

黄芩汤对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠 IL-23/IL-17 通路的影响

迟宏罡^{1,2}, 邹颖³, 戴世学⁴, 郑学宝^{2*}

(1. 南方医科大学中医药学院 2010 级博士研究生, 广州 510515;

2. 广东医学院中医教研室, 广东 湛江 524023;

3. 广东医学院中美联合肿瘤研究所, 广东 东莞 523808; 4. 南方医院急诊科, 广州 510515)

[摘要] **目的:**观察黄芩汤对 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的结肠炎大鼠白细胞介素 23(IL-23)/白细胞介素 17(IL-17)通路的影响。**方法:**将 32 只大鼠随机分为正常对照组、TNBS 结肠炎组、TNBS + 黄芩汤治疗组(1.2 g·kg⁻¹)、TNBS + 美沙拉嗪治疗组(10 mL·kg⁻¹, ig), 每组 8 只。除正常对照组外, 其余各组均应用 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)灌肠法建立结肠炎模型, 造模完成后, 各组分别按设计剂量连续给药 1 周。用酶联免疫吸附法(ELISA)分析大鼠血清中白细胞介素 17(IL-17)、白细胞介素 23(IL-23)的水平, 用 real-time PCR 方法检测大鼠结肠组织中 IL-17, IL-17R, IL-23, IL-23R, ROR γ t 的 mRNA 水平。**结果:**黄芩汤治疗能有效降低 TNBS 诱导的结肠炎大鼠血清中 IL-17(262.75 ± 17.19 ng·L⁻¹和 IL-23(56.75 ± 6.20) ng·L⁻¹的蛋白水平, 降低结肠组织中 IL-17(2.606 ± 0.8), IL-17R(5.33 ± 1.10), IL-23(2.16 ± 0.19), IL-23R(3.34 ± 0.70), ROR γ t(0.74 ± 0.17)的 mRNA 水平。**结论:**黄芩汤能有效的调节 TNBS 诱导的结肠炎大鼠 IL-23/IL-17 通路, 这可能是其治疗结肠炎的免疫机制之一。

[关键词] IL-23/IL-17 通路; 结肠炎; 黄芩汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0211-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121029.1643.009.html>

[网络出版时间] 2012-10-29 16:43

Effect of Huangqin Tang on IL-23/IL-17 Pathway in TNBS-induced Colitis

CHI Hong-gang^{1,2}, ZOU Ying³, DAI Shi-xue⁴, ZHENG Xue-bao^{2*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine (TCM) of Southern Medical College, Guangzhou 510515, China;

2. TCM Institute of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China;

3. China-America Cancer Research Institute of Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China;

4. Department of Emergency, Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effects of Huangqin Tang on the IL-23/IL-17 pathway in 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) -induced colitis model. **Method:** SD rats were distributed into four group, containing TNBS-induced colitis, Huangqin Tang (1.2 g·kg⁻¹) or mesalazine treatment group (10 mL·kg⁻¹, ig), negative control with no treatment and the last one was normal sham rats. Except for control group, experimental colitis was induced by rectal instillation of 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) into rats. Drugs were given intragastrically for one week in each group continuously according to respectively-designed doses. The protein expressions of IL-17 and IL-23 in serum were determined by ELISA. The mRNA expressions of IL-17, IL-23, IL-17R, IL-23R and ROR γ t were determined by Real-time PCR. **Result:** Huangqin Tang markedly attenuated TNBS-induced colitis and effectively inhibited the protein expressions of IL-17 (262.75 ± 17.19) ng·L⁻¹ and IL-23 (56.75 ± 6.20) ng·L⁻¹. Furthermore, mRNA levels of IL-17 (2.606 ± 0.8), IL-17R (5.33 ±

[收稿日期] 20120616(004)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81173240)

[第一作者] 迟宏罡, 讲师, 从事中药复方治疗消化道疾病的临床与实验研究, Tel:0769-22896532, E-mail: chihonggang@163.com

[通讯作者] * 郑学宝, 博士, 教授, 从事中药复方治疗消化道疾病的临床与实验研究, Tel:0769-22896613, E-mail: xuebaozheng@sian.com

1.10), IL-23 (2.16 ± 0.19), IL-23R (3.34 ± 0.70), ROR γ t (0.74 ± 0.17) showed a marked reduction after Huangqin Tang treatment. **Conclusion:** Taken together, our findings demonstrate that Huangqin Tang can exert therapeutic effects on TNBS-induced colitis, mediate probably by the IL-23/IL-17 pathway.

[Key words] IL-23/IL-17 pathway; colitis; Huangqin Tang

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性的反复发作的肠道炎症性疾病,包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种类型,临床症状主要有腹痛、腹泻、血便和吸收障碍等^[1]。虽然 IBD 的发病机制尚未完全明确,但是免疫失衡在 IBD 的发生发展中起到重要作用已经得到认可^[2]。Th17 是近年来新发现的 CD4⁺T 细胞亚群,可通过分泌白细胞介素 17(IL-17)等多种效应因子介导炎症反应^[3],与哮喘、风湿性关节炎及 IBD 等多种免疫性疾病的发生密切相关^[4-6]。白细胞介素 23(IL-23)的异二聚体由 IL-12 p40 和 IL-23 p19 组成,其参与了 Th17 细胞的扩增,维持其存活,并促进激活的记忆细胞产生 IL-17^[7-8]。近年来的研究发现,IL-23/IL-17 通路参与了多种免疫性疾病的发生^[9]。动物实验和临床也证明 IL-23/IL-17 通路在 IBD 的发病过程中起到了关键的作用,为 IBD 的治疗提供了新的思路和靶点。

我们的前期研究证实黄芩汤治疗 IBD 疗效较好,实验研究发现黄芩汤具有免疫调节作用^[10-11],鉴于 IL-23/IL-17 通路在 IBD 的发病中的关键作用,本实验旨在探讨黄芩汤是否对 IL-23/IL-17 通路具有调节作用,为黄芩汤治疗 IBD 的免疫调节机制提供理论和实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 32 只(雌雄各半),购自广东省医学实验动物中心,许可证号 SCXK(粤)2008-0002。

1.2 试剂和药物 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS, Sigma 公司), IL-17 和 IL-23 ELISA 试剂盒(R&D System), RT(逆转录)试剂盒、SYBR III GreenER™ qPCR SuperMix Universal(Invitrogen 公司, USA), 黄芩汤原方按照黄芩 9 g, 芍药 6 g, 甘草 6 g, 大枣 12 枚(1 枚大枣重约 4 g), 故一剂黄芩汤生药量约 70 g。黄芩汤免煎剂配制方法:将黄芩配方颗粒 3 g, 芍药配方颗粒 2 g, 甘草配方颗粒 2 g, 大枣配方颗粒 16 g, 共 23 g 配成 11.67% 药液, 中药免煎剂(广东一方制药有限公司 批号 09111173), 美沙拉嗪缓释颗粒剂(爱的发制药公司 批号 04937)。

1.3 仪器 多功能酶标仪(Biotek synergy 2);

Real-time PCR 仪(Bio-Rad 公司); ABI 7500 Real Time 定量 PCR 扩增仪(Applied Biosystem 公司)。

2 方法

2.1 造模方法 参照 Morris^[12] 等方法制作 TNBS 诱导的结肠炎大鼠模型。首先将空腹 24 h 后的大鼠用 10% 水合氯醛腹腔麻醉($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 将大鼠保持仰卧姿势, 利用内径 1.5 mm 的硅胶灌注管经石蜡润滑后, 轻缓插入大鼠肛门至结肠内约 8 cm 处, 注入 1 mL PBS 清洗肠道, 再将 30 mg TNBS 溶于 0.25 mL 50% 无水乙醇中, 注入大鼠结肠。注入完全后, 轻缓地拔出硅胶管, 为确保注入的 TNBS 能够在肠内弥散分布, 注入后使大鼠呈倒立姿势保持 1~2 min, 以保证药物能充分吸收后再将大鼠放入笼内, 自由饮水和饮食。正常对照组大鼠仅注入相应体积的 0.9% 氯化钠溶液灌肠, 其余条件均与 TNBS 组相同。

2.2 动物分组 正常饲养 1 周后, 按完全随机方法将 32 只大鼠随机分为 4 组, 分别为正常组对照($n = 8$)、TNBS 模型组(TNBS, $n = 8$)、TNBS + 黄芩汤治疗组(Huang-qin Tang, HQT, $n = 8$)和 TNBS + 美沙拉嗪治疗组(Mesalazine, $n = 8$)组。

2.3 治疗 黄芩汤给予黄芩汤免煎剂 $1.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每次 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig, 共持续 1 周; 美沙拉嗪组剂量为 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每次 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig, 共持续 1 周; 正常对照组及 TNBS 组大鼠均给予普通饮食饮水而不予治疗。

2.4 标本取材 治疗结束后, 大鼠禁食(不禁水) 24 h, 10% 水合氯醛 ip 麻醉($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)后开腹抽取腹主动脉血约 5 mL, 静置 5 min 后以 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 吸出血清置入 EP 管, $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。采血后立即清理出结肠, 取出距肛门 2 cm 以上 7~8 cm 处结肠段, 沿肠系膜缘剪开肠腔, 用冰冷 PBS 反复冲洗干净, 再用清洁滤纸吸干水分, 取病变最明显处 1 cm 左右, 放入冻存管中编号, 立即放入液氮中速冻, 然后移至 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻保存。再留取各组大鼠结肠病变最明显处组织若干, 在 10% 的福尔马林中固定 24 h, 以备制作病理切片。

2.5 病理切片制作及组织病理学评分 将在 10% 的福尔马林中固定 24 h 以上的结肠组织做病理切

片,HE 染色,光镜下观察溃疡情况,组织病理学评分标准参见表 1^[13]。

表 1 结肠组织病理评分标准

病理改变	评分
未见明显损伤	0
10% 高倍视野中呈低水平淋巴细胞浸润,肠绒毛结构无破坏	1
10% ~ 25% 高倍视野中呈中等水平淋巴细胞浸润,肠隐窝加深,肠壁增厚但未侵及肌层,无溃疡	2
25% ~ 50% 高倍视野中呈高水平淋巴细胞浸润,血管增生,肠壁增厚且侵及肌层,无溃疡	3
明显的淋巴细胞浸润,血管增生,肠隐窝加深变形,肠壁增厚且侵及肌层,伴溃疡	4

2.6 血清中 IL-23 和 IL-17 的表达水平,用 ELISA 方法检测,严格按照试剂盒说明书进行。

2.7 Real-time PCR 检测 准确称量 100 mg 结肠组织,称重,加入少许液氮研碎组织,连续操作 3 次,收集组织粉于 EP 管,按照试剂盒操作提取组织的总 RNA;根据 RT 试剂盒说明书步骤操作,将 RNA 逆转录获取 cDNA,反应体系最后总体积为 20 μ L,在 PCR 仪上 25 $^{\circ}$ C 孵育 10 min,37 $^{\circ}$ C 孵育 50 min,最后 70 $^{\circ}$ C 孵育 15 min 终止反应,产物 cDNA 在 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存;以 2 μ L 提取的 cDNA 为模板,对目的基因进行扩增,引物序列如下:IL-17(5'-CTCAGAC-TACCTCAACCGTTCC-3', 3'-GTGCCTCCCAGATCA-CAGAAG-5'); IL-17R (5'-CACAAGTCCAAGAC-CATCTTAGTG-3', 3'-AGACTTGCTCAGAGTGAAT-GTGAC-5'); IL-23(5'-CACC ACT GGGAGACTCAA-CA-3', 3'-AGGATCTTGGACGGAGAAGA-5'); IL-23R (5'-TTGATGAATTGTGCTCGTT-3', 3'-GTCT-GCGCTGGGATAGTTTC-5'); ROR γ t (5'-TCTG-GAAGCTGTGGGATAGA, 3'-GAGGAGCCTGTG-GAGAAATAC-5'); GAPDH (5'-CTGCCAACGTGT-CAGT-3', 3'-GTTGAGGGCAATGCC-5')。

Real-time PCR 反应体系如下:SYBR 12.5 μ L,cDNA 2 μ L,上游引物 1 μ L,下游引物 1 μ L,ROX Reference Dye 1 μ L,加 DEPC 水至总体积 25 μ L;预变性 95 $^{\circ}$ C 10 min;变性 95 $^{\circ}$ C 15 s,退火 60 $^{\circ}$ C 1 min,扩增 72 $^{\circ}$ C 1 min 共 40 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

2.8 统计学方法 实验采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,首先对数据进行方差齐性检验,方差齐时多重比较采用 LSD 方法检验,如方差

不齐时采用近似 *F* 检验 Welch 法进行方差分析,多重比较采用 Dunnett's T3 方法检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 病理学观察及损伤评分 TNBS 组结肠黏膜上皮坏死脱落,黏膜及黏膜下层可见杯状细胞减少和炎性细胞浸润。各治疗组大鼠结肠组织病理变化较 TNBS 组明显改善,肠壁结构紊乱程度减轻,充血水肿缓解,增生的边缘上皮细胞覆盖溃疡面,主要累及黏膜、黏膜下层,而肌层以下无明显改变,且炎性细胞浸润数量明显减少(图 1)。TNBS 组组织病理学评分与正常对照组比较显著升高($P < 0.001$),各治疗组病理损伤评分明显下降,与 TNBS 组比较有显著差异($P < 0.001$)。见表 2。

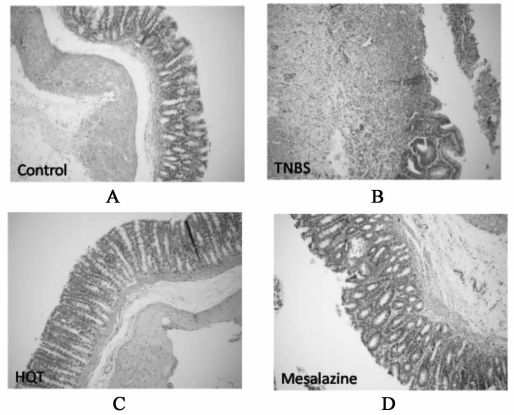


图 1 各组大鼠结肠组织 HE 染色结果(100 \times)

表 2 各组大鼠结肠组织病理学评分($\bar{x} \pm s, n = 8$) 分

组别	剂量/g \cdot kg $^{-1}$	结肠组织病理学评分
正常对照	-	0.13 \pm 0.35
模型	-	3.50 \pm 0.53 ²⁾
黄芩汤	1.2	1.50 \pm 0.53 ⁴⁾
美沙拉嗪	0.1	1.88 \pm 0.64 ⁴⁾

注:与正常对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.001$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.001$ (表 3~4 同)。

3.2 对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠血清 IL-23 和 IL-17 表达的影响 在 TNBS 组大鼠血清中,IL-17 和 IL-23 的表达显著升高,与正常对照组比较有显著差异($P < 0.001$),黄芩汤和美沙拉嗪治疗后,IL-17 和 IL-23 的表达降低,与 TNBS 组比较差异有显著意义($P < 0.001$),见表 3。

3.3 对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠结肠组织 IL-17, IL-23, IL-17R, IL-23R mRNA 表达的影响 与正常对照组比较,TNBS 组大鼠结肠组织中 IL-17 及其受体 IL-17R mRNA 的表达显著升高,差异有统计学意义($P < 0.001$);黄芩汤和美沙拉嗪能显著降低 IL-

表 3 黄芩汤对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠血清 IL-17

和 IL-23 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-17	IL-23
正常对照	-	100.50 ± 6.19	32.00 ± 7.44
模型	-	403.25 ± 6.23 ²⁾	97.50 ± 4.87 ²⁾
黄芩汤	1.2	262.75 ± 17.19 ⁴⁾	56.75 ± 6.20 ⁴⁾
美沙拉嗪	0.1	257.88 ± 20.98 ⁴⁾	58.13 ± 10.02 ⁴⁾

17 和 IL-17R mRNA 表达水平,与 TNBS 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 TNBS 组中,IL-23 和 IL-23R 的表达显著升高,与正常对照组比较差异有

表 4 黄芩汤对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠结肠 IL-17, IL-23, IL-17R, IL-23R, ROR γ t mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-17	IL-17R	IL-23	IL-23R	ROR γ t
正常对照	-	0.27 ± 1.85	0.82 ± 0.47	0.80 ± 0.09	1.27 ± 0.22	0.26 ± 0.13
模型	-	10.81 ± 2.10 ²⁾	6.60 ± 1.11 ²⁾	2.84 ± 0.34 ²⁾	4.80 ± 1.23 ²⁾	1.53 ± 0.45 ²⁾
黄芩汤	1.2	2.606 ± 0.8 ⁴⁾	5.33 ± 1.10 ³⁾	2.16 ± 0.19 ³⁾	3.34 ± 0.70 ⁴⁾	0.74 ± 0.17 ⁴⁾
美沙拉嗪	0.1	6.157 ± 1.46 ⁴⁾	4.52 ± 0.97 ⁴⁾	2.14 ± 0.39 ³⁾	3.47 ± 0.77 ⁴⁾	0.61 ± 0.31 ⁴⁾

4 讨论

炎症性肠病是一种慢性复发性肠道慢性炎症,以肠道黏膜 T 细胞功能紊乱为特征,最终导致远端小肠和结肠黏膜的损坏。一般来说 UC 是免疫、遗传、环境及肠道细菌等多因素共同作用的结果^[14]。在 IBD 的免疫学机制研究中,近年来的研究发现,IL-23/IL-17 通路在 IBD 的发病机制中起到了非常重要的作用,有可能成为治疗 IBD 的新靶点^[15]。目前,西医治疗 IBD 常用的治疗方法主要包括水杨酸类制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂、抗生素及手术切除等,其目的是减轻患者肠道炎症反应、恢复肠道正常营养吸收功能、维持和改善患者的生活质量、防止复发及恶变^[16]。但是这些药物并非完全有效,长期应用也会产生诸多不良反应及副作用。中医药治疗 IBD 有其独特的优势,因此,从中医药中探寻有效的治疗 IBD 的方剂具有重要意义^[17]。我们的研究发现,黄芩汤能够对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠 IL-23/IL-17 通路起到调节作用,这可能是治疗 IBD 发挥免疫调节的机制之一。

Th17 细胞是 2005 年新发现的 CD4⁺ T 细胞亚群,由天然 T 细胞前体分化而来,具有独特的分化和发育机制,并特异性产生 IL-17 效应因子,ROR γ t 是影响 Th17 分化的重要转录因子,Th17 在炎症反应、肿瘤及自身免疫性疾病中影响广泛而备受关注^[3]。IL-23 属于 IL-12 家族,由抗原递呈细胞如树突状细胞和巨噬细胞产生,虽然 IL-23 不能诱导初始 T 细胞分化为 Th17 细胞,并不是 Th17 分化的必要条件,但 IL-23 在 Th17 细胞的扩增和维持其存活

统计学意义 ($P < 0.001$),黄芩汤组和美沙拉嗪组中 IL-23 和 IL-23R 的表达降低,与 TNBS 组比较差异有显著意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

3.4 对 TNBS 诱导的结肠炎大鼠结肠组织 ROR γ t mRNA 表达的影响 与正常对照组比较,TNBS 组大鼠结肠组织中 ROR γ t mRNA 表达显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.001$);黄芩汤和美沙拉嗪治疗后,ROR γ t mRNA 表达降低,与 TNBS 组比较有显著差异 ($P < 0.001$)。见表 4。

中意义至关重要。研究发现 IL-17 缺失可抵抗 DSS 诱导的结肠炎,说明了 IL-17 在肠道炎症中具有重要的致病作用。此外,近年来的研究发现,IL-23 极其受体 IL-23R 以及 ROR γ t 在 Th17 的分化和维持中起到了关键的作用,并与 IBD 的发病密切相关^[18-19]。在 IBD 患者的炎症肠组织中,可见 IL-23 高表达^[20],另外,在活动期 IBD 患者结肠黏膜中 IL-17A mRNA 表达升高^[21]。应用单克隆抗体抑制 IL-23p19 可有效的预防并治疗实验性结肠炎^[22],用抗 IL-17mAb 中和 IL-17 也可以有效的抑制结肠炎的发生和发展^[23]。因此,IL-23/IL-17 通路可能是介导 IBD 的关键途径,有望成为临床治疗 IBD 的新靶点。

黄芩汤是治疗胃肠道疾病的经典方剂,首见于《伤寒论·辨太阳病脉证并治》,多用于治疗腹痛下重,大便不爽的热痢、泄泻等证,后世治痢之方多由此方化裁而来,故《医方集解》称黄芩汤为“万世治痢之祖”。虽然临床和实验研究证实黄芩汤治疗 IBD 有较好的效果,并发挥了一定的免疫调节作用,但是其治疗机制尚未完全明确^[11, 24]。在本实验中,我们成功的复制了 TNBS 诱导的结肠炎大鼠模型,在 TNBS 模型组中,大鼠血清中 IL-17 和 IL-23 的表达升高,IL-17 的升高更为显著,在结肠组织中可见 IL-17,IL-23 极其受体 IL-17R 和 IL-23R mRNA 高表达。同时,影响 Th17 分化的特异性转录因子 ROR γ t 表达也显著升高,说明 IL-17,IL-23 介导了 TNBS 诱导的结肠炎炎症的发生。黄芩汤和美沙拉嗪治疗能够有效的抑制血清中 IL-17 和 IL-23 的表达,并能够对结肠组织中的 IL-17、IL23 的 mRNA 表达起到抑

制作用。进一步研究发现,黄芩汤和美沙拉嗪也能抑制 IL-17R 和 IL23R 以及 ROR γ t 的 mRNA 表达。这些研究结果说明黄芩汤对与 IBD 发病机制密切相关的 IL-23/IL-17 通路具有一定的调节作用。

综上所述,黄芩汤能够对 TNBS 诱导的结肠炎具有较好的保护作用,或许是通过 IL-23/IL-17 通路的调节作用来发挥的。这可能黄芩汤治疗 IBD 的免疫调节机制之一,其深层机制有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Glocker E, Grimbacher B. Inflammatory bowel disease; is it a primary immunodeficiency? [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(1): 41.
- [2] Yousef M, Pichyangkura R, Soodvilai S, et al. Chitosan oligosaccharide as potential therapy of inflammatory bowel disease; Therapeutic efficacy and possible mechanisms of action [J]. *Pharmacol Res*, 2012,66(1):66.
- [3] Dang E V, Barbi J, Yang H Y, et al. Control of T(H) 17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Cell*, 2011, 146(5): 772.
- [4] Wei B, Zhang H, Li L, et al. T helper 17 cells and regulatory T-cell imbalance in paediatric patients with asthma[J]. *J Int Med Res*, 2011, 39(4): 1293.
- [5] Zhang L, Li Y G, Li Y H, et al. Increased Frequencies of Th22 Cells as well as Th17 Cells in the Peripheral Blood of Patients with Ankylosing Spondylitis and Rheumatoid Arthritis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e31000.
- [6] Raza A, Yousaf W, Giannella R, et al. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2012, 8(2): 161.
- [7] Oppmann B, Lesley R, Blom B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12 [J]. *Immunity*, 2000, 13(5): 715.
- [8] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells [J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 235.
- [9] Langrish C L, Chen Y, Blumenschein W M, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2): 233.
- [10] 邹颖,迟宏罡,戴世学,等. 黄芩汤对湿热型溃疡性结肠炎大鼠 Th1/Th2 细胞因子的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(11): 2608.
- [11] 郑学宝,封艳玲,刘洪波,等. 黄芩汤对湿热型溃疡性结肠炎大鼠 CD4⁺T 细胞及其共刺激分子的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011,17(1):169.
- [12] Morris G P, Beck P L, Herridge M S, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795.
- [13] Neurath M F, Fuss I, Kelsall B L, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice [J]. *J Exp Med*, 1995, 182(5): 1281.
- [14] 熊永爱,韩丽,王森,等. 氧化苦参碱干预 I κ B- α 蛋白对溃疡性结肠炎的治疗作用机制研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012,18(8):152.
- [15] Geremia A, Jewell D P. The IL-23/IL-17 pathway in inflammatory bowel disease [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 6(2): 223.
- [16] Bianchi Porro G, Cassinotti A, Ferrara E, et al. Review article: the management of steroid dependency in ulcerative colitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007, 26(6): 779.
- [17] 邢之华,蒋荣鑫. 三皮汤对小鼠溃疡性结肠炎模型 IL-2 和 IL-10 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009,15(9):67.
- [18] Kullberg M C, Jankovic D, Feng C G, et al. IL-23 plays a key role in Helicobacter hepaticus-induced T cell-dependent colitis [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(11): 2485.
- [19] Uhlig H H, McKenzie B S, Hue S, et al. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology [J]. *Immunity*, 2006, 25(2): 309.
- [20] Fuss I J, Becker C, Yang Z, et al. Both IL-12p70 and IL-23 are synthesized during active Crohn's disease and are down-regulated by treatment with anti-IL-12 p40 monoclonal antibody [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12(1): 9.
- [21] Fujino S, Andoh A, Bamba S, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2003, 52(1): 65.
- [22] Elson C O, Cong Y, Weaver C T, et al. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7): 2359.
- [23] Feng T, Qin H, Wang L, et al. Th17 cells induce colitis and promote Th1 cell responses through IL-17 induction of innate IL-12 and IL-23 production [J]. *J Immunol*, 2011, 186(11): 6313.
- [24] 于小凤,吕行政,董委波. 黄芩汤治疗溃疡性结肠炎临床观察 [J]. *中国中医急症*, 2010, 19(9): 1510.

[责任编辑 聂淑琴]