

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.24.002

基于 TLR4/MyD88 信号通路观察粪菌移植对 DSS 诱导小鼠溃疡性结肠炎干预作用机制*

陈梦 马红梅[△] 曾文莉 方婷 阮雷

(武汉大学人民医院 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:探讨粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)对葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导小鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)干预作用及其炎症相关的分子机制。**方法:**30只昆明小鼠采用DSS喂养建立结肠炎小鼠模型并随机分为模型组、FMT低剂量组和FMT高剂量组,另取10只作为对照组。FMT低剂量组、FMT高剂量组自造模后第1d开始分别给予8 g/kg、15 g/kg粪菌剂量灌肠处理,灌肠体积0.2 mL。对照组和模型组给予等体积生理盐水灌肠处理。分别在实验第1、7、14及21 d称量小鼠体重。实验结束后处死小鼠,取出结肠,观察各组小鼠结肠形态变化并通过HE染色观察病变程度。ELISA检测小鼠结肠组织匀浆液上清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)、白细胞介素-4(interleukin 4, IL-4)和白细胞介素-10(interleukin 10, IL-10)的表达变化;免疫组化法和RT-qPCR分别检测结肠组织中核因子 κ B-P65亚基(nuclear factor- κ B P65, NF- κ B P65)蛋白和mRNA的表达情况;Western blotting检测结肠组织中Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)、髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)的蛋白表达情况。**结果:**对照组相比,造模小鼠在第6 d起至第14 d体重明显减轻,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,FMT低、高剂量组小鼠第10 d起至第14 d体重明显减轻,FMT高剂量组小鼠体重升高更加明显,差异具有统计学意义($P<0.05$);与对照组相比,模型组小鼠结肠组织中TNF- α 、IL-6、NF- κ B P65 mRNA和蛋白阳性表达、TLR4、MyD88蛋白表达均显著升高($P<0.05$),IL-4、IL-10表达显著下降($P<0.05$);FMT高剂量组IL-4、IL-10较模型组显著升高,其余指标均显著下降($P<0.05$)。**结论:**FMT可通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路缓解炎症反应,发挥对UC的治疗作用。

关键词:溃疡性结肠炎;TLR4/MyD88信号通路;NF- κ B;细胞因子

中图分类号:R-33;R574.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)24-4606-06

Based on the TLR4/MyD88 Signaling Pathway, the Mechanism of Fecal Bacteria Transplantation on the Intervention of Dss-induced Ulcerative Colitis in Mice was Observed*

CHEN Meng, MA Hong-mei[△], ZENG Wen-li, FANG Ting, RUAN Lei

(People's hospital of wuhan university, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of fecal microbiota transplantation (FMT) on mice ulcerative colitis (UC) induced by dextran sodium sulfate (DSS) and the molecular mechanism of inflammation. To investigate the effect of fecal microbiota transplantation (FMT) on mice ulcerative colitis (UC) induced by dextran sodium sulfate (DSS) and the molecular mechanism of inflammation. **Methods:** Thirty kunming mice were fed DSS to establish a model of colitis and randomly divided into the model group, the low-dose FMT group and the high-dose FMT group. The low-dose FMT group and the high-dose FMT group were given 8 g/kg and 15 g/kg fecal bacteria dose enema, with the enema volume of 0.2 mL, from day 1 after modeling. The control group and the model group were given equal volume normal saline enema. The mice were weighed on day 1, 7, 14 and 21, respectively. At the end of the experiment, the mice were sacrificed, and the colorectal was taken out to observe the changes in colorectal morphology in each group and observe the degree of lesions by HE staining. ELISA were used to detect the expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), interleukin 4 (IL-4) and interleukin 10 (IL-10) in the supernatant of colorectal tissue homogenate. Immunohistochemistry and RT-qPCR were used to detect the expression of nuclear factor- κ B P65 (NF- κ B P65) protein and mRNA in colorectal tissues. Western blotting were used to detect the expression of toll-like receptor 4 (TLR4) and myeloid differentiation factor 88 (MyD88) in colorectal tissues. **Results:** Compared with the control group, the weight of the model mice was significantly reduced from the 6th day to the 14th day, the difference was

* 基金项目:湖北省自然科学基金项目(2015CKB754)

作者简介:陈梦(1989-11),女,硕士研究生,研究方向:生物医学工程,电话:13886067629

[△] 通讯作者:马红梅(1963-),硕士生导师,电话:18086006405

(收稿日期:2020-04-29 接受日期:2020-05-24)

statistically significant ($P<0.05$); compared with the model group, the FMT low and high dose group mice from the 10th day to the 14th day Compared with the control group, the expression of TNF- α , IL-6, NF- κ B p65 mRNA and protein, TLR4, MyD88 in colorectal tissue of the model group were significantly higher Protein expression was significantly increased ($P<0.05$), IL-4 and IL-10 expression was significantly decreased ($P<0.05$), while IL-4 and IL-10 in high dose FMT group were significantly higher than those in model group, and other indexes were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** FMT can alleviate the inflammatory response by inhibiting TLR4/MyD88/NF- κ B signal pathway and play a therapeutic role in UC.

Key words: Ulcerative colitis; TLR4/MyD88 signaling pathway; NF- κ B; Cytokines

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R574.62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)24-4606-06

前言

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是可由多种因素诱导的非特异性炎症性肠道疾病, 是导致发生 UC 的最重要风险因素, 临床上以腹胀、腹痛、粘液脓血便等表现为主, 药物治疗不能取得理想的效果^[1,2]。大肠黏膜慢性炎症合并溃疡性病变是 UC 患者的局部病理特征, 发病机制尚不明确^[3-5]。粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 又称粪便菌群疗法, 是一种以重塑肠道微生态改善免疫、代谢状态, 为临床治疗肠道和非肠道相关疾病提供新的思路^[6,7]。研究表明, ToU 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 可以启动多种免疫细胞中的级联通路的活化, 导致如炎症细胞因子、趋化因子、共刺激分子、主要组织相容性复合物等多种效应分子的表达, 在引发宿主免疫防御反应和各种炎症过程中发挥了相当重要的作用^[8,9]。近年来研究发现, 当上游刺激因子与 TLRs 结合, TLRs 向细胞内传递活化信号, 激活 NF- κ B 等转录因子, 进而调节炎症递质的产量, 导致 UC 肠黏膜的损伤^[10,11]。本研究观察 FMT 对 UC 小鼠 TLR4/MyD88 信号通路的影响, 探讨其对疾病的干预作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性昆明小鼠 50 只购于中科院上海细胞生物研究所, 生产许可证号[SCXK(沪)2017-0011], 体重为 20 ± 2 g, 饲养于本院动物实验中心, 饲养室保持良好通风, 饲养环境温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 $(50 \pm 10)\%$, 12 h 循环光照。正常饲养 1 周以适应环境, 第 2 周开始进行实验。

1.2 药品与主要试剂

DSS(美国 MP Bio 公司), IL-6、TNF- α 、IL-4 和 IL-10 ELISA 试剂盒(上海酶联生物), Trizol 试剂盒(TaKaRa), 全蛋白抽提试剂盒(德国 QIAGEN 公司), western blot 试剂盒(美国 BD 公司), NF- κ B P65(货号: ab207297, 批号: E289180)、TLR4(货号: ab22048, 批号: D29183874)、MyD88(货号: ab199247, 批号: A1805603)抗体(美国 abcam 公司)。

1.3 新鲜菌液制备

参照文献中^[12]的方法, 收集 20 只正常小鼠清晨新鲜粪便于无菌管中, 按 1:5 的重量体积比加入无菌生理盐水, 振荡器摇匀后用 3 层 100 目纱布过滤大颗粒物质后在 4°C 条件下以 3 000 r/min, 离心 10 min, 弃去上清, 加入等体积生理盐水震荡摇匀后再次离心, 上述操作重复 3 次, 沉淀物加入生理盐水重悬即为粪菌滤液。

1.4 动物模型建立及分组

按照参考文献的方法构建模型, 取 33 只雄性昆明小鼠自由饮用 2%DSS 水溶液共 7 d; 之后普通饮水 14 d。随机选取 3 只小鼠取结肠组织进行病理学检查, 按照张俊等^[13]人的方法证实模型构建成功, 将剩下的 30 只大鼠随机分为模型组、FMT 低剂量组、FMT 高剂量组。另取 10 只小鼠 21 d 始终给予普通饮水作为对照组。FMT 低剂量组、FMT 高剂量组自建模后第 1 d 开始分别给予 8 g/kg、15 g/kg 粪菌剂量灌肠处理, 灌肠体积 0.2 mL, 方法为: 采用灌肠针经石蜡润滑后自肛门插入小鼠结肠内 2~3 cm 处, 缓慢注射并将小鼠头朝下倒立 3 min 防止菌液流出, 连续给药 7 d, 以该 7d 作为一个循环, 共进行 4 个循环。对照组和模型组给予等体积生理盐水灌肠处理, 方法同上。分别将第 7、14 及 21 d 计为每个循环最后 1 天并称重。灌肠实验结束 2 d 后小鼠断颈处死。取出结肠组织, 生理盐水冲洗后一半放于 4%多聚甲醛溶液固定, 另一半存储于 -80°C 冰箱备用。

1.5 HE 染色检测小鼠结肠组织形态

结直肠组织在多聚甲醛中浸泡 48h 后, 经脱水、常规石蜡包埋, 切成 $4 \mu\text{m}$ 的切片。然后依次脱蜡、水化, 进行 HE 染色、脱水、二甲苯充分浸泡 2 h 直至透明后干燥。用中性树胶封片, 光学显微镜下观察组织形态并拍摄。参照文献^[14]对结肠病理进行等级划分。

1.6 ELISA 检测小鼠结直肠组织匀浆液上清中炎症因子含量

取各组小鼠结直肠组织制成匀浆, 4000 rpm 离心 15 min, 取上清液为待测样本。ELISA 试剂盒测定 TNF- α 、IL-6、IL-4 和 IL-10 的含量, 具体操作步骤依照试剂盒说明书进行。反应中止后, 采用酶标仪测量 450 nm 处的 OD 值。

1.7 免疫组化检测小鼠结直肠组织 NF- κ B P65 的表达

组织切片常规脱蜡和水化后置于 PBS 缓冲液中高压修复, 然后用 3%双氧水室温下浸泡以阻断内源性过氧化物酶, 封闭, 分别加稀释好的一抗 4°C 过夜孵育, 次日复温后 PBS 洗涤干净, 分别加稀释好的二抗, 室温孵育 30 min, PBS 洗涤。加适量 DAB 孵育 5 min, 去离子水终止反应, 苏木素复染 5 min, 无菌水冲洗后, 依次用不同浓度梯度乙醇脱水 2 h, 无菌滤纸吸净表面残存液体, 二甲苯透明, 用中性树胶封片, 光学显微镜下观察组织形态并拍摄。

1.8 RT-qPCR 检测小鼠结直肠组织 NF- κ B P65 mRNA 的表达

依据 Trizol 法提取各组样本的总 RNA, 使用引物如下: NF- κ B P65 (FP: 5'-ACCTGGAGCAAGCCATTAGCC-3', RP: 5'-CGGACCGCATTCAAGTCATAGT-3')反应条件: 75°C 预变性, 2 min, 进入以下循环 90°C 变性, 5 min; 60°C 退火, 60 s;

72℃延伸,30 s;共 40 个循环。相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示。每个样本独立重复实验 3 次。

1.9 Western blotting 检测小鼠结直肠组织 TLR4、MyD88 的蛋白表达

分别收集各组样本,用总蛋白提取试剂盒分别提取组织及细胞中总蛋白,BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白含量。制备蛋白样品并进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,然后转至 PVDF 膜,加含有 5%BSA 的封闭液室温下封闭 2 h。加入适宜浓度一抗于 4℃封闭过夜。次日用缓冲液清洗 PVDF 膜 3 次,加入二抗,室温孵育 1 h 后,加入显色液曝光显影。

1.10 统计学分析

数据统计采用 SPSS 19.0 软件,作图工具采用 Graphpad5.01,两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 FMT 对小鼠活动、饮食及体重的影响

造模期间,造模各组小鼠先后出现精神萎靡、活动量减少、毛泽无光、进食减少等现象,个别出现便血。与对照组相比,模型组小鼠在第 7 d 起至第 21 d 体重明显减轻,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);与模型组相比,FMT 低、高剂量组小鼠第 7 d 起至第 21 d 体重明显升高,FMT 高剂量组小鼠体重升高更加明显,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。

2.2 FMT 对小鼠结直肠组织形态的影响

镜下观察各组小鼠结肠组织 HE 染色病理切片,如图 2,对

照组小鼠结肠组织黏膜完整,腺体结构整齐,黏膜下未见炎症;模型组部分结肠明显充血,大部分结肠黏膜内细胞排列紊乱,炎症细胞浸润组织,代替正常细胞,肠腺出现溃疡,失去结肠腺体及肌层的正常结构;与模型组相比,FMT 低剂量组炎症浸润减少,粘膜层和肌层损伤减轻,高剂量组炎症浸润明显减少,腺体结构较为完整。

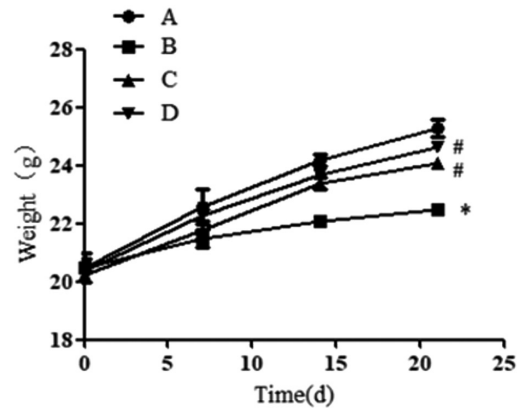


图 1 FMT 对 UC 小鼠体重的影响

注: A:对照组; B:模型组; C:FMT 低剂量组; D:FMT 高剂量组。与对照组相比, $*P < 0.05$; 与模型组相比, $^{\#}P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of FMT on body weight of UC mice

Note: A: control group; B: model group; C: FMT low-dose group; D: FMT high-dose group. Compared with the control group, $*P < 0.05$; Compared with the model group, $^{\#}P < 0.05$.

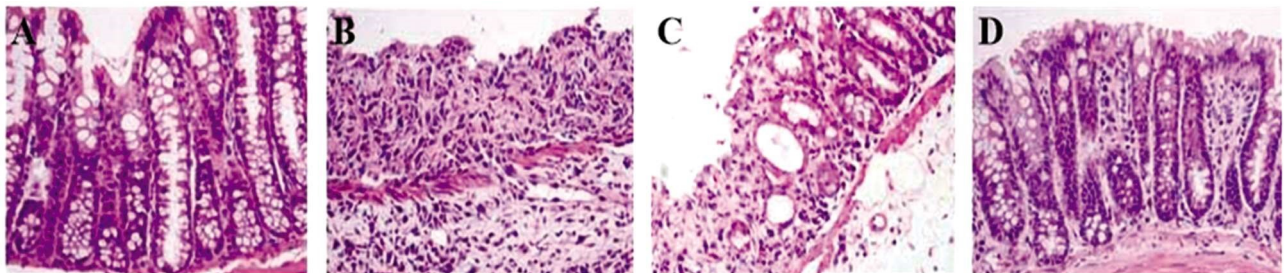


图 2 FMT 对小鼠结直肠组织形态的影响($\times 200$)

注: (A:对照组; B:模型组; C:FMT 低剂量组; D:FMT 高剂量组)

Fig. 2 Effect of FMT on colorectal tissue morphology in mice

Note: (A: control group; B: model group; C: FMT low-dose group; D: FMT high-dose group)

2.3 TNF- α 、IL-6、IL-4 和 IL-10 在小鼠结肠组织匀浆液上清中的表达变化

如图 3, 与对照组相比, 模型组 TNF- α 、IL-6 表达水平升高, IL-4、IL-10 表达水平下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与

模型组比较,FMT 各组 TNF- α 、IL-6 表达水平均有不同程度下降, 但高剂量组更为明显 ($P < 0.05$), IL-4、IL-10 在 FMT 高剂量组中表达水平显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

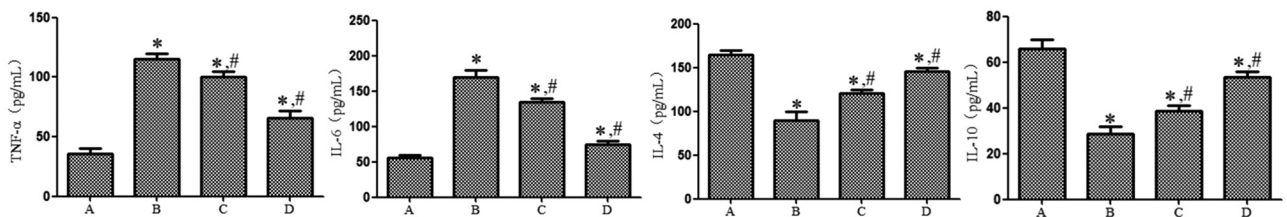


图 3 TNF- α 、IL-6、IL-4 和 IL-10 在小鼠组织匀浆液上清中的表达变化

注: A:对照组; B:模型组; C:FMT 低剂量组; D:FMT 高剂量组。与对照组相比, $*P < 0.05$; 与模型组相比, $^{\#}P < 0.05$ 。

Fig. 3 Expression changes of TNF- α , IL-6, IL-4 and IL-10 in supernatant of mouse tissue homogenate

Note: A: control group; B: model group; C: FMT low-dose group; D: FMT high-dose group. Compared with the control group, $*P < 0.05$; Compared with the model group, $^{\#}P < 0.05$.

2.4 免疫组化和 RT-qPCR 检测 NF- κ B P65 在小鼠结肠组织中的表达变化

采用 RT-qPCR 检测各组小鼠 NF- κ B P65 mRNA 的表达, 免疫组化检测 NF- κ B P65 蛋白的表达。结果如图 4、图 5 所示,

与对照组相比,模型组中 NF- κ B P65 mRNA 和蛋白阳性表达明显上升($P<0.05$);与模型组相比,FMT 低、高剂量组 NF- κ B P65 mRNA 和蛋白阳性表达均显著下降($P<0.05$)。

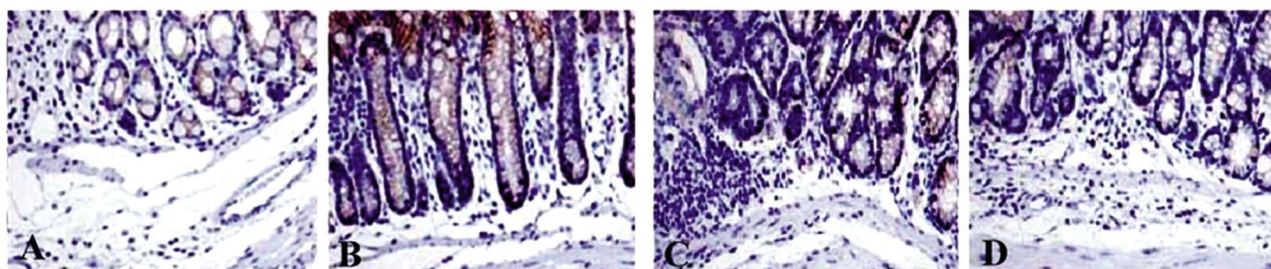


图 4 免疫组化检测 NF- κ B P65 蛋白的表达($\times 200$)

注: A:对照组; B:模型组; C:FMT 低剂量组; D:FMT 高剂量组。

Fig. 4 Immunohistochemical detection of NF- κ B P65 protein

Note: A: control group; B: model group; C:FMT low-dose group; D:FMT high-dose group.

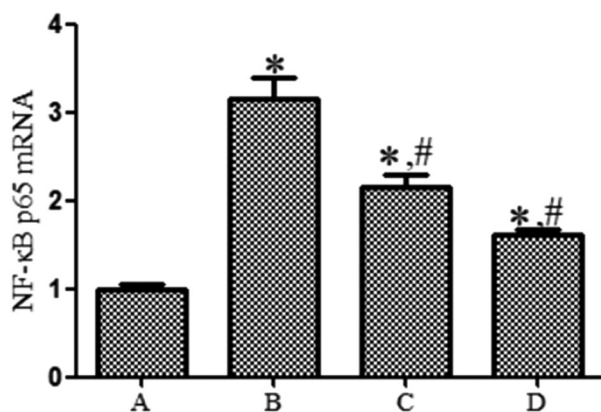


图 5 RT-qPCR 检测 NF- κ B P65 mRNA 的表达

注:(A:对照组; B:模型组; C:FMT 低剂量组; D:FMT 高剂量组。与对照组相比, $*P<0.05$;与模型组相比, $^{\#}P<0.05$)。

Fig. 5 Expression of NF- κ B P65 mRNA was detected by RT-qPCR

Note: (A: control group; B: model group; C:FMT low-dose group; D: FMT high-dose group. Compared with the control group, $*P<0.05$; Compared with the model group, $^{\#}P<0.05$).

2.5 TLR4、MyD88 蛋白在小鼠结肠组织中的表达变化

Western blotting 检测小鼠结肠组织中对对照组、模型组、FMT 低剂量组及 FMT 高剂量组中 TLR4、MyD88 蛋白的表达水平变化。与对照组相比,模型组中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比, FMT 低、高剂量组 TLR4 和 MyD88 蛋白表达水平均下降,且高剂量组下降水平更显著,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 6。

3 讨论

UC 是临床常见的消化道慢性疾病,病理基础为多种因素引起的肠黏膜生物屏障破坏。肠道菌群构成了肠道内复杂的微生态系统,在免疫系统、营养吸收及抑制病原菌等诸多方面影响着宿主肠道功能^[15,16]。在正常生理条件下,肠道内的优势菌群主要包括双歧杆菌属、乳酸菌属和类杆菌属等专性厌氧菌,其

可形成生物屏障保证肠道正常生理功能,当肠道菌群紊乱,优势菌群转变为以肠杆菌属、肠球菌属等为主的兼性厌氧菌时,则会造成肠道黏膜屏障损伤、肠道功能性障碍^[17]。FMT 是将健康个体来源的粪便通过胃镜、肠镜、直肠导管灌注等方式输入至病患肠道内恢复正常肠道菌群达到治疗疾病的目的^[18]。FMT 用于 UC 的治疗已有报道^[19],且取得较好的疗效,但其作用机制尚无统一结论。因此本研究进一步探讨 FMT 对 UC 的疗效及其炎症相关的分子机制。本研究发现与模型组小鼠相比, FMT 低、高剂量治疗后的鼠精神状态、活动、饮食等情况均明显好转,观察期内体重在治疗后也逐步增长。HE 染色切片观察炎症浸润明显减少,病变减轻,且 FMT 高剂量组更加明显,证明 FMT 对 UC 小鼠具有较好的疗效。

有研究认为^[20],机体免疫对肠道菌群抗原的过度应答而导致肠道炎症反应是 UC 发病的关键。细胞因子可分为促炎细胞因子和抑炎细胞因子两类。二者之间的平衡失调会导致肿瘤的发生^[21]。研究显示, TNF- α 是重要的炎症递质,介导局部炎症反应并可导致器官或多系统受损^[22]。IL-6 是介导急性期炎症反应的重要细胞因子,参与炎症病理过程^[23,24]。而 IL-4 和 IL-10 在炎症疾病中均为有效的抗炎物质,能够保护机体出现过度病理反应。有研究表明^[25,26],IL-4 和 IL-10 均能够通过下调炎症介质 TNF- α 和 IL-6 的表达促进机体体液免疫反应。IL-4 和 IL-10 可在直肠炎中共同作用逆转 Th1/Th2 细胞活化过程,进而改善黏膜修复。本研究发现 DSS 诱导小鼠组织匀浆上清液中 TNF- α 和 IL-6 的表达水平显著升高,IL-10 的表达水平显著下降($P<0.05$),而给予低、高剂量 FMT 治疗后, TNF- α 和 IL-6 表达水平均有不同程度的下降,高剂量组差异更为显著($P<0.05$, $P<0.01$),而抑炎因子 IL-4 和 IL-10 的表达水平显著升高($P<0.05$)。该研究结果提示 TNF- α 、IL-6、IL-4 和 IL-10 参与 UC 的发病与免疫过程,而 FMT 能够较好地调节 TNF- α 、IL-6、IL-4 和 IL-10 的表达,从而发挥对 UC 的治疗作用。

近年来研究发现, NF- κ B 是炎症反应的关键分子。NF- κ B 激活后会,活化的 NF- κ B P50/P65 与靶基因结合后就会诱导包括 TNF- α 和 IL-6 在内的很多促炎因子的释放^[27]。因此,为进一

步探究 FMT 在治疗 UC 中的分子机制,本研究通过 RT-qPCR 和免疫组化分别检测小鼠结肠组织中 NF- κ B P65 mRNA 和蛋白的表达。发现与对照组相比,NF- κ B P65 mRNA 和蛋白在 DSS 联合诱导的小鼠 UC 组织中表达均明显升高,而在给予

FMT 治疗的各组小鼠结肠组织中表达均明显降低,高剂量组中更为明显。提示 FMT 可通过抑制 NF- κ B 的表达,进而抑制细胞因子 TNF- α 、IL-6 及 IL-10 的表达。

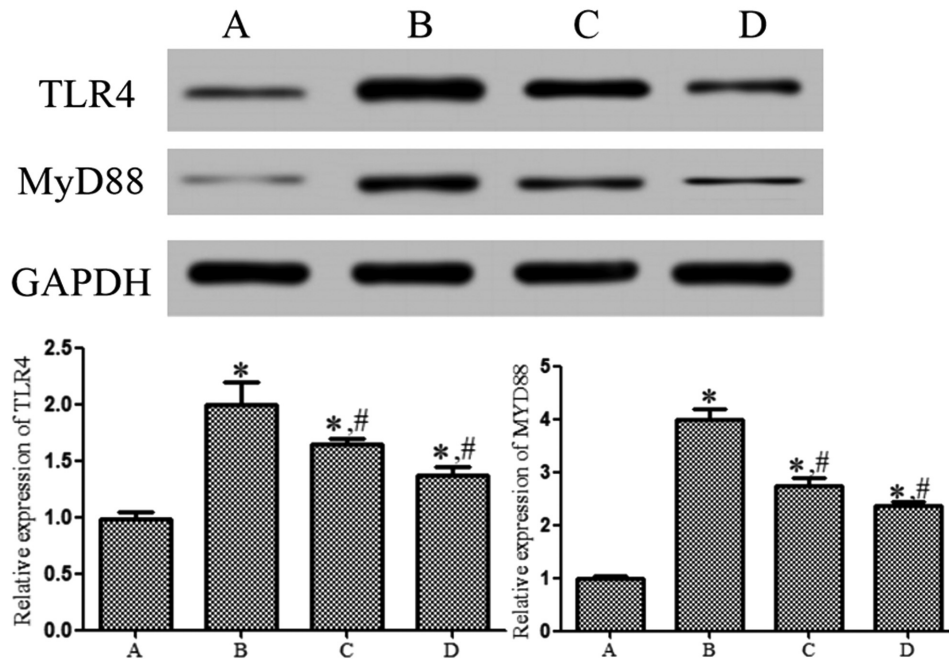


图 6 TLR4、MyD88 蛋白在小鼠结肠组织中的表达变化

注:A:对照组;B:模型组;C:FMT 低剂量组;D:FMT 高剂量组;与对照组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$ 。

Fig. 6 Expression changes of TLR4 and MyD88 proteins in colon tissues of mice

Note: A: control group; B: model group; C:FMT low-dose group; D: FMT high-dose group. Compared with the control group, * $P<0.05$; Compared with the model group, # $P<0.05$.

TLRs 是机体抗感染的第一道屏障,在肠道黏膜上皮细胞和免疫细胞中都有表达,参与肠道的炎症反应^[28]。TLR4 是 TLRs 家族中最重要的成员之一,可通过髓系分化蛋白 88 (MyD88)依赖型或非依赖型信号通路激活 NF- κ B^[29]。有研究表明,相对于正常肠黏膜组织和炎症肠黏膜组织,炎症组织中 TLR4 和 MyD88 呈高度表达^[30]。本研究通过 Western blotting 检测发现与对照相比,DSS 诱导小鼠结肠组织中 TLR4 和 MyD88 表达增加;而与模型组相比,FMT 各组 TLR4 和 MyD88 表达水平均显著下降。表明 UC 小鼠结肠中 TLR4/MyD88 信号通路被激活,而 FMT 对 TLR4/MyD88 信号通路具有较好的抑制作用。

综上所述,FMT 可能通过抑制 TLR4/MyD88 信号通路的表达,进而抑制 NF- κ B 的活化,减少促炎因子 TNF- α 、IL-6 的表达,促进抑炎因子 IL-4、IL-10 的表达,进而达到治疗 UC 的目的。本研究为 FMT 临床辅助治疗 UC 患者提供了实验基础。

参考文献(References)

[1] Chubak J, Boudreau D M, Rulyak S J, et al. Colorectal cancer risk in relation to antidepressant medication use[J]. Journal of China University of Geosciences, 2018, 128(1): 227-232
 [2] 赵振营. 溃疡性结肠炎中药组方规律及整合药理学分子机制探索[J]. 中草药, 2018, 49(13): 3042-3050
 [3] 鲍璐璐, 崔立红. TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(5): 94-98

[4] Se-Jin Baek, Seon-Hahn Kim. Colitis-associated colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease [J]. Minerva Chirurgica, 2017, 72(6): 520-529
 [5] Gaurav Syal, Amir Kashani, David Q. Shih. Fecal Microbiota Transplantation in Inflammatory Bowel Disease- a Primer for the Internists [J]. American Journal of Medicine, 2018, 131(9): 1017-1024
 [6] 李素彦, 许宁, 花然亮, 等. 粪菌移植通过肠道菌群调节脓毒症大鼠脑皮层胆碱能抗炎通路 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(9): 1102-1107
 [7] Martina Mikulandra, Jasminka Pavelic, Tanja Matijevic Glavan. Recent Findings on the Application of Toll-like Receptors Agonists in Cancer Therapy [J]. Current Medicinal Chemistry, 2017, 24 (19): 2011-2032
 [8] Yang, Ye, Jobin, Christian. Novel insights into microbiome in colitis and colorectal cancer [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2017, 33(6): 422
 [9] Jie Zan, Hao Zhang, Min-yi Lu, et al. Isosteviol sodium injection improves outcomes by modulating TLRs/NF- κ B-dependent inflammatory responses following experimental traumatic brain injury in rats[J]. Neuroreport, 2018, 29(10): 1
 [10] 徐丽玲, 王承党. 溃疡性结肠炎患者粪便滤液对小鼠肠道炎症病变和内脏感觉的影响[J]. 中华消化杂志, 2018, 38(5): 337-340
 [11] 张俊, 魏永凯, 李玥, 等. 美洲大蠊提取物 Ento-D 对醋酸诱导的急性溃疡性结肠炎大鼠的作用及机制研究 [J]. 中华中医药杂志,

- 2018, 33(1): 304-308
- [12] 王雄, 姚春海, 刘青云, 等. 龙牡汤对特异性皮炎小鼠模型的TLR-4、NF- κ B p65 表达影响[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2019, 18(3): 198-201
- [13] 吴帆, 刘圣徽, 朱金华, 等. 乌梅丸对2型糖尿病模型大鼠NF- κ B p65 及 GLP-1 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 144-148
- [14] Wu, Yuliang, Li, Qiang, Chen, Xing-Zhen. Detecting protein-protein interactions by far western blotting [J]. Nature Protocols, 2 (12): 3278-3284
- [15] Chen L, Wilson J E, Koenigsnecht M J, et al. Corrigendum: NLRP12 attenuates colon inflammation by maintaining colonic microbial diversity and promoting protective commensal bacterial growth. [J]. Nature Immunology, 2017, 18(5): 541
- [16] Messaris E. Digestive Tract Damage: A Predictor of Early Surgical Intervention in Patients With Newly Diagnosed Crohn's Disease[J]. Diseases of the Colon & Rectum, 2018, 61(2): 147
- [17] 彭林艳, 冯利波. 溃疡性结肠炎患者血清IDO 含量检测及其与机体 Treg/Th17, Th1/Th2 免疫平衡的相关关系[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(22): 1967-1970
- [18] 刘亭, 宋玮琦, 庄佳燕, 等. 高盐高脂饮食及粪菌移植对肠道及肠道菌群的影响[J]. 中华炎症肠病杂志, 2019, 3(3): 227-232
- [19] Michael Mintz, Shanawaj Khair, Suman Grewal, et al. Longitudinal microbiome analysis of single donor fecal microbiota transplantation in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection and/or ulcerative colitis[J]. Plos One, 2018, 13(1): e0190997
- [20] Keshteli A H, Millan B, Madsen K L. Pretreatment with antibiotics may enhance the efficacy of fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis: a meta-analysis [J]. Mucosal Immunology, 2017, 10(2): 565
- [21] Keun Soo Ahn, Ji Yeon Hwang, Ho-Seong Han, et al. The impact of acute inflammation on progression and metastasis in pancreatic cancer animal model[J]. Surgical Oncology, 2017, 27(1): 61-69
- [22] 冯媛, 刘欣, 史海涛, 等. 幽门螺杆菌感染对溃疡性结肠炎患者炎症细胞因子水平和肠道菌群含量的影响 [J]. 世界临床药物, 2019, 40(5): 334-339
- [23] Vieira E F, Van C J, Implvo F, et al. Protein hydrolysate from canned sardine and brewing by-products improves TNF- α -induced inflammation in an intestinal-endothelial co-culture cell model [J]. European Journal of Nutrition, 2018, 57(6): 2275-2286
- [24] Hassan Ghasemi. Roles of IL-6 in Ocular Inflammation: A Review[J]. Ocular Immunology & Inflammation, 2017, 26(1): 1-14
- [25] Flore Amat, Malek Louha, Marta Benet, et al. The IL-4 rs2070874 polymorphism may be associated with the severity of recurrent viral-induced wheeze [J]. Pediatric Pulmonology, 2017, 52 (11): 1435-1442
- [26] Shadia A. Fathy, Mohamed R. Mohamed, Mohamed A. M. Ali, et al. Influence of IL-6, IL-10, IFN- γ and TNF- α genetic variants on susceptibility to diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus patients[J]. Biomarkers, 2019, 24(1): 43-55
- [27] Liang Z, Simard M J, Jacques H. Endothelial microRNAs regulating the NF- κ B pathway and cell adhesion molecules during inflammation [J]. The FASEB Journal, 2018, 32(8): 4070-4084
- [28] Kim YO, Park IS, Park S, et al. *Bizonia berychis* sp. nov. isolated from intestinal tract of a splendid alfonsino (*Beryx splendens*)[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2018, 68(4): 1227
- [29] Ga Bin Park, Yoon Hee Chung, Ji Hee Gong, et al. GSK-3 β -mediated fatty acid synthesis enhances epithelial to mesenchymal transition of TLR4-activated colorectal cancer cells through regulation of TAp63 [J]. International Journal of Oncology, 2016, 49(5): 2163-2172
- [30] Kai Ye, Qi-Wei Chen, Ya-Feng Sun, et al. Loss of BMI-1 dampens migration and EMT of colorectal cancer in inflammatory microenvironment through TLR4/MD-2/MyD88-mediated NF- κ B signaling[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 119(2): 1922-1930

(上接第 4682 页)

- [25] Zhang Y, Zhu Y, Zhang K, et al. Invasive ductal breast cancer: preoperative predict Ki-67 index based on radiomics of ADC maps [J]. Radiol Med, 2020, 125(2): 109-116
- [26] 张悦, 刘万花, 王瑞, 等. 3.0T 磁共振不同 b 值表观扩散系数数值与乳腺癌预后因子及分子分型相关性对比研究 [J]. 磁共振成像, 2018, 9(6): 422-426
- [27] Surov A, Chang YW, Li L, et al. Apparent diffusion coefficient cannot predict molecular subtype and lymph node metastases in invasive breast cancer: a multicenter analysis [J]. MC Cancer, 2019, 19(1): 1043-1044
- [28] Zhao N, Ma C, Ye X, et al. The feasibility of b-value maps based on threshold DWI for detection of breast cancer: A case-control STROBE compliant study [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(44): 17640-17642
- [29] 孙淑萌, 邵真真, 刘佩芳, 等. 3.0T MRI 多 b 值扩散加权成像 ADC 直方图与乳腺癌分子分型及预后因素的相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(1): 39-43
- [30] Liu HL, Zong M, Wei H, et al. Added value of histogram analysis of apparent diffusion coefficient maps for differentiating triple-negative breast cancer from other subtypes of breast cancer on standard MRI [J]. Cancer Manag Res, 2019, 11(6): 8239-8247