DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00233

·论 著·

IL-22抑制ox-LDL诱导的CRL-1730细胞凋亡并上调其Bcl-2表达

孙 懿,胡志德,黄元兰,熊怡淞,邓安梅*,仲人前*
第二军医大学长征医院实验诊断科,全军医学免疫诊断中心,全军临床免疫重点实验室,上海 200003

[摘要] **目的** 研究IL-22对ox-LDL诱导的CRL-1730细胞(人脐静脉内皮细胞)凋亡的影响及其机制。**方法** 100 μg/ml ox-LDL刺激CRL-1730细胞,不同时间点经实时荧光定量RT-PCR检测CRL-1730细胞中IL-22受体R1(IL-22R1) mRNA的表达状况。然后在ox-LDL诱导的CRL-1730细胞凋亡模型中加入20 ng/ml外源性IL-22,通过Annexin Ⅴ-PI凋亡试剂盒检测其对细胞凋亡的影响,经实时荧光定量反转录PCR检测Bcl-2、Bcl-xl、Bcl-w、caspase 3及STAT3 mRNA的表达,采用免疫印迹法分析STAT3磷酸化和Bcl-2蛋白的水平。**结果** IL-22R1 mRNA在ox-LDL刺激后表达明显增高($P<0.05$),且于12 h达峰值($P<0.01$);加入IL-22可明显抑制ox-LDL刺激诱导的内皮细胞凋亡($P<0.01$),促进抗凋亡基因Bcl-2、Bcl-xl和Bcl-w表达,而降低caspase 3 mRNA表达($P<0.01$)。此外,IL-22作用1~2 h STAT3发生磷酸化,4 h后Bcl-2蛋白表达升高($P<0.01$)。**结论** IL-22可抑制ox-LDL诱导的CRL-1730细胞凋亡,这可能与其促使STAT3磷酸化,上调抗凋亡分子Bcl-2、Bcl-xl和Bcl-w的表达,抑制促凋亡分子caspase 3的表达有关。

[关键词] 白细胞介素;人脐静脉内皮细胞;氧化LDL;细胞凋亡;Bcl-2基因;STAT3蛋白
[中图分类号] R 541.4 [文献标志码] A [文章编号] 0258-879X(2011)03-0233-05

IL-22 inhibits ox-LDL-induced apoptosis and increases Bcl-2 expression in CRL-1730 cells

SUN Yi, HU Zhi-de, HUANG Yuan-lan, XIONG Yi-song, DENG An-mei*, ZHONG Ren-qian*
Department of Laboratory Medicine, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Clinical Immunology Center of PLA, Key Lab of PLA Clinical Immunology, Shanghai 200003, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of interleukin-22 (IL-22) on apoptosis of CRL-1730 cells(human umbilical vein endothelial cell line) induced by ox-LDL and the possible mechanism. **Methods** Expression of IL-22 receptor R1 (IL-22R1) mRNA in CRL-1730 cells stimulated with ox-LDL (100 μg/ml) was detected by fluorescence quantitative RT-PCR. Flow cytometry was applied to examine the effect of exogenous IL-22 (20 ng/ml) on the ox-LDL-induced apoptosis of CRL-1730 cells. The expression of Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, caspase 3, and STAT3 mRNA in CRL-1730 cells treated or untreated with IL-22 and ox-LDL were measured by fluorescence quantitative RT-PCR; the phosphorylation status of STAT3 and the Bcl-2 protein level were examined by Western blotting analysis. **Results** The expression of IL-22R1 mRNA increased in a time-dependent manner ($P<0.05$) and peaked at 12 h after ox-LDL stimulation. Treatment with IL-22 significantly inhibited the apoptosis of CRL-1730 cells induced by ox-LDL($P<0.01$), increased the expression of anti-apoptosis genes Bcl-2, Bcl-xl, and Bcl-w, and decreased expression of caspase 3 mRNA($P<0.01$). STAT3 phosphorylation occurred 1-2 h after IL-22 treatment and Bcl-2 protein expression increased 4 h after IL-22 treatment in ox-LDL stimulated CRL-1730 cells. **Conclusion** IL-22 can inhibit the pro-apoptosis effect of ox-LDL in the CRL-1730 cells, which might be associated with the increased expression of Bcl-2, Bcl-xl, and Bcl-w mRNA, decreased expression of caspase 3, and induced STAT3 phosphorylation.

[**Key words**] interleukin-22; human umbilical vein endothelial cell; oxidized-LDL; apoptosis; Bcl-2 genes; STAT 3 protein
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(3): 233-237]

随着全球人口日趋老龄化,心脑血管疾病已成为一类严重危害人类健康的疾病,发病率和病死率居高不下[1]。而作为这些严重疾病的起始病变的动脉粥样硬化(AS)是一种复杂的多因素疾病,发病机

[收稿日期] 2010-12-31 [接受日期] 2011-01-20
[基金项目] 国家自然科学基金(30770997, 30972730, 81072479),上海市科委基金(09JC1405400, 08QH14001). Supported by National Natural Science Foundation of China (30770997, 30972730, 81072479) and Project of Science and Technology Committee of Shanghai Municipality (09JC1405400, 08QH14001).
[作者简介] 孙 懿,硕士生. E-mail: medsunyi@yahoo.com.cn
*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81886074, E-mail: amdeng70@yahoo.com; Tel: 021-81886071, E-mail: rqzhong@yahoo.com

制尚不明确。内皮细胞作为血管壁的屏障，在病变早期与血液中的多种危险因素直接接触。大量研究表明，内皮细胞功能损伤与凋亡和 AS 斑块形成密切相关[2]。其中氧化型低密度脂蛋白（ox-LDL）是导致内皮功能损伤引起细胞凋亡的关键危险因素之一[3]。在内皮细胞凋亡事件中，ox-LDL 刺激使抑制凋亡蛋白 Bcl-2 家族表达下调，导致 Caspases 活化，启动细胞程序性死亡是凋亡的重要原因之一[3-4]。

IL-22 是 Renauld 小组于 2000 年发现的一种免疫介质[5]，由活化的 Th17 细胞、NK 细胞、$CD11c^+$ 骨髓细胞和淋巴样组织诱导细胞等分泌产生[6]。IL-22 受体由 IL-22R1 和 IL-10R2 组成，其中，IL-10R2 广泛表达于人体除免疫细胞外的多种组织细胞[6]。IL-22R1 特异性表达于非造血源性组织，如皮肤、肝脏、胃、小肠以及肺等，参与 IL-22 介导的局部炎症反应[7]。多项研究表明，在多种免疫炎症疾病中，IL-22 具有促进组织修复再生、抑制细胞凋亡等多种生物学功能[8-12]。Sonnenberg 等[11]在用高剂量博莱霉素诱导的急性气道炎症小鼠实验中发现 IL-22 可剂量依赖性地改善博莱霉素诱导的呼吸道上皮细胞凋亡。此外，研究发现 IL-22 在肝细胞和人肺癌细胞中也具有抗凋亡作用[10-12]。有研究认为内皮细胞是 IL-22 的作用靶点之一[9]。

基于这些事实，我们推测，IL-22 可能通过抑制内皮细胞凋亡的方式参与 AS 的发病。故本研究通过体外培养人脐静脉内皮细胞株 CRL-1730，利用 ox-LDL 诱导内皮细胞凋亡模型，观察 IL-22 对 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡的影响。此外，通过检测细胞内 Bcl-2 蛋白家族表达的变化，分析 IL-22 影响 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞凋亡的可能机制。

1　材料和方法

1.1　*主要仪器及试剂*　M199 液体培养基购自 Hycolon 公司，胎牛血清购自 Gibco 公司，ox-LDL 购自 Yuanyuan Biotech 公司；人重组 IL-22、VEGF、FGF-B 蛋白购自 PeproTech 公司；Annexin Ⅴ-PI 凋亡试剂盒购自 BD Biosciences 公司；TRIzol 试剂及反转录试剂盒购自 Invitrogen 公司，SYBR Green Real-time PCR 试剂盒购自 Toyobo 公司；核酸蛋白定量检测仪为 Eppendorf 公司产品；ABI 公司 7000 Real-time PCR 仪；抗磷酸化 STAT3 抗体购自 Abcam 公司，抗人 Bcl-2 单克隆抗体购自 eBioscience 公司，抗 STAT3 抗体和 actin 购自 Biolegend 公司，HRP 结合的兔抗鼠二抗和羊抗兔二抗均购自 Sigma 公司。

1.2　*细胞的培养与刺激*　CRL-1730 购于 ATCC（美国组织培养库）。CRL-1730 细胞用含 10％胎牛血清，100 U/ml 青霉素，100 μg/ml 链霉素，10 ng/ml VEGF，5 ng/ml FGF-B 的 M199 培养液，在 37℃、5％ CO_2，饱和湿度条件下培养。每 2～3 d 换培养基 1 次，选择处于对数生长期的细胞进行实验。在 24 孔板中植入 CRL-1730 细胞（0.5×10^6个/孔），培养 24 h 后，每孔加入终浓度为 100 μg/ml 的 ox-LDL，分别于刺激 0、6、12、24、48 h 后收集细胞，用于 PCR 检测细胞 IL-22R1 mRNA 的表达。12 孔板中置入 CRL-1730 细胞（1×10^6个/孔），培养 24 h 后，分为 3 组处理，ox-LDL 组：加入 100 μg/ml ox-LDL；IL-22＋ox-LDL 组：同时加入 100 μg /ml ox-LDL 和 20 ng/ml IL-22；空白对照组：加入等量 PBS。培养 24 h 后收集细胞，使用 Annexin Ⅴ-PI 凋亡试剂盒检测凋亡，PCR 检测 Bcl-2、Bcl-w、Bcl-xl、caspase 3 和 STAT3 mRNA 表达情况。向 12 孔板内同时加入 100 μg /ml ox-LDL，分别收集加或不加 20 ng/ml IL-22 作用 0、1、2、4 h 的细胞，免疫印迹法检测 Bcl-2、STAT3 蛋白及 STAT3 磷酸化情况。每组实验至少重复 3 次。

1.3　*荧光定量 RT-PCR 检测细胞 IL-22RA 及 Bcl-2 mRNA 表达*　使用 TRIzol 抽提处理后收集细胞的总 RNA，分别通过 1.2％琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度仪，检测提取的总 RNA 的质量和浓度。严格按反转录试剂盒推荐步骤操作，将总 RNA 反转录为 cDNA。根据基因库中目的基因的 mRNA 序列，用 Primer Express 软件设计基因的特异性引物，IL-22R1 引物序列：上游 5′- CCA GCG AGT CCT GAC TTT CC -3′，下游 5′- TAG GTG ATC TCG GAC AGG CTA -3′；Bcl-2 引物序列：上游 5′-GGG GAG GAT TGT GGC CTT C-3′，下游 5′-CAG GGC GAT GTT GTC CAC C-3′；Bcl-w 引物序列：上游 5′-CAC CCA GGT CTC CGA TGA AC -3′，下游 5′-TTG TTG ACA CTC TCA GCA CAC-3′；Bcl-xl 引物序列：上游 5′-GAG CTG GTG GTT GAC TTT CTC-3′，下游 5′-GGG GCC TCA GTC CTG TTC T-3′；caspase 3 引物序列：上游 5′-ATG GAA GCG AAT CAA TGG ACT C-3′，下游 5′-CTG TAC CAG ACC GAG ATG TCA-3′；STAT3 引物序列：

上游 5′-CAG CAG CTT GAC ACA CGG TA-3′，下游 5′-GCC CAA TCT TGA CTC TCA ATC C-3′；GAPDH 引物序列：上游 5′-ATG GGG AAG GTG AAG GTC G-3′，下游 5′-GGG GTC ATT GAT GGC AAC AAT A-3′。引物委托上海生工生物工程技术服务有限公司合成。以反转录的cDNA为模板，使用 SYBR Green Real-time PCR 试剂盒进行荧光定量 PCR，每个样本设 3 个复孔。荧光定量 PCR 扩增变量为：94℃10 min，然后 94 ℃30 s，56℃ 15 s，72 ℃ 1 min 循环 40 次，72℃10 min。作熔解曲线验证扩增产物的特异性，反应完成后设定基线值(baseline)和阈值(threshold)，读取阈循环(Ct)值。根据公式 ΔCt = [Ct (目的基因)]−[Ct (内参基因)]和 ΔΔCt =[ΔCt (研究组)] - [ΔCt (对照组)]，计算出相对表达量$=2^{-\Delta\Delta Ct}$[13]。

1.4　Annexin Ⅴ- PI 凋亡试剂盒　收集处理后细胞，PBS 洗涤 2 遍，取 1×10^6 细胞重悬于 100 μl HEPES 溶液中，加入 10 μl FITC-Annexin Ⅴ，避光 4℃孵育 30 min，然后加入 5 μl PI，10 min 内上机检测。流式细胞图将凋亡细胞分 4 个细胞亚群：左下象限(Annexin$^-$/PI$^-$)代表活细胞；左上象限(Annexin$^-$/ PI$^+$)代表坏死细胞；右下象限(Annexin$^+$/PI$^-$)代表早期凋亡细胞；右上象限(Annnexin$^+$/PI$^+$)代表中晚期凋亡细胞。

1.5　蛋白质印迹法检测 Bcl-2、STAT3 等蛋白表达　收集处理后的 CRL-1730 细胞，PBS 缓冲液洗涤细胞 2 遍，冰上加入 1% Triton lysis 细胞裂解液(含 PMSF、$NaVO_4$、NaF 和蛋白酶抑制剂)，再加入 5×上样缓冲液(含二巯基乙醇)，100℃热浴 5 min，离心取上清。蛋白质定量后，取 60 μg 蛋白上样至 12%SDS-PAGE 胶上进行电泳，电泳分离后将蛋白转至硝酸纤维膜上。5%BSA 封闭硝酸纤维膜 37℃ 1 h，加入特异性抗体 4℃过夜或 37℃孵育 2 h。回收一抗，加入 TBST 置于摇床上洗涤 5 次后，加入辣根过氧化酶结合的二抗，室温避光，摇床上孵育 1 h。回收二抗，TBST 洗涤 5 次后，ECL 法显影。通过 Scion Image 软件检测，目的蛋白条带相对密度值＝目的蛋白条带密度均值/相应 actin 条带密度均值。

1.6　统计学处理　所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，应用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理，采用独立样本 t 检验进行两组计量数据间比较，单因素方差分析比较多组数据的组间差异。检验水平(α)为 0.05。

2　结　果

2.1　ox-LDL 对 HUVEC 细胞 IL-22R1 mRNA 表达的影响　与对照组比较，ox-LDL 处理 CRL-1730 细胞后 IL-22R1 mRNA 的相对表达量增高，差异有统计学意义($P<0.05$)，且其表达于 12 h 后达高峰，与对照组比较上升约 3 倍(2.83±0.29 *vs* 0.99±0.23，$P<0.01$，图 1)。

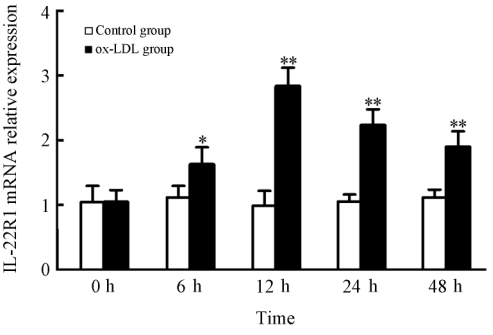

图 1　ox-LDL 刺激后 CRL-1730 细胞 IL-22R1 mRNA 相对表达量

Fig 1　Expression of IL-22R1 mRNA in ox-LDL stimulated CRL-1730 cells

* $P<0.05$，** $P<0.01$ *vs* control group at the same time point；$n=3$，$\bar{x}\pm s$

2.2　IL-22 抑制 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡　结果见图 2，在 ox-LDL 诱导下 CRL-1730 细胞凋亡和死亡细胞比例较空白组明显增加($P<0.05$)；与 ox-LDL 组 CRL-1730 细胞早期凋亡(Annexin$^+$/PI$^-$)比较，IL-22＋ox-LDL 组早期凋亡细胞比例明显减少(0.68%±0.12% *vs* 3.16%±0.27%，$P<0.01$)，中晚期凋亡细胞(Annnexin$^+$/PI$^+$)比例亦显著减少(2.51%±2.17% *vs* 8.47%±3.03%，$P<0.01$)。这些结果表明：IL-22 具有抑制 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡的作用。

2.3　IL-22 对 ox-LDL 处理的 CRL-1730 细胞 Bcl-2、Bcl-w、Bcl-xl、caspase 3 和 STAT3 mRNA 表达的影响　如图 3 所示，经 ox-LDL 处理后，CRL-1730 细胞内凋亡抑制基因 Bcl-2 和 Bcl-xl mRNA 表达明显下降($P<0.01$)，而 caspase 3 和 STAT3 mRNA 的表达明显上升($P<0.01$)；与 ox-LDL 组比较，IL-22＋ox-LDL 组 Bcl-2(0.95±0.08 *vs* 0.28±0.08)，Bcl-xl(1.09±0.17 *vs* 0.12±0.02)，Bcl-w (10.28±0.63 *vs* 0.91±0.08)和 STAT3(6.83±0.49 *vs* 2.3±0.36)mRNA 相对表达量上升($P<0.01$)，而 caspase 3(1.26±0.13 *vs* 3.86±0.36) mRNA 表达下降($P<0.01$)。

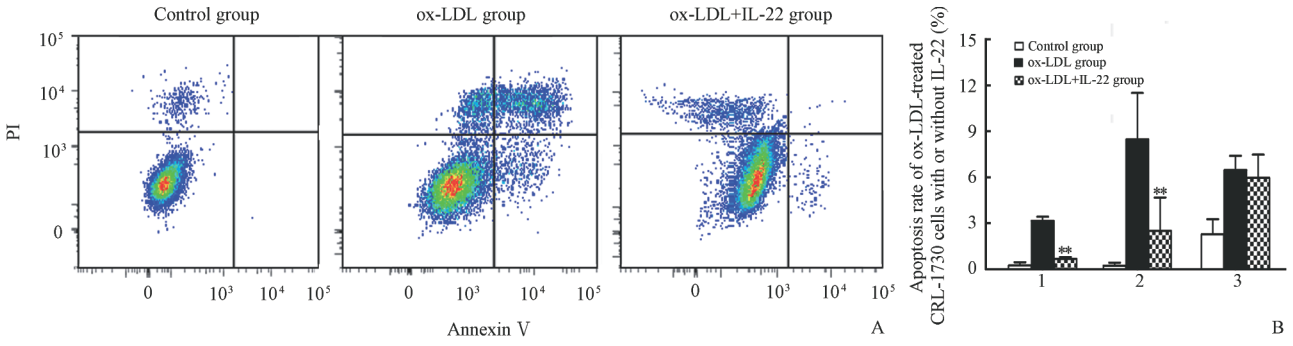

图 2　IL-22 对 ox-LDL 处理的 CRL-1730 细胞凋亡的影响

Fig 2　Effect of IL-22 on ox-LDL-induced CRL-1730 cell apoptosis

A：Apoptosis status of ox-LDL-treated CRL-1730 cells with or without IL-22. B：The data in Fig 2A was summarized. 1：Annexin$^+$/PI$^-$；2：Annexin$^+$/PI$^+$；3：Annexin$^-$/PI$^+$. $^{**}P<0.01$ *vs* ox-LDL group；$n=3$，$\bar{x}\pm s$

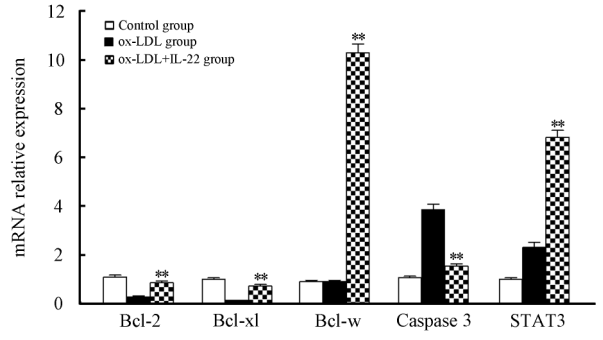

图 3　IL-22 对 ox-LDL 处理的 CRL-1730 细胞凋亡相关基因的表达影响

Fig 3　Effect of IL-22 on expression of apoptosis related genes in ox-LDL stimulated CRL-1730 cells

$^{**}P<0.01$ *vs* ox-LDL group；$n=3$，$\bar{x}\pm s$

2.4　免疫印迹法检测 Bcl-2、STAT3 蛋白及 STAT3 磷酸化情况　与 ox-LDL 刺激组比较，在 IL-22 作用后 4 h Bcl-2 蛋白表达增高（0.72±0.04 *vs* 0.38±0.02，$P<0.01$），IL-22 刺激后 1、2 h STAT3 磷酸化水平升高（0.73±0.03 *vs* 0.13±0.01，0.72±0.07 *vs* 0.12±0.01，$P<0.01$）。详见图 4。结果表明 IL-22 刺激 CRL-1730 细胞可能通过 STAT3 信号通路诱导 Bcl-2 蛋白表达。

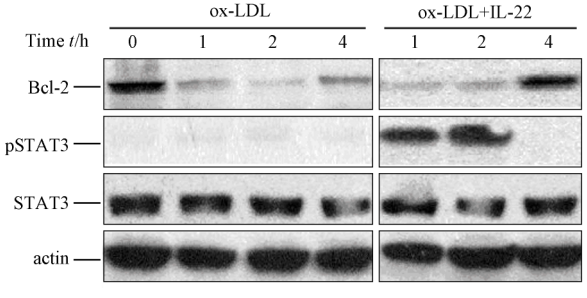

图 4　IL-22 对 ox-LDL 处理的 CRL-1730 细胞的 STAT3 磷酸化和 Bcl-2 蛋白表达的影响

Fig 4　Effect of IL-22 on phosphorylation of STAT3 and expression of Bcl-2 protein in ox-LDL stimulated CRL-1730 cells

3　讨　论

大量研究证实，内皮细胞功能损伤及凋亡与动脉粥样斑块形成密切相关[2]。ox-LDL 是导致内皮功能损伤引起细胞凋亡的关键危险因素之一。故本研究通过体外培养人脐静脉内皮细胞株 CRL-1730，利用 ox-LDL 诱导内皮细胞凋亡模型，观察 IL-22 在内皮细胞凋亡过程中发挥的作用及可能机制，初步探讨 IL-22 在血管内皮及动脉粥样硬化发病过程中的作用。我们的实验结果证实：IL-22 可以抑制 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡，提示其可能参与 AS 的内皮损伤修复过程。

本研究首先发现，IL-22R1 mRNA 在 ox-LDL 刺激后表达明显增高（$P<0.05$），且于 12 h 后达峰值。此部分数据初步表明了 CRL-1730 存在 IL-22 受体，为 IL-22 发挥作用奠定了物质基础。随后，我们通过 Annexin V-PI 凋亡试剂盒检测证实了 ox-LDL 刺激内皮细胞后导致细胞大量凋亡，并发现 IL-22 可以显著抑制 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞的早期和晚期凋亡。

在细胞凋亡事件中，Bcl-2 家族是重要的凋亡调节器[14]。Bcl-2 蛋白、BH3-only 蛋白和 Bax 蛋白相互制约，它们三者的平衡决定了 caspase 依赖的程序性死亡途径的激活与否，其中 Bcl-2 蛋白是关键的凋亡抑制蛋白[14]。Bcl-2、Bcl-xl 和 Bcl-w 是 Bcl-2 蛋白家族的主要成员。Chen[4] 研究发现，ox-LDL 可通过与内皮细胞表面受体 LOX-1 作用，降低 Bcl-2 和抑制凋亡蛋白（c-IAP-1）等抗凋亡蛋白表达，引起线粒体源性的细胞色素 C 释放，触发 caspase 级联反应，从而引起内皮细胞凋亡。这是其引起动脉粥样硬化的重要机制之一。故我们推测 Bcl-2 家族可能参与 IL-22 调控 CRL-1730 细胞凋亡的过程。

通过 RT-PCR 检测我们证实了先前的研究[4]，在 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 凋亡模型中，Bcl-2 家族抗凋亡分子 Bcl-2、Bcl-xl 及 Bcl-w mRNA 表达显著下调，而程序性死亡蛋白水解酶 caspase 3 mRNA 表达明显上升。更重要的是我们发现 IL-22 可促进抗凋亡基因 Bcl-2、Bcl-xl 和 Bcl-w 的表达（$P<0.01$），同时抑制 caspase 3 表达（$P<0.01$）。这些结果提示 IL-22 可能通过上调 Bcl-2 蛋白家族 Bcl-2、Bcl-xl 及 Bcl-w 表达调控血管内皮细胞受损后的凋亡。

有研究报道 IL-22 刺激可能通过 STAT3 信号通路发挥作用[15]，而 Bcl-2 启动子区域有许多 STAT3 结合位点[16]。因此，我们推测 IL-22 可能通过 STAT3 信号通路上调受损内皮细胞中 Bcl-2 蛋白的表达。通过 RT-PCR 和蛋白印迹实验我们发现 IL-22 刺激受损内皮细胞后 STAT3 mRNA 表达明显上调（$P<0.05$），IL-22 作用后 1～2 h 可见 STAT3 磷酸化水平增高，作用 4 h 后可见 Bcl-2 蛋白表达增加。

总之，本研究初步发现 IL-22 具有抑制 ox-LDL 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡的作用，该生物学作用可能与其通过 STAT3 信号通路直接或间接促进 CRL-1730 细胞中抗凋亡蛋白 Bcl-2 家族 Bcl-2、Bcl-xl 和 Bcl-w 的表达，抑制促凋亡分子 caspase 3 的表达，从而减少 ox-LDL 所致的内皮凋亡有关。本研究结果提示，IL-22 可能是 AS 潜在的治疗靶点。

[参 考 文 献]

[1] Lusis A J. Atherosclerosis[J]. Nature, 2000, 407: 233-241.

[2] Sima A V, Stancu C S, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis[J]. Cell Tissue Res, 2009, 335: 191-203.

[3] Li D, Yang B, Mehta J L. Ox-LDL induces apoptosis in human coronary artery endothelial cells: role of PKC, PTK, bcl-2, and Fas[J]. Am J Physiol, 1998, 275(2 Pt 2): H568-H576.

[4] Chen J. Role of caspases in ox-LDL-induced apoptotic cascade in human coronary artery endothelial cells[J]. Circ Res, 2004, 94: 370-376.

[5] Dumoutier L, Louahed J, Renauld J C. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9[J]. J Immunol, 2000, 164: 1814-1819.

[6] Colonna M. Interleukin-22-producing natural killer cells and lymphoid tissue inducer-like cells in mucosal immunity[J]. Immunity, 2009, 31: 15-23.

[7] Wolk K, Kunz S, Witte E, Friedrich M, Asadullah K, Sabat R. IL-22 increases the innate immunity of tissues[J]. Immunity, 2004, 21: 241-254.

[8] Boniface K, Bernard F X, Garcia M, Gurney A L, Lecron J C, Morel F. IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes[J]. J Immunol, 2005, 174: 3695-3702.

[9] Chang H, Hanawa H, Liu H, Yoshida T, Hayashi M, Watanabe R, et al. Hydrodynamic-based delivery of an interleukin-22-Ig fusion gene ameliorates experimental autoimmune myocarditis in rats[J]. J Immunol, 2006, 177: 3635-3643.

[10] Ki S H, Park O, Zheng M, Morales-Ibanez O, Kolls J K, Bataller R, et al. Interleukin-22 treatment ameliorates alcoholic liver injury in a murine model of chronic-binge ethanol feeding: Role of signal transducer and activator of transcription 3[J]. Hepatology, 2010, 52: 1291-1300.

[11] Sonnenberg G F, Nair M G, Kirn T J, Zaph C, Fouser L A, Artis D. Pathological versus protective functions of IL-22 in airway inflammation are regulated by IL-17A[J]. J Exp Med, 2010, 207: 1293-1305.

[12] Zhang W, Chen Y, Wei H, Zheng C, Sun R, Zhang J, et al. Antiapoptotic activity of autocrine interleukin-22 and therapeutic effects of interleukin-22-small interfering RNA on human lung cancer xenografts[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14: 6432-6439.

[13] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method [J]. Methods, 2001, 25: 402-408.

[14] Adams J M. Ways of dying: multiple pathways to apoptosis [J]. Gene Dev, 2003, 17: 2481-2495.

[15] Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing[J]. J Exp Med, 2009, 206: 1465-1472.

[16] Bhattacharya S, Ray R M, Johnson L R. STAT3-mediated transcription of Bcl-2, Mcl-1 and c-IAP2 prevents apoptosis in polyamine-depleted cells[J]. Biochem J, 2005, 392(Pt 2): 335-344.

[本文编辑] 尹　荼