

· 影像医学研究 ·

莫西沙星辅助多光子成像用于溃疡性结肠炎的诊断研究

陈颖彤^{1,2}, 赵黎黎^{1,2}, 项晓仪³, 张勇³, 吴锦慧⁴, 范志宁^{1,2*}

¹南京医科大学第一附属医院消化内镜科, ²普外科, 江苏 南京 210029; ³南京大学固体微结构物理国家重点实验室, 江苏南京 210093; ⁴南京大学药物开发研究所, 江苏 南京 210093

[摘要] 目的:探索莫西沙星辅助多光子显微成像(multiphoton microscopic imaging, MPM)在小鼠溃疡性结肠炎中应用的可行性,总结结肠炎小鼠MPM辅助诊断特征。方法:将32只Balb/c小鼠随机分为对照组、急性期结肠炎组、缓解期结肠炎组和慢性期结肠炎组,每组8只,饮用3%葡聚糖硫酸钠溶液建立结肠炎模型,经病理证实各组小鼠均造模成功。对各小鼠结肠组织行MPM成像,再将同一结肠组织在0.16%莫西沙星溶液中浸泡2 min,再行MPM成像。比较未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的结肠组织MPM清晰成像所需激发功率以及相同激发功率下未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM图像荧光强度;比较莫西沙星处理后各模型组结肠组织荧光增强区域所占比例;归纳不同溃疡性结肠炎模型未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM成像特征。结果:在能看到清晰图像的情况下,未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的对照组小鼠MPM成像所需的激发光功率分别为 (2.78 ± 0.04) mW、 (0.28 ± 0.01) mW,两者差异具有统计学意义($P < 0.05$);相同激发功率下,未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的对照组小鼠MPM平均荧光强度分别为 $(1\ 313.99 \pm 164.52)$ a.u.、 $(3\ 896.43 \pm 87.55)$ a.u.,两者差异具有统计学意义($P < 0.05$);经莫西沙星处理的对照组、急性期结肠炎组、缓解期结肠炎组、慢性期结肠炎组的平均荧光增强区域所占比例分别为 $(22.4 \pm 1.6)\%$ 、 $(7.7 \pm 1.0)\%$ 、 $(13.5 \pm 1.7)\%$ 、 $(5.0 \pm 1.3)\%$,后3组与对照组的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。莫西沙星可辅助MPM清晰成像组织隐窝开口、腺体结构、相邻腺体间隙和荧光增强区域等。结论:莫西沙星可有效提高MPM成像效率,并呈现独特的组织功能性鉴别特征,结合多维度的量效和结构特征,可有效鉴别溃疡性结肠炎小鼠。

[关键词] 多光子显微成像;莫西沙星;溃疡性结肠炎;诊断

中图分类号] R574.62

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)04-589-06

doi:10.7655/NYDXBNS20190425

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),是一组慢性、复发性、非特异性肠道炎症性疾病^[1]。其中,UC以慢性结直肠黏膜炎症为特征,可从直肠向部分结肠或整个结肠连续发展,而有30年病程的UC患者患结肠癌的风险高达18%,远高于一般人群^[2]。UC病因不明,其诊断尚无金标准,主要依靠临床表现、内镜下表现、病理以及对其他疾病尤其是感染性结肠炎的排除^[3]。内镜下活检是诊断UC至关重要的步骤,随机活检需在肠道4个象限每隔10 cm取1次活检,同时在肠

道狭窄、隆起及颜色变化区域取活检^[4]。这一过程耗时耗力,且易发生穿孔、出血等并发症。近些年内镜技术迅猛发展,以实时观察黏膜表面结构、血管形态甚至细胞、亚细胞结构为目标,最大程度实现对UC的精确观察和靶向活检^[4-7]。其中,共聚焦激光显微内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)诊断UC的效能已得到广泛认可,通过在体实时提供与组织病理相似的图像,显示放大近1 000倍的黏膜细胞结构,实现“光学活检”^[8-10]。

多光子显微成像技术(multiphoton microscopic imaging, MPM)作为近年来的新兴技术,使用近红外线波长激发,实现可见光谱内的短波长发射。其在组织中的散射更少,穿透深度更深,对活体组织损伤更小,光漂白效应更小,无需外源性荧光剂即可获得生物组织的高分辨率图像,规避了CLE的缺点^[11-13]。MPM可用于显示整个消化道黏膜,并能检测黏膜炎症和异型增生情况^[12-14]。但细胞的自体荧光信号通常比较微弱,需要很高的激发光强才能成

[基金项目] 国家自然科学基金(81700577);江苏省“333”工程基金(BRA2015463);江苏高校优势学科建设工程资助项目(JX10231802);江苏省科技支撑项目(BE2016738);江苏省医学重点专科(ZDXKA2016005)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: fanzhining@njmu.edu.cn

像。莫西沙星是一种四代抗生素,具有荧光光敏特性,国外已有报道其可作为多光子成像辅助试剂,莫西沙星处理的动物角膜、皮肤、小肠、膀胱的荧光信号显著增强,所需激发光强显著降低,且清晰显影^[15-19]。目前,国内外尚无莫西沙星作为MPM辅助策略精确诊断UC的研究报道,因此本研究旨在探索莫西沙星辅助MPM在小鼠结肠炎中的诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雄性 Balb/c 小鼠,6~8周,体重23~25 g,由扬州大学比较医学中心提供,自由饮水、喂食1周以适应环境。

1.1.2 MPM 成像系统

MPM 成像系统由激光共聚焦扫描显微镜(ZEISS LSM710 META 探测器及 Axio 正置激光共聚焦显微镜)和飞秒钛宝石激光器组成,配备有本实验所用的20倍物镜(EC Plan-Neofluar 20×/0.5),用于白光下观察结肠腺体形态、聚焦激发光束和收集信号。激发波长范围690~1 050 nm,本实验所选激发波长为720 nm。功率计(PM100D, THORLABS公司,德国)用来测量激发光功率。发射光可由多个通道收集,本实验设有两个通道,一个通道波长范围为430~480 nm,另一个通道波长范围为500~550 nm。图像分辨率为1 024像素×1 024像素,获得每个像素所需时间仅为2.56 μs,像素深度为12 bit。每幅图像的视野大小为333 μm×333 μm。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和结肠炎模型的建立

共32只 Balb/c 小鼠,随机分为4组:对照组、急性期结肠炎组、缓解期结肠炎组和慢性期结肠炎组,每组8只。造模方法以文献中总结为基础,稍作改进^[20]:对照组每天正常饮用蒸馏水;急性组连续7 d 饮用3% 葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS,分子量:36 000~50 000,上海翊圣生物科技有限公司)溶液;缓解组连续7 d 饮用3% DSS 溶液,然后更换蒸馏水连续饮用10 d;慢性组连续7 d 饮用3% DSS 溶液,然后更换蒸馏水连续饮用10 d,以此为1个周期,连续3个周期。

1.2.2 MPM 成像

各组小鼠均在造模结束后1 d处死,处死前禁食12 h。以10%水合氯醛(上海麦克林生化科技有限公司)0.06 mL/10 g 剂量进行麻醉,打开腹腔,取距

肛门4~5 cm处结肠组织,然后破心处死小鼠。取下的结肠组织沿肠管纵轴剪开,置于0.9%生理盐水中将黏膜表面冲洗干净。用刀片将结肠组织切成每块5 mm×5 mm大小,放入1.8 mL小瓶分装的Opti-MEM 培养液(Gibco公司,美国)中,一起置于盛有碎冰的泡沫盒。MPM 成像时,将结肠组织的黏膜面朝上置于单凹载玻片,其上覆盖盖玻片,调整参数后采集图像。再将同一块结肠组织浸泡在1.8 mL小瓶分装的0.16%莫西沙星溶液(广州拜耳医药保健有限公司)中2 min,后同样进行MPM 成像。从处死小鼠到MPM 成像这一过程在2 h内完成。

1.2.3 HE 染色

MPM 成像结束后将结肠组织放入10%福尔马林溶液中固定,脱水透明、浸蜡包埋、脱蜡至水,再进行HE染色。切片制成后,由一位经验丰富的病理科医生判断每块结肠组织病理与相应造模组是否吻合。

1.2.4 MPM 图像分析

根据病理诊断结果,找出对应小鼠结肠组织的MPM 图像,剔除其中不清晰、质量较差的图像后进行分析。

定量分析:①以对照组即正常小鼠为例,从中随机挑选成像深度为40 μm、相同激发光强下未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM 图像各30张,比较两种方式下MPM 图像的平均荧光强度;再从对照组中随机挑选未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的成像深度为40 μm处的清晰图像各30张,比较两种方式下MPM 清晰成像所需的激发光强。②定义荧光增强区域所占比例为荧光增强区域面积与其所在结肠腺体面积的比值。使用Image J 软件计算荧光增强区域面积和结肠腺体面积:计算荧光增强区域面积时,阈值设置为170(阈值的最大值为255),颜色设置为红色,所得红色区域面积即为荧光增强区域面积;计算结肠腺体面积时,用画图工具圈出结肠腺体,所圈区域面积即为该结肠腺体面积。因荧光增强区域特征性存在于经莫西沙星处理的MPM 图像上,而未经莫西沙星处理的MPM 图像未见明显荧光增强区域,因此我们随机挑选每组小鼠各6张经莫西沙星处理的MPM 图像,每张图像上随机挑选4个结肠腺体,计算荧光增强区域所占比例,进行各组间的定量比较。

定性分析:每组均随机挑选未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM 图像各30张,依据图像中腺管开口、腺体结构、相邻腺体间隙、荧光信号

等特点,对未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的结肠组织所成的MPM图像进行特征性总结。

1.3 统计学方法

通过Microsoft Excel 2013软件生成随机数来挑选图片。采用SPSS 19.0软件进行统计分析,使用单因素方差分析中的Dunnett *t* 检验(针对方差齐性数据)及Tamhane's T2检验(针对方差不齐数据)进行组间比较, $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本实验共获得32只Balb/c小鼠的117块结肠组织,经病理切片证实相应的急性期、缓解期、慢性期结肠炎小鼠均造模成功。共获得MPM图像1 076张,剔除不清晰和模糊图像后,余724张图像作为研究对象。其中,未经莫西沙星处理的图像380张,经莫西沙星处理的图像344张。

2.2 荧光强度和激发光强的比较

以正常小鼠为例,成像深度为40 μm ,激发光功率为2.76 mW时,未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM图像平均荧光强度分别为 $(1\ 313.99 \pm 164.52)\text{a.u.}$ 、 $(3\ 896.43 \pm 87.55)\text{a.u.}$,两者差异有统计学意义($P < 0.05$),后者约为前者的3倍;能看到清晰图像的情况下,未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM成像所需的激发光功率分别为 $(2.78 \pm 0.04)\text{mW}$ 、 $(0.28 \pm 0.01)\text{mW}$,两者差异有统计学意义($P < 0.05$),后者约为前者的1/10。

2.3 荧光增强区域的定量分析

根据荧光增强区域所占比例的定义,得出对照组、急性组、缓解组、慢性组的平均荧光增强区域所占比例分别为 $(22.4 \pm 1.6)\%$ 、 $(7.7 \pm 1.0)\%$ 、 $(13.5 \pm 1.7)\%$ 、 $(5.0 \pm 1.3)\%$ 。后3组与对照组的差异均有统计学意义($P < 0.05$),与对照组相比,急性期、缓解期和慢性期MPM图像上的荧光增强区域所占比例均减小。

2.4 MPM图像特征总结

结肠隐窝为结肠腺体的基本结构,包括隐窝开口及其周围的腺上皮。通过分析对照、急性期、缓解期和慢性期结肠炎小鼠的MPM图像,从隐窝开口、腺体结构、相邻腺体间隙、荧光增强区域所占比例这几个角度对未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM图像特征进行总结。

2.4.1 未经莫西沙星处理的MPM图像特征

正常小鼠结肠的隐窝开口呈圆形或近似圆形,

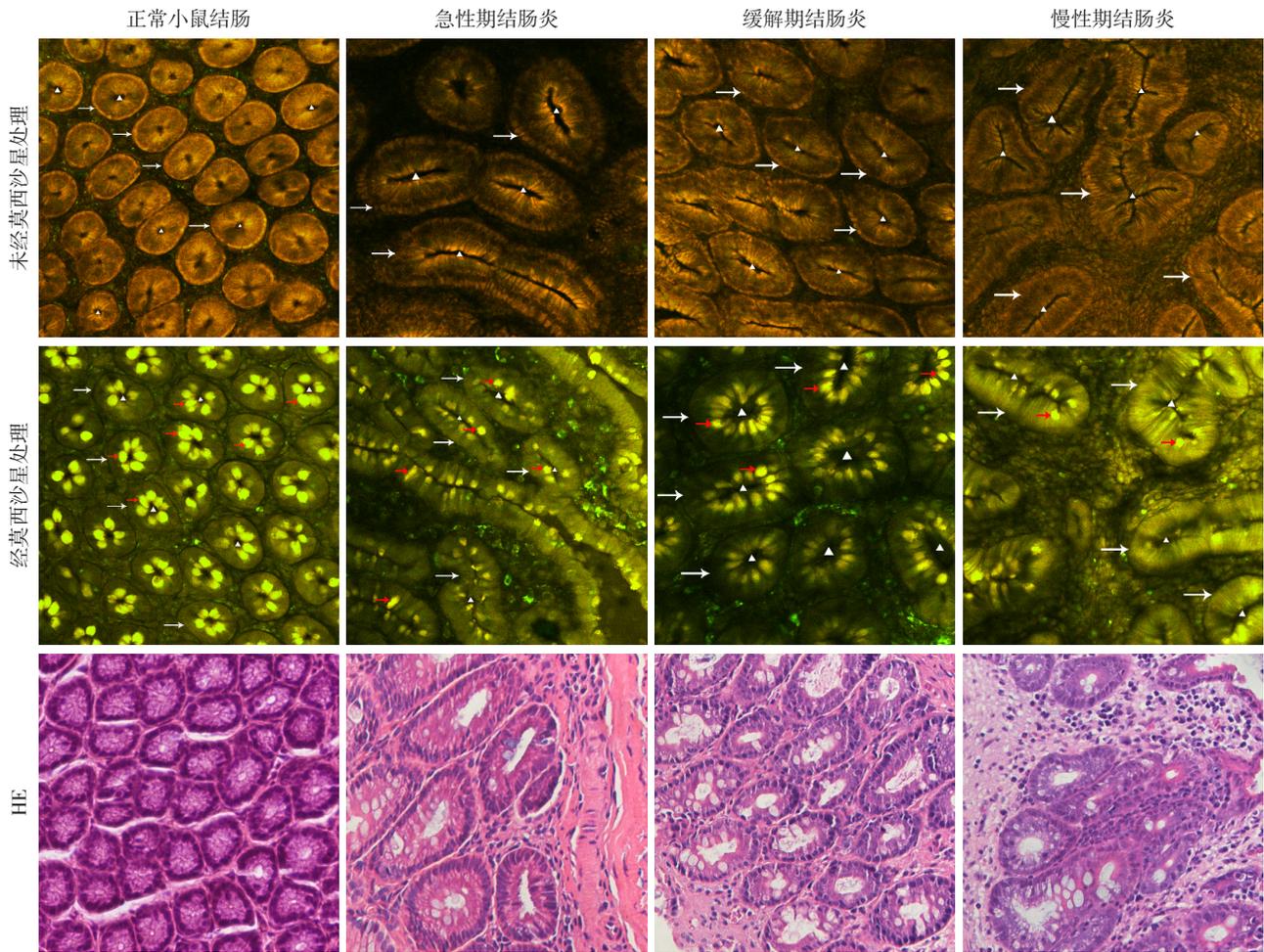
腺体结构完整,排列均匀一致,相邻腺体间隙很小且均匀;急性期结肠炎小鼠结肠的隐窝数量明显减少,隐窝开口拉长呈杆状,部分隐窝融合,开口呈长条状,腺体拉长呈椭圆形,部分腺体上皮破坏、结构不完整,腺体排列不规则,相邻腺体间隙明显增大;缓解期结肠炎小鼠结肠的隐窝开口扩张或稍拉长呈杆状,腺体增大呈圆形或椭圆形,腺体结构基本完整,偶见腺上皮破坏,腺体排列稍规则,相邻腺体间隙不一致、稍增大;慢性期结肠炎小鼠结肠的隐窝开口形态不一,或呈分支状,或呈杆状,腺体形态不一,部分腺体扭曲、呈分支状,腺体排列不规则,相邻腺体间隙不一致,可有增大(图1)。

2.4.2 经莫西沙星处理的MPM图像特征

经莫西沙星处理的各组小鼠MPM图像上隐窝开口、腺体结构、相邻腺体间隙特征与未经莫西沙星处理的小鼠相似,但经莫西沙星处理后的MPM图像具有特征性荧光增强区域,总结如下:①正常小鼠结肠的荧光增强区域以隐窝开口为中心,呈“菊花状”分布,排列均匀;②急性期结肠炎小鼠结肠的荧光增强区域在腺体上的分布不一致,排列不均匀,荧光增强区域所占比例减小;③缓解期结肠炎小鼠结肠的荧光增强区域以隐窝开口为中心,呈“菊花状”分布,排列较均匀,但荧光增强区域所占比例减小;④慢性期结肠炎小鼠结肠的荧光增强区域明显减少,分布及排列不规则,荧光增强区域所占比例减小(图1)。

3 讨论

UC是以复发和缓解交替、病变局限于结直肠黏膜层及黏膜下层为特征的免疫紊乱性疾病,其在中国的发病率正处于稳步上升阶段^[3,21]。据报道,结肠癌已成为15% IBD患者的主要死亡原因,通常遵循“炎症—不典型增生—癌变”通路^[2,4]。内镜在UC诊断中发挥着重要作用,但普通白光内镜下对UC患者的随机活检所取组织块数较多、效率低下,因此近年来快速发展的内镜技术如色素内镜(chromoendoscopy, CE)、窄带成像内镜(narrow band imaging, NBI)、细胞内镜(endocytoscopy)、CLE等能更精确、有效地评估黏膜炎症和不典型增生^[4-7]。CE和NBI能够精确评估黏膜炎症,但在评估UC复发和对药物治疗反应方面能力较差;细胞内镜和CLE均能实时提供肠道黏膜的病理评估,但细胞内镜仅能达到50 μm 的表浅黏膜厚度。CLE可有效评价UC的炎症严重程度、复发和黏膜愈合情况,其为单光子



白色三角为隐窝开口,白色箭头为结肠腺体,红色箭头为荧光增强区域。

图1 各组结肠组织未经莫西沙星处理和经莫西沙星处理的MPM图像特征(×200)

短波长激发,通过针孔收集和调节组织的反射光实时在体获得放大1 000倍的生物组织图像。但CLE的弊端同样不可忽视:光散射较多使得组织成像深度有限(250 μm);光毒性和光漂白效应易损伤组织细胞;需使用外源性荧光剂等^[4,7,13]。

MPM是一种新兴的成像技术,已在体外人类和小鼠的结肠黏膜炎症中得到初步应用^[13-14,22]。其原理是以双光子、长波长激发,在组织中的散射远少于CLE所用的短波长光,可获得较深的成像深度;多光子效应仅聚焦于焦平面的点区域,组织的荧光信号收集无需共聚焦针孔调节,可达到更好的信噪比,图像对比度尤其是深层组织成像得到改善。但MPM最大的优势体现在“无标记”组织成像:通过检测细胞中内源性分子NADH或FAD的自体荧光(two-photon excited autofluorescence, TPEF)信号和胶原纤维等非对称结构的二次谐波(second harmonic generation, SHG)信号,无需外源性荧光标记即可提供生物组织的结构信息^[13,22]。虽有如此多的优点,

但MPM仅能提供组织的结构特征而缺乏对功能的判断,且TPEF信号微弱、成像所需的激发光强较大,因此寻找能提高诊断效益、能从功能学和结构学角度实现对组织多维度诊断的方法辅助MPM成像显得极为重要。

莫西沙星是第四代喹诺酮类药物,通过抑制螺旋酶和拓扑异构酶IV的活性,阻止革兰阳性和革兰阴性细菌的DNA复制^[23],可用于预防和治疗眼部、皮肤、呼吸道等一系列细菌感染。莫西沙星具有较高的亲脂性和亲水性,能很好地渗透到组织中,且在细胞内浓度高于细胞外^[24]。本实验所用的莫西沙星溶液即拜复乐注射液,为临床常用的治疗药物,但使用的一个重要不良反应便是光过敏性,可能与莫西沙星具有荧光光敏特性有关。近期已有研究证实莫西沙星可作为MPM成像的显影剂,清楚显示动物的角膜、皮肤、小肠和膀胱^[15-19],与自体荧光相比,所需激发光功率降低至原先的1/4~1/2,细胞内荧光信号强度增大至原先

的7~14倍^[16]。

在前期实验中,我们为探索莫西沙星处理结肠组织的最佳时间,设置了1、2、5、10、20 min这几个时间点,发现莫西沙星浸染2 min的结肠组织MPM成像清晰度及对比度均较高,且无曝光过度现象,因此选择2 min作为本实验莫西沙星浸染结肠组织的时间。经证实,莫西沙星溶液处理过的小鼠正常及炎症结肠组织经MPM成像后均能清晰显示结肠腺体结构,较未经莫西沙星处理的结肠组织而言,所需激发光功率降至1/10而细胞内荧光信号强度增大至3倍左右。经莫西沙星处理的结肠组织成像最显著的特征是存在特定的荧光增强区域,先前一项研究发现莫西沙星处理过的正常小鼠小肠组织同样存在这样的荧光增强区域,并证明了该区域为潘氏细胞^[18],而潘氏细胞为存在于小肠组织的分泌细胞;因此,我们猜测小鼠结肠中的荧光增强区域可能也是一种分泌细胞。急性和慢性炎症状态下,此分泌细胞数量减少、功能降低,而慢性期结肠组织可能损毁更重,导致慢性期荧光增强区域所占比例小于急性期;缓解期结肠组织可能处于向正常结肠组织恢复的阶段,此分泌细胞的功能也在恢复,因而缓解期荧光增强区域所占比例相对较大。由此,我们发现莫西沙星辅助MPM成像可作为判断结肠功能的方法,能够根据荧光增强区域这一特征区别正常小鼠和炎症小鼠的不同阶段。此外,莫西沙星可以标记结肠组织中的大多数细胞,无特异性,只是荧光信号强度不同,而未经莫西沙星处理、仅靠自身荧光经MPM成像的结肠组织相对而言可以分清上皮细胞、细胞核等结构,因此可将经莫西沙星处理和未经莫西沙星处理的MPM图像结合,从腺体结构与功能两个角度区分正常小鼠和炎症小鼠。在之后的实验中,我们将以病理为金标准,判断本文总结的MPM成像特征的诊断效能。如果莫西沙星辅助MPM成像能够在临床中应用,可对UC患者的疾病周期做出精确评估,从而减少内镜下活检、提高诊断效能,并根据不同疾病周期调整给药剂量,更好地达到UC的黏膜愈合。

莫西沙星可有效提高MPM成像效率,并呈现独特的组织功能性鉴别特征,结合多维度的量效和结构特征,可精确诊断区别小鼠生理病理状态。随着内镜成像技术的迅速发展,如果莫西沙星辅助MPM成像能够在临床中应用,可精确评估溃疡性结肠炎患者的疾病周期,从而减少内镜下活检、提高诊断

效能、更好地指导UC患者的用药方案。

[参考文献]

- [1] Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(1): 91-99
- [2] Rubin DC, Shaker A, Levin MS. Chronic intestinal inflammation: inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer[J]. Front Immunol, 2012, 3: 107
- [3] Wei SC, Chang TA, Chao TH, et al. Management of ulcerative colitis in Taiwan: consensus guideline of the Taiwan society of inflammatory bowel disease [J]. Intest Res, 2017, 15(3): 266-284
- [4] Cheon JH. Advances in the endoscopic assessment of inflammatory bowel diseases: cooperation between endoscopic and pathologic evaluations [J]. J Pathol Transl Med, 2015, 49(3): 209-217
- [5] Gabbani T, Manetti N, Bonanomi AG, et al. New endoscopic imaging techniques in surveillance of inflammatory bowel disease [J]. World J Gastrointest Endosc, 2015, 7(3): 230-236
- [6] Stefanescu D, Pereira SP, Filip MM, et al. Advanced endoscopic imaging techniques for the study of colonic mucosa in patients with inflammatory bowel disease [J]. Rom J Intern Med, 2016, 54(1): 11-23
- [7] Kim ES. Role of advanced endoscopic imaging techniques in the management of inflammatory bowel disease [J]. Clin Endosc, 2017, 50(5): 424-428
- [8] Rasmussen DN, Karstensen JG, Riis LB, et al. Confocal laser endomicroscopy in inflammatory bowel disease-a systematic review [J]. J Crohns Colitis, 2015, 9(12): 1152-1159
- [9] Lord R, Burr NE, Mohammed N, et al. Colonic lesion characterization in inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(10): 1167-1180
- [10] Maione F, Giglio MC, Luglio G, et al. Confocal laser endomicroscopy in ulcerative colitis: beyond endoscopic assessment of disease activity [J]. Tech Coloproctol, 2017, 21(7): 531-540
- [11] 何可心,赵黎黎,黄晓阳,等.多光子显微成像技术用于诊断结肠疾病可行性的初步研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(3):201-205,238
- [12] Rogart JN, Nagata J, Loeser CS, et al. Multiphoton imaging can be used for microscopic examination of intact human gastrointestinal mucosa *ex vivo* [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2008, 6(1): 95-101
- [13] Waldner MJ, Rath T, Schurmann S, et al. Imaging of mucosal inflammation: current technological developments, clinical implications, and future perspectives [J]. Front

Immunol, 2017, 8: 1256

[14] Makino T, Jain M, Montrose DC, et al. Multiphoton tomographic imaging: a potential optical biopsy tool for detecting gastrointestinal inflammation and neoplasia [J]. Cancer Prev Res(Phila), 2012, 5(11): 1280-1290

[15] Lee S, Lee JH, Park JH, et al. *In vivo* 3D measurement of moxifloxacin and gatifloxacin distributions in the mouse cornea using multiphoton microscopy [J]. Sci Rep, 2016, 6: 25339

[16] Wang T, Jang WH, Lee S, et al. Moxifloxacin: Clinically compatible contrast agent for multiphoton imaging [J]. Sci Rep, 2016, 6: 27142

[17] Lee JH, Le VH, Lee S, et al. Two-photon microscopy of fungal keratitis-affected rabbit cornea *ex vivo* using moxifloxacin as a labeling agent [J]. Exp Eye Res, 2018, 174: 51-58

[18] Jang WH, Park A, Wang T, et al. Two-photon microscopy of Paneth cells in the small intestine of live mice [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 14174

[19] Lee JH, Kim KH, Lee S, et al. Two-photon microscopy of the mouse peripheral cornea *ex vivo* [J]. Cornea, 2016, 35 (Suppl 1): S31-S37

[20] Wirtz S, Popp V, Kindermann M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation [J]. Nat Protoc, 2017, 12(7): 1295-1309

[21] Cui G, Yuan A. A systematic review of epidemiology and risk factors associated with chinese inflammatory bowel disease [J]. Front Med(Lausanne), 2018, 5: 183

[22] Schurmann S, Foersch S, Atreya R, et al. Label-free imaging of inflammatory bowel disease using multiphoton microscopy [J]. Gastroenterology, 2013, 145(3): 514-516

[23] Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 1997, 61(3): 377-392

[24] Wirtz M, Kleeff J, Swoboda S, et al. Moxifloxacin penetration into human gastrointestinal tissues [J]. J Antimicrob Chemother, 2004, 53(5): 875-877

[收稿日期] 2018-10-19

(上接第580页)

[5] 蔡清霞,常国营,丁宇,等. 儿童Alstrom综合征1例报告及文献复习[J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(4): 278-281

[6] Ozanturk A, Marshall JD, Collin GB, et al. The phenotypic and molecular genetic spectrum of Alstrom syndrome in 44 Turkish kindreds and a literature review of Alstrom syndrome in Turkey [J]. Hum Genet, 2015, 60(1): 1-9

[7] Friedhelm H, Thmoas B, Nicholas K. Ciliopathies [J]. N Engl J Med, 2011, 364: 1533-1543

[8] Vaisse C, Reiter JF, Berbari NF. Cilia and obesity [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2017, 9(7): 1-13

[9] Marshall JD, Muller J, Collin GB, et al. Alstrom syndrome: mutation spectrum of ALMS1 [J]. Hum Mutat, 2015, 36 (7): 660-668

[10] Leitch CC, Lodh S, Prieto-Echagüe V, et al. Basal body proteins regulate Notch signaling through endosomal trafficking [J]. J Cell Sci, 2014, 127: 2407-2419

[11] Shenje LT, Andersen P, Halushka MK, et al. Mutations in Alström protein impair terminal differentiation of cardiomyocytes [J]. Nat Communications, 2014, 5: 3416

[12] Marshall JD, Maffei P, Collin GB, et al. Alstrom syndrome: genetics and clinical overview [J]. Curr Genomics, 2011, 12(3): 225-235

[收稿日期] 2018-11-27