

黄芩苷对 DSS 诱导结肠炎小鼠 Th22 细胞及 IL-22 的影响*

赵 兵¹, 邹 颖¹, 郑学宝¹, 郭灿璨², 李文洋¹, 迟宏罡^{1**}

(1. 广东医学院第二临床学院中医学教研室 东莞 523808;

2. 广东医学院 广东天然药物研究与开发实验室 湛江 524000)

摘 要:目的:观察黄芩苷对炎症性肠病小鼠模型 Th22 细胞比例及 IL-22 浓度的影响,通过体内和体外实验探讨黄芩苷治疗该病的免疫学机制。方法:C57BL/6 小鼠用 3.5% 葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate)建立结肠炎小鼠模型,随机分成空白对照组、模型组、黄芩苷组。应用流式细胞术和酶联免疫吸附试验(ELISA)分别检测各组小鼠 Th22 细胞比例和外周血血清 IL-22 的表达;分离小鼠脾脏淋巴细胞,用含黄芩苷(0、10、20、40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)培养基培养 48 h,应用流式细胞术检测各组小鼠淋巴细胞中 Th22 细胞比例。结果:黄芩苷在体内外实验中均降低 Th22 细胞比例与 IL-22 的表达。结论:黄芩苷能够在体外和 DSS 诱导的结肠炎小鼠体内抑制 Th22 的分化及 IL-22 的表达,提示黄芩苷对 Th22 介导的炎症性疾病具有较好的治疗潜力。

关键词:黄芩苷 炎症性肠疾病 Th22 细胞 IL-22 动物实验 中药药理

doi:10.11842/wst.2015.06.024 中图分类号:R285.5 文献标识码:A

炎症性肠疾病(Inflammatory Bowel Disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's Disease, CD),是一种主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症,以腹痛、腹泻、黏液血便、里急后重为主要临床表现。目前认为炎症性肠疾病发病由多种免疫学因素参与^[1]。Th22 细胞是最近发现的 CD4⁺T 细胞功能亚群,主要通过介导 IL-22 实现功能^[2,3]。在炎症性肠病动物模型中,局部使用 IL-22 微注射靶向方式治疗可改善局部肠道炎症^[4]。因此, Th22 细胞及 IL-22 在未来很有可能成为炎症性肠疾病治疗的新靶点。

黄芩苷是中药治下痢之经典方药黄芩汤中的君

药黄芩的主要组分,在黄芩中含量最高,药理作用较强。研究表明黄芩苷对 IBD 具有促进修复作用^[5,6]。DSS 小鼠结肠炎模型由日本学者 Ohkusa 于 1985 年首次制造成功,是目前最理想的结肠炎模型^[7],且 DSS 诱导结肠炎的临床表现和黏膜损伤程度呈 DSS 浓度依赖性,而 DSS 总摄入量的差异不会影响造模结果^[8]。本研究利用 DSS 小鼠结肠炎模型观察黄芩苷治疗 IBD 的疗效并检测小鼠体内 Th22 细胞及其效应因子 IL-22 的表达变化,揭示黄芩苷在炎症性肠疾病治疗中的作用机制。

1 材料

1.1 动物

实验动物选用 C57BL/6 小鼠 60 只, SPF 级,体

收稿日期 2014-11-26

修回日期 2014-12-19

* 国家自然科学基金面上项目(81173240) CD4⁺CD29⁺T 细胞亚群与溃疡性结肠炎患者相关性研究及黄芩汤的干预作用研究,负责人:郑学宝,广东医学院博士启动项目(2013006) CD98⁺与溃疡性结肠炎发生发展的相关性研究及黄芩汤的干预作用研究,负责人:迟宏罡。

** 通讯作者:迟宏罡,讲师,博士,主要研究方向:中药复方治疗消化道疾病的临床与实验研究。

质量 18–22 g, 由中山大学动物实验中心提供。动物使用许可证号: SCXK (粤) 2011–0029。

1.2 药物和试剂

黄芩苷(西安源森生物科技有限公司, 纯度 98%, 批号: YS 121121); 黄芩苷 [Sigma-aldrich 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司, 纯度 99%, 批号: 21967–41–9]; DSS (美国 MP Biomedicals 生物公司, 批号: M2709); 小鼠 IL–22 ELISA 试剂盒、IL–6、Anti–Mouse IL–22 PE、Anti–Mouse CD4 FITC、Anti–Mouse CD3、Anti–CD28 抗体及同型对照(均购自美国 eBioscience 公司, 批号分别为: 45–7311、45–4301、17–7222、11–0041、11–0030–81、16–0281); 离子霉素、佛波酯(PMA)、布雷杆氏菌素 A (BFA) (均购自杭州联科生物技术有限公司, 批号分别为: cs1005、cs1001、cs1002); 小鼠淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品科技有限公司, 批号: 20130630–0358)。

2 实验设计

2.1 造模及分组

取 C57BL/6 小鼠 30 只, 随机分为 3 组: 正常对照组、模型组和黄芩苷组。在饮用水中, 加入 DSS 粉末, 制成 3.5% DSS 溶液给小鼠自由饮用, 连续 7 天, 制成结肠炎模型。

2.2 给药方案

黄芩苷的配制方法及浓度: 取 0.2 g 黄芩苷 (98%) 溶于 25 mL 双蒸水, 中配成 $8 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的黄芩苷混悬液, 超声仪中超声 30 min 使其充分溶解。造模完成后, 空白对照组和模型组给予双蒸水自由饮用, 黄芩苷组给予黄芩苷 (98%) $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[9] 药物灌胃, 每天灌胃 1 次, 连续 7 天。

2.3 小鼠一般情况观察

实验过程中每天观察记录小鼠体质量、粪便情况、活动情况等。

2.4 结肠组织病理学评分

将在 10% 福尔马林中固定 24 h 以上的结肠组织经脱水、包埋后放在切片机上切片, 厚度 $5 \mu\text{m}$, 苏木精–伊红 (Hematoxylin Eosin, HE) 染色, 显微镜下观察组织病理切片形态学变化及评分, 采用 Neurath 的评分标准^[10], 评分共分为 4 级, 组织病理评分越高, 说明黏膜炎症的严重程度越重。0 分: 未见明显病理改变; 1 分: 10% 高倍视野中, 呈低水平淋巴细胞浸润, 肠绒毛结构没有破坏; 2 分: 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, 未见溃疡; 3 分: 25% – 50% 高倍视野中, 呈高水平淋巴细胞浸润, 血管增生, 肠壁增厚并且侵及肌层, 未见溃疡; 4 分: 明显淋巴细胞浸润, 血管增生伴肠隐窝加深变形, 肠壁增厚且侵及肌层, 见溃疡。

2.5 外周血单个核细胞分离

小鼠眼球摘除取血, 全血与 PBS 溶液 1:1 混合。准备 15 mL 离心管, 加入 1.5 mL ficoll 淋巴细胞分离液, 将全血 PBS 混合液侧倾沿离心管管壁缓慢加至分离液液面上。2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 离心后混合液分为 4 层, 吸出第 2 层云雾层, PBS 洗涤两次后得到沉淀为淋巴细胞。

2.6 脾脏淋巴细胞分离

小鼠处死后无菌条件下取出脾脏, PBS 清洗, 在 200 目纱网上研磨过滤, 过滤后细胞与 1.5 mL PBS 混匀。准备 15 mL 离心管, 加入 1.5 mL ficoll 淋巴细胞分离液, 侧倾沿管壁缓慢加入 PBS 组织混合液。2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 离心后混合液分为 4 层, 吸出第 2 层云雾层, PBS 洗涤两次后得到沉淀为淋巴细胞。

2.7 流式细胞术检测 Th22 细胞的比例

调整小鼠脾脏和外周血淋巴细胞浓度至 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 。每个标本取 500 μL 加 PMA ($100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$), 离子霉素 ($1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), BFA 刺激剂 ($5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 5% CO_2 37℃ 孵箱培养 5 h, 加入 Anti–Mouse CD4 FITC 抗体 ($2.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 避光孵育 15 min, 加 100 μL 固定液, 避光放置 15 min, PBS 洗涤后每管加入 100 μL 破膜剂, 避光孵育 5 min。再加入 Anti–Mouse IL–22PE 抗体 $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 避光孵育 15 min。PBS 重悬后上机检测, 各管设置同型对照组, 将 $\text{CD4}^+ \text{IL–22}^+$ 细胞界定为 Th22 细胞。

2.8 黄芩苷干预 Th22 细胞的体外实验

黄芩苷的配制与浓度: 称 1 mg 黄芩苷 (99%) 溶于 0.1 mL 二甲基亚砜 (DMSO) 中制成黄芩苷母液 ($22\,400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 使用 RPMI 1640 完全培养基稀释母液配成浓度为 0、10、20、40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含药培养基。

处死正常 C57BL/6 小鼠, 分离小鼠脾脏淋巴细胞, 使用含黄芩苷 (99%) 的 RPMI 1640 完全培养基培养为 4 组 (0、10、20、40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。培养板预先使用 Anti–Mouse CD3 ($0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), Anti–

Mouse CD28 ($0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 包被过夜,调整小鼠脾淋巴细胞数目至 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 接种于 6 孔培养板中,每组接种 2 个 6 孔板。随机在每组中选一个 6 孔板加入小鼠 IL-6 细胞因子 ($10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 刺激淋巴细胞生长。培养 48 h 后离心弃上清,重悬沉淀淋巴细胞使用流式细胞术检测 Th22 细胞的比例。

2.9 ELISA 检测 IL-22 浓度

小鼠眼球摘除取血,PE 管中 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,吸取上层血清。应用 ELISA 检测造模各组小鼠外周血血清中 IL-22 细胞因子的浓度。实验方法严格按照 eBioscience 公司小鼠 IL-22 ELISA 试剂盒说明书进行。

2.10 统计学分析

实验结果用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较用单因素方差分析;两组间比较,方差齐性时用 LSD 法,方差不齐时用 Tamhane's 法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察

空白对照组小鼠体质量持续增长,大便正常,饮食正常;结肠炎模型组小鼠在 DSS 造模第 5 天体质量明显减轻,肛周出现明显血便。造模过程小鼠耐力差死亡 2 只;黄芩苷治疗组小鼠治疗后第 2 天血便消失,稀便,体质量开始逐渐回升,症状明显轻于模型组小鼠,造模过程中因药物耐受差和灌胃操作失误至胃穿孔共死亡 3 只。

3.2 小鼠肠炎模型组织学评分

模型小鼠与空白对照组相比,小鼠结肠黏膜不完整充血水肿溃疡形成,病变累及结肠黏膜和黏膜下层,少数可达浆膜层,可见肠粘膜腺体结构排列紊乱,炎性细胞浸润明显,病理学评分差异有显著意义 ($P < 0.001$)。黄芩苷组小鼠结肠黏膜结构基本恢复正常,上皮轻度破坏,炎性细胞浸润程度较轻,病理组织学评分与模型组比较差异有意义 ($P < 0.001$) (图 1,图 2)。

3.3 各组小鼠外周血及脾脏 Th22 细胞比例

与空白对照组比较,模型组 Th22 细胞的比例增高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),黄芩苷组与模型组相比 Th22 细胞比例下降 ($P < 0.05$) (图 3、图 4)。

3.4 各组小鼠外周血中 IL-22 浓度

与空白对照组相比,模型组小鼠外周血血清中

IL-22 浓度升高 ($P < 0.01$),模型组 IL-22 浓度高于黄芩苷组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 5)。

3.5 黄芩苷对体外培养小鼠脾淋巴细胞中 Th22 影响

在体外培养条件下,黄芩苷对小鼠脾脏淋巴细胞 CD4 细胞亚群向 Th22 细胞的分化起抑制作用,抑制作用呈浓度依赖关系,各组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$);在 IL-6 刺激作用下,小鼠脾脏淋巴细胞 Th22 细胞比例上升,差异有统计学意义 ($P < 0.001$) (图 6、图 7)。

4 讨论

炎症性肠疾病是原因不明的大肠黏膜的慢性炎症和溃疡性病变,临床以腹痛、腹泻、黏膜脓血便为特征。该病迁延不愈,长达几十年,亦有发生癌变的可能性^[11]。西医药治疗方法包括氨基水杨酸类药物、糖皮质激素、抗生素、免疫抑制剂和一些新型生物治疗药物^[12]。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^[13]。中医药治

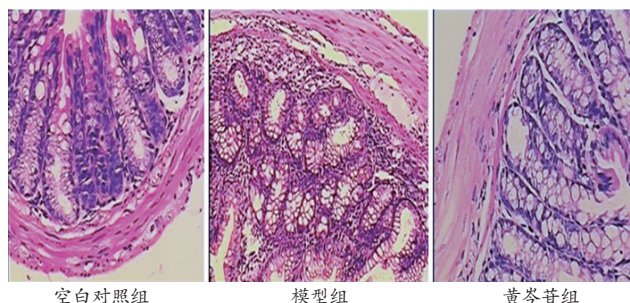


图 1 各组小鼠结肠组织 HE 染色 ($\times 200$)

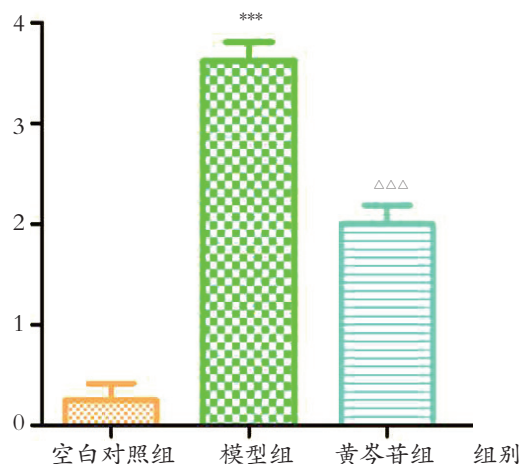


图 2 黄芩苷对实验性结肠炎小鼠结肠组织病理学评分的影响 ($n=8$)

注:与空白对照组比较,*** $P < 0.001$;与模型组比较,△△△ $P < 0.001$ 。

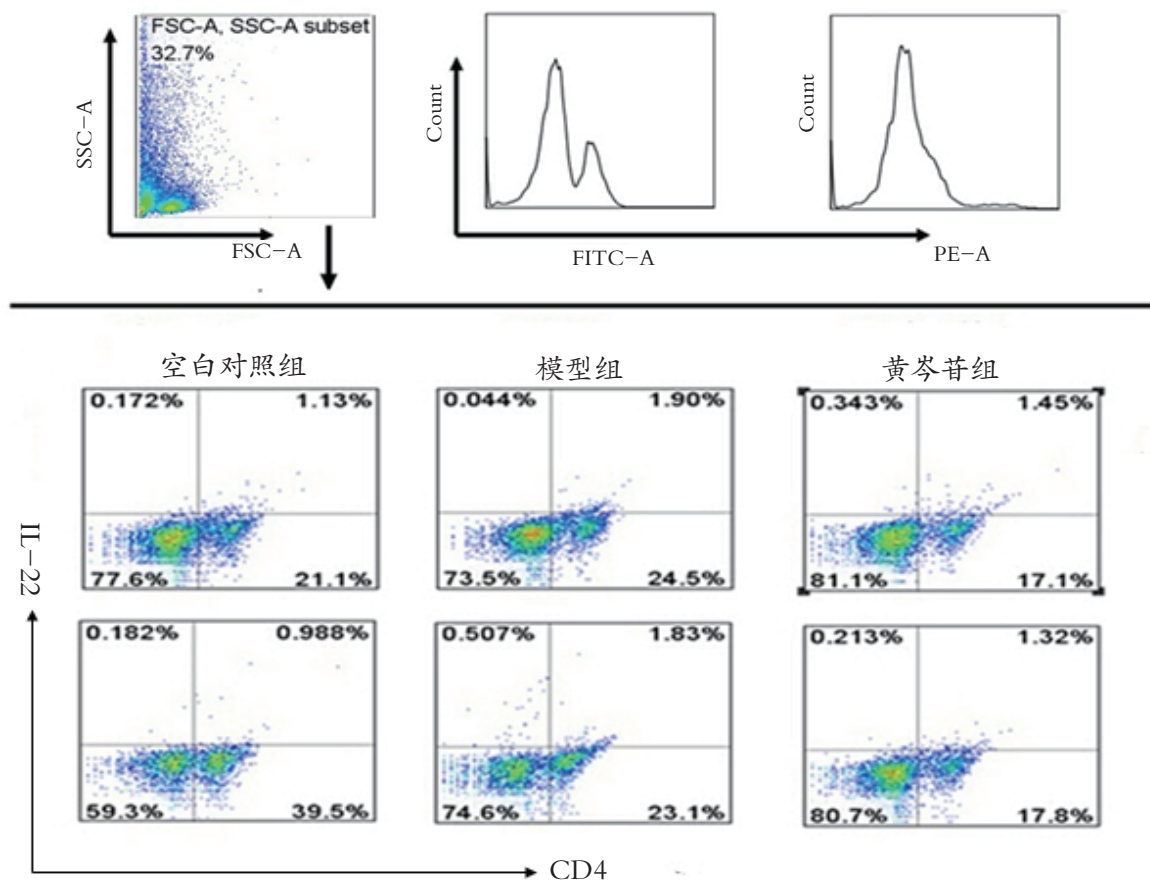


图3 Th22 细胞在不同模型组的外周血和脾脏淋巴细胞中的比例

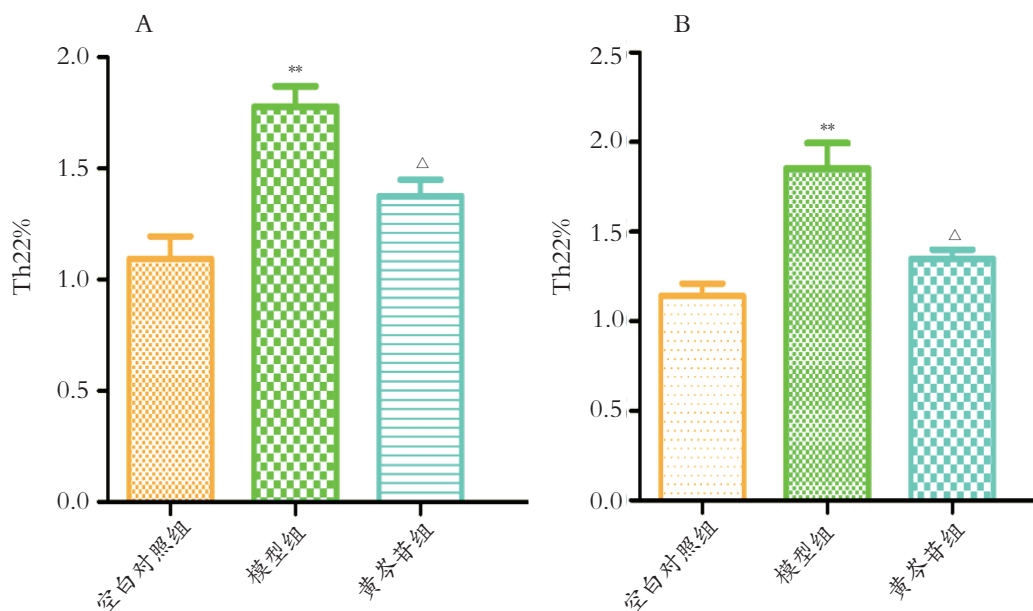


图4 Th22 细胞在不同模型组的外周血和脾脏淋巴细胞中的比例 (n=8)

注:A. 小鼠外周血中:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,Δ $P<0.05$;B. 小鼠脾脏中:与空白对照组比较,** $P<0.01$,与模型组比较,Δ $P<0.05$ 。

疗炎症性肠疾病有独特优势。因此,从中药中寻找治疗炎症性肠疾病的有效药物具有重要意义。

研究表明, Th22 细胞及细胞因子 IL-22 在炎症性肠病中发挥了积极作用,在不同的小鼠炎症性肠疾病模型中发现 IL-22 具有保护作用^[14, 15]。其作用机制可能是 IL-22 通过 STAT3 通路重塑杯状细胞,诱导黏液相关分子表达,从而减轻 Th2 型细胞因子介导的结肠炎^[4]。此实验通过体内和体外实验研究,证实了黄芩苷能够抑制 DSS 诱导的结肠炎小鼠 Th22 细胞的分化和 IL-22 的表达,提示这可能是黄芩苷治疗该病的机制之一。

现代研究公认,炎症性肠疾病的发病是多种免疫因素和细胞因子共同作用的结果,其中,炎症因子在结肠炎的发生发展中起到了非常重要的作用。在与 IL-22 相关的细胞因子中, IL-6 在炎症性肠疾病发病中表达显著增高,起到了促炎作用并与疾病活动程度呈正相关,同时 IL-6 可以促进 T 淋巴细胞向 Th22 细胞亚群分化并能促进 Th22 细胞分泌 IL-22^[16, 17]。在炎症性肠疾病急性发病期, IL-6 等

促炎因子大量表达,它们促进 T 淋巴细胞向 Th22 细胞亚群分化并能促进 Th22 细胞分泌 IL-22,因此在炎症性肠疾病的急性发病期 Th22 及 IL-22 的表达增高^[18],而 IL-22 分泌表达的增加可以促进受损组织的修复,这是生物体内负反馈调节自我保护的一种表现。我们的研究发现,在小鼠 DSS 诱导的炎

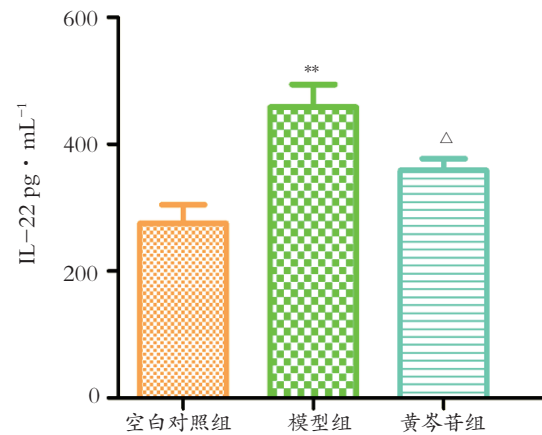


图5 小鼠外周血 IL-22 浓度比较 (n=8)

注:与空白对照组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

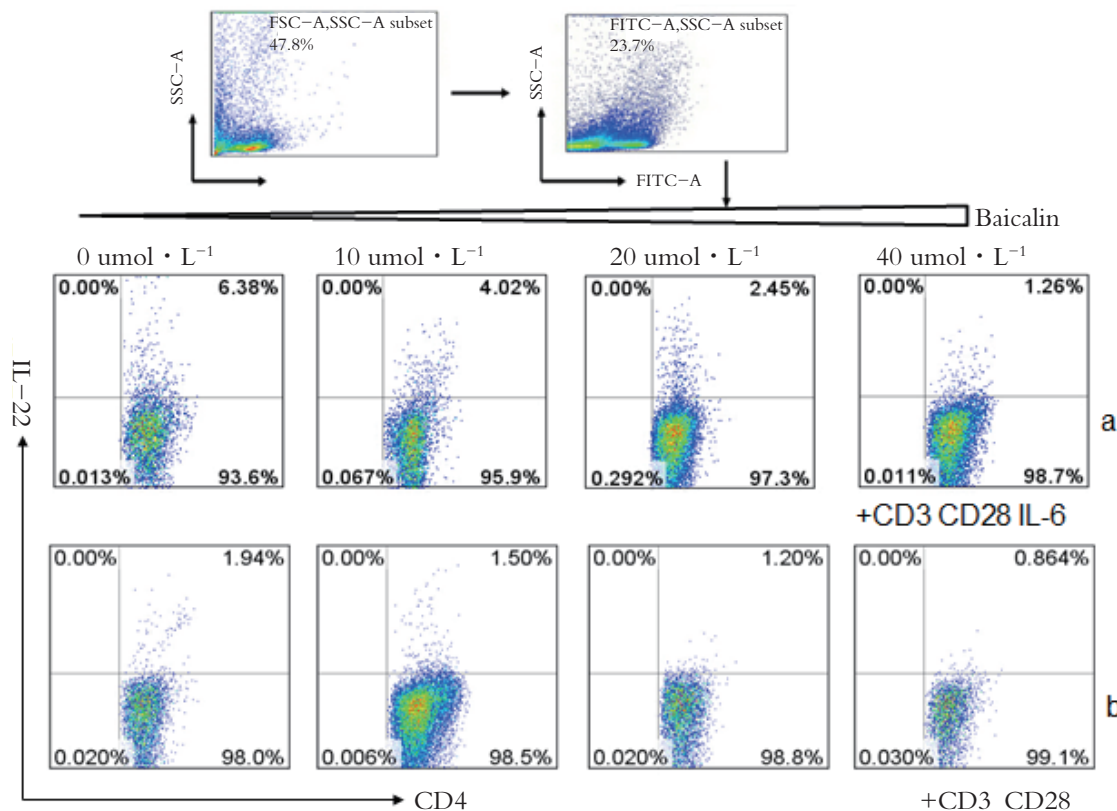


图6 体外含黄芩苷培养基 (0、10、20、40 μmol · L⁻¹) 培养小鼠脾脏淋巴细胞 Th22 细胞的比例

注: a. CD3、CD28、IL-6 刺激淋巴细胞生长条件下 b. CD3、CD28、刺激淋巴细胞生长条件下。

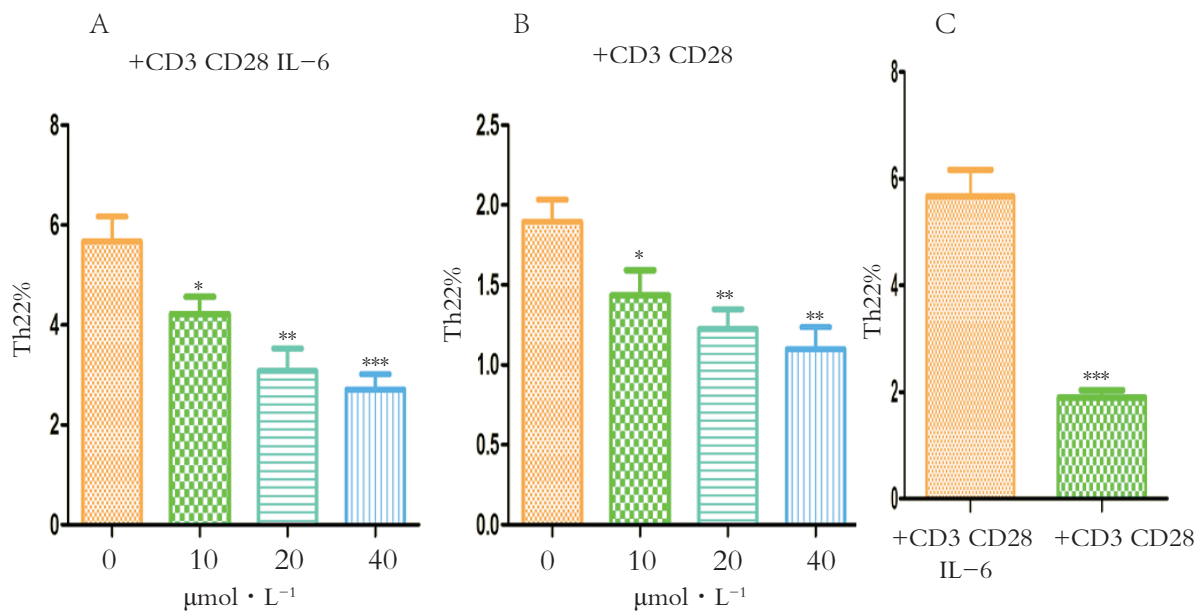


图7 体外培养的小鼠脾脏淋巴细胞的Th22的比例对比

注:A.在CD3、CD28、IL-6刺激下,含黄芩苷培养组与0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照组比较($n=10$),* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;B.在CD3、CD28刺激下,含黄芩苷培养组与0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;C.CD3、CD28、IL-6刺激条件和CD3、CD28刺激条件下Th22细胞比例比较,*** $P<0.001$ 。

症性肠疾病模型中,给予黄芩苷药物治疗后,小鼠体内Th22的细胞比例和IL-22的浓度均降低;在使用含黄芩苷培养基体外培养的小鼠脾脏淋巴细胞中,Th22细胞的比例及IL-22的浓度均随黄芩苷的浓度升高而降低。从实验结果来看,在炎症性肠疾病中发挥抑炎作用的IL-22的浓度降低了,这似乎和黄芩苷在炎症性肠疾病小鼠模型中发挥治疗修复作用的表现是相矛盾的。Th22细胞及其效应因子IL-22的表达是否越高越有益于炎症性肠疾病的治疗恢复。Th22的效应因子IL-22在炎症性肠疾病中的生物学效应非常复杂,不同的生物效应取决于炎症环境、持续的时间和IL-22的浓度、总体的细胞活化环境^[19]。IL-22在结肠组织损伤时可以起到防护作用^[4],但是IL-22在炎症性肠疾病中同样有促炎作用^[20]。IL-22可以刺激结肠产生炎形细胞因子(IL-6、IL-8、IL-11),趋化因子和IL-22通过激活转录核因子和MAPK刺激这些炎性细胞因子的表达进一步促进炎症反应^[21]。亦有研究指出IL-22会因整体细胞因子环境的改变引发完全相反的调节机制从而对整体表现出促炎作用^[22]。若机体

长期的处于炎症性肠疾病未恢复阶段时或慢性炎症性肠疾病状态,IL-22还会通过STAT3通路发挥促癌作用^[23]。而炎症性肠病无法治愈,病程迁延不愈长达几十年,有发生癌变的可能。因此过高表达的IL-22对炎症性肠病长期效应来看弊大于利。

研究表明在体外实验中黄芩苷能抑制IL-6表达^[24],在小鼠炎症性肠病的模型中,黄芩苷发挥的抑炎作用也会下调IL-6的浓度^[5],使得IL-6对Th22细胞及IL-22的促进刺激作用下降,同时本实验表明黄芩苷亦能下调Th22细胞比例和IL-22的浓度,因此两方面的共同作用就表现为小鼠黄芩苷治疗组与模型组相比Th22细胞比例和IL22浓度下降。

综上所述,结合实验结果我们认为,在炎症性肠疾病发病期,黄芩苷对Th22细胞表现为抑制作用,并能够降低IL22的表达。其机制可能是通过体内多种细胞因子的相互作用与变化的控制来实现。这种药物细胞因子之间的共同效应有益于小鼠炎症性肠疾病的治疗,并且对防治炎症性肠疾病的癌变有积极意义,这可能是黄芩苷治疗炎症性肠疾病的免疫调节机制之一。

参考文献

- Saleh M, Elson C O. Experimental inflammatory bowel disease: insights into the host-microbiota dialog. *Immunity*, 2011, 3:293-302.
- Dumoutier L, Louahed J, Renaud J C. Cloning and characterization of IL-10-related T cell derived inducible factor(IL-TIF) a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *Immunol*, 2000, 164(4):1814-1819.
- Wolk K, Warszawska K, Hoeflich C, *et al*. Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inverse. *Immunol*, 2011, 186(2):1228-1239.
- Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *Clin Invest*, 2008, 118:534-544.
- 邹颖,迟宏罡,郑学宝,等.黄芩苷对实验性结肠炎小鼠TLRs/MyD88通路的作用研究.天然产物研究与开发,2014,26:952-956.
- Liu P, Cheng H, Wu D F. The protective effects of baicalin on experimental colitis in mice. *Chin Hosp Pharm*, 2010, 19:1623-1625.
- 温红珠,郝微微,李佳,等.葡聚糖硫酸钠结肠炎模型影响因素的研究进展.世界华人消化杂志,2011,36:3666-3671.
- Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT *et al*. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cyto-kine profile and dose dependency. *Digestion*, 2000, 62:240-248.
- 冯锦山,郑学宝.CD19⁺CD5⁺CD1d⁺ B 淋巴细胞与溃疡性结肠炎的相关性及黄芩苷的干预作用研究.广州:南方医科大学,2014:51-53.
- Neurath M F, Fuss I, Kelsall B L, *et al*. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *Exp Med*, 1995, 182(5):1281-1290.
- Rizzo A, Waldner M J, Stolfi C, *et al*. Smad7 expression in T cells prevents colitis-associated cancer. *Cancer Res*, 2011, 71(24):7423-7432.
- Bianchi Porro G, Cassinotti A, Ferrara E, *et al*. Review article: the management of steroid dependency in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007, 26(6):779.
- Gaimbaud R, Bertrand V, Chauvelot M L, *et al*. Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 1998, 93(12):2397-2340.
- Zenewicz L A, Yancopoulos G D, Valenzuela D M, *et al*. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease. *Immunity*, 2008, 29(6):947-957.
- Leppkes M, Becker C, Ivanov I I, *et al*. RORgamma-expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17a and IL-17. *Gastroenterology*, 2009, 136(1):257-267.
- Bosani M, Ardizzone S, Porro G B. Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Biologics*, 2009, 3:77-97.
- Duhen T, Geiger R, Jarrossay D, *et al*. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin homing memory T cells. *Nat Immunol*, 2009, 10:857-863.
- Eyerich S, Wagener J, Wenzel V, *et al*. IL-22 and TNF- α represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with candida albicans. *Eur J Immunol*, 2011, 41(7):1894-901.
- 梁华,唐艳,杨军平.Th22 细胞及其分泌因子IL-22 的研究进展.国际医学免疫杂志,2013,36(2):116-121.
- Brand S, Beigel F, Olszak T, *et al*. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(4):G827-38.
- Andoh A, Zhang Z, Inatomi O, *et al*. Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts. *Gastroenterology*, 2005, 129(3):969-84.
- Montelone I, Sarra M, Pallone F, *et al*. Th17-related cytokines in inflammatory bowel disease: friends or foes? *Curr Mol Med*, 2012, 12(5):592-597.
- 邹春燕,郭春林,王永福,等.白细胞介素22 在消化系统恶性肿瘤的研究进展.中国当代医药,2013,20(20):20-22.
- Yang J, Yang X, Chu Y, *et al*. Identification of baicalin as an immunoregulatory compound by controlling Th17 Cell differentiation. *PLoS one*, 2014, 7(1):124-133.

Effect of Baicalin on Th22 and IL-22 in DSS-induced Colitis Mice

Zhao Bing¹, Zou Ying¹, Zheng Xuebao¹, Guo Cancan², Li Wenyang¹, Chi Honggang¹

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, The Second Clinical Medical College, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China;

2. Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: This study was aimed to investigate the effect of baicalin on the proportion of Th22 cells and the

concentration of IL-22 both *in vivo* and *in vitro*, in order to explore the immune mechanism of baicalin on inflammatory bowel disease mice model. The 3.5% dextran sodium sulfate (DSS) was used on C57BL/6 mice for the establishment of colitis mice model. Mice were randomly divided into the blank control group, model group, and baicalin group. Flow cytometry and ELISA were used in the detection of the proportion of Th22 cells and concentration of IL-22 in peripheral blood serum, respectively. The spleen lymphocytes of mice were isolated and cultured by baicalin medium (0, 10, 20, 40 μ M) for 48 h. Flow cytometry was used in the detection of the proportion of Th22 cells. The results showed that baicalin reduced the proportion of Th22 cells and the expression of IL-22 both *in vivo* and *in vitro* experiments. It was concluded that baicalin can inhibit Th22 cell differentiation and expression of IL-22 *in vitro* and DSS-induced colitis mice. It indicated that baicalin had a good treatment potential in Th22 cell-mediated inflammatory diseases.

Keywords: Baicalin, inflammatory bowel disease, Th22 cells, IL-22, animal experiment, Chinese medicine pharmacology

(责任编辑:杨 杰 张志华, 责任译审:王 晶)