基于网络药理学及体外细胞实验分析生姜泻心汤治疗溃疡性结肠炎的潜在作用

熊诗琳[1]，林小荷[1]，黄松[1]，侯少贞[1]，刘昌辉[1]，姜小艳[2]，梁健[1]

1.广州中医药大学中药学院，广东 广州 510006；2.深圳市中医院，广东 深圳 518033

［摘要］**目的：**基于网络药理学及体外细胞实验分析生姜泻心汤治疗溃疡性结肠炎（UC）的潜在作用。**方法：**运用中医系统药理学数据库及分析平台（TCMSP）筛选生姜泻心汤的活性成分及相关靶点，利用GeneGards、在线人类孟德尔遗传（OMIM）、药物遗传学和药物基因组学知识库（PharmGkb）、治疗靶点数据库（TTD）和开放数据药物和药物靶标数据库（DrugBank）筛选UC疾病靶点，将药物靶点与疾病靶点匹配所得交集靶点导入互作基因/蛋白质检索工具（STRING）数据库构建蛋白相互作用（PPI）网络，并构建药物-成分-靶点-疾病网络。采用分子对接分析核心靶点和活性成分结合力，并通过脂多糖（LPS）诱导人结直肠腺癌细胞（Caco2细胞）损伤模型，给予生姜泻心汤干预24 h后，采用qPCR和免疫荧光探索生姜泻心汤对核心靶点的作用。**结果：**生姜泻心汤治疗UC的有效成分共215个，靶点171个，其中潜在核心有效成分为姜烯酮A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素；核心靶点包括HIF1A、STAT3、CTNNB1、CASP3、AKT1、IL-1β、TP53、EGFR和JUN。分子对接结果显示，AKT1、TP53和IL-1β与姜烯酮A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素均有较强的结合能力。细胞实验发现，生姜泻心汤干预LPS刺激Caco2细胞模型，能显著地抑制AKT1、TP53和IL-1β基因和蛋白的表达。**结论：**生姜泻心汤能够调控AKT1、TP53和IL-1β等靶点，发挥治疗UC的作用。

［关键词］溃疡性结肠炎；生姜泻心汤；网络药理学；体外细胞实验；作用机制

［中图分类号］R285.5 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2024）05-0036-08

DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2024.05.008

Analysis of Potential Effect of Shengjiang Xiexin Decoction on Ulcerative Colitis Based on Network Pharmacology and In Vitro Cell Experiment

XIONG Shilin[1], *LIN Xiaohe*[1], *HUANG Song*[1], *HOU Shaozhen*[1], *LIU Changhui*[1], *JIANG Xiaoyan*[2], *LIANG Jian*[1]

1. School of Meteria Medica Guangzhou University of Chinese Medicine，Guangzhou Guangdong 510006，China；2. Shenzhen Traditional Chinese Medicine hospital，Shenzhen Guangdong 518033，China

Abstract：Objective：To analyze the potential effect of Shengjiang Xiexin Decoction on ulcerative colitis (UC) based on network pharmacology and in vitro cell experiment. **Methods：**The active components and related targets of Shengjiang Xiexin Decoction were screened out via Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). UC disease targets were screened out by GeneGards，Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)，Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGkb)，Therapeutic Target Database (TTD)，and Database for Drug and Drug Target (DrugBank). The intersection targets obtained by matching drug targets with disease targets were imported

［收稿日期］2024-01-02

［基金项目］国家自然科学基金青年项目（82004025）；广东省南沙区重点领域科技项目（2021ZD006）；广州市科技计划项目（202002020032）

［作者简介］熊诗琳（1998-），女，在读硕士研究生，E-mail：m17802058196@163.com。

［通信作者］梁健（1988-），男，副研究员，硕士研究生导师，E-mail：ljyyq@gzucm.edu.cn。

into the Search Tool for the Retrieval of Interaction Gene/Proteins (STRING) to construct the protein-protein interaction (PPI) network, and the drug-component-target-disease network was constructed. The binding of core targets and active components was analyzed by molecular docking, and the damage model of human colorectal adenocarcinoma cell (Caco2 cell) was induced by lipopolysaccharide (LPS). After the intervention of Shengjiang Xiexin Decoction for 24 hours, the effect of Shengjiang Xiexin Decoction on the core targets was investigated by qPCR and immunofluorescence. **Results:** There were 215 active components and 171 targets in Shengjiang Xiexin Decoction for the treatment of UC, among which the potential core active components were gingerenone A, quercetin, kaempferol, baicalin and naringin. Core targets included HIF1A, STAT3, CTNNB1, CASP3, AKT1, IL-1β, TP53, EGFR and JUN. Molecular docking results showed that AKT1, TP53 and IL-1β could strongly bind with gingerenone A, quercetin, kaempferol, baicalein and naringin. The cell experiment results showed that Shengjiang Xiexin Decoction could interfere with the model of LPS in stimulating Caco2 cells, and significantly inhibit the gene and protein expressions of AKT1, TP53 and IL-1β.

Keywords: Ulcerative colitis; Shengjiang Xiexin Decoction; Network pharmacology; In vitro cell experiment; Action mechanism

溃疡性结肠炎(UC)发病始于直肠，通常以连续方式向近端延伸，穿过部分或整个结肠，是一种慢性结肠黏膜炎症性疾病。近年来，UC在全球的发病率不断上升[1-2]。虽然目前临床治疗UC的药物选择不断增多，包括肿瘤坏死因子(TNF)和小分子药物(Janus激酶抑制剂)等[3-4]。但由于治疗药物存在价格昂贵、疗效不稳定和存在不良反应等问题，容易导致患者病情反复和产生耐药性等，而严重影响患者的生活质量[5]。尽管药物治疗选择扩大了范围，仍有10%～20%的UC患者需要进行手术切除治疗[6]。而中医治疗可通过结合UC的不同发病机制，发挥中药复方具有多靶点、整体调节等优势进行治疗[7]。

生姜泻心汤源自于《伤寒论》，由生姜、半夏、黄芩、黄连、人参、干姜、炙甘草和大枣组成，该方寒热并用，苦辛并施，是治疗胃肠道疾病的常用方药，具有使升降复、肠胃和之功[8-9]。由于中药复方具有多成分、多靶点、多通路等特点，本研究拟通过网络药理学，利用其从系统层次和生物网络的整体角度出发，解析药物及其治疗对象之间的分子关联规律的优点，高效筛选和预测生姜泻心汤药物成分靶点，预测复方药物有效成分与治疗UC相关靶点的作用机制，并采用分子对接技术和细胞实验加以验证。为生姜泻心汤临床治疗UC以及后续实验研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验细胞 人结直肠腺癌细胞(Caco2细胞)购于赛百慷(上海)生物技术股份有限公司；细胞培养于含10%胎牛血清的达尔伯克改良伊格尔培养基(DMEM)基础培养基中，置于5%二氧化碳37 ℃的培养箱中培养。

1.2 实验试剂及仪器 噻唑蓝(MTT)、脂多糖(LPS)购于碧云天生物科技有限公司；二甲基亚砜(DMSO)购于上海麦克林生化科技有限公司；cDNA逆转录试剂盒、TRIzol RNA提取试剂和SYBR Green qPCR试剂盒购于瑞真生物科技有限公司；重组兔单克隆抗体p53(48599)、兔单克隆抗体AKT1/2(48888)购自美国Signalway Antibody公司；兔单克隆抗体IL-1β(EPR24895-116)购自美国Abcam公司。CFX-RCR扩增仪购自美国BIO-RAD公司；LSM800蔡司激光共聚焦显微镜购自德国Carl Zeiss公司；赛默飞Multiskan FC型酶标仪、NanoDrop2000核酸浓度检测仪购自美国Thermo Fisher公司。

1.3 网络药理学预测

1.3.1 生姜泻心汤活性成分及作用靶点筛选 分别以生姜泻心汤方所包括的单味中药(如生姜、半夏、黄芩、黄连、人参、干姜、炙甘草和大枣)为检索

词，通过中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP，https://tcmspw.com/index.php)检索其活性成分。筛选条件为：口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18，在Uniprot数据库(https://www.uniprot.org/)中检索各个靶点对应基因名称，整合去重处理后获得生姜泻心汤活性成分的预测靶点。

1.3.2 “复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”的靶点获取及网络构建 通过在GeneCards(https://www.genecards.org/)、OMIM(https://www.omim.org/)、TTD(https://db.idrblab.net/ttd/)、Drugbank(https://go.drugbank.com/)、PharmGBK(https://www.pharmgkb.org/)数据库中输入关键词“ulcerative colitis”进行检索，将得到的所有靶点进行整理、去重、汇总。利用R.4.0.3软件(https://www.r-project.org/)筛选得到生姜泻心汤和UC的共同靶点，并利用Cytoscape 3.7.0软件构建生姜泻心汤治疗UC的“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”网络，以Degree值排序获取核心作用成分。

1.3.3 蛋白互作网络构建及网络拓扑分析 在STRING数据库(https://string-db.org/)导入交集靶点，并构建蛋白质-蛋白质相互作用网络图(PPI)。同时，将该物种设置为“homo sapiens”，所需的最小交互得分设置为0.9，并删除断开的节点。然后，将复杂蛋白质相互作用关系文件数据输入到Cytoscape 3.7.0软件中，使用插件CytoNCA计算节点的六个参数，即介数中心性(BC)、接近中心性(CC)、度中心性(DC)、特征向量中心性(EC)、网络中心性(NC)和局部平均连通性(LAC)。最后，根据候选靶点的6个参数应高于中位值原则来筛选核心靶点。

1.3.4 分子对接验证 根据以上网络药理学分析结果，对核心组分以及核心蛋白进行模拟虚拟分子对接。于PubChem数据库(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)获取核心化学组分的3D结构式(包括AKT1、TP53和IL-1β)，于RCSB蛋白质数据库(PDB，https://www.rcsb.org/)获取靶点结晶结构。将其结果利用Maestro软件进行结果处理和可视化。

1.4 细胞实验验证

1.4.1 MTT分析 将对数生长期的Caco2(1×10^{3}个/孔)细胞种于96孔板中，培养12 h后，加入不同浓度的生姜泻心汤(0、12.5、25、50、100、200和400 μg/mL)，干预24 h后，每孔加入20 μL MTT(5 mg/mL)，并于培养箱中孵育1～2 h，吸掉培养液，加入150 μL DMSO，随后使用酶标仪在450 nm波长处测量每孔吸光度。将对数生长期的Caco2(1×10^{3}个/孔)细胞种于96孔板中，培养12 h后，给予LPS(1 mg/mL)刺激，同时加入不同浓度的生姜泻心汤(12.5、25、50、100、200和400 μg/mL)，干预24 h后，每孔加入20 μL MTT(5 mg/mL)，并于培养箱中孵育1～2 h，吸掉培养液，加入150 μL DMSO，随后使用酶标仪在450 nm波长处测量每孔吸光度。

1.4.2 RT-PCR分析生姜泻心汤干预后基因的表达 将对数生长期的Caco2(1×10^{5}个/孔)细胞接种于6孔板中，细胞贴壁后，将细胞分为Ctrl组、LPS组、LPS+生姜泻心汤25 μg/mL组、LPS+生姜泻心汤50 μg/mL组和LPS+生姜泻心汤100 μg/mL组5组；Ctrl组细胞给予等体积的培养基，LPS组加入等体积的培养基(含有1 mg/mL的LPS)，各浓度的生姜泻心汤组加入对应浓度的生姜泻心汤，同时加入1 mg/mL的LPS，干预24 h；收集每组细胞，用Trizol试剂提取总RNA，测定RNA的浓度，逆转录成cDNA，根据试剂盒说明书对样品进行PCR扩增，PCR引物如下：AKT1正向为5′-AGCGACGTGGCTATTGTGAAG-3′，AKT1反向为5′-GCCATCATTCTTGAGGAGGAAGT-3′；IL-1β正向为5′-ATGATGGCTTATTACAGTGGCAA-3′，IL-1β反向为5′-GTCGGAGATTCGTAGCTGGA-3′；TP53正向为5′-CAGCACATGACGGAGGTTGT-3′，TP53反向为5′-TCATCCAAATACTCCACACGC-3′，GAPDH作为内参。反应条件：95 ℃，30 s；95 ℃，5 s；60 ℃，30 s；循环40次。根据公式$2^{-\triangle\triangle CT}$计算目标基因的表达情况。

1.4.3 免疫荧光分析生姜泻心汤干预后蛋白的表达 将Caco2(1×10^{4}个/孔)细胞接种于共聚焦培养皿中，细胞贴壁后，分为Ctrl组、LPS组及生姜泻心汤组。LPS组及生姜泻心汤组给予LPS刺激，此外生姜泻心汤组给予100 μg/mL的生姜泻心汤干预24 h。各组细胞用4%多聚甲醛常温固定15 min，封闭、通透30 min，4 ℃过夜孵育一抗(anti-AKT1、anti-TP53和anti-IL-1β)，室温孵育荧光二抗2 h，4′，6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)复染，经共聚焦显微镜观察生姜泻心汤对靶蛋白的作用。

1.5 统计学方法 采用SPSS20.0统计学软件分析处理数据。计量资料符合正态分布以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，2组间比较采用成组t检验，同组治疗前后比

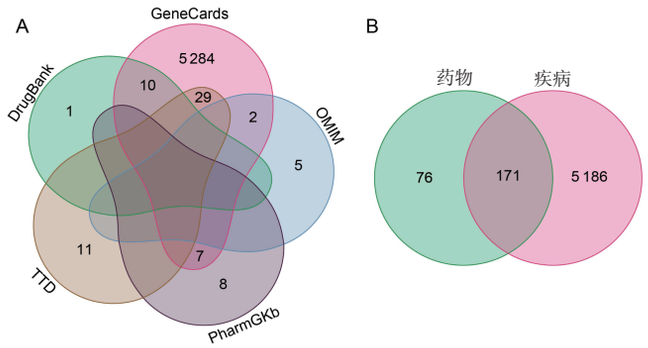
较采用配对样本 t 检验；多组数据间比较采用单因素方差分析（ANOVA），若数据方差齐，采用 LSD 检验；方差不齐，采用 Dunnett's $T3$ 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　生姜泻心汤活性成分及其治疗 UC 潜在靶点预测结果　见图 1A。通过 GeneCards 检索并使用中位数获取 UC 核心靶点，得到靶点 5 332 个，检索 OMIM 得到靶点 7 个，检索 TTD 得到靶点 40 个，检索 PharmGKb 得到靶点 15 个，检索 DrugBank 得到靶点 11 个，合并去重得到 UC 靶点 5 186 个。见图 1B。通过中药系统药理数据库和文献检索等方式，以 OB 值和 DL 值为依据，共得生姜泻心汤有效活性成分 215 个。其中半夏 13 个，大枣 29 个，甘草 91 个，干姜 5 个，黄连 14 个，黄芩 36 个，人参 22 个，生姜 5 个，将所有活性成分整合去重后得到 191 种唯一的活性成分，其中 191 种唯一活性成分中有 247 个对应靶点。根据筛选去重后的生姜泻心汤有效活性成分对应的靶点，利用 Venny 2.1 绘制韦恩图，得到 UC 靶点与生姜泻心汤药物活性成分靶点的共同靶点 171 个，即生姜泻心汤治疗 UC 的潜在作用靶点。

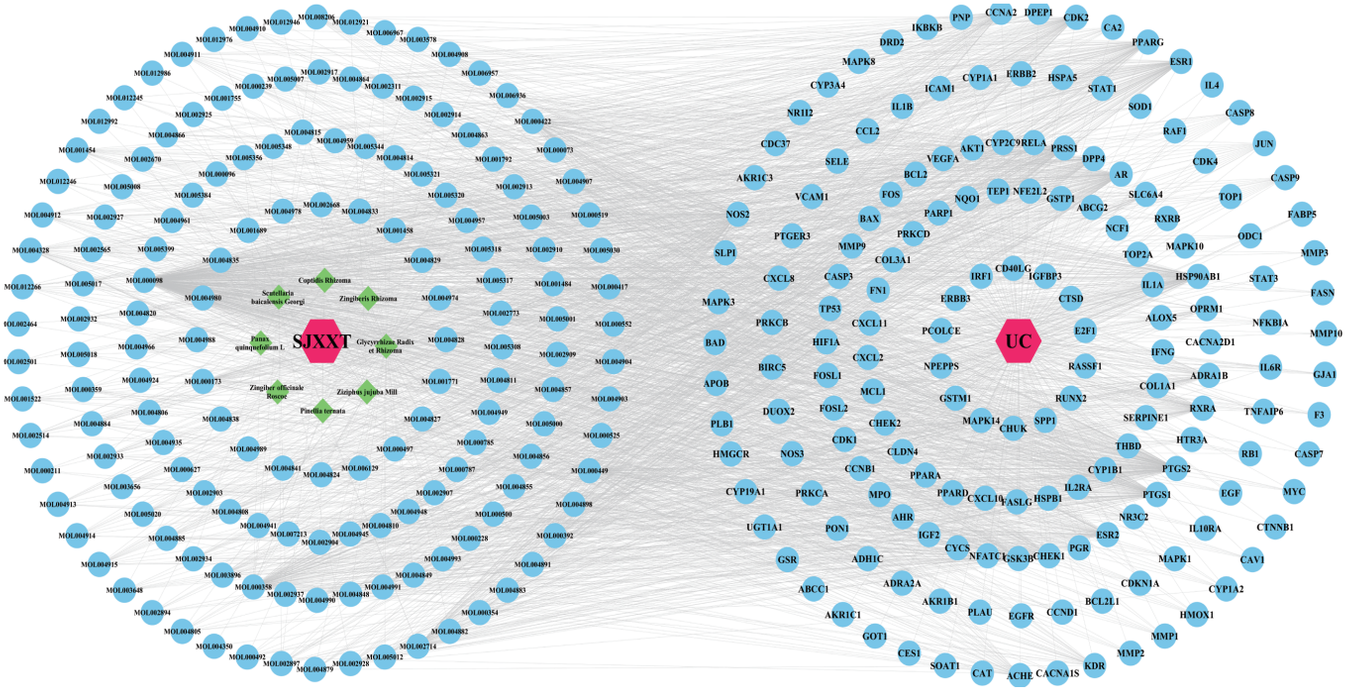
2.2　“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”的靶点获取及网络构建结果　见图 2。将交集靶点导入 Cytoscape 3.7.0 软件构建生姜泻心汤治疗 UC 的“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”网络图，生姜泻心汤活性成分-UC 靶点关联网络存在 338 个节点与 2 416 条关系。

2.3　蛋白互作网络构建及网络拓扑分析结果　见图 3。在 STRING 数据库检索得到 171 个交集重叠蛋白，并生成一个复杂的 PPI 网络。



注：A. 韦恩图显示 UC 重叠靶点；B. 韦恩图显示药物与 UC 疾病的重叠靶点

图 1　生姜泻心汤治疗 UC 的潜在靶点



注：左边为生姜泻心汤中药材的活性成分，右边为 UC 疾病的关键靶点，每条边则表示药材中所含化合物与靶点间相互作用的关系

图 2　“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”网络调控图

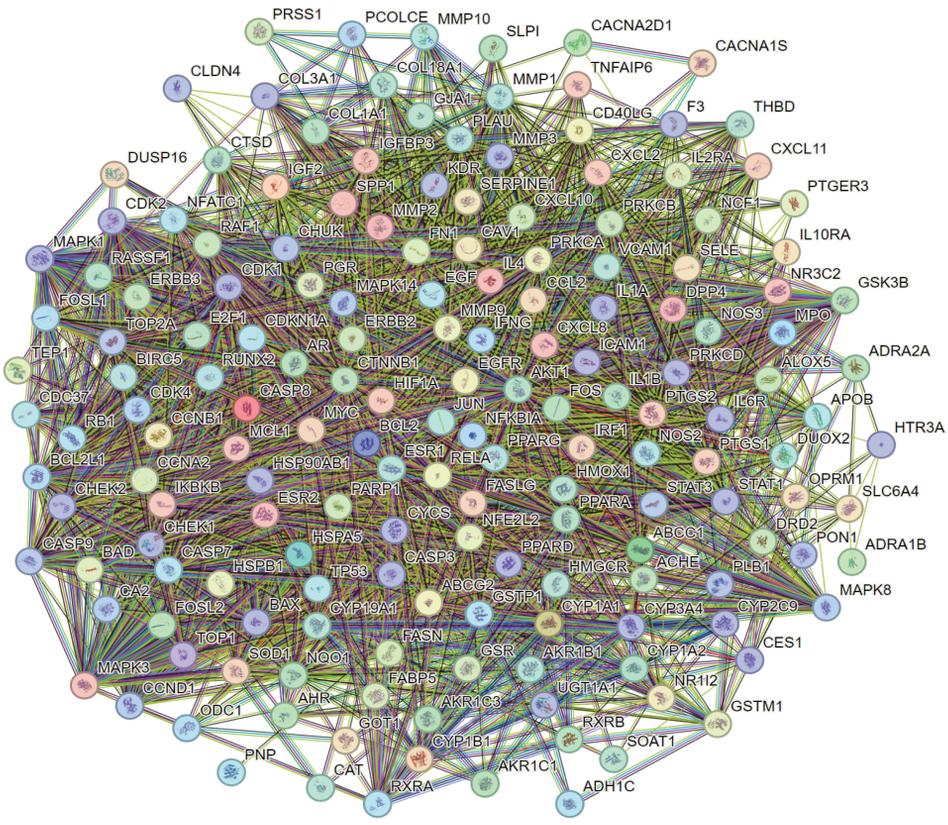
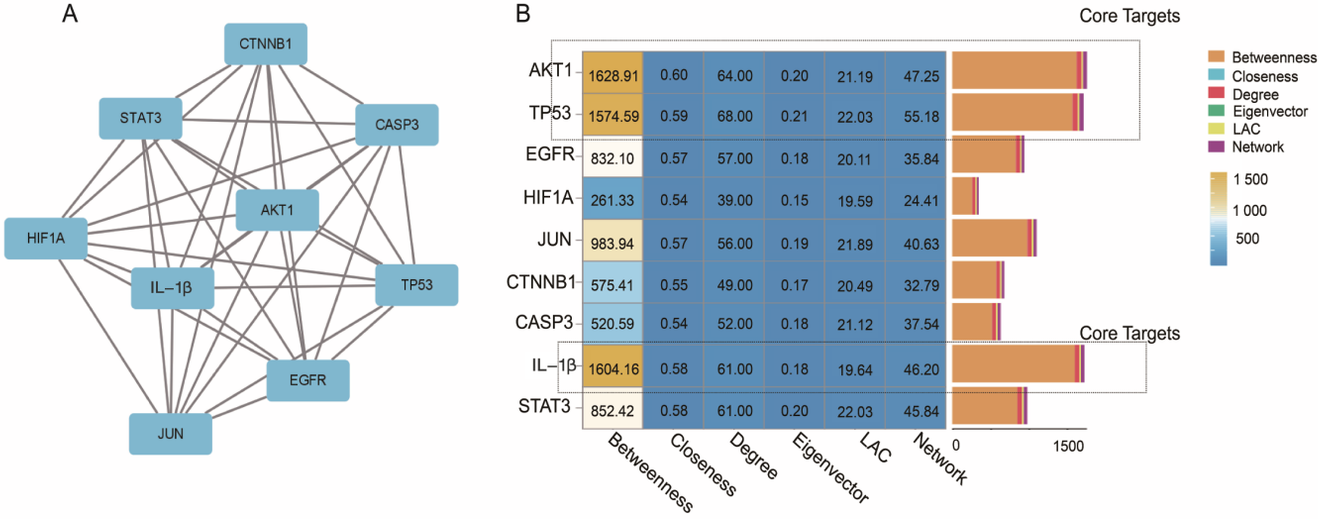


图 3　生姜泻心汤-UC 共同靶点 PPI 网络图

2.4　蛋白互作网络构建及网络拓扑分析结果　见图 4A。Cytohubba 分析 PPI 网络中的重叠蛋白，发现 AKT1、TP53、EGFR、HIF1A、JUN、CTNNB1、CASP3、IL-1β 和 STAT3 等蛋白具有更高的重叠程度。见图 4B。根据拖拓扑参数(6 个参数，包括 Betweenness、Closeness、Degree、Eigenvector、LAC 和 Network)排序，最终确定 AKT1、TP53、IL-1β 为核心靶点。



注：A. 关键蛋白靶点互作的 PPI 图；B. PPI 核心靶点拓扑参数图

图 4　交集靶点蛋白互作网络图

2.5　分子对接验证　见图5。根据网络中活性成分Degree值和Cytohubba分析，采用分子对接分析姜烯酮A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素与AKT1、TP53和IL-1β蛋白间的结合。结果显示，姜烯酮A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素与AKT1蛋白稳定结合，结合亲和力分别为-4.1 kJ/mol、-4.8 kJ/mol、-4.0 kJ/mol、-4.5 kJ/mol和-5.7 kJ/mol；同样，IL-1β蛋白与姜烯酮A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素化合物也显示出稳定结合，其结合力分别为-3.3 kJ/mol、-3.1 kJ/mol、-3.4 kJ/mol、-1.4 kJ/mol和-2.0 kJ/mol；此外，柚皮素与TP53活性残基的结合力最强，其次是汉黄芩素、山柰酚、姜烯酮A和槲皮素。

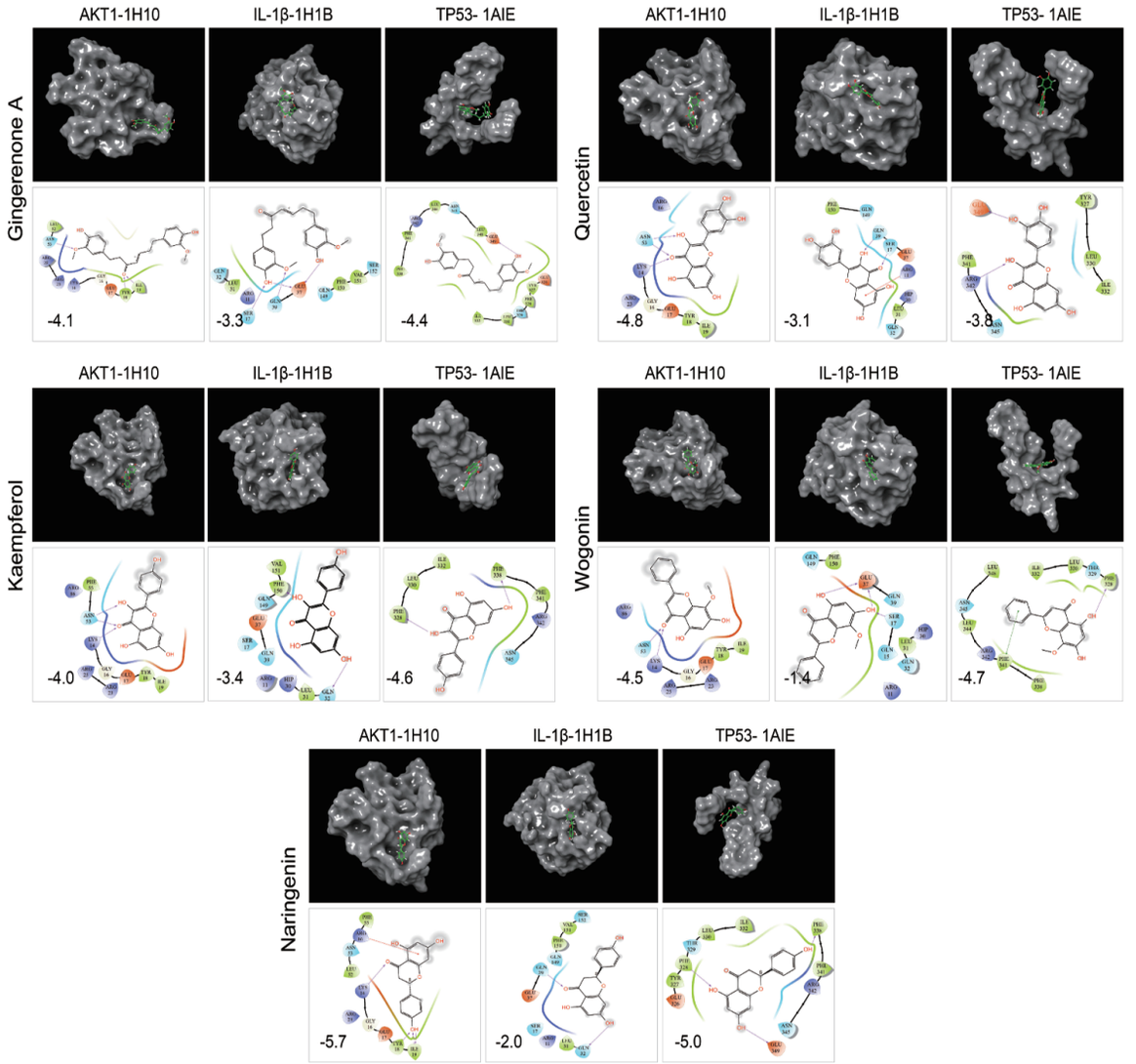
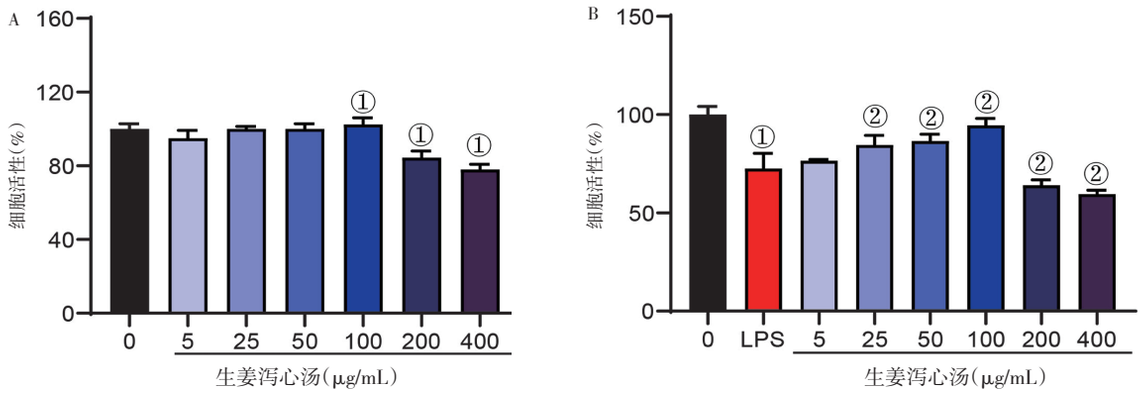


图5　核心分子对接模拟图

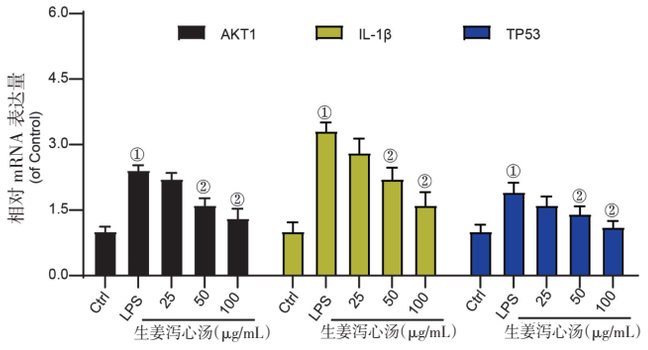
2.6　各组细胞活性比较　见图6A。在无LPS刺激的条件下，生姜泻心汤提取物浓度在大于100 μg/mL时，能显著降低Caco2细胞活性（$P<0.05$）。见图6B。在LPS（1 μg/mL）刺激下，生姜泻心汤提取物在浓度范围25、50、100 μg/mL能够显著地抑制LPS刺激引起细胞活性下降（$P<0.05$）；而当生姜泻心汤浓度200、400 μg/mL，能显著降低细胞活性（$P<0.05$）。

2.7　各组细胞AKT1、TP53、IL-1β mRNA表达水平比较　见图7。与Ctrl组比较，LPS组AKT1、TP53和IL-1β mRNA水平均升高（$P<0.05$）；与LPS组比较，生姜泻心汤50、100 μg/L干预后，AKT1、TP53和IL-1β mRNA的表达降低（$P<0.05$）。



注：A. MTT 分析生姜泻心汤对 Caco2 细胞活性的影响；B. MTT 分析生姜泻心汤在 LPS 刺激下对 Caco2 细胞活性的影响；①与 0 μg/mL 组比较，$P<0.05$；②与 LPS 组比较，$P<0.05$

图 6　各组细胞活性比较



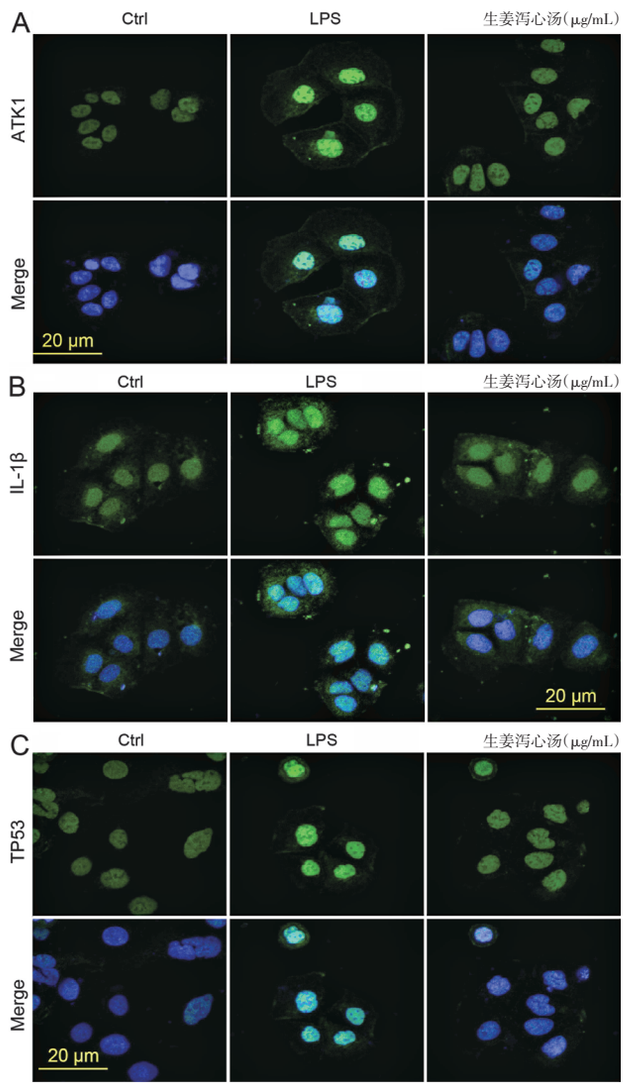
注：①与对照组比较，$P<0.05$；②与 LPS 组比较，$P<0.05$

图 7　各组细胞 AKT1、TP53、IL-1β mRNA 表达水平比较

2.8　各组细胞 AKT1、TP53、IL-1β 蛋白表达水平比较　见图 8。与 Ctrl 组比较，LPS 组 AKT1、TP53 和 IL-1β 蛋白表达水平均上调；与 LPS 组比较，100 μg/mL 生姜泻心汤干预后，生姜泻心汤组 AKT1、TP53 和 IL-1β 蛋白表达水平明显下降。

3　讨论

本研究基于中药复方多成分、多靶点作用的研究思路，应用网络药理学对生姜泻心汤的有效成分进行筛选，结合 UC 的发病机制，预测其治疗 UC 的关键靶点和信号通路，并对关键靶点进行验证。首先，应用网络药理学构建“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”网络，筛选出生姜泻心汤治疗 UC 的有效成分 171 种，核心有效成分包括姜烯酮 A、槲皮素、山柰酚、汉黄芩素和柚皮素等。研究中获得生姜泻心汤治疗 UC 的可能作用靶点，通过 PPI 网络筛选及拓扑分析最终获得 HIF1A、STAT3、CTNNB1、CASP3、AKT1、IL-1β、TP53、EGFR、JUN 共 9 个



注：A. 代表性的 AKT1 免疫荧光图；B. 代表性的 IL-1β 免疫荧光图；C. 代表性的 TP53 免疫荧光图

图 8　各组细胞 AKT1、TP53、IL-1β 蛋白表达水平比较

核心基因，其中 AKT1、IL-1β 和 TP53 起关键作用。前期大量的研究也已经证明 AKT1、IL-1β 和 TP53 基因在 UC 发生发展中起关键作用[10-12]。进一步采用分子对接验证结果显示，生姜泻心汤中核心成分和关键靶点的亲和力高，说明生姜泻心汤可能作用于以上靶点(AKT1、IL-1β 和 TP53)治疗 UC。

为了进一步验证生姜泻心汤可通过调控 AKT1、IL-1β 和 TP53 靶点治疗 UC。本研究采用生姜泻心汤干预 LPS 刺激 Caco2 细胞模型，结果显示，生姜泻心汤能够剂量依赖性地抑制 AKT1、IL-1β 和 TP53 mRNA 的表达；同时，免疫荧光分析也同样表明生姜泻心汤能够明显地下调 AKT1、IL-1β 和 TP53 蛋白的表达，提示生姜泻心汤干预后能够显著地抑制 LPS 刺激 Caco2 细胞 AKT1、IL-1β 和 TP53 基因和蛋白的表达，再次证实生姜泻心汤可通过调控 AKT1、IL-1β 和 TP53 等靶点，改善 UC。

综上，本研究以网络药理学预测为基础，通过构建“复方-药材-活性化合物-靶标-疾病”网络，系统地对生姜泻心汤中活性成分进行研究，揭示中药复方与 UC 之间的关联性。同时，通过分子对接技术和细胞实验对网络药理学的部分预测结果进行了验证，为深入探究生姜泻心汤的药效物质基础与分子机制提供参考。

[参考文献]

[1] BU Y, TRAORE M D M, ZHANG L, et al. A gastrointestinal locally activating Janus kinase inhibitor to treat ulcerative colitis[J]. J Biol Chem, 2023, 299(12): 105467.

[2] VAN N T, ZHANG K, WIGMORE R M, et al. Dietary L-Tryptophan consumption determines the number of colonic regulatory T cells and susceptibility to colitis via GPR15[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 7363.

[3] BALDERRAMO D. Role of the combination of biologics and/or small molecules in the treatment of patients with inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(47): 6743-6751.

[4] MASSIRONI S, PIROLA L, MULINACCI G, et al. Use of IBD Drugs in Patients With Hepatobiliary Comorbidities: Tips and Tricks[J]. Inflamm Bowel Dis, 2023, 29(9): 1477-1487.

[5] LUO H, CAO G, LUO C, et al. Emerging pharmacotherapy for inflammatory bowel diseases[J]. Pharmacol Res, 2022, 178: 106146.

[6] BOYD T, ARAKA E B, KOCHAR B, et al. Differences in management and outcomes of older and younger adults with acute severe ulcerative colitis[J]. J Crohns Colitis, 2023, 28: jjad183.

[7] 王建成，齐洪军，郭洁洁. 溃疡性结肠炎的中医药治疗研究进展[J/OL]. 实用中医内科杂志：1-7[2023-12-25]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1187.R.20231211.1522.012.html.1-7.

[8] 盛颖玥. 生姜泻心汤治疗寒热错杂型溃疡性结肠炎的临床观察及6-姜酚干预的作用机制研究[D]. 南京：南京中医药大学，2021.

[9] 崔宇涛. 生姜泻心汤对艰难梭菌相关性腹泻小鼠的药理作用和药效物质基础研究[D]. 太原：山西大学，2023.

[10] JAVALI P S, THIRUMURUGAN K. Embelin targets PI3K/AKT and MAPK in age-related ulcerative colitis: an integrated approach of microarray analysis, network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics[J]. J Biomol Struct Dyn, 2023, 10: 1-15.

[11] YAMAMOTO-FURUSHO J K, SANTIAGO-HERNÁNDEZ J J, PÉREZ-HERNÁNDEZ N, et al. Interleukin 1 β (IL-1B) and IL-1 antagonist receptor (IL-1RN) gene polymorphisms are associated with the genetic susceptibility and steroid dependence in patients with ulcerative colitis[J]. J Clin Gastroenterol, 2011, 45(6): 531-535.

[12] POPP C, NICHITA L, VOIOSU T, et al. Expression profile of p53 and p21 in large bowel mucosa as biomarkers of inflammatory-related carcinogenesis in ulcerative colitis[J]. Dis Markers, 2016, 2016: 3625279.

(责任编辑：钟志敏)