

# 溃结灵IV号对溃疡性结肠炎大鼠结肠粘膜 Claudin-2、ZO-1、ICAM-1、TLR2基因表达的影响

宋宁宁, 程丽敏\*, 宋晓霞, 黄爱凤

黑龙江中医药大学附属第一医院肛肠科, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年1月9日; 录用日期: 2022年2月3日; 发布日期: 2022年2月10日

## 摘要

目的: 观察溃结灵IV号保留灌肠对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)大鼠结肠黏膜 claudin-2、ZO-1、ICAM-1、TLR2基因表达的影响, 探讨其治疗UC的可能机制。方法: 实验于2015年6~8月在哈尔滨工业大学生命科学与工程学院实验室进行。SD大鼠60只, 留取10只作为空白对照(BC)组, 其余大鼠利用TNBS溶液灌肠法诱导制作UC大鼠模型, 造模后随机分为模型对照(MC)组, 溃结灵IV号低剂量(LD)组、中剂量(MD)组、高剂量(HD)组和阳性对照组美沙拉嗪(PC)组。HD、MD、LD组分别采用溃结灵IV号高(40 g/kg)、中(20 g/kg)、低(10 g/kg) 3个剂量保留灌肠给药, PC组使用美沙拉嗪(0.4 g/kg)进行灌肠给药, BC组及MC组给等体积的蒸馏水, 检测大鼠结肠黏膜 claudin-2、ZO-1、ICAM-1、TLR2基因表达, 观察溃结灵IV号保留灌肠对TNBS诱导的UC大鼠结肠组织的影响。结果: 1) 闭合蛋白-2 (claudin-2), mRNA的表达: 经PCR扩增、琼脂糖凝胶电泳后, 在200 bp至250 bp位置可见电泳条带 (Cldn2 244 bp)。结果表明溃结灵IV号高剂量、中剂量组及美沙拉嗪组 claudin-2的mRNA表达明显增强, 与空白组的表达接近, 甚至略强于空白组的表达, 模型组、溃结灵IV号高低剂量组 claudin-2的mRNA略有的表达, 表达不明显。2) 细胞粘附分子-1 (intercellular adhesion molecule, ICAM-1) mRNA的表达: 经PCR扩增、琼脂糖凝胶电泳后, 在200 bp至250 bp位置可见电泳条带 (ICAM-1 211 bp)。结果表明正常组 ICAM-1的mRNA表达不明, 美沙拉嗪组 ICAM-1的mRNA表达较正常组弱, 溃结灵IV号高剂量、中剂量、低剂量及模型组 ICAM-1的mRNA表达明显增强, 明显高于空白组的表达。3) TLR2 (toll样受体2, Toll-like receptors 2) mRNA的表达: 经PCR扩增、琼脂糖凝胶电泳后, 在200 bp至250 bp位置可见电泳条带 (TLR2 246 bp)。结果表明正常组 TLR2的mRNA表达较弱, 美沙拉嗪组、溃结灵IV号高剂量、中剂量组 TLR2的mRNA表达较模型组和溃结灵IV号低剂量组明显减弱, 模型组和溃结灵IV号低剂量组 TLR2的mRNA表达明显增强, 明显高于正常组的表达。

## 关键词

溃结灵IV号, Claudin-2, ZO-1, ICAM-1, TLR2, 美沙拉嗪

\*通讯作者。

# Effect of Kuijieling IV on the Expression of Claudin-2, ZO-1, ICAM-1 and TLR2 Genes in Colonic Mucosa of Rats with Ulcerative Colitis

Ningning Song, Limin Cheng\*, Xiaoxia Song, Aifeng Huang

Anorectal Department, The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

Received: Jan. 9<sup>th</sup>, 2022; accepted: Feb. 3<sup>rd</sup>, 2022; published: Feb. 10<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** To observe the gene expression of claudin-2, ZO-1, ICAM-1 and TLR2 of Kuijieling IV retention enema p-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced ulcerative colitis (UC) rats and explore the possible mechanism of its treatment of UC. **Methods:** The experiment was conducted in the laboratory of School of Life Science and Engineering, Harbin Institute of Technology from June to August 2015. Sixty SD rats were used, and 10 were used as the blank control (BC) group. The remaining rats were induced by TNBS solution enema to make UC rat models. After modeling, they were randomly divided into model control (MC) group and Kuijieling IV No. low-dose (LD) group, middle-dose (MD) group, high-dose (HD) group and positive control group Mesalazine (PC) group. HD, MD, and LD groups were administered with Kuijieling IV high (40 g/kg), medium (20 g/kg), and low (10 g/kg) three-dose retention enema, and PC group used mesalazine (0.4 g/kg) for enema administration, BC group and MC group were given equal volume of distilled water to detect the gene expression of claudin-2, ZO-1, ICAM-1, and TLR2 in rat colonic mucosa. **Results:** 1) Expression of claudin-2 (claudin-2) mRNA: After PCR amplification and agarose gel electrophoresis, electrophoretic bands (Cldn2 244 bp) were visible from 200 bp to 250 bp. The results showed that the expression of claudin-2 mRNA of Kuijieling IV high-dose, middle-dose group and mesalazine group was significantly enhanced, which was close to the expression of the blank group, and even slightly stronger than that of the blank group. The model group, Kuijieling IV The mRNA of claudin-2 in the high and low dose group was slightly expressed, but the expression was not obvious. 2) mRNA expression of intercellular adhesion molecule-1 (intercellular adhesion molecule, ICAM-1): after PCR amplification and agarose gel electrophoresis, an electrophoretic band (ICAM-1 211 bp) can be seen at 200 bp to 250 bp. The results showed that the mRNA expression of ICAM-1 in the normal group was unknown, and the mRNA expression of ICAM-1 in the mesalazine group was weaker than that in the normal group. The high-, medium-, and low-dose Kuijieling IV was significantly expressed in the model group, obviously higher than the expression of the blank group. 3) TLR2 (toll-like receptors 2, Toll-like receptors 2) mRNA expression: After PCR amplification and agarose gel electrophoresis, the electrophoretic band (TLR2 246 bp) can be seen at 200 bp to 250 bp. The results showed that the mRNA expression of TLR2 in the normal group was weak. The mRNA expression of TLR2 in the mesalazine group, Kuijieling IV high-dose, and medium-dose group was significantly weaker than that in the model group and Kuijieling IV low-dose group. The expression of TLR2 mRNA in the low-dose group of Kuijieling IV was significantly enhanced, which was significantly higher than that in the normal group.

## Keywords

Kuijieling IV, Claudin-2, ZO-1, ICAM-1, TLR2, Mesalazine

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,常累及结直肠黏膜和黏膜下层,以连续性、弥漫性炎症改变为特点,临床主要表现为腹泻、腹痛和黏液脓血便,并可出现严重并发症。其病程迁延,易反复发作,且有癌变倾向,被 WHO 列为现代难治病之一[1]。随着经济社会的快速发展,UC 的发病率呈大幅度上升,对患者造成了极大的痛苦,严重影响工作和生活。然而,UC 的发病机制尚不清楚,所以,对于 UC 的发病机制及其治疗的研究意义重大。溃结灵 IV 号是黑龙江中医药大学附属第一医院肛肠科研制的用于保留灌肠治疗 UC 患者,有多年的临床经验,治疗效果显著,尤其适用于溃疡性乙状结肠、直肠炎的治疗。本实验通过三硝基苯磺酸(TNBS)诱导制作 UC 模型大鼠,观察溃结灵 IV 号对 UC 模型大鼠的保护作用,探讨其作用机制,为日后的临床应用提供可靠的依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 实验动物

健康 SD 大鼠共 60 只,体重 180~220 g 之间,雌雄各半。由黑龙江中医药大学实验动物中心繁殖提供,合格证号: SCXK(黑) 2008004。

#### 2.1.2. 药物

溃结灵 IV 号组成:白头翁 12 g,黄连 12 g,穿山龙 12 g,地榆炭 15 g,赤石脂 15 g,马齿苋 12 g,黄柏 12 g,大黄 10 g,黄芪 10 g,肉豆蔻 10 g,由黑龙江中医药大学附属第一医院提供。美沙拉嗪肠溶片:葵花药业佳木斯鹿灵制药有限公司。

#### 2.1.3. 试剂

焦碳酸二乙酯(DEPC)、硼酸(Boric acid)、Tris 碱、乙二胺四乙酸(EDTA)、琼脂糖(Agarose)、溴化乙锭、总 RNA 提取试剂盒(Sangon RNA Kit)、Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (两步法逆转录试剂盒), Fermentas 公司, SYBR Green PCR Master Mix (Applied Bio systems)引物采 premier 5.0 设计,购自北京市赛百盛公司。

#### 2.1.4. 仪器

neAm5700 p TaqMAN PCR 仪,美国 Applied Biosystems 公司;凝胶图像分析仪, Image Master VDS, 美国 pharmacia Biotech 公司;高速冷冻离心机,德国 BACKMAN 公司;紫外线分光光度计,德国 BACKMAN 公司 DU640 型;恒温恒湿箱 SPX-150 C 型,上海博迅有限公司;电泳仪,北京六一仪器厂 OYY-III-5 型。

## 2.2. 实验方法

### 2.2.1. 动物分组

动物分组: 60 只 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 体重 180~220 g 之间, 随机选取 10 只作为空白对照(BC)组, 其余大鼠进行造模, 分为模型对照(MC)组, 溃结灵 IV 号高剂量(HD)组、中剂量(MD)组、低剂量(LD)组和阳性对照组美沙拉嗪(PC)组, 每组 20 只。

### 2.2.2. 造模方法

使用三硝基苯磺酸(TNBS)诱导法[2][3][4], 138 只 SD 大鼠, 造模前禁食 24 小时, 用乙醚麻醉, 将橡胶管(直径 2 mm)轻轻由肛门插入, 深度为 8 cm, 推入 TNBS 溶液(原液与无水乙醇 1:1 混合)按体重给药, 剂量为 100 mg/kg, 给药后捏紧肛门平放 5 min 即可, 给药后常规饲养。

### 2.2.3. 给药方法

造模后第 2 天, LD 组、MD 组、HD 组予溃结灵 IV 号分别按 10 g/kg、20 g/kg、40 g/kg 剂量由肛门保留灌肠, PC 组予美沙拉嗪按 0.4 g/kg 由肛门灌肠给药, BC 组及 MC 组给等体积的蒸馏水, 每天给药 1 次, 称体质量 1 次。

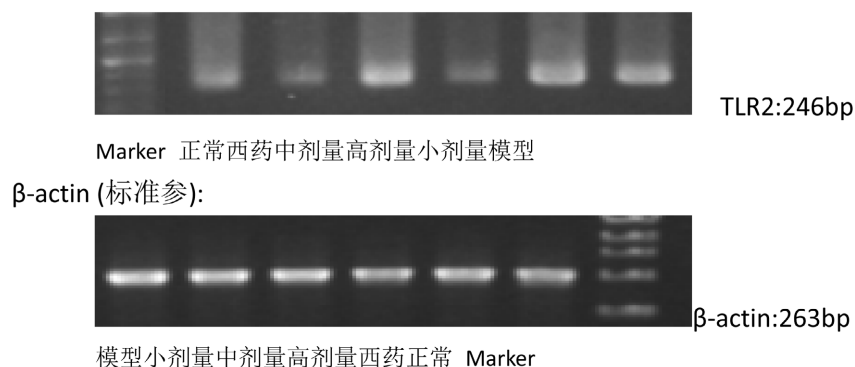
## 2.3. 检测方法

mRNA 表达: 1) 总 RNA 提取: 取 300 mg 组织, 放到 1.5 ml EP 管中, 加入 1 ml Isogen 冰上匀浆, 室温静置 5 分钟加 0.2 ml 氯仿, 快速剧烈摇动约 30 秒, 温静置 5 分钟, 12,000×g, 4℃离心, 15 分钟, 离心后, 吸取上层无色水相, 移入另一个 EP 管中(0.5 ml)。加 0.5 ml 异丙醇, 轻轻上下翻转 5 回, 室温静置 10 分钟。12,000×g, 4℃离心, 15 分钟。离心后确认管底部有微量 RNA 沉淀。弃上清, 将 EP 管倒置约 2 分钟, 干燥 RNA 沉淀, 但不可干燥过度。加 75%乙醇 1 ml, -20℃保存 30 分钟以上。振荡混合, 12,000×g, 4℃离心, 3 分钟。离心后弃上清, EP 管倒置在滤纸上, 室温干燥 RNA 沉淀 5~10 分钟。沉淀溶于 20 μl 或 50 μl DEPC 水, 室温孵育 3~5 分钟。2) RNA 浓度测定: 调零、测量, 逆转录反应条件: 42℃: 50 分钟; 70℃: 10 分钟; -20℃冰箱保存, 长期-70℃保存。3) 引物序列: 根据美国基因生物库提供基因核酸序列, 选取 G+C 含量约 50%的无发卡结构相互间无同源序列两段特异性保守序列, 由 premier5.0 设计软件设计, 由北京赛百盛公司合成。4) 逆转录聚合酶链反应 RT-PCR: 引物稀释: 通常购入的引物(primer)为 50 μM, 需用 MilliQ 水稀释成 10 μM。首先, 引物离心后, 用 DEPC 水或双蒸水稀释成 10 倍母液, 再取 5 μl 母液加入 45 μl DEPC 水或双蒸水 10 倍稀释成操作液。5) PCR 循环。6) 凝胶电泳: 样本孔: 取 PCR 产物 10 μl 加 6×Loading Buffer 2 μl (PCR 产物:Loading Buffer = 5:1, 可自行调整剂量), 混合后取 10 μl。Mark 孔: 取 10 μl Mark。2%琼脂糖凝胶电泳 120 V 100 mA 30 min; 溴化乙锭染色。7) 凝胶成像。

## 3. 结果

### 3.1. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜 TLR2 (Toll 样受体 2, Toll-Like Receptors 2) mRNA 的表达

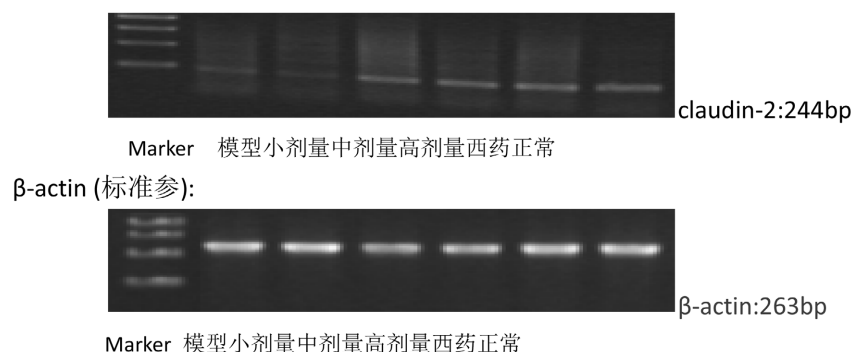
经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳后, 在 200 bp 至 250 bp 位置可见电泳条带(TLR2 246 bp)。结果表明正常组 TLR2 的 mRNA 表达较弱, 美沙拉嗪组、溃结灵 IV 号高剂量、中剂量组 TLR2 的 mRNA 表达较模型组和溃结灵 IV 号低剂量组明显减弱, 模型组和溃结灵 IV 号低剂量组 TLR2 的 mRNA 表达明显增强, 明显高于正常组的表达(见图 1)。



**Figure 1.** Effect of Kuijieling IV on the expression of TLR2 in colonic mucosa of UC rats  
**图 1.** 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜 TLR2 的表达

### 3.2. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜闭合蛋白-2 (Claudin-2) mRNA 的表达

经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳后，在 200 bp 至 250 bp 位置可见电泳条带(Cldn2 244 bp)。结果表明溃结灵 IV 号高剂量、中剂量组及美沙拉嗪组 claudin-2 的 mRNA 表达明显增强，与空白组的表达接近，甚至略强于空白组的表达，模型组、溃结灵 IV 号高低剂量组 claudin-2 的 mRNA 略有的表达，表达不明显(见图 2)。



**Figure 2.** Effect of Kuijieling IV on the expression of claudin-2 mRNA in colonic mucosa of UC rats

**图 2.** 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜闭合蛋白-2 (claudin-2) mRNA 的表达

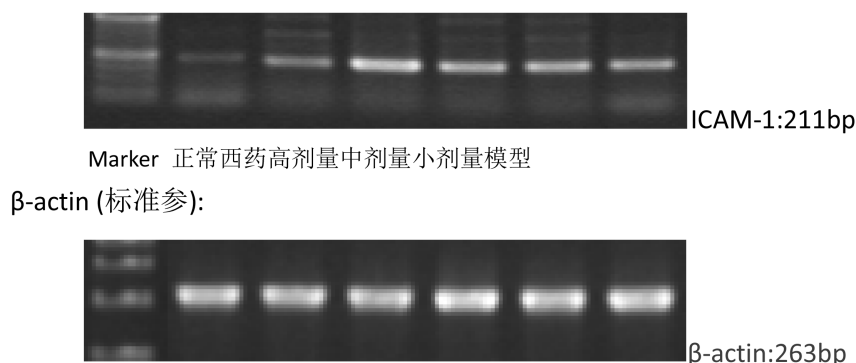
### 3.3. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜细胞粘附分子-1 (Intercellular Adhesion Molecule, ICAM-1) mRNA 的表达影响

经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳后，在 200 bp 至 250 bp 位置可见电泳条带(ICAM-1 211 bp)。结果表明正常组 ICAM-1 的 mRNA 表达不明，美沙拉嗪组 ICAM-1 的 mRNA 表达较正常组弱，溃结灵 IV 号高剂量、中剂量、低剂量及模型组 ICAM-1 的 mRNA 表达明显增强，明显高去强于空白组的表达(见图 3)。

### 3.4. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜 TLR2 (Toll 样受体 2, Toll-Like Receptors 2) mRNA 的表达

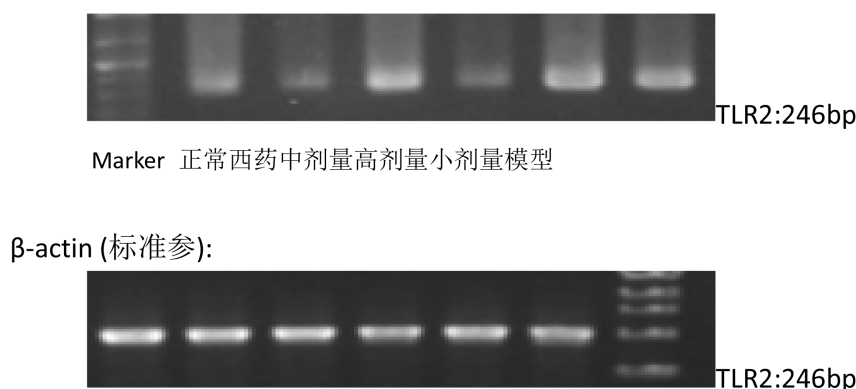
经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳后，在 200 bp 至 250 bp 位置可见电泳条带(TLR2 246 bp)。结果表明正常组 TLR2 的 mRNA 表达较弱，美沙拉嗪组、溃结灵 IV 号高剂量、中剂量组 TLR2 的 mRNA 表达较

模型组和溃结灵 IV 号低剂量组明显减弱,模型组和溃结灵 IV 号低剂量组 TLR2 的 mRNA 表达明显增强,明显高于正常组的表达(见图 4)。



**Figure 3.** Effect of Kuijieling IV on the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) mRNA in colonic mucosa of UC rats

**图 3.** 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜细胞粘附分子-1 (intercellular adhesion molecule, ICAM-1) mRNA 的表达影响



**Figure 4.** Effect of Kuijieling IV on the expression of TLR2 (Toll like receptor 2) mRNA in colonic mucosa of UC rats

**图 4.** 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜 TLR2 (toll 样受体 2, Toll-like receptors2) mRNA 的表达

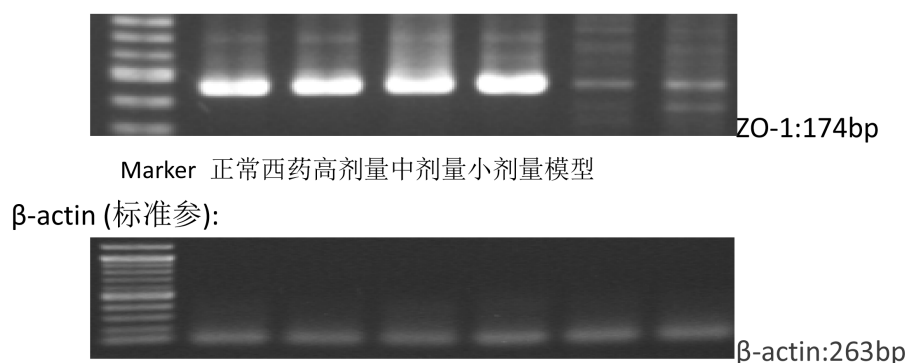
### 3.5. 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜带状闭合蛋白-1 (Zonula Occludens, ZO-1, Tight Junction Protein 1, Tjp1) mRNA 的表达

经 PCR 扩增、琼脂糖凝胶电泳后,在 150 bp 至 200 bp 位置可见电泳条带(ZO-1 174 bp),结果表明正常组 ZO-1 的 mRNA 表达强,美沙拉嗪组、溃结灵 IV 号高剂量、中剂量组 ZO-1 的 mRNA 表达与正常组相似,也是强表达,溃结灵 IV 号低剂量组及模型组 ZO-1 的 mRNA 表达明显减弱,仅有少量表达(见图 5)。

## 4. 结论

Claudin 是细胞间紧密连接的主要功能蛋白,通过细胞屏障、细胞旁路转运和信号转导保持了细胞内环境的平衡。Claudin 蛋白在急性胆源性感染肠黏膜屏障功能的进展中发挥重要作用[5] [6]。Claudin 蛋白是机体内构成紧密连接的最主要的功能分子,可维持紧密连接特有的栅栏功能和机械屏障功能,其异常

表达可导致紧密连接破坏, 导致包括过敏性疾病、遗传性疾病和先天性疾病各个系统的感染性疾病及肿瘤等多种疾病的发生。研究中发现使用美沙拉嗪保留灌肠后 claudin-2 的 mRNA 表达增强, 说明紧密连接蛋白 claudin-2 可以作为溃疡性结肠炎肠道机械屏障保护作用的观测指标, 中药溃结灵 IV 号能够增强 UC 大鼠结肠粘 claudin-2 的 mRNA 表达, 溃结灵 IV 号具有保护溃疡性结肠炎结肠粘膜机械屏障的功能。claudin-2 在 UC 中的研究较少, 临床中尚未见报道。本实验中发现 claudin-2 可以作为检测结肠机械屏障功能的检测指标。



**Figure 5.** Effect of Kuijieling IV on the mRNA expression of zonula occludens, ZO-1, tight junction protein 1 (tjp1) in colonic mucosa of UC rats

**图 5.** 溃结灵 IV 号对 UC 大鼠结肠粘膜带状闭合蛋白-1 (zonula occludens, ZO-1, tight junction protein 1, Tjp1) mRNA 的表达

ZO-1 (zonula occludens-1)是构成肠道紧密连接的重要成分之一, 是最早发现与紧密连接相关的蛋白 [7] [8] [9], 研究发现正常组 ZO-1 的 mRNA 表达强, 造模 21 天后, UC 大鼠结肠粘膜中 ZO-1 的 mRNA 表达明显减弱, 仅有少量表达, UC 大鼠用药保留灌肠 21 天后, 美沙拉嗪组、溃结灵 IV 号组 ZO-1 的 mRNA 表达与正常组相似, 也是强表达。说明中药溃结灵 IV 号对溃疡性结肠炎有机屏障保护功能。

细胞间粘附分子(ICAM-1), 又称 CD54, 是免疫球蛋白超家族中的单链跨膜球蛋白, 它是一类介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间粘附作用的膜表面糖蛋白, 参与肠道上皮细胞的屏障保护作用, 其表达受多种因素的影响, 如自身免疫病、创伤、白血病及细胞因子等。在本研究中发现经过美沙拉嗪的治疗, 结肠粘膜中 ICAM-1 的 mRNA 表达明显下降, 证明 ICAM-1 参与肠道上皮细胞的屏障保护作用, ICAM-1 在溃疡性结肠炎的发生发展中起重要作用, 溃结灵 IV 号组及模型组 ICAM-1 的 mRNA 表达明显增强, 明显强于正常组的表达。

Toll 样受体(TLRs)是天然免疫系统的一种细胞跨膜糖蛋白, 通过对病原微生物的识别触发信号转导通路从而激活免疫系统。研究发现 TLRs 与溃疡性结肠炎关系密切, 是研究 UC 发病机理的一个新的靶点。我们研究发现治疗后的美沙拉嗪组、溃结灵 IV 号高剂量、中剂量组结肠粘膜中 TLR2 的 mRNA 表达较模型组和溃结灵 IV 号低剂量组明显减弱, 模型组和溃结灵 IV 号低剂量组 TLR2 的 mRNA 表达明显增强, 明显强于正常组的表达。说明 TLR2 与溃疡性结肠炎关系密切, 炎症越重 TLR2 的表达越显著, 而中药溃结灵 IV 号能够抑制 TLR2 的表达。

总体来看, 溃结灵 IV 号以白头翁为君药, 黄连、黄柏为臣药, 地榆炭、赤石脂、穿山龙、大黄为佐药, 黄芪、肉豆蔻、马齿苋为使药, 诸药合用, 具有增强免疫力、抗菌、抗病毒, 抗溃疡等作用。溃结灵 IV 号通过改善基因表达, 恢复肠道上皮细胞的屏障保护作用, 减轻肠道炎症反应, 对于溃疡性结肠炎的治疗提供理论指导。

## 基金项目

黑龙江省自然科学基金项目(H201480); 黑龙江省教育厅面上项目(12521503)。

## 参考文献

- [1] 宋亚芳, 裴丽霞, 赵婷婷, 孙建华. 溃疡性结肠炎免疫因素发病机制的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(4): 432-436.
- [2] Foligne, B., Nutten, S., Steidler, L., *et al.* (2006) Recommendations for Improved Use of the Murine TNBS-Induced Colitis Model in Evaluating Anti-Inflammatory Properties of Lactic Acid Bacteria: Technical and Microbiological Aspects. *Digestive Diseases and Sciences*, **51**, 390-400. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-3143-x>
- [3] 郑礼, 高振强, 王淑仙. 大鼠溃疡性结肠炎模型的实验研究[J]. 中国药理学通报, 1998, 14(4): 370-372.
- [4] Inokuchi, Y., Morohashi, T., Kawana, I., *et al.* (2005) Amelioration of 2,4,6-Trinitrobenzene Sulphonic Acid Induced Colitis in Angiotensinogen Gene Knockout Mice. *Gut*, **54**, 349-356. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.036343>
- [5] Stremnitzer, C., Manzano-Szalai, K., Willensdorfer, A., *et al.* (2015) Papain Degrades Tight Junction Proteins of Human Keratinocytes *in Vitro* and Sensitizes C57BL/6 Mice via the Skin Independent of Its Enzymatic Activity or TLR4 Activation. *Journal of Investigative Dermatology*, **135**, 1790-1800. <https://doi.org/10.1038/jid.2015.58>
- [6] Bhat, A.A., Uppada, S., Achkar, I.W., *et al.* (2018) Tight Junction Proteins and Signaling Pathways in Cancer and Inflammation: A Functional Crosstalk. *Frontiers in Physiology*, **9**, 1942. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01942>
- [7] Barboza Junior, M.S., Silva, T.M., Guerrant, R.L., *et al.* (1999) Measurement of Intestinal Permeability Using Mannitol and Lactulose in Children with Diarrheal Diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **32**, 1499-1540. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X1999001200008>
- [8] 蔡元坤, 秦新裕. D-乳酸与肠道屏障功能[J]. 国外医学·外科学分册, 2004, 31(6): 331-335.
- [9] 姚咏明, 盛志勇, 吴叶, 等. 大鼠急性肠缺血后血浆 D-乳酸的变化及其与肠黏膜损害的关系[J]. 中国整形烧伤外科杂志, 1998(4): 266-269.