

乌司他丁对溃疡性结肠炎大鼠结肠炎症及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响

赵承满¹, 孟立娜², 陈锦龙¹, 陈方明³ (1.浙江萧山医院消化内科, 杭州 311200; 2.浙江中医药大学附属第一医院消化内科, 杭州 310006; 3.浙江中医药大学动物实验研究中心, 杭州 310053)

摘要: 目的 观察乌司他丁对溃疡性结肠炎的作用, 以及对 Toll 样受体 4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路的干预作用, 以探讨其可能的作用机制。方法 采用三硝基苯磺酸灌肠法制备溃疡性结肠炎大鼠模型。SD 大鼠 80 只随机分成空白组、模型组、乌司他丁组(乌司他丁 50 000 U·kg⁻¹·d⁻¹腹腔注射)、激素组(泼尼松片 6 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃给药), 每组 20 只。造模 7 d 后处死, 检测各组大鼠结肠黏膜大体评分(CMDI 评分)和病理组织学评分变化; ELISA 法检测各组大鼠血清 TNF- α 水平; 免疫组化法观察大鼠结肠组织 TLR4 及 NF- κ B 蛋白的表达。结果 模型组大鼠结肠大体形态损伤及病理组织学评分均高于空白组(P 均<0.01), 大鼠造模成功; 与模型组比较, 乌司他丁组 CMDI 评分及病理组织学评分均减低(P 均<0.05), 与激素组比较, 乌司他丁组 CMDI 评分及病理组织学评分则无差异。模型组大鼠的血清 TNF- α 与空白组比较, 水平明显上升(P <0.01); 而乌司他丁组与模型组比较, 大鼠血清 TNF- α 水平则明显下降(P <0.05), 乌司他丁组与激素组比较则无明显差别。与空白组比较, 模型组大鼠肠黏膜中 TLR4、NF- κ B 均呈明显高表达(P <0.01), 乌司他丁组 TLR4、NF- κ B 表达较模型组则明显下降(P 均<0.05), 而乌司他丁组中 NF- κ B 的表达则又低于激素组(P <0.05), TLR4 的表达则与激素组无明显差异。结论 乌司他丁能减轻溃疡性结肠炎大鼠肠道炎症反应, 具有治疗作用; 其机制可能与通过下调 TLR4 及 NF- κ B 的表达, 减少炎症因子 TNF- α 的释放有关。

关键词: 乌司他丁; 溃疡性; 结肠炎; Toll 样受体; NF- κ B

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2017)03-0347-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.03.010

Effect of Ulinastatin upon Inflammation and TLR4/NF- κ B Signaling Pathway in Ulcerative Colitis Rats Model

ZHAO Chengman¹, MENG Lina², CHEN Jinlong¹, CHEN Fangming³ (1.Department of Gastroenterology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou 311200, China; 2.Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 3.Department of Laboratory Animal Research Center, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effect of ulinastatin on ulcerative colitis (UC), and its intervention effect on toll-like receptor 4 (TLR4)/NF-kappa B (NF- κ B) signaling pathway, thus to investigate its possible mechanism. **METHODS** Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)/ethanol enema method was used to set up the UC rat model. Eighty male Wistar rats were randomly divided into blank group; model group, ulinastatin group(received ulinastatin 50 000 U·kg⁻¹·d⁻¹ by intraperitoneal injections), corticosteroid group(prednisone tablets 6 mg·kg⁻¹·d⁻¹ intragastric administration), with 20 rates in each group. All the rats were sacrificed one week after modeling, the gross score of colonic mucosa (CMDI score) and histological grading of each group were observed. The serum levels of TNF- α were determined by ELISA. Expression of TLR4 and NF- κ B in colon mucosa were further detected by immuno-histochemistry. **RESULTS** The colon gross morphological damage, and the histological score of the model group rats were significantly higher than those of the blank group (all P <0.01), indicated successful establishment of UC model. Compared with the model group, the CMDI score and pathological score in ulinastatin group were decreased(all P <0.05). There were no differences of the CMDI score and pathological score between the corticosteroid group and ulinastatin group. The levels of serum TNF- α in model group rats were significantly higher than those of the blank group rats(P <0.01). Compared with the model group, the serum levels of TNF- α in ulinastatin group were significantly decreased(P <0.05), which were no significant differences between the corticosteroid group and the ulinastatin group. Compared with the blank group, the expression of NF- κ B and TLR4 in model group significantly enhanced (P <0.01), which in ulinastatin group were lower than the model group (all P <0.05). The expression of NF- κ B in ulinastatin group was lower than the corticosteroid group (P <0.05), and the expression of TLR4 had no significant difference with corticosteroid group. **CONCLUSION** Ulinastatin can alleviate ulcerative colitis rat intestinal inflammatory reaction, showing a therapeutic effect

基金项目: 杭州市科委重点专科专病科研攻关基金项目(20140633B53)

作者简介: 赵承满, 男, 硕士, 主治医师

Tel: (0571)83867092

E-mail: zhao.chengman@163.com

for UC. The mechanism may be related with inhibiting the expression of TLR4 and NF- κ B, and reducing inflammation factor of TNF- α release.

KEY WORDS: ulinastatin; ulcerative; colitis; Toll-Like Receptor 4; NF- κ B

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性、反复发作的非特异性肠道炎症性疾病,近年来,发病率有明显上升趋势,临床出现难治愈、易复发的特点,并且可进展为结肠癌,已经成为国内外研究的热点。目前溃疡性结肠炎病因和发病机制尚未完全阐明,认为是免疫、遗传、环境等多方面的因素共同作用的结果,但多认为免疫调节异常是其发病的重要环节,大量炎症介质产生,介导和扩大了炎症反应^[1-2]。Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)是近年来发现的天然免疫识别受体(pattern recognition receptors, PRR)之一,在基因水平上调控着众多炎症因子的转录,而TLR4/NF- κ B介导的信号转导通路在炎症性疾病的发生发展中起着重要作用。乌司他丁是从人尿液中分离纯化的蛋白酶抑制剂,被认为可以抑制多种炎症介质释放,阻断细胞因子、炎症介质与白细胞之间的恶性循环,在治疗急性胰腺炎、急性肺损伤、抗休克、抗手术应激等方面已有不少应用,但对UC的治疗却鲜有报道。本研究通过应用三硝基苯磺酸(TNBS)诱导建立溃疡性结肠炎动物模型,给予乌司他丁对其进行干预,观察乌司他丁对TLR4/NF- κ B炎症通路的调控及对溃疡性结肠炎的保护作用,为溃疡性结肠炎的治疗提供新的治疗途径。

1 动物与试剂

健康清洁级SD大鼠80只,♂,体质量(200~240)g,由浙江中医药大学动物中心提供,动物合格证号:SCXK(沪)2013-0016,按清洁大鼠的要求饲养,自由进食。

三硝基苯磺酸(TNBS, Sigma公司,批号:P2297-10ML),乌司他丁(广东天普生化医药股份有限公司,批号:031601104);泼尼松片(湖北制药有限公司,批号:160607)。兔抗鼠TLR4及NF- κ B一抗均购自ABCAM公司;小鼠抗兔IgG EnVision二抗购自丹麦DAKO公司, TNF- α ELISA试剂购自xlpcc公司。

2 方法

2.1 动物分组和模型建立

80只SD大鼠随机分为空白组、模型组、乌司他丁组、激素组4组,每组20只。

采用TNBS灌肠法制备溃疡性结肠炎模型。大鼠适应性饲养7d,禁食不禁水24h,造模当天用2%戊巴比妥钠[0.2 mL·(100 g)⁻¹]腹腔注射麻醉后置于仰卧位,四肢固定于鼠台上,将直径约2 mm的硅胶管(外涂石蜡油)插入大鼠肛门至结肠约8 cm处,除空白组外,各组大鼠均快速注入0.65 mL TNBS/50%乙醇混合溶液(含TNBS溶液100 mg·kg⁻¹),空白组则灌入0.9%氯化钠溶液0.65 mL,随即各组大鼠均快速注入后捏紧肛门,提取大鼠尾巴数分钟,以防注入液倒流。清醒后自由饮食,常规饲养。造模后第2天开始,乌司他丁治疗组大鼠给予乌司他丁注射液50 000 U·kg⁻¹·d⁻¹腹腔注射;激素治疗组大鼠给予泼尼松片6 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃给药,连续给药7d,而空白组和模型组则不处理。

2.2 结肠黏膜大体评分和病理组织学评分

药物连续治疗的第8天将禁食24 h的大鼠以3%戊巴比妥钠[0.3 mL·(100g)⁻¹]麻醉,腹主动脉取血后处死。取血2 mL,4℃、3 000 r·min⁻¹离心10 min,分离血清,-20℃保存。解剖大鼠沿矢状线正中切开,留取肛门至回盲部的结肠标本8 cm,沿肠系膜纵行切开,以冷0.9%氯化钠溶液冲洗掉肠内容物,肉眼观察黏膜。根据Dong等^[3]分级标准对结肠的大体形态损伤指数(CMDI)进行评分。评分标准按表1进行评分。CMDI评分=溃疡形成及炎症分数+黏连分数。

表1 CMDI评分表

Tab. 1 CMDI score table

溃疡形成及炎症	黏连	分数
无损伤	无	0
局部充血无溃疡	轻度(结肠与其他组织剥离较易)	1
1处溃疡不伴炎症	重度	2
1处溃疡伴炎症		3
≥2处溃疡伴炎症		4
>2处溃疡和/或炎症>1 cm		5

取结肠病变最明显部位长度1 cm进行甲醛固定,包埋,连续切片后行病理HE染色。根据损伤指数(tissue damage index, TDI)^[4]进行评分。评分标准按表2进行评分。TDI评分=炎症分数+溃疡深度分数+肠壁增厚分数+隐窝破坏情况分数。

表 2 TDI 评分表

Tab. 2 TDI score table

炎症	溃疡深度	肠壁增厚	隐窝破坏	分数
无	无	无	无	0
少量淋巴细胞浸润($\leq 10\%$)	黏膜下层	未透过黏膜层	基底 1/3 隐窝破坏	1
中量淋巴细胞浸润($10\% \sim 25\%$)	肌层	透过黏膜层	基底 2/3 隐窝破坏	2
明显淋巴细胞浸润($25\% \sim 50\%$)	浆膜层	肠壁全层增厚	仅完整表面上皮	3
大量淋巴细胞浸润($\geq 50\%$)			全部隐窝或上皮被破坏	4

2.3 血清 TNF- α 水平测定

处死大鼠后应用 ELISA 法检测各组大鼠血清 TNF- α 水平, 具体方法按照试剂盒说明书进行。

2.4 TLR4 和 NF- κ B 免疫组化检测

采用二步法测定 TLR4 和 NF- κ B 蛋白表达水平。一抗工作浓度为 1:50, 按照免疫组化说明书严格操作。显微镜观察染色情况: 细胞浆或(和)细胞核染为棕黄色为阳性细胞。采用 Carl Zeiss Imaging Systems 图象分析软件对每张切片任意取 3 个高倍视野, 测定阳性细胞积分光密度 IOD 值。

2.5 统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计软件分析, 计量资料结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行单因素方差分析, 2 组间比较方差齐时采用组间 LSD 检验, 方差不齐时采用 Tamhane' T2 检验; $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况及大体形态损伤评分

模型组大鼠死亡 4 只, 其中 1 只死于操作后肠穿孔, 其余均死于中毒性巨结肠, 乌司他丁组及激素组各死亡 2 只, 均死于中毒性巨结肠, 而空白组则无大鼠死亡。

造模后第 2 天开始, 造模组大鼠出现少动, 进食减少, 皮毛无光泽, 大便变稀, 大便次数增多, 并逐渐出现肛周皮毛被粪便污染, 解鲜血便, 体质量减轻等。第 8 天解剖后发现肠黏膜充血水肿和糜烂, 点片状出血, 有溃疡形成, 部分大鼠肠壁增厚, 甚至穿孔, 结肠与周围组织黏连, 乌司他丁组和激素组上述症状则较造模组明显减轻, 乌司他丁组 CMDI 评分与造模组比较有统计学差异($P < 0.05$), 与激素组比较则无明显差异。空白组大鼠反应灵敏, 饮食活动正常, 毛发有光泽, 无腹泻、便血, CMDI 评分与各组比较均有统计学差异($P < 0.01$), 结果见表 3。

3.2 组织病理学变化

空白组大鼠结肠结构清晰, 腺体排列规则, 黏膜上皮完整、连续, 固有层少量淋巴细胞浸润。

模型组肠黏膜、黏膜下见大量炎性细胞浸润, 溃疡形成, 有的溃疡深度达肌层, 黏膜下层出血、水肿溃疡, 边缘腺体增生较重, 结构紊乱, 隐窝破坏或消失。乌司他丁组黏膜、黏膜下层炎性细胞浸润明显减少, 黏膜充血、水肿明显减轻, 溃疡减少或消失, 与模型组比较, 两者病理组织学评分比较有统计学差异($P < 0.05$), 与激素组比较则无明显差别。结果见图 1, 表 3。

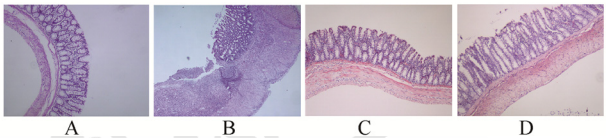


图 1 各组大鼠结肠组织病理学变化(20 $\times$)

A-空白组; B-模型组; C-乌司他丁组; D-激素组。

Fig. 1 Pathological change of colon tissue in rats(20 $\times$)

A-blank group; B-model group; C-ulcinastatin group; D-corticosteriod group.

表 3 各组大鼠结肠 CDMI、病理组织学评分($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The score of CDMI and colonic histopathological score in rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	结肠损伤指数 CDMI	病理组织学评分 TDI
空白组	20	0.55 $\pm$ 0.69	1.30 $\pm$ 1.34
模型组	16	5.25 $\pm$ 1.84 ¹⁾	11.38 $\pm$ 3.00 ¹⁾
乌司他丁组	18	3.33 $\pm$ 1.72 ¹⁾²⁾	5.17 $\pm$ 2.98 ¹⁾²⁾
激素组	18	3.17 $\pm$ 1.62 ¹⁾²⁾	4.94 $\pm$ 3.37 ¹⁾²⁾

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.05$.

3.3 血清 TNF- α 水平测定

与空白组比较, 模型组大鼠的血清 TNF- α 水平明显上升($P < 0.01$), 而与模型组比较, 乌司他丁组大鼠血清 TNF- α 水平则明显下降($P < 0.05$), 与激素组比较则无明显差别, 结果见表 4。

3.4 免疫组化法结肠组织 TLR4、NF- κ B 表达水平的测定比较

空白组中, TLR4、NF- κ B 均弱表达或无表达。与空白组比较, 模型组大鼠肠黏膜中 TLR4、NF- κ B 均呈现明显高表达($P < 0.01$), 主要位于黏膜层及黏

膜下层,尤其是黏膜上皮层及固有层为多,表现为细胞浆或(和)细胞核染为棕黄色为阳性细胞。与模型组比较,乌司他丁组与激素组的阳性细胞表达则都明显下降($P<0.05$),而乌司他丁组中 NF- κ B 的表达则又低于激素组($P<0.05$),TLR4 的表达则与激素组无统计学差异,见图 2~3,表 4。

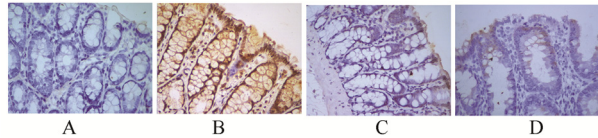


图 2 大鼠结肠组织 TLR4 蛋白的表达(40 $\times$)

A-空白组; B-模型组; C-乌司他丁组; D-激素组。

Fig. 2 Expression of TLR4 in colon mucosa in rats(40 $\times$)

A-blank group, B-model group, C-ulinastatin group, D-corticosteroid group.

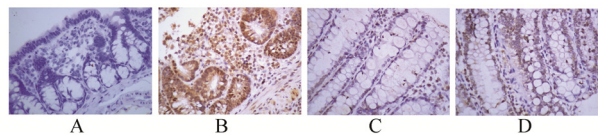


图 3 大鼠结肠组织 NF- κ B 蛋白的表达(40 $\times$)

A-空白组; B-模型组; C-乌司他丁组; D-激素组。

Fig. 3 Expression of NF- κ B in colon mucosa in rats(40 $\times$)

A-blank group, B-model group, C-ulinastatin group, D-corticosteroid group.

表 4 各组大鼠血清 TNF- α 及 TLR4(积分光密度 IOD 值)、NF- κ B(积分光密度 IOD 值)表达水平($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The serum levels of TNF- α and expression levels of TLR4 and NF- κ B integrated optical density(IOD) value in rats($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α /ng·L ⁻¹	TLR-4(积分光密度 IOD 值)	NF- κ B(积分光密度 IOD 值)
空白组	20	151.66 $\pm$ 58.71	81.60 $\pm$ 19.18	171.89 $\pm$ 48.54
模型组	16	246.25 $\pm$ 24.40 ¹⁾	554.05 $\pm$ 148.41 ¹⁾	1 080.50 $\pm$ 342.02 ¹⁾
乌司他丁组	18	177.93 $\pm$ 39.90 ²⁾	252.51 $\pm$ 58.38 ²⁾	308.49 $\pm$ 83.60 ²⁾³⁾
激素组	18	183.80 $\pm$ 29.53 ²⁾	229.87 $\pm$ 44.31 ²⁾	429.20 $\pm$ 79.84 ²⁾

注:与空白组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$;与激素组比较,³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with corticosteroid group, ³⁾ $P<0.05$.

4 讨论

TNBS 作为半抗原与肠道组织蛋白结合后可诱发免疫反应,导致结肠炎的发生,与人类 UC 症状相似,是目前筛选新药常用的动物模型^[5]。本研究中模型组大鼠也观察到结肠黏膜、黏膜下见大量炎性细胞浸润,并有溃疡形成,证实造模成功。

乌司他丁能有效、广谱地抑制多种蛋白酶,还可清除氧自由基及抑制 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8 等炎症介质释放,预防细胞因子级联反应,阻断

细胞因子、炎症介质与白细胞之间的恶性循环,保护机体重要脏器的功能^[6-7]。黄日红等^[8]的实验结果表明,乌司他丁可下调脓毒血症大鼠肺组织的 TLR4、NF- κ B、TNF- α 蛋白的表达,抑制 TLR4/NF- κ B 信号途径转导,减轻脓毒血症大鼠的肺组织损伤。解立俊等^[9]观察了乌司他丁对肠源性脓毒血症大鼠血浆细胞因子的影响。结果表明,乌司他丁可通过抑制细胞因子 IL-6, TNF- α 生成以及促进 IL-10 生成,减轻系统炎症和预防机体微血管收缩,促进循环功能恢复,减轻肠黏膜缺血缺氧等机制,对肠黏膜屏障起一定的保护作用。Liu Y 等^[10]观察了乌司他丁对严重脓毒血症患者外周血单核细胞 TLR4 表达的影响,从而进一步了解 UTI 抑制炎症反应的作用机制,认为乌司他丁可有效抑制单核细胞表面 TLR4 的表达,抑制炎症因子释放,对严重脓毒血症患者有一定的保护作用。本研究给 UC 模型大鼠应用乌司他丁注射液进行干预,与模型组比较,乌司他丁组大鼠 CMDI 评分则明显低于造模组,而与激素组比较则无明显差异。显微镜下观察病理组织学发现:与模型组比较,乌司他丁组大鼠肠黏膜充血、水肿明显减轻,溃疡减少或消失,与激素组比较则无明显差别,从大体标本及病理组织学看,乌司他丁注射液对溃疡性结肠炎大鼠具有保护作用。

乌司他丁对炎症介质具有明确的抑制作用,而对溃疡性结肠炎大鼠的保护作用是否也是通过抑制炎症介质实现?通过笔者对 TLR4/NF- κ B 这一重要的炎症信号通路的研究发现,TLR4 可非特异性地识别病原相关分子模式(PAMPS)并与之结合,将此刺激信号转导入细胞内,通过 MyD88 依赖性信号转导路径及 MyD88 非依赖性信号转导路径,引起下游核转录因子 NF- κ B 的活化,诱导 NF- κ B 信号通路过程中的促炎症因子反应,并最终引起以 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8 等为中心的促炎症因子激活,多种炎症因子的“瀑链式”释放,导致机体失控的过度炎症反应,产生众多生物学损伤效应^[11-12]。越来越多的研究显示 TLR4/NF- κ B 介导的信号转导通路在炎症性疾病的发生发展中起着重要作用。目前有多项研究表明^[13-15],TLR4 在正常的结肠黏膜中呈低表达,而在 UC 的结肠黏膜中则呈异常的高表达。Lee 等^[16]用乳酸菌 HY7801 阻断 TLR-4,发现 NF- κ B 的激活作用明显减弱,从而可降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的表达,

并可抑制结肠缩短及髓过氧化酶的活性,明显减轻了 TNBS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎症状。NF- κ B 是细胞中一个重要的转录因子,是普遍存在于细胞质中的快反应转录因子,位于 Toll 样受体下游信号通路的枢纽位置,参与免疫反应、淋巴细胞分化和生长调控等多种生物进程,其激活可以调节多种炎症因子和免疫基因的表达。多种炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8)和黏附分子(ICAM-1、VCAM-1、E 选择素)的基因启动部位均含有 κ B 位点,因此 NF- κ B 被认为是炎症反应的关键启动因素,在细胞因子诱导的基因表达中起关键性的调控作用^[17]。有研究^[18]发现,在溃疡性结肠炎患者肠道黏膜巨噬细胞及上皮细胞中有大量被激活的 NF- κ B,它可以调节与溃疡性结肠炎发生发展相关的促炎性细胞因子,如 TNF- α 、IL-1、IL-6 及 IL-12 的产生和释放,加重肠道的炎症反应。而钟继红等^[19]的实验表明,通过抑制 TLR4/NF- κ B 介导的信号传导通路能显著抑制 DSS 诱导的小鼠结肠急性炎症反应。

上述研究结果均表明 TLR4 及其介导的信号通路是 UC 发病过程中的重要环节之一。本研究结果发现 NF- κ B 及 TLR4 主要位于黏膜层及黏膜下层,表现为细胞浆或(和)细胞核染为棕黄色为阳性细胞,在模型组均呈现明显高表达,给予乌司他丁干预后,乌司他丁组的 NF- κ B 及 TLR4 表达与模型组比较则都明显下降,乌司他丁组中 NF- κ B 的表达低于激素组,TLR4 的表达则与激素组无明显差别。乌司他丁组大鼠血清 TNF- α 水平则明显比模型组低,与激素组比较则无明显差别。这一结果表明乌司他丁可通过干预 TLR4 介导的信号通路,下调 TLR4 及 NF- κ B 蛋白的表达,减少促炎介质的释放,从而减轻组织损伤和炎症反应,对 UC 大鼠具有保护作用。

REFERENCES

- [1] WALLACE K L, ZHENG L B, KANAZAWAY, et al. Immunopathology of inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(1): 6-21.
- [2] DANESE S, FIOCCHI C. Ulcerative colitis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18): 1713-1725.
- [3] DONG W G, LIU S P, YU B P, et al. Ameliorative effects of sodium ferulate on experimental colitis and their mechanisms in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(11): 2533-2538.
- [4] TILLINGER W, MCCOLE DF, KEELY SJ, et al. Hypertonic saline reduces neutrophil-epithelial interactions *in vitro* and gut tissue damage in a mouse model of colitis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 295(6): 1839-1845.
- [5] XU J, ZHENG C, HUANG Y, et al. Efficacy of thalidomide on trinitrobenzene sulfonate-induced colitis in young rats and its mechanism [J]. *Chin Med J (Engl Ed)(中国医学杂志英文版)*, 2014, 127(12): 2368-2375.
- [6] SHIKIMI T, KAKU K, UEGAKI J, et al. Serum contents of the free forms of alpha(1)-microglobulin and ulinastatin: relation to diseased states in patients with mood disorders [J]. *Neuropsychobiology*, 2001, 43(3): 145-149.
- [7] ITO K, MIZUTANI A, KIRA S, et al. Effect of ulinastatin, a human urinary trypsin inhibitor, on the oleic acid-induced acute lung injury in rats via the inhibitor of activated leukocytes [J]. *Injury*, 2005, 36(3): 387-394.
- [8] HUANG R H, WAN X Y. Effects of ulinastatin on toll-like receptor 4 signaling pathway in lung tissue of rats after lipopolysaccharide insult [J]. *Chin J Emerg Med(中华急诊医学杂志)*, 2012, 21(11): 1226-1229.
- [9] JIE L J, TU W F, HAN Q, et al. Effects of ulinastatin on plasma inflammatory cytokines in gut-origin septic rats [J]. *Guandong Med J(广东医学)*, 2007, 28(4): 534-536.
- [10] LIU Y, XU T, LEI X Y. Influence of ulinastatin on expression of Toll-like receptor 4 on peripheral blood mononuclear cells in patients with sepsis [J]. *Chin Crit Care Med(中华危重病急救医学)*, 2009, 21(9): 560-561.
- [11] LEVIN A, SHIBOLET O. Toll-like receptors in inflammatory bowel disease-stepping into uncharted territory [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(33): 5149-5153.
- [12] DONG L, LI J, LIU Y, et al. Toll-like receptor 2 monoclonal antibody or/and Toll-like receptor 4 monoclonal antibody increase counts of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(1): 110-119.
- [13] REAVES T A, CHIN A C, PARKOS C A. Neutrophil transepithelial migration: role of toll-like receptors in mucosal inflammation [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2005, 100(S 11): 191-198.
- [14] DE JAGER P L, FRANCHIMONT D, WALISZEWSKA A, et al. The role of the Toll receptor pathway in susceptibility to inflammatory bowel diseases [J]. *Genes Immun*, 2007, 8(5): 387-397.
- [15] MOHAMMADI M, ZAHEDI M J, NIKPOOR A R, et al. Interleukin-17 serum levels and TLR4 polymorphisms in ulcerative colitis [J]. *Iran J Immunol*, 2013, 10(2): 83-92.
- [16] LEE J H, LEE B, LEE H S, et al. *Lactobacillus* *suntoryensis* inhibits pro-inflammatory cytokine expression and TLR-4-linked NF-kappaB activation in experimental colitis [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2009, 24(2): 231-237.
- [17] SIDDIQUE I, KHAN I. Mechanism of regulation of Na-H exchanger in inflammatory bowel disease: role of TLR-4 signaling mechanism [J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(6): 1656-1662.
- [18] ATREYA I, ATREYA R, NEURATH M F. NF-kB in inflammatory bowel disease [J]. *J Intern Med*, 2008, 263(6): 591-596.
- [19] ZHONG J H, WANG Z L, LIU Y C, et al. Effects of Tripterygium Glycosides tablets on the expression of TLR4 and NF-kB of colonic mucosa in mice with ulcerative colitis [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2016, 33(1): 23-27.

收稿日期: 2016-09-29

(本文责编: 李艳芳)