

姜黄素对模型大鼠肠粘膜炎症因子的调控

炎症性肠病发病机理尚在探索中,目前认为是一种自身免疫性疾病,临床上主要表现为溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),两者统称为炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),均在病理组织学上表现为肠道粘膜炎症。肠粘膜炎症与环境因素、遗传因素、免疫因素等因素相关。其中细胞因子在IBD肠道炎症反应和粘膜免疫反应中起重要作用, Th1/Th2型细胞因子平衡是肠道粘膜免疫要素,以细胞因子为线索针对粘膜炎症的研究,为IBD的防治筛选靶向药物。IBD在欧美等西方国家发病率高,亚洲国家发病率也逐年上升。目前多数临床上应用的IBD药物及治疗措施存在疗效欠佳及副作用等缺陷。寻找新的特异性针对炎症连锁反应关键步骤,调控致炎与抗炎细胞因子之间的平衡的治疗措施,供IBD患者的临床应用甚为必要。学者渴求筛选出高效低毒的天然抗炎药物。姜黄素具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化和调节免疫功能。姜黄素的多效作用归功于转录因子核因子- κ B(NF- κ B)。而NF- κ B是一种调控各种炎症细胞因子、趋化因子、粘附因子的核转录因子[1][2]。它可连结基因的启动子区域,参与炎症因子的转录的调控[3]。研究表明,姜黄素可能通过阻碍NF- κ B诱导激酶和I κ B激酶上游的通道信号而发挥其对下游基因的调控作用[4]。本研究利用TNBS诱导大鼠肠炎模型,以炎症因子为药物靶点,探索姜黄素对IBD相关炎症细胞因子的调控,分析姜黄素对肠炎模型大鼠病理组织学症状的变化,从而推断姜黄素对IBD的应用前景。

1 材料与方法

1.1 动物和分组

实验中采用10至12周龄雄性SPF级的Wistar大鼠150只, 体重200~250 g。所有的大鼠被喂养在南方医科大学动物实验中心清洁屏障的环境中。动物随机分为5组:阴性对照组, 阳性模型组, 药物治疗阳性对照组, 姜黄素预防组, 姜黄素治疗组。

1.2 肠炎模型及给药

采用TNBS诱导大鼠肠道炎症模型。方法是除阴性对照组采用50%乙醇2 ml一剂灌肠外, 其余各组均采用50 mg化学性半抗原药物5%TNBS(Sigma公司)溶于50%乙醇2 ml中快速一剂灌肠。姜黄素(纯度95%)购自英国BDH公司。姜黄素预防组造模前3 d给2.0%姜黄素饲料(第4组, 2.0% CUR-P), 姜黄素治疗组则造模后立即给2.0%姜黄素饲料(第5组, 2.0% CUR-A)。药物阳性对照组造模前3天给0.5%柳氮磺胺吡啶饲料(第3组, 0.5% SASP)。50%乙醇阴性对照组(第1组, 50%ETHA)和阳性模型组(第2组, 5% TNBS)均给予普通饲料。造模2周后处死所有的大鼠。

1.3 组织学分析

病理组织学分析, 大鼠肠粘膜组织采用10%福尔马林固定, 石蜡包埋组织切片用普通HE染色, 并进行组织学评级[5]: 0级, 粘膜无明显炎症; I级, 粘膜有明显水肿, 轻度白细胞浸润; II级, 粘膜炎症明显, 白细胞浸润增多; III级, 白细胞聚集, 腺体破坏; IV级, 粘膜溃烂, 组织结构明显破坏。

1.4 NF- κ B活性分析

肠粘膜细胞核蛋白提取按核提取试剂盒方法(Active Motif 公司), 提取后的蛋白-80 °C保存。蛋白浓度用Bradford比色法测量。

电泳迁移率改变分析用于检测肠粘膜NF- κ B活性, 10 μ g核蛋白预孵于10 μ l的反应体系[2 ng poly(dI₁₂-dC₁₂)(Sigma 公司), 25% glycerol, 1 mol/L NaCl, 10 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L DTT, 0.2 mol/L Tris-Cl, 10 mmol/L EDTA], 对照组加入1 μ l 200倍竞争NF- κ B的寡核苷酸冷探针, 置室温15 min。之后, 应用25 000~50 000 /min ³²P末端标记的NF- κ B寡核苷酸热探针(5'-AGTTGGGACTTCCAGGC-3'; 3'-CTCCCT GAAAGGTCGGTGA-5'; 上海生工生物工程公司合成)加入反应体系孵30 min。反应体系被加入8%含TBE的聚丙烯酰胺凝胶, 恒电压130 V电泳3 h。干胶和用柯达X光胶片曝光和显影。

1.5 细胞因子mRNA逆转录-聚合酶链式反应分析

IL-1 β 、IL-4和IL-10 mRNA半定量的逆转录-聚合酶链式反应分析, 采用TRIzol反应剂(Invitrogen 公司)从50~100 mg肠粘膜提取总RNA。将1 μ g的RNA置于10 μ l含寡核苷酸逆转录反应系中转录为cDNA然后作PCR。采用Oligo dT引物和M-MuLV进行逆转录(Promega 公司)。进行PCR扩增, 1/4逆转录产物与10 mmol/L的各种寡核苷酸作为引物。变性95 °C 5 min, 变性94 °C 30 s, 退火47 °C 45 s, 72 °C 1 min进行30个循环, 再延伸72 °C 5 min。引物如下, 用于检测cDNA的质量, GAPDH 上游: 5'-ACCACAGTC CATGCCATCAC-3', GAPDH 下游: 5'-TCCACCACC CTGTTGCTGTA-3' (452 bp); IL-1 β 上游: 5'-CTTCTT CTTGGGTATTGTT-3', IL-1 β 下游: 5'-CCTCTGTGA CTCGTGGGA-3' (325 bp); IL-4上游: 5'-GAGCGTGG ACTCATTCA-3', IL-4下游: 5'-TTGCT GTCACCCTG TTC-3' (344 bp); IL-10上游: 5'-GCAGA CAAACAA TACGC-3', IL-10下游: 5'-ACTTGCCCTCA TCCC-3' (264 bp)。取1/10的扩增产物在1%TBE琼脂糖胶用溴化乙啶显影。

1.6 统计学分析

大鼠体重采用标准误差统计。大鼠组织学评分的统计用两独立样本非参数检验, P<0.05, 有显著性差异。全部数据由统计SPSS. 10.0完成。

2 结果

2.1 姜黄素对肠炎模型大鼠体质量的影响

如表1所示, TNBS诱导肠炎模型组大鼠体质量明显下降(2 d后下降15%), 从第6 天开始渐回升, 但在2 周之内恢复不到原体质量。50%乙醇阴性对照组大鼠体质量没有下降, 2 周内体质量上升至原体质量的113. 3%。所有给药组, 大鼠体质量从第2 天开始恢复, 在第 2~14 天体质量明显增。50%乙醇组大鼠体质量明显高于其他组($P<0.05$)。5%TNBS模型组大鼠体质量明显低于其他组($P<0.05$)。3个用药处理组间大鼠体质量没有显著差异($P>0.05$)。

表 1 TNBS 诱导肠炎大鼠体质量的变化(g, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 Changes of body weight of rats with TNBS-induced colitis(g, $Mean\pm SD$)

| Days | 50% ETHA group | 5%TNBS group | 0.5% SASP group | 2.0% CUR-P group | 2.0% CUR-A group |
|------|----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|
| 0 | 225.83±14.60* | 221.63±10.30** | 226.40±13.66 | 223.60±9.85 | 226.23±13.07 |
| 2 | 225.70±15.32* | 188.41±9.89** | 205.48±13.05 | 203.60±10.88 | 205.76±12.90 |
| 4 | 230.90±15.23* | 187.24±10.09** | 208.25±14.15 | 210.86±11.65 | 209.93±13.56 |
| 6 | 237.27±15.59* | 193.00±10.78** | 222.16±15.39 | 222.72±12.22 | 222.85±14.02 |
| 8 | 241.83±15.93* | 204.32±11.21** | 225.96±14.66 | 224.29±11.82 | 226.73±14.16 |
| 10 | 246.07±15.46* | 210.95±9.90** | 229.26±14.68 | 229.86±11.50 | 229.80±13.58 |
| 12 | 249.97±15.99* | 218.05±9.14** | 233.83±14.27 | 231.25±11.13 | 233.75±14.31 |
| 14 | 256.97±16.46* | 218.33±10.02** | 240.70±14.42 | 238.53±11.65 | 240.79±15.05 |

* $P<0.05$, ** $P<0.05$ vs the other groups

2.2 姜黄素对肠炎模型大鼠肠粘膜病理组织学评分的影响

用常规HE染色描述了肠炎模型大鼠肠粘膜病理组织特征如图1。并通过病理组织学评分评价姜黄素对肠炎模型大鼠大肠损伤的疗效, 评分结果见表2。肠炎模型大鼠肠粘膜明显充血水肿, 多量散在小溃疡形成, 组织上皮破损, 炎性渗出, 多量白细胞浸润伴明显组织坏死。姜黄素预防和治疗组大鼠肠粘膜患有炎症, 但病变较轻, 经组织学评分, 炎症明显减轻。在实验中, 0.5% SASP和2.0%姜黄素饲养的3组大鼠组织学评分显著比肠炎模型大鼠低($P<0.05$), 有显著性差异。50%乙醇阴性对照组与肠炎模型组比较($P<0.01$), 有显著性差异。

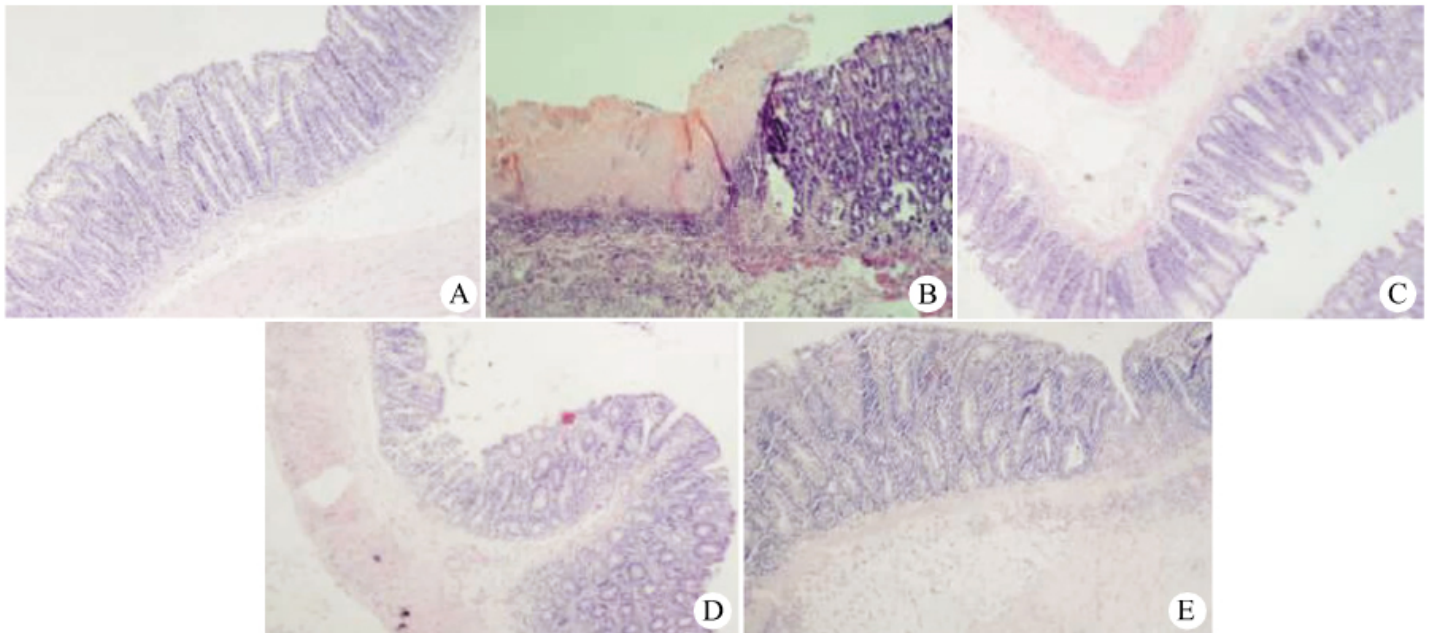


图1 姜黄素对TNBS诱发肠炎大鼠肠粘膜组织学评分的影响(HE染色, 原放大倍数: $\times 40$)

Fig.1 Effects of curcumin on histological scores of rats with TNBS-induced colitis (HE staining, original magnification: $\times 40$)

A: Negative control (50% ETHA) group; B: Model (5% TNBS) group; C: Positive control (0.5% SASP) group; D: 2.0% curcumin prevention group; E: 2.0% curcumin therapy group

表 2 TNBS 肠炎模型大鼠大肠粘膜组织学评分

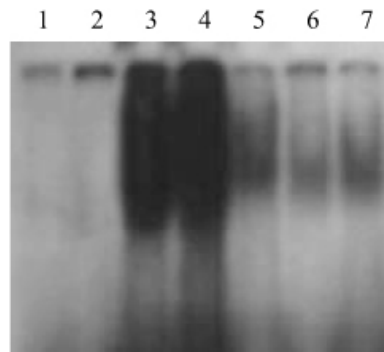
Tab.2 Histological scores of rats with TNBS-induced colitis

| Group | Cases | Histologic scores | | | | |
|------------|-------|-------------------|------|------|-----|-----|
| | | 0 | I | II | III | IV |
| 50%ETHA | 30 | 9* | 17* | 3* | 1* | 0* |
| 5%TNBS | 18 | 0 | 2 | 4 | 5 | 7 |
| 0.5% SASP | 23 | 0** | 6** | 9** | 6** | 2** |
| 2.0% CUR-P | 28 | 1** | 14** | 9** | 3** | 1** |
| 2.0% CUR-A | 24 | 0** | 7** | 10** | 5** | 2** |
| Count | 123 | 10 | 46 | 35 | 20 | 12 |

* $P < 0.01$, ** $P < 0.05$ vs 5%TNBS group

2.3 姜黄素对TNBS诱导肠炎模型大鼠肠粘膜NF- κ B活性的影响

如图2所示,用每个模型鼠肠粘膜细胞核提取物进行电泳迁移率改变分析。第2条带是没有标记的200倍质量的特殊寡核苷酸过度抑制NF- κ B迁移率改变,标志着DNA蛋白组成是特定的,该条带为冷探针对照组,是没有标记的200倍质量的冷探针加入到第3条带的反应体系。第1条带是50%乙醇阴性对照组,肠粘膜核提取物NF- κ B DNA结合活性没有激活。单独应用TNBS造模明显提高肠粘膜核提取物中NF- κ B双链DNA结合活性,见第3、4条带,而应用0.5%SASP和2%姜黄素预防和/或治疗可抑制NF- κ B双链DNA的活性,分别见第5、6、7条带。

图2 姜黄素对TNBS诱导肠炎模型大鼠肠粘膜NF- κ B活性的影响Fig.2 Effects of curcumin on NF- κ B activity in colonic mucosa of rats with TNBS-induced colitis

Lane 1: 50% ETHA group; Lane 2: cold probe control group;
Lanes 3, 4: 5% TNBS group; Lane 5: 0.5% SASP group; Lane 6: curcumin prevention group; Lane 7: 2.0% curcumin therapy group

2.4 姜黄素对肠炎模型大鼠肠粘膜细胞因子表达的影响

采用逆转录-聚合酶链式反应分析,结果如图3所示,与对照组相比,TNBS诱导肠炎模型大鼠的肠组织致炎因子IL-1 β mRNA显著提高。抗炎因子IL-10 mRNA表达比对照组相对低,但两组没有显著差异。姜黄素和SASP治疗可显著抑制IL-1 β mRNA的高表达,而且可显著提高抗炎因子IL-10 mRNA的低表达。IL-4 mRNA在各组均未见表达。

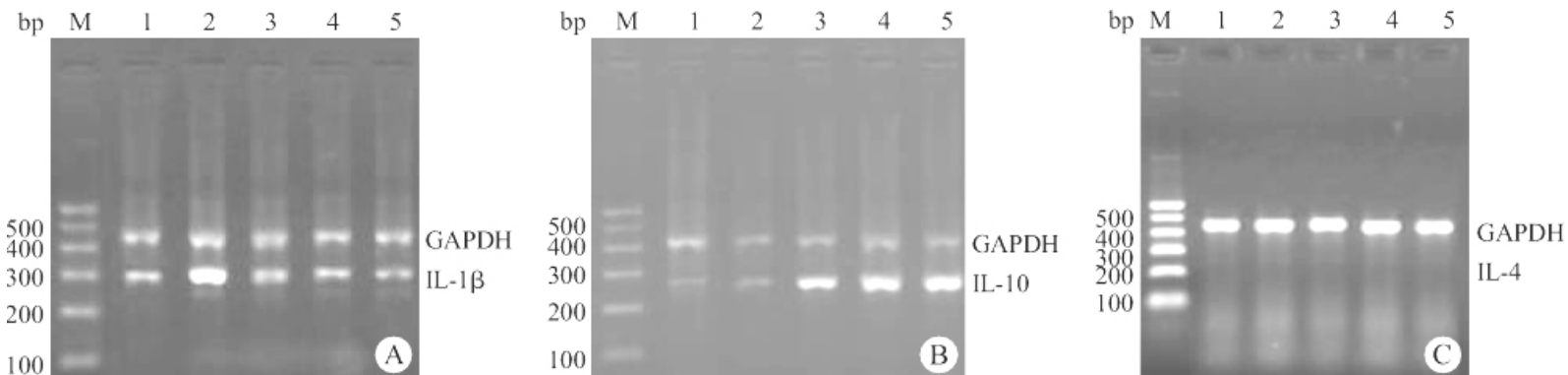


图3 姜黄素对肠炎模型大鼠肠粘膜细胞因子表达的影响

Fig.3 Effects of curcumin on expression of colonic mucosal cytokines in rats with TNBS-induced colitis
A: IL-1 β mRNA; B: IL-10 mRNA; C: IL-4 mRNA. M: DNA marker; Lane 1: 50% ETHA group; Lane 2: 5% TNBS group;
Lane 3: 0.5% SASP group; Lane 4: 2.0% curcumin prevention group; Lane 5: 2.0% curcumin therapy group

肠道粘膜本身是一个重要的免疫器官,在免疫屏障和抗粘膜损伤等方面起着重要的作用。消化道里有很多病毒、细菌和其他潜在的危害抗原物质,这些物质大部分被胃液及消化酶破坏,以原形排出体外,余下的有害物质由于消化道粘膜免疫防御而不致引起病变。

近年来随着免疫生物学、分子免疫学的发展对肠道粘膜免疫功能的认识在飞跃。肠炎的发生是病原或过敏原刺激激活了先天免疫和特异免疫系统的细胞,消化道粘膜存在T辅助细胞亚群(T helper, Th),可以启动针对细胞外致病原的免疫与炎症反应。它主要通过分泌细胞因子和化学趋化因子造成其他类型细胞如中性粒细胞的浸润,直接或间接造成肠上皮细胞的损伤。凋亡相关分子也参与了炎症的调控。这些细胞因子通过信息通道再活化或动员更多的细胞,并进一步分泌更多的因子,形成病原、细胞和因子之间的级联反应。诱导肠道局部的持续炎症。细胞因子是免疫细胞(如单核/巨噬细胞、T细胞、B细胞、NK细胞等)和某些非免疫细胞(如血管内皮细胞、表皮细胞、成纤维细胞等)经刺激而分泌的一类生物活性物质。Th细胞按照其功能分为两个亚型,Th1细胞分泌IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12、IL-18、IL-27、INF- γ 、TNF- α ,属致炎因子,能够调节肠上皮细胞表面受体与功能而导致细胞损伤。Th2细胞分泌的抑炎因子如IL-4和IL-10则可抑制Th1细胞的增殖与功能,同时抑制肠道炎症的发生。Th1/Th2细胞因子平衡(炎症因子平衡)是肠道粘膜免疫要素。

对Th1/Th2细胞因子平衡的调控决定了肠炎的转归。在各种IBD的动物模型(包括TNBS模型)和病人的肠粘膜Th1型免疫反应中,Th1型致炎因子如IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-18、IL-27、TNF- α 和INF- γ 为高表达,Th2型抑炎因子如IL-4、IL-5、IL-10则低水平表达或不表达。抑炎因子TGF- β 、IL-4、IL-10等参与抑制趋化因子的分泌。研究已证实,无论在IBD的动物模型中或者是在病人肠道粘膜免疫中Th1细胞均占优势,在肠粘膜炎症中,多有促炎因子增多和抗炎因子降低,趋化因子激活白细胞表面的整合素提高它们的迁移引起炎症反应。基于上述发现,Th1/Th2细胞失衡在IBD的发生发展中起重要作用。Th1免疫应答为CD,多为巨噬细胞的激活和延迟性过敏反应,以细胞免疫为主。Th2免疫应答为UC,以体液免疫为主。

当发生肠道炎症时,IL-1 β 较其他炎症因子更有明显的优势,IL-1Ra(IL-1受体拮抗剂)与炎症的疾病严重程度无关,但肠粘膜IL1Ra/IL-1比例与炎症程度呈显著负相关。与正常人比较,IBD患者的IL-1Ra mRNA水平和蛋白水平均有所增高,但增高程度远远不及IL-1 α 和IL-1 β 增高明显,这导致炎与抗炎细胞因子的平衡发生了改变。在CD和UC在病变部位的肠粘膜固有层缺乏产生IL-4的淋巴细胞,因此IL-4被认为是抗炎因子。IL-10又称细胞因子合成抑制因子。它能抑制Th1产生IL-2、TNF和INF γ ,也能阻断单核或巨噬细胞产生细胞因子从而限制炎症的发展。IL-10可促进中性粒细胞的凋亡,有利于炎症局部发生慢性肠炎,同时有利于局部对凋亡细胞的清除。

本实验肠炎动物模型诱导剂TNBS是一种化学性半抗原物质,与组织蛋白结合后成为完全抗原,其诱导的肠炎肠粘膜各类炎症介质如PGE2、TXB2、LTB4、6-keto-PGE1 α 、LTC4、PAF和IL发生的变化与人类IBD类似;病理组织学变化表现为节段跳跃性炎症和溃疡,与人类IBD类似。因此本实验采用了该动物模型。在本实验中检测到的IL-1 β 、IL-4和IL-10 mRNA表达与上述国内外学者所报道的是一致的,TNBS模型组IL-1 β mRNA高表达,IL-10 mRNA低表达,IL-4 mRNA不表达,应用姜黄素预防治疗后,明显下调了IL-1 β mRNA及上调了IL-10 mRNA的表达,提示姜黄素对肠道Th1/Th2细胞因子平衡有调控作用,姜黄素的靶点也针对细胞因子,2周模型是炎症急性期,大鼠肠粘膜IL-4 mRNA未检测到,该现象和国内外有关的报道是一致的。

在2001年Hugot、Ogura等[6][7][8]发现炎症性肠病的易感基因,IBD1基因在白细胞中高度表达,它编码一种NOD2蛋白。NOD2是新的NOD1 / Apaf-1家族成员。NOD2 cDNA结构与植物体内的一类参与识别多种微生物成分的疾病抵御蛋白结构相似,N末端 2个半胱-天冬氨酸蛋白酶caspase补充区域(CARD),都是Toll-IL1受体或亮氨酸拉链结构域,中间是核苷酸连接域(NBD)和C-末端富含亮氨酸的10个相连的重复序列(LRRs)组成。这种LRRs胞浆防御蛋白是高度可变的,参与识别多种微生物成分。NOD2的LRRs和细菌的脂多糖连接,通过N-末端caspase重复序列和Rick(一种蛋白激酶)介导激活NF- κ B。NOD2主要表达于单核细胞中,而在淋巴细胞、粒细胞呈低水平表达。NOD2基因的三个位点发生突变导致了炎症性肠病易感性,使IBD患者体内大量合成NOD蛋白,此蛋白可识别细菌胞壁的脂多糖并提呈给单个核细胞表面的CD14和TOLL样蛋白受体(TLRs),它们将信号传递给肿瘤坏死因子受体相关蛋白(TRAF),使之激活转录因子NF- κ B,引起细胞内产生炎症因子的级联放大反应,从而导致炎症性肠病。因此基因的易感性在IBD的发病过程中起了重要的作用。上述可见NF- κ B是参与IBD的发生发展调控的至关重要的转录因子。

既往的观察证明,在UC和CD中NF- κ B是明显激活的[9][10]。过去数十年临床上常用不同的急慢性IBD治疗药物如柳氮磺胺吡啶片、氨基水杨酸、皮质类固醇均是NF- κ B活性的抑制剂。它们往往有类固醇依赖及抵抗、有糖耐量异常、肝功能减退、胰腺炎等等缺点。目前细胞因子的治疗也已进入临床阶段。IL-1 α 能选择性地拮抗IL-1 β 的致炎作用,并有剂量效应[11]。表达IL-4重组人5型腺病毒载体可治疗TNBS诱导的肠炎。细胞因子IL-10治疗IBD效果乐观[12]。也有人应用抗粘附分子单克隆抗体治疗IBD获得较好疗效。98年美国FDA批准抗TNF- α 人-鼠嵌合抗体用于IBD[13]。新近,更有效的IBD治疗策略是应用NF- κ B P65反义寡核苷酸针对性的预防粘膜巨噬细胞和T淋巴细胞对NF- κ B的激活,而NF- κ B调控的基因与内皮细胞的生存有关[14],从而明显改善肠道炎症。但上述的基因免疫治疗远期效果尚待评价,尤其人源单抗和重组细胞因子对人体整个免疫系统有不利因素,加上价格的昂贵均不利于广泛临床应用。

作为一种传统的中药,姜黄素已在起源国家疾病抗炎治疗广泛应用了几百年。研究人员已明确姜黄素通过抑制I κ B的降解而阻断细胞因子诱导的NF- κ B的激活及致炎因子的表达[15]。在NF- κ B信息通路中,NF- κ B受氧自由基的激活,NF- κ B通常也选择性地调节各种炎症细胞因子、趋化因子、粘附因子。在细胞核,NF- κ B二聚体可连结基因的启动子区域,激活与免疫、炎症反应和细胞生长调控有关的基因编码蛋白的转录[16]。

在本实验研究中,证实了姜黄素在TNBS肠炎模型中对NF- κ B有抑制作用,对模型大鼠肠粘膜Th1/Th2细胞因子平衡有调控作用,同时证实了姜黄素可改善模型大鼠肠粘膜病理组织学症状和炎症,进一步探索了IBD发生发展的在相关信息通道中的分子机制,亦初步证明了姜黄素在IBD的应用前景。

(责任编辑:陈望忠)

参考文献:

[1] Kinoshita K, Sato K, Hori M, et al. Decrease in activity of smooth muscle L-type Ca²⁺ channels and its reversal by NF- κ B inhibitors in Crohn's colitis model [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285(3):G483-93.

[2] Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, et al. Canonical pathway of nuclear factor κ B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(15): 5634-9.

[3] Lappas M, Yee K, Permezel M, et al. Sulphasalazine and BAY 11-7082 interfere with the NF- κ B and IKK- β pathway to regulate the release of pro-inflammatory cytokines from human adipose tissue and skeletal muscle, *In Vitro*[J]. *Endocrinology*, 2004, [Epub ahead of print].

[4] Jobin C, Bradham CA, Russo MP, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ B kinase activity[J]. *J Immunol*, 1999, 163(6):3474-83.

[5] Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice[J]. *J Exp Med*, 1995, 182(5): 1281-90.

[6] Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837):599-603.

[7] Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837): 603-6.

[8] Ogura Y, Inohara N, Benito A, et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF- κ B[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4812-8.

[9] Monteleone G, Mann J, Monteleone I, et al. A failure of transforming growth factor- β negative regulation maintains sustained NF- κ B activation in gut inflammation[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(6):3925-32.

[10] Cui HH, Chen CL, Wang JD, et al. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(10): 1521-5.

[11] Ferretti M, Casini Raggi, Vpizarro TT, et al. Neutralization of endogenous IL1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis[J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(1): 449-53.

[12] Bickston SJ, Cominelli F. Recombinant interleukin 10 for the treatment of active Crohn's disease: lessons in biologic therapy[J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(6): 1781-3.

[13] Shibata Y, Taruishi M, Ashida T. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid--colonoscopic and histopathologic studies[J]. *Gastroenterol Jpn*, 1993, 28(4): 518-27.

[14] Dijkstra G, Moshage H, Jansen PL. Blockade of NF- κ B activation and donation of nitric oxide: new treatment options in inflammatory bowel disease[J]? *Scand J Gastroenterol Suppl*, 2002, (236): 37-41.

[15] Jobin C, Bradham CA, Russo MP, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ B kinase activity[J]. *J Immunol*, 1999, 163(6): 3474-83.

[16] Baldwin AS. The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights [J]. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14: 649-83.

参考文献:

[1] Kinoshita K, Sato K, Hori M, et al. Decrease in activity of smooth muscle L-type Ca²⁺ channels and its reversal by NF- κ B inhibitors in Crohn's colitis model [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285(3):G483-93.

[2] Monaco C, Andreakos E, Kiriakidis S, et al. Canonical pathway of nuclear factor κ B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(15): 5634-9.

[3] Lappas M, Yee K, Permezel M, et al. Sulphasalazine and BAY 11-7082 interfere with the NF- κ B and IKK- β pathway to regulate the release of pro-inflammatory cytokines from human adipose tissue and skeletal muscle, *In Vitro*[J]. *Endocrinology*, 2004, [Epub ahead of print].

[4] Jobin C, Bradham CA, Russo MP, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ B kinase activity[J]. *J Immunol*, 1999, 163(6):3474-83.

[5] Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice[J]. *J Exp Med*, 1995, 182(5): 1281-90.

[6] Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837):599-603.

[7] Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837): 603-6.

- [8] Ogura Y, Inohara N, Benito A, et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF- κ B[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4812-8.
- [9] Monteleone G, Mann J, Monteleone I, et al. A failure of transforming growth factor- β negative regulation maintains sustained NF- κ B activation in gut inflammation[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(6):3925-32.
- [10] Cui HH, Chen CL, Wang JD, et al. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(10): 1521-5.
- [11] Ferretti M, Casini Raggi, Vpizarro TT, et al. Neutralization of endogenous IL1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis[J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(1): 449-53.
- [12] Bickston SJ, Cominelli F. Recombinant interleukin 10 for the treatment of active Crohn's disease: lessons in biologic therapy[J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(6): 1781-3.
- [13] Shibata Y, Taruishi M, Ashida T. Experimental ileitis in dogs and colitis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid--colonoscopic and histopathologic studies[J]. *Gastroenterol Jpn*, 1993, 28(4): 518-27.
- [14] Dijkstra G, Moshage H, Jansen PL. Blockade of NF- κ B activation and donation of nitric oxide: new treatment options in inflammatory bowel disease[J]? *Scand J Gastroenterol Suppl*, 2002, (236): 37-41.
- [15] Jobin C, Bradham CA, Russo MP, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ B kinase activity[J]. *J Immunol*, 1999, 163(6): 3474-83.
- [16] Baldwin AS. The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights [J]. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14: 649-83.

[回结果列表](#)