

SLC26A3 与 NHERF4 在溃疡性结肠炎小鼠肠道组织中的动态表达研究

杨奉天¹, 王 艳¹, 黄俊凯¹, 李 婉¹, 徐丽红^{2,3}

摘要 目的 观察分析钠氢转运体调节因子 4 (NHERF4) 和溶质载体 26A3 (SLC26A3) 在小鼠结肠炎模型炎症发展过程中的动态表达, 为后期研究溃疡性结肠炎 (UC) 发病机制提供实验基础。方法 以 C57BL/6J 小鼠为研究对象, 采用恶唑酮 (OXZ) 诱导法制造 UC 模型, 分别在第 6、8、10、14 天处死小鼠, 运用疾病活动指数 (DAI) 评价小鼠结肠炎严重程度; 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blot 法分别检测小鼠肠道中 SLC26A3 及 NHERF4 的 mRNA 和蛋白水平变化。结果 与同期对照组相比, 实验组第 8 天小鼠肠黏膜中 SLC26A3 的 mRNA 量降低 ($P < 0.05$), 而 NHERF4 的 mRNA 量增高 ($P < 0.05$), 结肠炎活动恢复过程中 SLC26A3 的蛋白表达呈先降低后增高的趋势, 与 NHERF4 的蛋白表达及 DAI 评分呈负相关性, NHERF4 的蛋白表达呈先增高后降低的趋势, 与 DAI 评分变化趋势同步。结论 在小鼠结肠炎的进展过程中, SLC26A3 变化趋势与 NHERF4 的变化趋势相反, 提示在 UC 发生发展过程中 NHERF4 可能参与调节 SLC26A3 的表达改变, 但该结论需要进一步的干预实验进行验证。

关键词 溃疡性结肠炎; 溶质载体 26A3; 钠氢转运体调节因子 4

中图分类号 R 574.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)01-0079-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.01.016

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性复发的肠道炎症性疾病, 近年因其逐年增高的发病率而成为消化系统疾病的研究热点^[1]。UC 发病机制复杂, 肠黏膜屏障及细胞屏障功能受损是其发病的重要机制之一^[2]。溶质载体 26A3 (solute carrier 26A3, SLC26A3) 是哺乳类动物肠上皮细胞顶

端膜上主要 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 离子转运体^[3], 其功能缺陷所引起的 HCO_3^- 分泌减少及 Cl^- 吸收异常可以导致黏膜屏障的稳定性下降^[4], 已有研究^[5]证实 UC 患者中存在 SLC26A3 的表达缺陷, 但其发生机制并不清晰。钠氢交换体调节因子 4 (sodium/proton exchanger regulatory factor 4, NHERF4) 是主要表达在肠道中的 PDZ 结构域蛋白 (PDZ-domain proteins)^[6], 既往细胞学研究^[7]显示 NHERF4 可负性调控 SLC26A3 的表达, NHERF4 可能在 UC 发展中参与调控 SLC26A3 的表达, 但目前尚无文献证实 NHERF4 在 UC 中的表达改变。该研究利用恶唑酮 (Oxazolone, OXZ) 法制备 C57BL/6J 小鼠结肠炎动物模型, 观察其远端结肠中 SLC26A3 和 NHERF4 mRNA 和蛋白的动态表达, 初步评估 NHERF4/SLC26A3 是否参与 UC 的发生发展。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 48 只雌性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠由新疆自治区实验动物研究中心提供。6 周龄, 体质量 16~18 g, 状态优良, 常规饲养。

1.1.2 主要试剂与仪器 OXZ 致敏剂 (生产编号: MKBS4435V) 购自美国 Sigma 公司; 细胞浆蛋白与细胞膜蛋白提取试剂盒购自北京碧云天公司; RIPA 总蛋白提取试剂盒购自北京索莱宝公司; SLC26A3 Western blot 抗体 (编号: sc-376187) 购自美国 Santa 公司; NHERF4 Western blot 抗体 (编号: ab182507) 购自美国 Abcam 公司; β -actin 抗体、山羊抗小鼠及山羊抗兔抗体购自北京中杉金桥公司; 荧光定量 PCR 试剂盒购自德国 Qiagen 公司; cDNA 合成试剂盒、低温高速离心机、紫外分光光度计购自美国 Thermo 公司; Bio-RAD 电泳仪、转膜仪购自美国 BIO 公司; SLC26A3、NHERF4 基因引物设计、合成由生工生物工程 (上海) 股份有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 OXZ 法建立 C57BL/6J 小鼠结肠炎模型

48 只 C57BL/6J 小鼠称重后按质量顺序编号, 随机

2018-08-30 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81660095)

作者单位: ¹石河子大学医学院, 石河子 832000

²石河子大学医学院第一附属医院消化内科, 石河子 832000

³成都市第五人民医院消化内科, 成都 611130

作者简介: 杨奉天, 男, 硕士研究生;

徐丽红, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: xueli_2006@126.com

数表法分为对照组 ($n = 24$) 与实验组 ($n = 24$)。实验组小鼠腹腔注射 60 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉,背部备皮 4% OXZ(100% 乙醇溶剂) 1 ml 溶液涂抹 2 d,第 7 天戊巴比妥钠麻醉后,直肠灌注质量分数为 1% 的 OXZ(50% 乙醇溶剂) 0.3 ml。对照组小鼠无水乙醇 1 ml 背部涂抹,直肠灌注 50% 酒精溶液 0.3 ml。保留灌肠 30 min 后拔出灌肠器。

1.2.2 采用 UC 疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评价小鼠结肠炎严重程度。在造模过程中,每日测量并记录小鼠体质量、粪便含水、大便性状、大便潜血和血便等指标。DAI 评分参考 Sutherland et al^[8] 标准: 隐血实验阴性且粪便成形 0 分; 粪便松散不粘附肛门,若隐血阴性 1 分,阳性 2 分; 粪便液态且隐血阳性 3 分; 肉眼血便 4 分。

1.2.3 病理组织学观察小鼠结肠黏膜炎症情况。根据 DAI 变化趋势,选取第 6、8、10、14 天作为小鼠结肠炎活动前期、活动期、恢复期的时间节点(该实验数据来源于前期预实验),留取组织标本。1% 戊巴比妥钠 60 mg/kg 腹腔注射麻醉小鼠,取远端结肠 1/3(约距肛口 1 cm),剪开结肠后 4 ℃ 生理盐水冲洗干净,4% 甲醛溶液固定 24 h 后石蜡包埋,切片,经二甲苯脱蜡和乙醇水化,苏木精-伊红染色,乙醇水化,晾干后封片,行组织病理学观察。

1.2.4 qRT-PCR 检测小鼠肠组织 SLC26A3 与 NHERF4 的 mRNA 水平 ① 分别于实验进行第 6、8、10、14 天,将小鼠麻醉后剖腹,取距肛口 1 cm 内结肠组织; ② 用 TRIzol 法提取结肠组织的总 RNA,紫外分光光度计测量总 RNA 的浓度与纯度,选取吸光度值(optical density, OD) 260 nm/OD280 nm 的值在 1.8~2.0 范围内,按照 cDNA 合成试剂盒说明书进行逆转录; ③ SLC26A3 上游引物序列为: 5'-TTC-CCCTCAACAACATCACCATCC-3', 下游引物: 5'-GTCTGCCTTGTGGTTGTCCT-3'; NHERF4 上游引物序列为: 5'-TTCCTCACAACCAACTCACCAG-3', 下游引物: 5'-CAGGAAGTGTCCAGGGCGAC-3'; β -Actin 上游引物: 5'-CACGATGGAGGGCCGGACTCATC-3', 下游引物: 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3'; ④ 采用荧光定量 PCR 试剂盒在 64 孔 ABI Prism 7300 序列检测系统进行检测。内参基因与目的基因各重复 3 次,同时设 3 个阴性对照,建立总体积为 20 μ l 的反应体系,反应条件为: 95 ℃、2 min(1 个循环); 95 ℃、5 s; 60 ℃、30 s(40 个循环),循环结束后得到扩增曲线; 95 ℃、15 s; 60 ℃、1 min; 95 ℃、30 s, 60 ℃、15 s 后得到溶解曲线。

1.2.5 Western blot 观察 SLC26A3 及 NHERF4 蛋白的定量表达。液氮保存标本,取出,根据试剂盒说明书分别提取膜蛋白及总蛋白,测蛋白浓度,5 \times 上样缓冲液混匀后煮沸 8 min 使蛋白变性。SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜后 5% 牛血清(BSA) 洗涤,缓冲液(TBST) 室温封闭 2 h,5% BSA 的 TBST 稀释 SLC26A3(1 : 100) 和 NHERF4(1 : 1 000) 抗体, β -actin(1 : 1 000) 作为内参,4 ℃ 过夜。洗膜后 5% BSA 的 TBST 稀释抗兔和抗鼠的二抗(均为 1 : 10 000) 37 ℃ 孵育 2 h,洗膜后显色,暗室内胶片曝光。采图后 Gel-pro 软件图像数据分析灰度值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。记录 DAI 评分、mRNA 相对含量、Western blot 检测蛋白灰度值,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。Kolmogorov-Smirnov 检测正态分布,Levene 统计量检测方差齐性,多种样本采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-P; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠粪便含水量、体质量、DAI 变化趋势

2.1.1 粪便含水量 小鼠粪便含水量呈现先增高后减少的趋势。实验组在第 8 天粪便含水量明显增高,第 10 天达到高峰。实验组第 8 天粪便含水量(69.92% \pm 5%) 较实验开始时增高(40.47% \pm 6.5%, $P < 0.05$),在第 10 天最高(95.56% \pm 2.3%),对照组第 8 天的粪便含水量(49.2% \pm 4%) 与实验开始时变化不显著(40.92% \pm 13%, $P > 0.05$),见图 1。

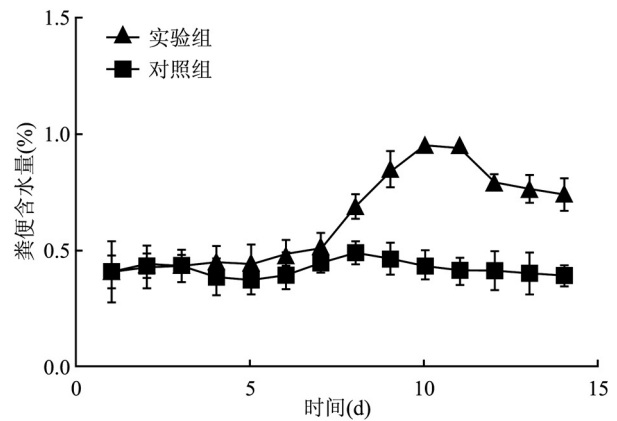


图 1 小鼠粪便含水量变化

2.1.2 小鼠体质量 实验组体质量先升高后减少。实验组体质量于第 8 天开始明显下降 [(17.65 \pm

1.04) g],较实验组第7天明显下降 [(18.73 ± 0.7) g, $P < 0.05$],对照组第8天体质量 [(16.25 ± 0.5) g]与实验开始时 [(16.24 ± 0.4) g, $P > 0.05$]比较,变化不显著,见图2。

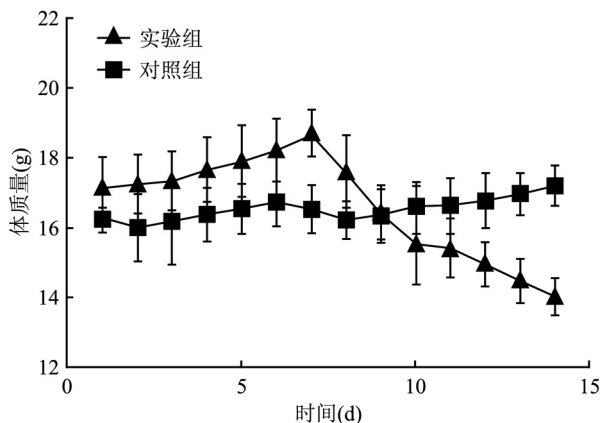


图2 小鼠体质量变化趋势

2.1.3 小鼠 DAI 变化趋势 实验组在第8天出现大便不成形,且部分出现肉眼血便,其第8天 DAI 评分(1.26 ± 0.26)较实验开始时(0.42 ± 0.21)明显增高($P < 0.05$),且高于同期对照组 DAI 评分(0.94 ± 0.3, $P < 0.05$),其第14天 DAI 评分(2.3 ± 0.8)较第10天(2.61 ± 0.4)下降,但仍高于对照组第14天的 DAI 评分(0.2 ± 0.1),见图3。即实验组 DAI 评分在第8天开始上升,第10天达到峰值,第14天下降,呈先上升后降低趋势。

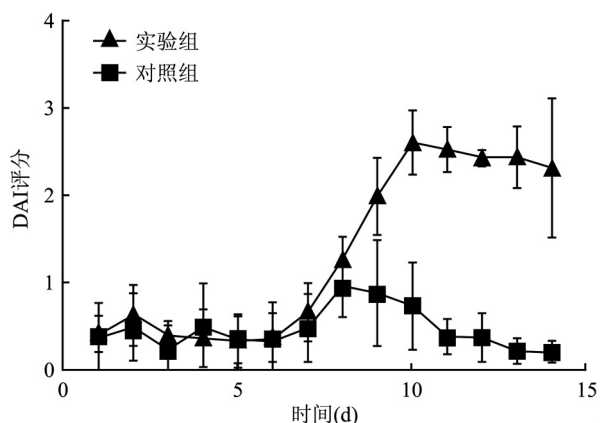


图3 小鼠 DAI 变化趋势

2.2 结肠黏膜组织学观察 结肠黏膜大体组织学观察:实验组第8天出现远端结肠黏膜红肿、充血,部分结肠黏膜表面可见脓苔附着,并有溃疡形成,病变以中远段结肠为主,同期对照组远端结肠黏膜仅

轻微水肿,无糜烂,无溃疡形成。结肠黏膜显微镜下病理组织学观察:对照组各时间点结肠黏膜无异常炎症细胞浸润;实验组第6天结肠黏膜与对照组相似,实验组第8天及第10天结肠黏膜可见上皮细胞脱落,正常杯状细胞减少、萎缩,淋巴细胞浸润,可见隐窝脓肿,炎症局限于黏膜和黏膜下层,实验组第14天结肠黏膜未见明显肠上皮细胞缺失,正常杯状细胞较前增多,炎细胞减少,见图4,箭头所指为隐窝内脓肿。提示实验组小鼠结肠黏膜病理组织学改变与人 UC 结肠黏膜病理组织学改变相似。

2.3 小鼠肠道组织的 SLC26A3 mRNA 表达水平

与对照组比较,实验组小鼠肠道组织的 SLC26A3 mRNA 的表达降低,且实验组第8、10天表达均低于同期对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。小鼠肠道组织 NHERF4 mRNA 的表达,实验组第8天表达高于同期对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.4 SLC26A3 与 NHERF4 的蛋白表达

Western blot 检测 SLC26A3 蛋白定量表达的结果显示,与同期对照组比较,实验组各时间点结肠黏膜中 SLC26A3 的表达均降低,其中以第10天差异最为显著(对照组第10天 vs 实验组第10天:0.83 ± 0.05 vs 0.13 ± 0.01, $P < 0.05$);同时在实验组炎症进展、恢复过程中,以第10天 SLC26A3 表达水平最低(第10天 vs 第6天:0.13 ± 0.01 vs 0.76 ± 0.03, $P < 0.05$;第10天 vs 第14天:0.13 ± 0.01 vs 0.31 ± 0.04, $P < 0.05$),见图5,即小鼠肠黏膜中 SLC26A3 表达在炎症活动期降低的更为明显。Western blot 检测 NHERF4 蛋白定量表达的结果显示,与同期对照组比较,实验组各时间点结肠黏膜中 NHERF4 的表达明显增高,其中以第8天差异最为显著(对照组第8天 vs 实验组第8天:0.23 ± 0.004 vs 0.56 ± 0.02, $P < 0.05$);同时在实验组炎症进展、恢复过程中,以第8天的表达水平最高(第8天 vs 第6天:0.56 ± 0.02 vs 0.32 ± 0.02, $P < 0.05$;第8天 vs 第14天:0.56 ± 0.02 vs 0.34 ± 0.02, $P < 0.05$),见图5,提示在活动期结肠黏膜中 NHERF4 的表达明显上升。尽管实验组第14天结肠黏膜中 NHERF4 的表达水平开始下降,但与同期对照组比较,其表达水平仍明显增高(实验组第14天 vs 对照组第14天:0.34 ± 0.02 vs 0.20 ± 0.02, $P < 0.05$),这可能与肠道黏膜细胞功能尚未完全恢复有关。

2.5 NHERF4、SLC26A3 与 DAI 在疾病发展过程

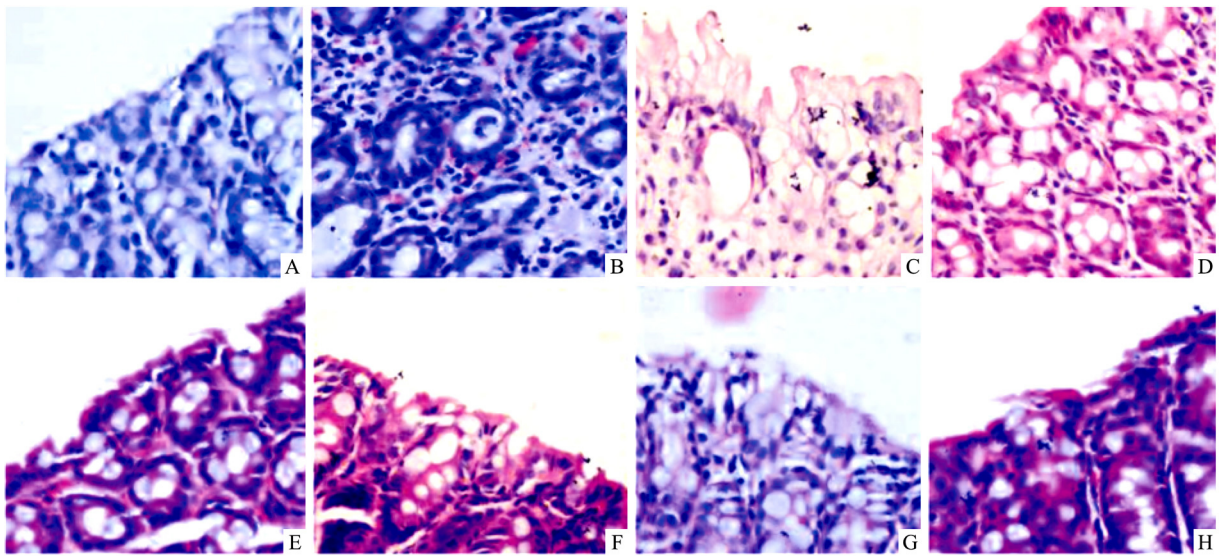


图4 小鼠结肠炎模型 HE 染色 ×400

A: 实验组 6 d; B: 实验组 8 d; C: 实验组 10 d; D: 实验组 14 d; E: 对照组 6 d; F: 对照组 8 d; G: 对照组 10 d; H: 对照组 14 d

表1 肠道组织 SLC26A3 mRNA、NHERF4 mRNA 水平比较(n=3 $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 实验 6 d | 实验 8 d | 实验 10 d | 实验 14 d | 对照 6 d | 对照 8 d | 对照 10 d | 对照 14 d | F 值 |
|-------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------|
| SLC26A3 mRNA 相对含量 | 0.78 ± 0.07 | 0.29 ± 0.01* | 0.28 ± 0.03* | 0.58 ± 0.04 | 0.88 ± 0.07 | 0.89 ± 0.07 | 0.96 ± 0.05 | 0.91 ± 0.04 | 40.408 |
| NHERF4 mRNA 相对含量 | 0.33 ± 0.03 | 0.64 ± 0.03* | 0.86 ± 0.02 | 0.50 ± 0.01 | 0.27 ± 0.1 | 0.25 ± 0.11 | 0.23 ± 0.02 | 0.30 ± 0.03 | 23.94 |

与对照组比较: * P < 0.05

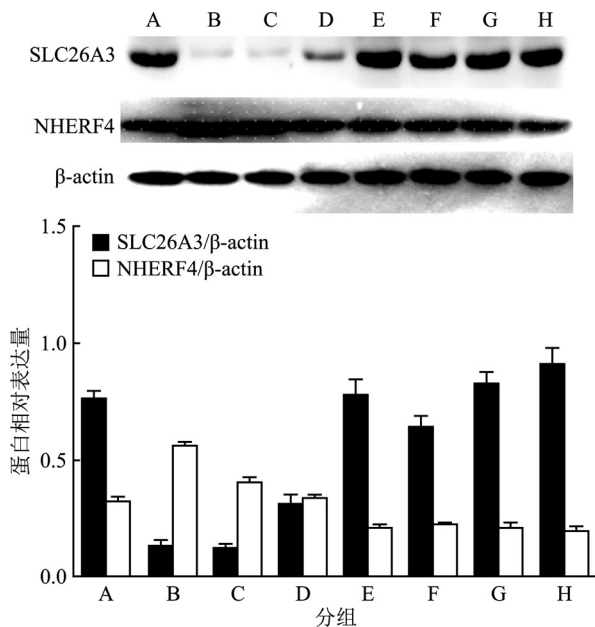


图5 动物模型实验 SLC26A3/NHERF4 的表达

A: 实验组 6 d; B: 实验组 8 d; C: 实验组 10 d; D: 实验组 14 d; E: 对照组 6 d; F: 对照组 8 d; G: 对照组 10 d; H: 对照组 14 d

中的相关性分析 实验组 DAI 评分先增高后降低, 在第 10 天出现峰值, 随后进入炎症减轻阶段, 直至

第 14 天 DAI 评分呈逐渐下降趋势, 同时, 实验组肠黏膜中 SLC26A3 的降低与 DAI 评分的升高同步出现, 并维持至 DAI 评分最高时, 在后期 DAI 评分逐渐降低时, 其表达呈缓慢上升趋势, 即 SLC26A3 的表达与 DAI 评分呈相反的趋势, 呈先降低后增高。NHERF4 的表达与 DAI 评分呈相似的趋势, 先增高后降低, 但在 DAI 评分开始上升时 NHERF4 表达处于峰值, 而后期 DAI 评分最高时, NHERF4 表达呈逐渐下降趋势。本组结果提示, 在肠道炎症的进展恢复过程中始终伴随着 SLC26A3 和 NHERF4 的表达改变, 且 NHERF4 的表达升高可能先于肠道炎症症状的出现。见图 6。

3 讨论

UC 是一种以结肠黏膜层和黏膜下层损伤为主的慢性炎症性肠道疾病^[9], 肠黏膜屏障功能缺陷及肠上皮细胞屏障功能减退在 UC 发病中具有重要作用^[2, 10-11]。

既往研究^[12-13]显示, SLC26A3 是在肠道丰富表达的 Cl⁻/HCO₃⁻ 交换体。肠黏膜化学屏障是一种主要由黏蛋白构成的网状胶体, 分泌型黏蛋白 2 (mucin 2, MUC2) 是其主要成分^[4]。相关报道显

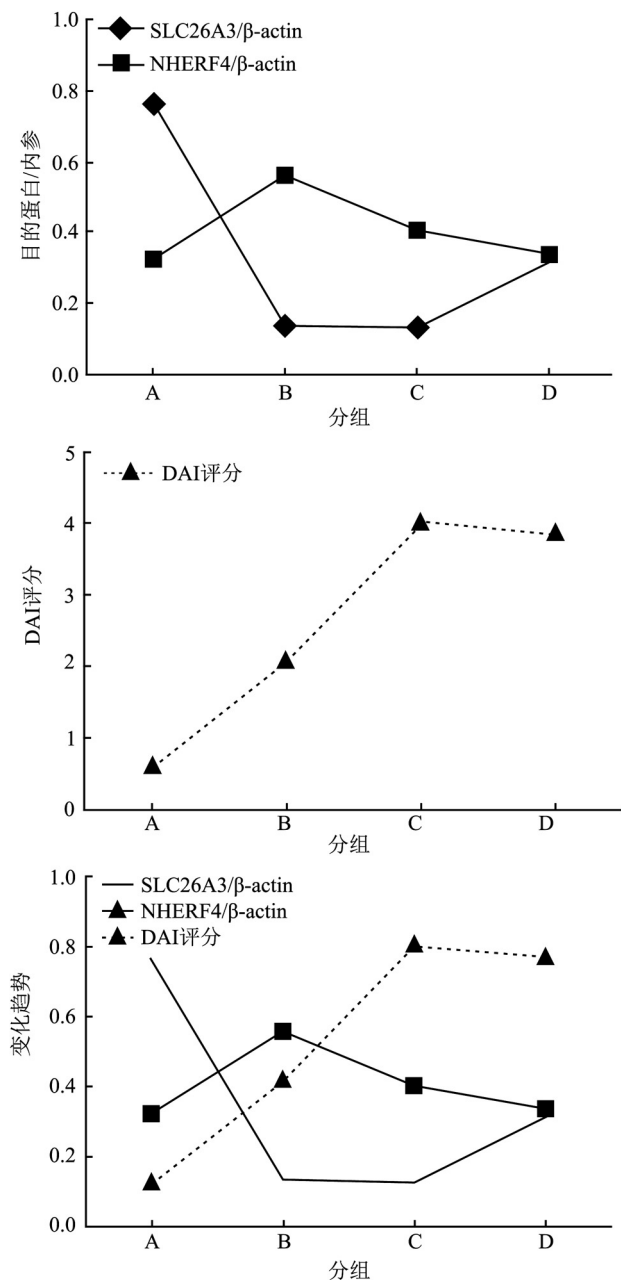


图6 SLC26A3、NHERF4 蛋白表达趋势与 DAI 评分趋势
A: 实验组 6 d; B: 实验组 8 d; C: 实验组 10 d; D: 实验组 14 d

示 UC 中存在 SLC26A3 的表达异常,其功能缺陷可引起 MUC2 表达异常,继而导致屏障稳定性的下降及肠黏膜屏障功能的减退^[4],使肠道菌群得以与肠上皮细胞密切接触^[2],引起肠道炎症的发生,即 SLC26A3 的功能缺陷与 UC 的疾病发展密切相关。本研究与既往文献^[5]的研究结果相似,在肠道炎症进展过程当中,SLC26A3 确实存在有表达缺陷,但本研究还表明,SLC26A3 在肠道炎症活动期的表达低于疾病前期、恢复期及正常小鼠 SLC26A3 的表达,具体表现为 SLC26A3 的表达与小鼠肠道炎症程

度、腹泻等变化一致,提示在肠道炎症进展过程中 SLC26A3 表达的改变不仅与炎症活动度有关,还与腹泻症状有关;并且黏膜屏障损伤与 UC 患者肠黏膜恢复后临床症状持续存在有关^[14],SLC26A3 的正常表达与肠黏膜屏障相关^[4],从而推测 SLC26A3 表达的异常可能与 UC 患者肠黏膜恢复后临床症状持续存在具有一定相关性,但这一结论还需要进一步的实验进行验证分析。

钠氢交换体调节因子(sodium/proton exchanger regulatory factor, NHERF) 蛋白家族是在上皮细胞中丰富表达的 PDZ 结构蛋白^[15],其亚型 NHERF4 可与胃肠上皮的多种转运体相互作用,尤与 SLC26A3 的结合最强,并负性调控 SLC26A3 在细胞膜处的表达^[6-7],在 UC 发展过程中,SLC26A3 的降低与 NHERF4 的表达可能具有相关性,但未见 NHERF4 在 UC 中表达的相关研究。本研究结果首次证实,在结肠炎模型小鼠处于疾病活动期时确实存在肠黏膜中 NHERF4 的表达明显增高。此外,本研究结果还显示, NHERF4 的表达升高可能先于肠道炎症症状的出现,并随炎症恢复其表达水平呈略落后的逐渐降低,提示 NHERF4 可能可作为判断 UC 发展的预测指标。同时,通过比较分析 NHERF4、SLC26A3 和 DAI 在疾病发展过程中的相关性,本研究结果显示,在肠道炎症发展过程中,SLC26A3 的表达降低与 NHERF4 的表达增高是相伴随而存在的,且 NHERF4 与 SLC26A3 的降低增高在时间点上具有一定的重合性,UC 中可能存在 NHERF4 对 SLC26A3 表达的负向调控,但该结论仍需进一步的干预实验进行验证。

本研究结果不仅为进一步研究 UC 发展过程中 SLC26A3 表达改变的机制提供了前期实验数据和新的思路,同时,若本研究结果能够得到进一步证实,还可为 UC 的治疗提供新的靶点,如通过使用下调 NHERF4 或阻断 NHERF4 与 SLC26A3 结合的药物来改善肠黏膜中 SLC26A3 的表达,为减轻 UC 患者临床症状和复发提供新的治疗方案。

参考文献

- [1] 刘继喜. 循环 microRNAs 在溃疡性结肠炎发病和肠道炎症活动的作用[J]. 中华诊断学电子杂志 2017, 5(4): 217-20.
- [2] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet 2017, 389(10080): 1756-70.
- [3] 邵晓晓, 闵小彦, 夏宣平, 等. 溶质相关载体 26A3 基因多态性与溃疡性结肠炎的相关性[J]. 中华医学遗传学杂志 2017, 34(2): 255-60.

- [4] Xiao F , Yu Q , Li J , et al. Slc26a3 deficiency is associated with loss of colonic HCO₃⁻ secretion , absence of a firm mucus layer and barrier impairment in mice [J]. *Acta Physiol* , 2014 , 211(1) : 161 - 75.
- [5] Xu L , Xiao F , He J , et al. Lysophosphatidic acid increases SLC26A3 expression in inflamed intestine and reduces diarrheal severity in C57BL/6 mice with dextran-sodium-sulfate-induced colitis [J]. *Chin Med J (Engl)* , 2014 , 127(9) : 1737 - 43.
- [6] 史小翠 , 冯小燕 , 宋 然 等. 帕金森大鼠消化道组织中蛋白质 NHERF 家族和 CAL 的表达变化 [J]. 首都医科大学学报 , 2013 , 34(2) : 232 - 8.
- [7] Lee J H , Nam J H , Park J , et al. Regulation of SLC26A3 activity by NHERF4 PDZ-mediated interaction [J]. *Cell Signal* , 2012 , 24(9) : 1821 - 30.
- [8] Sutherland L R , Martin F. 5-Aminosalicylic acid enemas in treatment of distal ulcerative colitis and proctitis in Canada [J]. *Dig Dis Sci* , 1987 , 32(12) : 64s - 6s.
- [9] 苏乐乐 , 张吉翔 , 董卫国. 肠外营养治疗的 109 例溃疡性结肠炎患者低钙血症发生率和相关因素分析 [J]. *中华消化杂志* , 2018 , 38(1) : 53 - 6.
- [10] 刘晓昌 , 梅 俏 , 许建明 等. 溃疡性结肠炎患者肠黏膜通透性的改变 [J]. *安徽医科大学学报* 2010 , 45(4) : 545 - 8.
- [11] 石 涛 , 卫江鹏 , 刘 刚 , 等. 溃疡性结肠炎患者的肠屏障功能观察 [J]. *中华医学杂志* 2015 , 95(24) : 1941 - 3.
- [12] Anbazhagan A N , Priyamvada S , Alakkam A , et al. Transcriptional modulation of SLC26A3(DRA) by sphingosine-1-phosphate [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* , 2016 , 310(11) : G1028 - 35.
- [13] Ding X , Li D , Li M , et al. SLC26A3(DRA) prevents TNF- α -induced barrier dysfunction and dextran sulfate sodium-induced acute colitis [J]. *Lab Invest* , 2018 , 98(4) : 462 - 76.
- [14] Chang J , Leong R W , Wasinger V C , et al. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflammatory bowel disease and mucosal healing [J]. *Gastroenterology* , 2017 , 153(3) : 723 - 31.
- [15] Reid H M , Turner E C , Mulvaney E P , et al. Interaction of the human prostacyclin receptor and the NHERF4 family member intestinal and kidney enriched PDZ protein(IKEP) [J]. *Biochim Biophys Acta* , 2012 , 1823(10) : 1998 - 2012.

Dynamic expression of SLC26A3 and NHERF4 in intestinal of mice with ulcerative colitis

Yang Fengtian , Wang Yan , Huang Junkai , et al

(*Medical College of Shihezi University , Shihezi 832000*)

Abstract Objective To investigate and analyze the expression of sodium/proton exchanger regulatory factor 4 (NHERF4) and solute carrier 26A3(SLC26A3) in colonic mucosa of mice with oxazolone(OXZ) -induced colitis for providing an experimental date to comprehend the pathogenesis of ulcerative colitis(UC) . **Methods** C57BL/6J mice were used as experimental animals , and model of ulcerative colitis was prepared by OXZ. Mice were sacrificed at 6 d , 8 d , 10 d and 14 d respectively. The disease activity index(DAI) was applied to evaluate the severity of intestinal disease in mice. qRT-PCR and Western blot were conducted to detect the mRNA and protein content of SLC26A3 and NHERF4 respectively. **Results** Compared with the control group , the mRNA of SLC26A3 in the mice with colitis decreased at the 8th day($P < 0.05$) , while the mRNA of NHERF4 increased($P < 0.05$) . It was found that the expression tendency of SLC26A3 protein was negatively correlated with the tendency of NHERF4 expression and DAI value , while the expression tendency of NHERF4 was similar with that of DAI value. **Conclusion** The expression tendency of SLC26A3 is opposite to that of NHERF4 during the progression of colitis in mice , suggesting that NHERF4 may be involved in the regulation of the expression of SLC26A3 during the development of UC , but need to be verified by intervene experiments.

Key words ulcerative colitis; SLC26A3; NHERF4