doi:10.11659/jjssx.12E020023

·基础研究·

过表达 miR-449a 对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的保护作用及机制研究

卢 静[1],李建红[1],彭 巍[2] (1.成都市第五人民医院神经内科,四川 成都 611130;2.成都市第五人民医院普外科,四川 成都 611130)

[摘 要] **目的** 探究过表达 miR-449a 对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的保护作用及机制。**方法** 选取 40 只 SD 健康雄性大鼠,将其中 10 只作为对照组,其余 30 只建立溃疡性结肠炎大鼠模型后分为模型组、抑制 miR-449a 组、过表达 miR-449a 组。抑制 miR-449a 组大鼠尾部静脉注射 30 mg/kg antagomiR-449a 进行干预,过表达 miR-449a 组大鼠尾部静脉注射 30 mg/kg agomiR-449a 进行干预,对照组及模型组大鼠给予等量生理盐水干预。采用酶联免疫吸附法检测白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子(TNF-α);免疫透射比浊法检测免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 G(IgG)、环氧化酶-2(COX-2);采用免疫组织化学染色法检测紧密连接蛋白 Claudin-1、Toll 样受体 4(TLR4);采用 Western blot 法检测 p-p38、过氧化酶体增殖物激活受体 γ(PPARγ)、核因子 κB(NF-κB)蛋白表达。**结果** 与对照组相比,模型组大鼠 IL-8、IL-17、IgA、IgM、IgG、TNF-α、COX-2、TLR4 较高,IL-10、Claudin-1 较低,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制 miR-449a 组大鼠 IL-8、IL-17、TNF-α、COX-2、TLR4 下降,IL-10、IgA、IgM、IgG、Claudin-1 上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制 miR-449a 组相比,过表达 miR-449a 组大鼠 IL-8、IL-17、IgA、IgM、IgG、TNF-α、COX-2、TLR4 较低,IL-10、Claudin-1 较高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,模型组大鼠 PPARγ 下降,p-p38、NF-κB 上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制 miR-449a 组大鼠 PPARγ 上升,p-p38、NF-κB 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制 miR-449a 组相比,过表达 miR-449a 组大鼠 PPARγ 上升,p-p38、NF-κB 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 采用过表达 miR-449a 对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的损伤进行修补,能够有效改善其肠黏膜的破损,激活 PPARγ,抑制 p38/NF-κB 通路,效果显著。

[关键词] 溃疡性结肠炎;肠黏膜;闭合蛋白;肿瘤坏死因子

[中图分类号] R574 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-12-04

Protective effect and mechanism of overexpression of miR-449a on intestinal mucosa of rats with ulcerative colitis

LU Jing[1], LI Jian-hong[1], PENG Wei[2] (1. Department of Neurology, Chengdu Fifth People's Hospital, Chengdu Sichuan 611130, China; 2. Department of General Surgery, Chengdu Fifth People's Hospital, Chengdu Sichuan 611130, China)

Abstract: Objective To explore the protective effect and mechanism of overexpression of miR-449a on intestinal mucosa in rats with ulcerative colitis. **Methods** Forty healthy male SD rats were selected, 10 of which were used as the control group, and the other 30 rats were divided into the model group, miR-449a inhibition group, and miR-449a overexpression group after establishing ulcerative colitis rat model. Rats in the miR-449a inhibition group were injected with 30 mg/kg antagomiR-449a in the tail vein for intervention, rats in the miR-449a overexpression group were injected with 30 mg/kg agomiR-449a for intervention, and rats in the control group and the model group were given the same amount of normal saline for intervention. Interleukin-8 (IL-8), interleukin-10 (IL-10), interleukin-17 (IL-17) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were detected by enzyme linked immunosorbent assay. Immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin M (IgM), immunoglobulin G (IgG) and cyclooxygenase-2 (COX-2) were detected by immunity transmission turbidity. Tight junction protein Claudin-1 and toll-like receptor 4 (TLR4) were detected by immunohistochemical staining. The expressions of p-p38, peroxisome proliferator activated receptor γ (PPARγ) and nuclear factor κB (NF-κB) protein were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the levels of IL-8, IL-17, IgA, IgM, IgG, TNF-α, COX-2 and TLR4 in the model group were higher, while the levels of IL-10 and Claudin-1 were lower, with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with the model group, the levels of IL-8, IL-17, TNF-α, COX-2 and TLR4 in the miR-449a inhibition group were decreased, while the levels of IL-10, IgA, IgM, IgG and Claudin-1 were increased, with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with the miR-449a inhibition group, the levels of IL-8, IL-17, IgA, IgM, IgG, TNF-α, COX-2 and TLR4 in the miR-449a overexpression group were lower, and the levels of IL-10 and Claudin-1 were higher, with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with the control group, the level of PPARγ in the model group was decreased, while the levels of p-p38 and NF-κB were increased, with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with the model group, the level of PPARγ was increased and

[基金项目] 成都市卫健委科研课题(2014039);成都中医药大学"杏林学者"学科人才科研提升计划医院专项科研课题(YYZX2019004)

[通信作者] 彭 巍,E-mail:350682556@qq.com

the levels of p-p38 and NF-κB were decreased in the miR-449a inhibition group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the miR-449a inhibition group, the level of PPARγ was increased and the levels of p-p38 and NF-κB were decreased in the miR-449a overexpression group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** Overexpression of miR-449a can repair the damage of intestinal mucosa in rats with ulcerative colitis, activate PPARγ and inhibit p38/NF-κB pathway with significant effects.

Keywords: ulcerative colitis; intestinal mucosa; claudins; tumor necrosis factor

溃疡性结肠炎是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,具有治愈率低、易复发的特征,其可发生于各个年龄段人群,且以青壮年期更多见[1-2]。据调查,溃疡性结肠炎的发病率与发病地区的经济发展状况有关,在北美和欧洲等发达地区的发病率显著高于亚洲和中东等发展中地区[3-4]。溃疡性结肠炎的好发部位为直肠和结肠,临床症状主要有腹泻、腹痛、里急后重等,常伴发不同的全身症状[5]。肠黏膜作为肠腔最表层结构,分为小肠黏膜和大肠黏膜[6]。其中小肠黏膜具有许多环状皱襞和绒毛结构,主要由吸收细胞和散在的分泌唾酸黏液的杯状细胞构成;大肠黏膜在结肠袋之间有很多半月形的黏膜皱襞,由单层柱状上皮、固有膜和黏膜肌层组成[7]。微小核糖核酸属于非编码 RNA,有临床研究显示,miR-449a 水平与肠道肿瘤预后密切相关[8]。但 miR-449a 在溃疡性结肠炎中的作用及机制尚未见报道,本研究建立溃疡性结肠炎大鼠模型,对大鼠进行 miR-449a 干预,旨在探究过表达miR-449a对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的保护作用及机制,以期为该病的临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

研究对象:SD 健康雄性大鼠(由江苏大学动物实验中心提供)40 只,体质量 210 ~ 230 g,平均(219.00 ± 19.95)g,放在温度 18 ~ 26 ℃、湿度 45% ~55% 的干净笼子中喂养,饮水和新鲜干燥的饲料均进行消毒之后供其自由食用 1 周。

主要试剂:兔抗小鼠免疫球蛋白 A(immunoglobulin A,IgA)、免疫球蛋白 M(immunoglobulin M,IgM)、免疫球蛋白 G(immunoglobulin G,IgG)抗体(BD 公司);兔抗大鼠白细胞介素-8(interleukin-8,IL-8)、白细胞介素-17(interleukin-17,IL-17)、白细胞介素-10(interleukin-10,IL-10)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)抗体(Dako 公司);大鼠鼠抗兔紧密连接蛋白 Claudin-1、Toll 样受体 4(toll-like receptor 4,TLR4)抗体(Hyclone 公司)。

1.2 方法

1.2.1 建模及分组 随机选取 10 只大鼠作为对照组,不做任何处理。其余 30 只大鼠进行溃疡性结肠炎建模,造模前所有大鼠禁食不禁水 36 h,称重后使用 10% 水合氯醛(3 mL/kg)腹腔内注射麻醉,灌胃针用润滑油涂抹后,从大鼠肛门口插入约 8 cm 左右,将 1 mL混合液一次性注入,再注入 0.5 mL 空气,捏紧肛门,将大鼠臀部倾斜朝上约 15 min,使其自然苏醒,注意保暖。大鼠出现浓血便、体型消瘦、少食懒动、眯眼、反应迟钝等生理表现时表明建模成功。最终 25 只大鼠建模成功,将其随机分为模型组 9 只,抑制miR-449a 组 8 只,过表达 miR-449a 组 8 只。将所有大鼠放置于玻璃麻醉箱内麻醉,将含 4% 七氟醚棉球的小烧杯(50 mL)放入麻醉箱内,待动物出现呼吸变慢、四肢紧张度明显降低、角膜反射迟钝、皮肤痛觉消失等表现,则表明大鼠进入到麻醉期。麻醉之后抑制 miR-449a 组大鼠尾部静脉注射 30 mg/kg antagomiR-449a进行干预,过表达 miR-449a 组大鼠尾部静脉注射 30 mg/kg agomiR-449a 进行干预,对照组及模型组大鼠尾部静脉注射等量生理盐水。

1.2.2 标本采集 药物干预 24 h 后,取各组大鼠尾部静脉血 2 mL,2 000 r/min 离心 15 min 后分离上清液,置于 -80 ℃保存待检。

1.2.3 HE 染色 对各组大鼠进行全身麻醉处理后,采用断头法分批处死所有大鼠,获取肠黏膜组织,液氮冷冻后常规脱水、透明、石蜡包埋,间距 5 mm 作连续切片。将切片按顺序置入不同浓度酒精中。使用苏木精染色 15 min 后清洗 3 次,使用盐酸酒精分化处理 30 s,清洗之后使用 1% 伊红染色,封片后使用显微镜进行观察。

1.2.4 酶联免疫吸附法检测炎症因子相关指标 取血清 5 mL,离心处理后于 -80 ℃保存。采用酶联免疫吸附法对 IL-8、IL-10、IL-17、TNF-α 表达量进行检测。使用包被缓冲液将特异性抗体球蛋白稀释至最为合适的浓度(1 ~ 10 μg/mL);随后在每个凹孔内增加 0.3 mL,放置在 0 ℃保存过夜;次日移去包被缓冲液之后使用洗涤缓冲液每 5 min 对凹孔进行冲洗,共冲洗 3 次,在每个凹孔内加入 0.2 mL 含抗原的标本,在 37 ℃下作用 2 h,随后使用洗涤缓冲液(含0.05% 吐温-20)洗涤 3 次。加入 0.2 mL 抗体溶液(稀释缓冲液

稀释过后的酶标记特异性抗体溶液)在37 ℃下作用2 h。PBS溶液重复洗涤3次。洗涤后在每个凹孔内加入0.2 mL底物溶液,于常温下作用30 min后在每个凹孔内加入2 mol/L H_2SO_4或者2 mol/L柠檬酸0.05 mL,使用酶标比色仪对IL-8、IL-17、IL-10、TNF-α水平进行评价。

1.2.5 免疫透射比浊法检测免疫球蛋白及环氧化酶-2(cyclooxygenase-2,COX-2)水平 准备3根试管并分别标记为标准管、测定管及空白管,均加入350 μL缓冲液,标准管中加入20 μL IgA、IgM、IgG、COX-2标准液,测定管中加入20 μL血清,空白管中加入20 μL蒸馏水,分别摇匀,常温静置5~10 min后使用分光光度计进行比色,在500 nm波长处以空白管调零,记录吸光度,计算IgA、IgM、IgG、COX-2水平。

1.2.6 免疫组织化学染色法检测Claudin-1、TLR4表达 对标本进行脱蜡、水化等处理之后,将其浸泡于0.01 mol/L、95 ℃的枸橼酸缓冲液中,并进行热修复,3% H_2O_2环境下培育10 min,滴入山羊血清,26 ℃环境中培养30 min,抽离封闭液,添加Claudin-1、TLR4一抗,将其置于5 ℃过夜培养,次日加入二抗,于37 ℃恒温箱中培养30 min,清洗后进行DAB显色、封片。

1.2.7 Western blot法检测细胞凋亡相关蛋白表达水平 取大鼠肠黏膜组织,加入裂解液裂解、匀浆、提取总蛋白,与缓冲液混合100 ℃煮沸5 min后电泳(120 V,3 h)。在90 V、4 ℃下将靶蛋白转移至NC膜上,转膜时间为90 min,5%脱脂牛奶封闭2 h,加入一抗(1∶300),过夜孵育。加入二抗(1∶5 000)孵育2 h,显影、定影、冲洗、晾干,扫描胶片,采用Image J软件分析细胞凋亡相关蛋白p-p38、过氧化酶体增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator activated receptor γ,PPARγ)、核因子κB(nuclear factor κB,NF-κB)表达,以β-actin为内参,目标蛋白水平=目标条带灰度值/β-actin条带灰度值。

1.3 统计学分析

使用SPSS 21.0软件处理数据。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,组间比较行*LSD-t*检验,$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠结肠组织病理情况

如图1所示,对照组大鼠结肠黏膜上皮完整,杯状细胞隐窝较为完整。模型组大鼠结肠黏膜杯状细胞减少,损伤面积较大,隐窝变形,有炎性细胞浸润。抑制miR-449a组大鼠结肠黏膜杯状细胞减少,隐窝有一定的变形,炎性细胞浸润。过表达miR-449a组大鼠结肠黏膜未见明显的糜烂、损伤,炎性细胞浸润有所减少。

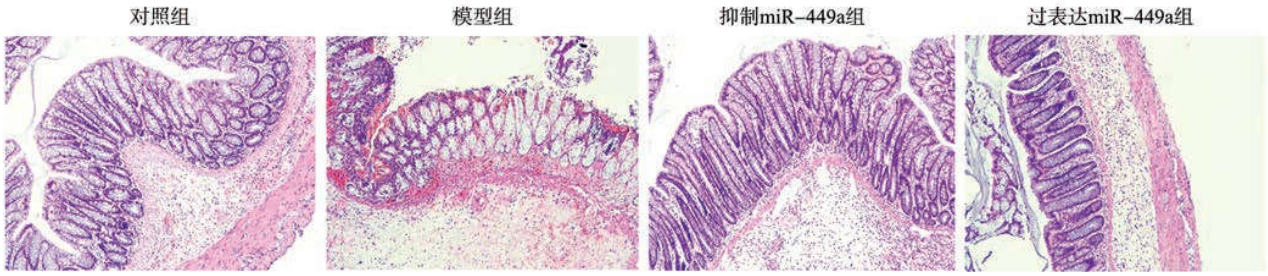


图1 结肠组织病理图片(HE×400)

2.2 各组大鼠IL-8、IL-10、IL-17水平比较

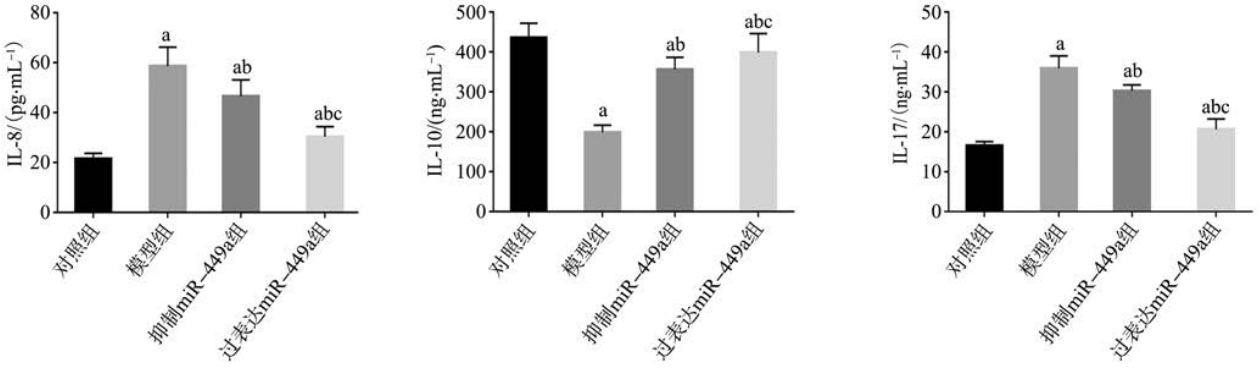
与对照组相比,模型组、抑制miR-449a组大鼠IL-8、IL-17较高,IL-10较低,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制miR-449a组、过表达miR-449a组大鼠IL-8、IL-17较低,IL-10较高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制miR-449a组相比,过表达miR-449a组大鼠IL-8、IL-17较低,IL-10较高,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图2。

2.3 各组小鼠免疫球蛋白水平比较

与对照组相比,模型组大鼠IgA、IgM、IgG均有所上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制miR-449a组大鼠IgA、IgM、IgG均有所上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制miR-449a组相比,过表达miR-449a组大鼠IgA、IgM、IgG均有所下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图3。

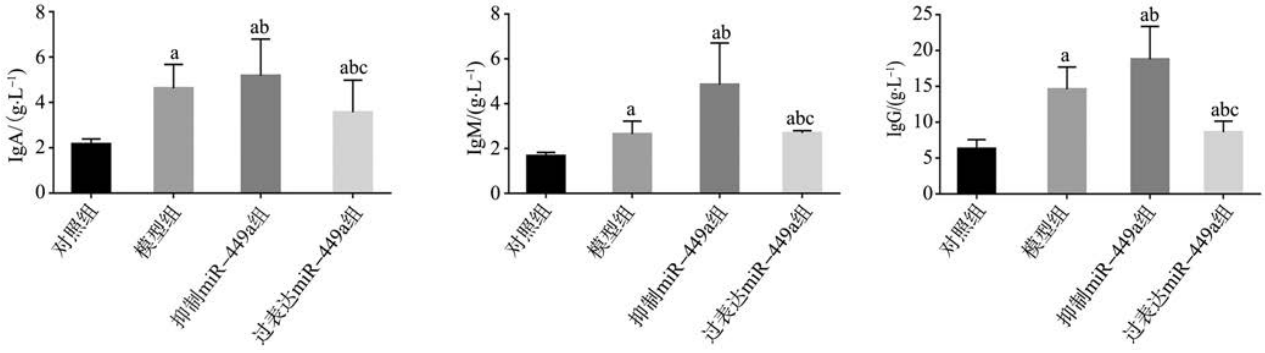
2.4 各组大鼠TNF-α、COX-2水平比较

与对照组相比,模型组大鼠TNF-α、COX-2有所上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制miR-449a组大鼠TNF-α、COX-2有所下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制miR-449a组相比,过表达miR-449a组大鼠TNF-α、COX-2有所下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图4。



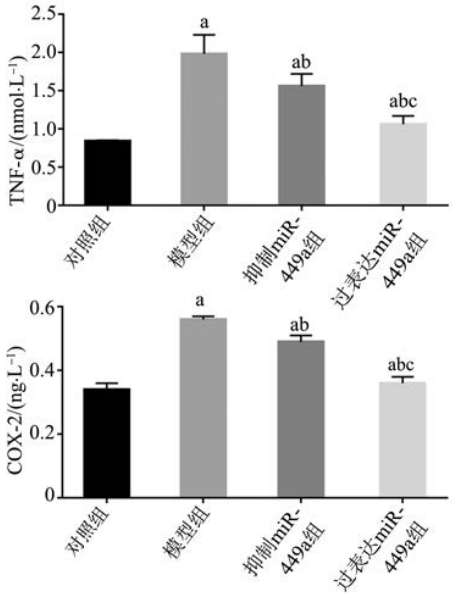
a:与对照组比较,$P<0.05$;b:与模型组比较,$P<0.05$;c:与抑制 miR-449a 组比较,$P<0.05$

图 2 各组大鼠 IL-8、IL-10、IL-17 水平比较



a:与对照组比较,$P<0.05$;b:与模型组比较,$P<0.05$;c:与抑制 miR-449a 组比较,$P<0.05$

图 3 各组大鼠免疫球蛋白水平比较

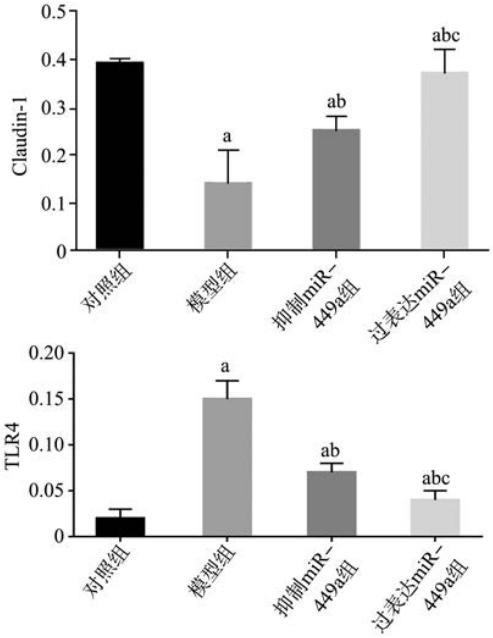


a:与对照组比较,$P<0.05$;b:与模型组比较,$P<0.05$;c:与抑制 miR-449a 组比较,$P<0.05$

图 4 各组大鼠 TNF-α、COX-2 水平比较

2.5 各组大鼠 Claudin-1、TLR4 水平比较

与对照组相比,模型组大鼠 Claudin-1 下降,TLR4 上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制 miR-449a 组大鼠 Claudin-1 上升,TLR4 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制 miR-449a 组相比,过表达 miR-449a 组大鼠 Claudin-1 上升,TLR4 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 5、6。



a:与对照组比较,$P<0.05$;b:与模型组比较,$P<0.05$;c:与抑制 miR-449a 组比较,$P<0.05$

图 5 各组大鼠 Claudin-1、TLR4 水平比较

2.6 各组大鼠 p-p38、PPARγ、NF-κB 蛋白表达

与对照组相比,模型组大鼠 PPARγ 下降,p-p38、NF-κB 上升,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,抑制 miR-449a 组大鼠 PPARγ 上升,p-p38、NF-κB 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$);与抑制 miR-449a 组相比,过表达 miR-449a 组大鼠 PPARγ 上升,p-p38、NF-κB 下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 7、8。

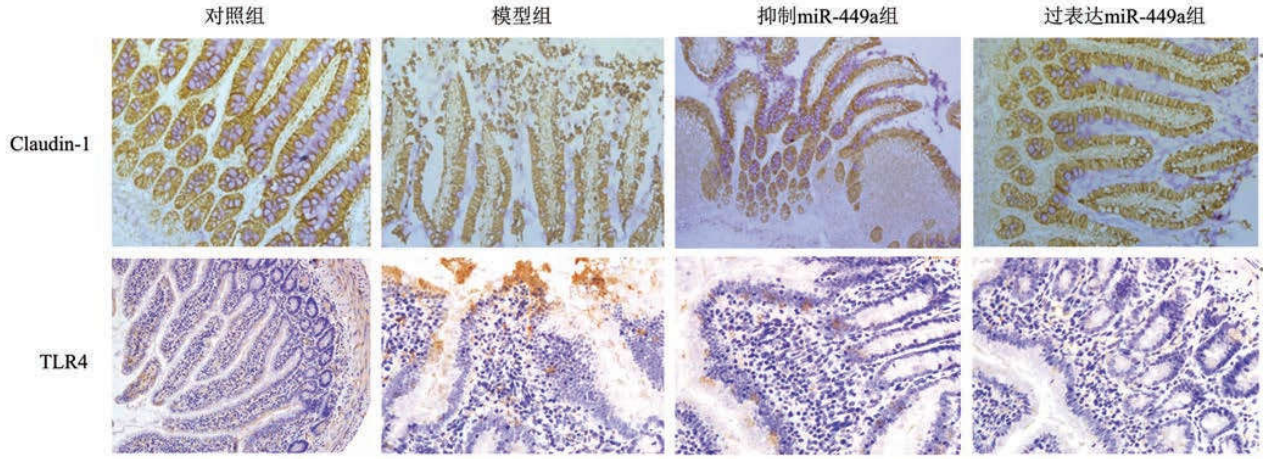
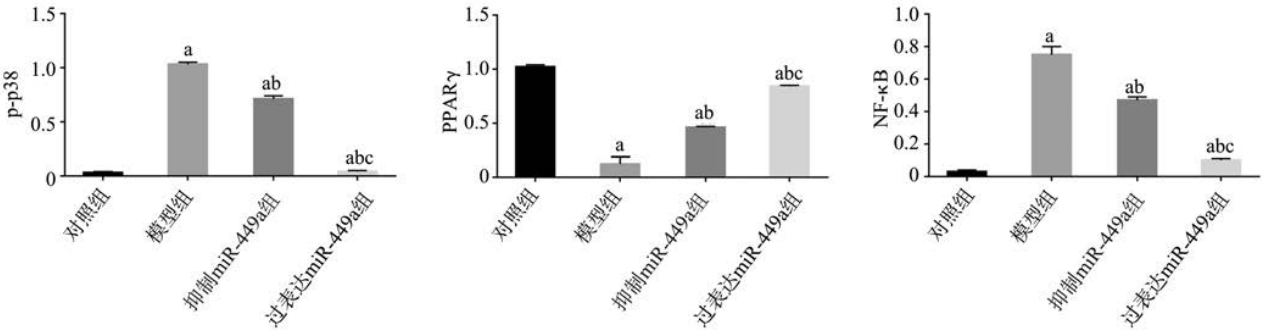


图 6 各组大鼠 Claudin-1 及 TLR4 表达免疫组化图片(×200)



a:与对照组比较,$P<0.05$;b:与模型组比较,$P<0.05$;c:与抑制 miR-449a 组比较,$P<0.05$

图 7 各组大鼠 p-p38、PPARγ、NF-κB 蛋白表达比较

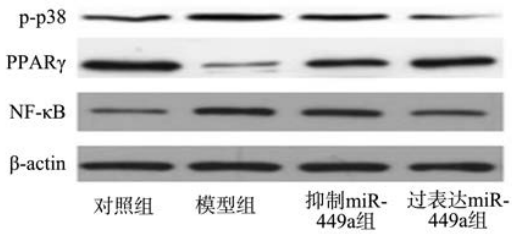


图 8 各组大鼠 p-p38、PPARγ、NF-κB 蛋白表达 Western blot 图

3 讨论

溃疡性结肠炎的病因至今仍不明确,研究显示,心理因素对于疾病恶化具有重要的作用[9]。溃疡性结肠炎是一种自身免疫性疾病,其发病是由外源物引起的宿主反应、基因和免疫三者互相作用的结果[10-11]。溃疡性结肠炎的病变局限于大肠黏膜及黏膜下层,病变位置大多位于乙状结肠和直肠之间,也可以延伸到降结肠,最后可蔓延至整个直肠[12]。

趋化因子家族是一种由细胞分泌的小细胞因子或信号蛋白[12-13],因其具有诱导附近反应细胞定向趋化的能力,而被命名为趋化细胞因子[14-15]。IL-8、IL-17、IL-10 是临床常见的趋化因子,对其进行检测能够对机体趋化因子的水平进行较为准确的评价[16]。本研究结果显示,过表达 miR-449a 使 IL-8、IL-17下降,IL-10 上升,说明 IL-8、IL-17、IL-10 与溃疡性结肠炎有着密切的联系,过表达 miR-449a 可通过调节 IL-8、IL-17、IL-10 对溃疡性结肠炎起到一定的治疗效果。

免疫球蛋白是指具有抗体活性或化学结构,与抗体成分较为相似的球蛋白[17],共分为 5 类,即 IgG、IgA、IgM、免疫球蛋白 D(immunoglobulin D,IgD)和免疫球蛋白 E(immunoglobulin E,IgE)[18-19]。其中,IgA 在血清中的含量仅次于 IgG 在黏膜组织内的含量[20]。IgM 是分子量最大的免疫球蛋白,主要由脾和淋巴结中浆细胞分泌合成,在血清内无具体表达形式[21-22]。

IgM 具有强大的杀菌、激活补体、免疫调节和凝聚作用,也参与某些自身免疫病及超敏反应的病理过程。IgG 主要分布于血清和组织液中,在人体血清中的含量最高,并且在血清中半衰期长[23-24],是人体免疫反应最重要的物质基础,并且还是唯一能通过胎盘屏障的免疫球蛋白,对新生儿抗感染有着重要作用。本研究结果显示,过表达 miR-449a 能够使免疫球蛋白下降,说明过表达 miR-449a 可通过调节免疫球蛋白的表达改善机体免疫功能,增强机体免疫反应,起到治疗溃疡性结肠炎的作用。

肿瘤坏死因子分 2 种,即 TNF-α 和 TNF-β,是迄今为止发现的直接杀伤肿瘤作用最强的生物活性因子之一[25-26]。TNF-α 是由单核—巨噬细胞分泌而成,能够直接杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无明显毒性。COX 有至少 2 种同工酶,COX-1 与 COX-2,其中 COX-1 称为固有性 COX,COX-2 称为诱生型 COX[27]。COX-2 是一种双功能酶,具有一定的环氧化酶和过氧化酶活性,是催化花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶[28]。炎症损伤主要是由刺激单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等诱导触发炎症反应的关键因子 COX-2 合成导致。本研究结果显示,过表达 miR-449a 组大鼠 TNF-α、COX-2 下降,由此表明过表达miR-449a可有效抑制溃疡性结肠炎中炎症反应蔓延,减轻机体损伤,证实溃疡性结肠炎的发生与炎症反应相关。

miR-449a 是 miRNAs 的一种,在正常情况下,miR-449a在肺、气管、睾丸中高表达,在宫颈、食道中亦有所表达。正常情况下 miR-449a 在机体组织的分化、成熟过程中有着重要的调节功能。PPARγ 是 PPARs 超家族成员的一种亚型,是临床研究中被深入研究的亚型,有着复杂多样的生物学功能,能够参与肠道的运动。本研究结果显示,过表达 miR-449a 之后,大鼠体内 p-p38 下降,PPARγ 上升,NF-κB 下降,说明过表达 miR-449a 能够通过激活 PPARγ,抑制 p-p38/NF-κB 通路,改善肠道运动,减少机体炎症反应对肠黏膜的损伤,起到修复结肠组织的作用。

Claudin-1 表达于上皮细胞及神经周细胞中。有研究表示,Claudin-1 能够减轻肠道炎症反应,促进结肠黏膜愈合,重建肠黏膜屏障的完整性[29]。TLR4 是参与非特异性免疫的一类重要蛋白质分子,也是连接非特异性免疫和特异性免疫的桥梁[30]。本研究结果显示,过表达 miR-449a 组 Claudin-1 上升,TLR4 下降,说明过表达 miR-449a 能够通过改善 Claudin-1、TLR4 来促进肠黏膜愈合,修复肠黏膜。

综上所述,过表达 miR-449a 能够通过调节 p38-PPAPγ/NF-κB 通路,有效抑制溃疡性结肠炎的炎症反应,减少炎症因子表达,对肠黏膜起着修复、保护作用。

[参考文献]

[1] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, et al. Ulcerative colitis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 74. doi: 10.1038/s41572-020-0205-x.

[2] Rubin DT, Ananthakrishnan AN, Siegel CA, et al. ACG Clinical Guideline: Ulcerative Colitis in Adults[J]. Am J Gastroenterol, 2019, 114(3): 384-413. doi: 10.14309/ajg.0000000000000152.

[3] Sharara AI, Al Awadhi S, Alharbi O, et al. Epidemiology, disease burden, and treatment challenges of ulcerative colitis in Africa and the Middle East[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 12(9): 883-897. doi: 10.1080/17474124.2018.1503052.

[4] Ooi CJ, Hilmi I, Banerjee R, et al. Best practices on immunomodulators and biologic agents for ulcerative colitis and Crohn's disease in Asia[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2019, 34(8): 1296-1315. doi: 10.1111/jgh.14648.

[5] Eisenstein M. Ulcerative colitis: towards remission[J]. Nature, 2018, 563(7730): S33. doi: 10.1038/d41586-018-07276-2.

[6] Kucharzik T, Koletzko S, Kannengiesser K, et al. Ulcerative colitis-diagnostic and therapeutic algorithms[J]. Dtsch Arztebl Int, 2020, 117(33-34): 564-574. doi: 10.3238/arztebl.2020.0564.

[7] Hou Q, Ye L, Liu H, et al. Lactobacillus accelerates ISCs regeneration to protect the integrity of intestinal mucosa through activation of STAT3 signaling pathway induced by LPLs secretion of IL-22[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(9): 1657-1670. doi: 10.1038/s41418-018-0070-2.

[8] Duszka K, Ellero-Simatos S, Ow GS, et al. Complementary intestinal mucosa and microbiota responses to caloric restriction[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 11338. doi: 10.1038/s41598-018-29815-7.

[9] Zhu L, Gu P, Shen H. Protective effects of berberine hydrochloride on DSS-induced ulcerative colitis in rats[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 68: 242-251. doi: 10.1016/j.intimp.2018.12.036.

[10] Shao S, Wang D, Zheng W, et al. A unique polysaccharide from Hericiumerinaceus mycelium ameliorates acetic acid-induced ulcerative colitis rats by modulating the composition of the gut microbiota, short chain fatty acids levels and GPR41/43 respectors[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 71: 411-422. doi: 10.1016/j.intimp.2019.02.038.

[11] Biancone L, Ardizzone S, Armuzzi A, et al. Ustekinumab for treating ulcerative colitis: an expert opinion[J]. Expert Opin Biol Ther, 2020, 20(11): 1321-1329. doi: 10.1080/14712598.2020.1792882.

[12] Güvenç M, Cellat M, Özkan H, et al. Protective effects of tyrosol against DSS-induced ulcerative colitis in rats published correction appears in inflammation[J]. Inflammation, 2019, 42(5): 1680-1691. doi: 10.1007/s10753-019-01028-8.

[13] Zhang L, Cao N, Wang Y, et al. Improvement of oxazolone-induced ulcerative colitis in rats using andrographolide[J]. Molecules, 2019, 25(1): 76. doi: 10.3390/molecules25010076.

[14] Morsy MA, Gupta S, Nair AB, et al. Protective effect of spirulina platensis extract against dextran-sulfate-sodium-induced ulcerative colitis in rats[J]. Nutrients, 2019, 11(10): 2309. doi: 10.3390/nu11102309.

[15] Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of disease: inflammatory bowel diseases[J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(1): 155-165. doi: 10.1016/j.mayocp.2018.09.013.

[16] 李 静. TRPV4 对结肠上皮屏障功能的影响及其机制研究[D]. 安徽: 安徽医科大学, 2017. doi: 10.7666/d.D01240599.

doi:10.11659/jjssx.04E021031

·基础研究·

基于有限元模型的骨盆骨折后力学研究

魏国强[1],车丽芳[1],牛晓芬[1],张 凯[2],王 一[1],史国鹏[1],白 灵[1],王海燕[3],李筱贺[3,4],许阳阳[1] (1.长治市人民医院康复医学科,山西 长治 046000;2.乌兰察布市第二医院骨科,内蒙古 乌兰察布 012000;3.内蒙古医科大学基础医学院解剖教研室,内蒙古 呼和浩特 010110;4.内蒙古医科大学数字医学中心,内蒙古 呼和浩特 010110)

[摘 要] **目的** 探讨骨盆骨折保守治疗后不同姿势下骨盆应力分布情况,以提供有关骨盆力学特征的新见解。**方法** 利用患者螺旋CT影像资料进行三维重建,建立骨盆有限元模型,在L_5上终板施加400 N的力,固定坐骨结节,模拟患者骨盆中立位、前倾位、后倾位不同姿势,观察骨盆应力分布情况。**结果** 骨盆前倾20°位在位置1(耻骨上支与右侧髂骨的骨折断面)、位置3(坐骨支的骨折断面)、位置4(耻骨下支的骨折断面)均明显增大,说明在此体位下对骨盆骨折断端影响最大,其次是骨盆后倾10°位与后倾20°位。应力大小次序:前倾20°位(5.25 MPa)>后倾20°位(3.63 MPa)>后倾10°位(3.38 MPa)>前倾10°位(2.18 MPa)>中立位(2.15 MPa)。**结论** 通过建立有限元模型,对骨折位置进行应力分析,得出不同坐位姿势下力学变化趋势,可为康复训练的动作选择提供临床参考。

[关键词] 骨盆骨折;生物力学;有限元分析;应力

[中图分类号] R496 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-04-08

[基金项目] 国家自然科学基金(81460330,81560348,81860383,81260269);内蒙古自治区科技计划项目(2019);内蒙古教育厅青年科技英才项目(njyt-15-b05);内蒙自治区科技计划项目(2019GG115);内蒙古自治区自然科学基金(2016MS08131,2020MS08124,2020LH08021);内蒙古医科大学后续科研项目(2020);内蒙古医科大学科技转化项目(YKD2020CGZH009);内蒙古自治区“草原英才”工程青年创新人才;内蒙古医科大学“治学”人才二类(2021)

[通信作者] 许阳阳,E-mail:1459103211@qq.com;李筱贺,E-mail:798242742@qq.com

[17] Nascimento RPD, Machado APDF, Galvez J, et al. Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models[J]. Life Sci, 2020, 258: 118129. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118129.

[18] Liu JL, Gao YY, Zhou J, et al. Changes in serum inflammatory cytokine levels and intestinal flora in a self-healing dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis murine model[J]. Life Sci, 2020, 263: 118587. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118587.

[19] Neurath MF. IL-23 in inflammatory bowel diseases and colon cancer[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2019, 45: 1-8. doi: 10.1016/j.cytogfr.2018.12.002.

[20] Shen J, Cheng J, Zhu S, et al. Regulating effect of baicalin on IKK/IKB/NF-kB signaling pathway and apoptosis-related proteins in rats with ulcerative colitis[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 73: 193-200. doi: 10.1016/j.intimp.2019.04.052.

[21] Castro-Dopico T, Dennison TW, Ferdinand JR, et al. Anti-commensal IgG drives intestinal inflammation and type 17 immunity in ulcerative colitis[J]. Immunity, 2019, 50(4): 1099-1114. e10. doi: 10.1016/j.immuni.2019.02.006.

[22] Qi Q, Liu YN, Jin XM, et al. Moxibustion treatment modulates the gut microbiota and immune function in a dextran sulphate sodium-induced colitis rat model[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(28): 3130-3144. doi: 10.3748/wjg.v24.i28.3130.

[23] Dong LN, Wang M, Guo J, et al. Influences of probiotics combined with sulfasalazine on rats with ulcerative colitis via the Wnt/β-catenin signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 3(14): 6371-6378. doi: 10.26355/eurrev_201907_18461.

[24] Zhang M, Merlin D. Nanoparticle-based oral drug delivery systems targeting the colon for treatment of ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(7): 1401-1415. doi: 10.1093/ibd/izy123.

[25] Osafo N, Obiri DD, Danquah KO, et al. Potential effects of xylopic acid on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats[J]. Turk J Gastroenterol, 2019, 30(8): 732-744. doi: 10.5152/tjg.2019.18389.

[26] Ganji-Arjenaki M, Rafieian-Kopaei M. Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: a meta analysis and systematic review[J]. Cell Physiol, 2018, 233(3): 2091-2103.

[27] 余海平,李春耕. 双歧杆菌三联活菌片联合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎患者免疫功能及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(29): 3220-3223. doi: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.29.009.

[28] 吴 可,苏鹏飞,佟延新. 美沙拉秦联合双歧杆菌嗜酸乳杆菌肠球菌三联活菌治疗溃疡性结肠炎效果及对患者血清sRAGE、Vaspin、炎性因子等影响[J]. 临床误诊误治, 2020, 33(2): 37-42. doi: 10.3969/j.issn.1002-3429.2020.02.009.

[29] Wu S, Chen Z. Astragaloside IV alleviates the symptoms of experimental ulcerative colitisin vitroandin vivo[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(4): 2877-2884. doi: 10.3892/etm.2019.7907.

[30] Wang JP, Dong LN, Wang M, et al. MiR-146a regulates the development of ulcerative colitis via mediating the TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(5): 2151-2157. doi: 10.26355/eurrev_201903_17260.

(编辑:杨 颖)