

DOI:10.13350/j.cjpb.231104

• 论著 •

# 迷迭香酸调节 HMGB1/RAGE 信号轴对溃疡性结肠炎大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的影响

吴军城\*, 赵立国, 张立文

(博鳌一龄生命养护中心消化内镜, 海南琼海 571400)

**【摘要】** 目的 分析迷迭香酸(RA)对溃疡性结肠炎(UC)大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的影响,并探究其作用机制。

**方法** 将大鼠随机分为对照组、UC组、RA低剂量组、RA中剂量组、RA高剂量组、RA高+重组高迁移率族蛋白1(rHMGB1)组,每组10只。采用2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)联合乙醇处理建立UC大鼠模型,对各组大鼠进行疾病活动指数(DAI)评分和结肠黏膜损伤指数(CDMI)评分,苏木素伊红染色观察结肠组织病理变化并进行病理评分(HS),酶联免疫吸附法检测血清白细胞介素(IL)-6、IL-10、IL-1 $\beta$ 水平,实时定量荧光PCR(qRT-PCR)检测肠道菌群中主要菌种数量,Western blot检测HMGB1、晚期糖基化终产物(RAGE)、核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B p65)、p-NF- $\kappa$ B p65、闭合蛋白-1(claudin-1)、带状闭合蛋白-1(ZO-1)及咬合蛋白(occludin)表达情况。**结果** 与对照组相比,UC组大鼠结肠组织受损严重,大量炎性细胞浸润;DAI、CDMI和HS评分,IL-6、IL-1 $\beta$ 水平,拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量,以及HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65蛋白表达水平均显著升高,IL-10水平、双歧杆菌和乳酸杆菌数量及Claudin-1、ZO-1、Occludin蛋白表达水平显著下降(均 $P < 0.05$ )。与UC组相比,RA低、中、高剂量组结肠组织、肠黏膜、腺体结构损伤程度得到改善,DAI、CDMI和HS评分,IL-6、IL-1 $\beta$ 水平,拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量及HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65蛋白表达水平均显著下降,IL-10水平、双歧杆菌、乳酸杆菌数量及Claudin-1、ZO-1、Occludin蛋白表达显著升高(均 $P < 0.05$ )。rHMGB1的使用可逆转RA对UC大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的改善作用。**结论** RA可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路改善UC大鼠肠屏障损伤和肠道菌群失调,抑制炎症反应。

**【关键词】** 溃疡性结肠炎;肠屏障损伤;肠道菌群失调;迷迭香酸;高迁移率族蛋白1/晚期糖基化终产物信号轴

**【中图分类号】** R378

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)11-1257-07

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Nov.;18(11):1257-1263.]

## Effect of rosmarinic acid on intestinal barrier damage and gut microbiota imbalance in rats with ulcerative colitis by regulating the HMGB1/RAGE signal axis

WU Juncheng, ZHAO Ligu, ZHANG Liwen (*Digestive Endoscopy, Boao Yiling Life Care Center, Qionghai 571400, Hainan, China*)\*

**【Abstract】** **Objective** To analyze the effect of rosmarinic acid (RA) on intestinal barrier damage and intestinal microbiota imbalance in rats with ulcerative colitis (UC), and explore its mechanism of action. **Methods** Rats were randomly grouped into a control group, UC group, low dose RA group, medium dose RA group, high dose RA group, and high dose RA+recombinant high mobility group protein 1 (rHMGB1) group, with 10 rats in each group. A UC rat model was established using 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) combined with ethanol, the disease activity index (DAI) and colonic mucosal injury index (CDMI) scores were performed on each group, hematoxylin-eosin staining was applied to observe pathological changes in colon tissue and perform pathological score (HS) scoring, enzyme linked immunosorbent assay was applied to detect serum levels of interleukin-6 (IL-6), IL-10, and IL-1 $\beta$ , real-time quantitative fluorescent PCR (qRT-PCR) was applied to detect the number of major bacterial species in the gut microbiota, Western blot was applied to detect the expression of HMGB1, advanced glycation end products (RAGE), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B p65), p-NF- $\kappa$ B p65, claudin-1, ZO-1, and occludin proteins. **Results** Compared with the control group, the colon tissue of rats in UC group was severely damaged and a large number of inflammatory cells infiltrated, the DAI score ( $0.00 \pm 0.00$  vs  $10.13 \pm 1.14$ ), CDMI score ( $0.00 \pm 0.00$  vs  $7.35 \pm 0.78$ ) and HS score ( $0.00 \pm 0.00$  vs  $10.83 \pm 1.25$ ), levels of IL-6 ( $93.72 \pm 10.08$  vs  $252.74 \pm 26.93$ ) and IL-1 $\beta$  ( $73.92 \pm 9.58$  vs  $162.47 \pm 16.38$ ), numbers of *Bacteroides* ( $5.38 \pm 0.57$  vs  $9.29 \pm 1.03$ ), *Escherichia coli* ( $4.16 \pm 0.47$  vs  $7.83 \pm 0.81$ ), *Enterococcus* ( $4.51 \pm 0.58$  vs  $6.83 \pm 0.72$ ), and the protein expression of HMGB1, RAGE, and p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 were obviously increased, the levels of IL-10 ( $182.53 \pm 18.64$  vs  $65.19 \pm 6.82$ ), the numbers of bifidobacteria ( $7.95 \pm 0.83$  vs  $4.27 \pm 0.45$ ) and lactobacilli ( $8.63 \pm 0.82$  vs  $4.51 \pm 0.48$ ),

\* **【通讯作者(简介)】** 吴军城(1985-),男,广东河源人,硕士研究生,主治医师,主要从事中医消化方面的研究。E-mail:wcj023456@163.com

and the protein expression of Claudin-1, ZO-1, and Occludin were obviously decreased (all  $P < 0.05$ ); compared with the UC group, the damage degrees of colon tissue, intestinal mucosa, and glandular structure in the low, medium, and high dose RA groups were improved, the DAI score ( $7.95 \pm 0.81, 5.54 \pm 0.57, 3.08 \pm 0.36$ ), CDMI score ( $5.21 \pm 0.54, 3.86 \pm 0.41, 2.14 \pm 0.27$ ) and HS score ( $8.61 \pm 0.88, 6.27 \pm 0.64, 3.39 \pm 0.38$ ), levels of IL-6 ( $205.84 \pm 21.37, 158.43 \pm 16.25, 119.38 \pm 12.49$ ) and IL-1 $\beta$  ( $132.46 \pm 13.91, 106.83 \pm 11.27, 84.62 \pm 8.59$ ), numbers of Bacteroides ( $8.04 \pm 0.82, 7.18 \pm 0.75, 6.09 \pm 0.62$ ), *E. coli* ( $6.51 \pm 0.66, 5.37 \pm 0.58, 4.75 \pm 0.49$ ), *Enterococcus* ( $5.86 \pm 0.61, 5.37 \pm 0.55, 4.78 \pm 0.49$ ), and the protein expression of HMGB1, RAGE, and p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 were obviously decreased, the levels of IL-10 ( $105.36 \pm 11.34, 133.47 \pm 14.08, 169.35 \pm 17.08$ ), the numbers of bifidobacteria ( $5.86 \pm 0.63, 6.27 \pm 0.64, 7.53 \pm 0.78$ ) and lactobacilli ( $5.86 \pm 0.62, 7.03 \pm 0.75, 8.22 \pm 0.87$ ), and the protein expression of Claudin-1, ZO-1, and Occludin were obviously increased (all  $P < 0.05$ ); the use of rHMGB1 can reverse the improvement effects of RA on intestinal barrier damage and intestinal microbiota imbalance in UC rats. **Conclusion** RA may improve intestinal barrier damage and intestinal microbiota imbalance in UC rats and inhibit inflammatory response by inhibiting the HMGB1/RAGE signaling pathway.

**【Key words】** ulcerative colitis; intestinal barrier injury; intestinal microbiota imbalance; rosmarinic acid; high mobility group box 1/advanced glycation end products signal axis

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性非特异性炎症性疾病,主要表现为腹痛、腹泻、脓血便等症状<sup>[1]</sup>。近年来,受不良生活习惯、巨大精神压力、遗传等因素的影响,UC在全球的发病率呈明显上升趋势,因此UC的治疗已成为一个紧迫的全球健康问题。UC病因和发病机制尚不明确,其中遗传易感性、肠屏障损伤和肠道菌群失衡被认为是主要的致病因素。肠道菌群的组成可影响免疫系统的发育和免疫介质的调节,从而影响肠道屏障。肠道菌群失调影响肠上皮屏障,导致肠渗漏,使肠道内容与宿主外周接触,诱发炎症反应,与UC的发生发展密切相关<sup>[2-3]</sup>。因此,改善患者的肠上皮屏障功能和肠道菌群平衡被认为是治疗UC的关键。迷迭香酸(RA)是一种天然多酚,具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗感染、抗伤害感受和神经保护活性等多种生物学特性。研究发现,RA可介导肠道微生物群衍生代谢物的产生和炎症小体的过表达,对结肠炎小鼠炎症小体有抑制作用<sup>[4]</sup>。因此推测RA对UC大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的具有保护作用。高迁移率族蛋白1(HMGB1)被定义为一种经典的分子模式蛋白,可由活化的巨噬细胞和坏死的肠上皮细胞释放, HMGB1通过与其晚期糖基化终产物(RAGE)的同源受体结合而参与炎症过程,与结肠炎的发病密切相关<sup>[5]</sup>。研究发现,可通过抑制HMGB1/RAGE/核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)级联增强结肠自噬和抑制细胞凋亡,使实验性结肠炎得到改善<sup>[6]</sup>。本研究拟探讨RA对UC大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的影响,并探究其作用机制。

## 材料与方 法

### 1 材料

1.1 实验动物 雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠,购

自上海斯莱克实验动物有限责任公司,生产许可证:SCXK(沪)2022-0004,体重( $200 \pm 20$ )g。所有动物在12 h的黑暗/光照周期和大约25 °C的温度下饲养,自由饮食和饮水。

1.2 主要试剂与仪器 RA购于北京康瑞纳生物科技有限公司;2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)购于美国Sigma公司;HMGB1重组蛋白(rHMGB1)购于北京百奥莱博科技有限公司;苏木素伊红染色试剂盒(HE)购于上海翌圣生物科技有限公司;白细胞介素(IL)-6酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒购于上海江莱生物科技有限公司;IL-10 ELISA试剂盒购于武汉菲恩生物科技有限公司;IL-1 $\beta$  ELISA试剂盒购于上海酶研生物科技有限公司;DNA提取试剂盒和实时定量荧光PCR(qRT-PCR)试剂盒购于上海碧云天公司;一抗HMGB1、RAGE、NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65、闭合蛋白-1(claudin-1)、带状闭合蛋白-1(ZO-1)、咬合蛋白(occludin)和GAPDH抗体购于英国Abcam公司;HRP标记的IgG二抗购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。酶标仪购于上海美谷分子仪器有限公司;实时荧光定量PCR仪为美国伯乐公司生产;紫外分光光度计为美国赛默飞世尔公司生产。

## 2 方法

2.1 动物造模及分组处理 随机选取10只大鼠作为对照组,其余大鼠均采用TNBS联合乙醇处理,构建UC模型<sup>[7]</sup>。将大鼠禁食12 h后麻醉;取5%的TNBS与50%乙醇混合,用塑料软管将混合溶液缓慢注入距大鼠肛门约8 cm的结肠,挤压肛门,使大鼠倒置10 min左右。对照组大鼠注入相同体积的生理盐水。造模2 d后大鼠出现精神萎靡、稀便、血便等特征,并经病理观察确认UC大鼠模型构建成功。

将造模成功大鼠随机分为UC组、RA低剂量组、

RA 中剂量组、RA 高剂量组、RA 高+rHMGB1 组,每组 10 只。RA 低、中、高剂量组大鼠分别给予 30、60、90 mg/kg RA<sup>[8]</sup>灌胃处理;RA 高+rHMGB1 组大鼠给予 8  $\mu$ g/kg rHMGB1<sup>[9]</sup>尾静脉注射,同时给予 90 mg/kg 体重 RA 灌胃处理;对照组和 UC 组给予相同剂量的生理盐水,1 次/d,连续 14 d。

**2.2 疾病活动指数(DAI)评分** 观察大鼠体重、粪便性状、便血情况等并据此对大鼠进行 DAI 评分。评分标准:(a)体重:未减轻记 0 分,减轻 1%~5%记 1 分,减轻 5%~10%记 2 分,减轻 10%~20%记 3 分,减轻 20%以上记 4 分;(b)粪便性状:正常记 0 分,软但仍形成记 1 分,软记 2 分,非常软记 3 分,水样便记 4 分;(c)便血情况:潜血试验阴性记 0 分,弱阳性记 1 分,阳性记 2 分,粪便中可见血迹 3 分,直肠大量出血记 4 分。分值越高,病情越严重。

**2.3 标本采集及结肠黏膜损伤指数(CDMI)评分** 最后一次给药后大鼠禁食 12 h。麻醉大鼠,通过心脏穿刺采集血液,分离血清,-20  $^{\circ}$ C 保存。然后颈椎脱臼处死大鼠,迅速分离结肠并测量其长度,沿肠系膜纵向打开结肠,用 PBS 洗去粪便,肉眼观察结肠黏膜损伤情况并进行 CMDI 评分。CMDI 评分标准:无损伤记 0 分;轻度充血、水肿,表面光滑,无溃疡记 1 分;有溃疡,但无充血或肠壁增厚记 2 分;某一部位溃烂并发炎症记 3 分; $\geq 2$  处溃疡并发炎症记 4 分;主要损伤部位沿结肠长度延伸 $>1$  cm 记 5 分,损伤延伸 $>2$  cm 的每增加 1 cm 增加 1 分。

CMDI 评分结束后,将近端结肠组织冷冻在液氮中,然后保存在-80  $^{\circ}$ C 备用;远端结肠组织用 4%多聚甲醛固定。

**2.4 HE 染色检查** 取 4%多聚甲醛中固定的远端结肠组织,石蜡包埋后切片(厚度 4  $\mu$ m),然后用 HE 染色,在光学显微镜下观察结肠组织的组织学形态,并进行病理评分(HS)<sup>[10]</sup>,依据炎症的严重程度和程度、隐窝损伤和累及结肠的百分比等进行评分,总分为 0~14 分,分值越高,病情越严重。

**2.5 ELISA 检测血清 IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$  水平** 取大鼠血清,按照 ELISA 试剂盒说明检测血清 IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$  水平。

**2.6 qRT-PCR 检测肠道菌群** 收集大鼠新鲜粪便,离心后弃去上清,PBS 重悬沉淀,苯酚处理后离心,取上清,加入预冷的无水乙醇,使用 DNA 提取试剂盒提取 DNA,紫外分光光度计检测 DNA 的纯度和浓度。取提取的粪便 DNA 进行 qRT-PCR 检测,分析常见菌种拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌、双歧杆菌、乳酸杆菌丰度,引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物  
Table 1 qRT-PCR primer

菌种 Bacteria	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	长度(bp) Length
拟杆菌	F:AGCCAAACATCCTGCACACC R:CGTCCAAAGGCATACCACGC	206
大肠埃希菌	F:TCTTTCTCTGACCCCTCCTGTG R:TTGGAGTCCCAAAGTCCCAGAA	141
肠球菌	F:AGGCCAACGTGGAACCTG R:AGGCCAACGTGGAACCTG	262
双歧杆菌	F:GGGCATTGCCTTCTTTGGCA R:GGGCAGTGTGTTTCTCTGGC	234
乳酸杆菌	F:GGGGCCCAACTGGTCATCATA R:TAGCGTGTAAAGCTGGGTGACA	161

**2.7 Western blot 检测相关蛋白的表达** 取大鼠的结肠组织,加入 RIPA 裂解液冰上裂解 15 min,提取总蛋白,使用 BCA 法测定总蛋白浓度。提取的结肠组织蛋白经 SDS-PAGE 电泳后转印至硝酸纤维素膜上,用 5%脱脂牛奶室温封闭 1 h;分别加入一抗 HMGB1(1 : 1000)、RAGE(1 : 1000)、Claudin-1(1 : 2000)、ZO-1(1 : 1000)、Occludin(1 : 1000)和 GAPDH(1 : 1000),4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗涤;加入 HRP 标记的 IgG 二抗(1 : 2000),室温孵育 1 h,洗涤后使用增强化学发光(ECL)试剂盒对膜进行可视化,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行蛋白定量。

**2.8 统计学分析** 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1 RA 对大鼠 DAI 及 CMDI 评分的影响

大鼠 DAI 及 CMDI 评分如表 2。与对照组相比,UC 组大鼠 DAI 评分和 CMDI 评分均显著升高( $t_{DAI} = 28.100, t_{CMDI} = 29.798$ ,均  $P < 0.05$ );与 UC 组相比,RA 低、中、高剂量组 DAI 评分、CMDI 评分均显著下降( $t_{DAI} = 4.930, 11.388, 18.648, t_{CMDI} = 7.133, 12.524, 19.960$ ,均  $P < 0.05$ );与 RA 高剂量组相比,RA 高+rHMGB1 组 DAI 评分、CMDI 评分均显著升高( $t_{DAI} = 17.502, t_{CMDI} = 19.978$ ,均  $P < 0.05$ )。

### 2 RA 对大鼠结肠组织病理变化的影响

HE 染色观察对照组大鼠结肠组织结构清晰可见,腺体排列整齐,黏膜完整;UC 组结肠组织受损严重,黏膜消失,腺体结构分离,大量炎性细胞浸润;RA 各剂量组大鼠治疗后结肠组织、肠黏膜、腺体结构损伤程度得到改善,炎性细胞浸润减少;RA 高+rHMGB1 组大鼠结肠组织损伤相比于 RA 高剂量组加重,炎性细胞浸润增加(图 1)。与对照组相比,UC 组大鼠 HS 评分显著升高( $t = 27.398, P < 0.05$ );与 UC 组相比,

RA 低、中、高剂量组 HS 评分均显著下降 ( $t = 4.592, 10.268, 18.008$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 RA 高剂量组相比, RA 高+rHMGB1 组 HS 评分显著升高 ( $t = 16.457$ ,  $P < 0.05$ ) (表 3)。

表 2 各组大鼠 DAI 及 CDMI 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Comparison of DAI and CDMI scores in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 (n=10) Group	DAI 评分 DAI scores	CDMI 评分 CDMI scores
对照组	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
UC 组	10.13 ± 1.14 <sup>a</sup>	7.35 ± 0.78 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	7.95 ± 0.81 <sup>b</sup>	5.21 ± 0.54 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	5.54 ± 0.57 <sup>b</sup>	3.86 ± 0.41 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	3.08 ± 0.36 <sup>b</sup>	2.14 ± 0.27 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	8.24 ± 0.86 <sup>c</sup>	6.88 ± 0.70 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠 HS 评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 Comparison of HS scores in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 (n=10) Group	HS 评分 HS scores
对照组	0.00 ± 0.00
UC 组	10.83 ± 1.25 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	8.61 ± 0.88 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	6.27 ± 0.64 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	3.39 ± 0.38 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	9.25 ± 1.06 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

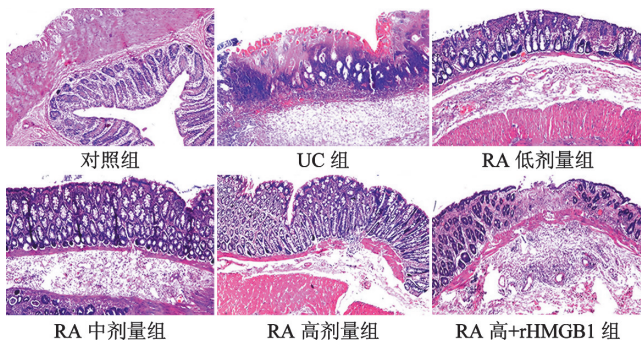


图 1 各组大鼠结肠组织病理变化 (HE 染色, 200×)  
Fig. 1 Pathological changes of colon tissue in each group of rats (HE staining, 200×)

### 3 RA 对大鼠 IL-6、IL-10、IL-1β 水平的影响

ELISA 检测大鼠 3 种血清细胞因子水平, 结果如表 4。与对照组相比, UC 组大鼠血清 IL-6、IL-1β 水平显著升高, IL-10 水平显著降低 ( $t_{IL-6} = 17.488, t_{IL-1\beta} = 14.757, t_{IL-10} = 18.695$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 UC 组相比, RA 低、中、高剂量组大鼠血清 IL-6、IL-1β 水平均显著降低, IL-10 水平均显著升高 ( $t_{IL-6} = 4.314, 9.482, 14.206, t_{IL-1\beta} = 4.416, 8.849, 13.310, t_{IL-10} = 9.600, 13.801, 17.910$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 RA 高剂量组相比, RA 高+rHMGB1 组大鼠血清 IL-6、IL-1β 水平均显

著升高, IL-10 水平显著降低 ( $t_{IL-6} = 11.435, t_{IL-1\beta} = 11.103, t_{IL-10} = 13.264$ , 均  $P < 0.05$ )。

表 4 各组大鼠血清 IL-6、IL-10、IL-1β 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, pg/mL$ )  
Table 4 Comparison of serum levels of IL-6, IL-10 and IL-1β in each group of rats ( $\bar{x} \pm s, pg/mL$ )

组别 (n=10) Group	IL-6	IL-10	IL-1β
对照组	93.72 ± 10.08	182.53 ± 18.64	73.92 ± 9.58
UC 组	252.74 ± 26.93 <sup>a</sup>	65.19 ± 6.82 <sup>a</sup>	162.47 ± 16.38 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	205.84 ± 21.37 <sup>b</sup>	105.36 ± 11.34 <sup>b</sup>	132.46 ± 13.91 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	158.43 ± 16.25 <sup>b</sup>	133.47 ± 14.08 <sup>b</sup>	106.83 ± 11.27 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	119.38 ± 12.49 <sup>b</sup>	169.35 ± 17.08 <sup>b</sup>	84.62 ± 8.59 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	213.58 ± 22.86 <sup>c</sup>	88.53 ± 8.92 <sup>c</sup>	145.83 ± 15.17 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

### 4 RA 对大鼠肠道菌群的影响

根据 qRT-PCR 检测结果计算的肠道菌群相对丰度见表 5。与对照组相比, UC 组大鼠拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌显著增多, 双歧杆菌、乳酸杆菌显著减少 ( $t_{拟杆菌} = 10.503, t_{大肠埃希菌} = 12.393, t_{肠球菌} = 7.935, t_{双歧杆菌} = 12.326, t_{乳酸杆菌} = 13.712$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 UC 组相比, RA 低、中、高剂量组拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌显著减少, 双歧杆菌、乳酸杆菌显著增多 ( $t_{拟杆菌} = 3.002, 5.237, 8.417, t_{大肠埃希菌} = 3.995, 7.809, 10.288, t_{肠球菌} = 3.251, 5.096, 7.443, t_{双歧杆菌} = 6.494, 8.084, 11.448, t_{乳酸杆菌} = 5.445, 8.949, 11.807$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 RA 高剂量组相比, RA 高+rHMGB1 组拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌显著增多, 双歧杆菌、乳酸杆菌显著减少 ( $t_{拟杆菌} = 7.955, t_{大肠埃希菌} = 9.597, t_{肠球菌} = 5.827, t_{双歧杆菌} = 7.679, t_{乳酸杆菌} = 9.878$ , 均  $P < 0.05$ )。

表 5 各组大鼠肠道菌群相对丰度比较 ( $\bar{x} \pm s, lgN/g$ )  
Table 5 Comparison of relative abundance of intestinal flora in each group of rats ( $\bar{x} \pm s, lgN/g$ )

组别 (n=10) Group	拟杆菌 Bacteroides	大肠埃希菌 E. coli	肠球菌 Enterococci	双歧杆菌 Bifidobacterium	乳酸杆菌 Lactobacillus
对照组	5.38 ± 0.57	4.16 ± 0.47	4.51 ± 0.58	7.95 ± 0.83	8.63 ± 0.82
UC 组	9.29 ± 1.03 <sup>a</sup>	7.83 ± 0.81 <sup>a</sup>	6.83 ± 0.72 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.45 <sup>a</sup>	4.51 ± 0.48 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	8.04 ± 0.82 <sup>b</sup>	6.51 ± 0.66 <sup>b</sup>	5.86 ± 0.61 <sup>b</sup>	5.86 ± 0.63 <sup>b</sup>	5.86 ± 0.62 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	7.18 ± 0.75 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.58 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.55 <sup>b</sup>	6.27 ± 0.64 <sup>b</sup>	7.03 ± 0.75 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	6.09 ± 0.62 <sup>b</sup>	4.75 ± 0.49 <sup>b</sup>	4.78 ± 0.49 <sup>b</sup>	7.53 ± 0.78 <sup>b</sup>	8.22 ± 0.87 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	8.86 ± 0.91 <sup>c</sup>	7.52 ± 0.77 <sup>c</sup>	6.28 ± 0.65 <sup>c</sup>	5.24 ± 0.53 <sup>c</sup>	5.07 ± 0.51 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。

### 5 RA 对大鼠 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白表达的影响

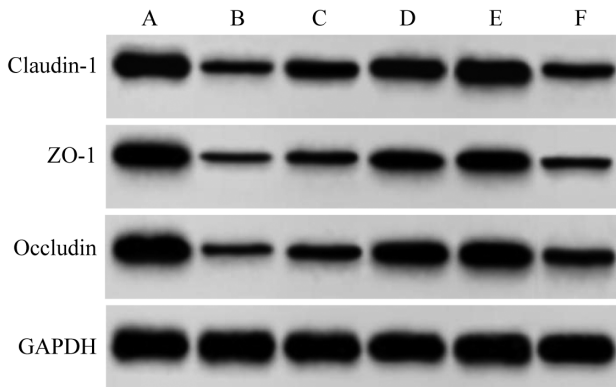
Western blot 检测大鼠 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白, 结果如图 2 和表 6。与对照组相比, UC 组大鼠 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白表达显著下降 ( $t_{Claudin-1} = 18.642, t_{ZO-1} = 19.688, t_{Occludin} = 17.365$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 UC 组相比, RA 低、中、高剂量组 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白表达显著升高 ( $t_{Claudin-1} =$

10.963, 16.263, 18.204,  $t_{ZO-1} = 8.135, 17.440, 19.667, t_{Occludin} = 13.016, 21.467, 19.969$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 RA 高剂量组相比, RA 高+rHMGB1 组 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白表达显著下降 ( $t_{Claudin-1} = 15.274, t_{ZO-1} = 17.017, t_{Occludin} = 15.441$ , 均  $P < 0.05$ )。

表 6 各组大鼠 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 6 Comparison of Claudin-1, ZO-1 and Occludin expression in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 (n=10) Group	Claudin-1	ZO-1	Occludin
对照组	1.02±0.11	0.91±0.10	1.13±0.15
UC 组	0.33±0.04 <sup>a</sup>	0.26±0.03 <sup>a</sup>	0.29±0.03 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	0.58±0.06 <sup>b</sup>	0.41±0.05 <sup>b</sup>	0.53±0.05 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	0.79±0.08 <sup>b</sup>	0.68±0.07 <sup>b</sup>	0.87±0.08 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	0.95±0.10 <sup>b</sup>	0.85±0.09 <sup>b</sup>	1.01±0.11 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	0.41±0.05 <sup>c</sup>	0.32±0.04 <sup>c</sup>	0.42±0.05 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。



A 对照组 B UC 组 C RA 低剂量组 D RA 中剂量组  
E RA 高剂量组 F RA 高+rHMGB1 组  
图 2 Western blot 检测大鼠 Claudin-1、ZO-1、Occludin 蛋白的表达  
A control group B UC group C RA low dose group D RA medium dose group E RA high dose group F RA high+rHMGB1 group

Fig. 2 The expression of Claudin-1, ZO-1 and Occludin in rats were detected by Western blot

## 6 RA 对大鼠 HMGB1/RAGE 信号通路蛋白表达的影响

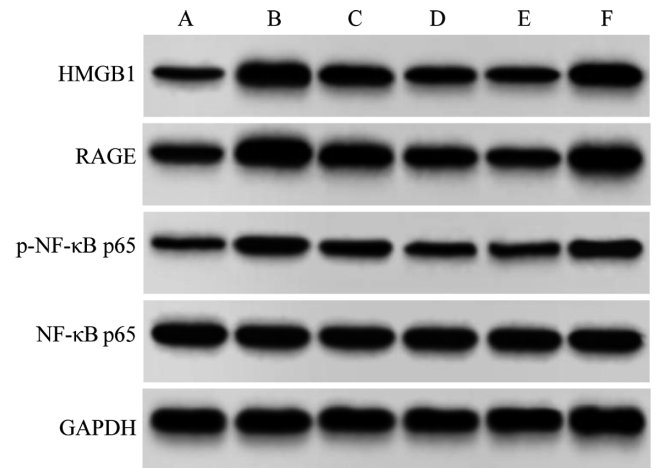
Western blot 检测大鼠 HMGB1/RAGE 信号通路蛋白表达情况, 结果如图 3 和表 7。与对照组相比, UC 组大鼠 HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达显著升高 ( $t_{HMGB1} = 17.561, t_{RAGE} = 13.493, t_{p-NF-\kappa B p65/NF-\kappa B p65} = 19.333$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 UC 组相比, RA 低、中、高剂量组 HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达显著下降 ( $t_{HMGB1} = 3.337, 9.216, 14.132, t_{RAGE} = 4.627, 7.827, 12.589, t_{p-NF-\kappa B p65/NF-\kappa B p65} = 6.379, 11.672, 16.375$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 RA 高剂量组相比, RA 高+rHMGB1 组 HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达

显著升高 ( $t_{HMGB1} = 11.879, t_{RAGE} = 10.304, t_{p-NF-\kappa B p65/NF-\kappa B p65} = 13.789$ , 均  $P < 0.05$ )。

表 7 各组大鼠 HMGB1/RAGE 信号通路蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 7 Comparison of HMGB1/RAGE signaling pathway protein expression in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 (n=10) Group	HMGB1	RAGE	P-NF- $\kappa$ B p65/ NF- $\kappa$ B p65
对照组	0.38±0.04	0.53±0.07	0.28±0.03
UC 组	1.03±0.11 <sup>a</sup>	1.16±0.13 <sup>a</sup>	0.86±0.09 <sup>a</sup>
RA 低剂量组	0.88±0.09 <sup>b</sup>	0.92±0.10 <sup>b</sup>	0.63±0.07 <sup>b</sup>
RA 中剂量组	0.65±0.07 <sup>b</sup>	0.78±0.08 <sup>b</sup>	0.48±0.05 <sup>b</sup>
RA 高剂量组	0.49±0.05 <sup>b</sup>	0.59±0.06 <sup>b</sup>	0.35±0.04 <sup>b</sup>
RA 高+rHMGB1 组	0.91±0.10 <sup>c</sup>	0.97±0.10 <sup>c</sup>	0.74±0.08 <sup>c</sup>

注: a 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 与 UC 组比较,  $P < 0.05$ ; c 与 RA 高剂量组比较,  $P < 0.05$ 。



A 对照组 B UC 组 C RA 低剂量组 D RA 中剂量组  
E RA 高剂量组 F RA 高+rHMGB1 组  
图 3 Western blot 检测大鼠 HMGB1/RAGE 信号通路蛋白的表达  
A control group B UC group C RA low dose group D RA medium dose group E RA high dose group F RA high+rHMGB1 group

Fig. 3 The expression of HMGB1/RAGE signaling pathway protein in rats were detected by Western blot

## 讨论

UC 是一种以局部组织损伤、肠道菌群失调、结肠炎症为特征的慢性炎症性肠病, 给患者的身心健康产生严重的负面影响, 还可能增大患结肠直肠癌的风险<sup>[1]</sup>。因此, 需要研发更安全有效的 UC 治疗方法。UC 的病理特征主要包括黏膜充血、水肿、炎性细胞浸润、溃疡等。本研究采用 TNBS 联合乙醇诱导建立 UC 大鼠模型, 其临床表型与 UC 患者的临床表型高度相似, 表现为 DAI、CDMI 评分增加, 结肠组织受损严重, 黏膜消失, 腺体结构分离, 结肠溃疡和大量炎性细胞浸润等, 与文献[11]的研究结果相一致, 表明 TNBS 成功诱导大鼠 UC 的发生。RA 的抗炎作用在多种炎症性疾病中(包括 UC)得到证实, 已有研究表明 RA 能通过调节 NLRP3 炎症小体在急性结肠炎中发挥抗炎作

用<sup>[12]</sup>。本研究中,UC大鼠用不同剂量RA治疗后DAI评分、CDMI评分均降低,结肠组织、肠黏膜、腺体结构损伤程度得到改善,炎性细胞浸润减少,表明RA对TNBS诱导的结肠组织损伤有改善作用。

UC的病理机制尚不清楚,炎症反应在其发展中起关键作用,主要表现为促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的不平衡。IL-6、IL-1 $\beta$ 等促炎细胞因子的分泌增强炎症反应,导致肠黏膜损伤加重。IL-10表现出抗炎特性,被认为是有助于控制UC持续时间和严重程度的关键调节因子<sup>[13]</sup>。肠道炎症经常伴随着肠道菌群失衡,肠道菌群失调导致炎症因子的释放,破坏肠道屏障,进一步加重肠道炎症。拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌在人体肠道中属于条件致病菌,其水平升高可损害粘膜屏障的完整性,导致肠道炎症和免疫失调;而双歧杆菌、乳酸杆菌属于肠道益生菌,可使小鼠肠道黏膜炎得到改善,恢复肠道菌群平衡,提高机体的免疫力<sup>[14]</sup>。已有研究表明,通过调节肠道菌群的组成,增加益生菌,可显著改善UC大鼠的肠道炎症<sup>[15]</sup>。肠屏障损伤是UC发展的另一个关键触发因素。肠上皮屏障由单层上皮细胞组成,细胞间的紧密连接由Claudin-1、Occludin和ZO-1蛋白组成,稳定肠道屏障,在UC中已发现Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达异常,导致肠道通透性增加<sup>[16]</sup>。本研究中UC组大鼠血清IL-6、IL-1 $\beta$ 水平以及拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量显著升高,IL-10水平、双歧杆菌和乳酸杆菌数量以及Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达显著降低,表明UC大鼠肠粘膜屏障功能破坏,细胞间通透性增加,导致肠粘膜损伤,菌群失调,炎症介质的释放和细胞因子表达增加。

RA能够通过调节肠道菌群增加核心益生菌数量,抑制炎症小体的激活,恢复结肠炎小鼠的结肠黏液分泌<sup>[4]</sup>。李润林等<sup>[17]</sup>报道,RA单独或与百里香酚一起使用均能改善肠道炎症反应和肠屏障损伤,调节肠道菌群平衡,改善肠道健康。本研究结果表明RA能显著降低UC大鼠血清IL-6、IL-1 $\beta$ 水平和拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量,提高IL-10水平及双歧杆菌和乳酸杆菌数量,并使Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达增高,表明RA可能通过调节肠道菌群平衡和改善肠道炎症减轻UC大鼠肠道损伤。

HMGB1具有促炎活性,在多种炎症性疾病的进展中发挥重要作用。Vitali等<sup>[18]</sup>报道,HMGB1的分泌能促进小鼠和人肠道类器官的肠道炎症,促进肠道炎症的发展。HMGB1可作为多功能跨膜蛋白与RAGE受体结合,诱导炎症介质的分泌,调节炎症、再生和自噬的发生。此外,刺激RAGE可激活NF- $\kappa$ B p65通路。p65是NF- $\kappa$ B家族的重要成员,其激活导

致多种炎症因子的释放,是UC的病理生理机制之一<sup>[19]</sup>。Zuo等<sup>[20]</sup>的研究表明,木犀草素对结肠炎小鼠的改善作用可能与其降低HMGB1、NF- $\kappa$ B p65蛋白表达有关。通过抑制HMGB1/RAGE/NF- $\kappa$ B信号级联可抑制结肠IL-6、TNF- $\alpha$ 和髓过氧化物酶的表达并上调IL-10以抑制炎症性肠病大鼠结肠炎症<sup>[21]</sup>。因此,对大鼠UC的改善可通过抑制HMGB1/RAGE信号轴来实现。本研究中UC组大鼠HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65蛋白表达显著升高,而RA治疗后HMGB1、RAGE、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65蛋白表达显著降低,表明RA可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路激活改善UC大鼠的肠道屏障损伤和菌群失调,而rHMGB1可逆转RA对UC大鼠肠道炎症、菌群失调和肠屏障损伤的改善,因此RA可能抑制HMGB1/RAGE信号通路的激活。

综上所述,RA能减少UC大鼠炎症反应,改善肠屏障损伤及肠道菌群失调,其作用机制可能与抑制HMGB1/RAGE信号通路有关,但关于RA改善UC的其他机制还需进一步研究。

#### 【参考文献】

- [1] Segal JP, LeBlanc JF, Hart AL. Ulcerative colitis: an update[J]. Clin Med (Lond), 2021, 21(2): 135-139.
- [2] Cui L, Guan X, Ding W, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi polysaccharide ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and modulating gut microbiota[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 166(1): 1035-1045.
- [3] Cheng H, Liu J, Zhang D, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates acute ulcerative colitis by modulating gut microbiota and microbial tryptophan metabolism[J]. Front Immunol, 2022, 13(1): 1-14.
- [4] Wang Q, Xu K, Cai X, et al. Rosmarinic acid restores colonic mucus secretion in colitis mice by regulating gut microbiota-derived metabolites and the activation of inflammasomes[J]. J Agric Food Chem, 2023, 71(11): 4571-4585.
- [5] Singh H, Agrawal DK. Therapeutic potential of targeting the HMGB1/RAGE axis in inflammatory diseases[J]. Molecules, 2022, 27(21): 7311.
- [6] Arab HH, Al-Shorbagy MY, Saad MA. Activation of autophagy and suppression of apoptosis by dapagliflozin attenuates experimental inflammatory bowel disease in rats: Targeting AMPK/mTOR, HMGB1/RAGE and Nrf2/HO-1 pathways[J]. Chem Biol Interact, 2021, 335(1): 1-10.
- [7] 葛柳青, 周峰, 王晓兵, 等. 金银花提取液通过调控NLRP3/ASC/caspase-信号通路对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(22): 2723-2728.
- [8] Jin BR, Chung KS, Cheon SY, et al. Rosmarinic acid suppresses colonic inflammation in dextran sulphate sodium (DSS)-induced mice via dual inhibition of NF- $\kappa$ B and STAT3 activation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1-11.
- [9] Zhai Y, Zhu Y, Liu J, et al. Dexmedetomidine post-conditioning alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inhibiting

- high mobility group protein B1 group (HMGB1)/toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway [J]. *Med Sci Monit*,2020,26:e918617.
- [10] Kihara N,de la Fuente SG,Fujino K,et al. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats[J]. *Gut*,2003,52(5):713-719.
- [11] Zhang XY,Zhao HM,Liu Y,et al. Sishen Pill maintained colonic mucosal barrier integrity to treat ulcerative colitis via Rho/ROCK signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2021,21(1):1-12.
- [12] Marinho S,Illanes M,Avila-Rom n J,et al. Anti-Inflammatory effects of rosmarinic acid-loaded nanovesicles in acute colitis through modulation of NLRP3 inflammasome [J]. *Biomolecules*,2021,11(2):162-178.
- [13] Liu M,Wang Y,Guan G,et al. Dietary supplementation of ancientino ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis by improving intestinal barrier function and reducing inflammation and oxidative stress[J]. *Nutrients*,2023,15(12):2798-2817.
- [14] 伍建中,李修琴,莫双铭,等. 复方蒲螵提取物对溃疡性结肠炎大鼠菌群的干预作用[J]. *中国兽医杂志*,2023,59(2):126-133.
- [15] Liu Y,Zhou M, Yang M,et al. Pulsatilla chinensis saponins ameliorate inflammation and dss-induced ulcerative colitis in rats by regulating the composition and diversity of intestinal flora [J]. *Front Cell Infect Microbiol*,2021,11(1):1-11.
- [16] Cheng S,Li H,Huang Y,et al. Lactobacillus gasseri jm1 isolated from infant feces alleviates colitis in mice via protecting the intestinal barrier[J]. *Nutrients*,2022,15(1):139-156.
- [17] 李润林,赵道远,李盼盼,等. 百里香酚与迷迭香酸组合对脂多糖攻毒大鼠生长性能、炎症反应和肠道健康的影响[J]. *动物营养学报*,2022,34(3):2009-2022.
- [18] Vitali R,Mancuso AB,Palone F,et al. PARP1 activation induces HMGB1 secretion promoting intestinal inflammation in mice and human intestinal organoids[J]. *Int J Mol Sci*,2023,24(8):7096-7105.
- [19] Lin L,Li J,Song Q,et al. The role of HMGB1/RAGE/TLR4 signaling pathways in cigarette smoke-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Immun Inflamm Dis*,2022,10(11):e711-e726.
- [20] Zuo T,Yue Y,Wang X,et al. Luteolin relieved DSS-Induced colitis in mice via HMGB1-TLR-NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Inflammation*,2021,44(2):570-579.
- [21] Arab HH,Eid AH,Mahmoud AM,et al. Linagliptin mitigates experimental inflammatory bowel disease in rats by targeting inflammatory and redox signaling[J]. *Life Sci*,2021,273(1):1-14.

【收稿日期】 2023-07-14 【修回日期】 2023-09-25

(上接 1256 页)

- [20] Steinstraesser L, Tippler B, Mertens J, et al. Inhibition of early steps in the lentiviral replication cycle by cathelicidin host defense peptides[J]. *Retrovirology*,2005,2:2.
- [21] Bergman P,Walter-Jallow L,Broliden K,et al. The antimicrobial peptide LL-37 inhibits HIV-1 replication[J]. *Curr HIV Res*,2007,5(4):410-415.
- [22] Tripathi S,Teclé T,Verma A,et al. The human cathelicidin LL-37 inhibits influenza A viruses through a mechanism distinct from that of surfactant protein D or defensins[J]. *J Gen Virol*,2013,94(Pt 1):40-49.
- [23] Currie SM,Findlay EG,McHugh BJ,et al. The human cathelicidin LL-37 has antiviral activity against respiratory syncytial virus [J]. *PLoS One*,2013,8(8):e73659.
- [24] Currie SM,Gwyer Findlay E,McFarlane AJ,et al. Cathelicidins have direct antiviral activity against respiratory syncytial virus *in vitro* and protective function *in vivo* in mice and humans[J]. *J Immunol*,2016,196(6):2699-710.
- [25] Sousa FH,Casanova V,Findlay F,et al. Cathelicidins display conserved direct antiviral activity towards rhinovirus[J]. *Peptides*,2017,95:76-83.
- [26] Jones RN. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years[J]. *Chest*,2001,119(2 Suppl):397S-404S.
- [27] Sun Y,Shang D. Inhibitory Effects of Antimicrobial Peptides on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation [J]. *Mediators Inflamm*,2015,2015:167572.
- [28] Tjabringa GS,Aarbiou J,Ninaber DK,et al. The antimicrobial peptide LL-37 activates innate immunity at the airway epithelial surface by transactivation of the epidermal growth factor receptor [J]. *J Immunol*,2003,171(12):6690-6696.
- [29] Davidson DJ,Currie AJ,Reid GS,et al. The cationic antimicrobial peptide LL-37 modulates dendritic cell differentiation and dendritic cell-induced T cell polarization[J]. *J Immunol*,2004,172(2):1146-1156.
- [30] van der Does AM,Beekhuizen H,Ravensbergen B,et al. LL-37 directs macrophage differentiation toward macrophages with a proinflammatory signature[J]. *J Immunol*,2010,185(3):1442-1449.
- [31] Yu J,Mookherjee N,Wee K,et al. Host defense peptide LL-37, in synergy with inflammatory mediator IL-1 $\beta$ , augments immune responses by multiple pathways[J]. *J Immunol*,2007,179(11):7684-7691.
- [32] Di Nardo A,Braff MH,Taylor KR,et al. Cathelicidin antimicrobial peptides block dendritic cell TLR4 activation and allergic contact sensitization[J]. *J Immunol*,2007,178(3):1829-1834.
- [33] Chen X,Takai T,Xie Y,et al. Human antimicrobial peptide LL-37 modulates proinflammatory responses induced by cytokine milieu and double-stranded RNA in human keratinocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2013,433(4):532-537.
- [34] Brown KL,Poon GF,Birkenhead D,et al. Host defense peptide LL-37 selectively reduces proinflammatory macrophage responses [J]. *J Immunol*,2011,186(9):5497-505.
- [35] Di Nardo A,Braff MH,Taylor KR,et al. Cathelicidin antimicrobial peptides block dendritic cell TLR4 activation and allergic contact sensitization[J]. *J Immunol*,2007,178(3):1829-1834.

【收稿日期】 2023-05-09 【修回日期】 2023-08-01