

图2 胃癌和癌旁组织中 T-STAR 和 GAPDH 的灰度值比较

关蛋白 T-STAR,并证明两者在胃癌细胞中发生相互作用。T-STAR 是信号转导 RNA 激活蛋白家族的新成员,在细胞生长、增殖、转化中具有重要作用。国外学者研究发现 T-STAR 与细胞跨越增殖危机有十分密切的联系,参与了细胞永生化的过程^[7]。为此,我们对 T-STAR 与胃癌的关系进行了进一步的分析。结果表明 T-STAR 在 4 例正常胃黏膜中有 2 例无表达,2 例呈低度表达,在胃癌细胞株 SGC-7901 中 T-STAR 与 hTERT 均呈高表达,与 Yang 等^[8] 研究结果一致。T-STAR 在胃癌组织中呈异常高表达,显著高于癌旁组织。而且其 mRNA 表达水平与胃癌组织的分化程度相关,在低分化的胃癌组织中 T-STAR 的表达明显高于中分化胃癌,但与性别、年龄无关,与端粒酶在胃癌组织中的表达一致。同时表明,T-STAR 有可能成为检测胃癌的新的标志物,抑或胃癌治疗的新靶点,深入研究 T-STAR 调控端粒酶活性的分子机制将有助于进一步了解端粒酶在胃癌发生过程中的作用,具有十分重要的理论与临床意义。

参考文献

[1] Flores I, Benetti R, Blasco MA. Telomerase regulation and stem cell behaviour. *Curr Opin Cell Biol*. 2006, 18: 254-260.

[2] Bailey SM, Murnane JP. Telomeres, chromosome instability and cancer. *Nucleic Acids Res*. 2006, 34:2408-2417.

[3] Shin JS, Hong A, Solomon MJ, et al. The role of telomeres and telomerase in the pathology of human cancer and aging. *Pathology*, 2006, 38:103-113.

[4] Tabori U, Ma J, Carter M, et al. Human telomere reverse transcriptase expression predicts progression and survival in pediatric intracranial ependymoma. *J Clin Oncol*. 2006, 24: 1522-1528.

[5] Sampedro Camarena F, Cano Serral G, Sampedro Santalo F. Telomerase and telomere dynamics in ageing and cancer: current status and future directions. *Clin Transl Oncol*. 2007, 9: 145-154.

[6] Kawahara R, Odo M, Kinoshita H, et al. Analysis of hTERT mRNA expression in biliary tract and pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2007, 14:189-193.

[7] Kool J, van Zaane W, van der Eb AJ, et al. Down-regulation of T-STAR, a growth inhibitory protein, after SV40-mediated immortalization. *Cell Growth Differ*, 2001,12:535-541.

[8] Yang SM, Fang DC, Luo YH, et al. Alterrations of telomerase activity and terminal restriction fragment in gastric cancer and its premalignant lesions. *J Gastroenterol Hepatol*,2001,16:876-882.

(收稿日期:2009-04-13)

(本文编辑:虹虹鲁)

七味白头翁汤对大鼠实验性全结肠炎的研究

康坤丽 曹勤 郑舜华 江石湖

随着对全结肠炎、炎症性肠病(IBD) 治疗研究的不断深入,发现中医治疗也不失为一种有效的治疗手段^[1]。白头翁汤出自于汉代张仲景的《伤寒论》,由白头翁、黄连、黄柏、秦皮 4 味药物组成,具有清热解暑、凉血止痢之功效。我们在此基础上加上三七、赤芍和甘草组成七味白头翁汤,意在凉血止痢的基础上活血化瘀、缓急止痛。本研究

运用七味白头翁汤干预治疗实验性全结肠炎大鼠,分析致炎因子白细胞介素(IL)-1 β 、核因子(NF)- κ B 和抗炎因子 IL-10 的表达情况,探讨七味白头翁汤治疗 IBD 的作用和相关机制,为临床应用提供依据。

一、材料与与方法

1. 材料: 健康 SD 大鼠 34 只,雄性,清洁级,体重 250~300 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供[动物许可证号: SCXK(沪)2003-0002],饲养于我院动物房[动物实验室许可证号: SYXK(沪)2005-2008]。实验动物经普通饲料适应性喂养 1 周后,分为模型组(9 只)、中药组(9 只)、西药组(9 只)、正常对照组(7 只)。除正常对照组外,其余三组采用经典的三硝基苯磺酸(TNBS, Sigma 公司) + 无水乙醇法制备实验性全结肠炎模型。完成造模 2

DOI:10. 3760/cma. j. issn. 0254-1432. 2009. 06. 018

作者单位:200062 上海中医药大学附属普陀区中心医院消化科(康坤丽、曹勤);上海中医药大学附属曙光医院消化科(郑舜华);上海交通大学医学院附属瑞金医院消化科(江石湖)

通信作者:曹勤,Email: caoqin434@163. com

d 后,造模组各取 2 只大鼠处死,观察其结肠变化,判断造模成功与否。

2. 给药剂量及方法:七味白头翁汤由白头翁 30 g、秦皮 9 g、黄连 5 g、黄柏 12 g、三七粉 3 g、赤芍 12 g、甘草 6 g 组成。水煎,过滤煎液,80 ℃ 水浴浓缩至浓度 100% (每毫升含生药 1 g),高压灭菌消毒,冰箱冷藏保存备用。正常对照组及模型组予 0.9% 氯化钠灌胃。西药组予柳氮磺胺吡啶 (SASP, 上海三维制药有限公司, 国药准字 H31020450) 悬浊液 0.06 g/200 g 灌胃。中药组七味白头翁汤 15 ml/kg 灌胃。从造模后第 3 天至实验结束每天灌胃 1 次,共 2 周。

3. 标本制备:灌胃 2 周后,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。取腹主动脉血,常温放置 1 h,37 ℃ 水浴 5 min,离心后取上清液,-20 ℃ 保存备检。开腹分离结肠,沿肠系膜缘剪开肠腔,冲洗后平铺观察结肠损伤程度,按参考文献[2]的方法进行大体评分,取病变明显处组织 5~10 mm,甲醛固定,石蜡包埋。

4. IL-1 β 、IL-10 检测:待测血清按 ELISA 试剂盒(美国 ADL 公司)说明书进行操作,在紫外分光光度计 450 nm 处检测。

5. NF- κ B 免疫组化染色法:石蜡切片脱蜡、水化,滴加一抗后,按试剂盒说明书常规 SABC 法对本标进行染色,DAB 显色,缓冲液洗涤,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,树脂封片。用 PBS 缓冲液替代一抗作为阴性对照,以细胞质棕黄色染色为阳性。采用图像分析仪,每组分析 7 个标本,每张切片在 250 倍光镜下选取 5 个不重叠的视野计数阳性细胞面积占视野总面积的平均百分率。

6. 统计学处理:使用 SPSS 10.0 统计软件,实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析(ANOVA 检验), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. 结肠大体损伤程度评分:模型组、中药组、西药组的大体评分分别为 3.29 ± 0.49 、 2.00 ± 0.82 、 1.58 ± 0.78 ,中药组、西药组与模型组比较,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05),中药组和西药组间则差异无统计学意义($P>0.05$)。模型组大鼠结肠壁增厚,肠黏膜表面糜烂、溃疡或充血水肿,距肛门 8~10 cm 的肠段处见较大的溃疡病灶,多与周围组织有不同程度的粘连。中药组及西药组用药 2

周后大鼠结肠也出现糜烂、坏死或溃疡,但溃疡面积、肠壁厚度明显小于模型组,与周围组织粘连较少、程度较轻。正常对照组结肠无明显变化,未出现充血、水肿或溃疡。

2. 血清 IL-10 水平测定:模型组 IL-10 水平 [(147.55 ± 15.60) pg/ml] 低于正常对照组 [(285.93 ± 21.65) pg/ml],差异有统计学意义($P<0.01$)。西药组和中药组 IL-10 水平 [分别为 (269.24 ± 37.30) 和 (275.02 ± 34.12) pg/ml] 较模型组 [(147.55 ± 15.60) pg/ml] 明显增高,差异有统计学意义($P<0.01$)。

3. 血清 IL-1 β 浓度测定:中药组、西药组和正常对照组 IL-1 β 水平分别为 (880.20 ± 53.99) 、 (632.67 ± 89.64) 、 (332.81 ± 97.03) pg/ml,明显低于模型组 [(996.40 ± 68.22) pg/ml],差异均有统计学意义(P 值均 <0.01),其中西药组低于中药组($P<0.01$)。

4. 肠黏膜 NF- κ B 染色:模型组大鼠肠黏膜可见大量 NF- κ B 阳性细胞,胞核着色,主要分布于黏膜及黏膜下层。模型组阳性细胞百分率 ($7.74\%\pm 1.90\%$) 高于正常对照组 ($5.36\%\pm 1.13\%$),差异有统计学意义($P<0.01$)。中药组和西药组细胞质中见少量棕黄色染色,阳性细胞百分率分别为 $6.45\%\pm 0.76\%$ 和 $6.14\%\pm 1.02\%$,与模型组比较差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。见图 1。

讨论 IBD 包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,在我国发病率逐年上升。单核细胞和巨噬细胞产生的前炎性细胞因子 IL-1、IL-6 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 在肠道炎症反应调控中具有重要意义。IL-1 β 是介导 IBD 发病的致炎细胞因子之一,通过多种生物学效应,作用于炎症反应发生中的许多环节,IL-1 β 表达水平的升高与 IBD 发生、发展密切相关^[3]。NF- κ B 是肠道慢性炎症反应发病的又一个重要因素,可通过上调肠黏膜中致炎细胞因子表达,加重肠黏膜炎症反应,引起上皮细胞凋亡。糖皮质激素、非甾体类消炎药可通过抑制 NF- κ B 活性发挥作用^[4]。IL-10 是具有多重功效的炎症反应抑制性细胞因子,参与多种免疫反应,其主要的生物学活性是免疫抑制作用。

中医内科临床将 IBD 归属于泄泻、痢疾、便血等范畴,湿热浊邪蕴结肠腑,气血壅滞,肠络脂膜受损,化为脓血。湿热是病之根源,久则累及脾肾,伤气、伤阴、伤阳,加之饮食不慎,复感外邪等,导致本虚标实、寒热错杂。白头翁汤近年用于治疗溃疡性结肠炎颇具疗效。此方中白头翁清

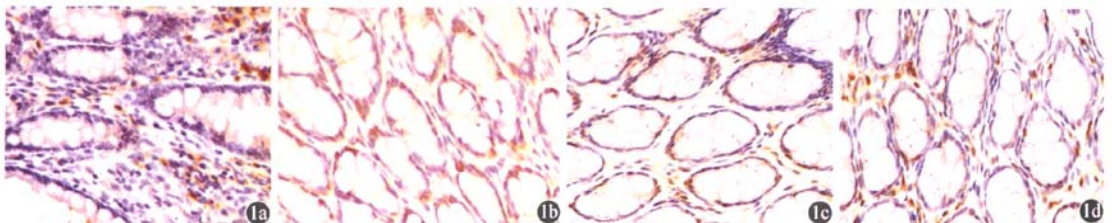


图 1 核因子- κ B 表达 1a 为正常对照组 1b 为模型组 1c 为中药组 1d 为西药组 均为 SABC 法 $\times 400$

热解毒、凉血止痢,秦皮清热凉血止痢,黄连、黄柏清热泻火、解毒止痢,且可坚阴厚肠。四味配合,相须为用,共奏清热解毒、凉血止痢之功。以此为基础方,灵活加减,予三七、赤芍止血、活血化瘀,甘草缓急止痛。标本兼顾,执简驭繁。据现代药理研究,白头翁能抑杀多种细菌、真菌、阿米巴原虫、阴道毛滴虫、流感病毒,有镇静、镇痛、抗痉挛、抗肿瘤及清除羟基自由基、抗衰老作用。现代药理认为黄连、黄柏具有不同程度的免疫抑制作用,其提取物均具有较好的抗炎、抗溃疡作用,黄连同时还具有较强的抗氧化、清除氧自由基的作用。

本研究初步证实七味白头翁汤能有效抑制肠道炎性反应,促进溃疡愈合和肠黏膜修复。七味白头翁汤能通过有效下调 IL-1 β 和 NF- κ B 表达,抑制炎性细胞浸润,上调 IL-10 表达,发挥抗氧化和抗炎作用,减少大鼠结肠炎性反应损伤。肠道脉络瘀阻和湿热蕴毒是 IBD 发病的主要病理因素之一^[5],七味白头翁汤在降低血浆内毒素水平、清热解毒、活血化瘀等抵御 IBD 炎性反应和促进免疫细胞活化环节中发挥了一定的作用。但本研究也显示,七味白头翁汤与西药相比,其炎性反应抑制程度存在差异,运用单方剂治疗存在缺陷。

参 考 文 献

- [1] Kozuch PL, Hanauer SB. Treatment of inflammatory bowel disease; a review of medical therapy. *World J Gastroenterol*, 2008, 14;354-377.
- [2] Reuter BK, Asfaha S, Buret A, et al. Exacerbation of inflammation-associated colonic injury in rat through inhibition of cyclooxygenase-2. *J Clin Invest*, 1996, 98; 2076-2085.
- [3] Sawa Y, Oshitani N, Adachi K, et al. Comprehensive analysis of intestinal cytokine messenger RNA profile by real-time quantitative polymerase chain reaction in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Mol Med*, 2003, 11; 175-179.
- [4] 赵彩彦. 核因子- κ B 与酒精性肝病. *国外医学·消化系疾病分册*, 2002, 22; 230-232.
- [5] 胡鸿毅, 马贵同, 朱凌云, 等. 三七、青黛等对溃疡性结肠炎组织中核因子 NF- κ B 活性的影响. *上海中医药大学学报*, 2007, 21; 44-48.

(收稿日期:2009-02-12)

(本文编辑:杨学文)

《内科理论与实践》出版

由黄定九教授主编, 70 多所医学院校和医疗机构的近 400 名医通力合作编写而成的《内科理论与实践》一书已由上海科学技术出版社于 2009 年 4 月出版, 内科学是临床医学的基础, 是一门重要的理论密切联系实际学科。本书编写即秉着理论与实际紧密结合这一原则, 初始几篇概要性地介绍与内科相关的医学基础知识和基本概念, 如循证医学、预防医学、遗传学、分子生物学、免疫学基础、营养、临床药理学、肿瘤学基础、诊断技术等, 以充实读者的基础理论与知识, 指导临床实践。而后以内科各个学科、专业的疾病为纲目, 在广、深、新三个方面详述其重要内容与最新理论和技术, 并结合作者自身的经验体会, 详细阐述了各种疾病的病因、病理、发病机制、防治原理, 及其与形态、生理、生化、病原学等各学科有关的重要环节, 以期帮助读者提高临床诊治水平, 树立整体观念, 优化处理方法。为使读者的临床思维与时俱进, 在大多数篇章中增加“讨论和近瞻”, 帮助读者看到学术发展的前景, 对教学和科研工作均有所启迪。对于内科与其他临床学科或内科范围各分支专业间的相互关系, 本书专辟篇章论述。全书包含 500 多项基本概念、1800 多种内科及其相关疾病, 内容完整充实、繁简适宜、条分缕析, 俾读者对常见病得窥全豹, 罕见病亦略知梗概。书后列 5000 余索引词条, 极大方便读者查阅。本书定价为 298 元。全国各大新华书店、医药书店均有销售。也可于当当网(www.dangdang.com.cn)、卓越亚马逊网(www.amazon.cn)、易文网(www.ewen.cc), 购买有好礼。如需邮购, 请联系上海科学技术出版社邮购组(上海钦州南路 71 号), 邮政编码:200235; 电话:64089888-80102。