

益生菌 *Faecalibacterium prausnitzii* 联合溃克灵对大鼠结肠炎的预防作用

毋攀锋¹, 李琳², 于成功^{1,3*}

(¹南京中医药大学第一临床医学院中西医结合系, 江苏 南京 210029; ²南京大学医学院附属鼓楼医院病理科, ³消化科, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:探讨益生菌 *Faecalibacterium prausnitzii*(*F. prausnitzii*)联合溃克灵防治炎症性肠病的疗效及作用机制。方法:将 50 只 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 5 组:正常组、模型组、*F. prausnitzii* 组、溃克灵组、*F. prausnitzii* 联合溃克灵组。造模前各组灌胃 1 周(正常组和模型组予生理盐水,其余 3 组给予相应的 *F. prausnitzii* 和溃克灵处理)。采用 2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)法(80 mg/kg TNBS 联合等体积无水乙醇)灌肠复制出结肠炎大鼠模型,3 d 后全部处死,观察结肠组织损伤情况,行结肠组织病理学评分;ELISA 法测定各组大鼠血浆白介素(interleukin, IL)-10、IL-12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、干扰素(interferon, IFN)- γ 水平,计算 IL-10/IL-12 比值;免疫组化检测肠黏膜 IL-10 及 TNF- α 的表达。结果:*F. prausnitzii* 联合溃克灵组与模型组相比,结肠组织损伤明显改善,组织病理学评分显著降低($P < 0.05$),血浆 IL-10、IL-10/IL-12 比值显著升高(P 均 < 0.05),血浆 IL-12、IFN- γ 显著下降($P < 0.05$, $P < 0.001$),血浆 TNF- α 下降但差异无统计学意义,肠黏膜 IL-10 表达明显升高($P < 0.01$),肠黏膜 TNF- α 表达明显降低($P < 0.05$)。与 *F. prausnitzii* 组、溃克灵组相比,*F. prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠结肠组织病理学评分降低,IL-10/IL-12 比值及血浆 IL-10、肠黏膜 IL-10 表达升高,血浆 IL-12、IFN- γ 、TNF- α 及肠黏膜 TNF- α 表达下降,但差异无统计学意义。结论:益生菌 *F. prausnitzii* 联合中药溃克灵对结肠炎大鼠肠黏膜的预防保护作用,可能与促进外周血及肠黏膜 IL-10 分泌从而抑制外周血 IL-12、TNF- α 、IFN- γ 产生、降低肠黏膜 TNF- α 表达等免疫调节机制有关。

[关键词] 炎症性肠病;中药;溃克灵;*Faecalibacterium prausnitzii*;细胞因子

[中图分类号] R574.62

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)09-1079-06

doi:10.7655/NYDXBNS20160911

The preventive effect of *Faecalibacterium prausnitzii* combined with Kuikeling on colitis of rats

Wu Panfeng¹, Li Lin², Yu Chenggong^{1,3*}

(¹Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029; ²Department of pathology, ³Department of Gastroenterology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects and the mechanism of *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) combined with Kuikeling on colitis of rats with inflammatory bowel disease (IBD). **Methods:** A total of 50 rats was randomly divided into 5 groups, which named the normal group, the model group, the Kuikeling group, the *F. prausnitzii* group and the *F. prausnitzii* combined Kuikeling group, respectively. Each group was given medicine by gavage for a week before model establishment (the normal and model group received saline, the other groups received corresponding *F. prausnitzii* and Kuikeling). Colitis model was established by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) method (80 mg/kg TNBS combined with equad volume ethanol). All rat were killed after 3 days, and mucosal lesion area and colon mucosal inflammation were assessed by the colorectal histological damage scores (HDS). Levels of interleukin-10 (IL-10), interleukin-12 (IL-12), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon- γ were detected by ELISA in the plasma, and then we calculated the ratio of IL-10/IL-12. The expressions of IL-10 and TNF- α in the colon mucosal tissues were detected by immunohistochemical (IHC) method. **Results:** Compared with the model group, mucosal lesion area and the colon HDS were significantly decreased ($P < 0.05$), the levels of IL-12 and IFN- γ in the plasma ($P < 0.05$, $P < 0.001$) and the expression of TNF- α in

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81470819)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: chenggong_yu@nju.edu.cn

the colon mucosal tissues ($P < 0.05$) were significantly decreased in *F.prausnitzii* combined Kuikeling group, and the level of TNF- α in the plasma was decreased without statistical significance, the levels of IL-10 in the plasma and the colon mucosal tissues ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and the ratio of IL-10/IL-12 ($P < 0.05$) were significantly increased in the *F.prausnitzii* combined Kuikeling group. Compared with the Kuikeling group and the *F.prausnitzii* group, mucosal lesion area and the colon HDS were decreased, the levels of IL-12, IFN- γ , and TNF- α in the plasma and the expression of TNF- α in the colon mucosal tissues were decreased, the levels of IL-10 in the plasma and the colon mucosal tissues, the ratio of IL-10/IL-12 were increased in the *F.prausnitzii* combined Kuikeling group, but those differences had no statistical significance. **Conclusion:** The preventive and therapeutic effects of *F.prausnitzii* combined Kuikeling is better than single treatment. The immune regulation mechanism may be related to promoting secretion of IL-10 in the plasma and the colon mucosal tissues and decreasing IL-12, TNF- α , IFN- γ levels in the plasma and TNF- α level in the colon mucosal tissues.

[Key words] IBD; traditional Chinese medicine; Kuikeling; *Faecalibacterium prausnitzii*; cytokines

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(09): 1079-1084]

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD), 主要表现为肠道炎症反应, 其病因及发病机制尚不明确, 目前普遍认为该病的发生与环境、免疫、遗传、肠道菌群等多种因素相互作用有关。本病易反复发作, 迁延难愈, 甚至有恶变可能, 严重影响患者的生活质量, 迄今尚无有效治愈方法。近年来随着对 IBD 的深入研究, 益生菌和中药在 IBD 的治疗中受到医学界的广泛关注。益生菌被认为是一种活体微生物, 适当摄入能够对人体健康起到促进作用^[1]; 一些研究也认为益生菌可以灭活状态摄入, 如分离出的细菌 DNA 等^[2]。益生菌有调节和稳定肠道内环境的治疗价值^[1], 对诱导 IBD 症状缓解、维持治疗效果作用显著^[3-4]。Toumi 等^[5]研究发现益生菌可以降低结肠炎小鼠结肠组织中的诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、干扰素 interferon, IFN)- γ 、Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的表达水平, 发挥修复肠黏膜损伤、减少炎症反应的作用。Bellavia 等^[6]研究显示乳酸双歧杆菌可以通过改善肠组织损伤来减轻 2,4,6-三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) 诱导的 IBD 模型小鼠的炎症反应。益生菌可通过抑制炎症或激活体内免疫系统重建宿主肠道微环境, 可作为辅助药物用于 IBD 治疗^[7]。但是一些临床试验表明益生菌对 CD 或结肠袋炎没有明显作用^[8-9], 考虑可能与实验设计等因素相关。中药对 IBD 的免疫调节作用研究也在不断发展, 从中药方剂中发现了许多有抗炎、止泻、黏膜保护、抑制免疫反应等作用的药物, 疗效显著, 不良反应小^[10-12]。

Faecalibacterium prausnitzii (*F. Prausnitzii*) 是一种潜在的益生菌, 属于厚壁菌门, 占粪便细菌总量的 7%, 是肠道中产生丁酸的主要细菌^[13]。Zhang 等^[13]研究

指出 *F. prausnitzii* 及其上清均具有一定的抗炎作用。其机制可能为: *F. Prausnitzii* 可分泌丁酸, 促进 Treg 细胞生成; 可抑制 Th17 细胞产生, 抑制促炎因子分泌; 可调节肠道菌群而抑制肠道炎症反应^[14-16]。也有一些研究报道 *F. prausnitzii* 活菌及其上清可通过调节肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、白介素 (interleukin, IL)-10 表达来减轻肠道肿瘤负荷, 其上清能减少肿瘤发生率^[17]。由于 IBD 病因及发病机制是多方面的, 单一的 *F.prausnitzii* 在 IBD 发生发展及治疗中并不能起关键作用。而中药复方溃克灵具有促进 IL-10 分泌, 抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 等促炎因子产生的作用, 在改善 IBD 症状、减轻肠黏膜损伤上有明显效果^[18-19], 但前期研究发现溃克灵对大鼠 IBD 多在造模 1 周后起效^[18], 其具体作用机制尚不明确。本研究将益生菌 *F.prausnitzii* 与中药复方溃克灵联合使用研究其预防大鼠 IBD 的作用, 探讨其可能的作用机制, 为临床联合用药治疗 IBD 提供更加充分的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

采用 SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠 50 只, 体重 180~220g, 雄性, 由南京大学医学院附属鼓楼医院实验动物中心提供并饲养。

F.prausnitzii (ATCC 27766, 美国模式菌种收集中心); 5%TNBS (P2297, Sigma 公司, 美国); 大鼠 IL-10、IL-12、TNF- α 、IFN- γ 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (上海韵涵生物科技有限公司); 抗大鼠 IL-10、TNF- α 抗体 (Abcam 公司, 英国)。

1.2 方法

1.2.1 灌胃液的制备

配置 *F.prausnitzii* 培养基, 细菌于 37°C 厌氧培

养箱中培养。根据细菌在 600 nm 波长处的吸光度绘制成生长曲线,并结合细菌平板计数,确定细菌浓度;厌氧培养箱培养至对数生长期,取出菌液并离心,PBS 洗涤 2 次后,用 PBS 将浓度调整至 1×10^9 CFU/mL。溃克灵为南京市鼓楼医院消化科原创组方,中药制剂购自江阴天江药业有限公司,95℃水浴浓缩(使每 100 mL 含原药材 18.7 g)。药物制成后,高压灭菌消毒分装,4℃冰箱保存备用。

1.2.2 实验分组与模型建立

大鼠在 SPF 级环境下适应性喂养 5 d,称重编号后随机分为 5 组:正常组、模型组、*F.prausnitzii* 组、溃克灵组、*F.prausnitzii* 联合溃克灵组,每组各 10 只。造模前灌胃 1 周,正常组与模型组予生理盐水各 1 mL,其余 3 组分别予 *F.prausnitzii* 菌液 1 mL、溃克灵 2.24 g/kg、*F.prausnitzii* 菌液 1 mL 联合溃克灵 2.24 g/kg 灌胃,禁食不禁水 24 h 后以 5%TNBS 80 mg/kg 联合等体积无水乙醇灌肠造模。正常组以 0.9% NaCl 溶液 80 mg/kg 联合等体积无水乙醇混合液灌肠作为阴性对照。造模后观察大鼠生存状态,3 d 后处死大鼠,并于造模前、后称重。

1.2.3 标本采集与处理

大鼠处死前抽取腹主动脉血 2 mL 放置于 EDTA 抗凝管中,以 3 000 r/min 离心 20 min,分离上层血浆,-20℃保存待测。截取升结肠至肛门处结肠,测量结肠长度。

1.2.4 细胞因子含量测定、结肠组织病理评分及免疫组化评分

使用 ELISA 试剂盒及免疫组化检测细胞因子含量及表达,严格按照试剂盒说明书操作;大鼠处死后取出结肠,用体式显微镜观察大体损伤,沿结肠纵轴剪开肠腔,留取病变最明显处,正常对照组留取组织在直肠与乙状结肠交界处。结肠组织在中性甲醛液中固定 24 h,作 HE 染色。参照 Neurath 的积分标准进行组织学损伤评分^[20]:0 分为无炎症;1 分为很少量粒细胞浸润;2 分少量炎性细胞浸润;3 分为大量炎性细胞浸润,血管增多,结肠壁增厚;4 分为透壁性炎症,杯状细胞减少,血管增多,结肠壁增厚。免疫组化结果按照免疫反应积分打分法(IRS)稍作修改^[21]。400 倍镜下观察 5 个视野,阳性细胞百分比(PP):阳性染色区域 $\leq 5\%$ 记 0 分,阳性区域 $>5\% \sim 25\%$ 记 1 分,阳性区域 $>25\% \sim 50\%$ 记 2 分,阳性区域 $>50\% \sim 75\%$ 记 3 分,阳性染色区域 $>75\%$ 记 4 分。细胞染色强度(SI):0 分为未见阳性细胞,1 分为细胞阳性染色最强处呈现弱阳性,2 分为阳性,3 分为可

见强阳性染色的细胞。SI \times PP 为免疫组化结果得分。

1.3 统计学方法

所有数据应用 SPSS20.0 软件统计,所得数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 Shapiro-Wilk 法行正态检验,并进行方差齐性检验。若符合正态分布且方差齐,则采用单因素方差分析(ANOVA)和 LSD-*t* 检验两两比较各组间的差异;若不符合正态分布,则采用非参数检验分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后大鼠的一般状况

各组大鼠灌肠后当日未发现便血、死亡,给予饲料后能进食。造模后第 1 天各组大鼠出现稀水样大便,无血便,大便次数增多,肛门周围毛皮污染重。造模后第 2 天,模型组、*F.prausnitzii* 组、溃克灵组、*F.prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠出现进食进水及活动减少,毛色失去光泽,身体蜷缩,反应迟缓、懒动,体重下降,稀水样大便次数增多,其中模型组可见血便。造模后第 3 天,模型组大鼠体重明显下降,血便增多且夹杂黏液;*F.prausnitzii* 组、溃克灵组、*F.prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠可见腹泻次数减少,无血便,部分大鼠进食进水增加,其中,*F.prausnitzii* 联合溃克灵组最为明显,可见大便稍成形,多为黄色半稀便,活动增加,体重下降缓慢甚至有所增长。造模后第 3 天,模型组、*F.prausnitzii* 组、溃克灵组各死亡 1 只。

2.2 大鼠体重、结肠长度变化和组织病理学评分

各干预组大鼠体重及结肠长度较正常组均下降,以模型组最明显,*F.prausnitzii* 联合溃克灵组下降最少;与模型组相比,*F.prausnitzii* 联合溃克灵组 Neurath 评分明显降低,体重、结肠长度下降最少,差异有统计学意义,与溃克灵组及 *F.prausnitzii* 组相比,有趋势但无统计学意义(表 1)。

2.3 各组大鼠血浆细胞因子水平变化

相对于模型组大鼠,其余各组大鼠血浆 IL-10 水平、IL-10/IL-12 比值明显升高,差异有统计学意义,其中以 *F.prausnitzii* 联合溃克灵效果最为显著,差异有统计学意义;正常组、*F.prausnitzii* 联合溃克灵组血浆 IL-12 水平较模型组低,差异有统计学意义,其余各组较模型组差异无统计学意义;正常组、*F.prausnitzii* 联合溃克灵组、溃克灵组血浆 IFN- γ 水平明显低于模型组,差异有统计学意义;与模型组相比,正常组 TNF- α 水平较低,差异有统计学意义,其余

各组血浆 TNF-α 水平有所下降,但差异无统计学意义;与溃克灵组和 *F.prausnitzii* 联合溃克灵组血浆 IL-12、TNF-α、IFN-γ 水平显著下降,血浆 IL-10 水平上升,但差异无统计学意义(表 2)。

2.4 各组大鼠肠黏膜 IL-10 和 TNF-α 的表达

相对于模型组, *F.prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠肠黏膜 IL-10 表达显著升高,差异有统计学意义,其余各预防用药组无统计学意义;相对于溃克灵组及 *F.prausnitzii* 组, *F.prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠肠黏膜 IL-10 表达升高,但差异无统计学意义。相对于模型组,各预防用药组肠黏膜 TNF-α 表达显著下降,差异均有统计学意义;相对于溃克灵组和 *F.prausnitzii* 组, *F.prausnitzii* 联合溃克灵组大鼠肠黏膜 TNF-α 表达降低,但差异无统计学意义(图 1)。

3 讨论

IBD 发病机制目前尚不明确,免疫反应异常在 IBD 发病中具有极为重要的作用,并可能与 IBD 严重程度相关^[22]。Th1/Th2、促炎因子与抗炎因子间平衡失调是肠黏膜异常免疫反应的重要环节。本研究主要观察细胞因子 IL-10、IL-12、IFN-γ、TNF-α 在实验性大鼠 IBD 模型血浆及肠黏膜的含量与表达情况,由此探讨 *F.prausnitzii* 联合溃克灵治疗大鼠 IBD 的具体机制。

IL-10 是一种多效抑炎细胞因子,由 T 细胞、B 细胞、单核细胞、巨噬细胞及树突状细胞等合成,主要通过抑制 IFN-γ 导致的 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8 等促炎细胞因子的释放及调节免疫反应发挥功能^[23],介导

Th1 和 Th2 两类细胞之间的相互调节。IL-10 减少或敲除可加重促炎细胞因子对肠黏膜的损害,导致肠道免疫反应及炎症反应^[24-26]。IL-12、TNF-α、IFN-γ 属于促炎细胞因子。IL-12 是机体抵抗病原微生物时由树突状细胞、巨噬细胞和 B 细胞产生的促炎细胞因子。T 细胞刺激抗原提呈细胞(APC)产生 IL-12,而 IL-12 诱导 IFN-γ 的产生并促进 Th1 分化,形成正反馈。普遍认为 IL-12 因为能促进 CD4⁺T 细胞分化为 Th1 细胞而促进肠道炎症反应^[27]。TNF-α 是一种多功能促炎细胞因子和炎症介质,在 IBD 发生和免疫调节中起关键作用。多项研究表明 IBD 患者的血清、肠黏膜、粪便中可发现 TNF-α 表达增加^[28-29], TNF-α 的抗体如英利昔单抗可减轻 Th1 免疫反应,使 CD 患者达到临床和内镜下的愈合,说明 TNF-α 在肠道炎症反应中的重要地位。IFN-γ 由 Th1 细胞和 NK 细胞产生,能增强 Th1 细胞的活性,通过介导细胞免疫等多种途径诱发炎症反应。孟晓弘等^[30]实验证明 CD 和 UC 患者血清 IFN-γ 水平均较对照组显著升高,说明 IBD 的发生发展和 IFN-γ 水平的升高相关。IL-10、IL-12、IFN-γ、TNF-α 相互协同、相互拮抗。IL-10 可下调 IL-12、IFN-γ、TNF-α 表达水平,抑制肠道免疫反应和炎症反应。本研究 TNBS 诱导的 IBD 大鼠肠道黏膜出现明显炎症反应,较正常组相比,血清 IL-12、IFN-γ、TNF-α 水平明显升高,IL-10 显著下降。充分说明 IL-12、IFN-γ、TNF-α 相互协同促进肠道炎症反应,与 IBD 严重程度呈正相关;IL-10 抑制肠道炎症反应,与 IBD 的严重程度呈负相关。

表 1 各组大鼠体重、结肠长度变化和组织病理学评分

Table 1 Body weight, colon length and histopathologic damage score in each group (x̄ ± s)

组别	体重变化(%)	结肠长度(cm)	Neurath 评分(分)
正常组(n=10)	13.13 ± 5.14**	17.37 ± 1.78**	0.40 ± 0.69**
模型组(n=9)	-7.13 ± 3.43	14.43 ± 1.77	3.89 ± 0.33
<i>F.prausnitzii</i> 组(n=9)	-4.12 ± 4.10	15.28 ± 1.97	3.44 ± 0.73
溃克灵组(n=9)	-6.00 ± 2.69	15.26 ± 1.28	3.11 ± 1.05*
<i>F.prausnitzii</i> 联合溃克灵组(n=10)	-1.87 ± 6.57*	15.60 ± 1.02*	3.10 ± 0.74*

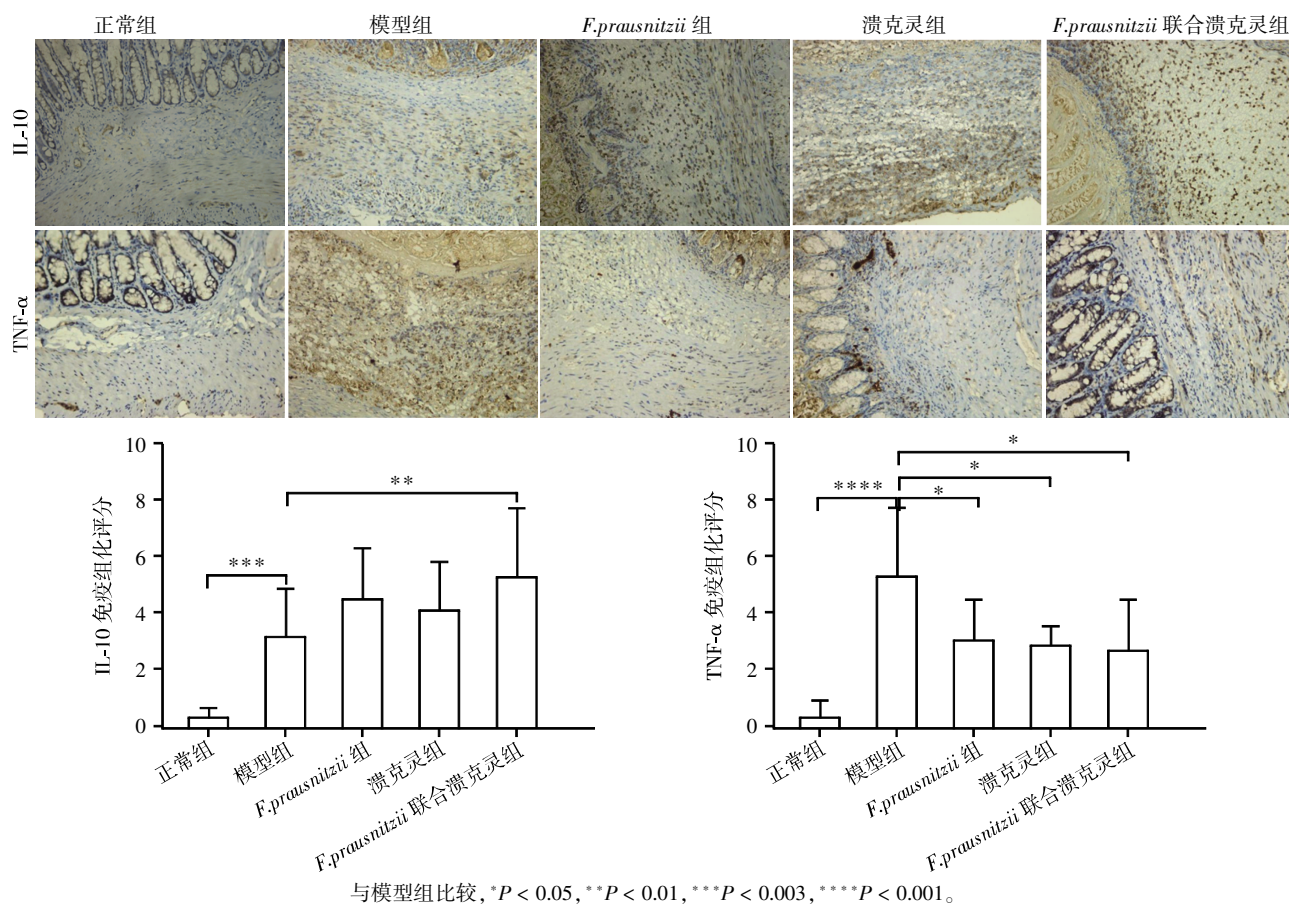
与模型组相比,*P < 0.05,**P < 0.01。

表 2 各组大鼠血浆细胞因子水平比较

Table 2 Comparison of plasma cytokines levels in each group (x̄ ± s)

组别	IL-10(pg/mL)	IL-12(pg/mL)	IL-10/IL-12 比值	IFN-γ(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
正常组(n=10)	26.34 ± 8.57****	15.17 ± 5.66*	1.83 ± 0.60***	25.84 ± 7.74****	109.88 ± 27.08*
模型组(n=9)	8.60 ± 5.81	23.04 ± 5.26	0.42 ± 0.32	49.00 ± 14.03	135.06 ± 20.44
<i>F.prausnitzii</i> 组(n=9)	24.35 ± 9.64****	17.76 ± 7.24	1.77 ± 1.45**	38.63 ± 15.49	127.45 ± 33.70
溃克灵组(n=9)	22.07 ± 9.45****	19.78 ± 6.56	1.33 ± 0.87*	34.75 ± 11.28*	133.88 ± 26.93
<i>F.prausnitzii</i> 联合溃克灵组(n=10)	25.32 ± 9.78****	15.03 ± 6.24*	1.94 ± 0.99***	28.67 ± 7.05***	113.15 ± 32.29

与模型组相比,*P < 0.05,**P < 0.01,***P < 0.003,****P < 0.001。



与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.003$, **** $P < 0.001$ 。

图 1 各组大鼠结肠黏膜 IL-10、TNF- α 表达 (IHC, $\times 400$)

Figure 1 Expression of IL-10 and TNF- α in the colon mucosal tissues in each group (IHC, $\times 400$)

西医临床治疗 IBD 的常用药物包括水杨酸类制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂、抗菌药物等,但不良反应较多。*F.prausnitzii* 是新发现的一种肠道厌氧共生菌,*F.prausnitzii* 活菌和上清均可减轻 UC 炎症,但 *F.prausnitzii* 活菌作用不如上清^[15]。中药复方溃克灵以猴头菌、土茯苓为君药,以马齿苋、黄连、败酱草、地榆为臣药,配以苍术、厚朴、白芍、槐花等为佐使药按特定剂量比例组成。全方具有抗炎止痛、抗菌止血、抗溃疡调节肠道免疫的作用。本研究结果发现 *F.prausnitzii* 联合溃克灵可有效改善 IBD 大鼠的营养状况,增加体重,修复受损肠黏膜,降低肠组织病理学 Neurath 评分;可显著促进结肠黏膜及血浆 IL-10 高表达,血浆 IL-12、IFN- γ 及肠黏膜 TNF- α 低表达,各预防用药组 IL-10/IL-12 比值明显升高,*F.prausnitzii* 联合溃克灵 IL-10/IL-12 比值最大,提示 *F.prausnitzii*、溃克灵可通过免疫调节作用减轻肠道炎症,与前期实验结果相符,为 IBD 治疗提供了一个新策略。*F.prausnitzii* 联合溃克灵组防治 IBD 的作用优于溃克灵组、*F.prausnitzii* 组,但效果不甚明显,可能是由于本研究实验周期短而中药起效缓慢所

致,需在以后延长实验周期以弥补实验设计的不足;*F.prausnitzii* 作为益生菌目前尚在实验阶段,其不良反应及是否可用于临床还有待验证,中药溃克灵成分复杂,其药理作用尚不清楚,二者联合使用治疗 IBD 时用法(用时、用量)及可能的机制还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Tanabe S. The effect of probiotics and gut microbiota on Th17 cells[J]. Int Rev Immunol,2013,32(5-6):511-525
- [2] Heuvelin E,Lebreton C,Granette C,et al. Mechanisms involved in alleviation of intestinal inflammation by bifidobacterium breve soluble factors[J]. PLoS One, 2009,4 (4):e5184
- [3] Chen LL,Zou YY,Lu FG,et al. Efficacy profiles for different concentrations of *Lactobacillus acidophilus* in experimental colitis[J]. World J Gastroenterol,2013,19(32):5347-5356
- [4] Zocco MA,dal Verme LZ,Cremonini F,et al. Efficacy of *Lactobacillus GG* in maintaining remission of ulcerative colitis[J]. Aliment Pharmacol Ther,2006,23(11):1567-1574
- [5] Toumi R,Soufli I,Rafa H,et al. Probiotic *bacteria lacto-*

- bacillus* and bifidobacterium attenuate inflammation in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*,2014,27(4): 615-627
- [6] Bellavia M,Rappa F,Lo Bello M,et al. *Lactobacillus casei* and bifidobacterium lactis supplementation reduces tissue damage of intestinal mucosa and liver after 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid treatment in mice[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*,2014,28(2):251-261
- [7] Benjamin JL,Hedin CR,Koutsoumpas A,et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructooligosaccharides in active Crohn's disease[J]. *Gut*,2011,60(7):923-929
- [8] Schultz M,Timmer A,Herfarth HH,et al. *Lactobacillus GG* in inducing and maintaining remission of Crohn's disease [J]. *BMC Gastroenterol*,2004,4:5
- [9] Van Gossom A,Dewit O,Louis E,et al. Multicenter randomized-controlled clinical trial of probiotics(*Lactobacillus johnsonii*,*LAI*) on early endoscopic recurrence of Crohn's disease after ileo-caecal resection [J]. *Inflamm Bowel Dis*,2007,13(2):135-142
- [10] Hao Y,Nagase K,Hori K,et al. Ameliorates experimental colitis in rats by selectively degrading proinflammatory mediators and promoting mucosal repair[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2014,2014:569-587
- [11] Fukunaga K,Ohda Y,Hida N,et al. Placebo controlled evaluation of Xilei San,a herbal preparation in patients with intractable ulcerative proctitis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2012,27(12):1808-1815
- [12] Yan F,Wang L,Shi Y,et al. Berberine promotes recovery of colitis and inhibits inflammatory responses in colonic macrophages and epithelial cells in DSS-treated mice[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*,2012,302(5): G504-G514
- [13] Zhang M,Qiu X,Zhang H,et al. *Faecalibacterium prausnitzii* inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats[J]. *PLoS One*,2014,9(10):e109146-e109156
- [14] Sokol H,Pigneur B,Watterlot L,et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2008,105(43): 16731-16736
- [15] 黄晓丽,张新,费先艳,等. 普拉梭菌上清对葡聚糖酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠 Th17 细胞及 IL-17A 的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*,2015,40(12):1320-1326
- [16] Qiu X,Zhang M,Yang X,et al. *Faecalibacterium prausnitzii* upregulates regulatory T cells and anti-inflammatory cytokines in treating TNBS-induced colitis [J]. 2013,7(11):e558-e568
- [17] 谢丽娟,卢学嘉,于成功. *Faecalibacterium prausnitzii* 在结肠炎相关结直肠癌发生中的作用[J]. *胃肠病学*, 2015,20(9):517-522
- [18] 龚黎,于成功,杨珺. 中药预处理对结肠炎模型大鼠的免疫调节效应[J]. *胃肠病学*,2008,13(6):364-367
- [19] 周红光,陈海彬,徐肇敏,等. 溃克灵对溃疡性结肠炎模型大鼠血清 IL-8 含量的影响[J]. *南京医科大学报(自然科学版)*,2009,29(4):488-490
- [20] Neurath MF,Fuss I,Kelsall BL,et al. Antibodies to interleukin-12 abrogate established experimental colitis in mice[J]. *J Experi Med*,1995,182(5):1281-1290
- [21] Wu Y,Guo Z,Liu Y,et al. Oct4 and the small molecule inhibitor, SC1, regulates Tet2 expression in mouse embryonic stem cells [J]. *Mol Biol Rep*,2013,40(4):2897-2906
- [22] 樊星,翁谢川,丁日高. 细胞因子在炎症性肠病中作用机制的研究进展[J]. *国际免疫学杂志*,2012,35(6): 422-425
- [23] 何小华,陈建勇. 炎症性肠病发病的相关免疫机制[J]. *南昌大学学报(医学版)*,2011,51(10):93-96
- [24] Shouval DS,Ouahed J,Biswas A,et al. Interleukin 10 receptor signaling:master regulator of intestinal mucosal homeostasis in mice and humans [J]. *Adv Immunol*, 2014,122:177-210
- [25] del Carmen S,de Moreno de LeBlanc A,Perdigon G,et al. Evaluation of the anti-inflammatory effect of milk fermented by a strain of IL-10-producing *Lactococcus lactis* using a murine model of Crohn's disease [J]. *J Mol Microbiol Biotechnol*,2011,21(3-4):138-146
- [26] Moran CJ,Walters TD,Guo CH,et al. IL-10R polymorphisms are associated with very-early-onset ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*,2013,19(1):115-123
- [27] Bouma G,Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003,3(7):521-533
- [28] Chaparro M,Guerra L,Muñoz-Linares P,et al. Systematic review:antibodies and anti-TNF- α levels in inflammatory bowel disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*,2012,35(9): 971-986
- [29] Naderi N,Farmood A,Dadaei T,et al. Association of tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms with inflammatory bowel disease in Iran[J]. *Iranian J Publ Health*, 2014,43(5):630-636
- [30] 孟晓弘,季明昉,方一,等. 炎症性肠病患者血清巨噬细胞极化相关细胞因子水平及其意义[J]. *胃肠病学*, 2015,20(9):538-541