

论著 · 实验研究

谷氨酰胺对坏死性小肠结肠炎新生大鼠 Toll 样受体 4 的调控

李薇¹ 郑晓辉¹ 周伟² 荣箫² 黄龙光²

(1. 东莞市太平人民医院儿科, 广东 东莞 523905; 2. 广州市妇女儿童医疗中心新生儿科, 广东 广州 510120)

[摘要] **目的** 研究坏死性小肠结肠炎(NEC)新生大鼠肠道组织中 Toll 样受体 4(TLR-4)和 caspase-3 的表达情况,探讨谷氨酰胺(Gln)对 NEC 肠道保护作用的可能机制。**方法** 60 只早产新生大鼠随机分为模型组、Gln 组和对照组($n=20$)。代乳品人工喂养+缺氧+冷刺激建立 NEC 模型,Gln 组采用代乳品+Gln(0.3 g/kg)人工喂养,同时给予缺氧冷刺激,对照组未进行任何干预,第 3 天处死后取出肠道,苏木素-伊红染色后对回肠进行病理评分,免疫组织化学检测空肠、回肠及结肠 caspase-3、TLR-4 蛋白的表达,实时荧光定量 PCR 检测空肠、回肠及结肠 TLR-4 mRNA 的表达。**结果** 与对照组相比,模型组的病理评分、caspase-3、TLR-4 蛋白和 TLR-4 mRNA 的表达均增加($P<0.01$);与模型组相比,Gln 组的各项指标均有所下降($P<0.05$)。**结论** TLR-4 可能参与了 NEC 的发病机制,降低 TLR-4 的表达,抑制肠黏膜细胞的凋亡可能是 Gln 保护 NEC 新生大鼠肠道的机制之一。

[中国当代儿科杂志,2011,13(5):419-423]

[关键词] 坏死性小肠结肠炎;谷氨酰胺;Toll 样受体 4;凋亡;新生大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)05-0419-05

Regulatory effects of glutamine on Toll-like receptor 4 in neonatal rats with necrotizing enterocolitis

LI Wei, ZHENG Xiao-Hui, ZHOU Wei, RONG Xiao, HUANG Long-Guang. Department of Pediatrics, Dongguan Taiping People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523905, China (Zhou W, Email: zhouwei_pu002@126.com)

Abstract: Objective To study the expression of Toll-like receptor 4 (TLR-4) and caspase-3 in the intestine of neonatal rats with necrotizing enterocolitis (NEC), and explore the protective effects and possible regulatory mechanisms of glutamine (Gln) in NEC. **Methods** Sixty premature rats were randomly divided into three groups ($n=20$ each): control, NEC model and Gln intervention group. NEC model was prepared by formula feeding, hypoxia and cold stress. The Gln intervention group was also subjected to hypoxia and cold stress but was fed with formula containing Gln (0.3 g/kg). Two days later, the rats were sacrificed and the intestine tissues were obtained. The histological changes of ileal tissues were observed by hematoxylin and eosin staining. The expression of caspase-3 and TLR-4 protein in the jejunum, ileum and colon were detected by immunohistochemistry. The expression of TLR-4 mRNA in the jejunum, ileum and colon were detected by RT-PCR. **Results** Compared with the control group, the histological score of ileal tissues, and the expression of caspase-3, TLR-4 protein and TLR-4 mRNA in the NEC model group increased significantly ($P<0.01$). Gln intervention decreased significantly the histological score of ileal tissues, and the expression of caspase-3, TLR-4 protein and TLR-4 mRNA compared with the NEC model group ($P<0.05$). **Conclusions** TLR-4 might be involved in the pathogenesis of NEC. Gln may provide protective effects on intestine possibly through reducing the TLR-4 expression and then decreasing the apoptosis of intestinal epithelial cells. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (5):419-423]

Key words: Necrotizing enterocolitis; Glutamine; Toll-like receptor 4; Apoptosis; Neonatal rats

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是新生儿期发生率及病死率均较高的肠道炎症性疾病,确切的病因及发病机制尚未清楚,亦缺乏有效的预防措施。Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR-4) 是近年来发现的天然免疫识别受体之一,主要识别脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)并介

[收稿日期]2010-09-25;[修回日期]2010-11-24
[基金项目]广东省自然科学基金项目(8151012001000002)。
[作者简介]李薇,女,本科,副主任医师。
[通信作者]周伟,主任医师。

导其跨膜信号转导激活炎症因子,已被证实参与了多种感染性疾病的发病^[1-2],但其在 NEC 中的作用及机制仍有待研究。本研究拟应用代乳品人工喂养+缺氧冷刺激建立新生大鼠 NEC 模型,给予谷氨酰胺(Gln)干预,观察肠组织中 TLR-4 和 caspase-3 的表达变化情况,以探讨 TLR-4 在新生大鼠 NEC 中的作用及 Gln 对其肠道的保护机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

低出生体重婴儿配方奶粉(北京雀巢公司),脂肪乳注射液 C₁₄₋₂₄(北京华瑞制药有限公司),蛋白质粉(上海雅培公司),Gln(广州威佳公司),小鼠抗大鼠 TLR-4 单克隆抗体(Abcam, Cambridge, MA, USA),抗兔/鼠通用型免疫组化试剂盒及 DAB 显色剂(Dako, Glostrup, Denmark),RNA 提取纯化试剂盒(广州创伟生物科技公司),SYBR Premix Ex TaqTM(TaKaRa,大连宝生物公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 SPF 级孕 Sprague-Dawley 大鼠 10 只,购自广州中医药大学动物中心,均于孕 21 d 时剖腹取出早产大鼠,按随机数字表法分为模型组、Gln 组和对照组,每组各 20 只。模型组采用代乳品人工喂养,并定期给予缺氧冷刺激;Gln 组采用代乳品+Gln(0.3 g/kg)人工喂养,同时给予缺氧冷刺激;对照组置于代母鼠身旁喂养,不进行任何干预。

1.2.2 动物模型的建立 NEC 动物模型的建立参考文献^[34],即用乙醚对孕 21 d 大鼠进行麻醉,切开子宫取出早产鼠,置于自制的保育箱内,生后 2 h 开始采用代乳品(代乳品的配置参考 Auestad^[3]的方法,三大营养物质的含量及热卡分别为:脂肪 110 g/L,蛋白质 74.2 g/L,糖类 26.5 g/L,热量 5.81 KJ/L)人工喂养,用自制的灌胃管定时经口插管喂养(深度为 2.5~3.0 cm),每 4 h 给予代乳品 0.15 mL,24 h 后增至 0.2 mL。另在首次喂养后将新生鼠放入缺氧箱中,打开氮气筒流量表,控制氮气流量在 10 L/min 左右,当缺氧箱内 TED-60T 测氧仪显示氧浓度为零开始计时,90 s 后关闭氮气阀,即刻打开缺氧箱取出早产鼠,随后将其置入冰箱冷藏室,给予 4℃冷刺激 10 min,结束后放回保育箱,每天早晚各缺氧冷刺激 1 次,连续 2 d,末次人工喂养后空腹 12 h 后断颈处死取肠道标本。

1.2.3 肠组织病理评分 取空肠、回肠和结肠各约 1 cm 置于 10% 甲醛中固定,石蜡包埋,取冠状切

面,苏木素-伊红(HE)染色后在光镜下观察各组织的形态学改变。参照文献^[3]的病理评分标准对回盲部进行肠组织损伤评分。0 分:肠黏膜绒毛完整,结构正常;1 分:绒毛轻度水肿,上皮脱落仅限于绒毛顶部;2 分:绒毛中部损伤坏死;3 分:绒毛缺失,隐窝仍可识别;4 分:黏膜上皮结构完全缺失,或透壁坏死。取样品中观察到的最高分数来确定肠道的损伤程度,组织学评分≥2 分确认为 NEC。

1.2.4 免疫组化检测肠组织 TLR-4 和 caspase-3 蛋白的表达 石蜡切片经常规二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,PBS 洗 3 次,使用 3% H₂O₂ 温育 10 min 以消除过氧化物酶活性,蒸馏水洗 3 次,枸橼酸钠微波加热抗原修复 15 min,冷却后滴加 5% 山羊血清封闭 20 min,随后滴加一抗(兔抗大鼠 caspase-3 单克隆抗体 1:25、小鼠抗大鼠 TLR-4 单克隆抗体 1:100),37℃ 1 h,PBS 冲洗后滴加生物素化二抗 37℃ 温育 30 min,PBS 洗 3 次,DAB 显色 2 min,苏木素复染 2~3 min,盐酸酒精分化,自来水冲洗 15 min,最后脱水、透明,中性树脂封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。caspase-3 和 TLR-4 均以胞质或胞膜上出现棕黄色为阳性表达,每张切片在 400 倍光学显微镜下随机选取 5 个视野,应用 Image-Pro Plus 6.0 图像彩色分析系统进行图像半定量分析,测定每个视野内阳性表达区域光密度值(OD),然后取其均值作为 caspase-3 和 TLR-4 蛋白的表达值。

1.2.5 荧光定量 RT-PCR 检测 TLR-4 mRNA 的表达 取肠道组织 50~100 mg,参照 RNA 提取纯化试剂盒说明书提取各肠道组织的总 RNA,使用琼脂糖凝胶电泳和微型核酸蛋白定量仪确定 RNA 的完整性;应用 Primer 6.0 软件设计 β -actin 和 TLR-4 的引物,由 TaKaRa 公司合成。TLR-4:上游 5'-CCGCTCTGGCATCATCTTCA-3',下游 5'-CCCCTC-GAGGTAGGTGTTTCTG-3',扩增长度为 107 bp, β -actin:上游 5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3',下游 5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3',扩增长度为 150 bp;参照试剂盒说明书完成 cDNA 的合成;按试剂盒配置 25 μ L 反应体系,扩增条件为 95℃ 预变性 30 s,1 个循环,95℃ 变性 5 s,63℃ 退火 20 s,72℃ 延伸 45 s,共 40 个循环;PCR 产物经 2% 琼脂凝胶电泳分析,鉴定是否符合设计的片段长度;将 cDNA 浓度分别按 5 倍梯度稀释成 1:5、1:25、1:125、1:625、1:3125,用这 6 个样品模板分别扩增 β -actin 和 TLR-4,得到标准曲线并求出斜率和扩增效率;以 β -actin 为内参照,采用计算基因相对表达的

2^{-△△ct}公式算出各组间 TLR-4 mRNA 的相对表达量。

1.3 统计学分析

用 SPSS 13.0 软件处理数据,结果用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 Kruskal-Wallis *H* 检验分析回肠段的病理评分,运用方差分析对 caspase-3、TLR-4 和 TLR-4 mRNA 的表达差异进行分析,使用 Pearson 相关检验和 Spearman 等级相关检验分析 TLR-4 mRNA、caspase-3 和病理损伤评分的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NEC 的发病率及死亡率

在造模过程中,模型组、Gln 组及对照组分别有 4、2、0 只死亡,其死亡率分别为 20%、10% 及 0%,死亡的新生大鼠不纳入统计。模型组、Gln 组及对照组回盲部组织学评分 ≥ 2 分者分别有 14、10、0 只,NEC 发病率分别为 88%、56% 及 0%。

2.2 一般状态

模型组大鼠出现活动减少,反应迟钝,体重减轻并有腹胀腹泻,排黄绿色黏液便甚至血便;Gln 组大鼠活动减少,体重减轻,腹胀腹泻,较少出现血便;对照组活动度良好,进食、排便皆正常,无腹胀及腹泻,体重增加。

2.3 肠组织病理学改变

2.3.1 大体标本观察 对照组肠道弹性好,空肠呈乳白色,回结肠为淡黄色;模型组肠道均出现不同程度的扩张、充血,肠壁积气,肠道呈紫色或黑色;Gln 组与模型组相比,肠道扩张充血,肠壁积气均略有减轻。

2.3.2 光镜观察 对照组回肠结构完整,绒毛完好或仅顶端稍微受损,肠腺排列规则,固有层及黏膜下层血管无扩张,无炎性细胞浸润,肌层完整;模型组回肠均出现不同程度的绒毛脱落、坏死,肠腺缺失甚至肠穿孔;Gln 干预组与模型组相比,黏膜层、肌层水肿减轻,绒毛脱落坏死较轻。见图 1。

2.3.3 各组病理评分比较 模型组较对照组的肠道损伤明显加重 ($P < 0.01$);Gln 干预组的肠道损伤较模型组稍减轻 ($P < 0.05$);但较对照组仍明显加重 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 各组间的病理评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

	鼠数	评分
对照组	20	0.30 ± 0.48
模型组	16	3.10 ± 0.99 ^a
Gln 组	18	2.40 ± 0.69 ^{a,b}
<i>H</i> 值		42.70
<i>P</i> 值		<0.01

a: 与对照组相比, $P < 0.01$; b: 与模型组相比, $P < 0.05$

2.4 免疫组化检测 caspase-3 和 TLR-4 蛋白的定位及表达变化

与对照组比较,模型组各肠段的 caspase-3 表达明显增加 ($P < 0.01$),Gln 组较模型组表达减少 ($P < 0.05$),但仍明显高于对照组 ($P < 0.01$);模型组回肠、结肠的 TLR-4 表达明显增加 ($P < 0.01$),Gln 干预组较模型组表达减少 ($P < 0.05$),但仍明显高于对照组 ($P < 0.01$);各组间空肠的 TLR-4 的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在各组的不同肠段中,回肠与结肠的 caspase-3 和 TLR-4 蛋白表达均高于空肠。见表 2,图 2。

表 2 各组大鼠不同肠段 caspase-3 蛋白和 TLR-4 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

鼠数	caspase-3			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	TLR-4			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	
	空肠	回肠	结肠			空肠	回肠	结肠			
对照组	20	0.78 ± 0.28	0.91 ± 0.29 ^c	0.89 ± 0.38 ^c	48.1	<0.001	1.02 ± 0.38	1.79 ± 0.38 ^c	1.77 ± 0.61 ^c	820.5	<0.001
模型组	16	2.63 ± 0.06 ^a	2.83 ± 0.45 ^{a,c}	2.81 ± 0.03 ^{a,c}	122.4	<0.001	1.11 ± 0.32	3.02 ± 0.80 ^{a,c}	3.17 ± 0.41 ^{a,c}	3441.5	<0.001
Gln 组	18	2.50 ± 0.30 ^{a,b}	2.70 ± 0.34 ^{a,b,c}	2.67 ± 0.32 ^{a,b,c}	101.4	<0.001	1.05 ± 0.49	2.55 ± 0.61 ^{a,b,c}	2.67 ± 0.84 ^{a,b,c}	1723.2	<0.001
<i>F</i> 值		671.5	648.2	606.7			3.236	1026.3	1104.1		
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001			0.057	<0.001	<0.001		

a: 与正常对照相比, $P < 0.01$; b: 与模型组相比, $P < 0.05$; c: 与同组的空肠段相比, $P < 0.05$

2.5 各组间 TLR-4 mRNA 的表达差异

与对照组相比,模型组回肠及结肠 TLR-4 mRNA 的表达明显升高 ($P < 0.01$),Gln 组的表达较模型组减少 ($P < 0.05$),但仍明显高于对照组 ($P < 0.01$)。在各组内的不同肠段中,回肠与结肠 TLR-4 mRNA

的表达均较空肠明显升高 ($P < 0.01$)。见图 3。

2.6 回肠 TLR-4 mRNA、caspase-3 蛋白与病理损伤评分的相关性

TLR-4 mRNA 与 caspase-3 蛋白的表达呈正相关 ($r = 0.88, P < 0.01$),与肠组织病理评分亦呈正

相关($r=0.81, P<0.01$);caspase-3 蛋白的表达与肠组织损伤评分呈正相关($r=0.82, P<0.01$)。即随着TLR-4 mRNA表达的升高,caspase-3 蛋白的表达逐渐增加,肠道损伤程度亦逐渐加重。

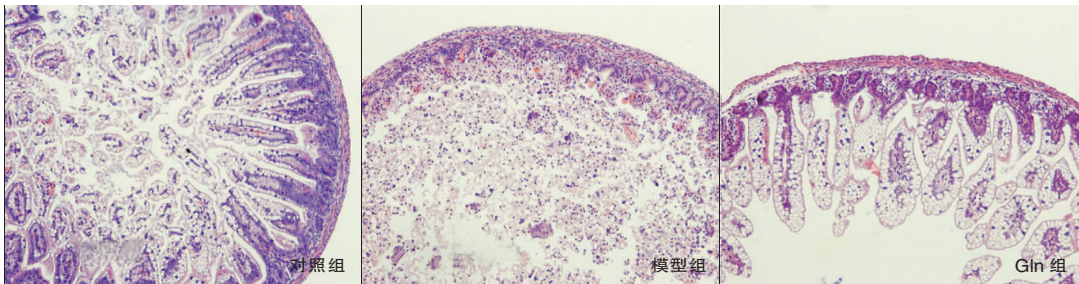


图1 肠组织病理改变(HE,×200) 对照组肠黏膜绒毛完整,结构正常;NEC 模型组肠道肌层水肿,绒毛坏死,部分黏膜上皮结构完全缺失;Gln 组损伤稍轻,黏膜下水肿,绒毛中部损伤坏死。

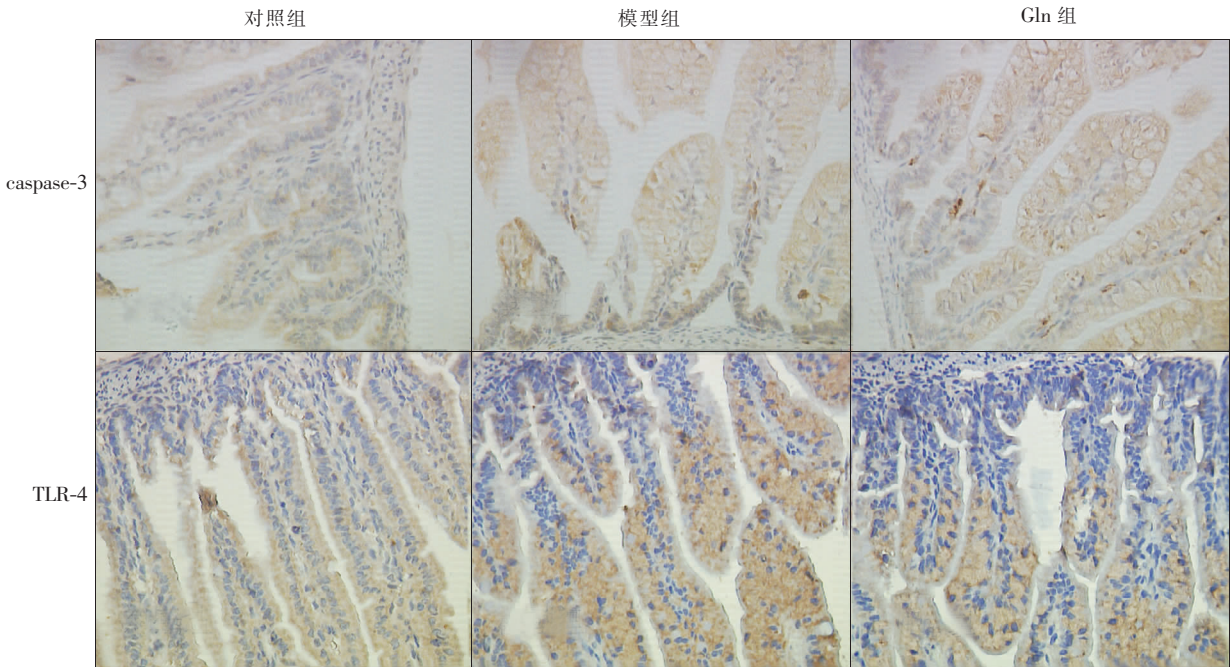


图2 肠道caspase-3和TLR-4蛋白表达(SP,×400) 对照组caspase-3在肠道几乎不表达或表达量极微;模型组caspase-3表达明显增加,表达于整段绒毛甚至延伸至隐窝;Gln组caspase-3表达较NEC模型组减少,大多表达于绒毛顶端及中部,较少触及隐窝。对照组TLR-4蛋白仅表达于完整绒毛的胞膜;模型组TLR-4蛋白表达明显增加,覆盖严重损伤绒毛的胞膜和胞浆;Gln组TLR-4蛋白表达较NEC模型组减弱。胞质或胞膜上出现棕黄色为caspase-3和TLR-4阳性表达。

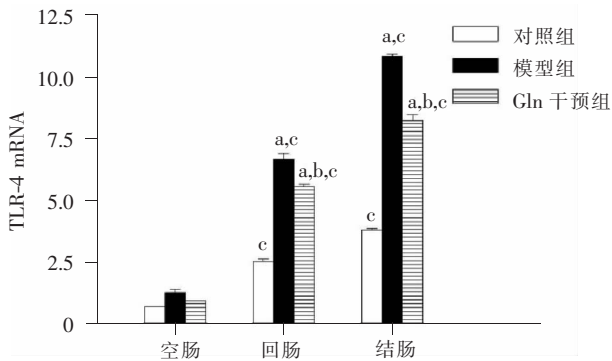


图3 各组大鼠不同肠段TLR-4 mRNA的表达差异
a:与对照组比较, $P<0.01$; b:与模型组比较, $P<0.05$; c:与同组空肠段比较, $P<0.01$

3 讨论

NEC作为一种严重的肠道炎症性疾病,可引起肠黏膜上皮细胞的破坏,导致肠道内的细菌及毒素大量进入血和组织中,引起内毒素血症,内毒素血症又可促进细胞因子、炎性介质的释放,加重肠黏膜屏障的损坏,从而导致全身炎症反应综合征(SIRS)和多器官功能障碍综合征(MODS)。

Toll样受体作为一种免疫受体,具有跨膜信号转导功能,可识别存在病原体细胞表面的分子标志,与其结合产生信号转导并最终触发炎症反应,TLRs与病原相关分子模式的结合被认为可能是SIRS和

MODS的始发环节^[5-6]。TLR-4是近年来研究较为深入的Toll样受体,能识别革兰阴性菌细胞壁的LPS,与LPS结合蛋白(LBP)及CD14结合成LPS-LBP-CD14复合物,再将此信号转入细胞内,激活核转录因子NF-KB,生成TNF- α 、IL-1、INF- γ 等炎症因子^[7]。Abreu等^[8]研究表明LPS能上调肠黏膜上皮细胞株(Caco-2, T-84, HT-29)中TLR-4的表达,促进这些细胞株的凋亡。Jilling等^[9]研究表明给予同样的处理,TLR4突变型新生大鼠的NEC发病率明显较其他组低,说明TLR-4可能参与了NEC的发病机制。本研究中也发现NEC模型组肠道组织中的TLR-4的表达明显增加,而且随着TLR-4表达的升高,介导细胞凋亡的核心蛋白酶caspase-3表达亦相应增加,肠道损伤的程度也越严重。据此推测TLR-4对肠道的损伤除介导炎症反应外,还有可能是通过促进细胞凋亡实现的,这与Le Mandat Schultz等^[4]的研究结果大致相符。

Gln是人体中含量最丰富的游离氨基酸,是肠道组织最主要的能源物质,在维持肠黏膜的完整性,提高肠道的免疫力和减少肠黏膜细胞的凋亡方面有着非常重要的作用。国外很多研究表明Gln能通过保持肠道的完整性从而减少危重病人感染的发生率和死亡率^[10-11]。国内常晓等^[12]实验表明予内毒素血症幼鼠口服Gln(2 g/kg),24 h后即可起肠屏障保护作用,明显改变其腹胀腹泻等消化道症状。Kessel等^[13]证实Gln能降低内毒素血症大鼠肠道TLR-4的表达,从而减少肠黏膜上皮细胞的凋亡,增加肠黏膜上皮细胞的含量,减轻肠道损伤。Larson等^[14]在体外培养RIE-1细胞,增加培养液中Gln的含量能激活ERK、PDK和PI3K/Akt等酶,可减少caspase-3的表达及DNA的降解,抑制RIE-1细胞的凋亡。本研究同样表明,Gln干预48h后虽不能完全杜绝NEC的发生,但能减少早产鼠NEC的发病率,能使大部分NEC大鼠的肠道损伤减轻,同时发现其TLR-4和caspase-3的表达均减弱,且相互之间呈正相关。

值得注意的是,本研究中发现TLR-4的表达变化主要在于回肠和结肠,空肠段的表达并无明显改变,这与Kessel等^[13]的研究结果存在一致性。究其原因可能与TLR-4的分布有关,Ortega-Cava等^[15]研究表明TLR-4主要分布于大鼠的结肠段,其次为小肠远端,小肠近端含量极少。提示TLR-4含量较多的回肠、结肠段均为NEC肠道出血坏死的好发部位。

因此,上调肠道TLR-4的表达,促进肠黏膜上皮细胞的凋亡可能参与了早产大鼠NEC的发病过

程,而Gln可通过降低TLR-4的表达来抑制肠黏膜上皮细胞的凋亡,从而起到保护肠道的作用。但是,新生儿NEC的病因复杂且多样化,且新生儿与新生鼠在生理、解剖及生化等特点上有着很多的不同。因此,早期口服Gln能否降低肠道TLR-4的表达从而预防新生儿NEC的发生发展,仍有待进一步的临床研究探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 鄢小建,姚咏明,董宁,于燕,陆家齐,盛志勇. 脓毒症大鼠多脏器Toll样受体4基因表达的改变及意义[J]. 中华肝胆外科杂志,2005,11(1): 31-34.
- [2] 张金萍,陈超,杨毅. Toll样受体2和4在新生儿感染时的变化及其临床意义[J]. 中华儿科杂志,2007,45(2): 130-133.
- [3] Auestad N, Korsak RA, Bergstrom JD, Edmond J. Milk-substitutes comparable to rat's milk, their preparation, composition and impact on development and metabolism in the artificially reared rat[J]. Br J Nutr, 1989, 61(3): 495-518.
- [4] Le Mandat Schultz A, Bonnard A, Barreau F, Aigrain Y, Pierre-Louis C, Berrebi D, et al. Expression of TLR-2, TLR-4, NOD2 and pNF-kappaB in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis[J]. PLoS One, 2007, 2(10): e1102.
- [5] Medzhitov R, Janeway C Jr. The Toll receptor family and microbial recognition[J]. Trends Microbiol, 2000, 8(10): 452-456.
- [6] Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signaling[J]. Nature, 2004, 430(6996): 257-263.
- [7] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity[J]. Nature, 1997, 388(6640): 394-397.
- [8] Abreu MT, Vora P, Faure E, Thomas LS, Arnold ET, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide[J]. J Immunol, 2001, 167(3): 1609-1616.
- [9] Jilling T, Simon D, Lu J, Meng FJ, Li D, Schy R, et al. The roles of bacteria and TLR4 in rat and murine models of necrotizing enterocolitis[J]. J Immunol, 2006, 177(5): 3273-3282.
- [10] Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, Westorp RI, Weiss JK, McCamish MA, et al. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma[J]. Lancet, 1998, 352(9130): 772-776.
- [11] Novak F, Heyland DK, Avenell A, Drover JW, Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence[J]. Crit Care Med, 2002, 30(9): 2022-2029.
- [12] 常晓,王琳琳,连淑君,唐清,陈萍,王华. 谷氨酰胺对内毒素血症幼鼠肠屏障的保护作用[J]. 中国当代儿科杂志,2010,12(10): 809-811.
- [13] Kessel A, Toubi E, Pavlotzky E, Mogilner J, Coran AG, Lurie M, et al. Treatment with glutamine is associated with down-regulation of Toll-like receptor-4 and myeloid differentiation factor 88 expression and decrease in intestinal mucosal injury caused by lipopolysaccharide endotoxaemia in a rat[J]. Clin Exp Immunol, 2008, 151(2): 341-347.
- [14] Larson SD, Li J, Chung DH, Evers BM. Molecular mechanisms contributing to glutamine-mediated intestinal cell survival[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007, 293(6): G1262-G1271.
- [15] Ortega-Cava CF, Ishihara S, Rumi MA, Kawashima K, Ishimura N, Kazumori H, et al. Strategic compartmentalization of Toll-like receptor 4 in the mouse gut[J]. J Immunol, 2003, 170(8): 3977-3985.

(本文编辑:王庆红)