

姜黄素对模型大鼠肠粘膜炎症因子的调控

简燕婷¹, 王继德¹, 麦国丰², 张亚历¹, 赖卓胜¹ (¹南方医科大学南方医院消化研究所, 广东广州 510515; ²江门市卫生局江门市红十字会诊疗所, 广东 江门 529000)

摘要:目的 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)肠道粘膜炎症与转录因子核因子- κ B (NF- κ B)密切相关。本研究探索 NF- κ B 抑制剂姜黄素 IBD 动物模型大鼠大肠粘膜炎症因子调控的机制。筛选 IBD 的靶向治疗药物。方法 建立以 5%三硝基苯磺酸(5%TNBS)诱导的肠炎大鼠模型, 肠炎的大鼠给予含 2.0%的姜黄素饲料, 药物阳性对照组给予含 0.5%柳氮磺胺吡啶(SASP)的饲料, 模型组及阴性对照组给予普通饲料。评价病理组织学评分的变化。应用半定量 RT-PCR检测炎症因子 mRNA 的表达。结果 姜黄素改善肠炎模型大鼠病理组织学症状。姜黄素可显著抑制肠炎模型大鼠肠粘膜致炎因子 IL-1 β mRNA 的高表达, 同时可显著提高抗炎因子 IL-10 mRNA 的低表达, 抗炎因子 IL-4 mRNA 在各组均未见表达。结论 研究显示, NF- κ B 抑制剂姜黄素可调控 IBD 鼠科模型中的炎症因子 IL-1 β mRNA 和 IL-10 mRNA 表达。姜黄素有可能是一种有潜能的 IBD 的靶向药物。

关键词: 炎症性肠病; 鼠科模型; 姜黄素; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2004)12-1353-06

Modulation of intestinal mucosal inflammatory factors by curcumin in rats with colitis

JIAN Yan-ting¹, WANG Ji-de¹, MAI Guo-feng², ZHANG Ya-li¹, LAI Zhuo-sheng¹

¹Institute of Digestive Disease of PLA, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

²Red Cross Dispensary, Jiangmen Public Health Bureau, Jiangmen 529000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of modulation of intestinal mucosal inflammatory factors by curcumin, the inhibitor of the transcriptional factor nuclear factor- κ B (NF- κ B), in rats with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis, and screen for a targeted therapeutic agent for treatment of inflammatory bowel disease (IBD). **Methods** Rats with TNBS-induced colitis were fed with diet containing 2.0% curcumin (treatment group), 0.5% sulfasalazine (SASP, positive control group), and normal diet (model group and negative control group). Changes in colonic mucosal histological scores were evaluated and the cytokine mRNA expressions in the colonic tissue assessed by semiquantitative reverse transcriptional PCR (RT-PCR). **Results** Treatment with curcumin ameliorated the histopathologic signs in rats with TNBS-induced intestinal inflammation. Curcumin and sulfasalazine obviously suppressed the high expression of proinflammatory cytokine interleukin (IL)-1 β mRNA and increased the low expression of IL-10 mRNA in the colonic mucosa. Expression of the anti-inflammatory cytokine IL-4 mRNA was detected in none of the groups. **Conclusions** Curcumin could modulate the expressions of IL-1 β and IL-10 mRNA in murine model of IBD, which suggests the potential of curcumin as a targeted therapeutic agent for IBD.

Key words: inflammatory bowel disease; murine model; curcumin; inflammatory factors

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

收稿日期: 2004-05-19

基金项目: 国家自然科学基金 (30270078); 广东省中医药基金 (1040191)

Supported by National Natural Science Foundation of China (30270078) and Traditional Chinese Medicine Research Foundation of Guangdong Province (1040191)

作者简介: 简燕婷 (1967-), 女, 副教授, 1990 年毕业于广州医学院, 现为南方医科大学南方医院消化内科博士研究生, 电话: 020-61641544, E-mail: jyt821_jyt821@yahoo.com.cn

通讯作者: 张亚历, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: zhangyl@fimmu.com

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,体质量 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,粘膜溃损,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℃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 (dI_dC)(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'-AGTTGGGGACTTTCCAGGC-3'; 3'-CTCCCCT GAAAGGGTCCGTTGA-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℃ 5 min,变性 94℃ 30 s,退火 47℃ 45 s,72℃ 1 min 进行 30 个循环,再延伸 72℃ 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($P>0.05$)。

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。

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

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

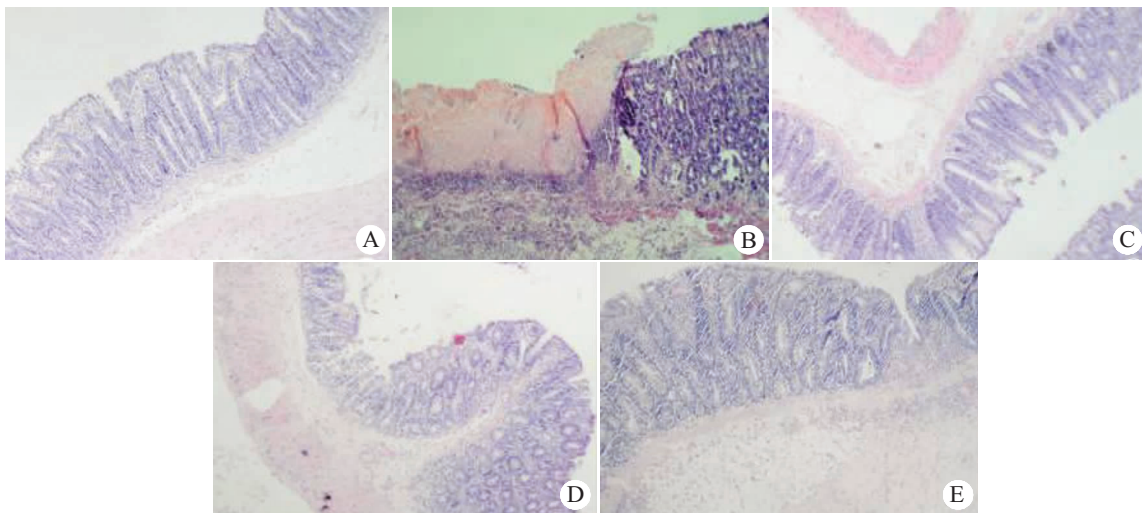


图 1 姜黄素对 TNBS 诱发肠炎大鼠肠粘膜组织学评分的影响(HE 染色,原放大倍数:×40)

Fig.1 Effects of curcumin on histological scores of rats with TNBS-induced colitis (HE staining, original magnification: ×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-κB 双链 DNA 结合活性, 见第 3、4 条带, 而应用 0.5% SASP 和 2% 姜黄素防和治疗可抑制 NF-κB 双链 DNA 的活性, 分别见第 5、6、7 条带。

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-1β 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-1β 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。

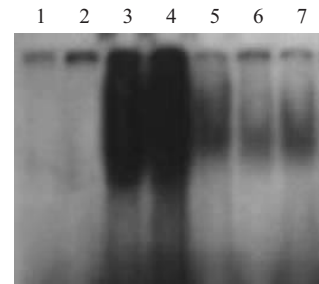


图 2 姜黄素对 TNBS 诱导肠炎模型大鼠肠粘膜 NF-κB 活性的影响

Fig.2 Effects of curcumin on NF-κB 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

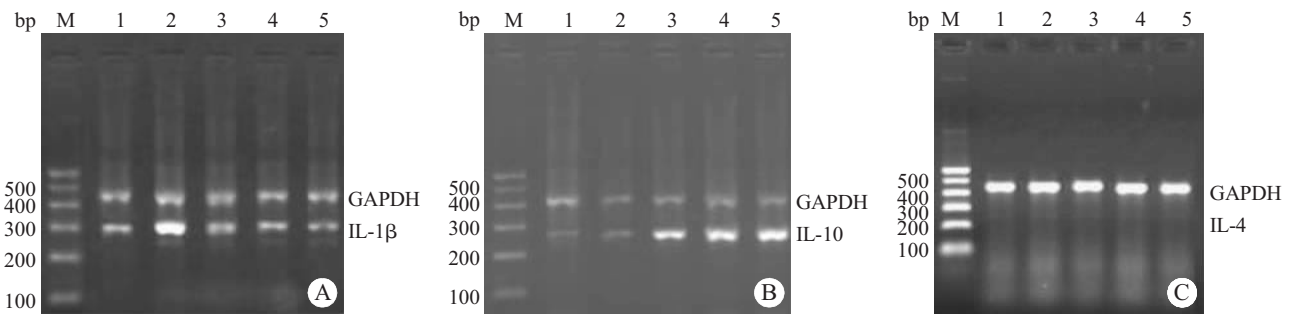


图 3 姜黄素对肠炎模型大鼠肠粘膜细胞因子表达的影响

Fig.3 Effects of curcumin on expression of colonic mucosal cytokines in rats with TNBS-induced colitis

A: IL-1β 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

3 讨论

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、细菌和其他潜在的有害抗原物质, 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-1β、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-1β、IL-6、IL-12、IL-18、IL-27、TNF-α 和 IFN-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 IFN 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^[6-8]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,中间是核苷酸连结域(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性慢性 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炎巨噬细胞和 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。

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-kappaB

- 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 kappa 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-kappa B and IKK-beta 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-kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ appa 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-kappaB [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4812-8.
- [9] Monteleone G, Mann J, Monteleone I, *et al.* A failure of transforming growth factor-beta1 negative regulation maintains sustained NF- κ appaB 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 appaB 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-kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- κ appa 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.

(责任编辑:陈望忠)

(上接 1349 页)

- Huang ZH, Yang WY, Gong XW, *et al.* Killing effect of suicide gene system under control by KDR promoter on human umbilical vein endothelial cells [J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Bao*, 2004, 24(2): 139-43.
- [5] 汤福祥, 郑权, 黄宗海, 等. 应用改进的 AdEasy 系统制备重组腺病毒 [J]. *第一军医大学学报*, 2003, 23(5):501-3.
- Tang TX, Zheng Q, Huang ZH, *et al.* Construction of recombinant adenovirus using modified AdEasy system [J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23(5): 501-3.
- [6] 陈建发, 黄宗海, 俞金龙, 等. 含血管内皮生长因子启动子驱动 TK 自杀基因重组腺病毒的制备及其体外杀伤作用观察 [J]. *第一军医大学学报*, 2004, 24(6): 623-7.
- Chen JF, Huang ZH, Yu JL, *et al.* Construction of recombinant adenoviruses containing cytosine deaminase gene driven by the vascular endothelial growth factor promoter using an AdEsier-1 system [J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2004, 24(6): 623-7.
- [7] Lillo R, Ramirez M, Alvarez A, *et al.* Efficient and nontoxic adenoviral purging method for autologous transplantation in breast cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(17): 5013-8.
- [8] Veldwijk MR, Fruehauf S, Schiedmeier B, *et al.* Differential expression of a recombinant adeno-associated virus 2 vector in human CD34+ cells and breast cancer cells [J]. *Cancer Gene Ther*, 2000, 7(4): 597-604.
- [9] He TC, Zhou S, da Costa LT, *et al.* A simplified system for generating recombinant adenoviruses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(5): 2509-14.
- [10] 王晓侠, 李胜利, 姚小宝, 等. 携带反义热休克蛋白 70 的重组腺病毒载体的构建 [J]. *第三军医大学学报 (Acta Acad Med Mil Tertiae)*, 2004, 26(16): 1481
- [11] Rogulski KR, Kim JH, Kim SH, *et al.* Glioma cells transduced with an *Escherichia coli* CD/HSV-1 TK fusion gene exhibit enhanced metabolic suicide and radiosensitivity [J]. *Hum Gene Ther*, 1997, 8(1):73-85.