

本文引用: 危水香, 张歆, 王晗, 曾玲静, 黄凯伦, 游玲娜, 吴异兰. 清化肠饮对结肠炎相关结直肠癌小鼠及其肠道屏障功能的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(1): 16-21.

清化肠饮对结肠炎相关结直肠癌小鼠及其肠道屏障功能的影响

危水香¹, 张歆², 王晗³, 曾玲静¹, 黄凯伦¹, 游玲娜¹, 吴异兰^{1*}

1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122; 2. 福建中医药大学临床技能教学中心, 福建 福州 350122;
3. 福建医科大学附属协和医院肿瘤内科, 福建 福州 350001

[摘要] **目的** 观察清化肠饮对结肠炎相关结直肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)小鼠及其肠道屏障功能的影响。**方法** 将40只C57BL/6小鼠随机均分为空白组、模型组、清化肠饮组、阳性对照组。除空白组外,其余组均用氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)联合诱导建立CAC小鼠模型,清化肠饮组给予清化肠饮灌胃剂量为1.8 g/(kg·d);阳性对照组给予柳氮磺吡啶混悬液0.45 g/(kg·d);空白组给予等量无菌生理盐水灌胃。均干预8周。观察并记录小鼠一般情况、体质量、疾病活动指数(disease activity index, DAI)及肿瘤长度;采用HE染色法观察小鼠结直肠组织病理变化;采用Western blot法检测小鼠结直肠组织中闭合蛋白-1(Claudin-1)、咬合蛋白(Occludin)、带状闭合蛋白-1(ZO-1)蛋白表达水平。**结果** 模型组出现便血、脱肛等情况。与空白组相比,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠DAI评分明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与空白组相比,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠结直肠长度均缩短($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较,清化肠饮组与阳性对照组结直肠长度增长($P<0.01$)。HE病理结果显示,模型组腺体高级别管状腺瘤形成,清化肠饮组存在低级别腺瘤和高级别瘤变。与空白组相比,模型组小鼠结直肠肿瘤组织中Claudin-1蛋白表达升高($P<0.01$),Occludin、ZO-1蛋白表达水平降低($P<0.01$);与模型组相比,清化肠饮组、阳性对照组Claudin-1蛋白表达水平降低($P<0.01$),清化肠饮组、阳性对照组Occludin、ZO-1蛋白表达水平升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与清化肠饮组相比,阳性对照组Claudin-1蛋白表达水平降低($P<0.01$),Occludin、ZO-1蛋白表达水平升高($P<0.01$)。**结论** 清化肠饮可抑制CAC,其机制可能与改善肠道炎症反应、调节肠道屏障功能相关。

[关键词] 清化肠饮;结肠炎相关结直肠癌;肠道屏障;闭合蛋白-1;咬合蛋白;带状闭合蛋白-1

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.01.003

Effect of Qinghuachang Drink on mice with colitis-associated colorectal cancer and Intestinal barrier function

WEI Shuixiang¹, ZHANG Xin², WANG Han³, ZENG Lingjing¹, HUANG Kailun¹, YOU Lingna¹, WU Yilan^{1*}

1. Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China; 2. Clinical Skills Teaching Center, Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China; 3. Department of Oncology, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of Qinghuachang Drink (QHCD) on the mouse model of colitis-associated colorectal cancer (CAC) and its intestinal barrier function. **Methods** Forty C57BL/6 mice were randomized into blank group, model group, QHCD group, and positive control group. Except for blank group, the rest groups were induced to establish a CAC model by azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium salt (DSS). QHCD, positive control, and blank groups were given QHCD 1.8 g/(kg·d), sulfasalazine suspension 0.45 g/(kg·d), and the equal volume of sterile saline by gavage, respectively, for 14 d in succession. The general condition, body mass and disease activity index (DAI) of mice were observed and recorded; HE

[收稿日期] 2023-07-13

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2023J01337);福建中医药大学护理学院专项课题(XHL2022004)。

[通信作者] * 吴异兰,女,硕士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:2009061@fjtc.edu.cn。

staining was used to observe the pathological changes in the colorectal tissue of mice; Western blot was used to determine the protein expression levels of Claudin-1, Occludin, ZO-1 in the colorectal tissue. **Results** The mice of model group had bloody stool and rectal prolapse. After intervention, the condition of mice in QHCD group was improved and the DAI score decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The pathological results of HE showed that high-grade tubular adenomas formed in model group, and low-grade adenomas and high-grade neoplasia were present in QHCD group, indicating that QHCD could alleviate intestinal inflammation and delay the progression of canceration. Compared with blank group, the protein expression level of Claudin-1 in the colorectal tissue of mice in model group was higher ($P < 0.01$), while the protein expression levels of Occludin and ZO-1 were lower ($P < 0.01$); compared with model group, the protein expression level of Claudin-1 in the colorectal tissue of mice in both QHCD and positive control groups decreased ($P < 0.01$), while the protein expression levels of Occludin and ZO-1 increased ($P < 0.05$). **Conclusion** QHCD can inhibit CAC, and the mechanism may be related to alleviating intestinal inflammatory response and regulating intestinal barrier function.

[**Keywords**] Qinghuachang Drink; colitis-associated colorectal cancer; intestinal barrier; Claudin-1; Occludin; ZO-1

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组慢性非特异性肠道炎症性疾病,具有易复发、难治愈等特点。近年,我国IBD发病率呈现逐年上升趋势^[1-2]。研究发现,与一般人群相比,IBD患者发生结直肠癌的风险显著增加^[3]。目前,IBD的发病机制尚未完全明确,但研究发现机体肠道菌群失调,使得有害微生物增加,破坏肠道屏障,诱发炎症反应^[4],长期患有IBD的患者更易发生结直肠癌^[5],又称结肠炎相关结直肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)。

肠道屏障是抵御病原微生物进入机体的重要防线,肠道屏障功能障碍可能与紧密连接结构受损密切相关^[6],Claudin、Occludin、ZO蛋白家族为紧密连接蛋白的主要组成结构。其中,咬合蛋白(Occludin)是第一个被人们发现定位于紧密连接的跨膜蛋白^[7],为构成肠道屏障完整及调节通透性的重要分子蛋白。带状闭合蛋白-1(ZO-1)可与Occludin蛋白末端连接,相互作用维持肠道屏障的通透性与完整性^[8]。闭合蛋白-1(Claudin-1)蛋白失调,可改变肠上皮细胞分化,并促进结肠炎发展,损害肠道修复能力^[9]。因此,保护肠道屏障,促进肠道黏膜愈合,对治疗IBD患者、预防癌变至关重要。

IBD基本病机为湿热蕴结,气血不和^[10]。当湿热久郁不化,则湿热蕴毒,癌毒内生。清化肠饮源于张景岳《景岳全书·新方八阵》中的清化饮。国医大师杨春波结合福建地理特点及饮食习惯,基于清化饮加减化裁,创制清化肠饮。清化肠饮具有清热化湿、散瘀止血之效,主要由仙鹤草、黄连、地榆炭、豆蔻等中药组成。临床观察发现,清化肠饮治疗IBD不良反应少,疗效显著^[11]。

本研究通过氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/

葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)建立CAC小鼠模型,探讨清化肠饮对肠道屏障功能及抑制CAC的作用机制,为临床推广应用清化肠饮治疗CAC,提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级C57BL/6小鼠40只,雄性,6~8周,体重18~22g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司[合格证书SCXK(沪)2022-004],饲养于福建中医药大学实验动物中心SPF级动物房,每笼5只,每只小鼠用耳号进行标记。依据国家标准啮齿类动物饲料常规饲养,保持环境清洁,专用饲料,自由摄食、饮水,每日给予12h光照时间,室内温度(22±2)℃,相对湿度50%~60%。每日更换饮水、添加饲料,隔日更换一次垫料。本研究已通过福建中医药大学实验动物伦理管理委员会审定(伦理编号:FJTCM IACUC 2022052)。

1.2 药物及制备

清化肠饮组成:仙鹤草20g,茯苓20g,地榆炭15g,薏苡仁15g,茵陈10g,炒白扁豆10g,佩兰10g,赤芍10g,姜厚朴6g,豆蔻5g,黄连3g。中药饮片购自福建中医药大学附属第二人民医院中药房,制备成全成分中药配方颗粒剂。颗粒剂加入煮沸的蒸馏水,充分搅拌,根据给药剂量进行浓缩,置于4℃冰箱保存备用。阳性对照组采用柳氮磺吡啶,研磨成粉末状后,用网筛过滤颗粒,加入蒸馏水,置于4℃冰箱保存备用。

1.3 主要试剂及仪器

氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)(美国Sigma-Aldrich公司,批号:A5486);葡聚糖硫酸钠(dex-

tran sulfate sodium salt, DSS)(上海翌圣生物科技股份有限公司,批号:60316ES60);Occludin 蛋白抗体(武汉博士德生物工程有限公司,批号:BM4832);Claudin-1 蛋白抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:28674-1-AP)、ZO-1(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:21773-1-AP);柳氮磺吡啶肠溶片(上海信谊天平药业有限公司,批号:H310209557)。

JXFTPRP-48 型研磨机(上海净信实业发展有限公司);JID-17R 型冷冻离心机(广州吉迪仪器有限公司);DYCP-31DN 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);ND-100c 型紫外可见分光光度计(杭州米欧仪器有限公司)。

2 方法

2.1 构建 CAC 小鼠模型及分组

本实验采用 10 mg/kg AOM 与 2% DSS 联合建立 CAC 模型^[12-13]。C57BL/6 雄性小鼠适应性喂养 1 周,采用随机数字表法分为空白组、模型组、清化肠饮组、阳性对照组,每组 10 只。剔除死亡或造模失败小鼠,按只数最少组,每组均随机抽取 6 只。除空白组外,其余 3 组第 1 周第 1 日进行腹腔注射 10 mg/kg AOM;空白组同时给予等量生理盐水腹腔注射。第 2 周开始给予 2% DSS 自由饮用 7 d,蒸馏水自由饮水 14 d,3 周为一个循环,共 3 个循环,9 周,整个实验共 11 周。清化肠饮组饮用 DSS 7 d 后,开始灌胃,依据人与动物按体表面积折算的等效剂量比值进行计算^[14]。临床上,清化肠饮用量以 12 g/d 来计算,成人剂量为 0.2 g/(kg·d),计算出 20 g 小鼠剂量为 1.8 g/kg。灌胃体积为 0.1 mL/10 g,调整药物浓度为 0.18 g/mL,得出小鼠清化肠饮灌胃剂量为 1.8 g/(kg·d)。同理,按成人每日用量 3 g,计算得出阳性对照组给予柳氮磺吡啶混悬液 0.45 g/(kg·d)灌胃;空白组给予等量无菌生理盐水灌胃。

2.2 小鼠一般情况、体质量与疾病活动指数(disease activity index, DAI)评估

每日于同一时间点,观察小鼠的精神活动状态、皮毛光泽情况、饮食及大便形状等情况,每周固定时间测量并记录小鼠的体质量。计算 DAI 评分。DAI=(体质量指数+大便性状指数+便血指数)/3^[15],总分范围为 0~12 分。根据状态进行赋分:体质量下降 0%,大便性状正常,粪便隐血试验呈阴性,各计 0 分;体质量下降 6%~10%,大便性状松散,粪便隐血试验

呈阳性,各计 2 分;体质量下降大于 15%,水样腹泻,肉眼血便,各计 4 分。

2.3 小鼠结直肠组织病理观察

小鼠禁食不禁水 12 h 后,摘取眼球取血后,脱颈处死,沿腹中线打开腹腔,剪取回盲部至结直肠末端的肠段,用 4 ℃预冷的生理盐水清洗肠道,测量肠道长度。用眼科剪刀沿长轴方向剖开肠腔,置于白色背景下观察是否有肿瘤生成并拍照。取小鼠结直肠组织,置于 10%甲醛溶液固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,置于显微镜下进行病理学检查,观察各组结直肠组织癌变情况,并得出病理检查报告。

2.4 小鼠结直肠组织 Claudin-1、Occludin、ZO-1 蛋白表达检测

采用 Western blot 法检测小鼠结直肠组织 Claudin-1、Occludin、ZO-1 蛋白表达水平。取适量冻存小鼠结直肠组织,剪碎研磨,采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,后电泳、转膜,加入含 5%脱脂奶粉进行封闭后,4 ℃过夜孵育一抗,TBST 洗涤(3 次,10 min/次),孵育二抗室温 2 h 后,再次洗涤(3 次,10 min/次)进行显色,该实验重复 3 次,以 GAPDH 为内参进行条带灰度值分析。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 26.0 进行数据统计分析,符合正态分布的计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析。重复测量资料,符合正态分布,方差齐时采用重复测量方差分析;不符合正态分布,采用非结构化的广义估计方程,统计图经 GraphPad Prism 8.0 绘制。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 清化肠饮对小鼠一般情况、DAI 评分的影响

空白组小鼠毛色黝黑有光泽,精神状态正常,食物摄入量、饮水量均正常,无腹泻及便血情况发生。喂养 DSS 期间,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠均出现萎靡蜷缩,毛色稀疏欠光泽,食物摄入量与饮水量均有所减少。除空白组外,其余 3 组在 DSS 喂养 3 d 后,小鼠出现腹泻、便血,部分小鼠后期出现脱肛现象。

实验过程中,空白组小鼠体质量随时间稳步增加。模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠在 DSS 喂养期间的第 2、5、8 周,与空白组小鼠相比,体质量均下降($P<0.01$);在 3 轮循环中,恢复蒸馏水饮用的第 3、6、9、10 周,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠

体质量上升,与空白组相比,3组小鼠体质量差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组相比,清化肠饮组与阳性对照组体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图1。

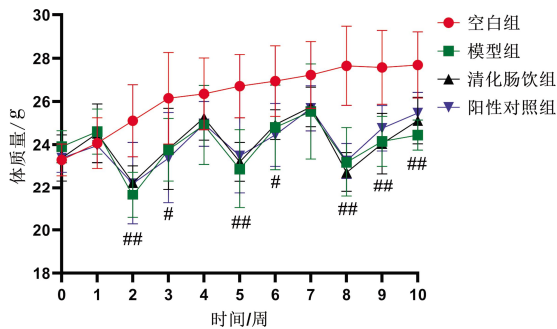


图1 各组小鼠体质量变化(n=6)

注:与空白组相比,# $P<0.05$,* $P<0.01$ 。

实验过程中,DAI评分结果显示:在3轮循环中,自由饮用DSS后,3组小鼠DAI评分均明显升高,经药物干预后,DAI评分逐渐下降。第2至10周,与空白组相比,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠DAI评分明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组相比,清化肠饮组、阳性对照组DAI评分差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图2。

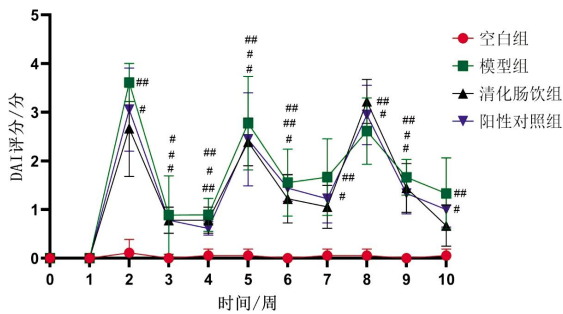


图2 各组小鼠DAI评分(n=6)

注:与空白组相比,# $P<0.05$,* $P<0.01$ 。

3.2 清化肠饮对小鼠肿瘤生成及肠道长度的影响

除空白组外,其余3组小鼠可见肿瘤在肠道内以大小不一的息肉状向肠腔内突出隆起;与模型组相比,清化肠饮组与阳性对照组小鼠肿瘤数量减少。详见图3。

与空白组相比,模型组、清化肠饮组、阳性对照组小鼠结直肠长度均缩短($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型

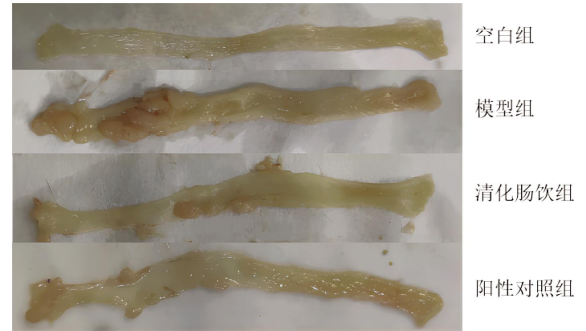


图3 各组小鼠肿瘤生成情况(n=6)

组相比,清化肠饮组与阳性对照组结直肠长度增长($P<0.01$);与清化肠饮组相比,阳性对照组结直肠长度增长($P<0.05$)。详见图4。

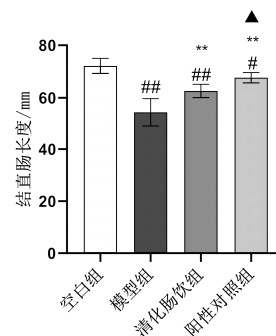


图4 各组小鼠结直肠长度比较(n=6)

注:与空白组相比,# $P<0.05$,* $P<0.01$;与模型组相比,** $P<0.01$;与清化肠饮组相比,▲ $P<0.05$ 。

3.3 清化肠饮对小鼠结直肠组织形态的影响

空白组小鼠结肠各层结构清晰,无明显异常,上皮细胞排列紧密,腺体及杯状细胞未见减少。与空白组相比,模型组小鼠周边腺体伴息肉样增生,腺体高级别管状腺瘤形成,伴可疑黏膜内腺体癌变,腺体背靠背,并融合成筛状,炎性细胞浸润,细胞失去极性,细胞核深染,伴异型。与模型组相比,清化肠饮组与阳性对照组癌变形成稍有减缓,形成低级别腺瘤。清化肠饮组周边腺体伴息肉样增生,杯状细胞增生,伴高级别癌变,腺体背靠背,细胞核深染,拉长,略呈笔杆状。详见图5。

3.4 清化肠饮对小鼠结直肠组织 Claudin-1、Occludin、ZO-1 蛋白表达的影响

与空白组相比,模型组小鼠结直肠肿瘤组织中

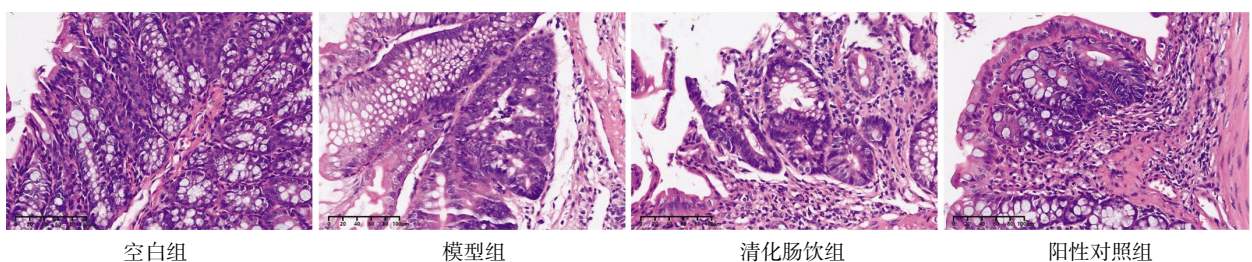


图5 各组小鼠结直肠组织形态学观察(HE,×200)

Claudin-1 蛋白表达升高 ($P<0.01$), Occludin、ZO-1 蛋白表达水平降低 ($P<0.01$); 与模型组相比, 清化肠饮组、阳性对照组 Claudin-1 蛋白表达水平降低 ($P<0.01$), Occludin、ZO-1 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与清化肠饮组相比, 阳性对照组 Claudin-1 蛋白表达水平降低 ($P<0.01$), Occludin、ZO-1 蛋白表达水平升高 ($P<0.01$)。详见图 6、表 1。

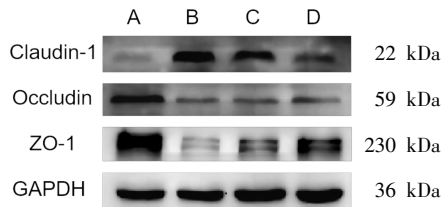


图 6 各组小鼠结直肠组织 Claudin-1、Occludin、ZO-1 蛋白表达水平比较 ($n=6$)

注: A. 空白组; B. 模型组; C. 清化肠饮组; D. 阳性对照组。

表 1 各组小鼠结直肠组织 Claudin-1、Occludin、ZO-1 蛋白表达水平比较 ($n=6$)

组别	Claudin-1	Occludin	ZO-1
空白组	0.21±0.06	0.74±0.03	1.87±0.12
模型组	0.98±0.04 [#]	0.17±0.03 [#]	0.39±0.02 [#]
清化肠饮组	0.78±0.07 ^{#**}	0.25±0.03 ^{#**}	0.70±0.04 ^{#**}
阳性对照组	0.55±0.07 ^{#**▲▲}	0.39±0.04 ^{#**▲▲}	1.33±0.23 ^{#**▲▲}

注: 与空白组相比, [#] $P<0.01$; 与模型组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与清化肠饮组相比, ▲▲ $P<0.01$ 。

4 讨论

CAC 是 IBD 最为严重的并发症之一, 其发病过程呈现为“炎症-不典型增生-癌变”^[16], 防止 IBD 癌变是降低 CAC 发生率的有效方式之一。目前, IBD 的西医药物治疗有一定的不良反应, 费用较为昂贵^[17-18], 中医学在防治 IBD 的实践中积累了丰富的经验, 也发挥了至关重要的作用^[19]。

大肠湿热证为结直肠癌临床最常见的证型之一。大多数医家认为 IBD 病因为脾气亏虚, 外加感受外邪等, 使得脾虚酿湿生热, 下注肠道, 湿热互结, 损伤肠络, 而湿热久郁不化致湿热毒蕴, 最终导致癌毒内生^[20-21]。因此, 清热化湿法为防治结直肠癌的主要治法之一。清化肠饮包括仙鹤草、茯苓、地榆炭、薏苡仁、茵陈、炒白扁豆、佩兰、赤芍、姜厚朴、豆蔻、黄连 11 味中药。仙鹤草、地榆炭收敛止血, 黄连清热燥湿、泻火解毒为君药; 赤芍活血凉血, 豆蔻与姜厚朴理气共为臣药; 茵陈清热化湿, 佩兰芳香化湿, 薏苡仁、炒白扁豆、茯苓健脾化湿, 加强主药祛湿作用为佐使药。全方共奏清热化湿、散瘀止血之效。研究发现, 清化肠饮联合灌肠Ⅲ号方可有效治疗溃疡性结肠炎, 促进黏膜愈合^[22]。本研究探讨清化肠饮对

CAC 小鼠炎癌反应及肠道屏障的影响。

本研究采用 AOM/DSS 联合应用构建 CAC 小鼠模型。该方案具有造模时间短、稳定性较强, 且发病机制与人类相似等特点, 是研究结直肠癌转化适合的模型方案^[23]。为降低小鼠死亡率, 本研究依据相关文献及预实验调节 DSS 浓度^[24]。结果显示, 造模后, 小鼠出现萎靡、腹泻、血便及脱肛情况, 解剖后发现肿瘤生成, 表明该浓度可刺激小鼠发生炎症反应, 促进炎癌转化。研究发现, 清化肠饮可抑制促炎因子分泌, 抑制核因子 κ B 信号通路激活^[25]。本研究结果显示, 清化肠饮干预后, 可改善小鼠结直肠长度缩短情况, 降低 DAI 评分, 且 HE 分析显示炎性浸润减轻。对各组小鼠结直肠进行肉眼观察及病理分析, 发现模型组肿瘤明显, HE 显示已形成高级别腺瘤, 伴黏膜内腺体癌变, 清化肠饮组存在低级别腺瘤伴高级别瘤变。以上结果表明清化肠饮可有效减轻肠道炎症反应, 延缓癌变进展。

结肠炎发展过程中, 刺激免疫细胞, 从而释放大量的促炎细胞因子, 进一步触发免疫反应, 损害上皮细胞紧密连接蛋白表达, 破坏肠道上皮屏障^[26]。细胞间紧密连接结构是肠道屏障功能的重要组成部分, 由 Occludin、Claudin 和 ZO-1 等跨膜蛋白组成。紧密连接结构的异常改变, 使得肠道通透性增强, 屏障功能被破坏, 将进一步促进促炎因子释放, 炎症反应持续, 引起癌变^[27-28]。Occludin 具有维持细胞间通透性, 保持肠上皮细胞和紧密连接结构的保护作用。ZO-1 是肠上皮细胞间的重要连接蛋白, 对相邻细胞间的渗透, 细胞增殖、分化及生长等具有重要作用。在正常肠道上皮中, Claudin-1 参与维持上皮细胞极性, 调节肠道屏障通透性, 对人体肠道屏障具有保护功能^[29]。研究发现, Claudin-1 在 IBD 中表达上调, 且炎症因子可诱导 Claudin-1, 促进肿瘤生长^[30]。随着癌变的发展, 其蛋白表达逐渐上调, 在结直肠癌中呈现高表达^[31]。ZO-1、Occludin 蛋白在结直肠癌小鼠中呈现低表达^[32]。ZO-1、Occludin 蛋白表达上调, 可抑制肿瘤的侵袭与增殖^[33]。研究表明, 清化肠饮可通过上调紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1 的表达, 恢复肠道黏膜屏障功能, 抑制肠道炎症反应的发生发展^[34]。研究结果与上述结果保持一致, 清化肠饮干预后, Claudin-1 的表达水平降低, Occludin、ZO-1 的表达水平升高, 表明清化肠饮可调节肠道紧密连接蛋白表达, 从而促进肠道屏障功能恢复。

综上所述, 清化肠饮可改善 CAC 小鼠模型结肠炎症状, 延缓癌变进展, 可能是通过调节小鼠肠道屏障中 Claudin-1、Occludin、ZO-1 紧密连接蛋白的表达, 一定程度上恢复肠道屏障功能及完整性, 抑制

CAC的发展。前期研究表明,清化肠饮可有效治疗溃疡性结肠炎^[22]。本研究为清化肠饮临床防治CAC提供了实验依据,并初步探讨其可能的机制,而清化肠饮对CAC的临床疗效及具体作用机制仍需进一步验证。

参考文献

- [1] RAY K. The changing epidemiology of IBD[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 14(12): 690.
- [2] KAPLAN G G, WINDSOR J W. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021, 18(1): 56–66.
- [3] WEIMERS P, ANKERSEN D V, LOKKEGAARD E, et al. Occurrence of Colorectal Cancer and the Influence of Medical Treatment in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Danish Nationwide Cohort Study, 1997 to 2015[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2021, 27(11): 1795–1803.
- [4] ZHENG J Y, SUN Q R, ZHANG J W, et al. The role of gut microbiome in inflammatory bowel disease diagnosis and prognosis[J]. *United European Gastroenterology Journal*, 2022, 10(10): 1091–1102.
- [5] BOPANNA S, ANANTHAKRISHNAN A N, KEDIA S, et al. Risk of colorectal cancer in Asian patients with ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 2(4): 269–276.
- [6] CAPALDO C T, POWELL D N, KALMAN D. Layered defense: How mucus and tight junctions seal the intestinal barrier[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2017, 95(9): 927–934.
- [7] FURUSE M, HIRASE T, ITOH M, et al. Occludin: A novel integral membrane protein localizing at tight junctions [J]. *The Journal of Cell Biology*, 1993, 123(6 Pt 2): 1777–1788.
- [8] 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白 occludin, ZO-1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义[J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(7): 1803–1808.
- [9] GOWRIKUMAR S, AHMAD R, UPPADA S B, et al. Upregulated claudin-1 expression promotes colitis-associated cancer by promoting β -catenin phosphorylation and activation in Notch/p-AKT-dependent manner[J]. *Oncogene*, 2019, 38(26): 5321–5337.
- [10] 甄建华, 黄光瑞. 溃疡性结肠炎中医病名、病因、病机的古今比较和回顾[J]. *环球中医药*, 2019, 12(8): 1286–1289.
- [11] 陈锦团, 柯晓, 傅肖岩, 等. 清化湿热为主治疗湿热型溃疡性结肠炎的临床研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2009, 17(4): 256–258.
- [12] 安静, 李晓宁, 赵博琛, 等. 当归超临界提取物对 AOM/DSS 诱导的小鼠炎症相关性结肠癌的化学预防作用[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(7): 1265–1269.
- [13] OH N S, LEE J Y, KIM Y T, et al. Cancer-protective effect of a synbiotic combination between *Lactobacillus gasseri* 505 and a *Cudrania tricuspidata* leaf extract on colitis-associated colorectal cancer[J]. *Gut Microbes*, 2020, 12(1): 1785803.
- [14] 阮叶萍. 药理学实验[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2022: 137.
- [15] TAJASUWAN L, KETTAWAN A, RUNGRUANG T, et al. Inhibitory effect of dietary defatted rice bran in an AOM/DSS-induced colitis-associated colorectal cancer experimental animal model[J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3488.
- [16] LUO X, ZHENG Y, BAO Y R, et al. Potential effects of fructus aurantii ethanol extracts against colitis-associated carcinogenesis through coordination of Notch/NF- κ B/IL-1 signaling pathways[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 152: 113278.
- [17] 张娇娇, 张帆, 余星星, 等. 溃疡性结肠炎发病机制及中西医治疗研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23(1): 70–74.
- [18] AL-BAWARDY B, SHIVASHANKAR R, PROCTOR D D. Novel and emerging therapies for inflammatory bowel disease[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 651415.
- [19] 王奇瑞, 邵菁. 中药方剂通过维持肠道菌群稳态治疗炎症性肠病的最新进展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(22): 5997–6004.
- [20] 田琳, 林翠丽, 孙月明, 等. 从湿热理论辨析炎-癌转化机制[J]. *北京中医药大学学报*, 2021, 44(3): 215–220.
- [21] 袁嘉嘉. “炎-癌转化”的病因病机及防治策略研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [22] 张歆, 方文怡. 清化肠饮联合灌肠Ⅲ号方治疗湿热型溃疡性结肠炎 33 例[J]. *福建中医药*, 2018, 49(4): 10–12.
- [23] 苗晋鑫, 宋韶鹤, 李秀敏. 结直肠癌小鼠模型研究进展[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(2): 267–272.
- [24] SCHEPELMANN M, KUPPER N, GUSHCHINA V, et al. AOM/DSS induced colitis-associated colorectal cancer in 14-month-old female balb/C and C57/Bl6 mice—a pilot study[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9): 5278.
- [25] KE X, HU G H, FANG W Y, et al. Qing Hua Chang Yin inhibits the LPS-induced activation of the IL-6/STAT3 signaling pathway in human intestinal Caco-2 cells[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, 35(4): 1133–1137.
- [26] VANCAMELBEKE M, VERMEIRE S. The intestinal barrier: A fundamental role in health and disease[J]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2017, 11(9): 821–834.
- [27] 娄文静, 刘冬妍. 肠道紧密连接跨膜蛋白研究进展[J]. *实用药物与临床*, 2019, 22(11): 1214–1219.
- [28] LONG A G, LUNDSMITH E T, HAMILTON K E. Inflammation and colorectal cancer[J]. *Current Colorectal Cancer Reports*, 2017, 13(4): 341–351.
- [29] 金秀盈, 张建东, 仲立新. 紧密连接蛋白 1 和血管内皮生长因子 C 在结肠癌组织中的表达及其意义[J]. *中国肛肠病杂志*, 2022, 42(11): 5–7.
- [30] ZHU L G, HAN J, LI L, et al. Claudin family participates in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases and colitis-associated colorectal cancer[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1441.
- [31] GOWRIKUMAR S, PRIMEAUX M, PRAVOVEROV K, et al. A claudin-based molecular signature identifies high-risk, chemoresistant colorectal cancer patients[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2211.
- [32] 李倩倩, 陈沉, 刘晓涵, 等. 纤维素对结直肠癌小鼠肠道屏障功能及炎症指标影响[J]. *青岛大学学报(医学版)*, 2021, 57(3): 445–449.
- [33] ZHU D H, ZHOU J P, ZHAO J B, et al. ZC3H13 suppresses colorectal cancer proliferation and invasion via inactivating Ras-ERK signaling[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(6): 8899–8907.
- [34] FANG W Y, ZHAO P L, SHEN A L, et al. Effects of Qing Hua Chang Yin on lipopolysaccharide-induced intestinal epithelial tight junction injury in Caco-2 cells[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2021, 23(3): 205.