程中, BH 组与 L 组差异无统计学意义($P>0.05$); BL 组与 L 组比较粪便评分较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。进行最终 DAI 评分统计,于第 2 天起, M 组与 N 组差异有显著统计学意义($P<0.01$);于第 3 天起,各用药组与 M 组差异有显著统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各用药组间差异无统计学意义($P>0.05$),详见表 3。因此,在改善 IBD 临床症状的治疗中, L 组、BH 组能显著缓解 IBD 小鼠的腹泻、便血症状,对体质量下降的改善不显著。

2.2 白芍总苷对小鼠结肠病理组织学的影响

N 组肠绒毛形态、杯状细胞结构均正常,未见有炎性细胞浸润; M 组肠壁肌层稍薄,肠绒毛形态正常,杯状细胞数量减少,肠黏膜内见大量淋巴细胞浸润,炎症程度重,病变累及黏膜层; L 组、BH 组肠壁肌层厚度正常,肠绒毛形态正常,杯状细胞数量正常,肠黏膜内见少量淋巴细胞浸润,炎症程度轻,隐窝形态正常,黏膜层无病变; BL 组可见肠绒毛缩短,杯状细胞数量稍有减少,肠黏膜内有较多淋巴细胞浸润,炎症程度中等,黏膜层无病变。见图 1。

2.3 各组小鼠血清中炎症细胞因子表达水平比较

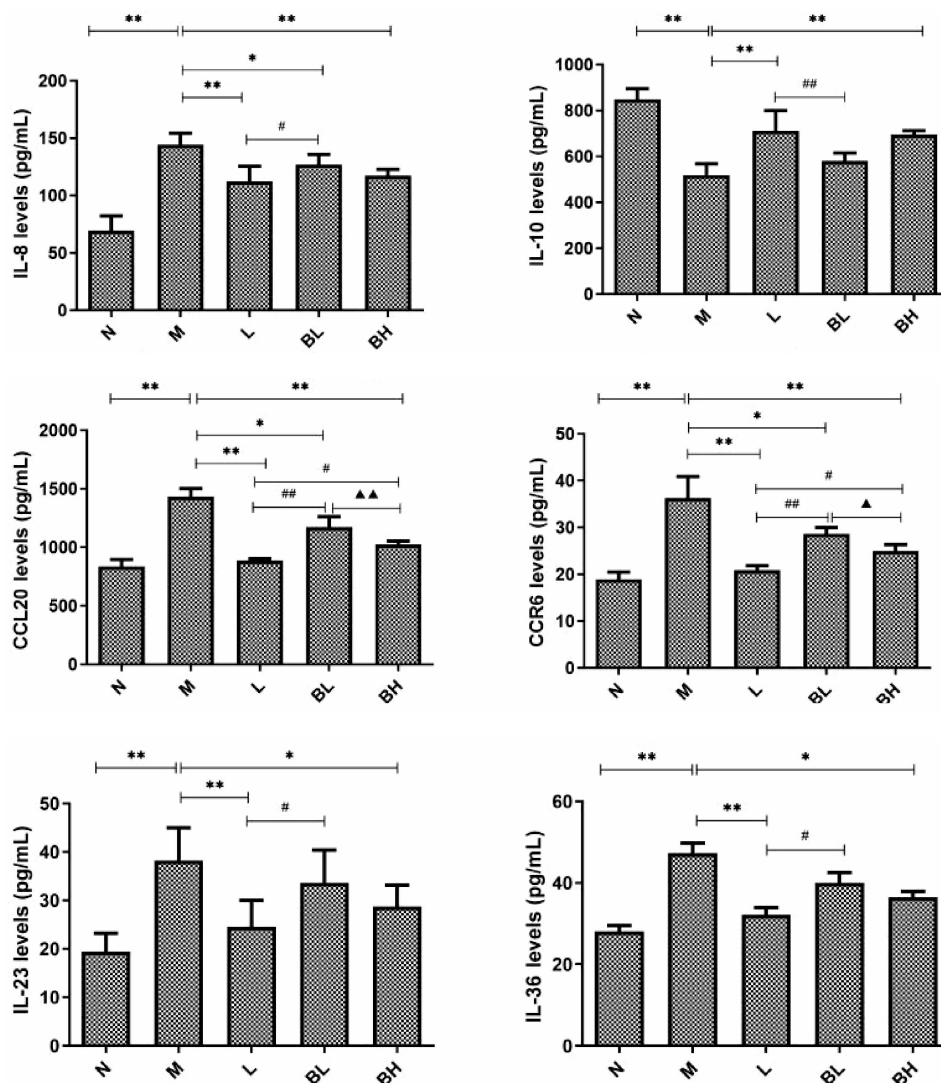
与 M 组比较, N 组 IL-8、IL-10、IL-36、IL-23、CCL20、CCR6 表达差异有显著统计学意义($P<0.01$),各用药组对 IL-8、CCL20、CCR6 的表达有显著的下调



注: N. 正常组; M. 模型组; L. 柳氮磺吡啶组; BL. 低剂量白芍总苷组; BH. 高剂量白芍总苷组

图 1 各组小鼠结肠病理图片(HE 染色, ×40)

作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$); L 组、BH 组较 M 组显著上调了 IL-10 的表达,显著下调了 IL-23、IL-36 的表达($P<0.05$)。L 组和 BH 组对 IL-8、IL-10、IL-23 和 IL-36 表达的调控,差异无统计学意义($P>0.05$),而对 CCL20、CCR6 表达的调控,两组间差异有统计学意义($P<0.05$);白芍总苷高低剂量组间 CCL20、CCR6 的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。综合上述结果, L 组、BH 组能显著调控炎症因子,且 L 组最为显著。见图 2。



注: N: 正常组; M: 模型组; L: 柳氮磺吡啶组; BL: 低剂量白芍总苷组; BH: 高剂量白芍总苷组。与 M 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 L 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与 BH 组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.05$

图2 各组小鼠血清中 IL-8、IL-10、CCL20、CCR6、IL-23、IL-36 的相对表达量

3 讨论

鉴于 IBD 的病因复杂,发病机制不明确,西医治疗多以抗炎、调节肠道菌群、免疫治疗为主,治愈难度较大。中医药则以健脾、清肠、化瘀等为治,发挥其多途径、多靶点的效应作用特性,在临床应用中有显著的效果。DSS 诱导的急性肠黏膜损伤主要是通过各种途径造成 T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等活化,引起炎症细胞因子的表达,以 Th1-Th17 型免疫反应为主,导致肠黏膜上皮屏障破坏^[9-11]。炎症的恶性循环是 IBD 肠黏膜损伤的基础。因此,细胞因子在调节肠道炎症免疫反应中起着关键作用。当各种因子的功能、数量发生异常,或 Th/Treg 表达失衡时,均可促进黏膜免疫系统活化,破坏肠上皮的完整性,最终导致结肠炎症的发生。

IL-8、IL-36、IL-23 是炎症细胞因子,IL-8 对中性粒细胞等其它先天性髓细胞具有强大的趋化作用,导致促炎因子的产生和炎症的持续;IL-23、IL-36 在 DSS 诱导的肠黏膜损伤中显著表达。研究表明,在 DSS 诱导的损伤早期,单核细胞、巨噬细胞是 IL-36 的主要来源,IL-36 显著升高,并产生 IL-23^[12-13]。随着 IL-23 的分泌,结肠中的许多细胞类型表达 IL-23^[14],并且能够产生 IL-22^[15]。有研究已明确,在 DSS 诱导的 IL-23 和 IL-36 缺陷小鼠模型中均发生了损伤组织的修复^[16]。由此可见,IL-23 和 IL-36 是急性肠黏膜损伤模型中起显著作用的炎性因子,为 IBD 的治疗提供了新的治疗靶点。IL-10 是一种二聚体,由两条 IL-10 结合链(IL-10RA、IL-10RB)组成,与 IL-10 受体结合^[17-18],通过 TH1 和 TH17 的反应在调节肠道免疫环境中起着重要作用^[19-20]。有研究认为,

先天免疫细胞对 IL-10 的应答失败,与 T 细胞驱动的炎症密切相关^[21-23]。在炎症性肠病患者的基因检测中已发现在 IL-10 通路中,IL-10 和 IL-10R 的单基因缺陷在的发生发展中起着重要作用^[24-26]。此外,肠上皮细胞的直接信号转导可以诱导趋化因子的表达。趋化因子为免疫系统的信使分子,是炎症反应中白细胞募集最重要的调节因子之一。CCL20 是一种 C-C 基序趋化因子配体,其唯一受体为 C-C 基序趋化因子受体 6(CCR6),组织产生 CCL20 招募 CCR6 表达免疫细胞^[27-30]。当 CCL20 同时招募调节性 T 细胞和 TH17 细胞时,CCL20 的表达变化可能改变促炎反应和调节反应之间的平衡^[31-33]。在 IBD 患者的黏膜中 CCL20 表达增加^[34-36],CCL20 和 CCR6 被认为是 IBD 的易感基因,并被认为是炎症条件下的治疗靶点^[37-38]。对 UC 患者的研究表明,与健康对照组相比,活动期 UC 患者的 CCL20 mRNA 上调^[39-41]。

在本实验中,L 组与 BH 组显著降低了体质量下降率,随着治疗周期的延长更为显著,对便血、腹泻的改善两者最终无差异。同时 BH 组能有效减少杯状细胞和淋巴细胞浸润。ELISA 的结果证实炎症因子的表达受到了有效抑制。由此可见,白芍总苷在治疗 DSS 诱导的 IBD 小鼠模型切实有效。当肠道发生急性黏膜损伤时,白芍总苷显著抑制了 IL-8、CCL20 和 CCR6 的表达,降低了对炎症因子的趋化作用,使 IL-23 表达减少,IL-36 的生成亦减少,最终抑制了 Th1-Th17 型免疫反应,保护了肠道黏膜上皮的完整性。

综上所述,白芍总苷可显著抑制炎症因子的表达,减少炎性细胞的浸润,调节免疫功能,从而改善 IBD 小鼠腹泻及便血症状,同时改善结肠组织的炎性损伤。

参考文献

- [1] 傅志泉,李 珍,赵思宇,等.精神情志对炎症性肠病影响的作用机制及中医药干预对策的研究现状[J].世界中医药,2017,12(8): 1979-1984.
- [2] HAN Y, MA T M, LU M L, et al. Role of moxibustion in inflammatory responses during treatment of rat ulcerative colitis[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(32): 11297-11304.
- [3] FRATILA O C, CRACIUN C. Ultrastructural evidence of mucosal healing after infliximab in patients with ulcerative colitis[J]. Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases: JGLD, 2010, 19(2): 147-153.

- [4] 吴淑芬,桂茜茹,张小萍.溃疡性结肠炎中医药治疗认识[J].江西中医药,2013,44(3):14-16.
- [5] 王朝虹,闵知大.芍药化学成分及药理研究[J].时珍国医国药, 1999,10(7):3-5.
- [6] 向军英,欧阳钦,胡仁伟,等.白芍总苷对小鼠溃疡性结肠炎的作用[J].中华临床营养杂志,2010,18(4):230-234.
- [7] 王旭丹,袁学勤,邱泽计,等.四神丸改善 TNBS 及 DSS 诱导小鼠实验性结肠炎的研究[J].北京中医药大学学报,2014,37(11):781-785.4.
- [8] 王 新.小檗碱对 DSS 结肠炎小鼠保护作用的研究[D].广州:广东药科大学,2016.
- [9] YAN Y T, KOLACHALA V, DALMASSO G, et al. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis[J]. Plos One, 2009, 4 (6): e6073.
- [10] RANDHAWA P K, SINGH K, SINGH N, et al. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents[J]. The Korean Journal of Physiology & Pharmacology, 2014, 18 (4): 279-288.
- [11] ALEX P, ZACHOS N C, NGUYEN T, et al. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2009, 15 (3): 341-352.
- [12] MEDINA-CONTRERAS O, HARUSATO A, NISHIO H, et al. Cutting edge: IL-36 receptor promotes resolution of intestinal damage[J]. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 2016, 196(1): 34-38.
- [13] SCHEIBE K, BACKERT I, WIRTZ S, et al. IL-36R signalling activates intestinal epithelial cells and fibroblasts and promotes mucosal healing in vivo[J]. Gut, 2017, 66(5): 823-838.
- [14] AWASTHI A, RIOL-BLANCO L, JAGER A, et al. Cutting edge: IL-23 receptor gfp reporter mice reveal distinct populations of IL-17-producing cells[J]. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 2009, 182(10): 5904-5908.
- [15] ZENEWICZ L A, FLAVELL R A. Recent advances in IL-22 biology[J]. International Immunology, 2011, 23(3): 159-163.
- [16] BECKER C, DORNHOFF H, NEUFERT C, et al. Cutting edge: IL-23 cross-regulates IL-12 production in T cell-dependent experimental colitis[J]. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 2006, 177(5): 2760-2764.
- [17] KÜHN R, LÖHLER J, RENNICK D, et al. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis[J]. Cell, 1993, 75(2): 263-274.
- [18] SPENCER S D, DI MARCO F, HOOLEY J, et al. The orphan receptor CRF2-4 is an essential subunit of the interleukin 10 receptor[J]. Journal of Experimental Medicine, 1998, 187 (4): 571-578.

- [19] GEUKING M B, CAHENZLI J, LAWSON M A, et al. Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses[J]. *Immunity*, 2011, 34(5): 794–806.
- [20] HUBER S, GAGLIANI N, ESPLUGUES E, et al. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3 and Foxp3+ regulatory CD4+ T cells in an interleukin-10-dependent manner[J]. *Immunity*, 2011, 34(4): 554–565.
- [21] ZIGMOND E, BERNSHTEIN B, FRIEDLANDER G, et al. Macrophage-restricted interleukin-10 receptor deficiency, but not IL-10 deficiency, causes severe spontaneous colitis[J]. *Immunity*, 2014, 40(5): 720–733.
- [22] SHOUVAL D S, BISWAS A, GOETTEL J A, et al. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function[J]. *Immunity*, 2014, 40(5): 706–719.
- [23] GIRARD-MADOUX M J, OBER-BLÖBAUM J L, COSTES L M, et al. IL-10 control of CD11c+ myeloid cells is essential to maintain immune homeostasis in the small and large intestine[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22): 32015–32030.
- [24] GLOCKER EO, KOTLARZ D, BOZTUG K. et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2009, 361(21): 2033–2045.
- [25] PIGNEUR B, ESCHER J, ELAWAD M, et al. Phenotypic characterization of very early-onset IBD due to mutations in the IL10, IL10 receptor alpha or beta gene: A survey of the Genius Working Group[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2013, 19(13): 2820–2828.
- [26] BEGUE B, VERDIER J, RIEUX-LAUCAT F, et al. Defective IL10 signaling defining a subgroup of patients with inflammatory bowel disease [J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2011, 106(8): 1544–1555.
- [27] COOK D N, PROSSER D M, FORSTER R, et al. CCR6 mediates dendritic cell localization, lymphocyte homeostasis, and immune responses in mucosal tissue[J]. *Immunity*, 2000, 12(5): 495–503.
- [28] DIEU-NOSJEAN M C, MASSACRIER C, HOMEY B, et al. Macrophage inflammatory protein 3alpha is expressed at inflamed epithelial surfaces and is the most potent chemokine known in attracting Langerhans cell precursors[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2000, 192(5): 705–718.
- [29] IWASAKI A, KELSALL B L. Localization of distinct Peyer's patch dendritic cell subsets and their recruitment by chemokines macrophage inflammatory protein (MIP)-3alpha, MIP-3beta, and secondary lymphoid organ chemokine[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2000, 191(8): 1381–1394.
- [30] DIEU M C, VANBERVLIET B, VICARI A, et al. Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1998, 188(2): 373–386.
- [31] LI Q, LAUMONNIER Y, SYROVETS T, et al. Recruitment of CCR6-expressing Th17 cells by CCL20 secreted from plasmin-stimulated macrophages[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2013, 45(7): 593–600.
- [32] COMERFORD I, BUNTING M, FENIX K, et al. An immune paradox: How can the same chemokine axis regulate both immune tolerance and activation?: CCR6/CCL20 chemokine axis balancing immunological tolerance and inflammation in autoimmune disease[J]. *BioEssays*, 2010, 32(12): 1067–1076.
- [33] YAMAZAKI T, YANG X O, CHUNG Y, et al. CCR6 regulates the migration of inflammatory and regulatory T cells[J]. *Journal of Immunology*, 2008, 181(12): 8391–8401.
- [34] KWON J H, KEATES S, BASSANI L, et al. Colonic epithelial cells are a major site of macrophage inflammatory protein 3alpha (MIP-3alpha) production in normal colon and inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 2002, 51(6): 818–826.
- [35] KASER A, LUDWICZEK O, HOLZMANN S, et al. Increased expression of CCL20 in human inflammatory bowel disease[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2004, 24(1): 74–85.
- [36] SKOVDAHL H K, GRANLUND A V, ØSTVIK A E, et al. Expression of CCL20 and its corresponding receptor CCR6 is enhanced in active inflammatory bowel disease, and TLR3 mediates CCL20 expression in colonic epithelial cells[J]. *Plos One*, 2015, 10(11): e0141710.
- [37] LIU J Z, VAN SOMMEREN S, HUANG H L, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(9): 979–986.
- [38] MACKAY C R. Moving targets: Cell migration inhibitors as new anti-inflammatory therapies[J]. *Nature Immunology*, 2008, 9(9): 988–998.
- [39] LEE H J, CHOI S C, LEE M H, et al. Increased expression of MIP-3alpha/CCL20 in peripheral blood mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and its down-regulation by sulfasalazine and glucocorticoid treatment[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2005, 11(12): 1070–1079.
- [40] HE C, ZHANG S L, HU C J, et al. Higher levels of CCL20 expression on peripheral blood mononuclear cells of Chinese patients with inflammatory bowel disease[J]. *Immunological Investigations*, 2010, 39(1): 16–26.
- [41] SPAGNUOLO R, DATTILO V, DANTONA L, et al. Deregulation of SGK1 in ulcerative colitis: A paradoxical relationship between immune cells and colonic epithelial cells[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2018, 24(9): 1967–1977.