

# 三硝基苯磺酸诱导小鼠溃疡性结肠炎模型制备的技术改良

徐阳, 李伟光, 刘海峰, 张成岗

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)属于非特异性炎症性肠病,在我国UC发病率逐年升高,临床上也缺乏特异性的治疗药物。因此,优化小鼠UC造模方法,开展动物实验对UC发病机制及治疗药物的相关研究,具有极为重要的意义。

徐阳, 刘海峰, 辽宁医学院武警总医院研究生培养基地 武警总医院消化内科 北京市 100039

徐阳, 李伟光, 张成岗, 中国人民解放军军事医学科学院放射与辐射医学研究所 蛋白质组学国家重点实验室 全军军事认知与心理卫生研究中心 北京市 100850

徐阳, 硕士研究生, 主要从事消化系统疾病相关研究。

作者贡献分布: 本文由徐阳撰写; 李伟光、张成岗及刘海峰审校。  
通讯作者: 刘海峰, 教授, 100039, 北京市, 武警总医院消化内科。  
haifengliu333@163.com

电话: 010-66930210

收稿日期: 2011-09-06 修回日期: 2011-11-20

接受日期: 2011-12-28 在线出版日期: 2012-01-18

## Preparation of a mouse model of TNBS-induced ulcerative colitis: technology improvement and optimal dose exploration

Yang Xu, Wei-Guang Li, Hai-Feng Liu, Cheng-Gang Zhang

Yang Xu, Hai-Feng Liu, Department of Gastroenterology, Graduate Cultivation Base, Armed Police General Hospital of Liaoning Medical University, Beijing 100039, China

Yang Xu, Wei-Guang Li, Cheng-Gang Zhang, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences; State Key Laboratory of Proteomics; Research Center for Military Cognition and Mental Hygiene of Chinese PLA, Beijing 100850, China

Correspondence to: Hai-Feng Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Graduate Cultivation Base, Armed Police General Hospital of Liaoning Medical University, Beijing 100039, China. haifengliu333@163.com

Received: 2011-09-06 Revised: 2011-11-20

Accepted: 2011-12-28 Published online: 2012-01-18

## Abstract

**AIM:** To establish a mouse model of 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced colitis using the "gavage needle" instead of "silicone tube", and to explore the optimal dosage and induction time of TNBS.

**METHODS:** Forty SPF male Balb/c mice were randomly and equally divided into five groups: normal control group and four TNBS groups (treated with 37.5, 75, 150, and 200 mg/kg of TNBS). Four mice in each group were killed on

days 2 and 4 after model induction to observe the physical status and evaluate pathologic changes in the colon.

**RESULTS:** No death occurred during the "gavage needle"-based modeling preparation. The control group showed no abnormalities. Higher doses of TNBS induced more severe congestion, hemorrhage, edema, inflammation and ulcer in the colon mucosa. Colonic tissue edema, inflammatory cell infiltration, goblet cell deletion, and formation of ulcer were aggravated significantly as the dosage of TNBS increased. The above mentioned features recovered from day 2 after model induction in mice treated with 37.5 and 75 mg/kg of TNBS, but showed no obvious alterations on day 4 after model induction in mice treated with 150 and 200 mg/kg of TNBS.

**CONCLUSION:** The "gavage needle"-based method could improve efficiency and increase stability in preparing the mouse model of TNBS-induced ulcerative colitis.

**Key Words:** Ulcerative colitis; Gavage needle; 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid

Xu Y, Li WG, Liu HF, Zhang CG. Preparation of a mouse model of TNBS-induced ulcerative colitis: technology improvement and optimal dose exploration. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(2): 106-112

## 摘要

**目的:** 改良2, 4, 6-三硝基苯磺酸(TNBS)硅胶管灌肠诱导制备小鼠溃疡性结肠炎(UC)模型的方法, 提高造模的成功率和模型的稳定性, 并探索造模的适宜剂量和时间。

**方法:** 选用40只SPF级♂Balb/c小鼠, 6-8周龄, 随机分为正常对照组、不同浓度TNBS组(37.5 mg/kg、75 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg), 每组8只, 使用“灌胃针”替代“硅胶管”灌肠, 并于灌肠后2 d和4 d分别处死4只小鼠, 观察不同组别小鼠生理状态、结肠组织的

## ■同行评议者

程斌, 教授, 主任医师, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科

损伤及病理学的改变情况。

**结果:**在“灌胃针”造模过程中未发生小鼠死亡现象;对照组小鼠一般情况及结肠黏膜组织无异常改变;小鼠灌肠后出现少食、少动、体质量下降、皮毛光泽度下降、腹泻、便血。不同浓度TNBS造模组随着TNBS剂量的增加,小鼠结肠黏膜组织出现充血、出血、水肿、炎症、溃疡的程度增加。HE染色可见结肠组织水肿、炎症细胞浸润、杯状细胞缺失、溃疡形成的程度逐渐增加。其中TNBS 37.5 mg/kg、75 mg/kg组于造模后2 d,以上损伤现象开始缓解,未形成稳定的UC模型;150 mg/kg、200 mg/kg组持续时间较长,以上损伤现象4 d内未见明显缓解,150 mg/kg组表现为较典型的UC模型,200 mg/kg为重症UC模型。

**结论:**对制造小鼠UC模型进行相关技术改进,使灌肠更加简便,提高造模效率,显著增加了模型的稳定性。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 灌胃针; 三硝基苯磺酸

徐阳, 李伟光, 刘海峰, 张成岗. 三硝基苯磺酸诱导小鼠溃疡性结肠炎模型制备的技术改良. 世界华人消化杂志 2012; 20(2): 106-112

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/106.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种以黏膜及黏膜下层浸润为主、特发于大肠的慢性非特异性炎症, UC的发病机制至今还不十分明确,已有研究报道可能与免疫、遗传、自由基损伤等因素相关<sup>[1-3]</sup>。目前, UC在欧美国家比较常见,近年来在我国的发病率也呈持续上升趋势<sup>[4-6]</sup>。到目前为止,临床上尚无有效的UC治疗药物和治疗方法,针对UC治疗药物和治疗方法的研究,主要建立在UC动物模型基础之上。因此,操作简便、效果明显、稳定性高、易重复的UC动物模型就显得尤为重要。其中, 2, 4, 6-三硝基苯磺酸(2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)诱导的小鼠UC模型是目前比较公认的模式,此模型于1984年由Morris首次成功建立<sup>[7-9]</sup>,常被用来作为UC的病理和药效相关研究<sup>[10-12]</sup>。本文在现有TNBS诱导UC模型形成的基础上,进行了相关技术改进,同时本方法探索了利用TNBS建立UC模型的适宜剂量和时间。利用本方法建立UC模型,具有造模难度小、效率高、模型的稳定性和一致性较好的优点,提高了在此基础上进行的UC

相关研究的可信度,为后续治疗药物和治疗方法的研究奠定了重要基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ SPF级Balb/c小鼠, 6-8周龄, 体质量18-22 g, 由军事医学科学院实验动物中心提供; 麻醉机(北京益仁恒业科技有限公司)、TNBS(Sigma公司)、小鼠灌胃针(北京健力园医疗器械有限公司)、液体石蜡(国药集团化学试剂北京有限公司)、1 mL注射器(山东新华安德医疗用品有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 TNBS溶液配置和动物分组:**于冰盒上用380 g/L的乙醇溶液配制分别含TNBS 37.5 mg/kg、75 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg的混合液体;将40只小鼠随机分为对照组、TNBS 37.5 mg/kg、75 mg/kg、150 mg/kg、200 mg/kg组,每组8只。各组小鼠适应性喂养1 wk,造模前禁食36 h,自由饮水。造模前1 h称质量,计算给药剂量。

**1.2.2 动物麻醉:**将麻醉机氧气流量调节至0.5-0.7 L/min后,将小鼠转移至透明麻醉箱中,异氟烷浓度调节至4%-5%进行麻醉。若小鼠出现躁动、不安及动作异常等现象,再持续麻醉1-2 min后将小鼠放至麻醉台上。将异氟烷浓度调节至1-2%,麻醉开关选择至维持麻醉管,用维持麻醉管前端胶皮漏斗罩住小鼠口鼻以维持麻醉,观察小鼠若安静仰卧,呼吸平稳,则麻醉成功。

**1.2.3 造模:**用1 mL注射器针管连接小鼠灌胃针,液体石蜡润滑灌胃针外壁,按体质量吸取适量灌肠液。将灌胃针缓缓插入小鼠肛门口,当深度到达2 cm左右时轻推注射器,边缓慢注射药物,边继续向肛门内推进灌胃针,当灌胃针推进4-5 cm左右深度时,即可将药物完全注射至小鼠结肠内。为确保注入的TNBS能在大肠内弥散分布,可将小鼠尾部缓缓提起,使小鼠身体和麻醉台面呈45-60°夹角放置,持续1 min左右。分别于灌肠2 d、4 d后颈椎脱臼处死4只小鼠,分离小鼠全结肠,观察肠壁大体形态后,沿肠系膜剪开肠腔,观察结肠黏膜组织的一般状态。生理盐水冲洗后留取远端结肠,于福尔马林溶液中固定1-2 d后,HE染色,做病理组织切片。

**1.2.4 造模成功标准:**若模型建立成功,小鼠将出现以下症状:(1)生理状态:小鼠将出现少食、少动、体质量下降、腹泻、便血(垫料上可见血迹)、皮毛的光泽度下降等现象;(2)小鼠结肠黏膜将出现明显的充血、水肿、出血、炎症及溃

## ■ 研发前沿

三硝基苯磺酸(TNBS)是一种有机酸半抗原,与肠道组织蛋白结合后可诱发机体发生免疫反应导致结肠炎的发生,常用来复制溃疡性结肠炎(UC)的动物模型。

## ■创新盘点

本文对现有UC造模方法进行技术改良及剂量探索,提高UC动物模型制造的效率和可信度。

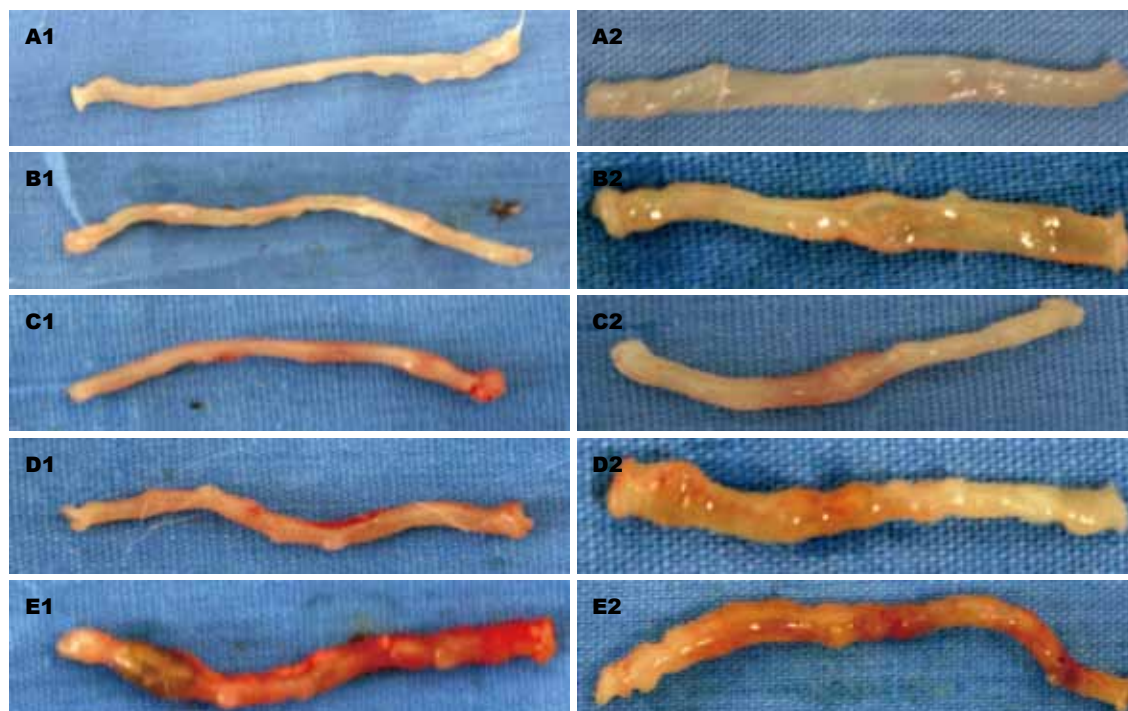


图 1 利用“灌胃针”使用TNBS造模后第2天、第4天结肠外表面大体外观图. A: 对照组; B-E: 37.5、75、150、200 mg/kg TNBS处理组. 1: 第2天; 2: 第4天.

表 1 结肠黏膜组织损伤评价标准

分数	肉眼观察结肠标准
0	无损伤
1	黏膜充血、水肿、无溃疡
2	黏膜充血、水肿、轻度糜烂, 无溃疡
3	黏膜充血、水肿、中度糜烂, 有单个溃疡
4	黏膜充血、水肿、高度糜烂, 有多个溃疡
5	黏膜充血、水肿、重度糜烂, 有多个溃疡

表 2 各组小鼠结肠黏膜损伤评分比较

分组	造模后第2天	造模后第4天
对照组	0	0
TNBS 37.5 mg/kg组	1	0
TNBS 75 mg/kg组	2	1
TNBS 150 mg/kg组	3	2
TNBS 200 mg/kg组	4	2

疡的形成; (3)结肠组织将出现细胞结构紊乱、杯状细胞消失、淋巴细胞和中性粒细胞等炎症细胞浸润的现象(表1)。

## 2 结果

**2.1 造模后一般情况** 对照组小鼠一般生理情况良好; TNBS灌肠后, 小鼠均出现少食、少动、体质量下降、皮毛光泽度下降、腹泻、便血等现象. 其中TNBS 37.5 mg/kg、75 mg/kg组以上现象于2 d后有所好转, 150 mg/kg、200 mg/kg组4 d内上述现象持续存在, 无明显好转迹象. 对照组小鼠未见以上改变。

**2.2 造模后结肠一般形态及结肠黏膜组织外观** 灌肠后小鼠结肠充血、出血、水肿、炎症, 溃疡形成. 各造模组随TNBS剂量的增加, 以上损伤程度逐渐增加(图1, 2, 表2), 其中37.5 mg/kg、75

mg/kg组上述损伤于造模后2 d开始缓解, 而150 mg/kg、200 mg/kg组4 d内上述损伤无明显缓解(图2, 3, 表2); 150 mg/kg组表现为较典型的UC症状, 200 mg/kg表现为重症UC模型. 对照组小鼠结肠黏膜组织光滑, 未见以上损伤出现。

**2.3 各组小鼠结肠黏膜病理组织学观察** 显微镜下可见小鼠肠组织水肿、细胞排列紊乱, 炎症细胞浸润、杯状细胞缺失, 溃疡形成. 各造模组随TNBS剂量的增加以上损伤程度逐渐增加, 其中37.5 mg/kg、75 mg/kg组于造模后4 d以上现象有所缓解; 150 mg/kg、200 mg/kg组4 d内以上现象无明显变化(图3). 150 mg/kg组表现为较典型的UC症状, 200 mg/kg表现为重症UC模型. 对照组小鼠结肠组织细胞排列整齐、结构完整、腺体丰富, 无杯状细胞缺失及炎性细胞浸润。

**2.4 技术改良前后造模效率及造模效果比较**

**2.4.1 麻醉方法改良前后比较:** 传统动物麻醉方

表 3 改良前后麻醉方法比较

	麻醉机吸入麻醉	人工吸入麻醉	腹腔注射麻醉
麻醉药物	异氟烷	乙醚	异戊巴比妥
麻醉起效时间(min)	1	5	30
麻醉剂量	0.5–0.7 nL/min	较难控制流量	2%, 40 mg/kg
麻醉维持时间	可控	不稳定且难维持	2–3 h
优缺点比较	操作简单、刺激性小、效果稳定	操作困难、稳定性差、效果较难维持	药物的浓度和剂量较难控制, 对动物的刺激性大, 动物死亡率高

■应用要点  
利用灌胃针替代硅胶管作为TNBS灌肠诱导小鼠溃疡性结肠炎发生的工具, 可应用于UC动物模型制造, 提高了造模效率和模型的稳定性.

表 4 改良前后两种灌肠器材比较

	灌胃针	硅胶管
价格	7元/只, 可重复使用	300元/米, 不可重复使用
内径(mm)	1.5	2.0
与1 mm注射器连接情况	连接紧密	有缝隙存在
平均溢液量	<5%	>50%
材质	金属(铜、锡), 有一定硬度, 经石蜡润滑后较易插入肛门	硅胶, 较软, 不易插入肛门, 石蜡润滑效果不明显

表 5 其他相关技术改良前后造模效果分析

	技术改良前	技术改良后
动物选择	一般为大鼠, 20元/只, 对灌肠液敏感性差, 造模时间长	选用小鼠, 12元/只, 对灌肠液敏感, 造模时间短
灌肠前禁食时间	24 h, 灌肠时仍有粪便排出, 影响造模效果	36 h, 灌肠时基本无粪便排出, 造模效果较好
灌肠前准备工作	未使用石蜡润滑灌肠器材, 操作困难	使用石蜡润滑灌肠器材表面, 操作顺利

法有人工吸入麻醉及腹腔注射麻醉2种方法<sup>[13-15]</sup>, 腹腔注射麻醉常用药物为2%异戊巴比妥钠, 40 mg/kg, 注射有30 min起效, 可维持2-3 h, 该麻醉方法麻醉效果稳定, 但麻醉时间和苏醒时间过长, 对动物伤害性刺激较大, 不易把握药物的浓度和剂量, 麻醉后动物容易造成意外死亡, 适用于动物小型手术实验; 人工吸入麻醉常用脱脂棉球蘸取乙醚放入广口瓶中, 再将小鼠头部伸入广口瓶进行麻醉, 此种麻醉方法相较腹腔注射麻醉方法, 对小鼠的刺激较小, 死亡率较低, 但麻醉剂量较难控制, 效果不容易维持, 操作困难且广口瓶密闭效果差, 乙醚挥发后易对实验环境造成污染; 通过麻醉机进行吸入麻醉对动物本身刺激较小, 机器控制流量使麻醉效果得到较好的维持且操作简便, 是较好的麻醉方法(表3).

2.4.2 灌肠器材改良前后比较: TNBS灌肠诱导小鼠UC形成的传统器材为硅胶管(图4), 其与1 mL注射器连接不紧密, 推动1 mL注射器灌肠过程

中, 灌肠液容易从连接缝隙处溢出, 影响造模效果及模型的稳定性. 改良后灌肠器材为灌胃针, 其与1 mL注射器连接紧密, 基本无溢液现象, 造模效果良好, 模型稳定性高, 是比较好的造模器材(表4).

2.4.3 其他技术改良及效果: 除灌肠器材和麻醉方式外, 对动物选择和禁食时间的把握等方面, 也进行了一系列技术改良(表5), 经过改良后, 整体模型制造成本降低, 造模过程简便, 模型制造时间缩短, 所制模型稳定性好.

### 3 讨论

UC的发病病因至今未明. 以往研究中, 有学者提出一系列证据, 证明UC可能为一种自身免疫性疾病或其发病与自身免疫系统的过度免疫相关<sup>[16,17]</sup>. UC患者的血清中, 抗中性粒细胞胞质抗体(ANCA)阳性率可达50%-85%, 提示UC患者机体中存在免疫紊乱<sup>[18,19]</sup>. 生理情况下, T细胞识别抗原后通过发挥细胞毒作用及分泌细胞因子而



### ■同行评价

本研究结果发现“灌胃针”使灌肠更简便,造模成功率更高。为今后开展UC治疗的实验研究提供了良好的工具和平台,具有应用前景。且选题较新颖,课题设计合理,研究思路清晰,方法较先进、科学。

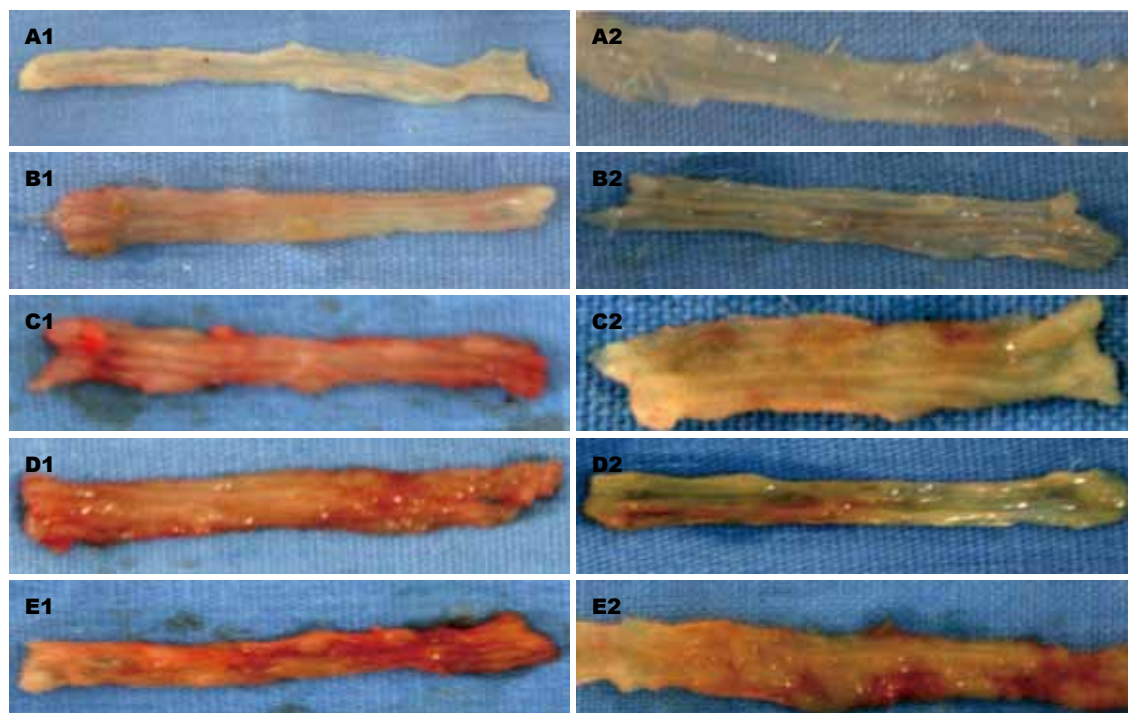


图 2 利用“灌胃针”使用TNBS造模后第2天、第4天结肠黏膜组织大体外观图. A: 对照组; B-E: 37.5、75、150、200 mg/kg TNBS处理组. 1: 第2天; 2: 第4天.

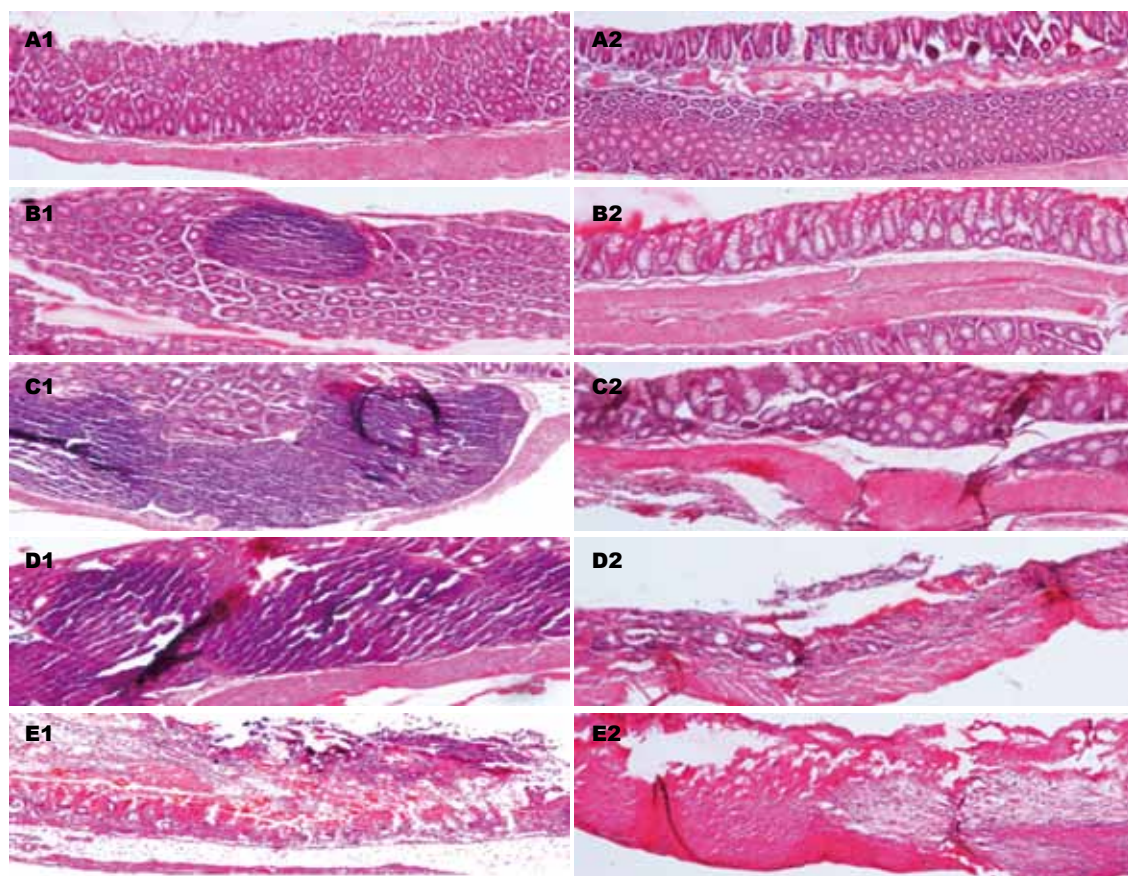


图 3 利用“灌胃针”使用TNBS造模后第2天、第4天结肠组织形态. A: 对照组; B-E: 37.5、75、150、200 mg/kg TNBS处理组. 1: 第2天; 2: 第4天.

产生免疫作用, UC患者肠道黏膜免疫平衡被打破, 发生了免疫炎症反应,  $CD4^+$  T细胞亚群(辅助



图4 改良前后2种灌肠器材与注射器针管连接情况比较。  
A: 灌胃针+注射器针管; B: 硅胶管+注射器针管。

性/诱导性T细胞)在这一过程中发挥了重要的作用<sup>[20,21]</sup>。细胞因子则与UC的进程密切相关<sup>[22,23]</sup>, 其中IL-10的遗传多态性和ANCA的合成有显著关系<sup>[24,25]</sup>。有研究发现<sup>[26]</sup>, IL-23在UC患者的炎性黏膜中高表达, 并促使肠上皮内淋巴细胞(IEL)及NK细胞激活产生细胞毒性作用, 同时刺激IL-17A等炎性因子的分泌。IL-23在NK细胞和T细胞激活, 促炎性细胞因子释放及Th17细胞分化中发挥了关键性的作用。每种细胞因子相互协同或相互拮抗, 是UC发病机制中的重要环节。经由胆碱能神经的嗜酸细胞和肥大细胞间的回路障碍可能会加重UC患者的肠黏膜炎症<sup>[27]</sup>。TNBS灌入肠道后, 与大分子组织蛋白相结合, 形成一种抗原物质, 可诱发小鼠机体产生免疫反应, 从而模拟类似人的溃疡性结肠炎的发病机制和临床症状<sup>[28]</sup>。

传统硅胶管灌肠方法不足之处在于: (1)硅胶管硬度较小, 且内径稍大, 不易进入小鼠结肠深处, 使灌肠液不能很好地弥漫至整个结肠组织; (2)硅胶管与注射器连接的密闭性不够, 需要进行特殊处理以保证密闭性, 操作繁琐, 否则会导致所诱导出的小鼠UC模型不稳定, 病情轻重程度不一, 影响后续药物治疗的评价; (3)小口径硅胶管(内径2 mm), 多从国外进口, 较难购买, 造价昂贵。使用“灌胃针”替代“硅胶管”灌肠的优点在于: (1)硬度适宜、内径小, 经液体石蜡润滑灌胃针外部后, 很容易进入小鼠结肠深处, 能很好地将液体弥漫至小鼠整个结肠, 且不易损伤肠壁; (2)与1 mL注射器连接紧密: 无需特殊处理, 操作简便, 可保证模型的稳定性和一致性; (3)属于金属材料, 制作简单, 造价便宜, 容易购买。

除此之外, 我们在对动物进行麻醉方面也进行了优化, 使用麻醉机替代腹腔注射等麻醉方法的优点在于: (1)麻醉速度快, 平均为1 min, 比腹腔麻醉的速度平均提升5 min; (2)动物苏醒速度快, 平均为5 min, 比腹腔麻醉的速度平均提升25 min; (3)麻醉机为异氟烷吸入麻醉方式, 与腹腔注射方式相比, 对动物刺激较小; (4)机械控制

用药浓度, 操作简便、麻醉程度均一、模型稳定性高; (5)吸入麻醉剂异氟烷本身对小鼠的应激作用较小, 减轻了小鼠除TNBS刺激所产生的应激以外, 由麻醉作用引起的小鼠应激作用, 也减小了造模过程中外部因素所造成的干扰。

其他相关技术的改进还包括: (1)动物选择: 选用小鼠作为造模对象而非TNBS造模常用的大鼠。这是由于小鼠对TNBS刺激较为敏感, 且液体灌注完全, 造模后2 d左右即可得到比较典型的类似临床溃疡性结肠炎模型, 可显著节省造模时间, 提高造模效率, 而大鼠通常所需的造模时间为7-14 d。 (2)造模时间: 小鼠禁食24 h后仍可能有粪便堆积于结肠处, 将禁食时间延长至36 h, 则结肠处粪便排空比较完全。在TNBS灌肠剂量探索方面, 各组小鼠的结肠黏膜组织损伤随剂量的增加而增加, 给药浓度与病变严重程度呈正相关。TNBS剂量在150 mg/kg及200 mg/kg时, 模型小鼠结肠组织出现较稳定的慢性持续性炎症反应。结肠整体可见充血、水肿, 结肠黏膜组织粘连、出血, 并有溃疡形成。经实验证实150 mg/kg为较适宜的造模剂量, 病变程度和持续时间适中, 有利于后续药物治疗实验的开展, 200 mg/kg则可复制重症溃疡性结肠炎模型, 适于UC模型的其他相关研究。在TNBS灌肠时间方面: 4组模型在灌肠2 d内均有腹泻、便血、少动、进食量和皮毛光泽度下降等现象, 第2日37.5 mg/kg组、75 mg/kg组上述现象开始好转。150 mg/kg组、300 mg/kg组, 4 d内上述现象持续存在, 4 d后无明显好转。分别于灌肠后2 d、4 d处死小鼠各2只, 2 d时处死小鼠见结肠组织较明显病理现象产生, 病理切片可见肠道全层增厚, 固有层增厚, 腺体肥大、细胞排列紊乱, 杯状细胞缺失及炎性细胞浸润; 4 d处死第2批小鼠, 37.5 mg/kg组、75 mg/kg组上述现象有所减轻。

总之, 本研究对现有利用TNBS灌肠制备小鼠UC的造模方法进行了优化, 减少了造模过程中的干扰因素, 显著提高了UC模型的稳定性。实验中通过对TNBS灌肠剂量和时间的探索, 得出了比较理想的时间剂量效应, 使得UC造模方法更加成熟, 且具有周期短、操作简便、重复性高等优点, 为临床UC病变的研究提供了理想的动物模型, 必将有助于UC防治药物的研发。

## 4 参考文献

- 1 Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Järnerot G. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and



- clinical characteristics. *Gastroenterology* 2003; 124: 1767-1773
- 2 Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1371-1385
- 3 Eaden J, Abrams K, Ekbom A, Jackson E, Mayberry J. Colorectal cancer prevention in ulcerative colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 145-153
- 4 Vermeire S, Rutgeerts P, Van Steen K, Joossens S, Claessens G, Pierik M, Peeters M, Vlietinck R. Genome wide scan in a Flemish inflammatory bowel disease population: support for the IBD4 locus, population heterogeneity, and epistasis. *Gut* 2004; 53: 980-986
- 5 Ouyang Q, Tandon R, Goh KL, Pan GZ, Fock KM, Fiocchi C, Lam SK, Xiao SD. Management consensus of inflammatory bowel disease for the Asia-Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1772-1782
- 6 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 7 Fonager K, Sørensen HT, Olsen J. Change in incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Denmark. A study based on the National Registry of Patients, 1981-1992. *Int J Epidemiol* 1997; 26: 1003-1008
- 8 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szwczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803
- 9 Gryglewski A, Szczepanik M, Szczepanik R. [Colitis in laboratory experimentation]. *Przegl Lek* 1997; 54: 558-560
- 10 Smith MS, Warren BF, Fox JD, Watkins PE, Hudson M, Pounder RE, Wakefield AJ. Detection of herpesvirus DNA in cottontop tamarins: no association with colitis. *Int J Exp Pathol* 1995; 76: 201-203
- 11 盛艳梅, 颜晓燕. 溃疡性结肠炎动物模型在药效研究中的应用. *生理科学杂志* 2006; 28: 65-66
- 12 郑礼. 大鼠溃疡性结肠炎模型的实验研究. *中国药理学报* 1998; 14: 370
- 13 Warren BF. Cytokines in the cotton top tamarin model of human ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10 Suppl 2: 45-47; discussion 48
- 14 Crawford MW, Lerman J, Saldivia V, Carmichael FJ. Hemodynamic and organ blood flow responses to halothane and sevoflurane anesthesia during spontaneous ventilation. *Anesth Analg* 1992; 75: 1000-1006
- 15 Bernard JM, Doursout MF, Wouters P, Hartley CJ, Merin RG, Chelly JE. Effects of sevoflurane and isoflurane on hepatic circulation in the chronically instrumented dog. *Anesthesiology* 1992; 77: 541-545
- 16 Hikasa Y, Saito K, Takase K, Ogasawara S. Clinical, cardiopulmonary, hematological and serum biochemical effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in oxygen under spontaneous breathing in sheep. *Small Rumin Res* 2000; 36: 241-249
- 17 巴德年. 当代免疫学技术与应用. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 892
- 18 Russel MG. Changes in the incidence of inflammatory bowel disease: what does it mean? *Eur J Intern Med* 2000; 11: 191-196
- 19 Billing P, Tahir S, Calfin B, Gagne G, Cobb L, Targan S, Vidrich A. Nuclear localization of the antigen detected by ulcerative colitis-associated perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Pathol* 1995; 147: 979-987
- 20 Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 158-161
- 21 Qiu BS, Vallance BA, Blennerhassett PA, Collins SM. The role of CD4+ lymphocytes in the susceptibility of mice to stress-induced reactivation of experimental colitis. *Nat Med* 1999; 5: 1178-1182
- 22 Mombaerts P, Mizoguchi E, Grusby MJ, Glimcher LH, Bhan AK, Tonegawa S. Spontaneous development of inflammatory bowel disease in T cell receptor mutant mice. *Cell* 1993; 75: 274-282
- 23 王伟宁, 张熙纯, 刘丽. 活动期溃疡性结肠炎发病机制的免疫学探讨. *中国现代医学杂志* 2003; 13: 74-76
- 24 Present DH. Ciprofloxacin as a treatment for ulcerative colitis-not yet. *Gastroenterology* 1998; 115: 1289-1291
- 25 Castro-Santos P, Suarez A, Mozo L, Gutierrez C. Association of IL-10 and TNFalpha genotypes with ANCA appearance in ulcerative colitis. *Clin Immunol* 2007; 122: 108-114
- 26 Binder V. Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 1998; 16: 351-355
- 27 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606
- 28 Wallon C, Persborn M, Jönsson M, Wang A, Phan V, Lampinen M, Vicario M, Santos J, Sherman PM, Carlson M, Ericson AC, McKay DM, Söderholm JD. Eosinophils express muscarinic receptors and corticotropin-releasing factor to disrupt the mucosal barrier in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2011; 140: 1597-1607

编辑 张姗姗 电编 何基才