

何兰娟,邓渊,王燕,等. 四神丸对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 TLR4、NOD2 表达的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 613-618.

He LJ, Deng Y, Wang Y, et al. Effect of Sishen pills on the expression of TLR4 and NOD2 in a rat colon with ulcerative colitis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(5): 613-618.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.05.003

四神丸对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 TLR4、NOD2 表达的影响

何兰娟¹, 邓渊², 王燕^{1,3}, 朱向东^{1,3*}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730101; 2. 甘肃省人民医院, 兰州 730000; 3. 宁夏医科大学, 银川 750004)

【摘要】 目的 通过对比大鼠结肠组织中的 Toll 样受体 4 (TLR4) 和核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 (NOD2) 治疗前后水平的变化,从修复肠粘膜屏障的角度探讨四神丸治疗溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的作用机制。**方法** UC 大鼠模型制备采用三硝基苯磺酸/乙醇溶液灌肠法。将 40 只大鼠随机分为空白组、模型组、柳氮磺吡啶组 (0.36 g/(kg·d)) 和中药组 (5 g/(kg·d)), 通过采用 HE 染色法、RT-qPCR 法、SP 法和 Western Blot 法观察结肠组织中 TLR4、NOD2 的基因和蛋白表达。**结果** 与空白组相比较,模型组大鼠结肠损伤严重,损伤评分显著增高 ($P < 0.01$), TLR4、NOD2 mRNA 和蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 与模型组相比较,各治疗组大鼠结肠损伤有一定程度的恢复,损伤评分显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), TLR4、NOD2 mRNA 和蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 四神丸可以通过提高大鼠的免疫功能,抑制肠道炎症反应,达到治疗 UC 的目的。

【关键词】 四神丸; 溃疡性结肠炎; Toll 样受体 4; 核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 05-0613-06

Effect of Sishen pills on the expression of TLR4 and NOD2 in a rat colon with ulcerative colitis

HE Lanjuan¹, DENG Yuan², WANG Yan^{1,3}, ZHU Xiangdong^{1,3*}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China. 2. Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000. 3. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004)

Corresponding author: ZHU Xiangdong. E-mail: zhuxiangdong33@163.com

【Abstract】 Objective To observe the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and nucleotide binding oligomerization domain protein 2 (NOD2) in the colon of a ulcerative colitis (UC) rat model, and to explore the therapeutic mechanism of Sishen pills in the treatment of UC from the perspective of repairing the intestinal mucosal barrier. **Methods** A UC rat model was prepared by administration of a trinitrobenzenesulfonic acid/ethanol solution enema. Forty rats were randomly divided into four groups, a blank group, model group, salazopyrimidine group (0.36 g/(kg·d)), and Sishen pills group (5 g/(kg·d)). The mRNA and protein expressions of TLR4 and NOD2 in colon tissue were detected by

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (81360541、81760833、81960826), 兰州市科技发展指导性计划项目 (2020-ZD-61), 甘肃省中医药研究中心 2020 年专项开放课题 (zyzx-2020-13)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81360541, 81760833, 81960826), Science and Technology Development Guiding Plan Project of Lanzhou (2020-ZD-61), Special Open Project of Gansu Research Center of Traditional Chinese Medicine in 2020 (zyzx-2020-13).

【作者简介】 何兰娟 (1989—), 女, 住院医师, 研究方向: 中医治则治法。Email: 1032497493@qq.com

【通信作者】 朱向东 (1973—), 男, 教授, 研究方向: 中医治则治法。Email: zhuxiangdong33@163.com

HE staining, RT-qPCR, SP immunohistochemistry and Western Blot. **Results** Compared with the blank group, the colonic mucosal injury score of the model group was significantly greater ($P < 0.01$), and the expressions of TLR4, NOD2 mRNA and protein were significantly greater ($P < 0.01$, $P < 0.05$); Compared with the model group, the scores of colonic mucosal injury in each treatment group were significantly less ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the expressions of TLR4, NOD2 mRNA and protein were significantly less ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusions** Sishen pills can improve the immune function of rats and inhibit intestinal inflammatory reactions for UC treatment.

【Keywords】 Sishen pills; ulcerative colitis; Toll-like receptor 4; nucleotide-binding oligomerization domain protein 2
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

溃疡性结肠炎是一种病因尚不明确的慢性非特异性炎症性肠病,且发病率逐年增长。目前 UC 的发病机制多认为与免疫因素相关^[1]。固有免疫作为人体第一道机体防御感染性防线,它的启动和实施主要依靠模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病原体相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP)。而哺乳动物中的最典型的两类 PRRs 为 TOLL 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 和核苷酸结合寡聚化结构域受体 (nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, NLRs)^[2]。

目前临床多采用糖皮质激素、免疫抑制剂等免疫疗法,但是疗效不稳定,所以急需寻找一种新的特异性疗法^[3-4]。近年来,中医药在治疗 UC 和缓解 UC 症状等方面优势明显^[5]。四神丸之名首载于《陈氏小儿痘疹方论》,临床研究发现其对 UC 具有良好的治疗作用,本课题通过对比四神丸治疗 UC 大鼠后结肠组织中的 TLR4、NOD2 的表达变化,进一步明确其治疗 UC 的机制,为进一步开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 ~ 8 月龄体重为 (180 ± 20) g 的 SPF 级 Wistar 大鼠 40 只 (雌雄各 20 只),饲养于温度 $21 \sim 25^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $50\% \sim 60\%$,光照昼夜交替各 12 h 的环境中,饮水自由,普通饲料喂养。实验用鼠购买和喂养均在甘肃中医药大学实验动物中心进行【SCXK (甘) 2020-0001】【SYXK (甘) 2020-0009】。本实验符合甘肃中医药大学实验动物伦理会审查要求 (2018-081)。

1.1.2 主要试剂与仪器

四神丸 (补骨脂、肉豆蔻、五味子、吴茱萸)、柳氮磺胺嘧啶肠溶片均购自于兰州惠仁堂大药房,生

产批号分别为 20140502、1412001、20140812、20140822、09140703。四神丸制备浓缩为 1 g/mL 的药液;柳氮磺胺嘧啶肠溶片研磨后制成浓度为 0.025 g/mL 的药液。所有药品均于 4°C 保存。

2,4,6-三硝基苯磺酸/TNBS (美国 Sigma 公司,批号 2508-19-2);PCR 试剂盒 (Promega Corporation 公司);PCR 引物 (生工生物工程股份有限公司);Anti-TLR4 antibody、Anti-NOD2 antibody (abcam 公司,批号 ab13556、ab124348);BCA 蛋白定量试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司,批号:1431401);DAB 显色试剂盒、SP 检测试剂盒 (中杉金桥生物技术有限公司,批号 K156921A、15155A06) 等。

iMark 酶标仪、S1000™ 型 PCR 仪、凝胶成像仪、电泳仪电源、电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司);7500 实时定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司);XS-212-202 双目显微镜 (日本奥林巴斯公司);冷冻离心机 (中国上海天美生化仪器设备有限公司) 等。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组

将 40 只 SPF 级 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、西药组、四神丸组,每组 10 只。将大鼠喂养 1 周后,除空白组外,用三硝基苯磺酸 (TNBS)/乙醇溶液灌肠 (100 mg/kg) 缓慢注入结肠部位制备 UC 大鼠模型^[6]。

1.2.2 给药与取材

给药剂量按照人与大鼠体表系数折算法计算^[7],空白组和模型组以等体积生理盐水灌胃,柳氮磺胺嘧啶组用 SASP 溶液 $0.36 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃治疗,中药组用四神丸 $5 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 灌胃治疗。共计干预 21 d。治疗结束后,取动脉血及结肠组织备用。

1.2.3 肉眼观察大鼠结肠粘膜损伤及进行损伤评分

将大鼠处死后取结肠病变部分,洗净后观察大鼠结肠粘膜损伤情况,并参考 Wallace & Keenan 标准^[8]进行评分 (见表 1)。

表 1 结肠粘膜损伤评分表

Table 1 Colonic mucosal injury score

损伤情况	分数
Damage condition	Score
无损伤	0 分
No damage	Score 0
局部充血无溃疡	1 分
Local congestion without ulcer	Score 1
1 处溃疡不伴充血或肠壁增厚	2 分
1 ulcer without hyperemia or intestinal wall thickening	Score 2
1 处溃疡伴炎症	3 分
1 ulcer with inflammation	Score 3
> 2 处溃疡伴炎症	4 分
> 2 ulcers with inflammation	Score 4
> 2 处溃疡和/或炎症 > 1 cm	5 分
> 2 ulcers and/or inflammation > 1 cm	Score 5

1.2.4 HE 染色法观察大鼠结肠病理组织变化

采用苏木素-伊红染色法染色,将结肠组织玻片放置在显微镜下观察大鼠结肠病理学改变,并拍照分析。

1.2.5 RT-qPCR 法检测大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 mRNA 的表达

采用 TRIzol 法提取 RNA 后,按照 Go Taq 2-Step RT-qPCR System 试剂盒说明书进行操作,逆转录为 cDNA。运用 PCR 仪进行扩增,具体配置比例按照 Reverse Transcription System 试剂盒说明进行。采用 ΔCt 法计算基因的相对表达量,TLR4、NOD2 引物信息见表 2。

表 2 引物信息

Table 2 Information of primers

引物	序列(5'→3')	长度(bp)
Primers	Sequences(5'→3')	Size(bp)
内参	F:GGACCTGACTGACTACTACTGAA	41
β -actin	R:CTTAATGTCACGCACGATTTC	
Toll 样受体 4	F:TGGCATCATCT TCATTGTCC	94
Toll4	R:CAGAGCATTGCTCTCCCACT	
核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2	F:GTTCTGATGGGGTCAGTGG	58
NOD2	R:GACGCCCTAGAGGGTAAGC	

1.2.6 SP 免疫组化法检测大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白的表达

将切片放入二甲苯及乙醇溶液中脱蜡水化,灭活内源性过氧化物酶后进行抗原修复,滴加封闭用正常山羊血清工作液阻断非特异性反应,加入一抗 TLR4(1:200),NOD2(1:400),再滴加生物素标记山羊抗兔/小鼠 IgE 及滴加辣根酶标记链霉卵白

素工作液,最后 DAB 显色、复染、脱水透明封片分析其平均光密度值。

1.2.7 Western Blot 检测 TLR4、NOD2 蛋白的表达

蛋白提取后,电泳跑胶转膜封闭后,加入一抗 TLR4(1:500),NOD2(1:2000), β -actin(1:1000),37℃ 孵育 30 min,4℃ 过夜;加入二抗(1:5000)。曝光后进行分析。

1.3 统计学分析

结果采用 SPSS 19.0 软件处理,数据均以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表达,多组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示组间比较具有显著性差异。

2 结果

2.1 大鼠结肠粘膜损伤情况

空白组大鼠结肠粘膜光滑,未见充血、溃疡等情况;模型组大鼠结肠可见不同程度粘膜充血,部分可见水肿糜烂溃疡,肠壁增厚;柳氮磺胺嘧啶组和中药组大鼠结肠可有不同程度恢复,轻度充血水肿,基本无糜烂及溃疡面。模型组结肠组织损伤评分较空白组明显升高($P < 0.01$),柳氮磺胺嘧啶组和四神丸组结肠组织损伤评分较模型组明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)(见表 3)。

表 3 各组症状积分及结肠肉眼评分表($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Symptom score and macroscopic colon score of each

group($\bar{x} \pm s, n = 10$)		
组别	剂量(g/kg)	结肠粘膜损伤评分
Groups	Dose(g/kg)	Colonic mucosal injury score
空白组	0.00	0.30 $\pm$ 0.48
Blank group		
模型组	0.00	2.50 $\pm$ 1.08 $^{\Delta}$
Model group		
柳氮磺胺嘧啶组	0.36	1.50 $\pm$ 0.85 $^{\Delta}$
SASP group		
四神丸组	5.00	1.30 $\pm$ 0.95 *
Sishen pills group		

注:与空白组相比, $^{\Delta}P < 0.01$;与模型组相比, $^*P < 0.01$,与柳氮磺胺嘧啶组相比, $^{\Delta}P < 0.05$ 。(下表同)

Note. Compared with the blank group, $^{\Delta}P < 0.01$. Compared with the model group, $^*P < 0.01$. Compared with the SASP group, $^{\Delta}P < 0.05$. (The same in the following tables)

2.2 大鼠结肠病理形态学观察

空白组大鼠结肠黏膜结构清晰无异常;模型组结肠组织结构被破坏,可见大量炎性细胞浸润并伴有溃疡;柳氮磺胺嘧啶组和四神丸组结肠粘膜逐步恢复正常结构,炎性细胞浸润情况较模型组减轻,可见肠壁增厚及肉芽组织增生(见图 1)。

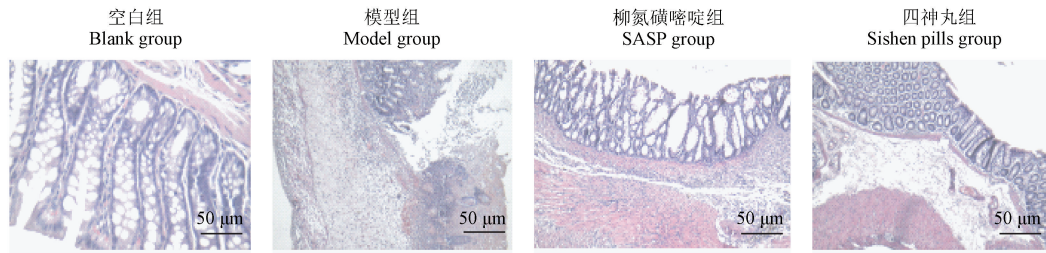


图 1 各组大鼠结肠病理形态学变化

Figure 1 Pathological changes of colon in each group

2.3 对大鼠结肠组织 TLR4、NOD2 mRNA 的影响

模型组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 mRNA 表达水平较空白组明显上升 ($P < 0.01$); 柳氮磺胺吡啶组和四神丸组结肠组织中 TLR4、NOD2 mRNA 表达水平较模型组明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$) (见表 4)。

2.4 对大鼠结肠组织 TLR4、NOD2 蛋白定位的影响

TLR4 和 NOD2 在空白组中基本不表达, 在模型组中的黏膜上层和固有层中表达明显增多, 经治疗后, 表达明显降低。模型组结肠组织中 TLR4、NOD2

蛋白表达水平较空白组明显升高 ($P < 0.05$); 氮磺胺吡啶组和四神丸组结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白表达水平较模型组明显下降 ($P < 0.05, P < 0.01$) (见图 2, 表 5)。

2.5 对 UC 大鼠结肠组织 TLR4 与 NOD2 蛋白表达的影响

与空白组比较, 模型组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白表达水平明显上升 ($P < 0.01$); 氮磺胺吡啶组和四神丸组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白表达水平较模型组明显下降 ($P < 0.01$) (见图 3, 表 6)。

表 4 各组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Expression of TLR4 and NOD2 mRNA in colon tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	Toll 样受体 4	核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2
Groups	Dose (g/kg)	TLR4	NOD2
空白组 Blank group	0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组 Model group	0.00	1.69 ± 0.13 [△]	1.55 ± 0.21 [△]
柳氮磺胺吡啶组 SASP group	0.36	1.24 ± 0.99 [▲]	1.37 ± 0.80 [▲]
四神丸组 Sishen pills group	5.00	1.33 ± 0.28 [*]	1.21 ± 0.62 [*]

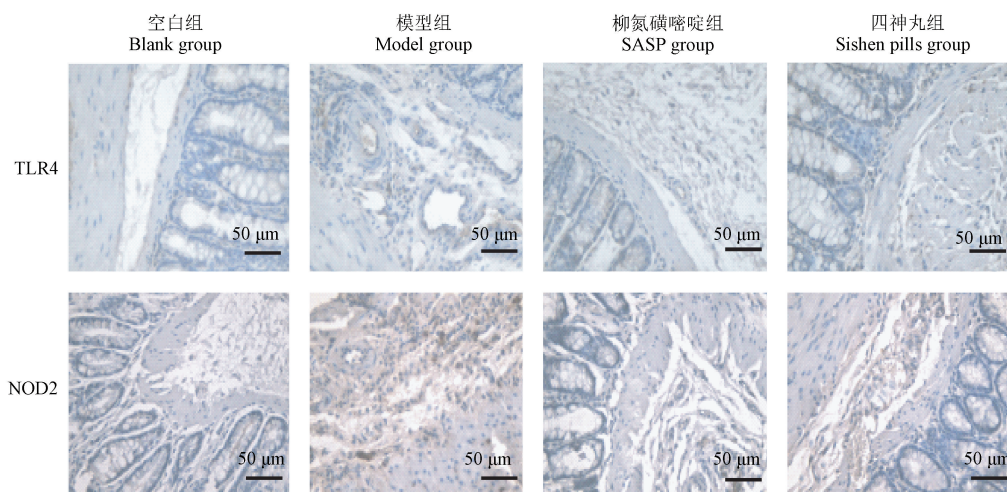


图 2 各组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白的表达

Figure 2 Expression of TLR4 and NOD2 protein in colon tissue of rats in each group

表 5 各组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Expression of TLR4 and NOD2 protein in colon tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	剂量(g/kg) Dose (g/kg)	Toll 样受体 4 TLR4	核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 NOD2
空白组 Blank group	0.00	0.315 ± 0.039	0.291 ± 0.006
模型组 Model group	0.00	0.344 ± 0.010 [△]	0.411 ± 0.005 [△]
柳氮黄嘧啶组 SASP group	0.36	0.324 ± 0.030 [▲]	0.311 ± 0.003 [▲]
四神丸组 Sishen pills group	5.00	0.310 ± 0.006 [*]	0.370 ± 0.010 [*]

表 6 各组大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白的相对表达量($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 6 Relative expression of TLR4 and NOD2 proteins in colon of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	剂量(g/kg) Dose(g/kg)	Toll 样受体 4 TLR4	核苷酸结合寡聚化结构域蛋白 2 NOD2
空白组 Blank group	0.00	0.459 ± 0.079	0.643 ± 0.237
模型组 Model group	0.00	0.920 ± 0.032 [△]	1.045 ± 0.186 [△]
柳氮黄嘧啶组 SASP group	0.36	0.808 ± 0.077 [▲]	0.859 ± 0.107 [▲]
四神丸组 Sishen pills group	5.00	0.751 ± 0.049 [*]	0.825 ± 0.029 [*]

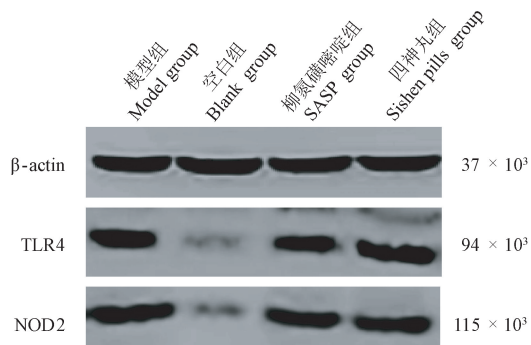


图 3 大鼠结肠组织中 TLR4、NOD2 蛋白表达电泳

Figure 3 Electrophoresis of TLR4、NOD2 protein expression in rat colon

3 讨论

UC 属于中医学中“泄泻”的范畴,若先天禀赋不足,则会导致肾阴阳之亏虚,继而导致脾失濡养,脾肾亏虚最终运化无能导致泄泻,所以 UC 的发病多与脾肾密切相关,而脾肾阳虚又进一步助长了湿气的产生,因此“阳虚湿盛”为 UC 发生的重要病机。四神丸由肉豆蔻、五味子、补骨脂、吴茱萸、生姜、大枣组成,适用于由脾肾虚寒所致的肠失固摄之证。诸药相配,则脾肾温则运化复,大肠固而泄可止。

TLR4 作为人类首个发现的 TLR 相关蛋白,广泛存在于人体的各类细胞中,是参与免疫炎症反应的重要因子^[9],TLR 与内源性配体结合后触发炎症,产生免疫应答。NF-κB 是位于 TLR4 的下游信号通路,大量的研究显示 TLR4/NF-κB 信号通路与抗炎免疫机制密切相关,在炎症发生发展过程中发挥着重要作用^[10]。近年来,相关研究在肠粘膜上皮

细胞中也发现 TLR4 的存在,并证明其在减轻肠道损伤方面具有重要意义^[11]。

NOD2 作为一种细胞内模式识别受体,通过与其配体 MDP 相结合,主要存在于单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等^[12]。正常情况下,NOD2 通过 NF-κB 信号通路激活其下游的各种炎症介质,从而介导机体的炎症反应^[13]。有研究显示 NOD2 在识别和杀灭细菌功能方面有密切的联系,提示 NOD2 可能还有直接杀菌的作用^[14]。另外,有研究显示,NOD2 基因突变可以导致肠道屏障受损,使得肠道杀菌能力降低,引起致病菌侵入并导致相关炎症反应^[15-16]。

因此,Toll 样受体和 NOD 样受体作为启动固有免疫,激活免疫应答的重要因子,在免疫反应中有着至关重要的作用。本研究结果显示,模型组中 TLR4 和 NOD2 含量明显增高,经四神丸治疗后,TLR4 和 NOD2 含量明显降低,提示四神丸可以提高大鼠的免疫功能,抑制炎症反应,修复大鼠肠道屏障,达到治疗 UC 的目的。

参 考 文 献 (References)

- [1] Liu ZJ, Yadav PK, Su JL, et al. Potential role of TH17 cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(46): 5784-5788.
- [2] 饶振华, 谢小梅. NODs 蛋白及其与 TLRs 相互调控在机体抗病原真菌感染中的作用 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(3): 281-285.
Rao ZH, Xie XM. The role of NODs proteins and their interaction with TLRs in the body's resistance to fungal infection [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2012, 32(3): 281-285.
- [3] 冉志华, 童锦禄. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年, 北京) 克罗恩病部分解读 [J]. 中华消化杂志, 2018, 38

- (5): 315-317.
- Ran ZH, Tong JL. Interpretation of the consensus on diagnosis and management of inflammatory bowel disease (Beijing, 2018) from the perspective of diagnosis of Crohn's disease [J]. Chin J Dig, 2018, 38(5): 315-317.
- [4] Guo BJ, Bian ZX, Qiu HC, et al. Biological and clinical implications of herbal medicine and natural products for the treatment of inflammatory bowel disease [J]. Ann N Y Acad Sci, 2017, 1401(1): 37-48.
- [5] 顾思臻, 薛艳, 张玉丽, 等. 口服中药复方治疗溃疡性结肠炎临床疗效 Meta 分析 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2018, 26(12): 981-986.
- Gu SZ, Xue Y, Zhang YL, et al. Meta-analysis of the efficacy of oral traditional chinese medicine in the treatment of ulcerative colitis [J]. Chin J Integr Tradit West Med Dig, 2018, 26(12): 981-986.
- [6] 梁勇, 颜丽萍, 苏林, 等. 枯草杆菌二联活菌对溃疡性结肠炎大鼠的作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(1): 27-29.
- Liang Y, Yan LP, Su L, et al. Effect and mechanism of *Bacillus subtilis* on rats with ulcerative colitis [J]. Chin J Gerontol, 2017, 37(1): 27-29.
- [7] 赖慧敏, 黄敏聪, 楼招欢, 等. 天台乌药对 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎模型大鼠的抗炎作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2): 37-44.
- Lai HM, Huang MC, Lou ZH, et al. The effect of Tiantai Radix Linderae on a rat model of ulcerative colitis induced by TNBS [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(2): 37-44.
- [8] Wallace JL, Keenan CM. An orally active inhibitor of leukotriene synthesis accelerates healing in a rat model of colitis [J]. Am J Physiol, 1990, 258(4): G527-G534.
- [9] 郭晓强. Toll 受体的发现及其意义 [J]. 生物学教学, 2012, 37(3): 59-60.
- Guo XQ. Discovery of toll like receptor and its significance [J]. Biol Teach, 2012, 37(3): 59-60.
- [10] 王娜, 张雪梅, 陈立杰. TLR4 信号通路炎症相关性疾病 [J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(5): 857-860.
- Wang N, Zhang XM, Chen LJ. TLR4 signaling pathway and inflammation related diseases [J]. Chin J Lab Diagn, 2015, 19(5): 857-860.
- [11] 于志坚. 溃疡性结肠炎菌群变化对肠上皮细胞 TLRs 表达影响 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学; 2016.
- Yu ZJ. Effect of bacterial flora of ulcerative colitis on the expression of TLRs in intestinal epithelial cells [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University; 2016.
- [12] 高其宏, 芮景. 细胞内模式识别受体 NOD2 蛋白的研究进展 [J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(5): 432-434.
- Gao QH, Rui J. Research progress of intracellular pattern recognition receptor NOD2 protein [J]. J Radioimmunol, 2008, 21(5): 432-434.
- [13] Inohara N, Ogura Y, Chen FF, et al. Human nod1 confers responsiveness to bacterial lipopoly-saccharides [J]. Biol Chem, 2001, 276(4): 2551-2554.
- [14] Hismatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, et al. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells [J]. Gastroenterology, 2003, 124(4): 993-1000.
- [15] Kim YG, Shaw MH, Warner N, et al. Cutting edge: Crohn's disease-associated Nod2 mutation limits production of proinflammatory cytokines to protect the host from *Enterococcus faecalis*-induced lethality [J]. J Immunol, 2011, 187(6): 2849-2852.
- [16] Ferreira CM, Vieira AT, Vinolo MAR, et al. The central role of the gut microbiota in chronic inflammatory diseases [J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 1-12.

[收稿日期] 2021-11-29