

· 基础研究 ·

## 芳香烃受体缺失对实验性结肠炎的影响及其机制

李佳佳,赵小静,马晶晶,崔秀芳,王 迪,张红杰\*

南京医科大学第一附属医院消化科,江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:探讨芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)缺失在小鼠肠道炎症发生发展中的作用及可能机制。方法:将实验对象分为4组:野生型对照组(WT control)、野生型肠炎组(WT TNBS)、AhR敲基因对照组(AhR<sup>-/-</sup> control)和AhR敲基因肠炎组(AhR<sup>-/-</sup> TNBS)(每组6只)。用2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)建立小鼠急性结肠炎模型,比较各组小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)、结肠长度和组织病理学表现。免疫印迹和免疫荧光实验检测小鼠肠组织中调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)特异性转录因子FoxP3的表达水平,流式细胞术检测小鼠外周血Treg细胞比例。结果:相比于WT小鼠,AhR<sup>-/-</sup>小鼠TNBS造模后肠炎更为严重,体重明显减轻( $P < 0.01$ ),腹泻、便血症状更为突出,DAI评分更高( $P < 0.001$ ),结肠明显缩短( $P < 0.01$ ),组织学评分更重( $P < 0.001$ )。同时,AhR<sup>-/-</sup> TNBS小鼠肠组织FoxP3表达下降( $P < 0.01$ ),外周血Treg细胞比例降低( $P < 0.01$ )。结论:AhR缺失能加重小鼠实验性结肠炎肠道炎症,该作用可能与小鼠肠组织和外周血中Treg细胞减少有关。

**[关键词]** 芳香烃受体;结肠炎;调节性T细胞

**[中图分类号]** R574.62

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)07-956-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200705

## Effects of loss of aryl hydrocarbon receptor on experimental colitis and its mechanism

LI Jiajia, ZHAO Xiaojing, MA Jingjing, CUI Xiufang, WANG Di, ZHANG Hongjie\*

*Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China*

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of loss of aryl hydrocarbon receptor (AhR) on intestinal inflammation and its potential mechanism. **Methods:** Mice were assigned into 4 groups: wild type control group (WT control), wild type colitis group (WT TNBS), AhR knockout control group (AhR<sup>-/-</sup> control) and AhR knockout colitis group (AhR<sup>-/-</sup> TNBS). Acute experimental colitis was established using 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). Disease activity index (DAI) score, colon length and histological score were compared among different groups. The expression of regulatory T cell (Treg) specific transcription factor FoxP3 was measured by Western blot (WB) and immunofluorescence (IF). Proportion of Treg cells in peripheral blood was detected by flow cytometry. **Results:** Compared with WT mice, AhR<sup>-/-</sup> mice experienced much more severe colitis after TNBS administration, manifested by more weight loss ( $P < 0.01$ ), severe diarrhea and bloody stool, higher DAI score ( $P < 0.001$ ), shorter colon length ( $P < 0.01$ ) and poorer histological findings ( $P < 0.001$ ). Also, expression of FoxP3 in the colon and proportion of Treg cells in peripheral blood were much lower in AhR<sup>-/-</sup> TNBS mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Deletion of AhR was found to aggravate experimental colitis. This effect could be associated with the decrease of Treg cells in the colon and peripheral blood.

**[Key words]** aryl hydrocarbon receptor; colitis; regulatory T cell

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(07):956-962]

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种发生于胃肠道的慢性非特异性炎症性疾病,包

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81470827, 81770553)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: hjzhang06@163.com

括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD),病程具有反复性和迁延性<sup>[1]</sup>。IBD的病因和发病机制尚未完全明确,目前认为是环境、微生物、遗传和免疫多因素作用的结果,其中

环境因素是导致IBD发病的基础,环境因素作用于易感人群,导致易感人群对肠腔内微环境产生过度免疫反应,形成以T细胞异常分化与激活为突出表现的肠黏膜免疫紊乱<sup>[2-4]</sup>。

适应性T细胞异常改变,除Th1在CD及Th2在UC发病中的研究外,近年调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)及辅助性T细胞17((T helper cell 17, Th17)的失衡在IBD发病中的作用已成为研究热点之一。Treg细胞是CD4<sup>+</sup>T细胞的一个亚群,表达CD25,且其分化成熟受转录因子FoxP3调控,主要分泌白介素(inteleukin, IL)-10和转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ),发挥抗炎和维持免疫耐受的功能<sup>[5-7]</sup>。IBD患者,尤其是CD患者Treg细胞减少,IL-10和TGF- $\beta$ 等抑炎因子分泌减少,而Th17异常增多,使得IL-17A、IL-17F、IL-21等促炎因子产生增加,最终导致了肠道炎症反应的发生<sup>[8-11]</sup>。然而目前IBD患者体内Th17/Treg分化失衡的机制尚不完全清楚。

芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)是一种配体依赖的转录因子,广泛表达于多种免疫细胞和非免疫细胞,经配体活化后从胞浆转运至胞核,调控下游靶基因的转录,参与细胞生长、分化、炎症、免疫调节等病理生理过程<sup>[12-13]</sup>。

鉴于此,本研究利用AhR敲基因(AhR<sup>-/-</sup>)小鼠建立实验性结肠炎模型,评估AhR缺失对肠道炎症的影响,同时检测不同AhR表达水平对肠组织和外周血中Treg细胞的影响,探讨AhR在结肠炎症形成中的作用及可能机制,以期为IBD的治疗提供可能的新靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

SPF级雄性8~10周龄C57BL/6野生型(WT)小鼠购自南京大学模式动物研究所,AhR<sup>-/-</sup>小鼠购自美国Jackson实验室,在南京大学模式动物研究所繁育至8~10周龄。小鼠饲养和实验操作严格按实验动物饲养及操作规范进行,符合动物实验伦理学原则。2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)(Sigma公司,美国),BCA蛋白检测试剂盒(Thermo公司,美国),强效蛋白裂解液、SDS-PAGE凝胶试剂盒、DAPI、GADPH抗体(上海碧云天公司),AhR抗体(Santa Cruz公司,美国),FoxP3抗体(Cell Signaling Technology公司,美国),荧光二抗(Jackson immunoresearch公司,美国),流式抗体(eBioscience公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 TNBS诱导的结肠炎模型的建立

雄性8~10周龄AhR<sup>-/-</sup>小鼠及WT小鼠,随机分为对照组(WT control, AhR<sup>-/-</sup> control)和TNBS造模组(WT TNBS, AhR<sup>-/-</sup> TNBS),每组各6只。结肠炎模型的建立参考相关文献<sup>[14]</sup>,将小鼠禁食24 h,然后乙醚轻度麻醉并倒立小鼠,予100  $\mu$ L 50%TNBS溶液灌肠,给药结束后使小鼠保持倒立姿势60 s。对照组小鼠给予等体积50%乙醇溶液灌肠。每天观察小鼠饮食活动、毛色、精神状态以及排便情况,称量小鼠体重,粪便隐血试剂盒检测粪便隐血情况。3 d后麻醉小鼠,摘眼球取血并用肝素钠抗凝。脱颈处死小鼠,取结肠,观察结肠外观并测量结肠长度,同时留取炎症最明显处的肠组织于4%多聚甲醛中固定用于制作石蜡切片。

#### 1.2.2 结肠炎严重程度评估

疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分:实验性结肠炎DAI的评估参考相关文献<sup>[15]</sup>,主要包括3个方面:体重变化、大便性状和大便隐血/肉眼血便情况,具体评分标准见表1。

表1 疾病活动指数评分标准

Table 1 Disease activity index (DAI) scoring

评分参数	描述	得分
体重下降	0	0
	>0~5%	1
	>5%~10%	2
	>10%~15%	3
	>15%	4
大便性状	成形	0
	松散/半成形	2
	稀便/不成形	4
大便隐血/肉眼血便情况	正常	0
	隐血阳性	2
	肉眼血便	4

组织学评分:石蜡切片HE染色后参考相关文献进行组织病理学评分<sup>[16]</sup>,主要包括4个方面:炎症严重程度、病变深度、隐窝破坏情况和病变范围,具体评分标准见表2。

#### 1.2.3 免疫荧光(immunofluorescence, IF)检测CD4、AhR、FoxP3的表达

石蜡切片用二甲苯脱蜡,枸橼酸液进行抗原热修复,5%牛血清白蛋白溶液封闭2 h,相应一抗4  $^{\circ}$ C孵育过夜,次日荧光二抗室温孵育1 h, PBS洗3次, DAPI染色3 min, PBS洗3次,抗荧光淬灭剂封片后

表2 组织学评分标准  
Table 2 Histological scoring

评分参数	描述	得分
炎症	无	0
	轻度	1
	中度	2
	重度	3
病变深度	无	0
	累及黏膜层	1
	累及黏膜及黏膜下层	2
	穿透黏膜全层	3
隐窝破坏	无	0
	接近基底膜 1/3 隐窝破坏	1
	接近基底膜 2/3 隐窝破坏	2
	仅上皮结构完整	3
病变范围	隐窝、上皮结构全部破坏	4
	1%~25%	1
	26%~50%	2
	51%~75%	3
	76%~100%	4

激光共聚焦显微镜观察 CD4、AhR、FoxP3 的表达。

#### 1.2.4 免疫印迹 (Western blot, WB) 检测 AhR、FoxP3 表达

取 20 mg 肠组织置于 200  $\mu$ L 强效蛋白裂解液中, 超声匀浆, 4  $^{\circ}$ C 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清, BCA 试剂盒测定蛋白浓度。电泳分离变性蛋白并转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 相应一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日相应二抗常温孵育 1 h, 洗膜 3 次, 最后用 ECL 试剂盒发光成像。

#### 1.2.5 流式细胞术检测外周血 Treg 细胞比例

100  $\mu$ L 小鼠全血, 肝素钠抗凝, 表面标记抗鼠 CD4-FITC、CD25-APC 抗体, 4  $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, 加入 1 mL 红细胞裂解液, 室温 10 min, 流式染色缓冲液清洗 1 次, 加入 1 mL 固定破膜液, 4  $^{\circ}$ C 避光 30 min, 流式染色缓冲液清洗 1 次, 加入抗鼠 FoxP3-PE 抗体, 4  $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min。采用 FACS Calibur 进行检测, 结果采用 Flowjo 10 软件分析。

#### 1.3 统计学方法

使用 SPSS20.0 软件进行统计分析, 计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 实验性结肠炎模型的建立

对照组小鼠在造模第 1 天精神状态一般, 食欲

稍降, 体重出现轻微下降 (WT 小鼠体重平均下降 4.70%, AhR<sup>-/-</sup>小鼠体重平均下降 6.38%), 粪便成形, WT 和 AhR<sup>-/-</sup>小鼠分别有 1 只和 2 只出现大便隐血阳性, 但从第 2 天起上述症状逐渐消失, 小鼠活泼如常。而 TNBS 造模组小鼠在造模期间精神状态较差, 出现蜷缩懒动, 进食减少, 毛发凌乱, 体重下降明显 (造模第 3 天 WT 小鼠体重平均下降 11.56%, AhR<sup>-/-</sup>小鼠体重平均下降 18.21%), WTTNBS 组和 AhR<sup>-/-</sup> TNBS 组分别有 1 只和 2 只小鼠死亡, 其余小鼠出现腹泻或排肉眼血便, DAI 评分明显升高 [WT control vs. WT TNBS: (0.22 $\pm$ 0.17) 分 vs. (2.67 $\pm$ 0.42) 分,  $P < 0.001$ ; AhR<sup>-/-</sup> control vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (0.28 $\pm$ 0.25) 分 vs. (3.61 $\pm$ 0.44) 分,  $P < 0.001$ , 图 1A]; 造模 3 d 后处死各组小鼠, 观察结肠大体形态, 发现对照组结肠外观基本正常, 无充血水肿, 肠腔内可见成形粪便, 而 TNBS 造模组小鼠肠组织可见明显的充血水肿, 部分肠段出现溃疡, 结肠缩短 [WT control vs. WT TNBS: (8.22 $\pm$ 0.36) cm vs. (6.32 $\pm$ 0.68) cm,  $P < 0.001$ ; AhR<sup>-/-</sup> control vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (8.32 $\pm$ 1.14) cm vs. (4.85 $\pm$ 0.42) cm,  $P < 0.001$ , 图 1B、C]。HE 染色结果显示, 对照组小鼠肠组织结构完好, 上皮细胞排列规整, 腺体结构清晰, 而 TNBS 造模组小鼠肠组织破坏严重, 上皮细胞出现变形、脱落, 黏膜层内可见炎症细胞浸润, 炎症累及黏膜下层, 腺体结构紊乱, 隐窝结构受损, 组织学评分显著升高 [WT control vs. WT TNBS: (0.33 $\pm$ 0.52) 分 vs. (9.17 $\pm$ 1.83) 分,  $P < 0.001$ ; AhR<sup>-/-</sup> control vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (0.50 $\pm$ 0.55) 分 vs. (13.00 $\pm$ 0.89) 分,  $P < 0.001$ , 图 1D、E]。以上结果表明, TNBS 诱导的结肠炎模型成功建立。

### 2.2 AhR 缺失加重小鼠肠道炎症形成

与 WT 小鼠相比, 造模后, AhR<sup>-/-</sup>小鼠体重下降更为显著 (WT TNBS vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: 11.56% vs. 18.21%,  $P < 0.01$ ), 肠道症状更为突出 (WT 小鼠 1 只出现腹泻, 2 只出现血便, AhR<sup>-/-</sup>小鼠 2 只出现腹泻, 存活的 4 只均出现血便), DAI 评分明显升高 [WT TNBS vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (2.67 $\pm$ 0.42) 分 vs. (3.61 $\pm$ 0.44) 分,  $P < 0.001$ , 图 1A]。AhR<sup>-/-</sup>小鼠 TNBS 造模后结肠充血水肿较 WT 小鼠更为严重, 部分肠段甚至出现狭窄或扩张, 结肠缩短更明显 [WT TNBS vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (6.32 $\pm$ 0.68) cm vs. (4.85 $\pm$ 0.42) cm,  $P < 0.01$ , 图 1B、C]。HE 染色结果显示, AhR<sup>-/-</sup>小鼠造模后肠黏膜结构破坏严重, 上皮细胞广泛缺失, 炎细胞广泛浸润, 腺体结构紊乱, 呈严重炎症改变, 组织学评分升高更为显著 [WT TNBS vs. AhR<sup>-/-</sup> TNBS: (9.17 $\pm$ 1.83) 分

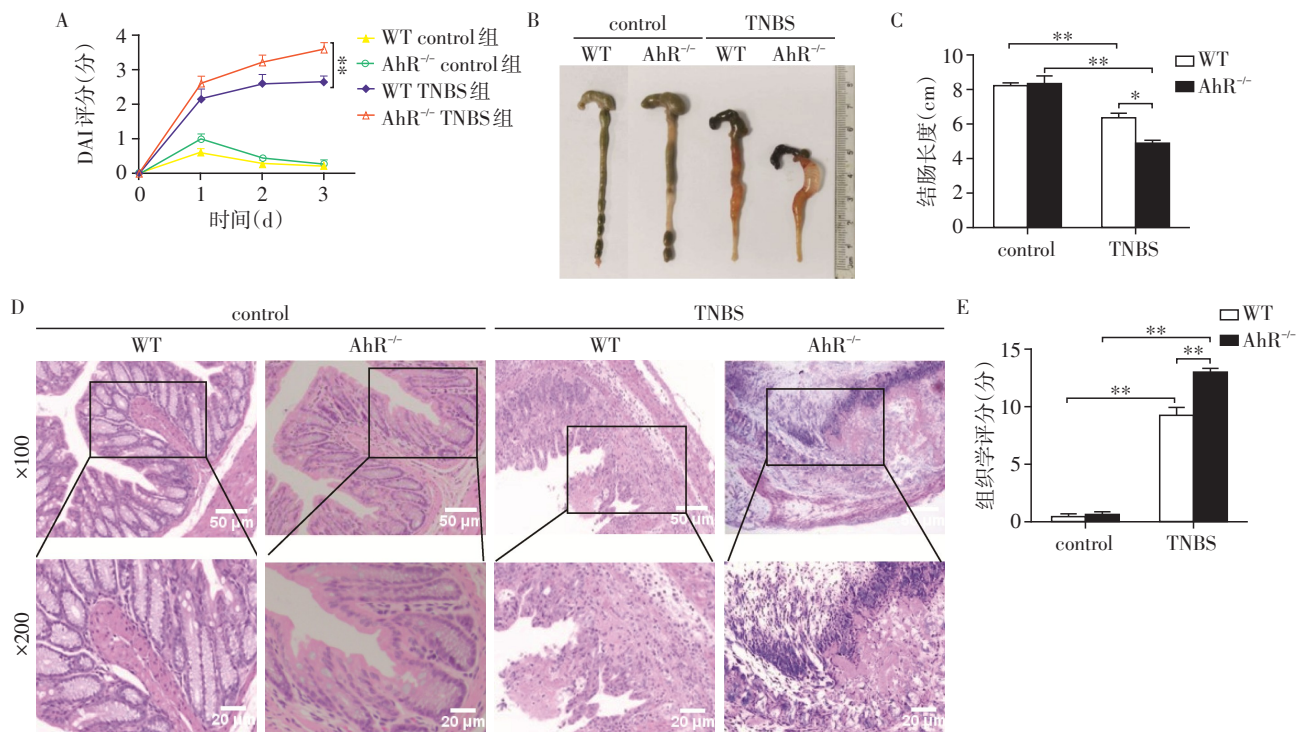


图1 结肠炎严重程度的评估。A: DAI评分; B: 结肠大体外观; C: 结肠长度; D: HE染色图像(低倍:×100, 高倍:×200); E: 组织学评分。两组比较, \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$  ( $n = 6$ )。

图1 结肠炎严重程度的评估  
Figure 1 Evaluation of the severity of colitis

vs. (13.00±0.89)分,  $P < 0.001$ , 图1D、E)。以上结果提示 AhR 缺失加重小鼠肠道炎症形成。

### 2.3 AhR 缺失降低小鼠肠组织中 Treg 细胞比例

为了观察 AhR 对免疫细胞的调控及对肠道炎症的影响,用 WB 和 IF 检测了小鼠肠组织中 AhR 和 Treg 细胞特异性转录因子 FoxP3 的表达,结果显示, TNBS 造模后, WT 小鼠肠组织中 AhR 表达明显下降 ( $P < 0.001$ , 图 2A), CD4<sup>+</sup>T 细胞中 AhR 荧光强度减弱(图 2B), FoxP3 表达也显著下调 ( $P < 0.001$ , 图 2A、C),提示肠道炎症组织中 AhR 表达降低,同时伴 Treg 细胞减少。在 AhR<sup>-/-</sup>TNBS 小鼠中, FoxP3 表达下调较 WT TNBS 更为显著 ( $P < 0.01$ , 图 2A、C),提示 AhR 的减少或缺失可降低肠道炎症组织中具有抑炎作用的 Treg 细胞。

### 2.4 AhR 缺失降低小鼠外周血中 Treg 细胞比例

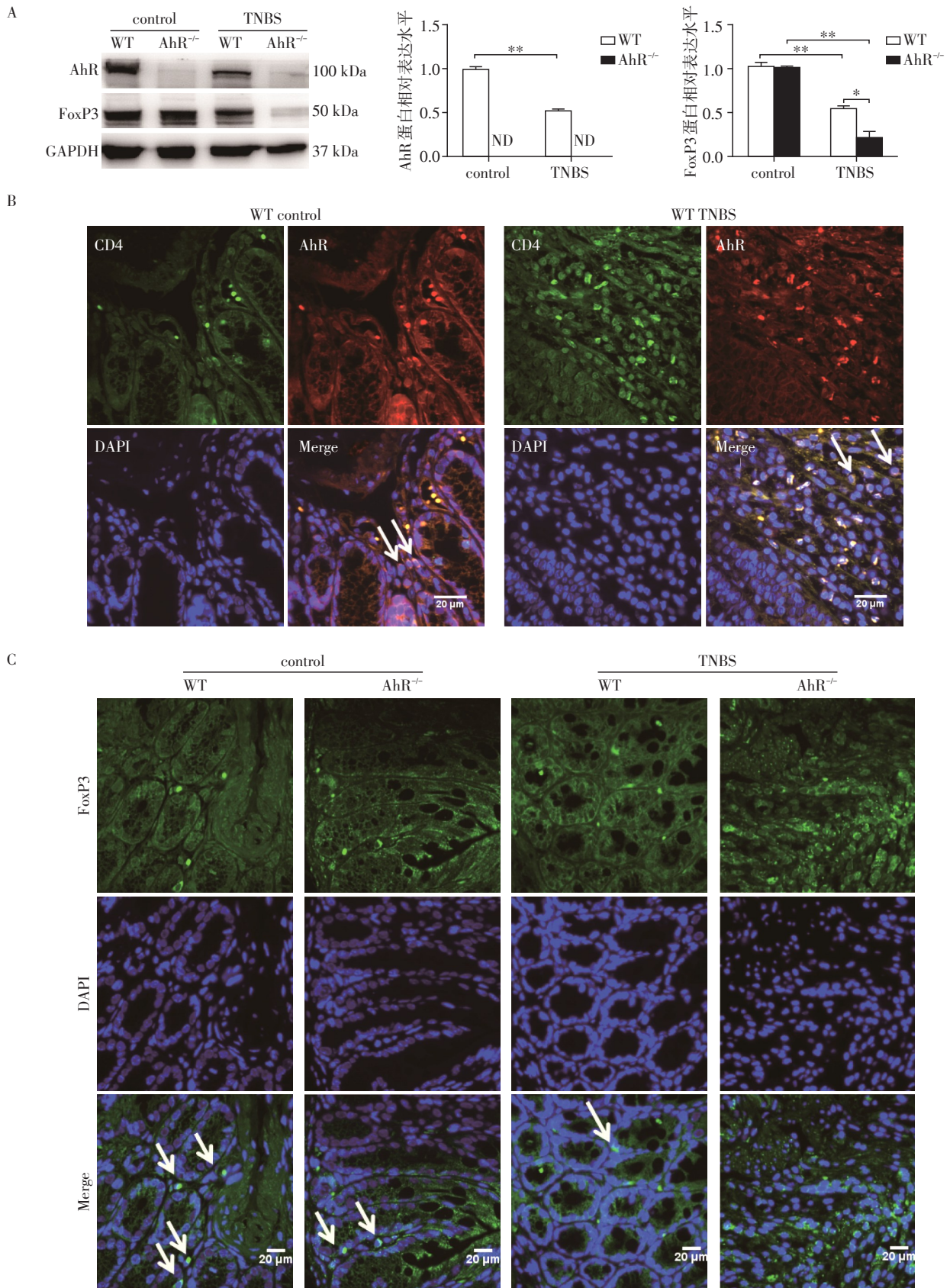
利用流式细胞术,以 CD4、CD25、FoxP3 标记小鼠外周血 Treg 细胞,计算其在外周血中的比例。结果显示,与对照组相比, TNBS 造模组小鼠外周血 Treg 细胞比例明显降低 [WT control vs. WT TNBS: (7.17±0.77)% vs. (5.66±0.31)%,  $P < 0.01$ ; AhR<sup>-/-</sup>control vs. AhR<sup>-/-</sup>TNBS: (6.95±0.60)% vs. (4.28±1.00)%,  $P < 0.001$ , 图 3], 这一变化在 AhR<sup>-/-</sup>TNBS 小鼠中更

为明显 [WT TNBS vs. AhR<sup>-/-</sup>TNBS: (5.66±0.31)% vs. (4.28±1.00)%,  $P < 0.01$ , 图 3], 提示 AhR 减少或缺失可降低小鼠外周血 Treg 细胞比例。

## 3 讨论

TNBS 诱导的小鼠实验性结肠炎是研究 IBD 尤其是 CD 的经典模型,其病理学改变与人类 CD 相似<sup>[17]</sup>。本研究对雄性 8~10 周龄小鼠给予 100 μL 50% TNBS 灌肠以建立实验性结肠炎模型,结果显示 TNBS 造模组小鼠出现精神萎靡、体重下降、腹泻以及便血, DAI 评分升高,同时结肠变短,充血水肿明显,组织病理学评分升高,这些变化与既往 TNBS 结肠炎模型结果相一致<sup>[18-19]</sup>。上述这些结肠炎表现在 AhR<sup>-/-</sup>小鼠中更为突出,提示 AhR 缺失能够加重 TNBS 诱导的结肠炎。

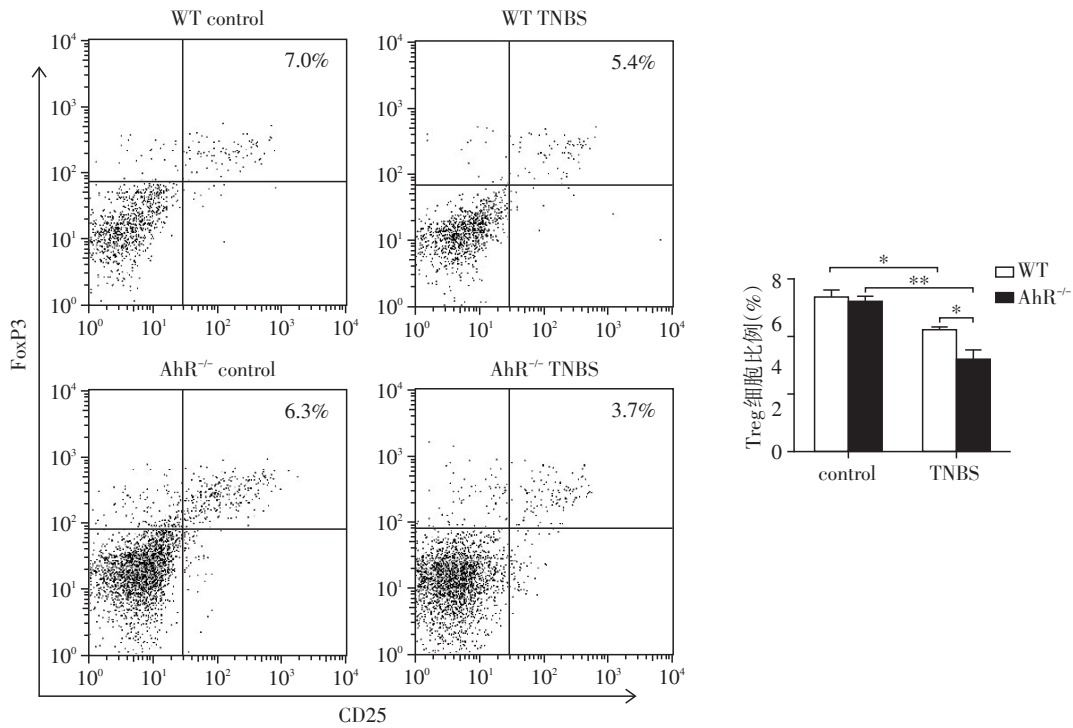
AhR 是芳香烃化合物代谢的关键性转录因子,近年来国内外研究表明, AhR 参与调控诸多免疫细胞如 Treg 细胞、Th17 细胞、固有淋巴细胞等的分化,从而介导了多种免疫性疾病如炎症性肠病、红斑狼疮、银屑病等的发生发展<sup>[20-21]</sup>。研究发现, CD 患者病变肠组织中 AhR 表达减低,活化 AhR 可抑制肠道中的炎症通路,改善肠道炎症<sup>[22]</sup>。近期有研究提



A: WB 检测 AhR 和 FoxP3 表达; B: IF 检测 AhR 表达(×400); C: IF 检测 FoxP3 表达(×400)。ND: 未检测到, 两组比较, \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$  ( $n=6$ )。

图2 结肠组织 AhR 和 FoxP3 的表达

Figure 2 Expressions of AhR and FoxP3 in the colon tissue



流式细胞术检测小鼠外周血Treg细胞比例。两组比较,\* $P < 0.01$ ,\*\* $P < 0.001$ ( $n = 6$ )。

图3 小鼠外周血Treg细胞比例

Figure 3 Proportion of Treg cells in mouse peripheral blood

示,在小鼠关节炎模型中,活化AhR可通过促进Treg细胞分化减轻关节炎<sup>[23]</sup>,在结肠炎中AhR是否也是通过Treg细胞发挥抗炎作用?本研究发现TNBS造模组小鼠肠组织和外周血中Treg细胞减少,这与已报道的研究结果一致<sup>[24-25]</sup>。同时,我们发现在野生型小鼠肠道炎症组织中AhR表达明显下降,敲除AhR可以在加重结肠炎的同时进一步减少小鼠肠组织和外周血中的Treg细胞比例,这些结果提示AhR介导肠道炎症可能是通过调控Treg细胞来实现的。

综上,本研究揭示了AhR缺失可加重肠道炎症损伤,该作用可能与降低肠组织和外周血中Treg细胞比例有关。有关AhR和Treg细胞之间具体的调控通路还有待进一步研究,以期IBD的治疗找到新的靶点。

[参考文献]

[1] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. *Lancet*, 2017, 390(10114): 2769-2778

[2] ANANTHAKRISHNAN A N. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: a review [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(2): 290-298

[3] ANANTHAKRISHNAN A N. Epidemiology and risk factors for IBD [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 12(4): 205-217

[4] LIU J Z, VAN SOMMEREN S, HUANG H, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(9): 979-986

[5] SAKAGUCHI S, YAMAGUCHI T, NOMURA T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance [J]. *Cell*, 2008, 133(5): 775-787

[6] WING J B, TANAKA S, SAKAGUCHI A. Human FOXP3 (+) regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer [J]. *Immunity*, 2019, 50(2): 302-316

[7] GOLUBOVSKAYAL V, WU L J. Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy [J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8(3): 36

[8] GEREMIA A, BIANCHERI P, ALLAN P, et al. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease [J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(1): 3-10

[9] 赵小静,马晶晶,朱云娟,等. 克罗恩病患者外周血Th17/Treg细胞比例、血清炎症活动指标改变及其临床意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(8): 1000-1004

[10] OMENETTI S, PIZARRO T T. The Treg/Th17 axis: A dynamic balance regulated by the gut microbiome [J]. *Front*

- Immunol, 2015, 6: 639
- [11] BRITTON G J, CONTIJOCH E J, MOGNO I, et al. Microbiotas from humans with inflammatory bowel disease alter the balance of gut Th17 and ROR $\gamma$  T(+) regulatory T cells and exacerbate colitis in mice [J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 212-224
- [12] ROTHHAMMER V, QUINTANA F J. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(3): 184-197
- [13] MULERO-NAVARRO S, FERNANDEZ-SALGUERO P M. New trends in aryl hydrocarbon receptor biology [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4: 45
- [14] 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
- [15] SIEGMUND B, LEHR H A, FANTUZZI G, et al. IL-1 beta -converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(23): 13249-13254
- [16] KIM A, BERSTAD H S. Experimental colitis in animal models [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1992, 27(7): 529-537
- [17] RANDHAWA P K, SINGH K, SINGH N, et al. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2014, 18(4): 279-288
- [18] GE Y D, SUN M M, WU W, et al. MicroRNA-125a suppresses intestinal mucosal inflammation through targeting ETS-1 in patients with inflammatory bowel diseases [J]. *J Autoimmun*, 2019, 101: 109-120
- [19] ZHOU Q, COSTINEAN S, CROCE C M, et al. MicroRNA 29 targets nuclear factor -kappaB -repressing factor and Claudin 1 to increase intestinal permeability [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 158-169
- [20] GUTIERREZ-VAZQUEZ C, QUINTANA F J. Regulation of the immune response by the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Immunity*, 2018, 48(1): 19-33
- [21] LAMAS B, RICHARD M L, LEDUCQ V, et al. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands [J]. *Nat Med*, 2016, 22(6): 598-605
- [22] MONTELEONE I, RIZZO A, SARRA M, et al. Aryl hydrocarbon receptor-induced signals up-regulate IL-22 production and inhibit inflammation in the gastrointestinal tract [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(1): 237-248
- [23] YUAN X S, TONG B, DOU Y N, et al. Tetrandrine ameliorates collagen - induced arthritis in mice by restoring the balance between Th17 and Treg cells via the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 101: 87-99
- [24] YANG B H, HAGEMANN S, MAMARELI P, et al. Foxp3 (+) T cells expressing ROR gamma t represent a stable regulatory T-cell effector lineage with enhanced suppressive capacity during intestinal inflammation [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(2): 444-457
- [25] ZHANG M, ZHOU Q, DORFMAN R G, et al. Butyrate inhibits interleukin-17 and generates Tregs to ameliorate colorectal colitis in rats [J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1): 84

[收稿日期] 2019-12-03

(上接第939页)

- [5] ROYBAL K T, RUPP L J, MORSUT L, et al. Precision tumor recognition by T cells with combinatorial antigen-sensing circuits [J]. *Cell*, 2016, 164(4): 770-779
- [6] WU M R, JUSIAK B, LU T K, et al. Engineering advanced cancer therapies with synthetic biology [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(4): 187-195
- [7] CHO J H, COLLINS J J, WONG W W, et al. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses [J]. *Cell*, 2018, 173(6): 1426-1438
- [8] RAJ D, YANG M H, RODGERS D, et al. Switchable CAR-T cells mediate remission in metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Gut*, 2019, 68(6): 1052-1064
- [9] RODGERS D T, MAZAGOVA M, HAMPTON E N, et al. Switch-mediated activation and retargeting of CAR-T cells for B-cell malignancies [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(4): E459-E468
- [10] ZHAO W, JIA L Z, ZHANG M J, et al. The killing effect of novel bi-specific Trop2/PD-L1 CAR-T cell targeted gastric cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8): 1846-1856
- [11] RAPER V. Crafting a more efficient CAR T-cell industry [EB/OL]. (2019-05-01) [2020-03-28]. <https://www.genengnews.com/insights/crafting-a-more-efficient-car-t-cell-industry/>

[收稿日期] 2020-03-28