

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.20.008

## 双歧杆菌调节 VIP/cAMP/PKA 和 mTOR 通路 改善溃疡性结肠炎小鼠的实验研究 \*

杨根华 李夏西 董 玲 徐春玲 凌 琳 刘清华

(南方医科大学深圳医院消化内科 广东 深圳 518000)

**摘要 目的:**探讨双歧杆菌 MIMBb75 通过调节血管活性肽(VIP)/环磷酸腺苷(cAMP)/蛋白激酶 A(PKA)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路对溃疡性结肠炎(UC)小鼠的影响。**方法:**BALB/c 小鼠随机分为正常对照(NC)组、结肠炎模型(UC)组、Mesalazine 组和 MIMBb75 低、高剂量组、MIMBb75 高剂量 +VIP antagonist 组、MIMBb75 高剂量 +MHY1485 组(每组 10 只),除 NC 组外均采用 5%葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导 UC 模型。治疗结束后,观察小鼠的一般情况及 UC 疾病活动指数(DAI),检测小鼠肠道组织病理损伤、结肠组织中髓过氧化物酶(MPO)活性、肠道菌群多样性(Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数)及结肠组织 VIP、cAMP、PKA、水通道蛋白 3(AQP3)、mTOR、核糖体蛋白 S6 激酶(S6K1)的 mRNA 和蛋白水平。**结果:**与 UC 组相比,MIMBb75 低、高剂量组和 Mesalazine 组小鼠的体重升高、DAI 评分降低,组织病理损伤得到改善,结肠长度增加,MPO 活性降低,Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数升高;VIP、cAMP、PKA、AQP3 的 mRNA 水平和 VIP、cAMP、AQP3 蛋白的表达及 PKA 的磷酸化水平升高,mTOR 和 S6K1 mRNA 及其蛋白的磷酸化水平降低( $P<0.05$ )。与 MIMBb75 高剂量组相比,MIMBb75 高剂量 +VIP antagonist 组 VIP、cAMP、PKA、AQP3 的 mRNA 水平和 VIP、cAMP、AQP3 蛋白的表达及 PKA 的磷酸化水平降低( $P<0.05$ );MIMBb75 高剂量 +MHY1485 组 mTOR 和 S6K1 mRNA 及其蛋白的磷酸化水平升高( $P<0.05$ )。VIP antagonist 和 MHY1485 均能逆转 MIMBb75 对 UC 小鼠的保护作用,使其结肠损伤加重,MPO 活性增高( $P<0.05$ )。**结论:**双歧杆菌可改善 UC 小鼠的结肠损伤,增加肠道菌群的多样性,这可能与激活 VIP/cAMP/PKA 通路、抑制 mTOR 通路有关。

**关键词:**双歧杆菌;VIP/cAMP/PKA 通路;mTOR 通路;溃疡性结肠炎

**中图分类号:**R574.62 文献标识码:**A** 文章编号:1673-6273(2022)20-3840-08

## Bifidobacterium Ameliorates Ulcerative Colitis in Mice by Modulating VIP/cAMP/PKA and mTOR Pathways\*

YANG Gen-hua, LI Xia-xi, DONG Ling, XU Chun-ling, LING Lin, LIU Qing-hua

*(Department of Gastroenterology, Shenzhen Hospital of Southern Medical University, Shenzhen, Guangdong, 518000, China)*

**ABSTRACT Objective:** To investigate the impact of Bifidobacterium MIMBb75 on ulcerative colitis (UC) mice by regulating vasoactive intestinal peptide (VIP)/cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/protein kinase A (PKA) and mammalian target of rapamycin (mTOR) pathways. **Methods:** BALB/c mice were randomly separated into normal control (NC) group, colitis model (UC) group, Mesalazine group, MIMBb75 low and high dose groups, MIMBb75 high dose combined VIP antagonist group, and MIMBb75 high dose combined MHY1485 group (10 per group), except for the NC group, 5% dextran sodium sulfate (DSS) was applied to induce the UC model. After the treatment, the general condition and UC disease activity index (DAI) of the mice were observed, and then pathological injury of intestinal tissues, myeloperoxidase (MPO) activity in colon tissue, intestinal microflora diversity (Chao index, Shannon index and Simpson index), VIP, cAMP, PKA and the mRNA and protein levels of VIP, cAMP, PKA, aquaporin 3 (AQP3), mTOR, ribosomal protein S6 kinase (S6K1) in colon tissue were detected. **Results:** Compared with UC group, the weight of mice increased, DAI score decreased, histopathological injury improved, colon length increased, MPO activity decreased, and Chao index, Shannon index and Simpson index increased in MIMBb75 low-dose group, high-dose group and Mesalazine group, the mRNA levels of VIP, cAMP, PKA, AQP3, the expression of VIP, cAMP and AQP3 protein and the phosphorylation level of PKA increased, while the phosphorylation levels of mTOR and S6K1 mRNA and protein decreased ( $P<0.05$ ). Compared with mimb75 high dose group, the mRNA levels of VIP, cAMP, PKA and AQP3 and the expression of VIP, cAMP and AQP3 protein and the phosphorylation level of PKA in MIMBb75 high dose combine VIP antagonist group decreased ( $P<0.05$ ). The phosphorylation levels of mTOR and S6K1 mRNA and protein increased in MIMBb75 high dose combine MHY1485 group ( $P<0.05$ ). VIP antagonist and MHY1485 could reverse the protective effect of MIMBb7 on UC mice, aggravate the colonic injury and increase the MPO activity ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Bifidobacterium can

\* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(81800503);深圳宝安区医疗卫生基础研究项目(2020JD286);

深圳宝安区医疗卫生基础研究项目(2018JD209)

作者简介:杨根华(1987-),男,硕士,主治医师,从事消化道微生态及早期肿瘤方向的研究,E-mail: yang\_genhua@163.com

(收稿日期:2022-06-20 接受日期:2022-07-18)

improve colon damage and increase the diversity of intestinal flora in UC mice, which may be related to activation of VIP/cAMP/PKA pathway and inhibition of mTOR pathway.

**Key words:** Bifidobacterium; VIP/cAMP/PKA pathway; mTOR pathway; Ulcerative colitis

**Chinese Library Classification(CLC): R574.62 Document code: A**

**Article ID: 1673-6273(2022)20-3840-08**

## 前言

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种慢性、非特异性的结肠炎症,主要表现为肠道病理黏膜损伤、溃疡、结肠收缩、腹泻、带血便等<sup>[1,2]</sup>。UC是多种因素综合作用的结果,如遗传因素、环境因素、肠道菌群变化、免疫系统紊乱、氧化损伤等<sup>[3]</sup>。目前,肠道菌群紊乱与UC发生的关系逐渐成为研究热点。肠道菌群具有保持结肠黏膜完整性和调节肠道代谢及免疫的作用,是结肠黏膜的生物屏障,肠道菌群失调是UC发病的直接因素<sup>[4]</sup>。研究<sup>[5]</sup>证实UC活动期有害菌显著增多,有益菌明显缺乏,患者粪便微生物种类减少,肠道菌群总体负荷量减弱,优势菌群的稳定性受损。因此,本研究认为从调节肠道微生态入手,可能有效控制UC病情发展。双歧杆菌是革兰阳性无芽胞厌氧杆菌,是肠道内重要的益生菌群,具有生物屏障、抗炎、增强免疫反应等作用。临床观察<sup>[6]</sup>发现,接受双歧杆菌治疗的UC患者的疾病活动指数(Disease activity index, DAI)、内镜指数及Mayo指数均较治疗前明显下降。研究<sup>[7]</sup>发现,口服双歧杆菌可以改善UC小鼠结肠黏膜的通透性,达到修复肠黏膜屏障功能的效果,缓解UC小鼠肠道炎症。双歧杆菌MIMBb75是一种对肠上皮细胞具有很强粘附性的益生菌,可减轻肠易激综合征患者的肠道不适。有报道<sup>[8]</sup>称,MIMBb75能通过提高肠道菌群多样性减轻UC小鼠的肠道损伤。然而,MIMBb75改善UC小鼠结肠损伤的机制尚不清楚。前人研究<sup>[9]</sup>表明,给小鼠灌胃葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)可导致与UC患者类似的临床症状和组织病理学特征,故DSS诱导的小鼠结肠炎模型已被广泛用于研究UC候选药物的治疗效果。本研究将以DSS诱导的UC小鼠为研究对象,通过双歧杆菌MIMBb75干预,探讨其对结肠损伤和肠道菌群多样性的影响及其可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品与试剂

DSS(36-50 kDa)购于北京泽平科技有限责任公司;美沙拉嗪(Mesalazine)肠溶片购于葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司;双歧杆菌MIMBb75购于上海瑞楚生物科技有限公司;VIP antagonist购于武汉科斯坦生物科技有限公司;MHY1485(mTOR激活剂)购于MCE公司;苏木精-伊红染色试剂盒购于phygene;Trizol试剂、逆转录试剂盒购于翌圣生物公司;SYBR Green Realtime PCR Master Mix-Plus购于上海硕盟生物科技有限公司;髓过氧化物酶(MPO)ELISA试剂盒与血管活性肠肽(VIP)、环磷酸腺苷(cAMP)、蛋白激酶A(PKA)、p-PKA、水通道蛋白3(AQP3)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、p-mTOR、核糖体蛋白S6激酶(S6K1)、p-S6K1及β-actin一抗和二抗购于Abcam公司。

### 1.2 动物

80只BALB/c小鼠(雄性,SPF级,6周龄,18-20g)取自广东省医学实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)2019-0035。所有小鼠都被饲养在一个环境温度为22-24°C,相对湿度为45%的清洁级动物房里,光线控制条件为12 h日/夜循环,并有充足的水和食物。所有实验均按照南方医科大学深圳医院动物伦理委员会批准的规则进行。

### 1.3 小鼠DSS结肠炎的诱导及药物治疗

小鼠适应性喂养1周后,采用5%DSS(DSS粉末溶解在无菌水中)诱导UC模型<sup>[10]</sup>。小鼠出现持续体重减轻、腹泻和直肠出血则被认为是造模成功。为了研究双歧杆菌MIMBb75对UC小鼠结肠损伤和肠道菌群多样性的影响,将50只小鼠分为正常对照(NC)组、结肠炎模型(UC)组、Mesalazine组和MIMBb75低、高剂量组(每组10只)。每只小鼠灌胃1次/d,400 μL/次,共10d,具体如下:NC组:正常饮食喂养+PBS灌胃;UC组:5%DSS造模+PBS灌胃;Mesalazine组:5%DSS造模+100 mg/kg Mesalazine灌胃;MIMBb75低剂量组:5%DSS造模+1×10<sup>6</sup> cfu/mL MIMBb75灌胃;MIMBb75高剂量组:5%DSS造模+1×10<sup>8</sup> cfu/mL MIMBb75灌胃。为了探究MIMBb75的作用机制,将30小鼠随机分为MIMBb75高剂量组(腹腔注射等量的PBS+5%DSS造模+1×10<sup>8</sup> cfu/mL MIMBb75灌胃)、MIMBb75高剂量+VIP antagonist组(给药前1d及给药后1、3、5d腹腔注射10 mg/kg VIP antagonist[1次/d]<sup>[11]</sup>+5%DSS造模+1×10<sup>8</sup> cfu/mL MIMBb75灌胃)、MIMBb75高剂量+MHY1485组(给药前2d腹腔注射10 mg/kg MHY1485[1次/d]<sup>[12]</sup>+5%DSS造模+1×10<sup>8</sup> cfu/mL MIMBb75灌胃),每组10只。每只小鼠灌胃1次/d,400 μL/次,共10d。第11天,脱颈椎法处死小鼠,剖腹取出结肠,收集粪便和肠道内容物放入塑料管中,立即在-80°C下冷冻待测。

### 1.4 结肠损伤评估

一般情况及UC的DAI:包括小鼠行为、体重、食物消耗量及通过肉眼观察粪便等进行DAI评分,具体参考Zhang等<sup>[13]</sup>使用的评分标准进行。用冰冷的PBS冲洗整个结肠,然后保存在-80°C用于体外分析。部分结肠用4%(v/v)福尔马林固定48h后,将结肠脱水、包埋、切开,苏木精-伊红染色。然后,在普通光镜下观察结肠组织病理学变化,包括溃疡的大小、数量和上皮增生的变化。组织病理学评分标准参考前人报道<sup>[14]</sup>。

### 1.5 MPO检测

取一小段结肠,将其匀浆,采用MPO ELISA试剂盒检测各组UC小鼠结肠匀浆中MPO水平。

### 1.6 肠道菌群16S rRNA测序

16S rRNA分析参照既往报道<sup>[15,16]</sup>。从粪便样本中提取基因组DNA。16S rRNA V3-V4区域的DNA焦磷酸测序在北京六合华大基因科技有限公司完成,比较Chao指数、Shannon指数

和 Simpson 指数。

### 1.7 定量逆转录聚合酶链反应( RT-qPCR )

按照 Trizol 说明书提取小鼠结肠总 RNA, 按照逆转录试剂盒说明书逆转录。用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix-Plus 对 cDNA 进行定量。以  $\beta$ -actin 作为内参基因, 用  $2^{\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因的相对表达量。引物序列为 VIP 正向 : 5'-TCTGCAAGGGTAGCAATCGA-3'; 反向 : 5'-GGTGGAGTC-CCTATCACTGG-3'; cAMP 正向 : 5'-TGAGGACCCAGAT-ACTCCCA-3'; 反向 : 5'-CAAAAGACTCTGCAGCCTGG-3'; PKA 正向 : 5'-GGGTAGCCTCAGTGCTTACA-3'; 反向 : 5'-CCACGGCACACATTAGACCAG-3'; AQP3 正向 : 5'-AGT-GAGTCAGGAAAGTGCCA-3'; 反向 : 5'-TGAGCTACGCC-CTCTTATG-3'; mTOR 正向 : 5'-GGATGGCAACTACAGAACAT-CACA-3'; 反向 : 5'-TCACACCCATGACGAACAT-3'; S6K1 正向 : 5'-ATTATGATGGAACAGTCAC-3'; 反向, 5'-ACATTAAT GCTCCCAAATCTC-3';  $\beta$ -actin 正向 : 5'-CATGTACGTTGC-TATC CAGGC-3'; 反向, 5'-CTCCTTAATGTCACGCAC-GAT-3'。RT-qPCR 反应条件为: 95°C 预变性 10 min; 95°C 变性 15 s; 60°C 退火 60 s; 55°C 延伸 15 s; 40 次循环。

### 1.8 蛋白质印迹( Western blot, WB )

用 RIPA 裂解液对小鼠结肠组织进行分析。收集上清液, 用 BCA 法定量总蛋白。总蛋白经 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳后转入 PVDF 膜。加入一抗, 与条带在 4°C 孵育过夜, TBST 洗涤后, 蛋白条带与二抗在室温孵育 2 h, 然后用 ECL 化学发光试剂显色和化学发光成像。

### 1.9 统计学分析

实验结束后, 数据以均值  $\pm$  标准差表示。采用 SPSS26.0 软件对所得数据进行统计学分析。计量数据经 Shapiro-Wilk 检验符合正态性分布。组间比较采用单因素方差分析, 进一步两组间比较采用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 双歧杆菌可降低体重和 DAI 评分

与 NC 组比较, UC 组小鼠体重 (4-11 d) 显著降低, DAI (3-11 d) 显著增加 ( $P < 0.05$ ); 与 UC 组比较, MIMBb75 低、高剂量组小鼠体重 (4-11 d) 显著升高, DAI (3-11 d) 显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与 MIMBb75 高剂量组比较, Mesalazine 组小鼠的体重无明显差异, 6-8 d 的 DAI 显著降低 ( $P < 0.05$ ), 见表 1 和表 2。

表 1 双歧杆菌对 UC 小鼠体重的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effects of bifidobacterium on body weight of UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	Body weight (g)										
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d
NC	20.32 $\pm$ 1.24	20.41 $\pm$ 1.06	20.36 $\pm$ 1.12	20.53 $\pm$ 0.35	20.55 $\pm$ 0.27	20.62 $\pm$ 0.39	20.73 $\pm$ 0.45	20.85 $\pm$ 1.21	20.98 $\pm$ 1.25	21.32 $\pm$ 1.18	21.64 $\pm$ 1.33
	20.33 $\pm$ 1.22	20.40 $\pm$ 1.05	20.29 $\pm$ 1.09	19.78 $\pm$ 0.16*	18.24 $\pm$ 0.23*	17.42 $\pm$ 0.32*	16.15 $\pm$ 0.26*	16.07 $\pm$ 1.13*	14.89 $\pm$ 0.97*	16.05 $\pm$ 1.15*	16.18 $\pm$ 1.16*
UC	20.33 $\pm$ 1.25	20.40 $\pm$ 1.06	20.31 $\pm$ 1.13	20.25 $\pm$ 0.32#	18.94 $\pm$ 0.25#	18.35 $\pm$ 0.34#	17.37 $\pm$ 0.28#	17.49 $\pm$ 1.05#	17.62 $\pm$ 1.04#	18.13 $\pm$ 1.08#	18.27 $\pm$ 1.12#
	20.34 $\pm$ 1.26	20.41 $\pm$ 1.05	20.34 $\pm$ 1.12	20.44 $\pm$ 0.24#	19.35 $\pm$ 0.29##	19.22 $\pm$ 0.36##	18.32 $\pm$ 0.31##	18.97 $\pm$ 1.03##	19.09 $\pm$ 1.02##	19.49 $\pm$ 1.05##	19.75 $\pm$ 1.21##
MIMBb75 low-dose	20.33 $\pm$ 1.23	20.39 $\pm$ 1.04	20.27 $\pm$ 1.11	20.48 $\pm$ 0.42#	19.36 $\pm$ 0.26##	19.21 $\pm$ 0.35##	18.36 $\pm$ 0.35##	18.82 $\pm$ 1.08##	19.23 $\pm$ 1.06##	19.54 $\pm$ 1.07##	19.78 $\pm$ 1.18##
	20.34 $\pm$ 1.23	20.41 $\pm$ 1.04	20.34 $\pm$ 1.11	20.48 $\pm$ 0.42#	19.36 $\pm$ 0.26##	19.21 $\pm$ 0.35##	18.36 $\pm$ 0.35##	18.82 $\pm$ 1.08##	19.23 $\pm$ 1.06##	19.54 $\pm$ 1.07##	19.78 $\pm$ 1.18##
F	0.001	0.001	0.011	9.745	103.716	113.093	249.765	26.258	45.101	31.265	28.630
P	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with NC group, \* $P < 0.05$ . compared with UC group, # $P < 0.05$ ; compared with MIMBb75 low-dose group, & $P < 0.05$ .

### 2.2 双歧杆菌改善肠道损伤, 增加结肠长度

图 1 显示, NC 组结肠组织未见溃疡, 腺体排列整齐, 黏膜完整。UC 组结肠黏膜缺损, 腺结构分离, 大量中性粒细胞浸润; 可见炎症反应, 肉芽组织增生和纤维化, 明显病变深度集中于肌肉层和浆膜层。UC 组相比, MIMBb75 低、高剂量组和 Mesalazine 组结肠组织损伤均有不同程度的改善, 且 MIMBb75 高剂量组和 Mesalazine 组效果更好。与 NC 组比较, UC 组小鼠的组织病理学评分和 MPO 活性显著增高, 结肠长度明显变短 ( $P < 0.05$ ); 与 UC 组比较, MIMBb75 低、高剂量组和 Mesalazine 组小鼠的组织病理学评分 MPO 活性显著降低, 结肠长度明显变长 ( $P < 0.05$ ), 低、高剂量组间的差异显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

### 2.3 双歧杆菌增强肠道微生物多样性

与 NC 组比较, UC 组 Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与 UC 组比较, MIMBb75 低、高剂量组 Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数明显增高 ( $P < 0.05$ ), 呈现剂量依赖性; Mesalazine 组与 MIMBb75 高剂量组的 3 个指数均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

### 2.4 双歧杆菌激活 VIP/cAMP/PKA 通路, 抑制 mTOR 通路

与 NC 组比较, UC 组 VIP、cAMP、PKA、AQP3 的 mRNA 水平和 VIP、cAMP、AQP3 蛋白的表达及 PKA 的磷酸化水平均显著降低, mTOR 和 S6K1 mRNA 及其蛋白的磷酸化水平显著增高 ( $P < 0.05$ ); 与 UC 组比较, MIMBb75 低、高剂量组以剂量依赖的方式上调 VIP、cAMP、PKA、AQP3 的 mRNA 水平和

表 2 双歧杆菌对 DSS 诱导的 UC 小鼠 DAI 的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Effect of Bifidobacterium on DAI of DSS induced UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	DAI (points)										
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UC	0	0.10± 0.02*	1.73± 0.14*	2.14± 0.15*	2.78± 0.23*	3.09± 0.31*	4.03± 0.52*	3.65± 0.49*	3.08± 0.47*	2.95± 0.32*	2.83± 0.29*
MIMBb75 low-dose	0	0.09±0.01	1.32±0.09 <sup>#</sup>	1.51±0.08 <sup>#</sup>	1.74±0.12 <sup>#</sup>	2.25±0.22 <sup>#</sup>	3.02±0.48 <sup>#</sup>	2.94±0.35 <sup>#</sup>	2.27±0.31 <sup>#</sup>	2.15±0.18 <sup>#</sup>	2.03±0.18 <sup>#</sup>
MIMBb75 high-dose	0	0.10±0.02	0.72± 0.17 <sup>#&amp;</sup>	0.85± 0.09 <sup>#&amp;</sup>	1.01± 0.05 <sup>#&amp;</sup>	1.68± 0.11 <sup>#&amp;</sup>	2.02± 0.13 <sup>#&amp;</sup>	1.70± 0.12 <sup>#&amp;</sup>	1.32± 0.21 <sup>#&amp;</sup>	1.03± 0.09 <sup>#&amp;</sup>	0.95± 0.12 <sup>#&amp;</sup>
Mesalazine	0	0.09±0.02	0.59± 0.15 <sup>#&amp;</sup>	0.78± 0.11 <sup>#&amp;</sup>	0.89± 0.09 <sup>#&amp;</sup>	1.06± 0.12 <sup>#&amp;S</sup>	1.24± 0.15 <sup>#&amp;S</sup>	1.07± 0.11 <sup>#&amp;S</sup>	0.99± 0.18 <sup>#&amp;S</sup>	0.87± 0.06 <sup>#&amp;S</sup>	0.78± 0.08 <sup>#&amp;S</sup>
F	-	70.385	284.431	665.713	693.986	401.997	224.916	272.394	178.738	455.870	451.118
P	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with NC group, \* $P<0.05$ . compared with UC group, <sup>#</sup> $P<0.05$ . compared with MIMBb75 low-dose group, <sup>S</sup> $P<0.05$ .

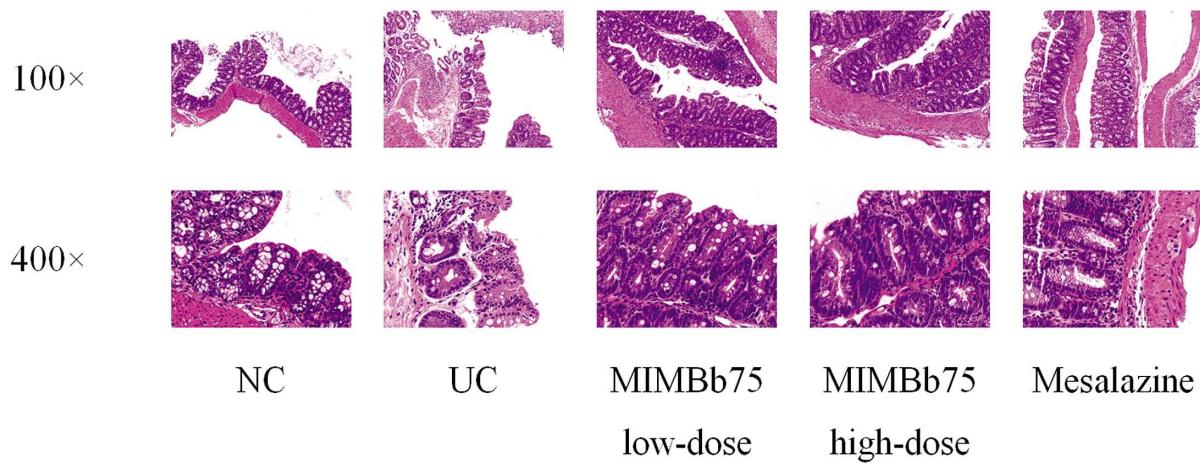


图 1 HE 染色观察各组肠组织病理变化

Fig. 1 HE staining was used to observe the pathological changes of intestinal tissues in each group

表 3 双歧杆菌对 DSS 诱导的 UC 小鼠组织病理学评分和结肠长度、MPO 活性的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effects of Bifidobacterium on histopathological score and MPO activity of colon length in DSS-induced UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	Histopathological score (points)	Colon length (cm)	MPO activity (U/g)
NC	0	6.19±0.23	2.36±0.13
UC	14.21±1.02*	3.85±0.12*	7.52±0.26*
MIMBb75 low-dose	9.95±0.89 <sup>#</sup>	4.26±0.11 <sup>#</sup>	5.49±0.29 <sup>#</sup>
MIMBb75 high-dose	7.46±0.95 <sup>#&amp;</sup>	5.69±0.26 <sup>#&amp;</sup>	4.06±0.21 <sup>#&amp;</sup>
Mesalazine	7.35±0.91 <sup>#&amp;</sup>	5.73±0.29 <sup>#&amp;</sup>	4.03±0.17 <sup>#&amp;</sup>
F	374.914	226.716	771.434
P	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with NC group, \* $P<0.05$ . compared with UC group, <sup>#</sup> $P<0.05$ . compared with MIMBb75 low-dose group, <sup>S</sup> $P<0.05$ .

VIP、cAMP、AQP3 蛋白的表达及 PKA 的磷酸化水平, 下调 mTOR 和 S6K1 mRNA 及其蛋白的磷酸化水平( $P<0.05$ ); Mesalazine 组中上述基因的 mRNA 和蛋白水平与 MIMBb75 高剂量组相比无显著变化( $P>0.05$ ), 见图 2、表 5、表 6。

2.5 双歧杆菌通过调控 VIP/cAMP/PKA 和 mTOR 通路改善肠道损伤

与 MIMBb75 高剂量组比较, MIMBb75 高剂量 +VIP antagonist 组 VIP、cAMP、PKA、AQP3 的 mRNA 水平和 VIP、cAMP、AQP3 蛋白的表达及 PKA 的磷酸化水平均显著降低, MIMBb75 高剂量 +MHY1485 组 mTOR 和 S6K1 mRNA 及其蛋白的磷酸化水平显著增高( $P<0.05$ ), 见图 3、图 4、表 7、表 8。与 MIMBb75 高剂量组比较, MIMBb75 高剂量 +VIP antagonist

表 4 双歧杆菌对 DSS 诱导的 UC 小鼠肠道微生物多样性的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )Table 4 Effects of bifidobacterium on intestinal microbial diversity of DSS-induced UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	Chao index	Shannon index	Simpson index
NC	468.52±56.74	3.54±0.46	0.33±0.04
UC	167.69±35.87*	2.03±0.21*	0.08±0.01*
MIMBb75 low-dose	231.54±36.52#	2.48±0.32#	0.16±0.03#
MIMBb75 high-dose	312.48±43.65**	2.94±0.39**	0.23±0.06**
Mesalazine	314.26±49.87**	2.96±0.42**	0.25±0.08**
F	62.236	23.442	35.516
P	0.000	0.000	0.000

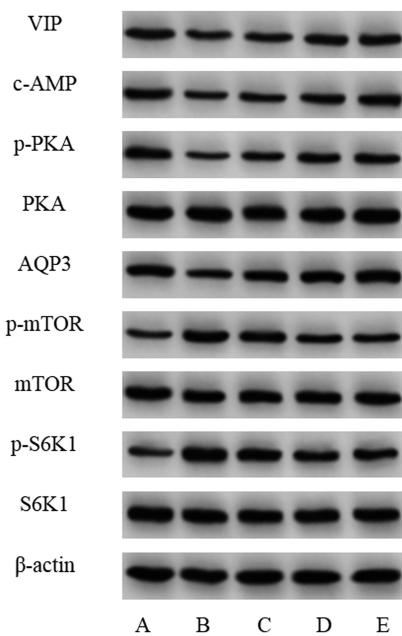
Note: Compared with NC group, \* $P<0.05$ . compared with UC group, # $P<0.05$ . compared with MIMBb75 low-dose group, \*\* $P<0.05$ .

图 2 WB 检测 VIP/cAMP/PKA 和 mTOR 通路蛋白的表达

Fig. 2 Expression of VIP/cAMP/PKA and mTOR pathway proteins detected by WB

Note: A, NC group. B, UC group. C, MIMBb75 low-dose group. D, MIMBb75 high-dose group. E, Mesalazine group.

组和 MIMBb75 高剂量 +MHY1485 组结肠组织损伤加重；组织病理学评分、MPO 活性显著升高，结肠长度明显缩短( $P<0.05$ )，见图 5、表 9。

### 3 讨论

UC 是一种常见的炎症性肠病，以慢性缓解和复发的结肠炎为特征，结直肠癌的相对风险升高<sup>[17]</sup>。通过改善结肠上皮完整性和调节其免疫反应，益生菌、益生元和共生菌的饮食策略正在被广泛研究以预防 UC 或减轻 UC 的严重程度<sup>[18]</sup>。本研究表明，MIMBb75 的治疗有效地减轻了 DSS 诱导的小鼠结肠炎的严重程度，提高了肠道菌群的多样性，且 MIMBb75 的治疗效果存在剂量依赖性。本研究还显示，MIMBb75 能通过激活 VIP/cAMP/PKA 通路和抑制 mTOR 通路缓解 UC 小鼠的结肠损伤。提示 MIMBb75 可能是一种治疗 UC 的新型益生菌。

双歧杆菌作为一种益生菌已被广泛应用于预防或治疗胃肠疾病。DSS 诱导的结肠炎是应用最广泛的肠道炎症模型，DSS 导致上皮细胞死亡，进而破坏屏障功能，导致炎症的发生<sup>[19]</sup>。据报道，DSS 模型中肠道菌群参与了急性结肠炎的抑制<sup>[20]</sup>。双歧杆菌 MIMBb75 能通过增加小鼠肠道有益菌群的数量和减少有害菌群的数量来调节肠道微生物群的组成<sup>[21]</sup>。然而，MIMBb75 的调控机制在很大程度上仍不清楚。

本研究在 DSS 诱导的急性结肠炎后灌胃 MIMBb75，以评

表 5 双歧杆菌对 DSS 诱导的 UC 小鼠 VIP/cAMP/PKA 和 mTOR 通路基因 mRNA 水平的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )Table 5 Effects of Bifidobacterium on mRNA levels of VIP/cAMP/PKA and mTOR pathway genes in DSS induced UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	VIP mRNA	c-AMP mRNA	PKA mRNA	AQP3 mRNA	mTOR mRNA	S6K1 mRNA
NC	0.72±0.03	0.71±0.08	0.76±0.05	0.91±0.08	0.31±0.02	0.40±0.05
UC	0.40±0.05*	0.29±0.03*	0.32±0.03*	0.45±0.03*	0.92±0.04*	1.09±0.11*
MIMBb75 low-dose	0.51±0.05#	0.41±0.04#	0.44±0.02#	0.59±0.04#	0.70±0.04#	0.91±0.06#
MIMBb75 high-dose	0.63±0.04**	0.53±0.05**	0.65±0.06**	0.81±0.05**	0.52±0.05**	0.68±0.07**
Mesalazine	0.65±0.02**	0.55±0.06**	0.68±0.03**	0.83±0.06**	0.50±0.04**	0.66±0.04**
F	101.709	83.067	201.807	121.733	344.805	140.020
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with NC group, \* $P<0.05$ . compared with UC group, # $P<0.05$ . compared with MIMBb75 low-dose group, \*\* $P<0.05$ .

表 6 双歧杆菌对 DSS 诱导的 UC 小鼠 VIP/cAMP/PKA 和 mTOR 通路蛋白水平的影响( $n=10, \bar{x} \pm s$ )Table 6 Effects of Bifidobacterium on protein levels of VIP/cAMP/PKA and mTOR pathway in DSS-induced UC mice ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Groups	VIP/ $\beta$ -actin	c-AMP/ $\beta$ -actin	p-PKA/PKA	AQP3/ $\beta$ -actin	p-mTOR/mTOR	p-S6K1/S6K1
NC	0.89 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.12	0.79 $\pm$ 0.09	0.96 $\pm$ 0.07	0.35 $\pm$ 0.08	0.42 $\pm$ 0.09
UC	0.42 $\pm$ 0.05*	0.32 $\pm$ 0.06*	0.35 $\pm$ 0.07*	0.49 $\pm$ 0.05*	0.96 $\pm$ 0.06*	1.18 $\pm$ 0.14*
MIMBb75 low-dose	0.53 $\pm$ 0.04#	0.46 $\pm$ 0.05#	0.48 $\pm$ 0.04#	0.62 $\pm$ 0.06#	0.72 $\pm$ 0.05#	0.95 $\pm$ 0.08#
MIMBb75 high-dose	0.65 $\pm$ 0.06**	0.63 $\pm$ 0.08**	0.69 $\pm$ 0.08**	0.85 $\pm$ 0.07**	0.56 $\pm$ 0.08**	0.72 $\pm$ 0.05**
Mesalazine	0.68 $\pm$ 0.05**	0.65 $\pm$ 0.07**	0.71 $\pm$ 0.05**	0.88 $\pm$ 0.09**	0.55 $\pm$ 0.03**	0.69 $\pm$ 0.07**
F	146.840	45.865	70.809	80.729	130.480	99.241
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

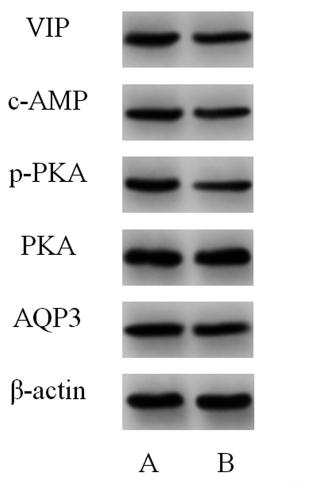
Note: Compared with NC group, \* $P<0.05$ . compared with UC group, # $P<0.05$ . compared with MIMBb75 low-dose group, \*\* $P<0.05$ .

图 3 WB 检测 VIP/cAMP/PKA 通路蛋白的表达

Fig.3 Expression of VIP/cAMP/PKA pathway protein detected by WB

Note: A, MIMBb75 high-dose group. B, MIMBb75 high-dose combine MHY1485 group.

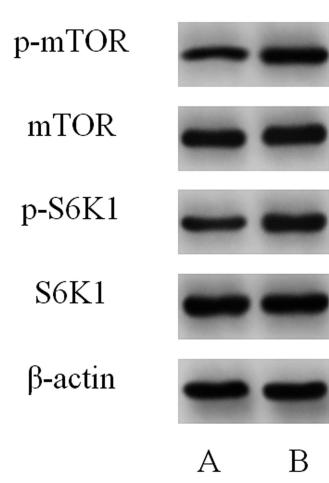


图 4 WB 检测 mTOR 通路蛋白的表达

Fig.4 Expression of mTOR pathway proteins detected by WB

Note: A, MIMBb75 high-dose group. B, MIMBb75 high-dose combine MHY1485 group.

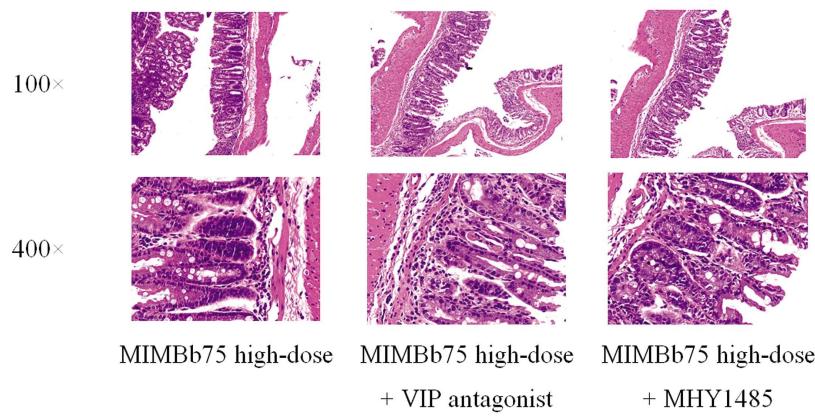


图 5 HE 染色观察各组肠组织病理变化

Fig.5 HE staining was used to observe the pathological changes of intestinal tissues in each group

估其对肠道的保护作用。结果表明, MIMBb75 显著减轻了 DSS 给药引起的急性肠道损伤, 包括体重减轻、DAI 评分降低、结肠长度缩短、粪便隐血等, 表明双歧杆菌 MIMBb75 保护了结肠屏障的完整性。MPO 活性是中性粒细胞浸润的标志, 与炎症组织中中性粒细胞的数量呈正比<sup>[22]</sup>。在本研究中, 与 UC 小鼠相比, MIMBb75 治疗后 MPO 活性显著降低; 另外, 组织病理学观

察也发现炎症细胞浸润和上皮损伤显著减少, 进一步说明 MIMBb75 可能通过抑制中性粒细胞的浸润改善 DSS 诱导的结肠损伤。另外, 双歧杆菌已被证明能增加总厌氧菌的丰度和双歧杆菌的水平, 并通过产生抗菌物质对肠道病原体具有拮抗活性<sup>[23]</sup>。在另一项研究中, MIMBb75 被证明有助于提高 UC 小鼠肠道微生物多样性, 特别是通过增加拟杆菌属和柔嫩梭菌的

表 7 VIP antagonist 对 VIP/cAMP/PKA 通路基因表达的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )  
Table 7 Effect of VIP antagonist on gene expression of VIP/cAMP/PKA pathway (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Groups	VIP mRNA	VIP/ $\beta$ -actin	c-AMP mRNA	c-AMP/ $\beta$ -actin	PKA mRNA	p-PKA/PKA	AQP3 mRNA	AQP3/ $\beta$ -actin
MIMBb75 high-dose	0.62 $\pm$ 0.03	0.64 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.04	0.62 $\pm$ 0.05	0.64 $\pm$ 0.05	0.68 $\pm$ 0.07	0.81 $\pm$ 0.04	0.86 $\pm$ 0.05
MIMBb75 high-dose + VIP antagonist	0.46 $\pm$ 0.03*	0.49 $\pm$ 0.03*	0.42 $\pm$ 0.03*	0.45 $\pm$ 0.06*	0.42 $\pm$ 0.04*	0.46 $\pm$ 0.05*	0.51 $\pm$ 0.03*	0.55 $\pm$ 0.04*
t	11.926	8.135	5.692	6.883	10.865	8.087	18.974	15.310
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with MIMBb75 high-dose group group, \*P<0.05.

表 8 MHY1485 对 mTOR 通路基因水平的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )  
Table 8 Effects of MHY1485 on gene levels of mTOR pathway (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Groups	mTOR mRNA	p-mTOR/mTOR	S6K1 mRNA	p-S6K1/S6K1
MIMBb75 high-dose	0.49 $\pm$ 0.03	0.54 $\pm$ 0.04	0.67 $\pm$ 0.05	0.71 $\pm$ 0.06
MIMBb75 high-dose + MHY1485	0.81 $\pm$ 0.06*	0.84 $\pm$ 0.07*	0.93 $\pm$ 0.09*	1.02 $\pm$ 0.12*
t	15.085	11.767	7.986	7.307
P	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with MIMBb75 high-dose group group, \*P<0.05.

表 9 抑制 VIP/cAMP/PKA、激活 mTOR 通路对 UC 小鼠组织病理学评分和结肠长度、MPO 活性的影响(n=10,  $\bar{x} \pm s$ )  
Table 9 Effects of inhibition of VIP/cAMP/PKA activation of mTOR pathway on histopathological score, colon length  
and MPO activity in UC mice (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Groups	Histopathological score (points)	Colon length (cm)	MPO activity (U/g)
MIMBb75 high-dose	7.43 $\pm$ 0.93	5.71 $\pm$ 0.28	4.04 $\pm$ 0.15
MIMBb75 high-dose + VIP antagonist	12.69 $\pm$ 0.96*	3.98 $\pm$ 0.23*	6.92 $\pm$ 0.28*
MIMBb75 high-dose + MHY1485	12.85 $\pm$ 0.98*	3.96 $\pm$ 0.15*	6.94 $\pm$ 0.26*
F	103.880	196.873	495.691
P	0.000	0.000	0.000

Note: Compared with MIMBb75 high-dose group group, \*P<0.05.

数量<sup>[8]</sup>。在 UC 患者和 DSS 诱导结肠炎的大鼠和小鼠的粪便标本中，都观察到细菌物种多样性的下降<sup>[24,25]</sup>。本研究表明，MIMBb75 治疗后小鼠的 Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数高于 UC 组，提示 MIMBb75 可提高 DSS 诱导的结肠炎小鼠肠道菌群的多样性。

VIP 是一种胃肠道激素，VIP/cAMP/PKA 与肠道分泌功能密切相关。VIP 受体主要分布在胃肠道上皮细胞的基底膜上，当其与 VIP 结合时，刺激细胞中 cAMP 的生成，促进肠道上皮细胞分泌电解质和水分，保持结肠黏膜完整性<sup>[26]</sup>。cAMP 作为第二信使激活 PKA，使靶蛋白磷酸化并调控细胞反应。VIP 作为上游神经递质，通过 cAMP/PKA 信号通路调控 AQP3 蛋白的表达<sup>[26]</sup>。mTOR 是一种高度保守的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶，通过介导 p70S6 核糖体的磷酸化激酶(S6K)影响细胞代谢和生长<sup>[27]</sup>。mTOR 信号通路在炎症反应发生发展过程中起重要作用，是促炎关键因素<sup>[28]</sup>。研究<sup>[29]</sup>发现，激活 VIP/cAMP/PKA 通路可增加肠道菌群数量，保护肠道屏障。而抑制 mTOR 信号通路

有利于缓解实验性 UC 和结肠炎相关癌症的进展<sup>[30]</sup>。本研究发现，DSS 诱导的 UC 可导致结肠组织中 VIP、cAMP、AQP3 表达及 PKA 磷酸化水平的降低。相比之下，MIMBb75 可激活 UC 模型结肠组织 VIP、cAMP、AQP3 表达及 PKA 磷酸化水平。此外，MIMBb75 处理后，mTOR 和 S6K 磷酸化水平显著降低。这些体内实验结果表明，MIMBb75 可能通过激活 VIP/cAMP/PKA 通路、抑制 mTOR 通路抑制 DSS 诱导的 UC。为了深入了解这两个通路与 MIMBb75 缓解 UC 损伤的关系，本研究采用 VIP antagonist(一种拮抗剂，可抑制 VIP 表达从而降低下游基因的表达)和 MHY1485(一种 mTOR 激活剂)对 UC 小鼠进行干预，结果发现，VIP antagonist 显著降低了结肠中 VIP 的表达，从而使下游 cAMP、AQP3 表达及 PKA 磷酸化水平下调；而 MHY1485 则激活了 mTOR 和 S6K 的磷酸化水平。另外，本研究还发现，无论是抑制 VIP/cAMP/PKA 通路还是激活 mTOR 通路都能逆转 MIMBb75 对 DSS 诱导的小鼠结肠损伤的保护作用。

综上所述，双歧杆菌 MIMBb75 通过激活 VIP/cAMP/PKA 通路、抑制 mTOR 通路提高肠道菌群的多样性，改善 DSS 诱导的结肠损伤，缓解 UC 进展。双歧杆菌 MIMBb75 可能是一种较有前景的治疗益生菌。然而，本研究未进行体内炎症因子水平的检测，这是本研究的不足之处，也是接下来研究的重点。

#### 参 考 文 献(References)

- [1] Feuerstein JD, Moss AC, Farrel FA. Ulcerative Colitis[J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(7): 1357-1373
- [2] 喻婷, 胡德胜, 楚思, 等. 复方苦参汤联合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎治疗效果及炎性因子水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(1): 50-53, 91
- [3] Du L, Ha C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2020, 49(4): 643-654
- [4] Wan Y, Yang L, Jiang S, et al. Excessive Apoptosis in Ulcerative Colitis: Crosstalk Between Apoptosis, ROS, ER Stress, and Intestinal Homeostasis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2022, 28(4): 639-648
- [5] Cui L, Guan X, Ding W, et al. Scutellaria baicalensis Georgii polysaccharide ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and modulating gut microbiota [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 166(1): 1035-1045
- [6] Tamaki H, Nakase H, Inoue S, et al. Efficacy of probiotic treatment with *Bifidobacterium longum* 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial[J]. Dig Endosc, 2016, 28(1): 67-74
- [7] 姚君, 王立生, 王建尧, 等. 双歧杆菌抑制溃疡性结肠炎小鼠结肠氧化应激和 NADPH 氧化酶表达 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(14): 2491-2493
- [8] 郭慧慧, 宋慧, 李婷, 等. 双歧杆菌对溃疡性结肠炎小鼠肠损伤及肠道菌群的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2017, 5(13): 60-62
- [9] Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(11): 1073-1083
- [10] Yan YX, Shao MJ, Qi Q, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates DSS-induced mouse ulcerative colitis via suppressing neutrophils and macrophages [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(10): 1633-1644
- [11] Li C, Liu YY, Zhao GQ, et al. Role of vasoactive intestinal peptide in *Aspergillus fumigatus*-infected cornea[J]. Int J Ophthalmol, 2018, 11(2): 183-188
- [12] Zhou J, Yao W, Li C, et al. Administration of follicle-stimulating hormone induces autophagy via upregulation of HIF-1 $\alpha$  in mouse granulosa cells[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(8): e3001-e3016
- [13] Zhang C, Zhu H, Jie H, et al. Arbutin ameliorated ulcerative colitis of mice induced by dextran sodium sulfate (DSS) [J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 11707-11715
- [14] Kihara N, de la Fuente SG, Fujino K, et al. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats[J]. Gut, 2003, 52(5): 713-719
- [15] Ren Y, Geng Y, Du Y, et al. Polysaccharide of *Hericium erinaceus* attenuates colitis in C57BL/6 mice via regulation of oxidative stress, inflammation-related signaling pathways and modulating the composition of the gut microbiota [J]. J Nutr Biochem, 2018, 57(1): 67-76
- [16] Xie J, Liu Y, Chen B, et al. Ganoderma lucidum polysaccharide improves rat DSS-induced colitis by altering cecal microbiota and gene expression of colonic epithelial cells [J]. Food Nutr Res, 2019, 1(1): 63-75
- [17] Clarke WT, Feuerstein JD. Colorectal cancer surveillance in inflammatory bowel disease: Practice guidelines and recent developments[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(30): 4148-4157
- [18] Liu Y, Sheng Y, Pan Q, et al. Identification of the key physiological characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains for ulcerative colitis alleviation[J]. Food Funct, 2020, 11(2): 1279-1291
- [19] Wirtz S, Popp V, Kindermann M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation [J]. Nat Protoc, 2017, 12(7): 1295-1309
- [20] He L, Zhang F, Jian Z, et al. Stachyose modulates gut microbiota and alleviates dextran sulfate sodium-induced acute colitis in mice [J]. Saudi J Gastroenterol, 2020, 26(3): 153-159
- [21] Singh N, Arioli S, Wang A, et al. Impact of *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 on mouse intestinal microorganisms [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2013, 85(2): 369-375
- [22] Wei W, Ding M, Zhou K, et al. Protective effects of wedelolactone on dextran sodium sulfate induced murine colitis partly through inhibiting the NLRP3 inflammasome activation via AMPK signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 94(1): 27-36
- [23] 邱春雷, 严红, 吴雄健, 等. 溃疡性结肠炎的微生态学改变及双歧杆菌的治疗作用研究[J]. 中国全科医学, 2014, 17(26): 3077-3082
- [24] Wills ES, Jonkers DM, Savelkoul PH, et al. Fecal microbial composition of ulcerative colitis and Crohn's disease patients in remission and subsequent exacerbation [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e90981-e90991
- [25] Samanta AK, Torok VA, Percy NJ, et al. Microbial fingerprinting detects unique bacterial communities in the faecal microbiota of rats with experimentally-induced colitis [J]. J Microbiol, 2012, 50(2): 218-225
- [26] Tan Q, Hu J, Zhou Y, et al. Inhibitory Effect of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* HFY14 on Diphenoxylate-Induced Constipation in Mice by Regulating the VIP-cAMP-PKA-AQP3 Signaling Pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15(1): 1971-1980
- [27] Cao M, Zhang Z, Han S, et al. Butyrate inhibits the proliferation and induces the apoptosis of colorectal cancer HCT116 cells via the deactivation of mTOR/S6K1 signaling mediated partly by SIRT1 downregulation[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(5): 3941-3947
- [28] Zhang Z, Dong L, Jia A, et al. Glucocorticoids Promote the Onset of Acute Experimental Colitis and Cancer by Upregulating mTOR Signaling in Intestinal Epithelial Cells[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(4): 945-962
- [29] Cong L, Duan LW, Su WP, et al. Efficacy of High Specific Volume Polysaccharide - A New Type of Dietary Fiber - On Molecular Mechanism of Intestinal Water Metabolism in Rats With Constipation [J]. Med Sci Monit, 2019, 25(1): 5028-5035
- [30] 方培植, 黄会云, 张涛, 等. PI3K/Akt-mTOR 信号通路介导溃疡性结肠炎相关癌变的实验研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(7): 802-806