

芫根调节免疫功能的小肠转录组学研究

代泽咏 骆芷寒 王禹蒙 刘延友 肖静 汪宇辉 郭慧玲 江舟

(四川大学华西基础医学与法医学院·国家卫生健康委员会时间生物学重点实验室, 四川 成都 610041)

【摘要】 目的 利用生物信息学技术初步探索芫根调控肠道免疫功能的分子生物学机制。**方法** 选择雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠 18 只, 随机分为 3 组, 每组 6 只。SC1 组小鼠每只每次灌胃芫根提取液 150 μ L, SC2 组小鼠每只每次灌胃绞碎芫根原浆悬液 150 μ L, NC 组小鼠每只每次灌胃生理盐水 150 μ L, 连续 7 d 每日灌胃一次。分别取每组小鼠小肠组织样品提取 RNA, 总 RNA 的质检合格后, 进行转录组测序。按 GO 功能和 KEGG 信号通路对差异表达基因聚类分析揭示差异表达高度富集的免疫相关通路。从免疫角度分析芫根灌胃小鼠小肠组织的基因表达变化情况。**结果** 转录组测序共检测到 27733 条 mRNA 的表达, SC1 组与 NC 组比较, 显著差异表达基因 1635 个, 其中上调差异表达基因 1236 个, 下调差异表达基因 399 个; SC2 组与 NC 组比较, 显著差异表达基因 2872 个, 其中上调差异表达基因 2233 个, 下调差异表达基因 639 个 ($P < 0.05$)。按 GO 功能和 KEGG 信号通路聚类分析显示差异表达基因在白介素分泌、干扰素反应、T 细胞受体信号通路及维生素和脂肪消化吸收等途径的富集度在两个芫根组中均居于前 20 位 ($P < 0.01$), 肠黏膜趋化因子 CCL20 和巨噬细胞极化标志物 CD274 等免疫蛋白编码基因差异表达显著且同属于上述多个免疫通路。**结论** 芫根灌胃小鼠小肠的差异表达基因在白介素分泌、干扰素反应、T 细胞受体信号通路、营养物质消化吸收等途径高度富集, 提示芫根对肠道免疫系统及肠黏膜功能的调节, 其中 CD274 的表达上调和 CCL20 的表达下调提示诱导 M1 型巨噬细胞极化和 T 细胞活化可能是芫根调控免疫和维护肠道正常结构功能的重要途径。

【关键词】 芫根; 免疫; 小肠; 转录组学; 巨噬细胞; T 淋巴细胞

【中图分类号】 Q75; R282 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 12. 007

Small intestinal transcriptome study on immune function regulation of Coriaria Myra

DAI Zeyong, LUO Zhihan, WANG Yumeng, LIU Yanyou, XIAO Jing, WANG Yuhui, GUO Huiling, JIANG Zhou

(NHC Key Laboratory of Chronobiology, West China School of Basic Medicine and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

【Abstract】 Objective Using bioinformatics technology, the molecular biological mechanism of Brassica rapa regulating intestinal immune function was explored. **Methods** Male BALB/ C mice were randomly divided into three groups, with 6 mice in each group. SC1 group was gavaged with Brassica rapa extract, SC2 group was gavaged with chopped Brassica rapa slurry suspension, and NC group was gavaged with normal saline once a day for 7 consecutive days as blank control. RNA was extracted from small intestine tissue samples of each group, and transcriptome sequencing was performed after the total RNA was qualified. Cluster analysis of differentially expressed genes was performed according to GO function and KEGG signaling pathway, and mapping revealed immune-related pathways with highly enriched differentially expressed genes. The changes of gene expression in small intestine of Brassica rapa sinensis mice were analyzed from immune Angle. **Results** The expression of 27733 mRNA was detected by transcriptome sequencing. Compared with NC group, there were 1635 differentially expressed genes in SC1 group, including 1236 differentially expressed genes up-regulated and 399 differentially expressed genes down-regulated. Compared with NC group, 2872 genes were significantly differentially expressed in SC2 group, including 2233 up-regulated genes and 639 down-regulated genes. Cluster analysis of GO function and KEGG signaling pathway showed that the enrichment degree of differentially

通信作者: 江舟, 副研究员, 硕士生导师, E-mail: jweiz@126.com

引用本文: 代泽咏, 骆芷寒, 王禹蒙, 等. 芫根调节免疫功能的小肠转录组学研究[J]. 西部医学, 2022, 34(12): 1753-1759. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 12. 007

expressed genes in interleukin secretion, interferon response, T cell receptor signaling pathway and vitamin and fat digestion and absorption were among the top 20 in both Brassica rapa groups. Immunoprotein-coding genes such as intestinal mucosa chemokine CCL20 and macrophage polarization marker CD274 were significantly differentially expressed and belonged to the above immune pathways($P < 0.05$). **Conclusion** The differentially expressed genes in the small intestine were highly enriched in interleukin secretion, interferon response, T cell receptor signaling pathway and nutrient digestion and absorption, suggesting that The function of intestinal immune system and intestinal mucosa was regulated by Brassica rapa. The up-regulated expression of Cd274 and down-regulated expression of Ccl20 suggest that the induction of polarization of M1-type macrophages and activation of T cells may be an important way to regulate the immunity and maintain the normal intestinal structure and function.

[Key words] Brassica rapa L; Immune; The small intestine; Transcriptome; Macrophage; T lymphocyte

芫根,又名芫青、蔓菁,藏语名为妞玛,维语名为恰玛古,十字花科芸薹属芸薹种芫菁亚种二年生草本植物^[1],是川藏高原地区颇具特色的蔬菜资源,也是当地重要的经济作物^[2]。芫根富含生物碱、多糖、维生素、矿物质、脂肪酸、黄酮类、粗蛋白、槲皮素、甾体等多种营养成分和生物活性物质,有食、药、饲三大应用价值^[3]。芫根的药理学研究显示,芫根提取物在降血糖^[4],抗缺氧^[5],抗肿瘤^[6],改善肠道菌群和调节免疫^[7-8],抗疲劳^[9]等多重功效,提示芫根的药用价值不可估量。目前关于芫根药理功效的研究还停留在其原料提取、动物实验及验证等方面,有关芫根改善机体免疫功能的分子生物学机制研究还是空白。小肠是机体最主要的食物消化和物质吸收器官,同时也是最大的免疫器官和免疫前哨站^[10]。本课题组拟在前期的研究基础上,应用转录组测序技术检测芫根对小鼠小肠组织全基因表达谱的影响,一方面对系统阐明芫根的免疫调节功能及分子生物学机制有重要的意义,为合理表征芫根的性能及拓宽其临床治疗提供基础依据,从而给发掘利用这种川藏特色经济作物资源提供科学指导;另一方面,相关机制可以作为指导免疫调节药物研发的筛选标准之一,给相关药物靶点的筛选和新药的研究开发等工作提供可靠的数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料与动物分组 雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠 18 只购买自四川成都达硕动物有限公司,周龄 8 周左右,体重 18~20g。将小鼠饲养在光暗节律 12L:12D 的光暗循环箱,室温(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,保持动物室安静,小鼠自由饮水和进食,适应新环境两周使小鼠状态同步化。然后将小鼠随机分为 3 组,每组 6 只,SC1 组灌胃芫根提取液,SC2 组灌芫根原浆悬液,NC 组灌胃生理盐水。芫根提取液和芫根原浆悬液由四川小叶本草生物科技有限公司生产提供。按规格,小鼠(20 g)的单次剂量:人(70 kg)的单次剂量=1:387.9,经计算后,SC1 组小鼠每只每次灌胃 150 μL 芫根提取液,SC2 组小鼠每只每次灌胃 150 μL 芫根原浆悬液,NC

组小鼠每只每次灌胃 150 μL 生理盐水,每日灌胃一次,连续 7 d。本研究通过动物伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 小鼠小肠 RNA 的提取与测序 小鼠灌胃 7 d 后用颈椎脱臼法处死,每组随机取 3 只小鼠取小肠样本,使用 PBS 溶液清洗 3 遍。按照福际生物 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA。总 RNA 经质检合格后,采用 Illumina HiSeq4000 进行测序,测序读长为双端 $2 \times 150\text{bp}$ (PE150)。

1.2.2 基因水平差异表达研究及制图 利用上述数据分析程序对基因水平表达差异展开研究,以参考基因组为基准利用 Hisat 软件将 3 组测序数据分别两两比对,利用比对后的结果(alignments)参与组装转录本。然后使用 edgeR 对 NC 组基因分别与 SC1 组和 SC2 组基因的差异表达分析,最后采用 R 语言图形化以差异倍数 $\log_2(\text{foldchange})$ 为横坐标,显著水平 $-\log_{10}(p \text{ value})$ 为纵坐标,显著差异的阈值为 $|\log_2\text{foldchange}| \geq 1, P < 0.05$,进行基因表达差异评估,对差异表达的所有基因绘制火山图。

1.2.3 差异表达基因 GO 功能富集性分析 对差异表达基因的 GO 功能富集分析可了解功能组基因的富集情况,富集程度高提示两组在此功能方面的差异效应显著,该 GO 功能基因组比较重要。首先把所有显著性差异表达基因向 Gene Ontology 数据库的各功能基因组映射,计算每个功能基因组的基因数目,然后应用超几何检验,找出与整个基因组背景相比,在显著性差异表达基因中显著富集的 GO 条目($P < 0.05$)。采用 edgeR 对 GO 富集分析结果以散点图展示。

1.2.4 差异表达基因 KEGG 信号通路富集性分析 基于信号通路的分析有助于更进一步了解基因的生物学效应。在生物体内,不同基因需要通过相互协调行使其生物学功能,KEGG 是有关信号通路的主要公共数据库,通过差异基因的 KEGG 富集分析了解哪些信号通路对应的基因富集较多。信号通路基因显著

性富集分析以 KEGG Pathway 为单位,应用超几何检验,找出与整个基因组背景相比,在显著性差异表达基因中显著性富集的信号通路($P<0.05$),采用 edgeR 对 KEGG 富集分析结果以散点图展示。

1.2.5 免疫通路差异表达基因热图绘制 为了更好地直观反映免疫功能和信号通路相关基因的差异表达和聚类表达模式,我们采用 $\log_{10}(\text{FPKM}+1)$ 进行基因表达展示,同时将差异表达基因 FPKM 通过 Z 值方式进行基因表达展示($P<0.05$)。选取 SC1 组和 SC2 组中发生同向表达差异的免疫通路相关基因,横坐标为样本,纵坐标为基因,不同的颜色表示不同的基因表达水平,颜色由蓝色经由白色至红色表示表达量从低到高。红色表示高表达基因,蓝色表示低表达

基因。

2 结果

2.1 小鼠小肠的转录谱表达差异分析 小鼠小肠样品转录组测序共检测到 27733 条 mRNA 的表达,通过绘制火山图能可视化差异表达基因的整体分布情况。差异基因的整体分布情况见火山图(图 1A、B)。与 NC 组相比,SC1 组灌喂芫根提取液小鼠肠道表达上升基因有 1236 个,SC2 组灌喂绞碎芫根原浆悬液小鼠肠道表达上调基因有 2233 个;相比对照组,SC1 和 SC2 组分别有 399 和 639 个基因表达水平下调(图 1C)。其中,有 1287 个基因在 SC1 组灌喂芫根提取液小鼠和 SC2 组灌喂绞碎芫根原浆悬液小鼠均同向差异表达(图 1D)。

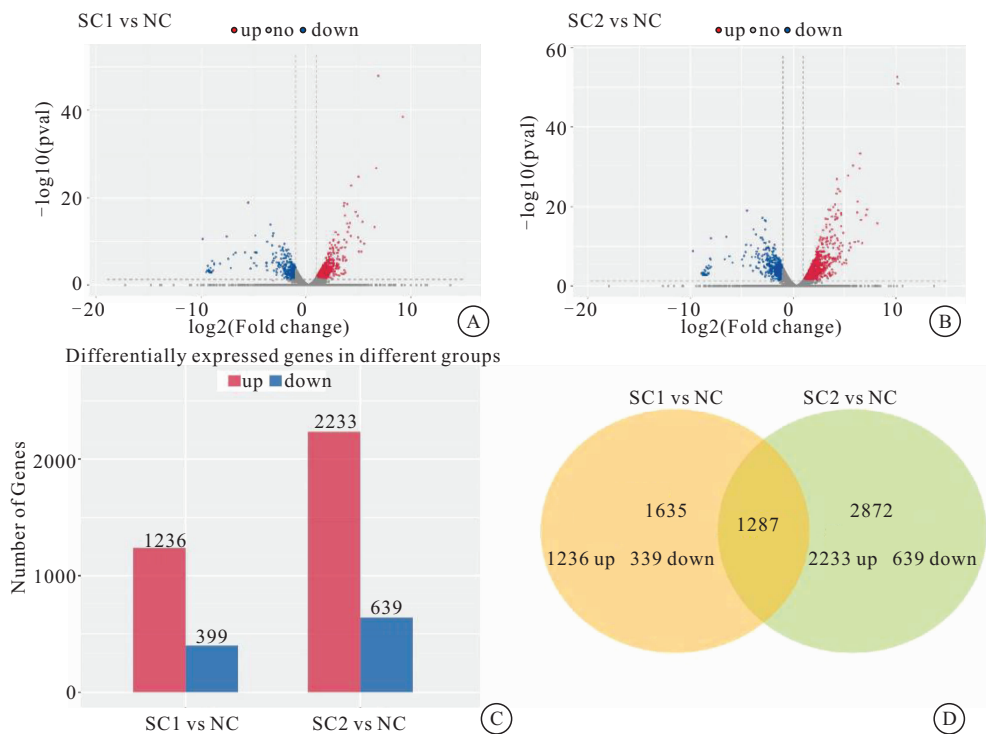


图 1 小鼠小肠的转录谱表达差异分析

Figure 1 Differential analysis of transcription profile expression in small intestine of mice

注: A、B 分别为差异表达基因火山图,横坐标代表基因在不同样本中差异表达倍数变化,纵坐标代表基因表达量变化差异的统计学显著性,红色代表上调的显著差异表达基因,蓝色代表下调的显著差异表达基因,灰色的点代表非显著性差异表达基因; C. 差异表达分析基因柱状图; D. 差异表达分析基因韦恩图

2.2 差异表达基因 GO 功能富集性分析 GO 功能富集分析结果以散点图展示,富集度前 20 位,采用 ggplot2 对 GO 富集分析结果以散点图展示, Rich factor 表示位于该 GO 的差异基因个数/位于该 GO 的总基因数, Rich factor 越大, GO 富集程度越高($P<0.05$),见图 2;其中细胞对干扰素的反应、先天性免疫应答、多细胞机体发育、白细胞介素分泌、转录的正调控是 SC1 组、SC2 组差异表达基因 GO 功能富集度均位于前 20 的功能基因组,见表 1。

2.3 差异表达基因 KEGG 信号通路富集性分析 KEGG 信号通路富集分析结果以散点图展示,富集度前 20 位,采用 ggplot2 对 KEGG 富集分析结果以散点图展示, Rich Factor 表示位于该 KEGG 的差异基因数/位于该 KEGG 的总基因数, Rich Factor 值越大, KEGG 富集程度越大($P<0.05$),见图 3;其中维生素消化和吸收、T 细胞受体信号通路、脂肪消化和吸收是 SC1 组、SC2 组差异表达基因 KEGG 信号通路富集度均位于前 20 的信号通路基因组,见表 2。

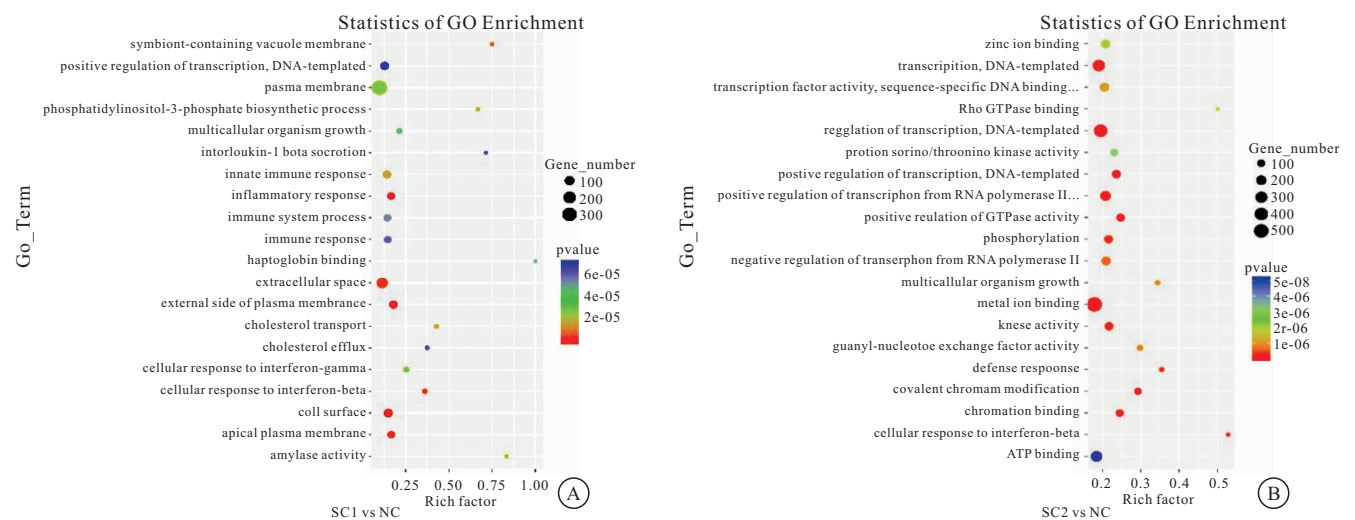


图 2 差异表达基因 GO 功能富集性分析

Figure 2 GO functional enrichment analysis of differentially expressed genes

表 1 SC 组差异表达基因 GO 功能富集度均位于前 20 的功能基因组

Table 1 The GO enrichment degree of differentially expressed genes in SC group was all in the top 20 functional genomes

通路	通路总基因数	差异表达基因数	主要差异表达基因	P
细胞对干扰素的反应	87	30	Ifng, Ifnar1, Ifngr2, Ifit3, Cd274 等	<0.05
先天性免疫应答	415	59	Ighv9-3, Iigp1, Lgr4, Malt1, Mbl2 等	<0.05
多细胞机体发育	93	20	Etnk2, Gigyf2, Kdm6a, Ndufs6, Nek1 等	<0.05
白细胞介素分泌	35	21	Ccl20, Il18, Il1a, Il2rg, Cd274 等	<0.05
转录的正调控	533	69	Creb1, Dvl3, Egr1, Runx1, Setd7 等	<0.05

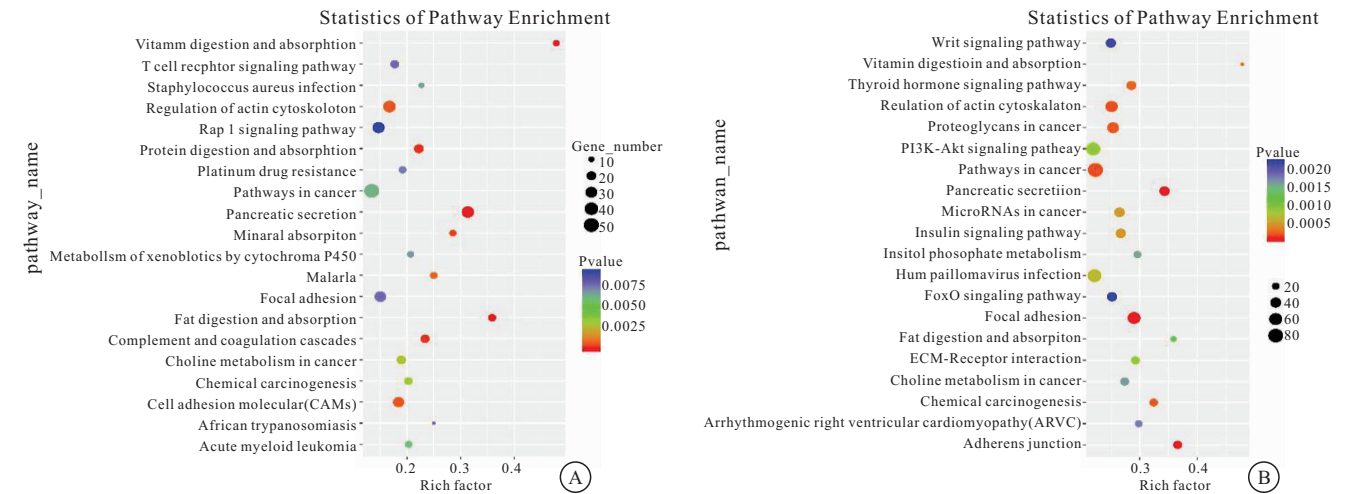


图 3 差异表达基因 KEGG 富集性分析

Figure 3 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes

表 2 SC 组差异表达基因 KEGG 信号通路富集度均位于前 20 的信号通路基因组

Table 2 KEGG signal pathway enrichment degree of differentially expressed genes in SC group was all in the top 20 signal pathway genomes

通路	通路总基因数	差异表达基因数	主要差异表达基因	P
维生素消化和吸收	23	11	Cubn, Gif, Plb1, Pnlip, Rbp2 等	<0.05
T 细胞受体信号通路	96	21	CD4, LAT, LCK, ZAP70, FYN 等	0.01
脂肪消化和吸收	39	14	Csf1, Dlg1, Fos, Grap2, Icos 等	<0.05

2.4 白细胞介素分泌相关基因表达 差异基因聚类分析用于判断基因在不同实验条件下调控模式的聚类模式。根据样品基因表达谱的相近程度,将基因进行聚类分析,直观地展示基因在不同样品(或是不同

处理)中的表达情况,由此获取生物学相关信息。根据前面差异表达基因富集度的结果,重点结合免疫相关通路,我们选择了白细胞介素分泌、细胞对干扰素的反应、T 细胞受体信号通路的差异表达基因制图进行聚类分析。芫根处理小鼠后,小鼠小肠中 Ccl20、Il18、Il1a、Il2rg、Cd274 等 21 个白细胞介素分泌相关基因发生显著性差异表达。其中 19 个基因表达上调,2 个基因表达下调(图 4)。表达下降的 Ccl20 和 Il18 是主要分布在肠道黏膜层炎症趋化因子的基因,表达上调的大多属于白介素配体和相关受体亚基蛋白基因,如 Il1 和 Il2rg 等。Cd274 是经典活化型巨噬细胞表面特异表达的抗原分化簇的基因,也呈表达上升趋势。

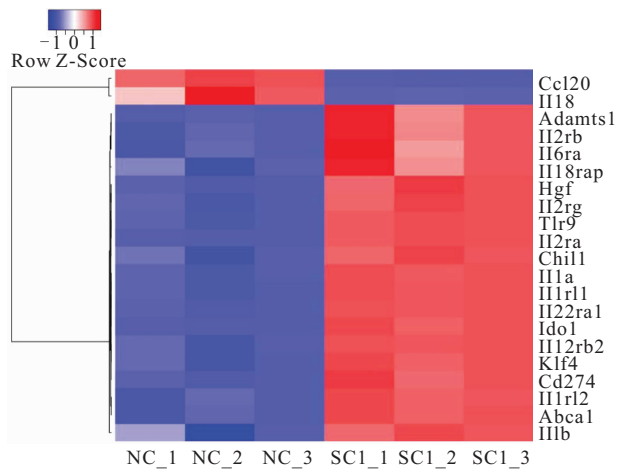


图 4 白细胞介素分泌过程相关基因表达变化热图

Figure 4 Heat map of interleukin secretion related gene expression changes

2.5 细胞对干扰素的反应相关基因表达 芫根处理小鼠后,小鼠小肠中 Ifng、Ifnar1、Ifngr2、Ifit3、Cd274 等共 30 个细胞对干扰素反应相关基因发生显著性差异表达。其中 25 个基因表达上调,5 个基因表达下调(图 5)。此系统里多个基因同属上述白介素系统,干扰素诱导蛋白家族基因里 Ifit3 和 Ifit1 表达下调,其余 Ifit 表达上升。与此相应,各种干扰素基因和受体亚基基因也均上调表达。

2.6 T 细胞受体信号通路相关基因表达 芫根处理小鼠后,小鼠小肠中共 21 个 T 细胞受体信号通路相关基因发生显著性差异表达。其中 19 个基因表达上调,2 个基因表达下调(图 6)。T 细胞受体信号通路的受体亚基蛋白 CD4,接头蛋白 LAT,T 细胞活化相关激酶 LCK、ZAP70、FYN、ITK 和调节蛋白 GRB2、SOS1 等的编码基因均表达升高。

3 讨论

本研究利用 RNA 序列研究了芫根喂养对小鼠肠

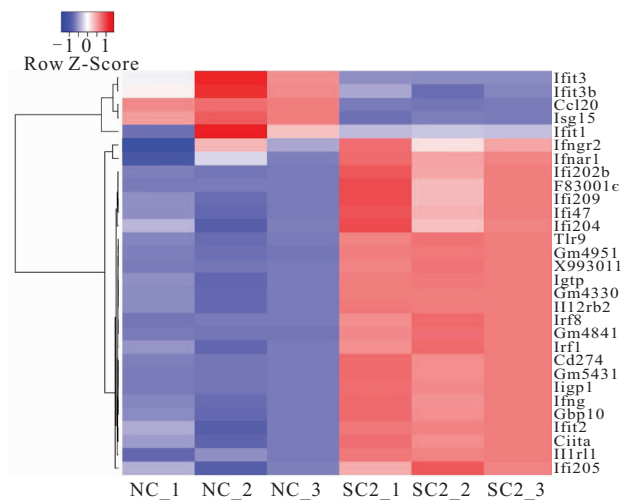


图 5 细胞对干扰素的反应过程相关基因表达变化热图

Figure 5 Heat map of gene expression changes related to the reaction process of cells to interferon

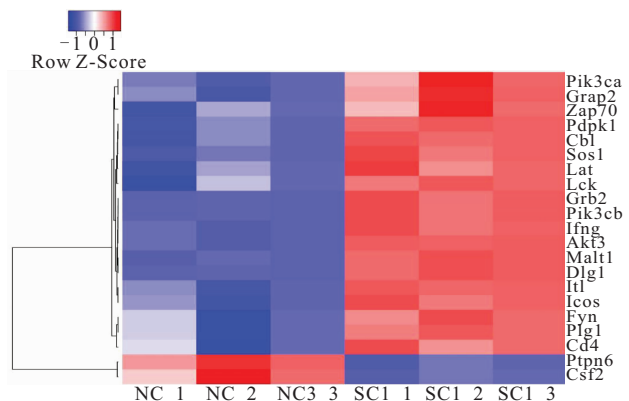


图 6 T 细胞受体信号通路途径相关基因表达变化热图

Figure 6 Heat map of T cell receptor signaling pathway related gene expression changes

道基因表达变化的影响。结果显示,芫根提取液灌胃小鼠导致小肠中 1635 个基因发生差异表达,其中 1236 个基因表达上调,399 个基因表达下调;芫根原浆灌胃小鼠导致小肠中 2872 个基因发生差异表达,其中 2233 个基因表达上调,639 个基因表达下调。两个芫根组的上调表达基因数都显著高于下调表达基因数,且有 1287 个共同向差异表达基因,证明芫根灌胃有效达到了实验效果。

单核-巨噬细胞统称吞噬细胞,是机体内最广泛的免疫细胞,在不同的生理条件下吞噬细胞可极化为经典活化性巨噬细胞(M1 型巨噬细胞)和选择替代性巨噬细胞(M2 型巨噬细胞),两类巨噬细胞也可相互极化。M2 型巨噬细胞抑制免疫反应并促进肿瘤增殖;M1 型巨噬细胞是机体的防卫士,全方位介入非特异性免疫和特异性免疫过程,能分泌的各类细胞因子调控免疫反应^[11-14]。白细胞介素在巨噬细胞和各类白

细胞的信息传递,介导 T、B 细胞的激活与调节免疫细胞的分裂与转化及炎症反应中起重要作用。本实验中白细胞介素分泌相关基因差异表达热图显示芫根组小鼠的 CD274 基因表达上调, Ccl20 基因表达下调。CD274 蛋白是 M1 型巨噬细胞表面的标记性蛋白,该基因表达上调提示巨噬细胞向 M1 型转化率提高,增强了巨噬细胞的抗病毒、抗癌及各种免疫反应中的作用^[15]。CCL20 蛋白是一种炎症趋化因子,主要由受到损伤或感染的肠上皮细胞分泌,当肠道上皮细胞被破坏、受到病原体感染或菌群变化时,肠上皮 CCL20 的表达迅速升高,打破局部的免疫平衡,该基因的低表达提示肠道处于健康的防护的状态^[16-17]。T 细胞是机体内功能最复杂的特异性免疫核心淋巴细胞,直接参与细胞免疫和递呈诱导体液免疫,因此 T 细胞的功能调节在免疫功能调节中发挥着核心影响力^[18-19]。本实验中 T 细胞受体信号通路相关基因差异表达热图显示芫根组小鼠的受体亚基蛋白 CD4,接头蛋白 LAT, T 细胞活化相关激酶 LCK、ZAP70、FYN、ITK 和调节蛋白 GRB2、SOS1 等蛋白的编码基因均表达升高,提示 T 细胞被活化。干扰素是一类具有高度种属特异性的糖蛋白,具有抗病毒、抗癌和调节免疫的作用,细胞对干扰素的反应相关基因差异表达热图显示芫根组小鼠的多种干扰素诱导蛋白和靶干扰素的基因表达量提高,尤其是 IFNG 和 IFNA 转导途径相关亚基的基因。IFNA 是主要由巨噬细胞产生的具有抗病毒效果的干扰素,IFNG 是主要由活化 T 细胞产生的具有抑制细菌生长的干扰素,这两途径的基因表达上调,提示机体的巨噬细胞和 T 细胞的功能活化,机体的抗病毒和抗细菌感染能力的提升^[20-22]。

肠道是机体最主要的消化吸收器官和最大的免疫器官,正常结构功能与生理反应相适应,消化吸收功能的正常维持需要有强效且稳定的免疫环境作保障,富集性结果提示芫根有调节肠道免疫系统和强化消化吸收的功效。肠道免疫细胞、非免疫细胞和肠道菌群之间有很多的相互作用,三者复杂的联系共同参与了肠道保护、耐受和内环境稳定,这些相关要素以协调的方式协同工作,以预防疾病、维持内环境稳定和保障最大限度地获取营养。一旦动态平衡被打破,就会导致肠道免疫功能失调,引发各种代谢类和消化系统疾病^[23-24]。肠道菌群作为身体不可或缺的重要组成部分,其数量可匹敌机体本身的细胞数,种类繁多且生理机能复杂,参与了免疫系统发育、先天性免疫和特异性免疫等过程,对维持体内生理环境平衡,调节肠道营养物质消化吸收,调控机体免疫功能等都

有重要研究价值^[25-27]。研究发现芫根可促进肠道内一种短链脂肪酸 SCFAs 的分泌,而这种肠道菌群来源的短链脂肪酸的增加可提高机体免疫力并维护肠道的平衡稳态,对健康具有重要促进作用^[8,28-29]。GO 富集性分析显示芫根组差异表达基因在白细胞介素分泌、细胞对干扰素的反应、先天免疫反应以及细胞质膜两侧、正向转录调控等过程高度富集且多数表达上调。KEGG 富集性分析显示芫根组差异表达基因富集在 T 细胞受体信号通路、病菌免疫及肿瘤监控途径、各种营养物质的消化与吸收代谢途径等通路中高度富集且多数表达上调。推测可能是芫根促进肠道益生菌增殖,抑制肠道病原菌的增殖,改善肠道了菌群结构从而导致 SCFAs 分泌增加进而调节了免疫系统。

芫根提取液灌胃小鼠共诱导了小肠 1635 个基因发生差异表达,而芫根原浆灌胃小鼠共诱导了小肠 2872 个基因发生差异表达,芫根原浆组差异表达基因量和基因差异表达幅度高于芫根提取液组,提示芫根原浆中可能有芫根提取液中丢失的有效成分或者相关效应分子浓度高于芫根提取液。研究发现食源植物 miRNA 跨界调控动物基因表达的途径,是中草药和药食两用作物发挥药效的潜在调控机制^[30-31]。芫根提取液在制作过程中容易破坏原料内部的核酸分子,因此可能是造成本实验两个芫根组差异表达基因量差异的根本原因,本课题组下一步还将以 miRNA 为切入点进一步深入探索机制。

4 结论

本实验利用生物信息学技术分析小鼠小肠转录组基因,揭示了芫根灌胃小鼠小肠的差异表达基因在白介素分泌、干扰素反应、T 细胞受体信号通路、营养物质消化吸收等途径高度富集,提示芫根对肠道免疫系统及肠黏膜功能的调节。其中 Cd274 的表达上调和 Ccl20 的表达下调提示诱导 M1 型巨噬细胞极化和 T 细胞活化可能是芫根调控免疫和维护肠道正常结构功能的重要途径。本研究结果对进一步验证芫根调节免疫功能的指标,剖析芫根调控免疫系统的分子机制和深入探索其有效成分具有一定的指导意义。

【参考文献】

- [1] ZHENG Y, LUO L D, LIU Y Y, *et al.* Effect of vernalization on tuberization and flowering in the Tibetan turnip is associated with changes in the expression of FLC homologues[J]. Plant Diversity, 2018, 40(2): 50-56.
- [2] 韩睿,赵孟良,孙世英,等. 19 份芫菁种质资源地下部性状的遗传多样性分析[J]. 青海大学学报, 2020, 38(5): 18-27.
- [3] 刘小娇,白婷,靳玉龙,等. 芫根营养功效及加工现状[J]. 粮食与

- 食品工业, 2020, 27(2): 30-33, 38.
- [4] 陈湘宏. 高原植物芫菁降血糖作用的研究[D]. 西宁: 青海大学, 2012.
- [5] 杨永东. 藏药芫菁多糖的制备、组分分析及抗急性低压缺氧损伤作用的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [6] 杜琳, 黄清东, 陈聪地, 等. 芫菁中两个新的三萜化合物及其抗癌活性研究[J]. 药学报, 2019, 54(11): 2049-2054.
- [7] 孙艳, 安熙强, 马媛, 等. 恰玛古蜜膏对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国医药导报, 2010, (6): 20-22.
- [8] 王文宁. 芫菁营养成分分析及其改善小鼠肠道菌群的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [9] 骆芷寒, 彭博, 王禹蒙, 等. 芫根提取液抗疲劳作用的实验研究[J]. 西部医学, 2020, 32(5): 652-656.
- [10] HOOPER L V, LITTMAN D R, MACPHERSON A J. Interactions between the microbiota and the immune system[J]. Science, 2012, 336(6086): 1268-73.
- [11] 周华, 张新, 刘腾云, 等. 高通量转录组测序的数据分析与基因发掘[J]. 江西科学, 2012, (5): 607-611.
- [12] KANG F B, WANG L, LI D, *et al.* Hepatocellular carcinomas promote tumor-associated macrophage M2-polarization via-increased B7-H3 expression[J]. Oncology Reports, 2015, 33(1): 274-282.
- [13] MURRAY P J. The JAR-STAT signaling pathway: input and output integration[J]. Journal of Immunology, 2007, 178(5): 2623-2629.
- [14] GREEN B D, JABBOUR A M, SANDOW J J, *et al.* Akt1 is the principal Akt isoform regulating apoptosis in limiting cytokine concentrations[J]. Cell Death and Differentiation, 2013, 20(10): 1341-1349.
- [15] BISWAS S K, GANGI L, PAUL S, *et al.* A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF- κ B and enhanced IRF-3/STAT1 activation)[J]. Blood, 2006, 107(5): 2112-2122.
- [16] LEE A Y S, KÖRNER H. The CCR6-CCL20 axis in humoral immunity and T-B cell immunobiology[J]. Immunobiology, 2019, 224(3): 449-454.
- [17] TRIVEDI P J, ADAMS D H. Chemokines and Chemokine Receptors as Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease: Pitfalls and Promise[J]. Journal of Crohn's and Colitis, 2018, 12: S641-S652.
- [18] 张斌, 苏中静. T 细胞受体信号转导中的 CD45 亚型的研究进展[J]. 解剖学研究, 2021, 43(1): 82-85.
- [19] 周云, 刘海龙, 靳照宇. PDIA3 对人 Jurkat T 细胞 TCR 信号通路的调控[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2020, 40(3): 301-306.
- [20] MA N, ZHANG X, YANG L, *et al.* Role of Functional IFNL4, IFNL1, IFNA, IFNAR2 Polymorphisms in Hepatitis B virus-related liver disease in Han Chinese population[J]. Journal of Viral Hepatitis, 2018, 25(3): 306-313.
- [21] PLOWES-HERNÁNDEZ O, PRADO-CALLEROS H, ARROYO-ESCALANTE S, *et al.* Cervical lymph node tuberculosis and TNF, IL8, IL10, IL12B and IFNG polymorphisms[J]. The new microbiologica, 2021, 44(1): 24-32.
- [22] SALKOWSKA A, KARWACIAK I, KARAŚ K, *et al.* SARS-CoV-2 Proteins Induce IFNG in Th1 Lymphocytes Generated from CD4+ Cells from Healthy, Unexposed Polish Donors[J]. Vaccines, 2020, 8(4): 673.
- [23] 杨志华, 邓柳颐, 李冬梅, 等. 中药复方对肠道微生态调节作用的研究[J]. 西部中医药, 2020, 33(9): 166-168.
- [24] 巩静, 董慧, 王定坤, 方珂, 胡美霖, 陆付耳. 肠道免疫系统与糖尿病关系的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(11): 2095-2100.
- [25] Eguchi-K, Nagai-R. Islet-inflammation-in-type-2-diabetes-and-physiology[J]. Journal-of-Clinical Investigation, 2017, 127(1): 14-23.
- [26] 李兰娟. 感染微生态研究进展——肠道菌群对机体代谢影响[J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(1): 1-3.
- [27] 肖俊松, 单静敏, 曹雁平, 等. 多酚通过肠道菌群调节能量代谢研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(3): 300-303.
- [28] ICHIKAWA H, SHINEHA R, SATOMI S, *et al.* Gastric or rectal instillation of short-chain fatty acids stimulates epithelial cell proliferation of small and large intestine in rats[J]. Dig Dis Sci, 2002, 47(5): 1141-1146.
- [29] CORREA R O, VIEIRA A, SERNAGLIA E M, *et al.* Bacterial short-chain fatty acid metabolites modulate the inflammatory response against infectious bacteria[J]. Cell Microbiol, 2017, 19(7). doi: 10.1111/cmi.12720.
- [30] ZHANG L, HOU D, CHEN X, *et al.* Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA[J]. Cell research, 2012, 22(1): 107-26.
- [31] ZHOU Z, LI X, LIU J, *et al.* Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses[J]. Cell research, 2015, 25(1): 39-49.

(收稿日期: 2021-11-17; 修回日期: 2022-05-27; 编辑: 黎仕娟)