

• 论 著 •
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.24.001
网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20191029.1141.016.html>(2019-10-29)

清除巨噬细胞加重葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎*

浦佩珉¹,卞兆连²,包元飞²,沈健豪²,李 民^{2△},顾尔莉²
(1.南京中医药大学,南京 210023;2.南京中医药大学南通中西医结合临床医学院/
南通市第三人民医院肝病科/肝病研究所,江苏南通 226000)

[摘要] 目的 观察小鼠腹腔注射氯膦酸二钠脂质体(Clodrolip)后对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)的影响。**方法** 将小鼠分为两组(DSS、DSS+Clodrolip 组)后均予以 3% DSS 饮用水饲养 7 d, DSS+Clodrolip 组于造模前 3 d、造模当天及造模第 2、4、6 天腹腔注射 200 μ L 的 Clodrolip。观察体质量变化率、疾病活动指数(DAI)评分、结直肠长度、脾脏质量及组织学损伤,实时荧光定量 PCR(RT-PCR)判断巨噬细胞清除情况及肠道组织炎性因子表达情况,TUNEL 法检测肠上皮细胞凋亡情况。**结果** DSS+Clodrolip 组小鼠肠组织、肝脏组织内 F4/80 相对表达水平较 DSS 组均明显降低。从造模第 4 天开始,DSS+Clodrolip 组小鼠体质量变化率较 DSS 组明显下降;造模第 1 天 DSS+Clodrolip 组小鼠率先出现 DAI 评分,从造模第 4 天开始,DSS+Clodrolip 组小鼠 DAI 评分较 DSS 组明显升高。DSS+Clodrolip 组小鼠结直肠长度较 DSS 组缩短;DSS+Clodrolip 组小鼠脾脏质量较 DSS 组增加。DSS+Clodrolip 组小鼠的白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)相对表达水平高于 DSS 组。DSS+Clodrolip 组小鼠肠上皮细胞凋亡情况较 DSS 组明显。**结论** Clodrolip 能够上调促炎因子的表达,促进肠上皮细胞的凋亡,加重 DSS 诱导的小鼠 UC。

[关键词] 氯膦酸二钠脂质体;巨噬细胞;肠黏膜;上皮细胞;葡聚糖硫酸钠;结肠炎,溃疡性

[中图法分类号] R574.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)24-4141-06

Clearance of macrophages aggravated dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in mice*

PU Peimin¹,BIAN Zhaolian²,BAO Yuanfei²,SHEN Jianhao²,LI Min^{2△},GU Erli²
(1.Nanjing University of Chinese Medicine,Nanjing,Jiangsu 210023,China;
2.Department of Hepatology/Institute of Hepatology,Nantong Integrated Traditional and
Western Medicine Clinical Medical College,Nanjing University of Chinese Medicine/Nantong
Third People's Hospital,Nantong,Jiangsu 226000,China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of intraperitoneal injection of clodronate liposome on mice with ulcerative colitis (UC) induced by dextran sulfate sodium (DSS) salt. **Methods** The mice were divided into two groups (the DSS group and the DSS+Clodrolip group), and then were fed with 3% DSS drinking water for 7 days. The DSS+Clodrolip group was intraperitoneally injected with 200 μ L clodronate liposome at 3 days before modeling, on the day of modeling, and at 2, 4 and 6 days after modeling. The rate of weight change,disease activity index (DAI) score,colorectal length,spleen weight and histopathological injury were observed. The RT-PCR was used to determine macrophage knockout and expression of inflammatory cytokines in intestinal tissues. TUNEL method was used to detect intestinal mucosal epithelial cell apoptosis. **Results** The relative expression levels of F4/80 of intestinal tissue and liver tissue in the DSS+Clodrolip group were significantly lower than those in the DSS group. From the fourth day of modeling,the rate of change in body mass in the DSS+Clodrolip group was significantly lower than that in the DSS group. The DAI score firstly appeared in the DSS+Clodrolip group on the first day of modeling. From the fourth day of modeling, DAI score in the DSS+Clodrolip group was significantly higher than that in the DSS group. The length of co-

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(81600449);南通市社会发展计划项目(JC2018150);南通市科技项目(MS12017021-4);江苏省第三批中医临床优秀人才项目(2017-12-21);南通市医学重点人才项目(2017-12-30)。 作者简介:浦佩珉(1993—),住院医师,硕士,主要从事消化系统疾病(溃疡性结肠炎)研究。 △ 通信作者,E-mail:lmntsy@163.com。

lorectal in the DSS+Clodrolip group was shorter than that in the DSS group. The spleen weight in the DSS+Clodrolip group was higher than that in the DSS group. The relative expression levels of interleukin(IL)-1 β , IL-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α in the DSS+Clodrolip group were higher than those in the DSS group. The apoptosis of intestinal epithelial cells in the DSS+Clodrolip group was more obvious than that in the DSS group. **Conclusion** Clodronate could up-regulate the expression of pro-inflammatory factors, promote the apoptosis of intestinal epithelial cells, and aggravate DSS-induced mouse UC.

[Key words] clodronate liposome; macrophages; intestinal mucosa; epithelial cells; extran sulfate sodium; colitis, ulcerative

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种以慢性炎性反应和胃肠道上皮损伤为特征的自身免疫性肠道疾病,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。虽然目前认为该病的发生主要与饮食、基因及机体免疫等有关^[1-4],但是其具体的发病机制仍不明确。肠道巨噬细胞是肠黏膜抗原呈递细胞的主要种群,它可能通过招募血中单核细胞进入肠道,从而增加促炎因子白细胞介素(IL)-1、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达^[5]。由于巨噬细胞能够产生促炎因子来调节炎性反应,因此被认为是 IBD 破坏性力量的一部分。但是,活化状态下的巨噬细胞也可以产生一些免疫抑制因子,可以帮助修复受损的肠道黏膜组织^[6],且亦有实验表明肠道巨噬细胞可以明显抑制实验性结肠炎^[7],主要通过巨噬细胞中的硒蛋白来保护小鼠免受炎症侵犯^[8]。为了研究巨噬细胞在 IBD 中的作用,本研究使用 Clodrolip 清除葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠体内的巨噬细胞,以探讨巨噬细胞在 UC 中的作用,为 UC 的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 野生型雄性 6~8 周龄 C57BL/6J 小鼠,体质量 22~24 g,由南通大学动物中心提供,饲养在南通大学无特殊病原体(SPF)级动物房中。动物实验严格遵守南通大学动物伦理委员会要求。

1.1.2 试剂 Clodrolip(荷兰 Liposoma B. V. 公司);葡聚糖硫酸钠盐(美国 MP 公司);人尿粪隐血测试盒(南京建成生物工程研究院);Ki67 抗体(德国 Abcam 公司);兔二步法检测试剂盒/兔增强聚合物法检测系统(北京中杉金桥生物技术有限公司),内含内源性过氧化物酶阻断剂、反应增强液、增强酶标山羊抗兔 IgG 聚合物;二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒、粉剂型抗原修复液(柠檬酸法,福州迈新生物技术开发公司);TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒、蛋白酶 K(德国 Roche 公司),内含 Enzyme Solution、Label Solution、Converter-POD;实时荧光定量 PCR(RT-PCR)引物,包括 β -actin、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、F4/80[生工生物工程(上海)股份有

限公司];TRIzol 试剂、5 $\times$ PrimeScript RT Master Mix、Prime Script RT Master ExTaq II 试剂盒、TB Green Premix ExTaq II、RNase Free dH₂O(美国 TaKaRa 公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠 UC 模型建立及巨噬细胞清除 小鼠 UC 模型的建立参考文献[9]方法稍做修改。3% DSS 用灭菌水配置后除菌过滤。将小鼠随机分为两组,每组 5 只,两组均予以 3% DSS 饮用水饲养 7 d(7 $\times$ 24 h),DSS+Clodrolip 组于造模前 3 d、造模当天、造模第 2、4、6 天腹腔注射 200 μ L Clodrolip,用于清除小鼠体内及再生的巨噬细胞。每天称重并记录每只小鼠疾病活动指数(DAI)评分,于造模第 7 天以脱颈法处死小鼠并分离新鲜结直肠及肝脏组织冻存用于 RT-PCR 检测,或用 10%甲醛固定用于苏木精-伊红(HE)染色、免疫组织化学及 TUNEL 原位细胞凋亡检测;分离小鼠脾脏并称重,评价小鼠炎症情况。

1.2.2 DAI 评分、结直肠长度测量及脾脏质量称取 实验过程中每天对每组小鼠按照评分标准^[10]进行 DAI 评分,见表 1。造模第 7 天处死小鼠后取出回盲部至肛门的肠段及脾脏,测量整个结直肠长度,称取脾脏质量。

表 1 小鼠粪便性状及隐血评分标准			
体质量下降	粪便黏稠度	粪便隐血	分值(分)
无变化或增加	正常粪便	隐血试验阴性	0
>1%~ $\leq$ 5%	软便,球状便	隐血试验弱阳性	1
>5%~ $\leq$ 10%	松散膏状或半球状便,无肛门附着	隐血试验阳性	2
>10%~ $\leq$ 15%	膏状便,肛门有附着	隐血试验强阳性	3
>15%	腹泻,稀便见血或水样便	粪便见血或肛门处见血便	4

1.2.3 结肠病理组织评分 常规石蜡包埋,切片厚度 5 μ m,HE 染色,中性树胶封片后于光镜下按照组织学评分标准^[11]从结肠组织炎症程度、病变深度、隐窝损伤及上皮恢复情况进行 HE 评分。

1.2.4 TUNEL 原位细胞凋亡检测及 DAB 染色
常规石蜡包埋切片后鼓风干燥机烤片 90 min,使用不同浓度的二甲苯、乙醇梯度脱蜡,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 5 min,2 次,滴加 15 $\mu\text{g/mL}$ Proteinase K,21~37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,PBS 洗 5 min,3 次,滴加 50 μL TUNEL 反应混合物(按 Enzyme solution:Label solution=1:9 配置),阴性对照组只滴加 50 μL Label solution,湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 60 min,PBS 洗涤 5 min,3 次,在组织上滴加 1 滴 PBS,然后在荧光显微镜下观察(激发波长为 450~500 nm,发光波长为 515~565 nm),暗绿色颗粒状物质即为凋亡细胞。擦干组织周围,再滴加 50 μL Converter-POD,湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min,PBS 洗 5 min,3 次,随后予以 DAB 显色 50 s,置入自来水中终止显色,苏木精复染 11 s,流水冲洗 5 min,自然晾干,封片。显微镜下观察,棕黄色颗粒为阳性,并进行半定量积分法^[12]。随机观察 5 个高倍镜视野,每个视野计数 100 个细胞中阳性细胞的比例。

1.2.5 RT-PCR 检测结肠组织中炎性因子及肝脏组织中 F4/80 的表达
于冰上制备肠及肝脏组织匀浆液;根据 TRIzol 试剂说明书从小鼠结肠组织中提取 Total RNA,并用超微量样品分光光度计测定 RNA 浓度和纯度;根据 RNA 浓度进行适当稀释后,用 5 $\times$ Prime Script RT Master Mix 试剂盒配置 RT 反应液 20 μL [Total RNA:1 000/Total RNA 浓度(μL)、5 $\times$ Prime Script RT Master Mix:4 μL ,RNase Free dH₂O:16-Total RNA,并将 RT 反应液在 GeneAmp PCR System 9700 中反转录成 cDNA;于冰上配制 PCR 扩增反应体系 10 μL (cDNA:1 μL ,TB Green Premix ExTaq II:5 μL , β -actin-F 或 IL-1 β -F 或 IL-6-F 或 TNF- α -F:0.4 μL , β -actin-R 或 IL-1 β -R 或 IL-6-R 或 TNF- α -R:0.4 μL ,RNase Free dH₂O:3.2 μL],在 BIO-RAD(CFX

Connect Real-Time System)通过 RT-PCR 扩增 cDNA 样品。

1.3 统计学处理 运用 GraphPad Prism6 进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 腹腔注射 Clodrolip 有效地清除小鼠体内巨噬细胞
为检验小鼠体内巨噬细胞的清除情况,使用 RT-PCR 检测小鼠肠道及肝脏中 F4/80 的表达情况。结果显示,DSS+Clodrolip 组小鼠肠组织内 F4/80 相对表达水平(0.023 ± 0.012)较 DSS 组(0.086 ± 0.028)明显降低($P=0.004$),见图 1A;DSS+Clodrolip 组小鼠肝脏内 F4/80 相对表达水平(0.042 ± 0.042)较 DSS 组(1.068 ± 0.127)明显降低($P<0.01$),见图 1B。表明腹腔注射 Clodrolip 有效地清除了小鼠体内的巨噬细胞。

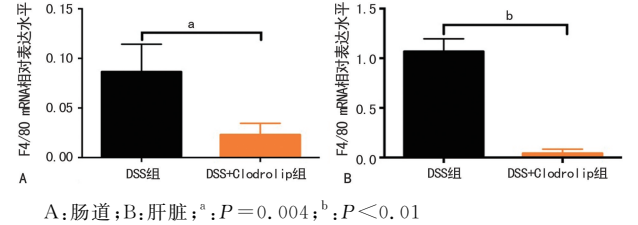


图 1 两组小鼠组织 F4/80 表达水平

2.2 腹腔注射 Clodrolip 加重 DSS 诱导的小鼠结肠炎
为观察腹腔注射 Clodrolip 对小鼠体质量及 DAI 的影响,比较两组小鼠每天的体质量变化率及 DAI。结果显示,从造模第 4 天开始,DSS+Clodrolip 组小鼠体质量变化率较 DSS 组明显下降($P<0.05$),见表 2;两组小鼠 DAI 评分显示造模第 1 天 DSS+Clodrolip 组小鼠率先出现 DAI 评分,从造模第 4 天开始,DSS+Clodrolip 组小鼠 DAI 评分较 DSS 组明显升高($P<0.05$),见表 3。

表 2 两组小鼠体质量变化率比较($n=5,\bar{x}\pm s,\%$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
DSS 组	100.276 $\pm$ 1.395	101.320 $\pm$ 1.665	102.446 $\pm$ 1.735	103.144 $\pm$ 2.336	101.374 $\pm$ 2.190	98.490 $\pm$ 2.987	88.602 $\pm$ 2.974
DSS+Clodrolip 组	100.580 $\pm$ 1.566	101.303 $\pm$ 1.305	98.870 $\pm$ 0.930	96.298 $\pm$ 0.761	89.048 $\pm$ 1.551	83.150 $\pm$ 2.160	75.493 $\pm$ 3.418
P	0.889	0.994	0.137	0.041	0.003	0.006	0.023

表 3 两组小鼠 DAI 评分比较($n=5,\bar{x}\pm s,$ 分)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
DSS 组	0	0.800 $\pm$ 0.374	2.000 $\pm$ 0.316	2.400 $\pm$ 0.400	3.800 $\pm$ 0.374	5.000 $\pm$ 0.548	6.800 $\pm$ 0.374
DSS+Clodrolip 组	1.250 $\pm$ 0.250	1.750 $\pm$ 0.479	3.000 $\pm$ 0.408	5.000 $\pm$ 0.707	7.000 $\pm$ 0.577	10.750 $\pm$ 0.250	11.750 $\pm$ 0.250
P	0.001	0.156	0.089	0.012	0.002	<0.01	<0.01

2.3 两组小鼠结直肠长度以及脾脏质量 两组小鼠结直肠可见回盲瓣肿胀明显,有粪便淤积,DSS+Clodrolip 组小鼠结直肠长度 $[(5.200\pm0.100)\text{cm}]$ 较 DSS 组 $[(5.925\pm0.443)\text{cm}]$ 缩短($P=0.042$),见图 2。DSS+Clodrolip 组小鼠脾脏质量 $[(0.121\pm0.031)\text{g}]$ 较 DSS 组 $[(0.068\pm0.011)\text{g}]$ 增加($P=0.011$),且肉眼可见两组小鼠脾脏大小的差异,见图 3。上述结果表明腹腔注射 Clodrolip 加剧了 DSS 诱导的小鼠结直肠炎性反应。

为了验证上述结论,将每只小鼠结直肠组织进行 HE 染色并评分,结果显示,DSS 组小鼠结肠组织中度炎症,病变局限在黏膜上层,可见黏膜上层炎性细胞浸润;大部分隐窝结构完整,可见隐窝再生现象;肠上皮完整,大部分组织修复。DSS+Clodrolip 组小鼠结肠组织重度炎症,病变累及黏膜下层,可见黏膜层及黏膜下层大量炎性细胞浸润;大部分隐窝结构消失,偶见散在的单个隐窝,无明显隐窝再生现象;肠上皮不完整,大部分肠上皮细胞破坏,无组织修复现象,见图 4A。统计结果显示,DSS+Clodrolip 组小鼠的组织学损伤评分 $[(14.683\pm1.796)\text{分}]$ 明显高于 DSS 组的 $(8.080\pm1.404)\text{分}$ ($P=0.001$),见图 4B。表明腹腔注射 Clodrolip 加重了 DSS 诱导的小鼠结肠炎。

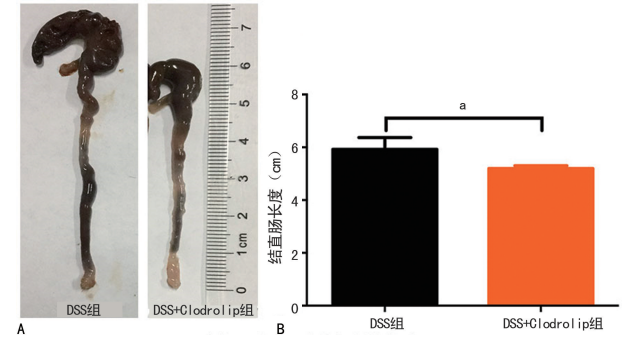


图 2 两组小鼠结直肠长度

2.4 腹腔注射 Clodrolip 清除巨噬细胞增加了促炎因子的表达 小鼠 HE 染色结果显示腹腔注射 Clodrolip 加剧了 DSS 诱导的肠道炎症,为了探讨其对结肠组织炎性因子的影响,运用 RT-PCR 方法测定结直肠组织中炎性因子的表达情况,结果显示 DSS+Clodrolip 组小鼠的 IL-1 β 相对表达水平 (1.643 ± 0.616) 高于 DSS 组的 0.312 ± 0.273 ($P=0.002$);DSS+Clodrolip 组小鼠的 IL-6 相对表达水平 (4.510 ± 0.411) 高于 DSS 组的 0.102 ± 0.171 ($P<0.01$);DSS+Clodrolip 组小鼠的 TNF- α 相对表达水平 (5.403 ± 1.070) 高于 DSS 组的 0.494 ± 0.167 ($P<0.01$),见图 5。RT-PCR 结果进一步论证了上文的观点。

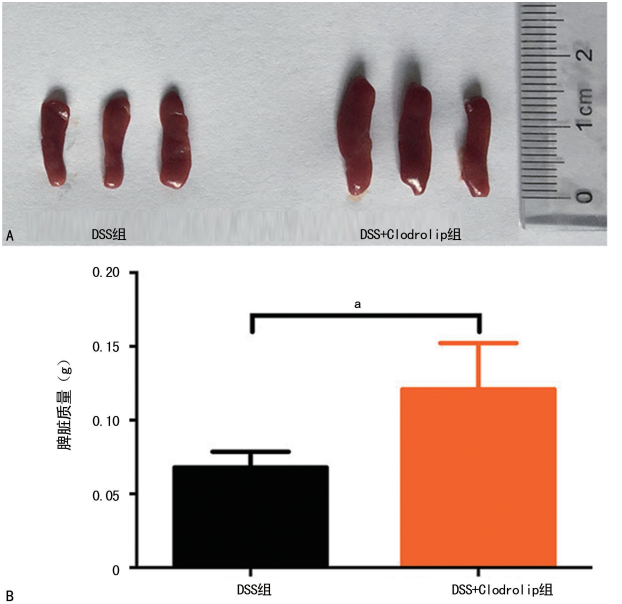


图 3 两组小鼠脾脏外观及质量

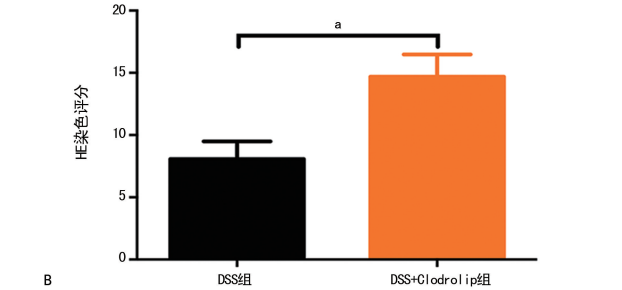
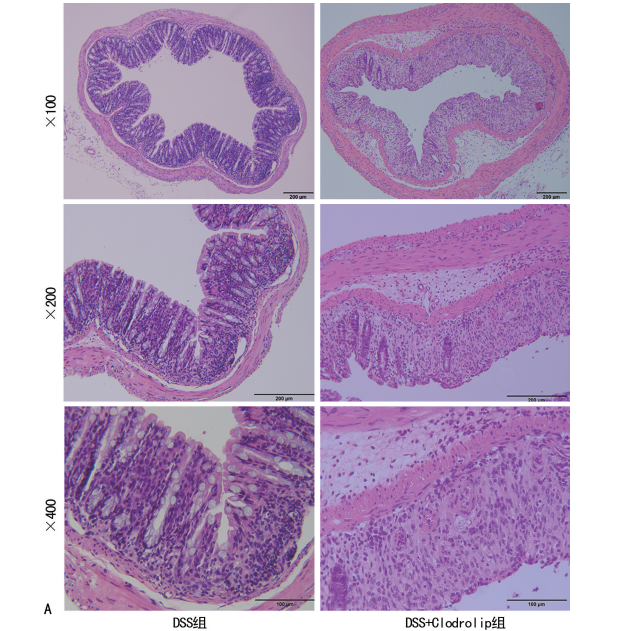


图 4 两组小鼠 HE 染色病理图片及组织学损伤评分

2.5 腹腔注射 Clodrolip 促进肠黏膜上皮细胞的凋亡 为探究清除巨噬细胞后对小鼠肠黏膜上皮细胞凋亡的影响,使用 TUNEL 原位细胞凋亡检测法对两

组小鼠结肠组织进行细胞凋亡荧光染色及 DAB 染色,结果显示 DSS+Clodrolip 组小鼠肠上皮细胞凋亡情况较 DSS 组明显,见图 6;且 DAB 染色结果显示 DSS+Clodrolip 组阳性细胞数量比 DSS 组多,见图 7。图 6 示 DSS+Clodrolip 组小鼠肠黏膜上皮细胞凋亡增多,以黏膜上皮为主,累及整个黏膜层,而 DSS 组凋亡相比较少,仅存在于黏膜上皮。

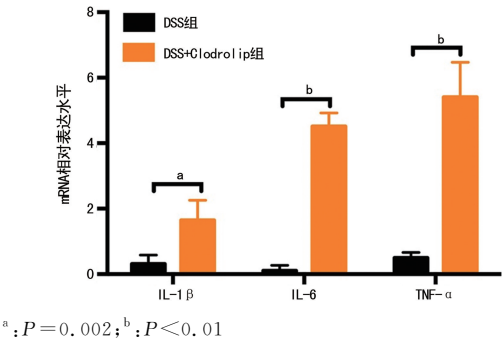


图 5 两组小鼠结肠组织促炎因子相对表达水平

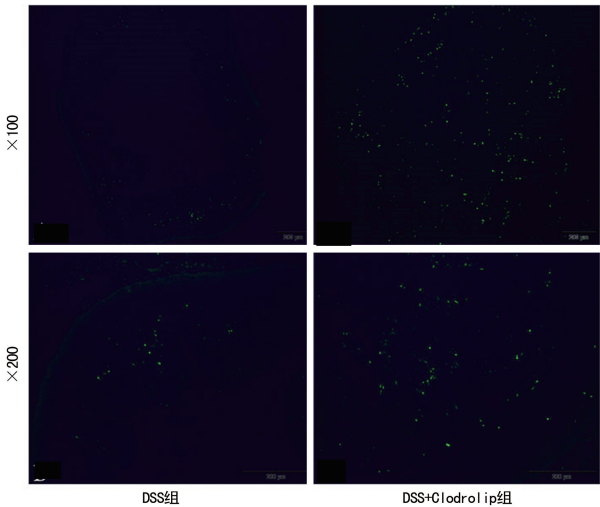


图 6 两组小鼠结肠组织 TUNEL 细胞凋亡荧光染色

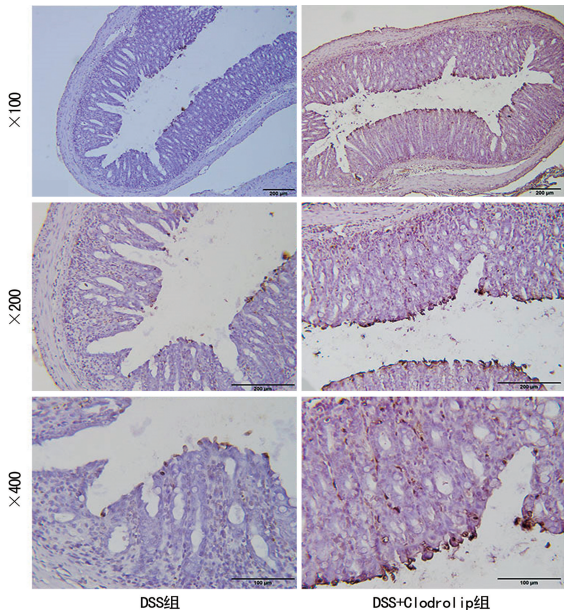


图 7 两组小鼠结肠组织 TUNEL 法 DAB 染色

3 讨 论

众多实验论证了免疫细胞在 IBD 的发病中起重要作用,如 Th17 细胞及其产生的 IL-17 大量存在于 IBD 患者肠道黏膜层,而后者则导致了肠黏膜的损伤,加剧了疾病的活动^[13-14]。Th1 的极化也与结肠炎症有关,其主要通过诱导干扰素 γ (IFN- γ)和 TNF- α 的产生^[15]。而在免疫细胞中,肠道巨噬细胞也扮演着重要的角色,它是肠黏膜抗原呈递细胞的主要种群,决定了 T 淋巴细胞对肠腔内抗原的反应类型^[16]。巨噬细胞作为一种抗原递呈细胞,在调节机体固有和适应性免疫应答中发挥重要作用,且在 IBD 组织损伤和促进组织修复中发挥重要作用^[17-18],巨噬细胞可以通过释放多种细胞因子和生长因子来促进肠道黏膜的修复^[19-20]。而在本实验中,巨噬细胞清除后,肠道黏膜损伤明显加重,表明清除巨噬细胞后影响了其对肠道组织的修复能力,可能延缓了肠黏膜损伤的修复,表现为更加严重的肠道损伤现象。也有研究表明,巨噬细胞与单核细胞相比有更多的抗炎表型,且肠道巨噬细胞在产生炎症细胞因子的能力方面存在严重缺陷^[21-22],这与本实验结果相吻合,巨噬细胞清除后炎症因子的表达明显升高。另外在本实验中,清除巨噬细胞以后,肠黏膜上皮细胞凋亡现象也显著增加,表明巨噬细胞清除后肠道炎症损伤加重,巨噬细胞在 DSS 诱导的 UC 模型中对肠黏膜起到保护作用,这也与相关报道相吻合^[23]。

本研究通过腹腔注射的方法可以有效去除肠道及小鼠体内的巨噬细胞,并且多次给药可以有效清除再生的巨噬细胞,通过 RT-PCR 检测小鼠肠道及肝脏组织中 F4/80 的表达水平明确了成功清除巨噬细胞。通过脾脏质量、结直肠长度、DAI 指数及病理结果初步揭示了巨噬细胞清除后小鼠肠道炎症损伤加重的现象。通过 RT-PCR 检测小鼠肠道组织中促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的相对表达水平,结果表明清除巨噬细胞明显上调了小鼠肠道组织促炎因子的表达水平。通过 TUNEL 原位细胞凋亡检测法进一步揭示巨噬细胞清除后肠上皮细胞凋亡增加的现象。据此,本实验推测巨噬细胞在 UC 中具有一定的保护作用,清除巨噬细胞后促进了 UC 小鼠肠道上皮细胞的凋亡及激活促炎因子的高表达来打破肠道促炎抗炎平衡,从而可能导致 UC 的发展,但其具体的机制有待进一步的研究。

参考文献

[1] DAVIES J M, ABREU M T. The innate immune system and inflammatory bowel disease[J]. Scand J Gastroenterol, 2015, 50(1): 24-33.

- [2] DUTTA A K, CHACKO A. Influence of environmental factors on the onset and course of inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(3): 1088-1100.
- [3] AL-SADI R, YOUSSEF M, RAWAT M, et al. MMP-9-induced increase in intestinal tight junction permeability is mediated by P38 kinase signaling pathway activation of MLCK gene[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 316(2): 278-290.
- [4] NG S C, ANANTHAKRISHNAN A N. New approaches along the IBD course: diet, tight control and stem cells[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(2): 82-84.
- [5] JONES G R, BAIN C C, FENTON T M, et al. Dynamics of colon monocyte and macrophage activation during colitis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2764.
- [6] PULL S L, DOHERTY J M, MILLS J C, et al. Activated macrophages are an adaptive element of the colonic epithelial progenitor niche necessary for regenerative responses to injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(1): 99-104.
- [7] QUALLS J E, KAPLAN A M, VAN ROOIJEN N, et al. Suppression of experimental colitis by intestinal mononuclear phagocytes[J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 80(4): 802-815.
- [8] KAUSHAL N, KUDVA A K, PATTERSON A D, et al. Crucial role of macrophage selenoproteins in experimental colitis[J]. *J Immunol*, 2014, 193(7): 3683-3692.
- [9] 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.
- [10] WIRTZ S, NEUFERT C, WEIGMANN B, et al. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(3): 541-546.
- [11] DIELEMAN L A, PALMEN M J, AKOL H, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines[J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 114(3): 385-391.
- [12] SINICROPE F A, HART J, MICHELASSI F, et al. Prognostic value of bcl-2 oncoprotein expression in stage II colon carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 1995, 1(10): 1103-1110.
- [13] JIANG W, SU J, ZHANG X, et al. Elevated levels of Th17 cells and Th17-related cytokines are associated with disease activity in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(11): 943-950.
- [14] HUNDORFEAN G, NEURATH M F, MUDTER J. Functional relevance of T helper 17 (Th17) cells and the IL-17 cytokine family in inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(1): 180-186.
- [15] YANG F, WANG D, LI Y, et al. Th1/Th2 balance and Th17/Treg-mediated immunity in relation to murine resistance to dextran sulfate-induced colitis[J]. *J Immunol Res*, 2017(2017): 7047201.
- [16] MAHIDA Y R. The key role of macrophages in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2000, 6(1): 21-33.
- [17] GREN S T, GRIP O. Role of monocytes and intestinal macrophages in crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(8): 1992-1998.
- [18] STEINBACH E C, PLEVY S E. The role of macrophages and dendritic cells in the initiation of inflammation in IBD[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(1): 166-175.
- [19] PARK J E, BARBUL A. Understanding the role of immune regulation in wound healing[J]. *Am J Surg*, 2004, 187(4A): 11S-16S.
- [20] RAKOFF-NAHOUM S, PAGLINO J, ESLAMI-VARZANEH F, et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis[J]. *Cell*, 2004, 118(2): 229-241.
- [21] SMITH P D, OCHSENBAUER-JAMBOR C, SMYTHIES L E. Intestinal macrophages: unique effector cells of the innate immune system[J]. *Immunol Rev*, 2005, 206: 149-159.
- [22] SMYTHIES L E, SELLERS M, CLEMENTS R H, et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(1): 66-75.
- [23] QUALLS J E, KAPLAN A M, VAN ROOIJEN N, et al. Suppression of experimental colitis by intestinal mononuclear phagocytes[J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 80(4): 802-815.

(收稿日期: 2019-03-10 修回日期: 2019-07-08)