

• 实验研究 •

傣百解对肠道黏膜屏障功能的保护作用及机制研究*

杨丽萍, 陈 普, 张光云, 段小花[△]

(云南中医药大学云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 观察傣百解对肠道黏膜屏障功能的保护作用及作用机制。**方法** IEC-6 细胞分为空白对照组、LPS 组、傣百解不同剂量组、LPS+傣百解不同剂量组, 分别检测傣百解干预后对 IEC-6 细胞及 LPS 诱导后 IEC-6 细胞模型的活力和炎症因子的水平。另取昆明种小鼠随机分为正常对照组、LPS 组、LPS+傣百解高、低剂量组, 连续给药 1 周后, 建立小鼠肠道屏障损伤模型, 分别检测血清中 D-乳酸含量和结肠中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的 mRNA 表达水平, 并观察结肠病理变化。**结果** 傣百解在 30~480 $\mu\text{g/mL}$ 范围内对正常 IEC-6 细胞活力无明显影响, 且能对抗 LPS 对 IEC-6 细胞活力的抑制作用, 降低 LPS 诱导后 IEC-6 细胞中的 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平。小鼠肠道损伤模型结果显示傣百解能够降低模型小鼠血清中 D-乳酸含量和结肠中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平, 同时减少结肠黏膜的损伤。**结论** 傣百解对肠道黏膜屏障功能具有保护作用, 其作用机制可能与提高 IEC-6 细胞活力及减轻炎症反应有关。

关键词: 傣百解; 肠道黏膜屏障功能; IEC-6 细胞; 炎症因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2020)04-0001-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2020.04.001

Study on the Protective Effect and Mechanism of Daibaijie on Intestinal Mucosal Barrier Function

YANG Liping, CHEN Pu, ZHANG Guangyun, DUAN Xiaohua

(Yunnan Key Laboratory for Dai and Yi Medicines, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the protective effect and mechanism of Daibaijie on intestinal mucosal barrier function. **Methods** IEC-6 cells were randomly divided into blank control group, LPS group, different dose groups of Daibaijie, LPS + different dose groups of Daibaijie. The cell viability and inflammatory factor levels of IEC-6 cells and IEC-6 cell model induced by LPS were detected after Daibaijie intervention. In addition, Kunming mice were randomly divided into normal control group, LPS group, LPS + Daibaijie high and low dose groups. After one week of continuous administration, the intestinal barrier injury model of mice was established. The content of D-lactate in serum and the mRNA expression levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in colon were detected, pathology of colon were also observed. **Results** In the range of 30-480 $\mu\text{g/mL}$, Daibaijie had no significant effect on the cell viability of IEC-6 cells, and could resist the inhibition of LPS on the cell viability of IEC-6 cells, and reduce the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in IEC-6 cells after LPS induction. Daibaijie could also reduce the levels of D-lactate in LPS induced animal model serum and the mRNA expressions of IL-6, IL-1 β and TNF- α in colon, reduce the injury of colon. **Conclusion** Daibaijie has protective effect on intestinal mucosal barrier function, and the mechanism may be related to improving IEC-6 cell viability and reducing inflammatory response.

KEY WORDS: Daibaijie; intestinal mucosal barrier function; IEC-6 cells; inflammatory factors

收稿日期: 2020-06-10

* 基金项目: 云南省科技厅-云南中医学院应用基础研究联合专项(2017FF116-026); 云南省中医医院院级科研项目(2015DYYJ01)

第一作者简介: 杨丽萍(1985-), 女, 博士, 主管药师, 研究方向: 中药药理学。

[△]通信作者: 段小花, E-mail: duanxiaohua@ynutcm.edu.cn

肠道黏膜屏障不仅能帮助机体消化吸收各种营养物质,还能维持肠道内菌群稳定,防治各种有害物质和内毒素对肠道的侵害。肠道黏膜屏障由机械屏障、免疫屏障、化学屏障和生物屏障组成,其中机械屏障是最为重要的一道防线^[1],它由完整的肠道上皮细胞及上皮细胞间紧密连接形成,可有效阻止肠道内细菌及毒素等进入体内^[2]。肠上皮细胞由隐窝干细胞分化而来,当细胞增殖与凋亡过程发生异常时,会引起黏膜屏障结构损伤和功能障碍,细菌或毒素进入机体导致全身炎症反应综合征或多器官功能障碍^[3]。此外,肠上皮细胞在肠道黏膜屏障发生病理性损伤后可起到修复因子的作用,其可通过增殖分化来替换和弥补损伤的肠上皮细胞,以保证肠上皮的完整性进而维持肠道黏膜屏障的功能^[4]。临床上,许多疾病均会导致肠道黏膜屏障功能发生障碍,对患者的生命健康和生活质量产生严重影响^[5]。

傣百解为萝藦科牛奶菜属植物通光散 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Moon 植物,属于傣族传统用药,是傣族最具代表的“解药”之一^[6]。在我国云南省西双版纳、德宏及缅甸、老挝等傣族地区广泛使用。傣百解以根入药,性凉,味苦;入风、火、土塔;具有清热解毒、消肿止痛的功效,常用于治疗咽喉肿痛、疔疮斑疹、口舌生疮、肺热咳嗽、胃脘痛、尿痛、解药食毒及清除因饮食不洁、用药不当而致的各种不良反应^[7]。傣百解已被分离出多种化学成分,并认为其具有抗肿瘤、抗生育、平喘、调节免疫和降压等作用,能显著减轻因嗜酸性粒细胞介导的气道高反应性哮喘,对抗炎性介质^[8-9]。傣族认为傣百解可解百毒,并在傣族地区常用于治疗胃肠道疾病,但关于傣百解对肠道黏膜的保护作用及作用机制的药理学研究未见报道。本实验基于临床用药经验,使用不同浓度的傣百解水提物对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞模型和小鼠急性肠道屏障功能损伤模型进行观察,明确傣百解对肠道黏膜的保护作用及作用机制,以期为临床用药及后期的进一步研究提供药理学基础。

1 材料与方法

1.1 细胞与动物 大鼠小肠隐窝上皮细胞 IEC-6 细胞株(ATCC,美国);40 只 SPF 级昆明种雄性小鼠,体质量 18~22 g,由四川省医学科学院实验动物研究所

提供,生产许可证号:SCXK(川)2015-030。

1.2 药物制备 傣百解由云南省傣医药与彝医药重点实验室提供,称取傣百解 50 g,10 倍水浸泡 1 h 后煎煮 30 min,纱布过滤收集药液;8 倍水继续煎煮剩下的药渣 30 min,纱布过滤收集药液;再以 6 倍水煎煮药渣 30 min,纱布过滤药液;合并 3 次的药液,浓缩至所需浓度后-20 ℃保存备用。细胞实验使用时先用 0.22 μm 过滤后稀释到所需浓度。

1.3 试剂与仪器 脂多糖 LPS(*Escherichia coli* 055:B5,纯度:99%)购自美国 Sigma 公司;二甲亚砜(DMSO)购自 Meresco 公司;IL-6 (H007)、TNF-α (H052)、IL-1β(H002)、D-乳酸(H263)、RNA(N066)试剂盒和 MTT(G020-1-1)均购于南京建成生物工程研究所;胎牛血清购自德国 PAN-Biotech 公司;青霉素-链霉素(C0222)和 0.25%胰蛋白酶(P1005)购自碧云天生物技术有限公司;DMEM 高糖培养基购自美国 HyClone 公司;cDNA 反转录试剂盒购自日本 TAKARA 公司;qRT-PCR 引物购自上海生工生物技术有限公司,苏木素-伊红染料(中国索莱宝)。

ME104E/02 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);双门立式超低温冰箱(美国赛欧飞世尔公司);酶标仪(美国 Molecular);微量移液器(ependorf 公司);低温高速冷冻离心机(Thermo 公司);核酸电泳仪(北京六一仪器厂);PCR 扩增仪 2720 型(美国 ABI 公司);荧光定量 PCR 仪 7500fast (美国 ABI 公司);石蜡切片机(德国莱卡);石蜡包埋机(德国莱卡)。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞实验 IEC-6 细胞在 37 ℃、5%CO₂ 条件下,使用含 10%胎牛血清和 1%青霉素/链霉素的 DMEM 高糖培养基在 25 cm² 细胞培养瓶中培养,细胞融合至 70%~80%进行传代,0.25%胰酶消化处于对数生长期的 IEC-6 细胞接种于 96 孔板中,分为空白对照组、LPS 组、不同浓度的傣百解组、LPS+不同浓度的傣百解组;空白对照组只加培养液,LPS 组加 100 μg/mL 的 LPS 溶液,傣百解组加入不同浓度的傣百解,LPS+不同浓度的傣百解组分别加不同浓度的傣百解 1 h 后再加 100 μg/mL LPS,每个组设 6 个复孔,加完试剂和药物后,放回培养箱中培养。

1.4.2 动物实验 40 只昆明种雄性小鼠随机分为正常对照组、LPS 组、LPS+傣百解低、高剂量组, LPS+傣百解低、高剂量组分别给予 1.17、3.51 g/kg 的傣百解, 连续灌胃给药 1 周后, 除正常对照组外, 其余各组均一次性腹腔注射 LPS(5 mg/kg)建立小鼠肠道屏障损伤模型。

1.5 观察指标

1.5.1 傣百解干预 IEC-6 细胞及 LPS 诱导后 IEC-6 细胞活力的检测 IEC-6 细胞以 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板, 24 h 后换无血清培养基, 待 24 h 细胞周期同步化后, 分为对照组、不同浓度的傣百解组和 LPS+不同浓度的傣百解组, 分别加入相应的药物及含血清培养基, 使每孔终体积为 200 μ L, 继续在培养箱中培养 24 h 后, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L, 放回培养箱孵育 4 h 后轻轻吸走上清液, 每孔加 DMSO 150 μ L, 在微孔振荡器上振荡 10 min 后, 用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度值(OD), 以检测细胞相对活力。

1.5.2 ELISA 检测 IEC-6 细胞上清液中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 含量 IEC-6 细胞按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板后, 分为对照组、LPS 组、LPS+60、120、240 μ g/mL 傣百解组, 药物处理 24 h 后收集细胞上清液, 3 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液, 严格按照试剂盒说明书检测 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的水平。

1.5.3 检测小鼠血清中 D-乳酸的含量 建立小鼠肠道屏障损伤模型 2 h 后, 眼球取血, 严格按照试剂盒说明书测定血清中 D-乳酸的含量。

1.5.4 qRT-PCR 检测肠道屏障损伤后小鼠结肠 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的 mRNA 表达水平 小鼠处死后, 取结肠于液氮中保存备用。将冻存后的小鼠结肠研磨, 然后按 RNA 提取试剂盒说明书提取组织总 RNA, 电泳和紫外检测 RNA 纯度和完整度, 按逆转录试剂盒说明书进行逆转录, 然后以生成的 cDNA 作为模板进行扩增反应, 检测各组结肠表达 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 的水平, 引物序列见表 1。

1.5.5 结肠组织病理学观察 小鼠结肠用 10% 福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 切片, 脱蜡后进行苏木精-伊红(HE)染色, 显微镜下观察结肠组织病理形态学变化。

表 1 引物序列表

引物	序列(5'-3')	产物长度/bp
TNF- α -F	TCAACCTCCTCTCTGCCATC	187
TNF- α -R	CCAAAGTAGACCTGCCCAGA	
IL-1 β -F	ACAGATGAAGTGCTCCTTCCA	73
IL-1 β -R	GTCGGAGATTTCGTAGCTGGAT	
IL-6-F	TTCCAGCCAGTTGCCTTCTT	137
IL-6-R	AAGCCTCCGACTTGTGAAGTG	
β -actin-F	AGCCTCAAGATCATCAGCAATG	105
β -actin-R	TGTGGTCATGAGTCCTTCCACG	

1.6 统计学分析 数据采用 GraphPad prim 7 软件处理, 结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析, 若方差齐用 LSD 检验, 方差不齐用 Tamhane's T_2 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 傣百解对 IEC-6 细胞活力的影响 与对照组比较, 30~480 μ g/mL 浓度范围内的傣百解对 IEC-6 细胞活力无显著差异($P > 0.05$), 提示傣百解在 30~480 μ g/mL 浓度范围内对 IEC-6 细胞活力无影响, 见表 2。

表 2 不同浓度的傣百解对 IEC-6 细胞活力的影响
($\bar{x} \pm s, n=6, \mu$ g/mL)

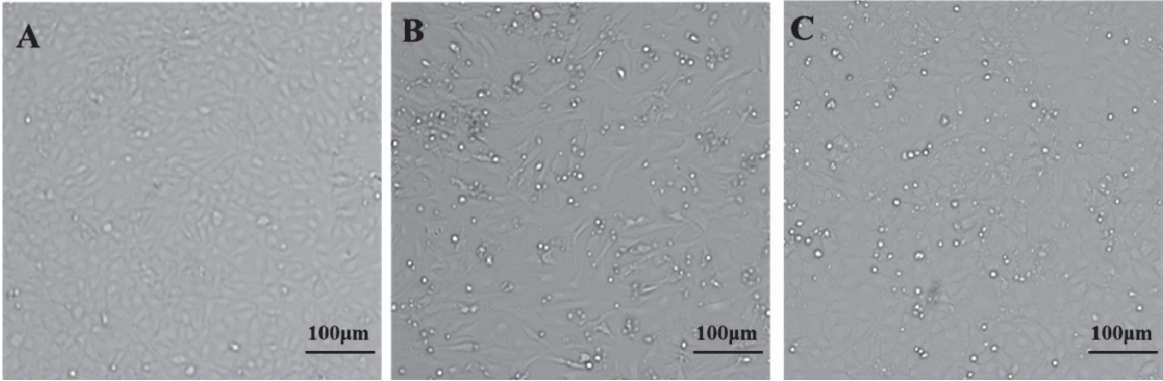
组别	给药剂量	细胞活力
对照组	-	0.70 $\pm$ 0.07
傣百解组	30	0.65 $\pm$ 0.12
傣百解组	60	0.65 $\pm$ 0.08
傣百解组	120	0.62 $\pm$ 0.09
傣百解组	240	0.62 $\pm$ 0.12
傣百解组	480	0.66 $\pm$ 0.11

2.2 傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞活力的影响 与对照组比较, LPS 组显著降低了 IEC-6 细胞的活力; 与 LPS 组比较, 30~480 μ g/mL 浓度范围内的傣百解可提高 IEC-6 细胞的活力, 并且在浓度为 120~480 μ g/mL 时差异具有统计学意义($P < 0.01$), 提示傣百解能对抗 LPS 对 IEC-6 细胞活力的抑制作用, 见表 3。

表 3 不同浓度的傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n=6, \mu\text{g/mL}$)

组别	LPS 给药剂量	傣百解给药剂量	细胞活力
对照组	-	-	0.73±0.05
LPS 组	100	-	0.36±0.1**
LPS+傣百解组	100	30	0.42±0.06
LPS+傣百解组	100	60	0.48±0.08
LPS+傣百解组	100	120	0.57±0.14##
LPS+傣百解组	100	240	0.71±0.12##
LPS+傣百解组	100	480	0.67±0.1##

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与 LPS 组比较,## $P<0.01$ 。



注:A. 对照组;B. LPS 组;C. LPS+傣百解组。

图 1 傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞形态的影响

表 4 傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	LPS 给药剂量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	傣百解给药剂量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	IL-1 β $/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$	TNF- α $/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$	IL-6 $/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$
对照组	-	-	350.82±10.72	222.82±26.31	180.6±3.36
LPS 组	100	-	562.01±58.98**	532.42±83.58**	235.32±8.78**
LPS+傣百解组	100	60	528.65±95.94	391.81±53.8	230.24±1.41
LPS+傣百解组	100	120	502.43±23.47	332.74±94.94#	228.10±2.53
LPS+傣百解组	100	240	484.96±41.65	372.49±107.52#	226.82±3.18

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与 LPS 组比较,# $P<0.05$ 。

2.5 傣百解对 LPS 诱导小鼠肠道屏障损伤模型中 D-乳酸的影响 与对照组比较,LPS 组 D-乳酸水平显著升高($P<0.01$);与 LPS 组比较,傣百解低、高剂量组均降低了 D-乳酸的水平($P<0.05$),提示傣百解能改善肠黏膜的通透性和损伤程度,见表 5。

2.3 傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞形态的影响 结果显示,对照组细胞形态规则、呈铺石路状贴壁生长(图 1A);100 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS 刺激 24 h 后,IEC-6 细胞大量变圆、皱缩、细胞排列杂乱、死细胞增多(图 1B);而不同浓度的傣百解处理后,240 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下可明显改善细胞形态,皱缩和变圆细胞减少(图 1C)。

2.4 傣百解对 LPS 诱导的 IEC-6 细胞炎症因子的影响 与对照组比较,LPS 组中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的水平显著升高($P<0.01$);与 LPS 组比较,不同浓度的傣百解组均能一定程度上减少 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 的水平,在 120 $\mu\text{g/mL}$ 和 240 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时对 TNF- α 的降低最显著($P<0.05$),提示傣百解能减轻 LPS 对 IEC-6 细胞的炎症反应,见表 4。

2.6 傣百解对 LPS 诱导的小鼠肠道屏障损伤模型 IL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNA 的影响 与对照组比较,LPS 组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNA 的水平显著升高($P<0.01$);与 LPS 组比较,傣百解低、高剂量组均具有降低 IL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNA 水平的作用,其中以

表 5 傣百解对 LPS 诱导的小鼠肠道屏障损伤模型中 D-乳酸的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	LPS 给药剂量 $/(mg \cdot kg^{-1})$	傣百解给药 剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	D-乳酸 $/(nmol \cdot \mu L^{-1})$
对照组	—	—	0.46±0.06
LPS 组	5	—	0.72±0.08**
傣百解低剂量组	5	1.17	0.58±0.06 [#]
傣百解高剂量组	5	3.51	0.57±0.07 [#]

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与 LPS 组比较,[#] $P<0.05$ 。

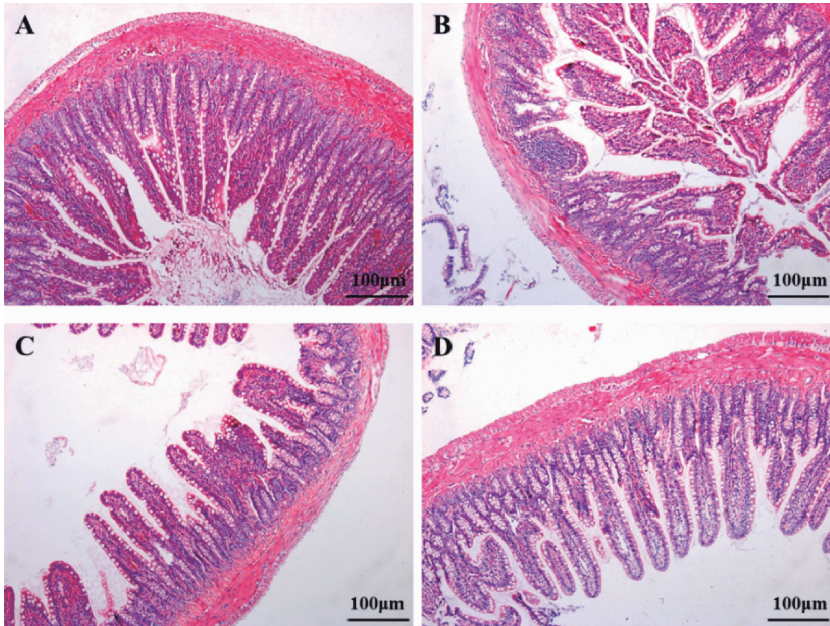
表 5 傣百解对 LPS 诱导的小鼠肠道屏障损伤模型 IL-6、IL-1β、TNF-α mRNA 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	LPS 给药剂量 $/(mg \cdot kg^{-1})$	傣百解给药剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	IL-6	IL-1β	TNF-α
对照组	—	—	1.35±0.11	1.42±0.06	1.18±0.07
LPS 组	5	—	23.36±2.91**	12.02±3.45**	5.03±0.84**
傣百解低剂量组	5	1.17	15.83±5.12	10.79±0.45	2.80±0.67 ^{##}
傣百解高剂量组	5	3.51	15.54±4.91	8.06±2.52	2.49±0.67 ^{##}

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与 LPS 组比较,^{##} $P<0.01$ 。

TNF-α mRNA 的水平降低最为显著($P<0.01$),提示傣百解能减轻 LPS 诱导小鼠肠道损伤模型的炎症反应,见表 5。

2.7 傣百解对 LPS 诱导的肠炎小鼠结肠病理学的影响
显微镜下显示,正常组小鼠结肠组织结构完好,绒毛排列整齐,肠腺轮廓清晰完整,上皮完好。LPS 组肠绒毛肿胀、断裂,局部上皮细胞坏死。治疗组小鼠小肠组织病理变化较模型组均有改善,黏膜组织层次分明,黏膜绒毛及腺体排列紊乱程度减轻,见图2。



注:A.对照组;B. LPS 组;C. 傣百解低剂量组,D. 傣百解高剂量组

图 2 傣百解对 LPS 诱导的肠炎小鼠结肠病理学的影响($\times 100$)

3 讨论

肠上皮细胞损伤在危重病发展过程中起着非常重要的作用,而小肠上皮细胞的增殖是肠道黏膜病理性损伤后修复,重建上皮完整性和维护黏膜屏障的关

键,积极防护肠上皮细胞的损害对维持肠道黏膜屏障功能具有重要意义^[10]。LPS 在人肠腔内大量存在,是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分,也是引发炎症的重要因子^[11]。机体处于正常状态时,肠腔内细菌及内毒

素不能通过肠屏障进入机体,当肠黏膜屏障损伤时,肠道内致病菌及毒素进入,引起内毒素血症并刺激机体产生炎症因子,导致局部或系统性炎症反应,炎症反应又可进一步损害肠道屏障功能^[12]。研究发现细菌或内毒素感染肠黏膜上皮细胞后,能够诱导紧密连接蛋白的磷酸化和去磷酸化,损伤细胞间紧密连接,导致肠黏膜通透性增加,从而影响黏膜屏障的保护功能^[13]。本研究结果表明,LPS 刺激 IEC-6 细胞 24h 后细胞变圆甚至死亡,细胞活力显著下降,小鼠一次性腹腔注射 5 mg/kg 的 LPS 可引起明显的精神萎靡、腹泻等肠炎症状。因此,在后续实验中选用了在相应剂量下的 IEC-6 细胞体外模型和小鼠肠道屏障损伤模型来研究傣百解对肠道屏障的保护作用。

肠黏膜损伤后,细菌和内毒素进入机体,导致机体产生免疫应答和炎症反应,释放出大量的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症细胞因子^[14]。IL-6、IL-1 β 、TNF- α 作为主要的促炎因子,在炎症进展和急性炎症瀑布式爆发中起着非常重要的作用^[15-16]。TNF- α 可激活鞘磷脂酶介导细胞凋亡途径,诱导上皮细胞和固有层细胞中基质金属蛋白酶(MMPs) 1 和 3 活化,导致组织损伤^[17]。TNF- α 的升高还可导致紧密连接蛋白表达降低,从而增加肠道细胞通透性,临床已证明抗 TNF- α 治疗对肠道炎症疾病的疗效^[18]。IL-6 作为重要的炎症介质,具有聚集炎症因子,在肠炎疾病的发病中起着主要作用,参与肠道紧密连接的调节,应用 IL-6 抗体治疗能够改善小鼠肠道通透性^[19-20]。研究显示,肠道黏膜组织中的 IL-1 β 在炎性条件下显著升高,升高程度与肠道炎症严重程度正相关,并能增加肠道通透性^[21]。本实验结果发现,不同浓度的傣百解水提物对 IEC-6 细胞活力没有显著影响,LPS 诱导 IEC-6 细胞后,通过傣百解水提物的干预能提高 IEC-6 细胞的活力。傣百解可降低 LPS 诱导的 IEC-6 细胞中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的水平及小鼠肠组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α mRNA 的水平,具有抗炎作用。

D-乳酸属于细菌的一种代谢产物,当肠黏膜屏障完整时,D-乳酸不能释放入血;当肠黏膜受损后,细菌易位,则血液中可检测出 D-乳酸,因此,D-乳酸的水平可反映肠黏膜通透性和损伤程度^[22-23]。实验结果显示,傣百解可降低 LPS 诱导后小鼠血清中 D-乳

酸含量,病理观察显示傣百解能够降低结肠组织的损伤情况,提示傣百解能改善肠黏膜的通透性和损伤程度。

综上所述,傣百解能提高 LPS 诱导后的 IEC-6 细胞活力,并能减轻由 LPS 诱导后产生的炎症因子水平及其 mRNA 的表达,降低小鼠血清中 D-乳酸含量,减轻小鼠结肠损伤,提示傣百解对肠道黏膜屏障功能具有保护作用,其作用机制可能与减轻炎症反应有关。

参考文献:

- [1] 尉浩斌,李苏宜. 肠屏障功能检测方法的研究现状及展望[J]. 心理月刊,2019,14(15):232-234.
- [2] 王莉. 黄芩苷通过 microRNA 对 TNF- α 诱导的肠上皮细胞通透性的保护机制[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [3] 万光升,张新艳. 小鼠小肠类器官体外培养体系的建立与应用[J]. 中国实验动物学报,2017,25(5):513-518.
- [4] HALLER D,JOBIN C. Interaction between resident luminal bacteria and the host:can a healthy relationship turn sour[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr,2004,38(2):123-136.
- [5] YASUDA T,TAKEYAMA Y,UEDA T,et al. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis[J]. J Surg Res,2006,135(1):18-26.
- [6] 林艳芳,依专,赵映红. 中国傣医药彩色图谱[M]. 昆明:云南民族出版社,2000. 397.
- [7] 李海涛,康利平,郭宝林,等. 常用傣药“傣百解”的基原考证[J]. 中国中药杂志,2014,39(8):1525-1529.
- [8] 张雨馨. 傣百解化学成分研究[D]. 武汉:中南民族大学,2016.
- [9] 刘蓉,赵瑾,陈国勤,等. 通光散汤对小鼠哮喘模型气道高反应性和气道炎症的影响[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(12):14-17.
- [10] FARHADI A,BANAN A,FIELDS J,et al. Intestinal barrier:an interface between health and disease[J]. J Gastroenterol Hepatol,2003,18(5):479-497.
- [11] BODE J G, EHLTING C, HÄUSSINGER D. The macrophage response towards LPS and its control through the p38 (MAPK)-STAT3 axis[J]. Cell Signal,2012,24(6):1185-1194.

- [12] GE Y, EZZELL R M, WARREN H S. Localization of endotoxin in the rat intestinal epithelium[J]. *J Infect Dis*, 2000, 182(3): 873–881.
- [13] GUO S, AL-SADI R, SAID H M, et al. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14[J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(2): 375–387.
- [14] LING X, LINGLONG P, WEIXIA D, et al. Protective effects of *Bifidobacterium* on intestinal barrier function in LPS-induced enterocyte barrier injury of Caco-2 monolayers and in a rat NEC model[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e161635.
- [15] 叶禄伟, 汪志刚, 黄世芳, 等. 小剂量肠内营养对脓毒性休克伴急性胃肠道损伤病人肠屏障及系统性炎症的改善作用[J]. *肠外与肠内营养*, 2017, 24(3): 143–145.
- [16] KEITA A V, SÖDERHOLM J D. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2010, 22(7): 718–733.
- [17] CLAYBURGH D R, BARRETT T A, TANG Y, et al. Epithelial myosin light chain kinase-dependent barrier dysfunction mediates T cell activation-induced diarrhea in vivo[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2702–2715.
- [18] ROSE D P, VONA-DAVIS L. Biochemical and molecular mechanisms for the association between obesity, chronic inflammation, and breast cancer[J]. *Biofactors*, 2014, 40(1): 1–12.
- [19] BAMBA S, ANDOH H, YASUI H, et al. Matrix metalloproteinase-3 secretion from human colonic subepithelial myofibroblasts: role of interleukin-17[J]. *J Gastroenterol*, 2003, 38(6): 548–554.
- [20] XIAO Y T, YAN W H, CAO Y, et al. Neutralization of IL-6 and TNF- α ameliorates intestinal permeability in DSS-induced colitis[J]. *Cytokine*, 2016, 83: 189–192.
- [21] AL-SADI R, YE D, SAID H M, et al. IL-1 β -induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by MEKK-1 activation of canonical NF- κ B pathway[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(5): 2310–2322.
- [22] 荆扬, 石永强, 张家琦, 等. 外源性维生素D对炎症性肠病患者肠道黏膜屏障和炎症因子水平的影响[J]. *胃肠病学*, 2019, 24(8): 493–496.
- [23] MURRAY M J, BARBOSE J J, COBB C F. Serum D(-)-lactate levels as a predictor of acute intestinal ischemia in a rat model[J]. *J Surg Res*, 1993, 54(5): 507–509.