

TLR4mAb 对急性期溃疡性结肠炎小鼠结肠 黏膜中细胞因子 IL-17、IL-10 及 TGF- β 的影响

王磊 刘懿[△] 张志军 孙旭 黄剑平 陈坚 钟良

(复旦大学附属华山医院消化科 上海 200040)

【摘要】 目的 探讨 TLR4 单克隆抗体(toll like receptor 4 monoclonal antibodies, TLR4mAb)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的急性期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠肠黏膜的细胞因子 IL-17、IL-10 及 TGF- β 的影响情况。方法 30 只 BALB/c 小鼠分为 A-E 组:对照组、模型组以及低、中、高剂量干预组。A 组小鼠饮用蒸馏水 7 d; B-E 组小鼠仅饮用 5% DSS 水溶液共 7d 以产生急性期溃疡性结肠炎模型。造模开始的同时,分别给 3 组干预组小鼠以低、中、高剂量 TLR4mAb 腹腔内注射以观察其干预作用。观察指标包括疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结肠组织病理学评分(histopathological score, HPS)。造模及干预 7 d 后处死小鼠, Real time-PCR 法检测各组肠黏膜 IL-17、IL-10 及 TGF- β 的 mRNA 表达。结果 (1) 与对照组相比,模型组小鼠结肠黏膜 DAI 及 HPS 明显增高($P < 0.01$)。与模型组相比,在使用 TLR4mAb 干预后低、中、高剂量组 DAI 和 HPS 均有不同程度的缓解。(2) 与模型组相比,在使用 TLR4mAb 后低、中、高剂量组细胞因子 IL-17、IL-10 及 TGF- β 在小鼠结肠黏膜中的表达均有不同程度的降低。结论 TLR4mAb 可以抑制肠道免疫的过度激活,减少炎症因子的过度表达,从而反馈性下调抑炎细胞因子的表达,打破促炎/抑炎因子的失衡状态,减轻急性期溃疡性结肠炎的炎症表现。

【关键词】 溃疡性结肠炎; TLR4 单克隆抗体; IL-17; IL-10; TGF- β ; 小鼠

【中图分类号】 R 574.1 **【文献标志码】** A

Preventive effects of TLR4 monoclonal antibodies on the gut mucosal cytokines(IL-17, IL-10 and TGF- β) expression in mice with DSS-induced acute ulcerative colitis

WANG Lei, LIU Yi[△], ZHANG Zhi-jun, SUN Xu,
HUANG Jian-ping, CHENG Jian, ZHONG Liang

(Department of Gastroenterology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

【Abstract】 **Objective** To evaluate the preventive effects of toll like receptor 4 monoclonal antibodies (TLR4mAb) on inflammation, the gut mucosal cytokines (IL-17, IL-10 and TGF- β) expression in dextran sulfate sodium (DSS) induced acute ulcerative colitis (UC) in mice. **Methods** Thirty male BALB/c mice were randomly assigned into five groups from group A to group E: normal control group (A), UC model group (B), low dose, moderate dose and large dose intervention group (C, D, E). Group B to group E were only given 5.0% (wt/wt) DSS solution as drinking water during 7 days' observation as to induce acute intestinal inflammation, while the normal control was drinking distilled water freely. Group C, D, E received TLR4mAb injection every 48 hours intraperitoneally at the same time after the start of the DSS exposure. Daily disease activity index (DAI) and histopathological score (HPS) were evaluated. The mRNA expression of IL-17, IL-10 and TGF- β were measured by Real

time-PCR. **Results** (1) Compared with the control group, the DAI and HPS in the UC group were markedly higher ($P < 0.01$). Compared with the UC group, the DAI and HPS in group C to E all decreased. (2) Compared with the UC group, the expression of three cytokine factors, such as IL-17, IL-10 and TGF- β in group C to E all decreased. **Conclusions** TLR4mAb can inhibit the excessive immune activity of the intestinal tract by downregulating the expression of cytokines.

【Key words】 ulcerative colitis; toll like receptor 4 monoclonal antibodies (TLR4mAb); IL-17; IL-10; TGF- β ; mice

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 指原因不明的非特异性肠道炎症性疾病, 近年来在我国的发病率不断升高^[1], 其发病机制尚未完全阐明, 目前传统的药物治疗存在着疗程长、不良反应较大、停药后易复发的缺点, 且缺乏有效的预防复发的措施。Toll 样受体 4 (toll like receptor 4, TLR4) 是近年来发现的天然免疫识别受体 (pattern recognition receptors, PRR) 之一, 主要识别脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 并介导其跨膜信号转导。目前有研究表明, TLR4 在正常的结肠黏膜中呈现低表达, 而在溃疡性结肠炎的结肠黏膜中则呈现异常的高表达^[2], 提示 TLR4 受体及其信号传导通路可能是溃疡性结肠炎发病机制发展过程的重要环节^[3]。国内外有关用 TLR4mAb 防治溃疡性结肠炎的研究较少。本研究在成功建立 DSS 诱导的小鼠急性溃疡性结肠炎模型的基础上, 用 TLR4 单克隆抗体 (toll like receptor 4 monoclonal antibodies, TLR4mAb) 特异性阻断 TLR4, 观察 TLR4mAb 对 DSS 诱导的小鼠急性溃疡性结肠炎的干预作用, 检测小鼠肠黏膜内细胞因子 IL-17、IL-10 及 TGF- β 的变化, 探讨 TLR4mAb 对溃疡性结肠炎的干预作用及其可能机制, 为溃疡性结肠炎的治疗寻找新的方向。

材料和方 法

试验动物及分组 雄性 BALB/c 小鼠 30 只, 25 g 左右 (复旦大学上海医学院试验动物中心), 称重、编号后, 均分为正常对照组 (NC 组/A 组)、溃疡性结肠炎模型组 (UC 组/B 组)、低、中、高剂量 TLR4mAb 干预组 (C、D、E 组), 清洁级实验室饲养。

Toll 样受体 4 单克隆抗体 (TLR4mAb) Toll 样受体 4 单克隆抗体 (Toll Like Receptor 4 monoclonal antibodies, TLR4mAb) 购于晶美公司 [Biolegend; Purified anti-mouse (TLR4, CD284), 117602]。

主要试剂 DSS (右旋葡聚糖硫酸钠) 购于 Sigma-Aldrich 公司 (Fluka; 5000MW, 31404), 溶于蒸馏水, 配制成 5% DSS (W/V) 水溶液 (5 g 溶于 100

mL 蒸馏水); RNA 提取试剂盒购于 Invitrogen TRIzol; RT-PCR 试剂盒购于 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0。

溃疡性结肠炎模型建立 造模前小鼠在清洁级动物房饲养 1 周, 按照 Cooper 的经典方法, 让 B、C、D、E 组小鼠自由饮用 5% DSS 溶液连续 7 d, 建立小鼠急性期溃疡性结肠炎动物模型。造模开始的同时及每隔 48 h 分别给 C、D、E 干预组小鼠以低、中、高剂量 TLR4mAb^[4] (2 μ g、10 μ g、20 μ g) 腹腔内注射, 共 4 次, 以观察其干预作用, A 组、B 组给予腹腔注射生理盐水作为对照。于造模第 8 天, 处死所有小鼠, 采集小鼠结肠标本备检。

症状及体征观察及评分 造模过程中, 观察各组小鼠的体重变化、大便性状、便血情况, 参照 Cooper 的经典的评分系统方法, 每日将体重下降、大便性状和隐血或便血情况的评分相加, 作为疾病活动指数 (Disease activity index, DAI)。

组织病理学炎症损伤评分 在距肛门 2、6、10 cm 处取 3 段长约 1 cm 的小鼠结肠组织, 制备石蜡切片, 行 HE 染色, 以盲法观察, 光镜下观察肠黏膜损伤情况, 参照 Cooper 等^[4] 的经典组织学损伤评分标准进行评分。

Real time PCR 方法测定细胞因子 取 100 mg 上述备用结肠组织, 采用异硫氰酸胍二步法提取总 RNA, 紫外分光光度计测定总 RNA 浓度, 重复测定 3 次, $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$ 为 1.8~2.0, -70 $^{\circ}$ C 冰箱保存。取 2 μ g 总 RNA 按说明书进行逆转录反应合成 cDNA, 并取逆转录产物 cDNA 用于 PCR 扩增, 计算 DNA 拷贝数, 予梯度稀释后, 行 Real-time PCR, 根据 Ct 值和 DNA 拷贝数绘制标准曲线。以 GAPDH 为内参照, GAPDH、IL-17、IL-10、TGF- β 引物由 Primer Express 设计合成, GAPDH 引物序列如下: 上游引物 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3', 下游引物为 5'-TCCACCACCCTG TTG CTG TA-3', 扩增长度为 440 bp。

IL-17 上游引物 5'-TCA AAG CTC AGC GTG TCC AA-3', 下游引物 5'-TCA TGT GGT GGT CCA GCT TTC-3', 扩增长度为 251 bp。Real time-

PCR 温度条件: a. 94 °C 3 min; b. 94 °C 8 s; c. 60 °C 15 s; d. 65 °C 35 s, 其中步骤 b、c、d 持续 40 个循环。

IL-10 上游引物 5'-TGC TAA CCG ACT CCT TAA TGC A-3', 下游引物 5'-TCA TGG CCT TGT AGA CAC CTT G-3', 扩增长度为 282 bp。Real time-PCR 温度条件: a. 94 °C 2 min; b. 94 °C 8 s; c. 60 °C 35 s, 其中步骤 b、c 持续 40 个循环。

TGF- β 上游引物 5'-AGA GAA GAA CTG CTG TGT GCG G-3', 下游引物 5'-TGC GAC CCA CGT AGT AGA CGA T-3', 扩增长度为 251 bp。Real time-PCR 温度条件: a. 94 °C 2 min; b. 94 °C 8 s; c. 60 °C 35 s, 其中步骤 b、c 持续 40 个循环。

荧光定量 PCR 步骤由 Applied Biosystems 7000 Real Time PCR System 自动完成。样本目的基因拷贝数的检测为系统通过与标准曲线对比, 自动得出各样本的拷贝数。每个样品的目的基因浓度除以其管家基因的浓度, 即为此样品此基因的校正后的相对含量。

数据统计方法 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用统计软件 SPSS10.0 进行方差分析、*t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

DAI 评分情况 模型组小鼠在给 DSS 造模后, 开始出现黏液稀便, 且逐渐加重; 造模 1 d 后, 开始逐渐出现大便次数增多、软便或稀便、大便末端有黏液或脓点等表现; 3 d 后, 小鼠大便完全为稀便, 有部分出现肉眼血便; 1 周左右可见脓血便、体重减轻、毛发无光泽、饮食明显减少、懒动等。而正常对照组小鼠大便正常、体重增加、毛发有光泽、活动均正常。不同剂量的 TLR4mAb 干预的 DSS 致溃疡性结肠炎组小鼠, 与模型组同期相比, 腹泻、稀血便症状及疾病活动指数有不同程度的缓解。造模第 8 天对各组小鼠进行 DAI 定量评估。模型组的 DAI 明显高于对照组, 而经不同剂量 TLR4mAb 干预后 DAI 有不同程度的缓解。具体表现为: 低、中剂量

组与模型组的 DAI 表现无明显差异; 而高剂量组则明显低于模型组的 DAI, 且与对照组无明显差异(表 1)。

结肠黏膜损伤情况及炎症评分 光镜下, 对照模型组黏膜结构损伤明显, 表现为固有层充血水肿明显, 大量中性粒细胞浸润, 广泛黏膜糜烂、隐窝炎及脓肿形成, 腺管排列紊乱, 炎症评分明显高于对照组 ($P < 0.01$)。干预组小鼠经不同剂量 TLR4mAb 干预 1 周后, 镜下组织学评分表现较溃疡性结肠炎模型组炎症病变减轻, 低剂量组与模型组无明显差异 ($P > 0.05$); 中、高剂量组明显小于模型组 ($P < 0.01$), 但高剂量组与对照组无明显差异 ($P > 0.05$), 中剂量组评分仍高于对照组 ($P < 0.01$; 表 1)。

表 1 各组 DAI 和炎症评分的比较

Tab 1 DAI and histopathological score in different groups

Group	<i>n</i>	DAI(day 8)	Histopathological score
A(Control)	6	0.40 ± 0.15	6.00 ± 0.89
B(Model)	6	7.00 ± 2.53 ⁽¹⁾	13.50 ± 0.55 ⁽¹⁾
C(Low dose)	6	6.50 ± 1.05	13.33 ± 0.52
D(Moderate dose)	6	4.33 ± 2.80	8.00 ± 0.89 ⁽²⁾⁽³⁾
E(Large dose)	6	1.83 ± 2.04 ⁽²⁾	6.83 ± 0.41 ⁽²⁾

Compared with group A: ⁽¹⁾ $P < 0.01$; Compared with group B: ⁽²⁾ $P < 0.01$; Compared with group A: ⁽³⁾ $P < 0.05$

IL-17、IL-10、TGF- β 的检测 IL-17 模型组 mRNA 表达明显高于对照组 ($P < 0.01$); 中、高剂量组 mRNA 表达明显低于模型组 ($P < 0.01$), 与对照组无明显差异 ($P > 0.05$)。

IL-10 模型组 mRNA 表达明显高于对照组 ($P < 0.01$); 低、中、高剂量组 mRNA 表达明显低于模型组 ($P < 0.01$), 高剂量组 mRNA 表达与对照组无明显差异 ($P > 0.05$); 低、中、高剂量组中 mRNA 表达呈现剂量依赖关系。

TGF- β 模型组 mRNA 表达明显高于对照组 ($P < 0.01$); 低、中、高剂量组蛋白表达明显低于模型组 ($P < 0.01$), 高剂量组 mRNA 表达与对照组无明显差异 ($P > 0.05$); 低、中、高剂量组中 mRNA 表达呈现剂量依赖关系(表 2)。

表 2 各组 IL-17、IL-10、TGF- β mRNA 表达

Tab 2 Expression of IL-17, IL-10, TGF- β mRNA in each group

Group	IL-17	IL-10	TGF- β
A(Control)	0.01 ± 0.004	0.08 ± 0.016	0.48 ± 0.039
B(Model)	0.33 ± 0.175 ⁽¹⁾	2.39 ± 0.247 ⁽¹⁾	6.02 ± 0.989 ⁽¹⁾
C(Low dose)	0.14 ± 0.018 ⁽⁵⁾	1.33 ± 0.160 ⁽¹⁾⁽²⁾	3.93 ± 0.594 ⁽¹⁾⁽²⁾
D(Moderate dose)	0.07 ± 0.032 ⁽²⁾	0.50 ± 0.115 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾	1.75 ± 0.448 ⁽⁶⁾⁽²⁾⁽³⁾
E(Large dose)	0.03 ± 0.006 ⁽²⁾	0.20 ± 0.104 ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾	0.70 ± 0.124 ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

Compared with group A: ⁽¹⁾ $P < 0.01$; Compared with group B: ⁽²⁾ $P < 0.01$; Compared with group C: ⁽³⁾ $P < 0.01$; Compared with group D: ⁽⁴⁾ $P < 0.05$; Compared with group B: ⁽⁵⁾ $P < 0.05$; Compared with group A: ⁽⁶⁾ $P < 0.05$

讨 论

溃疡性结肠炎是一种累及直肠和结肠黏膜的炎症性疾病,目前认为其发病机制可能与一系列的易感基因、环境因素及免疫系统异常的相互作用有关^[5]。肠黏膜免疫系统中的多种因素包括细胞因子和免疫调节等方面均参与了溃疡性结肠炎的免疫发病机制。

Toll 样受体 4^[6] (toll like receptor 4, TLR4) 是较早发现的 TLRs 之一,主要识别脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 并介导其跨膜信号转导,产生大量的促炎因子。已知 TLR4 介导的信号通路至少有两条: NF- κ B 通路和 MAPKs 通路,通路激活后产生的转录因子可以调节众多细胞因子的基因转录。研究发现在 LPS 刺激下导致的 TLR4 信号传导通路产生的细胞因子与溃疡性结肠炎关系密切,并在溃疡性结肠炎免疫发病机制中起重要作用。Kobayashi^[7] 研究发现: 把对产生 IFN- γ 、IL-10 起重要作用的 STAT3 基因敲除后,老鼠仍然会产生溃疡性结肠炎表现; 然而联合 TLR4 敲除以后,自发性溃疡性结肠炎并不发病,这充分表明 TLR4 对肠腔内病原体的异常信号传导反应在溃疡性结肠炎的发病中起了重要作用。在正常机体,TLR4 在肠上皮细胞仅有少量的表达,而在溃疡性结肠炎中则呈现高表达,对 LPS 呈现异常识别^[8]。

本研究发现用 TLR4mAb 特异性阻断 TLR4 后,一定剂量的 TLR4mAb 可以缓解 DSS 诱导的小鼠急性期溃疡性结肠炎的腹泻、体重下降、黏液脓血便等疾病活动指数 (DAI),可以减轻溃疡性结肠炎模型肠黏膜的组织病理炎症改变,并且呈现一定的剂量依赖性,给予 TLR4mAb 剂量越高,DAI 和肠黏膜组织病理炎症改变缓解越明显。提示一定剂量的 TLR4mAb 可能对 DSS 诱导的小鼠急性期溃疡性结肠炎有干预作用。

近年来较多研究均已证实细胞因子在炎症性肠病发病机制中具有重要作用。促炎因子与抗炎因子的失衡与溃疡性结肠炎的发病密切相关。Inoue 等^[9] 研究发现,人类溃疡性结肠炎患者的结肠黏膜活检组织中 IL-4 及 IL-13 的 mRNA 表达明显增加,特别在活动性溃疡性结肠炎中表达更明显,并且其表达与内镜下的严重程度、病理组织评分相平行; IL-10 mRNA 的表达在溃疡性结肠炎中的表达也较对照组增加。

本实验前期研究^[10] 已对部分促炎因子 IL-1 β 、IFN- γ 、TNF- α 进行研究,发现 TLR4mAb 干预后促

炎因子表达明显下调,且呈剂量依赖性,提示促炎因子下调是肠道炎症减轻的可能机制之一。那么 TLR4mAb 对抑炎因子有何影响呢,本实验研究了 IL-17、IL-10 及 TGF- β 等 3 种细胞因子在各组肠黏膜中的表达。

IL-17 在溃疡性结肠炎中所起的作用目前尚存在争议。IL-17 是一相对分子量 Mr 为 (20 - 30) \times 10³ 的糖蛋白,是 T 细胞诱导和促进炎症发生过程中的一种重要的可溶性细胞因子。Fujino^[11] 等报道 IL-17 在正常肠道组织、感染性肠炎、缺血性肠炎中未被发现,而在活动性炎症性肠病肠道中,IL-17 表达明显增加,提示 IL-17 与 IBD 的免疫调节和炎症反应起着重要作用。IL-17 在溃疡性结肠炎发病机制中的作用尚未明确,针对 IL-17 在炎症性肠病中所起的作用,较多学者展开了对其的研究,且报道结果不尽相同。董恩钰等^[12] 报道 UC 肠道病变部位的肠黏膜固有层单个核细胞分泌 IL-6 和 IL-8 均明显高于非病变组织,且 IL-6 的浓度与该部位 IL-17 浓度呈正比,提示局部肠道组织存在的大量 IL-17 可促进局部炎症性细胞因子的分泌,从而导致局部肠道炎症的发生。David 等^[13] 亦报道阻断 IL-17 可明显降低肠道炎症的发生发展。而 Ogawa 等^[14] 研究发现用 IL-17 抗体治疗的 DSS 诱导结肠炎小鼠较不治疗组明显体重下降、脱肛、结肠缩短等,病理示结肠炎症明显加重,CD4⁺ T 细胞及 CD11b⁺ 中性粒细胞浸润增加,TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、RANTES 和 IP-10 等 mRNA 表达增加,IL-17 抗体加剧了 DSS 诱导结肠炎的发展,提示 IL-17 可能对 DSS 诱导的结肠炎起抑制作用。

我们的结果发现 IL-17 在溃结模型中表达较对照组明显升高,与相关报道一致。予 TLR4mAb 干预后,发现肠道炎症病理改变较模型组减轻,同时 IL-17 mRNA 的表达也较模型组下降。但 IL-17 究竟是作为炎症因子还是抑炎因子起作用,是炎症因子 IL-17 下调所致炎症减轻,还是由于炎症减轻反馈作用所致抑炎因子 IL-17 减少,或者这两种可能性同时存在,IL-17 既有促炎作用,又有抑炎作用,在溃疡性结肠炎发病的不同阶段发挥不同作用,尚有待进一步研究探讨。但可以肯定的是,TLR4mAb 可以抑制过度的免疫反应,减少细胞因子的过度表达,促进炎症/抑炎因子的平衡,从而缓解肠道炎症。

IL-10 及 TGF- β 是目前公认的抑炎因子,在炎症性肠病中可抑制免疫过程,减轻炎症反应。IL-10 可以保护对 IBD 有抑制作用的淋巴细胞,并抑制其介导的宿主自发免疫反应。有报道 IL-10 基因敲除

小鼠可产生结肠炎症状。Melgar 等^[15]报道溃疡性结肠炎患者 T 淋巴细胞中的 IL-10 mRNA 水平显著增高,即使在无炎症反应的回肠,T 淋巴细胞中的 IL-10 mRNA 水平也有所增高。TGF- β 1 也是一种有效的免疫抑制因子,TGF- β 1 水平的下降,将有利于淋巴细胞的激活,这将促进自身抗体和自身致敏 T 细胞的产生,发生自身免疫反应。TGF- β 1 对 IL-1 β ,TNF- α ,IFN- γ 等细胞因子均有拮抗效应。Wang 等^[16]发现 TGF- β 1 的表达在 UC 组患者结肠组织中明显高于正常对照组。Monteleone 等^[17]研究示 TGF- β 1 明显抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B p65 向核内聚集及 NF- κ B 依赖性基因的活化,是 NF- κ B 活性的负性调节因子。Kitani 等^[18]报道鼻饲 TGF- β 1 质粒可显著抑制 IL-12 和 IFN- γ 产生,并增加 IL-10 的产生,同时通过抑制 IL-12 受体 β 2 链的表达抑制 IL-12 信号。

我们的结果发现 IL-10 及 TGF- β 在动物模型组中的表达均高于对照组,与相关报道一致,说明虽然溃疡性结肠道炎症反馈反应导致抑炎因子表达升高,但仍然存在抑炎因子的相对不足。予一定剂量 TLR4mAb 干预后,IL-10 及 TGF- β 表达减少,并且与炎症减轻相一致,说明一定剂量 TLR4mAb 能有效干预 DSS 诱导的急性期溃疡性结肠炎的形成。

细胞因子在溃疡性结肠炎中的作用机制复杂,彼此间存在反馈与负反馈调节,同时又受 TLR4 介导的信号通路的调节,构成一个复杂的反应网络,这对溃疡性结肠炎的细胞因子靶向治疗既是契机,又是难点。本实验将进行对 TLR4 介导的信号通路的研究,进一步明确其干预机制。

参 考 文 献

- [1] Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10 218 ulcerative colitis cases in China[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8; 158 - 161.
- [2] Abreu MT, Arnold ET, Thomas LS, et al. TLR4 and MD-2 expression is regulated by immune-mediated signals in human intestinal epithelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277; 20 431 - 20 437.
- [3] Oostenbrug LE, Drenth JP, de Jong DJ, et al. Association between Toll-like receptor 4 and inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2005, 11; 567 - 575.
- [4] Fort MM, Mozaffarian A, Stover AG, et al. A synthetic TLR4 antagonist has anti-inflammatory effects in two murine models of inflammatory bowel disease [J]. *J Immunol*, 2005, 174; 6 416 - 6 423.
- [5] Zhang SZ, Zhao XH, Zhang DC. Cellular and molecular immunopathogenesis of ulcerative colitis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3; 35 - 40.
- [6] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity[J]. *Nature*, 1997, 388; 394 - 397.
- [7] Kobayashi M, Kweon MN, Kuwata H, et al. Toll-like receptor-dependent production of IL-12p40 causes chronic enterocolitis in myeloid cell-specific Stat3-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111; 1 297 - 1 308.
- [8] Singh JC, Cruickshank SM, Newton DJ, et al. Toll-like receptor-mediated responses of primary intestinal epithelial cells during the development of colitis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288; G514 - G524.
- [9] Inoue S, Matsumoto T, Iida M, et al. Characterization of cytokine expression in the rectal mucosa of ulcerative colitis: correlation with disease activity [J]. *Am J Gastroenterol*, 1999, 94(9); 2 441 - 2 446.
- [10] 张志军, 刘懿, 王磊, 等. TLR4mAb 预防干预 DSS 诱导小鼠急性期溃疡性结肠炎中对促炎因子 TNF- α , IFN- γ , IL-1 β 的影响[J]. *复旦学报:医学版*, 2008, 35(2); 176 - 180.
- [11] Fujino S, Andoh A, Bamba S, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2003, 52; 65 - 70.
- [12] 董恩钰, 王晓娣, 等. 白介素-17 在溃疡性结肠炎表达的研究 [J]. *中华消化杂志*, 2001, 21(11); 673 - 677.
- [13] David Yen, Jeanne Cheung, Heleen Scheerens. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6 [J]. *The Journal Clinical Investigation*, 2006, 116(5); 1 310 - 1 316.
- [14] Ogawa A, Andoh A, Araki Y, et al. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. *Clin Immunol*, 2004, 110(1); 55 - 62.
- [15] Melgar S, Yeung MM, Bas A, et al. Overexpression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 134; 127 - 137.
- [16] Wang YF, Wei B, Ouyang Q. Expression with TGFbeta1 in the patients with ulcerative colitis [J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2005, 36(2); 204 - 206.
- [17] Monteleone G, Mann J, Monteleone I, et al. A failure of transforming growth factor-beta1 negative regulation maintains sustained NF-kappaB activation in gut inflammation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(6); 3 925 - 3 932.
- [18] Kitani A, Fuss IJ, Nakamura K, et al. Treatment of experimental (trinitrobenzene sulfonic acid) colitis by intranasal administration of transforming growth factor (TGF)- β 1 plasmid: TGF- β 1-mediated suppression of T helper cell type 1 response occurs by interleukin (IL)-10 induction and IL-12 receptor β 2 chain downregulation [J]. *J Exp Med*, 2000, 192(1); 41 - 52.

(收稿日期:2008-05-04;编辑:沈玲)