

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.12.006

小鼠急慢性结肠炎模型的建立及结肠上皮组织分离方法的探讨 *

张浩浩 马澜婧 许 冰 李文姣 丁美玲 孙丽娟 聂勇战[△]

(空军军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:采用葡聚糖硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium, DSS)诱导小鼠急慢性结肠炎模型,并探讨小鼠结肠上皮组织分离技术的可行性。**方法:**将 40 只 8 周龄 C57 小鼠随机分为急性和慢性结肠炎模型 DSS 组和急慢性结肠炎对照组,每组 10 只小鼠。急性结肠炎模型:给予 C57 小鼠 3% DSS 自由饮水 7 天,蒸馏水 3 天;慢性结肠炎模型:给予 C57 小鼠 2.5% DSS 水 5 天,换蒸馏水自由饮水 7 天,再给予 2.5% DSS 水 5 天后换蒸馏水 7 天,重复 3 个循环,共 36 天,对照组蒸馏水自由饮水。期间每天观察并记录小鼠体重、便隐血、大便性状并评分。造模完成后对结肠组织行苏木素-伊红(HE)染色评价有无组织学炎症损伤。小鼠肠上皮分离采用机械涡旋的方法。**结果:**与对照组相比,小鼠急性结肠炎模型小鼠体重减轻明显($P<0.001$)、便隐血阳性、大便性状发生改变,结肠长度明显缩短($P<0.01$)。小鼠慢性结肠炎模型小鼠体重随着 DSS 和蒸馏水的交替出现下降和上升的变化趋势,HE 染色提示急性和慢性小鼠结肠炎模型结肠上皮发生急性和慢性的炎症损伤;分离得到的肠上皮组织样本提取总蛋白证实蛋白未发生降解,Actin 和 GAPDH 内参条带清晰。**结论:**小鼠急性和慢性结肠炎模型的建立成功,本实验采用的小鼠结肠上皮分离方法稳定可行。

关键词:葡聚糖硫酸钠;急性结肠炎;慢性结肠炎;肠上皮分离

中图分类号:R-33;R574.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)12-2228-05

Establishment of Mouse Models of Acute and Chronic Colitis and a Method for Colonic Epithelial Tissue Isolation in Mouse*

ZHANG Hao-hao, MA Lan-jing, XU Bing, LI Wen-jiao, DING Mei-ling, SUN Li-juan, NIE Yong-zhan[△]

(Xijing Hospital of Digestive Disease & State Key of Laboratory of Cancer Biology, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To establish acute colitis model and chronic colitis model in mice by using DSS and to explore the efficiency of colonic epithelial isolation from colon of mice. **Methods:** Forty 8-week old C57 mice were randomly divided into four groups, the acute and chronic colitis model groups and the acute and chronic colitis control groups. the acute colitis model of mice was given 3% DSS water for 7 days and distilled water for 3 days ad libitum; chronic colitis model of mice were subjected to three cycles of DSS treatment, in which each cycle consisted of 2.5% DSS for 5 days followed by a 7 day recovery period with distilled water. The control group were given distilled water ad libitum. Body weight loss, stool consistency and the presence of occult/gross blood were assessed daily for each mouse, Colonic tissues were evaluated by hematoxylin eosin (HE) staining. The use of the isolation of intestinal epithelium was established by the method of mechanical vortex. **Results:** The acute colitis model exhibited progressive body weight loss($P<0.001$), colon length shorter, rectal bleeding and change of stool character, the chronic colitis model showed a curve of the mice body weight decreasing and rising with giving DSS and then distilled water. And the Histological analysis by H&E staining suggested that the two groups of mice colitis model mice had acute inflammatory and chronic inflammatory tissue injury; the quality of total protein from isolated colon epithelial tissue was stable. **Conclusions:** Acute and chronic colitis model were established successfully in mice and the quality of total protein from the isolated epithelial tissue of mice colon suggested that our method of epithelial isolation is stable and effective.

Key words: Dextran Sulfate Sodium; Acute colitis model; Chronic colitis model; Enterocyte isolation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R574.62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)12-2228-05

前言

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是属于炎症性肠病范畴的一种慢性非特异性炎症,其发病与遗传、环境、微生物和免疫等因素相关,但确切发病机制尚不清楚。目前,对 UC 的研究

主要依赖于动物模型的建立,不同的针对溃疡性结肠炎的动物模型已被报道^[1,2],包括基因修饰、化学诱导和免疫诱导等^[3-5],不同的结肠炎模型有各自的特点,但都存在一定的局限性,并不能完全模拟人类溃疡性结肠炎的发病过程。

葡聚糖硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium, DSS)作为经典的诱

* 基金项目:国家杰出青年科学基金项目(81225003)

作者简介:张浩浩(1987-),硕士研究生,主要研究方向:肠道炎症与肝脏代谢, E-mail: zhh122@fmmu.edu.cn

[△] 通讯作者:聂勇战(1970-),博士生导师,教授,主要研究方向:肝脏代谢与消化道肿瘤, E-mail: nieyongzhan@qq.com

(收稿日期:2017-12-06 接受日期:2017-12-27)

导动物结肠炎的大分子,使用方法简单,表型稳定可靠,其引起的肠道改变与溃疡性结肠炎相似,且重复性好^[6],通过调整 DSS 的给药条件可以模拟溃疡性结肠炎的急性进展和慢性缓解的特点过程^[7,8]。目前,针对结肠上皮细胞功能的研究主要依赖结肠上皮细胞系,结肠上皮细胞分离是在动物水平研究肠上皮功能的很好的研究手段,但是在结肠上皮分离过程中,容易出现上皮组织分离不彻底、组织样本降解、失败率高等问题,极大地限制了结肠上皮细胞分离技术的应用。因此,本研究主要探讨了 DSS 诱导建立急性和慢性小鼠结肠炎模型和小鼠结肠上皮细胞分离的方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物和饲养环境

8 周龄 C57 小鼠购于第四军医大学实验动物中心【SCXK(军)2012-0007】(SPF 级),饲养在第四军医大学实验动物中心【SCXK(军)2012-0023】(SPF 级),环境温度:22±2 摄氏度,相对湿度:50%-60%,光照:12 h/12 h 明暗交替。

1.2 主要实验试剂和器材

葡聚糖硫酸钠 (Dextran Sulfate Sodium, DSS)(Applchem, 货号:A2361)分子量:40000 g/mol, HBSS 缓冲液(HyClone),二硫苏糖醇(DTT)(碧云天),蛋白酶抑制剂(Millipore),蛋白裂解液 RIPA(BioSharp),0.9%生理盐水,10%多聚甲醛固定液,便隐血

试剂盒(BASO),旋涡仪(Thermo scientific),15 mL 离心管,50 mL 离心管,70 μm 滤器(FALCON),磁力搅拌器,电子称,眼科剪刀,眼科镊,棉签,一次性纸杯。

1.3 实验方法

将 40 只 8 周龄大小小鼠随机分为四组:急性结肠炎对照组、急性结肠炎实验(DSS)组、慢性结肠炎对照组、慢性结肠炎实验(DSS)给药组,每组 10 只(5 只/笼)。通过将 DSS 溶于蒸馏水中供小鼠自由饮用的方式给药。按照实验分组,急性结肠炎实验组小鼠给予 3%浓度的 DSS 水饮用 7 天后更换蒸馏水饮用 3 天,整个过程共计 10 天。慢性结肠炎组配制 DSS 浓度 2.5%给药 5 天,更换为蒸馏水饮用 7 天作为缓解期,第 13 天再次给予 2.5%DSS 水 5 天和蒸馏水 7 天,给药和缓解期共重复 3 个次,共计 36 天,构建慢性结肠炎模型。对照组给予蒸馏水,实验组给药期间为防止 DSS 水药效降低,需每 2 天配制新的 DSS 水,对照组蒸馏水同样每 2 天更换 1 次。

1.4 损伤和炎症程度的评估

1.4.1 小鼠表型的观察 在急性和慢性小鼠结肠炎模型中,给药当天记为第 0 天,每天对小鼠进行称重,并且用便隐血试剂盒测定小鼠便隐血情况、观察粪便性状、毛色和活动状态并记录。将小鼠每天体重除以第 0 天体重,得到小鼠每天的体重比,绘制体重比变化曲线。除体重外每日测量和观察小鼠便隐血和大便性状情况进行评分表 1,得出小鼠的炎症活动指数。

表 1 炎症活动指数评分表
Table 1 Inflammatory activity indexes

Stool consistency	Score	Stool consistency	Score	Body weight loss(%)	Score
Occult blood(-)	0	Normal	0	0	0
Occult blood(+~+++)	1	soft with well-formed pellets;	1	1-5	2
Occult blood(++++), no gross blood	2	soft without pellets	2	6-10	3
gross blood	3	diarrhea	3	10-15	4
Anus bleeding	4			>16	

1.4.2 组织学损伤评估(HE) 脱颈处死小鼠后,沿肛门靠上纵行解剖,轻柔分离整个结肠,上至回盲部近端,下至肛门(整段结肠留取部分肛门周围组织作为远端起始标记),分别量取对照组和实验组结肠长度,取靠近肛门 0.5 cm 处结肠约 0.8 公分,用预冷的生理盐水轻轻漂洗后,滤纸吸干水分,置于 10%多聚甲醛溶液中过夜固定,石蜡包埋,切片并进行 HE 染色。在显微镜下观察结肠上皮及间质的组织学改变并拍照。

1.5 小鼠肠上皮分离方法

1.5.1 结肠组织准备 脱颈处死小鼠后解剖,取出整段结肠,截取靠近回盲部 5 cm 左右结肠,用眼科剪沿纵轴剖开,用预冷的生理盐水充分漂洗,去除残留粪便,将结肠剪成等长的 3 段。

1.5.2 分离液配制 将 HBSS 缓冲液预冷处理后,加入 DTT 和 EDTA2Na 配制工作浓度分别为 1 mM 和 15 mM 的分离液,并按照 1:500 加入蛋白酶抑制剂,放置于冰上备用。

1.5.3 肠上皮细胞分离步骤 将准备好的结肠组织放于 10 mL EP 管中,加入 5 mL 分离液,放置于涡旋仪上以最大功率充分震荡涡旋 5 min,回收涡旋后含有肠绒毛和肠陷窝组织的分离

液至 15 mL 离心管,并加入 5 mL 新的分离液,再次涡旋 3 min 和 7 min,每次收集分离液并加入新的分离液,将 3 次收集的上清液约 15 mL 使用 70 μm 滤器过滤,将装有滤液的离心管置于 4 度离心机 1000×g 离心 10 min,所得沉淀即为分离得到的上皮组织包括微小绒毛和陷窝组织。将分离的产物置于 -80 ℃或加入 RNAlater 置于 -20 ℃下一步可进行上皮组织蛋白或 RNA 提取。分离上皮组织所用试剂器材均预冷处理,所有操作尽量在冰上进行。

1.6 统计学处理

应用 SPSS19.0 进行数据分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较差异采用 t 检验,以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DSS 处理小鼠后结肠炎表型观察

急性结肠炎模型组:通过小鼠饮用 DSS 水后,第 1-2 日体重略有上升,BASO 便隐血试纸检测结果阴性,第 3 日后 DSS 给药组小鼠便隐血开始出现弱到中度阳性,大便稍硬软但尚成

形,第4日DSS水组小鼠开始出现半成型便和稀便。第5日实验组小鼠体重开始出现下降趋势,粪便带血,便隐血试剂盒检测强阳性。实验开始第7、8日实验组小鼠体重开始明显的下降。将小鼠体重变化、便隐血、大便性状按炎症指数标准统计后与对照组比较有统计学意义(图1A和1B)。DSS组小鼠结肠长度较对照组明显缩短,差异有统计学意义(图1C和1D)。

慢性结肠炎模型组:在给予小鼠DSS水后,小鼠体重在给

予DSS后第5日出现下降,下降幅度较急性组小,随着DSS水更换为正常蒸馏水后,小鼠体重开始恢复,整个实验过程小鼠体重随着给药和蒸馏水交替出现曲线的波动,在每个实验循环的末期,小鼠体重基本能恢复到实验前水平,实验发现在整个实验过程中重复给予DSS后小鼠体重下降幅度也越来越小,对DSS诱导存在一定的耐受(图1E)。

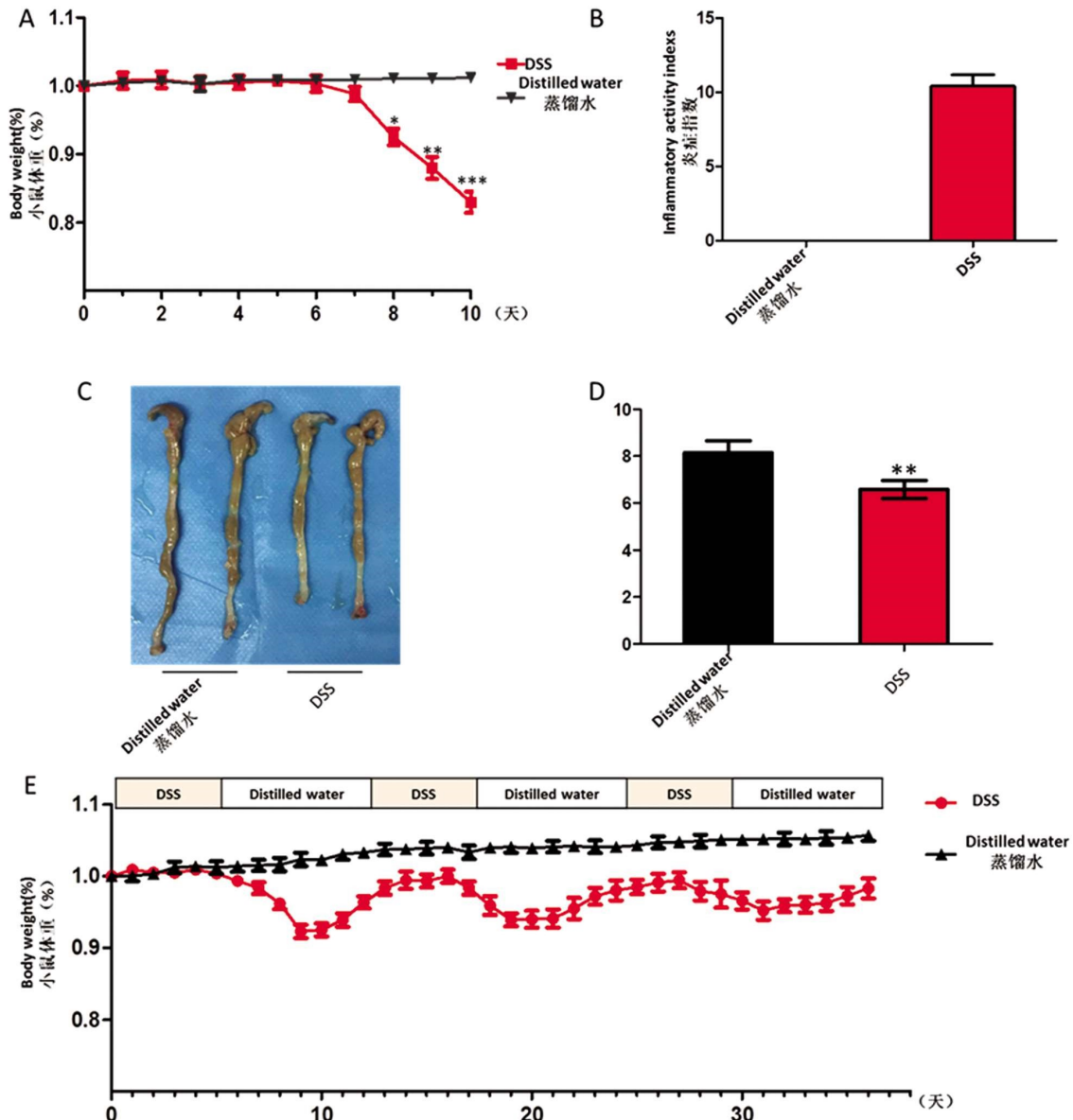


图1 DSS 诱导小鼠急慢性结肠炎表型观察

Fig.1 The Phenotype of mice acute and chronic colitis induced by DSS. A: Body weights of mice in acute colitis model; B: Inflammatory index score of mice acute colitis; C: Photographs of representative colons and ceca from mice acute colitis model; D: Colon length, measured at day 10 after DSS treatment; E: Body weights of mice in chronic colitis model. n=10, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

2.2 DSS 处理小鼠后组织病理学改变

急性肠炎模型组小鼠炎症反应明显,结肠黏膜有不同程度的脱落坏死,腺体结构破坏严重,部分区域黏膜结构消失,炎症细胞浸润明显,以中性粒细胞和淋巴细胞为主(图2A)。

慢性结肠炎模型组,炎症反应相对较轻,结肠黏膜上皮有轻度坏死脱落,除少部分上皮组织破坏明显外,腺体大体结构完整,炎症细胞以淋巴细胞为主(图2B)。

2.3 肠上皮分离效率验证

本次实验共使用10周大小的C57小鼠6只。肉眼观察旋涡后剩余小鼠结肠组织与未分离结肠组织相比,结肠肠粘膜绒毛面基本消失,其他结肠组织结构未发生明显改变,提示已将小鼠结肠上皮结构充分涡旋解离至分离液,接下来对分离得到的上皮组织产物进行总蛋白提取,并通过Western blot检测内参Actin和GAPDH,蛋白转膜后丽春红染色(NC膜)条带清晰,

Actin 和 GAPDH 条带显影清楚无模糊和拖尾现象(图 3),说明蛋白质在分离过程中未发生降解,该分离小鼠肠上皮的方法可行有效。

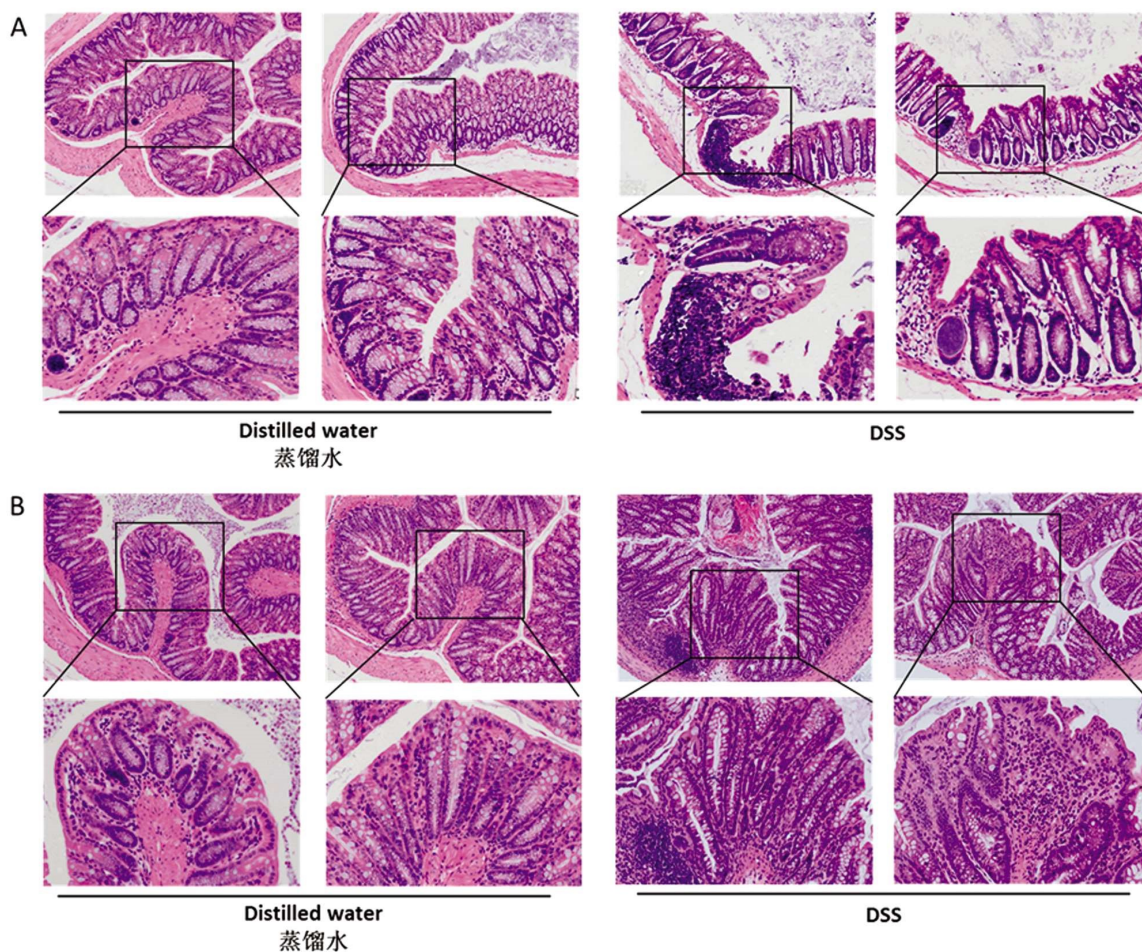


图 2 DSS 诱导小鼠急性慢性结肠炎结肠 HE 染色

Fig.2 The HE staining of mouse acute and chronic colitis model induced by DSS.A: HE staining of colon from mice acute colitis model; B: HE staining of colon from mice chronic colitis model. n=10

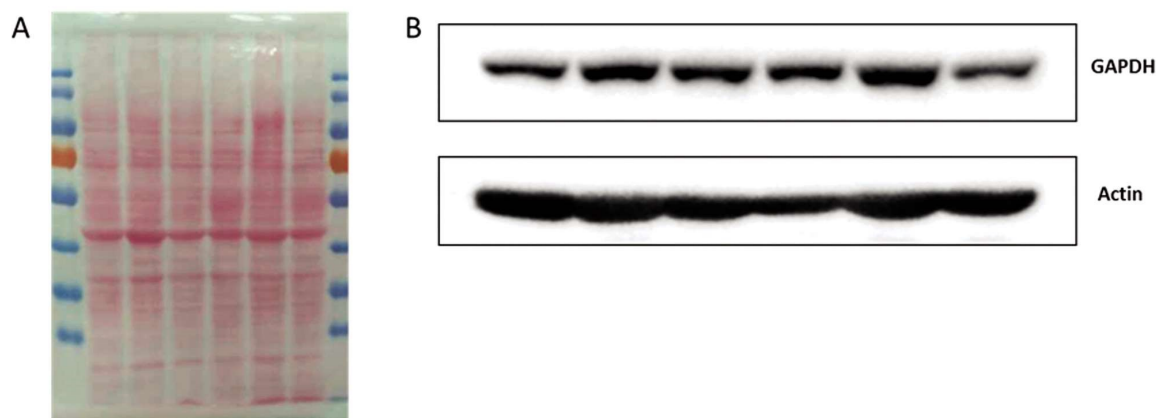


图 3 结肠上皮分离上皮组织蛋白检测

Fig.3 Total protein of isolated colon epithelial tissue was detected by Western blot. A: Total protein isolated from intestinal epithelial tissues was stained by Ponceau; B: Protein expression of Actin and GAPDH in isolated intestinal epithelial tissue samples.

3 讨论

溃疡性结肠炎(UC)是一种病变部位主要位于结肠及直肠的慢性肠道非特异性炎症,具有慢性迁延、反复发作及难治愈

的特点。越来越多的研究表明炎症性肠与结直肠癌的发生有很大关系^[9,10]。目前,UC 的发病机制尚没有清楚的定论,越来越多的研究证实其是在遗传、环境、微生物和免疫等多个因素下引起的不受控的黏膜免疫反应^[11-14]。以往研究认为包括溃疡性结

肠炎在内的炎症性肠病聚集在西方人群,随着人们生活方式和饮食习惯的改变,我国 UC 的发病率也呈逐年上升和年轻化趋势^[15-19]。

葡聚糖硫酸钠(DSS)作为大分子在动物实验性结肠炎诱导中使用非常广泛,诱导方法简单,实验成本低,并且成功率和重复性都很高,DSS 诱导的动物结肠组织损害与人 UC 病变相似度高,并且可以重复非模拟人溃疡性结肠炎的急性和缓解过程,因此被作为是诱导小鼠结肠炎模型的理想方法。但目前 DSS 诱导引起结肠炎的机制还不是完全清楚,主要原因在于 DSS 能够增加小鼠结肠上皮的通透性,大量菌群产物随着通透性的增加进入上皮细胞,进而引发结肠组织强烈的炎症反应,同时 DSS 有抗凝作用,阻碍已损伤的结肠上皮组织愈合^[20],这也能够解释小鼠在饮用含有 DSS 的水后,会有不同程度的便血且病情越重,便血也愈严重。有文献报道直接给予小鼠 DSS 水 7 天,在第 7 天结束实验^[8],在本 DSS 诱导的小鼠急性和慢性肠炎模型中,我们给予急性组小鼠 3%的 DSS 水 7 天后接下来蒸馏水 3 天,发现小鼠在饮用 DSS 后的第 1-2 日体重略有上升,这与可能饮用 DSS 后炎症启动时肠上皮发生轻度水肿有关。随着 DSS 水继续饮用,小鼠开始出现不同程度的便血,体重下降,在实验第 7 天,DSS 水转换为蒸馏水后小鼠体重下降和症状加重仍在继续,这说明 DSS 启动的炎症反应并不随着 DSS 的停药而立刻停止,这可能与损伤终止后需一定的时间来进行组织修复有关。研究表明 DSS 诱导小鼠结肠炎主要是浓度依赖^[21,22],我们在研究中也发现 DSS 浓度低于 2.5%诱导的结肠炎症反应不明显,表型也不稳定,而 DSS 浓度高于 2.5%则会增加小鼠死亡率,我们发现 DSS 停药后炎症仍能继续进展一段时间开始逐渐减轻,体重也逐渐恢复,在停药后第 5-6 天就能基本恢复到给药前水平,因此我们在小鼠慢性结肠炎模型中选择 7 天的时间段作为缓解期来模拟 UC 发作和缓解的持续慢性炎症过程,在该慢性模型中我们可以看到体重随着 DSS 的给药和蒸馏水呈曲线变化,相比第 1 个循环随后的给药循环中小鼠体重下降幅度明显降低,之后实验组小鼠的重复给药表现为对 DSS 刺激的耐受,处死小鼠后除结肠肠管有轻微的僵硬外,并未看到明显的结肠缩短。观察小鼠慢性结肠炎组小鼠的结肠的 HE 染色发现,急性小鼠结肠模型对小鼠结肠上皮的损伤主要以上皮结构的破坏为主,有大片的上皮组织脱落,并且有大量的中性粒细胞和淋巴细胞浸润。慢性小鼠结肠炎模型的 HE 染色结果表现为上皮组织结构大体正常,上皮组织结构有轻度的破坏,炎症细胞增多,以淋巴细胞为主。结合 UC 在临床特点,该慢性模型更为符合人类 UC 发病复发迁延的特点。

溃疡性结肠炎是主要发生在结直肠黏膜的非特异性炎症反应^[23,24],结肠上皮作为与肠腔环境中各种生物学信息交换的第一个节点,也是第一个受累的组织,在溃疡性结肠炎疾病发展中发挥着重要作用,因此直接分离结肠上皮组织来研究溃疡性结肠炎发病机制比在整个肠管组织上能更好的发掘其潜在机制。目前,肠上皮分离主要集中在原代细胞的分离^[25],对于直接分离肠上皮用于研究的报道较少。本实验从分离效果来看,用目前比较被认可的丽春红染色对总蛋白进行预染,看到蛋白上下条带分界明显,提示蛋白没有降解,对内参蛋白 GAPDH

和 Actin 显色结果清晰,未出现条带拖尾模糊,并且多个样本重复,样本间总蛋白浓度没有太大差异,提示本研究报道的分离小鼠结肠上皮的方法稳定可行。

总之,本研究从小鼠结肠炎模型构建和结肠上皮分离方法上进行了探讨,急性和慢性结肠炎模型无论是表型还是组织病理学改变都符合预期,同时解决了肠上皮细胞分离存在的样本容易降解,分离效率不高的问题,为动物水平的实验研究提供了参考。

参考文献(References)

- [1] Pack M. IBD. Fishing for missing heritability in IBD[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12(6): 318-320
- [2] Leonardi I, Nicholls F, Atrott K, et al. Oral administration of dextran sodium sulphate induces a caecum-localized colitis in rabbits[J]. *Int J Exp Pathol*, 2015, 96(3): 151-162
- [3] 兰雷,陈垦,王晖.炎症性肠病动物模型的研究概况[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(7): 1322-1325
Lan Lei, Chen Ken, Wang Hui. General view in animal model of inflammatory bowel disease [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2004, 20(7): 1322-1325
- [4] Hammer R E, Maika S D, Richardson J A, et al. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders [J]. *Cell*, 1990, 63(5): 1099-1112
- [5] Rennick D M, Fort M M. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10^{-/-}) mice and intestinal inflammation [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, 278 (6): G829-G833
- [6] Kim J J, Shajib M S, Manocha M M, et al. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD [J]. *J Vis Exp*, 2012, (60): 3678
- [7] 戴发亮,董仕桢,轩青霞,等.IRE1 α 和 IRE1 β 在 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎中的表达及意义 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, (04): 495-500
Dai Fa-liang, Dong Shi-zhen, Xuan Qing-xia, et al. Expression and significance of IRE1 α and IRE1 β in DSS induced mouse chronic colitis[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2017, (04): 495-500
- [8] Yang Y R, Kim D H, Seo Y K, et al. Elevated O-GlcNAcylation promotes colonic inflammation and tumorigenesis by modulating NF-kappaB signaling[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(14): 12529-12542
- [9] Van Der Kraak L, Gros P, Beauchemin N. Colitis-associated colon cancer: Is it in your genes?[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(41): 11688-11699
- [10] He C, Yu T, Shi Y, et al. MicroRNA 301A Promotes Intestinal Inflammation and Colitis-Associated Cancer Development by Inhibiting BTG1[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(6): 1434-1448
- [11] Hou Q, Ye L, Huang L, et al. The Research Progress on Intestinal Stem Cells and Its Relationship with Intestinal Microbiota [J]. *Front Immunol*, 2017, 8(599): 599
- [12] Sokol H, Leducq V, Aschard H, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1039-1048
- [13] Abegunde A T, Muhammad B H, Bhatti O, et al. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(27): 6296-6317

- 2015, 106(6): 665-671
- [24] RosenblUH J, WANG X, Hahn W C. Genomic insights into WNT/beta-catenin signaling [J]. Trends in pharmacological sciences, 2014, 35(2): 103-109
- [25] Rossini M, Gatti D, Adami S. Involvement of WNT/beta-catenin signaling in the treatment of osteoporosis [J]. Calcified tissue international, 2013, 93(2): 121-132
- [26] Sebio A, Kahn M, Lenz H J. The potential of targeting Wnt/beta-catenin in colon cancer [J]. Expert opinion on therapeutic targets, 2014, 18(6): 611-615
- [27] Zhang Kuan, Zhang Jiu, Han Lu, et al. Wnt/beta-catenin signaling in glioma [J]. Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 2012, 7 (4): 740-749
- [28] Vilchez V, Turcios L, Marti F, et al. Targeting Wnt/beta-catenin pathway in hepatocellular carcinoma treatment [J]. World journal of gastroenterology : WJG, 2016, 22(2): 823-832
- [29] Song Xu, Xin Ning, Wang Wen, et al. Wnt/beta-catenin, an oncogenic pathway targeted by H. pylori in gastric carcinogenesis [J]. Oncotarget, 2015, 6(34): 35579-35588
- [30] Song Lei, Li Zhiyu, Liu Wupin, et al. Crosstalk between Wnt/beta-catenin and Hedgehog/Gli signaling pathways in colon cancer and implications for therapy [J]. Cancer biology & therapy, 2015, 16(1): 1-7
- [31] Ghahhari N M, Babashah S. Interplay between microRNAs and WNT/beta-catenin signalling pathway regulates epithelial-mesenchymal transition in cancer [J]. Eur J Cancer, 2015, 51(12): 1638-1649
- [32] Huang Kun, Zhang Jinxian, Han Lei, et al. MicroRNA roles in beta-catenin pathway[J]. Molecular cancer, 2010, 9(252)
- [33] Song Jianli, Nigam P, Tektas S S, et al. microRNA regulation of Wnt signaling pathways in development and disease [J]. Cellular signalling, 2015, 27(7): 1380-1391
- [34] Zhang Xing, Li Miao, Zuo Kai, et al. Upregulated miR-155 in papillary thyroid carcinoma promotes tumor growth by targeting APC and activating Wnt/beta-catenin signaling [J]. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 2013, 98(8): E1305-1313
- [35] Yan Zhi, Che Shaoqi, Wang Jian, et al. miR-155 contributes to the progression of glioma by enhancing Wnt/beta-catenin pathway[J]. Tumour Biol, 2015, 36(7): 5323-5331
- [36] Zhang Yan, Wei Wuqing, Cheng Na, et al. Hepatitis C virus-induced up-regulation of microRNA-155 promotes hepatocarcinogenesis by activating Wnt signaling [J]. Hepatology, 2012, 56(5): 1631-1640
-
- (上接第 2232 页)
- [14] McGuckin M A, Eri R, Simms L A, et al. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases[J]. Inflamm Bowel Dis, 2009, 15 (1): 100-113
- [15] 钱家鸣,杨红. 中国炎症性肠病研究的历史回顾,现状和展望[J]. 中国实用内科杂志, 2015, (09): 727-730
- Qian Jia-ming, Yang Hong. History, current situation and progress of inflammatory bowel disease in China[J]. Chinese Journal of Practical Internal Medicine, 2015, (09): 727-730
- [16] Ye L, Cao Q, Cheng J. Review of inflammatory bowel disease in China [J]. Scientific World Journal, 2013, 2013: 296470
- [17] Li X, Song P, Li J, et al. The Disease Burden and Clinical Characteristics of Inflammatory Bowel Disease in the Chinese Population: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14(3): 238
- [18] Kaplan G G. The global burden of IBD: from 2015 to 2025 [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 12(12): 720-727
- [19] Kaplan G G, Ng S C. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease [J]. Gastroenterology, 2017, 152(2): 313-321
- [20] Chassaing B, Aitken J D, Malleshappa M, et al. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice [J]. Curr Protoc Immunol, 2014, 104: 15-25
- [21] Egger B, Bajaj-Elliott M, Macdonald T T, et al. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency[J]. Digestion, 2000, 62(4): 240-248
- [22] Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice[J]. Gastroenterology, 1990, 98(3): 694-702
- [23] Ananthakrishnan A N, Bernstein C N, Iliopoulos D, et al. Environmental triggers in IBD: a review of progress and evidence[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017
- [24] Dupont A W, Dupont H L. The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 8 (9): 523-531
- [25] 孙秀梅,程帆,刘维,等.4 种小鼠肠上皮细胞分离培养方法的比较 [J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 40(05): 25-31
- Sun Xiu-mei, Cheng Fan, Liu Wei, et al. Comparison of four primary culture methods for mouse intestinal epithelial cells [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2013, 40(05): 25-31