

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01069

雷公藤多苷对结肠炎小鼠结肠组织 IL-23、IL-17 和 IL-12 表达的影响

肖南平¹, 欧阳钦^{1*}, 谭柯²

1. 四川大学华西医院消化内科, 成都 610041

2. 四川大学华西公共卫生学院卫生统计学教研室, 成都 610041

[摘要] 目的: 观察雷公藤多苷(GTT)、美沙拉嗪对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的急性结肠炎小鼠结肠组织中 IL-23、IL-17、IL-12 表达的影响, 探讨其可能的作用机制。方法: C57BL/6 小鼠随机分为 4 组: 正常对照组、模型组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组, 后 3 组应用 TNBS 建立小鼠急性结肠炎模型, 模型组不作其他处理, 雷公藤多苷组和美沙拉嗪组于造模前 4 d 开始每天给予雷公藤多苷灌胃或美沙拉嗪灌肠液灌肠直到实验结束, 正常对照组不作任何特殊处理。各组小鼠均于 TNBS 灌肠后 48 h 处死, 检测各组小鼠结肠组织大体、组织学损伤评分及髓过氧化物酶(MPO)活性; ELISA 法检测结肠组织 IL-23 p19、IL-17 蛋白含量, 实时荧光定量 RT-PCR 检测结肠组织 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的 mRNA 表达。结果: 美沙拉嗪组和雷公藤多苷组小鼠结肠大体及组织学损伤记分、MPO 活性明显低于模型组($P < 0.05$); 模型组结肠组织 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 mRNA 表达水平明显高于正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组($P < 0.05$); 模型组结肠组织 IL-23 p19、IL-17 蛋白水平明显高于正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组($P < 0.05$), 后三者间无统计学差异。结论: 雷公藤多苷可能通过非选择性抑制 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的表达来抑制结肠炎小鼠的炎症反应, 效果与美沙拉嗪类似。

[关键词] 结肠炎; IL-23; IL-17; IL-12; 雷公藤多苷; 美沙拉嗪; 三硝基苯磺酸

[中图分类号] R 574.62

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2008)09-1069-05

Influence of glucosidorum tripterygii tororum on expression of interleukin-23, interleukin-17 and interleukin-12 in colonic tissues of mice with colitis

XIAO Nan-ping¹, OUYANG Qin^{1*}, TAN Ke²

1. Department of Gastroenterology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China

2. Department of Health Statistics, West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041

[ABSTRACT] **Objective:** To study the influence of glucosidorum tripterygii tororum (GTT) and Mesalazine on the expression of IL-23, IL-17 and IL-12 in the colonic tissues of mice with rinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)-induced acute colitis, and to study the possible mechanism. **Methods:** The C57BL/6 mice were divided into 4 groups, namely, a control group, a model group, a Mesalazine group and a GTT group. Colitis was induced by TNBS in the last 3 groups. The mice in the model group received no additional treatment; those in the GTT group received GTT daily by oral gavage 4 days before exposure to TNBS till the end of the experiment, and those in the Mesalazine group received Mesalazine enema solution daily 4 days before exposure till the end of the experiment. All the mice were sacrificed at 48 h after enema with TNBS. The macroscopic and histological scores of colon damage and myeloperoxidase (MPO) activity in colonic tissue were evaluated in every group. IL-23p19 and IL-17 contents in colonic tissues were measured by ELISA; the expression of IL-23p19, IL-17 and IL-12p35 mRNA in colonic tissues were examined by real-time fluorescent quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-FQ-PCR) with SYBR Green I. **Results:** Compared with the model group, GTT group and Mesalazine group had significantly lower macroscopic and histological scores and MPO activity ($P < 0.05$). Expression of IL-23p19, IL-17 and IL-12p35 mRNA in the colonic tissues of the model group was significantly higher than that of the other 3 groups ($P < 0.05$); the expression of IL-23p19, IL-17 protein was significant higher in the model group than that in the other 3 groups ($P < 0.05$), with no significant difference found between the later 3 groups. **Conclusion:** GTT, like Mesalazine, can effectively inhibit inflammation in mice with TNBS-induced

[收稿日期] 2008-01-30

[接受日期] 2008-03-20

[作者简介] 肖南平, 硕士, 副主任医师, E-mail: xiaonanping_001@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 028-85422385, E-mail: qin.ouyang@163.com

acute colitis through non-selectively inhibiting the expression of IL-23p19, IL-17 and IL-12p35.

[KEY WORDS] colitis; interleukin-23; interleukin-17; interleukin-12; glucosidorum tripterygii tororum; mesalazine; trinitrobenzenesulfonic acid

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(9): 1069-1073]

国外最新研究^[1-3]发现, IL-23/IL-17轴可能在炎症性肠病(IBD)的免疫发病机制中起着关键作用, IL-17R信号通路在三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的急性结肠炎早期可能起重要作用。Crohn病(CD)患者肠道组织中 IL-23、IL-17、IL-12的表达均显著升高^[4-5], 采用可同时中和 IL-23和 IL-12的 IL-12 p40单克隆抗体可有效治疗 CD^[6]。IL-12和 IL-23在宿主防御和自身免疫中的作用并不相同。IL-12影响 Th1和细胞毒性 T细胞的免疫应答, 介导宿主的保护性免疫, 使人群避免患上感染性疾病或癌症^[7]。IL-23主要介导 Th17细胞群的扩增并维持其存活; Th17细胞主要介导机体的炎症反应(防御胞外病原菌的感染)、自身免疫性反应、IBD、肿瘤和移植排斥等的发生和发展, 具有高致病性^[1-2]。IL-17是 Th17细胞的主要效应因子, 是一种强力促炎细胞因子。因此靶向阻断 IL-23/17通路可望有效治疗肠道炎症而不影响机体自身 IL-12介导的系统免疫。

雷公藤多苷具有肯定的抗炎和免疫抑制作用^[8], 目前已广泛应用于多种风湿免疫疾病、皮肤病、器官移植术后等治疗。阎月等^[9]研究发现, 雷公藤多苷对大鼠炎症性肠病具有较好的疗效, 但确切机制尚不清楚。美沙拉嗪(mesalazine, 商品名莎尔福)是一种新型 5-氨基水杨酸制剂, 是治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的有效药物, 目前在临床应用广泛。本研究以美沙拉嗪作为对照, 观察雷公藤多苷对 TNBS 介导的结肠炎模型小鼠急性结肠炎早期 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 表达的影响, 探讨其可能的作用机制及治疗效果, 为雷公藤多苷的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 iCycler iQ 实时荧光定量 PCR 仪、GelDoc1000 凝胶成像系统均为美国 Bio-Rad 公司产品, TNBS 购自美国 Sigma 公司, 小鼠 IL-17 定量酶联免疫试剂盒为 R&D Systems (Minneapolis, MN 公司), IL-23 p19 免疫试剂盒为 E-Bioscience (San Diego, Calif 公司), MPO 试剂盒购自南京建成生物工程有限公司, 100×SYBR Green I 购自美国 Roch 公司, M-MLV 逆转录酶购自 Invitrogen 公司。雷公藤多苷片购自贵州省汉方制药有限公司, 溶于生理盐水 3.64 ml, 配制成 2.75 mg/

ml 溶液, 用 200 目滤器过滤除菌后备用; 美沙拉嗪灌肠液(60 ml : 4 g) 购自德国霍克药厂。

1.2 动物分组及处理 32 只 6~8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠由四川大学华西实验动物中心提供, 平均体质量(20±1.8)g, 饲养于人类疾病相关多肽实验室。32 只 C57BL/6 小鼠编号后常规饲养 3 d, 随机分为 4 组: 正常对照组、模型组、雷公藤多苷组、美沙拉嗪组(n=8)。后 3 组小鼠均采用 TNBS 制备结肠炎小鼠模型: 小鼠禁食 24 h 后, 轻度乙醚麻醉, 用 7 号针头导管插入肛门 5 cm, 注入 100 μl 含 50% 乙醇 2 mg TNBS 液, 倒立 30 s, 使药液达近段结肠。以大便带血(或隐血阳性)、稀便或体质量减轻之一作为造模成功的标志。正常对照组仅予 50% 乙醇 100 μl 灌肠。模型组小鼠制模成功后不予处理; 雷公藤多苷组、美沙拉嗪组小鼠在造模前 4 d 开始到实验结束分别予雷公藤多苷生理盐水液以 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃和美沙拉嗪灌肠液 0.12 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌肠。各组小鼠均于 TNBS 或乙醇灌肠后常规喂养 48 h 后处死。

1.3 标本采集 采用断头法处死小鼠后取出结肠, PBS 液冲洗, 观察各组小鼠结肠组织大体及病理学改变, 然后将一部分结肠用于制备组织匀浆并储存于-80℃备用, 一部分以 10% 中性甲醛溶液固定以备用, 另一部分立即进行 real-time PCR 检查。

1.4 结肠组织病理学观察 每日观察、记录各组小鼠的体质量和大便情况, 并检测大便隐血试验, 以判断模型制备情况。各组模型小鼠处死后观察结肠组织病理学改变, 并按文献^[10-11]标准进行评分。

1.5 中性粒细胞髓过氧化物酶(MPO)活性的测定 组织的收集与匀浆如 ELISA 法所述, 参照 Ye 等^[12]的方法测定上清液中 MPO 活力。

1.6 Real-time PCR 检测 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 基因的表达

1.6.1 引物 参照 GenBank 序列, 应用 Primer Express5.0 软件设计, 由 Invitrogen 生物工程技术服务有限公司合成。IL-23 p19 上游引物 5'-CTA AAA ATA ATG TGC CCC GT-3', 下游引物 5'-AGT CCT AGT AGG AGG TGT-3', 扩增片段为 202 bp。IL-17 上游引物 5'-CCT CAG ACT ACC TCA ACC GT-3', 下游引物 5'-CTT TCC CTC CGC ATT GAC A-3', 扩增片段为 129 bp。IL-12 p35 上

游引物 5'-CTG TGC CTT GGT AGC ATC TAT-3', 下游引物 5'-CAG AGT CTC GCC ATT ATG ATT-3', 扩增片段为 168 bp。β-actin 上游引物 5'-CGT GAA AAG ATG ACC CAG AT-3', 下游引物 5'-ACC CTC ATA GAT GGG CAC A-3', 扩增片段为 159 bp。

1.6.2 PCR 反应 荧光定量 PCR 仪为 iCycler iQ 型实时荧光定量 PCR 仪, 用荧光染料 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 PCR 扩增。采用 30 μl 反应体系, 包括 2 μl cDNA 溶液, 特异性上下游引物各 0.5 μl (20 μmol), SYBR Premix Ex Taq™ (2×) 10 μl, ddH₂O (灭菌蒸馏水) 17 μl。采用三步法 PCR 扩增标准程序: 预变性 94℃ 5 min, PCR 反应 94℃ 20 s, 53℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 40 个循环, 历时 97 min。Ct 值反映了模板扩增到一定量拷贝数时 (处于指数上升期) 所需反应循环数大小, Ct 值越大, 起始模板量就越小, 反之则越大。阴性对照为 ddH₂O。荧光定量 PCR 结果参照 2^{-ΔCt} 数据分析法^[13-14] 进行相对定量计算。2^{-ΔCt} 代表结肠组织样本中 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 与 β-actin 的 mRNA 表达水平的比值, 而 ΔCt = Ct_{specific gene} - Ct_{β-actin}, 因此 ΔCt 值越低表示该基因在组织中表达水平越高。

1.7 ELISA 法测定结肠组织中 IL-23 p19、IL-17 的含量 切取部分结肠组织并称量, 每 50 mg 加 1 ml PBS (pH 6.0, 内含 1 μg 抑肽酶、亮肽素、胃酶抑素

A) 用剪刀剪碎后进行超声匀浆, 4℃ 离心 15 min, 取上清液, 按 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-23 p19、IL-17 的浓度, 并各取 5 μl 上清液用考马斯亮蓝微孔板法行 G250 微量蛋白定量检测组织匀浆中的蛋白含量。

1.8 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用 one-way 方差分析, 两两比较采用 *q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠的一般情况 正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组小鼠活泼, 体质量增加, 毛色光泽, 大便呈正常颗粒状; 模型组小鼠自 20~24 h 开始, 小鼠出现懒动, 竖毛, 毛色失去光泽、凌乱, 大便稀或不成形, 体质量下降明显。

2.2 小鼠结肠组织病理学的改变及 MPO 活性的变化 正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组小鼠结肠黏膜损伤不明显; 模型组小鼠结肠黏膜可见明显充血、水肿、糜烂及散在溃疡形成, 大部分远端肠壁增厚, 黏膜炎症细胞浸润, 以中性粒细胞、淋巴细胞为主 (图 1)。模型组小鼠结肠黏膜损伤记分及反映中性粒细胞和炎症程度的 MPO 活性明显高于正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组 ($P < 0.05$), 而后 3 组间的差异无统计学意义 (表 1)。

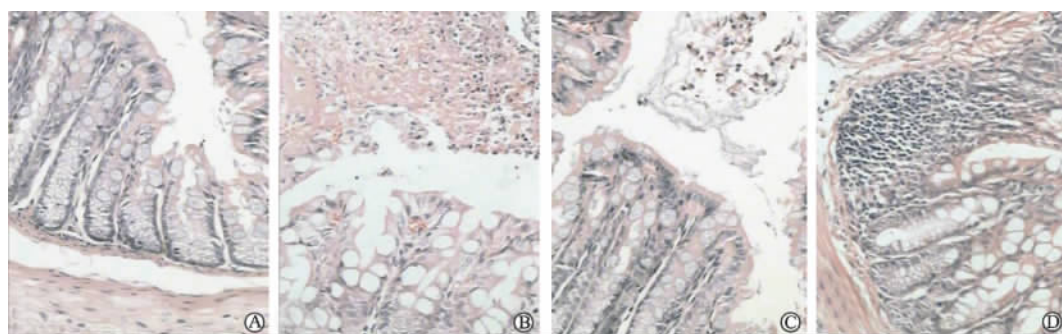


图 1 各组小鼠结肠黏膜 H-E 染色结果

Fig 1 Treatment with GTT and Mesalazine effectively relieved colonic inflammation in TNBS-induced colitis in mice

A: Control group; B: Model group; C: Mesalazine group; D: GTT group. Original magnification: ×200

2.3 各组小鼠结肠组织 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 基因的表达 模型组结肠组织 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的 mRNA 表达水平显著高于正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组 ($P < 0.05$), 后 3 组间各指标无统计学差异 (表 1); 各组内 IL-23 p19 与 IL-17 基因表达水平呈正相关 ($r = 0.827, P < 0.05$)。

2.4 各组小鼠结肠组织 IL-23 p19、IL-17 的蛋白含量 模型组结肠组织中 IL-23 p19、IL-17 的蛋白含量均显著高于正常对照组、美沙拉嗪组、雷公藤多苷组 ($P < 0.05$), 后 3 组间各指标无统计学差异 (表 1); 各组内 IL-23 p19 的表达与 IL-17 的表达呈正相关 ($r = 0.738, P < 0.05$)。

表 1 各组小鼠结肠黏膜组织损伤评分、MPO 活性及细胞因子表达水平的比较

Table 1 Macroscopic and histological scores of colon damage, myeloperoxidase (MPO) activity and IL-23 p19, IL-17 and IL-12 p35 expression in colonic tissues

(n=8, $\bar{x} \pm s$)

Group	Pathology score		MPO $\mu\text{B}/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	Real-time PCR(ΔCt)			ELISA (ng/mg)	
	Macroscopic score	Histological score		IL-23 p19	IL-17	IL-12 p35	IL-23 p19	IL-17
Control	0.3±0.04	0.6±0.12	0.1±0.03	8.62±1.64	11.52±2.86	11.27±2.35	5±1.2	0.134±0.026
Model	6.0±0.82*	5.2±0.74*	2.3±0.36*	3.46±0.95*	2.98±0.87*	4.86±1.64*	28±6.8*	0.424±0.091*
Mesalazine	1.3±0.24	0.6±0.11	0.6±0.05	7.39±2.01	10.34±2.89	11.45±2.69	8±1.6	0.046±0.011
GTT	1.5±0.32	0.5±0.14	0.5±0.09	8.94±2.26	9.83±2.61	12.17±3.58	9±2.4	0.047±0.016

* $P < 0.05$ vs control group

2.5 组内各指标间相关性分析 模型组结肠组织 IL-23 p19、IL-17 蛋白表达水平与病理学损伤评分(大体、组织学)、MPO 活性均呈正相关($r=0.868$ 、 0.863 、 0.731 、 0.747 、 0.852 、 0.915 , $P < 0.05$)。IL-23 p19、IL-17 基因表达的 ΔCt 值与病理学损伤评分(大体、组织学)、MPO 活性均呈负相关($r=-0.846$ 、 -0.779 、 -0.837 、 -0.752 、 -0.829 、 -0.839 , $P < 0.05$), 表明 IL-23 p19、IL-17 mRNA 表达水平越高, 结肠组织炎症越重。

3 讨论

IL-12 和 IL-23 主要由激活的树突细胞和巨噬细胞产生, 可由细菌产物如脂多糖、CpG 寡核苷酸、百日咳毒素等所诱导。二者关系密切, 由相同的 p40 亚基分别与独特的 p35 和 p19 亚基所构成, 它们的异二聚体受体也都含有相同的 IL-12R β 1 链^[1,15-16]。但二者功能并不相同: IL-12 主要诱导 Th1 细胞发育, 产生大量的 IFN- γ , 参与机体的细胞免疫应答; 而 IL-23 主要驱动 Th17 细胞群扩增并维持其存活, 产生大量的 IL-17A、IL-17F、IL-6 和 TNF。IL-17 是 Th17 细胞的主要效应因子, 与受体结合后, 可通过活化 MAP 激酶和 NF- κ B 发挥其生物学功能, 具有强大的募集和激活嗜中性粒细胞能力, 能诱导活化 T 细胞和刺激成纤维细胞、上皮细胞、巨噬细胞, 产生多种促炎介质, 包括 IL-1、IL-6、TNF- α 、NOS-2、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、金属蛋白酶和化学增殖素而诱导炎症反应^[17-18]。目前有研究^[2-3]发现, IL-23/IL-17 通路在自身免疫性疾病如多发性硬化、类风湿性关节炎以及 IBD 的发病机制中具有重要作用, 有望成为自身免疫性疾病新的治疗靶标。

目前常用的治疗炎症性肠病(CD、UC)的药物主要包括水杨酸类、糖皮质激素和免疫抑制剂, 但三

者对其的缓解率较低, 分别约 70%、80%, 最佳的维持缓解方案也仅能使复发率降低至 50% 左右, 分别约有 2/3、1/3 的患者最终需手术治疗。因此, 有必要寻找一种新的高效的治疗方法以提高治疗效果。雷公藤多苷是我国首创的新药, 对细胞免疫与体液免疫均有抑制作用^[8], 对 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞均有抑制作用。这种对 T 淋巴细胞亚群非选择、非平衡性的抑制作用, 可能会改变患者体内存在的各种免疫细胞亚群之间的病理平衡, 纠正免疫系统紊乱。国内阎月等^[9]应用雷公藤多苷治疗大鼠炎症性肠病取得较好的疗效, 但其确切的机制尚不清楚。因此有必要进一步深入研究雷公藤多苷对 TNBS 所致结肠炎的疗效及其作用机制, 为下一步的临床应用提供理论依据。

本研究成功复制了与人类 CD 相似的 TNBS 所致的小鼠结肠炎模型, 病理表现主要为结肠黏膜明显充血、水肿、糜烂及散在溃疡形成, 大部分远端肠壁增厚, 病变黏膜出现以中性粒细胞、淋巴细胞为主的炎症细胞浸润。该模型目前已经被广泛应用于 IBD 免疫病理机制的研究, 并常用于评估新抗炎策略的疗效。本研究结果表明, TNBS 结肠炎模型小鼠在 TNBS 诱导后 48 h, 结肠组织除 IL-12 基因表达水平显著升高外, IL-23 p19、IL-17 的基因及蛋白表达水平均较正常对照组显著升高 ($P < 0.05$), IL-23 p19 与 IL-17 的表达具有良好的相关性, 而且 IL-23 p19、IL-17 的表达水平与大体及组织学损伤评分、MPO 活性均呈正相关, 与国外研究结果类似^[1-3]。

研究表明, 雷公藤多苷能显著抑制 TNBS 诱导的小鼠结肠急性炎症反应, 大体、组织学损伤评分和 MPO 活性较模型组均显著降低 ($P < 0.05$), 其抑炎效应与美沙拉嗪相近, 二者无统计学差异。进一步的研究结果表明, 经雷公藤多苷和美沙拉嗪干

预处理后 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的表达水平均较模型组显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),两种药物间无统计学差异。研究结果提示,雷公藤多苷和美沙拉嗪抑制 TNBS 诱导的结肠急性早期阶段炎症反应可能与非选择性抑制结肠组织中 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的表达有关。

综上所述, TNBS 所致小鼠结肠炎急性早期结肠组织 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 表达明显上调,雷公藤多苷、美沙拉嗪预处理均能有效抑制 TNBS 所致的小鼠结肠急性炎症反应,其作用机制可能与非选择性下调结肠组织中 IL-23 p19、IL-17、IL-12 p35 的表达有关。因此,雷公藤多苷对 IBD 的治疗具有一定的应用前景,但应进一步深入研究 IL-12 和 IL-23 的上游信号转导通路及选择性阻断药物,为临床提供新的治疗靶标和更为有效的药物。

[参考文献]

- [1] Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17 axis in inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116:1218-1222.
- [2] McGovern D, Powrie F. The IL23 axis plays a key role in the pathogenesis of IBD[J]. *Gut*, 2007, 56:1333-1336.
- [3] Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls J K. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12:382-388.
- [4] Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 2003, 52:65-70.
- [5] Schmidt C, Giese T, Ludwig B, Mueller-Molaian I, Marth T, Zeuzem S, et al. Expression of interleukin-12-related cytokine transcripts in inflammatory bowel disease: elevated interleukin-23p19 and interleukin-27p28 in Crohn's disease but not in ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2005, 11:16-23.
- [6] Mannon P J, Fuss I J, Mayer L, Elson C O, Sandborn W J, Present D, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease[J]. *N Engl J Med*, 2004, 351:2069-2079.
- [7] Bowman E P, Chackerian A A, Cua D J. Rationale and safety of anti-interleukin-23 and anti-interleukin-17A therapy[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2006, 19:245-252.
- [8] 林琳,姜济民,戴惠珍.介绍我国独创的新抗炎药物——雷公藤多甙片[J]. *江苏医药*, 1985, 3: 39-40.
- [9] 阎月,李世荣,田利明,徐刚,黄克显,尤广发.雷公藤多甙对大鼠炎症性肠病的治疗作用[J]. *北京针灸骨伤学院学报*, 2000, 7:8-11.
- [10] Butzner J D, Parmar R, Bell C J, Dalal V. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat [J]. *Gut*, 1996, 38:568-573.
- [11] Dieleman L A, Palmén M J, Akol H, Bloemena E, Peña A S, Meuwissen S G, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines[J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 114:385-391.
- [12] Ye P, Rodriguez F H, Kanaly S, Stocking K L, Schurr J, Schwarzenberger P, et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense[J]. *J Exp Med*, 2001, 194:519-527.
- [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] Calvo R, West J, Franklin W, Erickson P, Bemis L, Li E, et al. Altered HOX and WNT7A expression in human lung cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:12776-12781.
- [15] Smits H H, van Beelen A J, Hesse C, Westland R, de Jong E, Soeteman E, et al. Commensal Gram-negative bacteria prime human dendritic cells for enhanced IL-23 and IL-27 expression and enhanced Th1 development[J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34:1371-1380.
- [16] Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans J C, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12[J]. *Immunity*, 2000, 13:715-725.
- [17] Aggarwal S, Ghilardi N, Xie M H, de Sauvage F J, Gurney A L. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278:1910-1914.
- [18] Awane M, Andres P G, Li D J, Reinecker H C. NF-kappa B-inducing kinase is a common mediator of IL-17-, TNF-alpha-, and IL-1 beta-induced chemokine promoter activation in intestinal epithelial cells[J]. *J Immunol*, 1999, 162:5337-5344.

[本文编辑] 李丹阳,贾泽军