

清化肠饮对脂多糖诱导的人肠上皮细胞 NF- κ B 激活的影响

陈锦团¹ 柯 晓² 张 歆³ 方文怡² 杨春波² 彭 军⁴ 陈友琴⁵ THOMAS J. SPEERRA⁵

摘要 **目的** 运用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激分化的结肠癌 Caco-2 细胞作为一种人体外肠上皮细胞的炎症模型,探讨清化肠饮的抗炎作用及其分子机制。**方法** 制备清化肠饮,培养人结肠上皮细胞 Caco-2,应用 ELISA 方法测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-8 (IL-8), Western blot 分析法检测抑制性卡巴蛋白(inhibitory Kaba protein, I κ B- α)、磷酸化抑制性卡巴蛋白(phosphorylated inhibitory Kaba protein, p-I κ B- α)、核转录因子 p50 (nuclear transcription factor p50, p50)、核转录因子 RelA (nuclear transcription factor RelA, RelA) 蛋白。**结果** 与未给予 LPS 刺激比较, LPS 刺激能诱导 Caco-2 细胞 TNF- α 和 IL-8 的释放($P < 0.05$)。清化肠饮处理可降低 LPS 诱导的 TNF- α 和 IL-8 的分泌,并呈剂量依赖性($P < 0.05$)。0、5、10、50 μ g/mL 不同浓度清化肠饮对 Caco-2 细胞存活率无明显影响,各浓度间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。清化肠饮可抑制 LPS 刺激后的 I κ B- α 的磷酸化, p-I κ B- α 的表达情况随着清化肠饮浓度的增加而下降($P < 0.05$), I κ B- α 无明显变化($P > 0.05$)。p50、RelA 表达水平随着清化肠饮浓度的增加而下降($P < 0.05$),均呈剂量依赖性。**结论** 清化肠饮抑制 LPS 介导的 NF- κ B 活化可能是其治疗 IBD 的机制之一。

关键词 清化肠饮;炎症性肠疾病;核转录因子- κ B 通路

Qinghuachang Decoction Inhibited NF- κ B Activation in LPS-induced Human Enterocytes CHEN Jin-tuan¹, KE Xiao², ZHANG Xin³, FANG Wen-yi², YANG Chun-bo², PENG Jun⁴, CHEN You-qin⁵, and THOMAS J. SPEERRA⁵ 1 College of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350122); 2 Fujian Research Room of Pi-Wei Diseases, Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350003); 3 Clinical Practice Teaching Center, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350122); 4 Institute of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou (350122); 5 Rainbow Babies and Children's Hospital, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106, USA

ABSTRACT **Objective** To explore anti-inflammation and mechanism of Qinghuachang Decoction (QD) by using LPS stimulated differentiated colon cancer Caco-2 cells (as an inflammation model of human enterocytes). **Methods** QD was prepared. Human colonic epithelial Caco-2 cells were cultured. Expressions of TNF- α and IL-8 were determined using ELISA. Expressions of inhibitory Kaba protein (I κ B- α), phosphorylated inhibitory Kaba protein (p-I κ B- α), nuclear transcription factor p50 (p50), and nuclear transcription factor RelA (RelA) protein were determined by Western blot. **Results** Compared with the negative control group (without LPS stimulation), LPS stimulated the release of IL-8 and TNF- α in Caco-2 cells ($P < 0.05$). QD treatment could reduce the secretion of TNF- α and IL-8 induced by LPS in a dose dependent manner ($P < 0.05$). QD at 0, 5, 10, and 50 μ g/mL had no significant effect on Caco-2 cell survival rates ($P > 0.05$), with no statistical difference among various concentrations ($P > 0.05$). QD could significantly

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81173432);福建省自然科学基金项目(No. 2011J01194)

作者单位: 1. 福建中医药大学中西医结合学院(福州 350122); 2. 福建中医药大学附属第二人民医院福建省脾胃研究室(福州 350003); 3. 福建中医药大学临床实践教学中心(福州 350122); 4. 福建中医药大学中西医结合研究院(福州 350122); 5. 美国凯斯西储大学医学院 彩虹婴幼儿医院(克利夫兰俄亥俄州 44106)

通讯作者: 柯 晓, Tel: 0591-87878292, E-mail: drkxkx@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.11.1356

suppress nuclear factor-kappa B (NF- κ B) phosphorylation stimulated by LPS. The expression of p-I κ B- α was decreased with increasing concentrations of QD ($P < 0.05$). There was no obvious change in I κ B- α expressions ($P > 0.05$). Expressions of p50 and RelA decreased with increasing concentrations of QD ($P < 0.05$). Both of them were in a dose dependent manner. Conclusion QD inhibited LPS mediated NF- κ B activation, which might be one of its mechanisms for treating inflammatory bowel disease (IBD).

KEYWORDS Qinghuachang Decoction; inflammatory bowel disease; nuclear factor-kappa B pathway

炎症性肠疾病 (inflammatory bowel disease, IBD), 包含有克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC), 均为慢性复发性的胃肠道疾病^[1,2], 其病因尚未明, 缺乏长期有效的治疗。临床上以减轻其症状为主, 近年来中医药对 IBD 治疗已引起国内外学者的重视与认可, 作为替代性治疗^[3-6]。

细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 作为革兰氏阴性细菌外膜的主要成分, 被认为是导致 IBD 的重要危险因素之一^[7-9]。LPS 能通过对核转录因子如核转录因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 进行免疫相关信号的传导, 进而激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4), 并与之进行直接的互动^[10,11], 使促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 表达^[12,13]。而通过抑制 NF- κ B 通路可能是治疗炎症性疾病一种思路。

清化肠饮是名老中医杨春波教授治疗 UC 的有效经验方, 由仙鹤草、黄连、地榆、赤芍、白豆蔻、厚朴、茵陈等药物组成, 具有清热化湿、健脾益气的作用。清化肠饮被应用于临床治疗 UC, 并取得了良好的疗效^[14], 本实验以 LPS 刺激的人结肠上皮细胞 Caco-2 作为一个体外的炎症模型, 以期评价清化肠饮的抗炎作用并探讨其抗炎机制。

材料与方法

1 细胞株 人结肠上皮细胞 Caco-2, 购自美国菌种保藏中心 (罗克维尔, MA)。

2 药物 清化肠饮由干仙鹤草 220 g 黄连 33 g 地榆 100 g 赤芍 110 g 白豆蔻 56 g 厚朴 110 g 茵陈 110 g 佩兰 110 g 薏苡仁 220 g 白扁豆 110 g 茯苓 220 g 组成, 药材由福建省第二人民医院中药房提供。用沸水煎煮 3 次, 然后合并煎液, 煮沸浓缩至 1000 mL, 使其药物浓度为 1.4 mg/mL, 分装灭菌。

3 主要试剂 TNF- α ELISA 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司; 人 IL-8 ELISA 试剂盒 (BD Biosciences Pharmingen)、Dulbecco 改良的 Eagle 培养基 (DMEM)、小牛血清 (FBS)、青霉素-链霉素-胰蛋白酶-EDTA 均购自美国 Invitrogen 公司; 血清型 O55:B5 大肠杆菌的 LPS 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 抗体免疫印迹法检测细胞信号转导购自美国富康公司; 所有的其他化学品, 除非另有说明, 均从美国 Sigma Chemicals 公司购买。

4 主要仪器 分光光度计 (ELX800; 美国宝特有限公司)。

5 方法

5.1 细胞培养 将细胞 (通道 20-40) 接种在含 10% (v/v) 热灭活小牛血清、1 000 mg/L 的葡萄糖、50 U/mL 青霉素和 50 mg/L 链霉素的 DMEM 完全培养液内, 置于 37 °C, 5% CO₂ 饱和湿度孵育箱内培养。细胞单层贴壁生长, 至 85%~90% 融合时进行传代培养。Caco-2 细胞通常培植 3 天后达到融合, 融合后 18~20 天分化成肠样细胞。将完全分化的细胞用于实验。实验当天, 除去培养基, 并用 0.5% 小牛血清的 DMEM 培养液将细胞洗涤 2 次。

5.2 TNF- α 、IL-8 检测 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定。完全分化的 Caco-2 细胞 (融合后 20 天) 在 24 孔板中分别用 (0、5、10、50 μ g/mL) 浓度的清化肠饮进行孵育 1 h 后再用 LPS 刺激 24 h。实验设置阴性对照, 即对最低浓度 0 μ g/mL 和最高浓度 50 μ g/mL 的清化肠饮孵育 1 h 后不用 LPS 刺激。实验结束后, 离心分离细胞培养介质。3 000r/min, 10 min 后, 收集上清液。用 TNF- α ELISA 试剂盒和人 IL-8 ELISA 试剂盒, 根据制造商的并按操作说明分别测定 TNF- α 、IL-8 水平。将所有样品进行了检测, 一式 3 份, 在 450 nm 处读出吸光度。

5.3 评估细胞活力 采用 3-(4,5-二甲基吡唑-2-基)-2,5-二苯基溴化物 (MTT) 比色法检测完全分化的 Caco-2 细胞 (融合后 20 天) 在 96 孔板中用 (0、5、10、50 μ g/mL) 浓度的清化肠饮治疗 24 h。

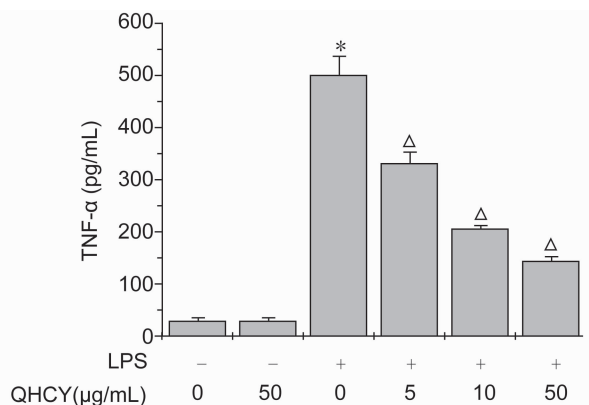
即将 MTT 100 μL (0.5 mg/mL) 在磷酸盐缓冲液 (PBS) 中后加入到各孔中, 再将样品置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培育 4 h。蓝紫色的 MTT 甲沉淀物溶解于 100 μL 二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 中。使用分光光度计在 570 nm 处的吸光度进行读取。

5.4 抑制性卡巴蛋白 (inhibitory kaba protein, $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$)、磷酸化抑制性卡巴蛋白 (phosphorylated inhibitory kaba protein, $\text{p-I}\kappa\text{B}-\alpha$)、核转录因子 p50 (nuclear transcription factors p50, p50)、核转录因子 RelA (nuclear transcription factors RelA, RelA) 等蛋白表达 采用 Western blot 分析完全分化的 Caco-2 细胞 (融合后 20 天) 在 6 孔板中用各浓度的清化肠饮预孵育 1 h, 后再用 LPS 刺激 30 min。在实验结束时, 将细胞用冰冷的 PBS 洗涤。然后将细胞用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂 (PI) 混合物的细胞裂解缓冲液 (50 mmol/L Tris-HCl, pH 为 7.4, 150 mmol/L NaCl, 0.5% NP-40, 5 mmol/L EDTA, 50 mmol/L NaF, 1 mmol/L PMSF) 裂解。细胞裂解物以 10 000 $\times g$ 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下进行离心 10 min 后收集上清液, 研究 $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ 、 $\text{p-I}\kappa\text{B}-\alpha$ 蛋白的表达。要确定 NF- κB 核易位, 制备核提取: 在裂解前, 用低渗缓冲液 (10 mmol/L HEPES, pH 为 7.9, 0.751 mmol/L 亚精胺, 0.15 mmol/L 精胺, 0.1 mmol/L EDTA 及 0.1 mmol/L EGTA), 培养细胞并允许其在 4 $^{\circ}\text{C}$ 膨胀。然后将细胞在 300 $\times g$ 条件下沉降 10 min。除去上清液, 并用 2 倍体积的新鲜低渗缓冲液加 PI 混合物取代。细胞在 Dounce 匀浆器 (10 ~ 15 击) 中进行匀浆, 并加入蔗糖恢复缓冲 (1 倍体积的 500 HEPES, pH 为 7.9, 7.51 mmol/L 亚精胺, 1.5 mmol/L 精胺, 2 mmol/L EDTA, 2 mmol/L EGTA 及 10 mmol/L DTT 在 9 体积的 7.5% 的蔗糖)。细胞核沉淀在 14 000 $\times g$, 离心 1 min。除去上清液后, 用裂解缓冲液将沉淀再悬浮。总裂解物或核提取物中的蛋白质浓度用 BCA 进行量化。相当量的蛋白质, 在 12% SDS-PAGE 中凝胶和电吸。将 PVDF 膜用 5% 脱脂牛奶封闭, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下整夜探测 $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ 、 $\text{p-I}\kappa\text{B}-\alpha$ 、p50、RelA 和 β -肌动蛋白 (1:1 000) 兔抗, 然后用增强化学发光法检测配对的 HRP 偶联碱性磷酸酶标记山羊抗兔。

5.5 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件包对数据进行分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Student t 检验和单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

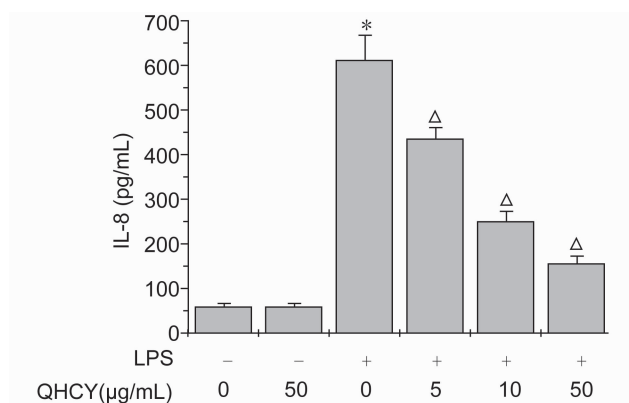
结 果

1 不同浓度清化肠饮在 LPS 诱导后对 TNF- α 、IL-8 表达水平比较 (图 1、2) 与阴性对照比较, LPS 刺激能诱导 Caco-2 细胞 TNF- α 和 IL-8 的释放 ($P < 0.05$), 并呈剂量依赖性 ($P < 0.05$)。



注: 与未给予 LPS 刺激清化肠饮浓度 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 比较, * $P < 0.05$; 与清化肠饮浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 比较, $\Delta P < 0.05$; $n = 3$

图 1 不同浓度清化肠饮在 LPS 诱导后 TNF- α 表达水平比较



注: 与未给予 LPS 刺激清化肠饮浓度 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 比较, * $P < 0.05$; 与清化肠饮浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 比较, $\Delta P < 0.05$; $n = 3$

图 2 不同浓度清化肠饮在 LPS 诱导后 IL-8 表达水平比较

2 不同浓度清化肠饮对 Caco-2 细胞存活率的影响 (图 3) 0、5、10、50 $\mu\text{g/mL}$ 不同浓度清化肠饮对 Caco-2 细胞存活率无明显影响, 各浓度间比较, 差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 清化肠饮对 LPS 诱导的肠上皮细胞 NF- κB 通路相关蛋白的影响 (图 4, 表 1) 清化肠饮可抑制 LPS 刺激后的 $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ 的磷酸化, $\text{p-I}\kappa\text{B}-\alpha$ 的表达情况随着清化肠饮浓度增加而下降 ($P < 0.05$), $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ 则无

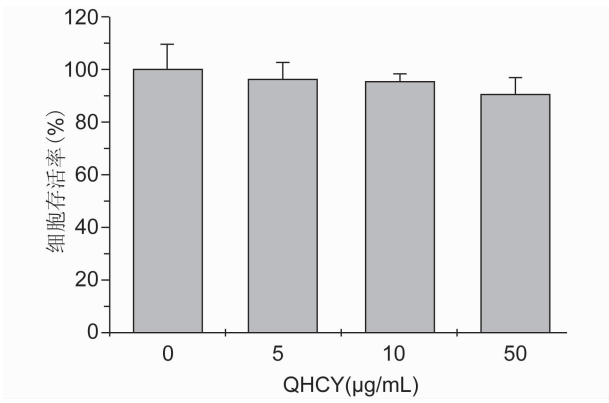


图3 不同浓度清化肠饮对 Caco-2 细胞存活率的影响

明显变化($P > 0.05$)。p50、RelA 的表达水平随着清化肠饮浓度的增加而下降($P < 0.05$),而呈剂量依赖性。

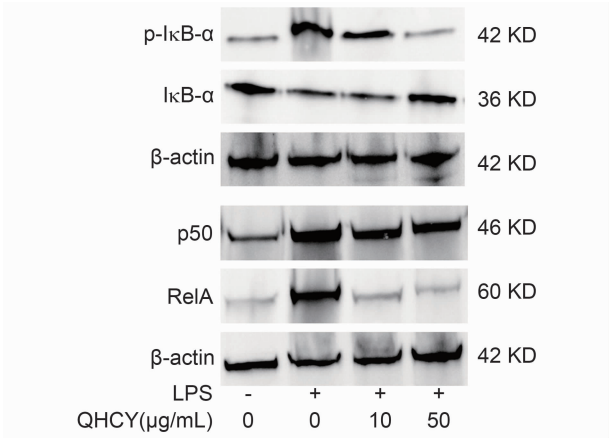


图4 清化肠饮对 LPS 诱导的肠上皮细胞 NF-κB 通路相关蛋白的影响

讨 论

IBD 多引起肠道和肠道外症状,易复发,治疗难度大,同时与结肠癌的发病率有一定关系,严重损害患者的生活质量。有研究认为首先由于肠上皮屏障被感染、毒素和药物等因素破坏,导致大量抗原侵袭肠组织,

进而诱发遗传易感宿主的黏膜免疫反应^[1,2];其次这种免疫调节失衡,可能激活其他细胞因子、炎症介质等活性分子的作用,使得炎症过程被逐级放大和持久化,最终体现为 IBD 的临床表现和病理损伤^[3]。UC 作为 IBD 的主要形式,是慢性肠道炎症反应的结果^[1-3]。由于其确切的病因目前尚未完全了解,因此尚未见长期有效的治疗。近几年来中医药已广泛用于 IBD 的治疗^[15-19]。清化肠饮治疗 IBD,已在临床上取得较好疗效,其抗炎活性的具体分子生物学机制尚不明^[14]。

IL-8 和 TNF-α 作为促炎细胞因子,在 IBD 的发病机制中发挥着重要的作用^[20],本实验研究通过 LPS 刺激的人结肠上皮细胞 Caco-2 建立体外炎症模型,发现不同浓度清化肠饮呈剂量依赖性地降低 TNF-α 和 IL-8 分泌。Toll 样受体是一类模式识别受体 (PRRs),能特异性地识别病原微生物进化中保守的抗原分子,即病原相关分子模式 (PAMPS)。炎症反应是受 Toll 样受体 (TLR) 严格调控^[21]。不同的 TLR 识别不同的 PAMP,如 TLR4 (8-10,26-29) 就是 LPS 的一种特定的配体。激活的配体结合后,Toll 样受体通过核转录因子 (如 NF-κB) 转导免疫相关的信号。NF-κB 参与 IBD 肠道免疫调节的生理过程,特别是在炎症反应方面。在未受刺激的细胞中,NF-κB 与一类被称为 IκB (inhibitor of NF-κB) 的抑制蛋白结合在一起,被“囚禁”在细胞质中;然而,当细胞受到病理刺激,IκB 在 IκB 激酶 (IKK) 的作用下发生磷酸化而降解,与 NF-κB 解离,从而迅速由细胞质移位到细胞核,与多种基因的启动子部位 κB 位点结合,促进相应基因转录,进而释放各种致炎因子,从而引起炎症反应^[22-26]。本研究采用 Western blot 分析发现,在 Caco-2 细胞中清化肠饮能够以剂量依赖的方式抑制 IκB-α 的磷酸化和 NF-κB 核移位,p-IκB-α 和 RelA 的表达水平随着清化肠饮剂量的增加而降低,p50 的表达水平随着清化肠饮剂量的增加而增高,提示清化肠饮能够抑制 LPS 介导的 NF-κB 信号通路的激活。

表1 清化肠饮对 LPS 诱导的肠上皮细胞 NF-κB 通路相关蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$)

清化肠饮浓度 (μg/mL)	LPS	p-IκB-α/IκB-α	p50/β-actin	RelA/β-actin	t 值	P 值
0	-	0.314 ± 0.052	0.868 ± 0.114	0.171 ± 0.043	5.58	0.027
0	+	2.145 ± 0.103 *	3.094 ± 0.219 *	0.817 ± 0.120 *	10.61	0.000
10	+	1.038 ± 0.204 Δ	2.013 ± 0.147 Δ	0.496 ± 0.089 Δ	4.70	0.015
50	+	0.581 ± 0.061 ▲	1.006 ± 0.532 ▲	0.212 ± 0.015 ▲	14.92	0.044

注:与未给予 LPS 刺激清化肠饮浓度 0 μg/mL 比较, * $P < 0.01$;与清化肠饮浓度 0 μg/mL 比较, Δ $P < 0.05$;与清化肠饮浓度 10 μg/mL 比较, ▲ $P < 0.05$

参 考 文 献

- [1] Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause[J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(9): 2015–2021.
- [2] Odashima M, Otaka M, Jin M, et al. Successful treatment of refractory duodenal Crohn's disease with infliximab[J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(1): 31–32.
- [3] Treasure J. Herbal medicine and cancer: an introductory overview [J]. *Semin Oncol Nurs*, 2005, 21(3): 177–183.
- [4] Stickel F, Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases [J]. *Dig Liver Dis*, 2007, 39(4): 293–304.
- [5] Langmead L, Rampton DS. Review article: complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23(3): 341–349.
- [6] Bensoussan M, Jovenin N, Garcia B, et al. Complementary and alternative medicine use by patients with inflammatory bowel disease: results from a postal survey[J]. *Gastroenterol Clin Biol*, 2006, 30(1): 14–23.
- [7] Caradonna L, Amati L, Magrone T, et al. Enteric bacteria, lipopolysaccharides and related cytokines in inflammatory bowel disease: biological and clinical significance [J]. *J Endotoxin Res*, 2000, 6(3): 205–214.
- [8] Böcker U, Yezersky O, Feick P, et al. Responsiveness of intestinal epithelial cell lines to lipopolysaccharide is correlated with Toll-like receptor 4 but not Toll-like receptor 2 or CD14 expression [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2003, 18(1): 25–32.
- [9] Bruewer M, Utech M, Ivanov AI, et al. Interferon-gamma induces internalization of epithelial tight junction proteins via a macropinocytosis-like process[J]. *FASEB J*, 2005, 19(8): 923–933.
- [10] Schreiber S, Nikolaus S, Hampe J. Activation of nuclear factor kappa B inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 1998, 42(4): 477–484.
- [11] Andresen L, Jørgensen VL, Perner A, et al. Activation of nuclear factor kappaB in colonic mucosa from patients with collagenous and ulcerative colitis[J]. *Gut*, 2005, 54(4): 503–509.
- [12] Lakatos PL, Fischer S, Lakatos L, et al. Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel disease-crosstalk between genetic and microbial factors: pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take “toll” [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(3): 1829–1841.
- [13] Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway [J]. *Cytokine*, 2004, 2(2): 145–151.
- [14] 陈锦团, 柯晓, 付肖岩, 等. 清化湿热为主治疗湿热型溃疡性结肠炎的临床研究 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2009, 17(4): 256–257.
- [15] 王新月, 田德禄. 溃疡性结肠炎病因病理特点与中医辨治思路对策 [J]. *北京中医药大学学报*, 2007, 30(8): 554–559.
- [16] 龚雨萍, 柳文, 马贵同, 等. 清肠栓治疗溃疡性结肠炎的随机对照研究 [J]. *上海中医药大学学报*, 2007, 21(6): 33–36.
- [17] 傅南琳, 黄俊友. 中医药治疗溃疡性结肠炎研究进展 [J]. *中医杂志*, 1999, 40(8): 501–503.
- [18] 李乾构. 中医药治疗溃疡性结肠炎思路 [J]. *北京中医*, 2004, 23(3): 149–150.
- [19] 王长洪, 高文艳, 林一帆, 等. 复方苦参结肠溶胶囊治疗湿热内蕴溃疡性结肠炎的研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2009, 18(13): 1453.
- [20] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(5): 816–825.
- [21] 孙冰, 韩代书. Toll 样受体信号路的负调控 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2009, 36(12): 1516–1522.
- [22] Snape WJ, Kao HW. Role of inflammatory mediators in colonic smooth muscle function in ulcerative colitis [J]. *Dig Dis Sci*, 1988, 33(3): 65–70.
- [23] Neuman MG. Immune dysfunction in inflammatory bowel disease [J]. *Transl Res*, 2007, 149(4): 173–186.
- [24] Eckmann L, Jung HC, Schürer-Maly C, et al. Differential cytokine expression by human intestinal epithelial cell lines: regulated expression of interleukin 8 [J]. *Gastroenterology*, 1993, 105(6): 1689–1697.
- [25] Wang D, DuBois RN, Richmond A. The role of chemokines in intestinal inflammation and cancer [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9(6): 688–696.
- [26] Brynskov J, Foegh P, Pedersen G, et al. Tumor necrosis factor alpha converting enzyme (TACE) activity in the colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2002, 51(1): 37–43.

(收稿: 2014-06-21 修回: 2015-08-10)