

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.08.011

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220216.0938.002.html\(2022-02-16\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220216.0938.002.html(2022-02-16))

溃疡性结肠炎肠黏膜内 PKM2 表达的变化及临床意义*

步楠,李姗姗,苏越,潘克明

(黑龙江省佳木斯市中医医院消化内科 154002)

[摘要] **目的** 研究溃疡性结肠炎(UC)肠黏膜内丙酮酸激酶 M2(PKM2)表达的变化及临床意义。**方法** 选择 2017 年 1 月至 2020 年 6 月确诊的 60 例活动期 UC 患者为活动期 UC 组,40 例缓解期 UC 患者为缓解期 UC 组,另取 60 例肠息肉患者作为对照组,采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)、免疫组织化学、Western blot 检测 PKM2 基因及蛋白的表达情况,根据 Mayo 临床评分、Mayo 内镜评分、Geboes 指数评价活动期 UC 患者病情,检测中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、单核细胞/淋巴细胞比值(MLR)、血小板/淋巴细胞比值(PLR)、C 反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率(ESR)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白-1(Claudin-1)。**结果** 活动期 UC 组肠黏膜内 PKM2 的阳性表达率、mRNA 表达水平、蛋白表达水平均低于缓解期 UC 组及对照组($P < 0.05$);活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达患者的 Mayo 临床评分、Mayo 内镜评分、Geboes 指数、NLR、MLR、PLR、CRP、ESR、TNF- α 、IL-6 均低于 PKM2 阴性表达患者,ZO-1、Occludin、Claudin-1 水平高于 PKM2 阴性表达患者($P < 0.05$)。**结论** 肠黏膜内 PKM2 表达降低与活动期 UC 发病及病情加重、炎症反应激活、肠黏膜屏障损伤有关。**[关键词]** 溃疡性结肠炎;丙酮酸激酶 M2;炎症反应;肠黏膜屏障**[中图分类号]** R574.62**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)08-1315-05**Changes and clinical significance of PKM2 expression in intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis***

BU Nan, LI Shanshan, SU Yue, PAN Keming

(Department of Gastroenterology, Jiamusi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiamusi, Heilongjiang 154002, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of pyruvate kinase M2 (PKM2) in intestinal mucosa of**ulcerative colitis (UC) and its clinical significance. Methods** From January 2017 to June 2020, a total of 60 patients with active UC were selected as the active UC group, 40 patients with remission UC were selected as the remission UC group, and 60 patients with intestinal polyps were selected as the control group. The expression levels of PKM2 gene and protein were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) immunohistochemistry and Western blot. The condition of UC was evaluated according to Mayo clinical score, Mayo endoscopic score and Geboes index. The neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), monocyte/lymphocyte ratio (MLR), platelet/lymphocyte ratio (PLR), C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), ZO-1, Occludin, Claudin-1 were detected. **Results** The positive expression rate, mRNA expression and protein expression of PKM2 in intestinal mucosa of the active UC group were lower than those in the remission UC group and the control group ($P < 0.05$); Mayo clinical score, Mayo endoscopic score, Geboes index, NLR, MLR, PLR, CRP, ESR, TNF- α and IL-6 of patients with PKM2 positive expression were lower than those of patients with PKM2 negative expression in the active UC group; the expression levels of ZO-1, Occludin and Claudin-1 of patients with PKM2 positive expression were higher than those of patients with PKM2 negative expression in the active UC group ($P < 0.05$). **Conclusion** The decrease of PKM2 expression in intestinal mucosa relates to the pathogenesis and aggravation of UC, the activation of inflammatory response and the damage of mucosal barrier.**[Key words]** ulcerative colitis; pyruvate kinase M2; inflammatory reaction; intestinal mucosal barrier

* 基金项目:黑龙江省卫生计生委科研课题(2016-338)。 作者简介:步楠(1982-),副主任医师,硕士,主要从事溃疡性结肠炎、肝癌、结肠癌的诊治研究。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一类重要累及结肠黏膜及黏膜下层的非特异性炎症性疾病,以肠黏膜病变复发与缓解交替发生为特征^[1-2],发病机制尚不十分清楚,临床上也缺乏靶向治疗手段及特异性筛查指标。丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)家族包括 PKL、PKR、PKM1、PKM2 4 种亚型,其中 PKM2 被证实在 UC 发病中起保护作用,敲除 PKM2 使葡聚糖硫酸钠诱导的 UC 小鼠病变加重、造成肠黏膜内炎症反应激活及肠黏膜屏障损伤^[3]。但目前尚缺乏 PKM2 在 UC 发病中所起作用的临床证据。因此,本研究将以 UC 患者为对象,首先分析 UC 肠黏膜内 PKM2 表达的变化,而后从病情加重、炎症反应激活、肠黏膜屏障损伤的角度分析 PKM2 表达变化的临床意义,旨在为阐明 PKM2 在 UC 发病中的作用提供

临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2017 年 1 月至 2020 年 6 月在本院诊断为 UC 的患者,60 例活动期 UC 患者作为活动期 UC 组、40 例缓解期 UC 患者作为缓解期 UC 组,纳入标准:(1)符合《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年·北京)》^[4]中活动期 UC 或缓解期 UC 的诊断标准;(2)临床资料、肠黏膜标本完整;(3)取得患者知情同意。排除标准:(1)合并其他自身免疫性疾病;(2)合并恶性肿瘤、急慢性感染、糖尿病;(3)伴有心、肝、肾、肺功能不全。另取同期在本院诊断为肠息肉的 60 例患者作为对照组。3 组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组间一般资料的比较

组别	n	性别(男/女,n)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	吸烟[n(%)]
活动期 UC 组	60	36/24	42.93 ± 11.32	22.92 ± 6.24	16(26.67)
缓解期 UC 组	40	20/20	40.85 ± 10.77	22.38 ± 5.62	12(30.00)
对照组	60	34/26	40.12 ± 12.45	23.01 ± 7.23	18(30.00)

1.2 免疫组织化学检测 PKM2 的表达

取 3 组肠黏膜组织标本适量,制作病理切片后采用 SABC-AP 免疫组织化学试剂盒(上海信帆生物科技公司)对切片 PKM2 进行染色,按照说明书完成操作。在显微镜下观察染色强度及阳性染色细胞比例。染色强度计分如下:无染色 0 分、浅棕黄色 1 分、棕黄色 2 分、棕褐色 3 分;阳性染色细胞比例计分如下:< 5% 为 0 分、6%~25% 为 1 分、26%~50% 为 2 分、51%~75% 为 3 分、76%~100% 为 4 分。2 项评分相乘,0~1 分为阴性、≥2 分为阳性。

1.3 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 PKM2 mRNA 的表达

取 3 组肠黏膜组织标本适量,采用 TRIzol 试剂盒(北京天根公司)提取组织中的总 RNA,将总 RNA 反转录为 cDNA,对 cDNA 进行 qRT-PCR 扩增,按照说明书完成操作。PCR 的 20 μ L 反应体系为 cDNA 1 μ L、反应混合液 10 μ L、上下游引物各 0.6 μ L、去离子水 7.8 μ L;PCR 的反应程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;95 $^{\circ}$ C 15 s、特异性退火温度(PKM2 58.0 $^{\circ}$ C、 β -actin 60.0 $^{\circ}$ C)25 s、72 $^{\circ}$ C 30 s,30 个循环。完成 PCR 反应后得到循环曲线及循环阈值(Ct),以 β -actin 为内参,按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 PKM2 mRNA 表达水平。

1.4 Western blot 检测 PKM2、闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白-1(Claudin-1)的表达

取 3 组肠黏膜组织标本适量,加入组织裂解液后匀浆,匀浆液于 4 $^{\circ}$ C、12 000 \times g 离心 20 min,分离上清液并采用 BCA 法检测蛋白浓度,根据检测结果将

含有 30 μ g 蛋白的上清液标本用于 Western blot 实验。在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)中电泳分离蛋白,电转移至硝酸纤维素(NC)膜,5%脱脂牛奶封闭 NC 膜 1~2 h,用 HMGA2 一抗(1:1 000 稀释)、 β -actin 一抗(1:5 000 稀释)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日,孵育过氧化物酶(HPR)标记的二抗(1:5 000 稀释)1 h,最后在凝胶成像系统内成像得到 PKM2、ZO-1、Occludin、Claudin-1 及 β -actin 的蛋白条带,在 ImageJ 软件中计算条带灰度值,根据蛋白条带灰度值计算 PKM2、ZO-1、Occludin、Claudin-1 的表达水平。

1.5 活动期 UC 病情的评估

参照《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年·北京)》^[4],采用 Mayo 临床评分、Mayo 内镜评分、Geboes 指数评估活动期 UC 患者的病情。

1.6 实验室指标的检测

由医院检验科完成以下实验室指标的测定:中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophils-lymphocytes ratio, NLR)、单核细胞/淋巴细胞比值(monocyte-lymphocytes ratio, MLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)。

1.7 ELISA 检测炎症细胞因子水平

取活动期 UC 组患者适量的肠黏膜组织标本,加入组织裂解液后匀浆,采用 ELISA 试剂盒(上海西唐公司)检测匀浆液中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)

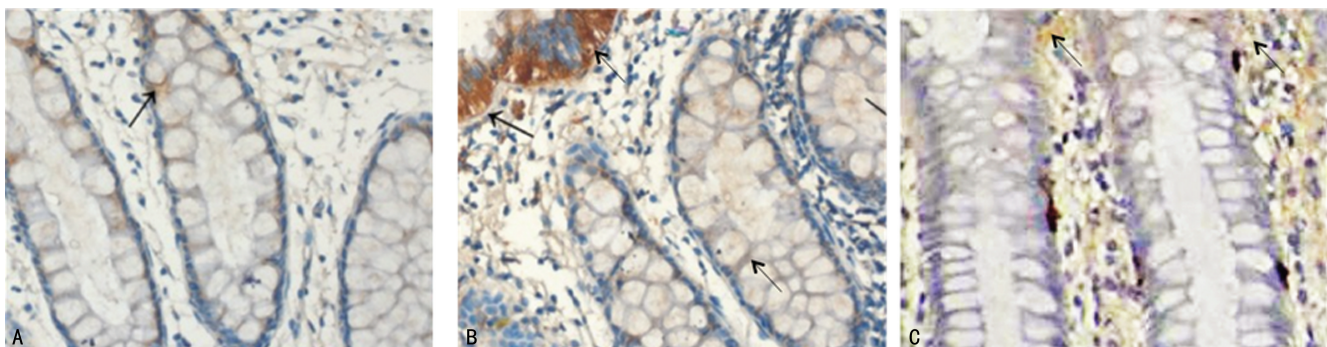
的水平,按照试剂盒说明书完成操作。

1.8 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,3 组间比较采用单因素方差分析,有统计学差异的进一步进行 LSD-*t* 两两比较,2 组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数和百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组患者肠黏膜 PKM2 表达水平的比较



A: 活动期 UC 组; B: 缓解期 UC 组; C: 对照组。

图 1 免疫组织化学检测肠黏膜 PKM2 的表达($\times 400$)

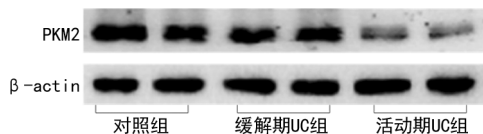


图 2 Western blot 法检测肠黏膜 PKM2 的表达水平

表 2 活动期 UC 组、缓解期 UC 组与对照组肠黏膜 PKM2 表达的比较

组别	<i>n</i>	阳性表达率 [<i>n</i> (%)]	mRNA 表达 水平($\bar{x} \pm s$)	蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)
对照组	60	42(70.00)	1.00 \pm 0.32	1.17 \pm 0.32
缓解期 UC 组	40	25(62.50)	0.94 \pm 0.25	1.09 \pm 0.29
活动期 UC 组	60	18(30.00)	0.47 \pm 0.09 ^{ab}	0.41 \pm 0.09 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与缓解期 UC 组比较。

2.2 活动期 UC 组患者中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者病情的比较

与活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达患者比较, PKM2 阴性表达患者的 Mayo 临床评分、Mayo 内镜

评分、Geboes 指数均明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

采用免疫组织化学法、荧光定量 PCR 法、Western blot 法检测 PKM2 的表达情况。经统计学分析,与对照组比较,缓解期 UC 组肠黏膜 PKM2 的阳性表达率、mRNA 表达水平、蛋白表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$);与对照组、缓解期 UC 组比较,活动期 UC 组肠黏膜 PKM2 的阳性表达率、mRNA 表达水平、蛋白表达水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1、2,表 2。

表 3 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者病情的比较($\bar{x} \pm s$)

PKM2 表达	<i>n</i>	Mayo 临床 评分(分)	Mayo 内镜 评分(分)	Geboes 指数
阳性	18	6.41 \pm 0.84	2.15 \pm 0.34	2.76 \pm 0.39
阴性	42	9.22 \pm 1.32	3.09 \pm 0.52	3.71 \pm 0.54
<i>t</i>		8.316	7.034	6.735
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 活动期 UC 组患者中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者实验室指标、黏膜屏障标志物的比较

与活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达患者比较, PKM2 阴性表达患者的 ESR、CRP、NLR、MLR、PLR 水平均明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者实验室指标的比较($\bar{x} \pm s$)

PKM2 表达	<i>n</i>	ESR(mm/h)	CRP(mg/L)	NLR	MLR	PLR
阳性	18	18.93 \pm 4.23	7.61 \pm 1.24	2.41 \pm 0.48	0.34 \pm 0.07	130.46 \pm 22.34
阴性	42	23.74 \pm 6.52	12.44 \pm 2.45	3.09 \pm 0.52	0.41 \pm 0.08	151.33 \pm 25.94
<i>t</i>		2.874	7.914	4.746	3.218	2.971
<i>P</i>		0.006	<0.001	<0.001	0.002	0.004

2.4 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者肠黏膜屏障标志物的比较

与活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达患者比较, PKM2 阴性表达患者肠黏膜内 ZO-1、Occludin、Clau-

din-1 的蛋白表达水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4、表 5。

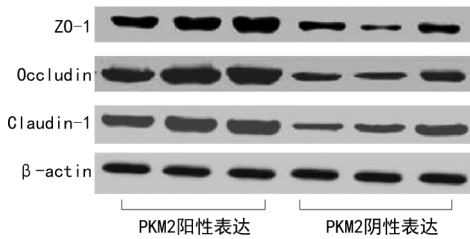


图 3 Western blot 检测肠黏膜 ZO-1、Occludin、Claudin-1 的表达

表 5 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者肠黏膜屏障标志物表达的比较($\bar{x} \pm s$)

PKM2 表达	n	ZO-1	Occludin	Claudin-1
阳性	18	1.09 ± 0.24	1.38 ± 0.41	1.17 ± 0.34
阴性	42	0.71 ± 0.16	0.66 ± 0.18	0.76 ± 0.20
t		7.212	9.513	5.837
P		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者肠黏膜炎症细胞因子的比较

与活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达患者比较,PKM2 阴性表达患者肠黏膜内 TNF- α 、IL-6 水平明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 6。

表 6 活动期 UC 组中 PKM2 阳性表达与阴性表达患者肠黏膜内炎症细胞因子的比较($\bar{x} \pm s$)

PKM2 表达	n	TNF- α (ng/mg)	IL-6(pg/mg)
阳性	18	1.94 ± 0.42	41.93 ± 8.95
阴性	42	2.52 ± 0.51	60.41 ± 12.18
t		4.242	5.790
P		<0.001	<0.001

3 讨论

PKM2 是 PK 家族的成员之一,既能在糖酵解过程中起到催化作用,也能在基因表达调控中起到转录辅助因子作用。目前已知在宫颈癌^[5]、食管癌^[6]、前列腺癌^[7]等恶性肿瘤的发病过程中 PKM2 参与多种癌基因表达的调控,恶性肿瘤病灶内高表达的 PKM2 介导了促增殖、抗凋亡等生物学效应。近年关于 UC 发病机制的研究不断深入,多项研究证实肠黏膜上皮细胞过度凋亡与 UC 的发病密切相关^[8-9]。1 项 PKM2 与 UC 相关的动物实验结果显示,在葡聚糖硫酸钠诱导的 UC 小鼠中,敲除 PKM2 使肠黏膜病理改变加重^[3],提示 PKM2 表达降低或缺失可能参与 UC 的发病。

本研究以 UC 患者为对象,首先通过检测 PKM2 表达的方式探究 PKM2 在 UC 发病中的作用。经免疫组织化学、荧光定量 PCR 及 Western blot 3 种方法检测 PKM2 的表达,3 种方法的检测结果一致,即与缓解期 UC 及结肠息肉患者比较,活动期 UC 患者肠

黏膜 PKM2 的表达水平明显降低。SUN 等^[3]的动物实验证实 PKM2 在 UC 发病过程中起保护作用、能够减轻 UC 病变。Mayo 临床评分、Mayo 内镜评分、Geboes 指数是目前临床上评估活动期 UC 病情的常用手段^[10-11],本研究分析了 PKM2 表达与 UC 病情的关系,结果显示:PKM2 阴性表达患者的 Mayo 临床评分、Mayo 内镜评分、Geboes 指数更高,表明 PKM2 表达缺失与活动期 UC 病情加重有关,与 PKM2 在 UC 小鼠中介导的肠黏膜保护作用结论一致。

UC 是一类非特异性炎症介导的炎症性肠病,临床上多项实验室指标能够评估炎症反应程度,与 UC 病情发展变化相关。CRP 和 ESR 是评价多种自身免疫性疾病活动的指标,NLR、MLR、PLR 是新近发展起来的炎症指标。中性粒细胞和单核细胞在炎症反应激活过程中能够释放多种炎症介质,UC 肠黏膜内 2 种细胞的浸润均明显增多^[12-13],淋巴细胞在炎症反应中的作用较为复杂,多数研究认为在炎症激活过程中淋巴细胞的成熟受阻^[14],因此 NLR 和 MLR 的升高反映了 UC 发病过程中炎症反应的过度激活^[15-16]。本研究通过上述实验室指标的分析进一步验证 PKM2 在活动期 UC 病情发展变化中的作用,PKM2 阴性表达患者的 ESR、CRP、NLR、MLR、PLR 水平较高,表明活动期 UC 发病过程中 PKM2 表达缺失与炎症反应的过度激活有关,这与 PKM2 表达缺失与活动期 UC 病情加重有关的结果一致,进一步提示肠黏膜内 PKM2 表达缺失与活动期 UC 病情加重有关。

SUN 等^[3]和步楠等^[17]在 UC 小鼠中通过基因敲除的方法证实了 PKM2 参与肠黏膜内炎症反应的调控。在敲除 PKM2 后,UC 小鼠肠黏膜内细胞因子 TNF- α 、IL-6 的表达水平增加,同时细胞间紧密连接蛋白 ZO-1、Occludin、Claudin-1 的表达水平降低。TNF- α 、IL-6 具有促炎活性,在 UC 发病过程中其生成增多介导了肠黏膜炎症反应的激活^[18];ZO-1、Occludin、Claudin-1 能够维持肠黏膜上皮细胞间的紧密连接,在 UC 发病过程中其表达降低造成了黏膜屏障损伤^[19-20]。本研究发现活动期 UC 发病过程中 PKM2 阴性表达患者肠黏膜内 TNF- α 、IL-6 的表达水平增加,ZO-1、Occludin、Claudin-1 的表达水平降低,与 PKM2 在 UC 小鼠中调控炎症反应及肠黏膜屏障的作用吻合,提示 PKM2 表达缺失可能通过激活炎症反应,加重肠黏膜屏障损伤的方式参与活动期 UC 的发病。

综上所述,本研究认为肠黏膜内 PKM2 表达降低与活动期 UC 的发病有关,并且肠黏膜内 PKM2 表达缺失与活动期 UC 病情加重、炎症反应激活、肠黏膜屏障损伤有关。本研究的上述临床检测数据为今后探究 UC 发病机制及防治靶点提供了新思路。

参考文献

[1] TATIYA-APHIRADEE N, CHATUPHONPRA

- SERT W, JARUKAMJORN K. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative colitis[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2018, 30(1): 1-10.
- [2] RAMOS G P, PAPADAKIS K A. Mechanisms of disease: inflammatory bowel diseases [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(1): 155-165.
- [3] SUN X, YAO L, LIANG H, et al. Intestinal epithelial PKM2 serves as a safeguard against experimental colitis via activating β -catenin signaling[J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(6): 1280-1290.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(9): 796-813.
- [5] LIN Y, ZHAI H, OUYANG Y, et al. Knockdown of PKM2 enhances radiosensitivity of cervical cancer cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 14(19): 129.
- [6] ZHAO B, CAO P, HU S, et al. LncRNA-NBAT-1 modulates esophageal cancer proliferation via PKM2[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(9): 5978-5987.
- [7] DEY P, KUNDU A, SACHAN R, et al. PKM2 Knockdown induces autophagic cell death via AKT/mTOR pathway in human prostate cancer cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 52(6): 1535-1552.
- [8] GANCARCIKOVA S, LAUKO S, HRCKOVA G, et al. Innovative animal model of DSS-induced ulcerative colitis in pseudo germ-free mice[J]. *Cells*, 2020, 9(12): 2571.
- [9] ZHANG L, CHENG J, SHEN J, et al. Ghrelin inhibits intestinal epithelial cell apoptosis through the unfolded protein response pathway in ulcerative colitis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 10(12): 661853.
- [10] ARKTEG C B, WERGELAND SØRBYE S, BUHLRIIS L, et al. Real-life evaluation of histologic scores for ulcerative colitis in remission[J]. *PLoS One*, 2021, 16(3): e0248224.
- [11] LI K, MARANO C, ZHANG H, et al. Relationship between combined histologic and endoscopic endpoints and efficacy of ustekinumab treatment in patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(6): 2052-2064.
- [12] ZHANG J, SHI G. Lymphocyte infiltration and key differentially expressed genes in the ulcerative colitis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(35): e21997.
- [13] ABRON J D, SINGH N P, PRICE R L, et al. Genistein induces macrophage polarization and systemic cytokine to ameliorate experimental colitis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0199631.
- [14] CREYNS B, JACOBS I, VERSTOCKT B, et al. Biological therapy in inflammatory bowel disease patients partly restores intestinal innate lymphoid cell subtype equilibrium[J]. *Front Immunol*, 2020, 27(11): 1847.
- [15] MOON J R, LEE T H, JANG J Y, et al. The role of platelet to lymphocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio in ulcerative colitis[J]. *Intest Res*, 2021, 19(1): 62-70.
- [16] 李琛妮, 蓝华, 施佳伶, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值等 4 项指标对溃疡性结肠炎内镜活动度的判断价值[J]. *中国实用内科杂志*, 2021, 41(1): 55-59.
- [17] 步楠, 范彦秋, 赵春红. 基于肠道特异性丙酮酸激酶 M2 基因敲除小鼠研究布拉氏酵母菌治疗溃疡性结肠炎的作用及机制[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(12): 1628-1633.
- [18] WANG C, LI W, WANG H, et al. *Saccharomyces boulardii* alleviates ulcerative colitis carcinogenesis in mice by reducing TNF- α and IL-6 levels and functions and by rebalancing intestinal microbiota [J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19(1): 246.
- [19] 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义[J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(7): 1803-1808.
- [20] ZHENG J D, HE Y, YU H Y, et al. Unconjugated bilirubin alleviates experimental ulcerative colitis by regulating intestinal barrier function and immune inflammation [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(15): 1865-1878.

(收稿日期: 2021-11-18 修回日期: 2022-02-21)